



**Étude de pollution atmosphérique en Afrique
Sub-Saharienne : Cas de Cotonou (Bénin) :
Caractérisation physicochimique des matières
particulaires d'origine urbaine et impact toxicologique
sur des cellules épithéliales bronchiques humaines
(BEAS-2B) cultivées in vitro**

Fresnel Boris A. Cachon

► **To cite this version:**

Fresnel Boris A. Cachon. Étude de pollution atmosphérique en Afrique Sub-Saharienne : Cas de Cotonou (Bénin) : Caractérisation physicochimique des matières particulaires d'origine urbaine et impact toxicologique sur des cellules épithéliales bronchiques humaines (BEAS-2B) cultivées in vitro. Sciences agricoles. Université du Littoral Côte d'Opale, 2013. Français. <NNT : 2013DUNK0348>. <tel-01367378>

HAL Id: tel-01367378

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01367378>

Submitted on 16 Sep 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université du Littoral Côte d'Opale

UCEIV EA4492, Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant
École Doctorale 104 SMRE, Science de la Matière du Rayonnement et de
l'Environnement

en cotutelle avec

L'Université d'Abomey-Calavi, Bénin

LBBM, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire
École Doctorale, Sciences de la Vie

THÈSE

en vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR DES UNIVERSITÉS

DISCIPLINE : CHIMIE & TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT

Étude de la pollution atmosphérique en Afrique Sub-Saharienne : Cas de Cotonou (Bénin) – Caractérisation physicochimique des matières particulaires d'origine urbaine et impact toxicologique sur des cellules épithéliales bronchiques humaines (BEAS-2B) cultivées *in vitro*

Présentée par :

Fresnel Boris A. CACHON

Le 18 décembre 2013

JURY

Faustin AISSI

Jean-Paul MORIN

Kou'santa Emile AMOUZOU

Sophie ACHARD

Lucie AYI-FANOUE

Fabrice CAZIER

Anthony VERDIN

Dominique COURCOT

Ambaliou SANNI

Professeur Émérite, Université du Littoral Côte d'Opale

Directeur de Recherche, Université de Rouen

Professeur, Université de Lomé

Maître de Conférences, Université Paris Descartes

Maître de Conférences, Université d'Abomey-Calavi

Ingénieur de Recherche, Université du Littoral Côte d'Opale

Ingénieur d'Etude, Université du Littoral Côte d'Opale

Professeur, Université du Littoral Côte d'Opale

Professeur, Université d'Abomey-Calavi

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Invité

Invité

Co-directeur

Directeur

In Memoriam
Pr Pirouz SHIRALI

A ma famille...

Remerciements

Cette thèse vient finaliser 3 ans de travail et met un terme à cette expérience professionnelle, mais aussi personnelle qui n'aurait pas été réalisée sans le savoir et le soutien de nombreuses personnes. Je tiens ainsi à remercier en quelques lignes tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à ce travail, en espérant n'oublier personne.

Tout d'abord, mes pensées vont en direction de feu le Professeur Pirouz SHIRALI qui a joué un rôle important pour la réalisation de cette thèse. Je risque d'être long pour décrire le Directeur que vous avez été. Je tiens à vous rendre un hommage pour votre contribution à ma formation, mais aussi à celle de dizaines de cadres africains. J'ai essayé de finir à bien le travail que vous m'aviez confié et j'espère que vous auriez été fier du résultat.

Au Professeur Ambaliou SANNI, Directeur du Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire et Directeur de l'École Doctorale Science de la Vie, merci pour avoir accepté de diriger cette thèse et pour tous les moyens que vous avez mis en œuvre pour ma réussite. Recevez Professeur, toute ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier également le Professeur Dominique COURCOT, Directeur de l'équipe « Chimie et Toxicologie des émissions atmosphériques » de l'UCEIV. Vous avez accepté sans hésiter de prendre la relève pour co-encadrer ce travail de recherche. Merci infiniment pour vos précieux conseils, votre disponibilité et pour vos apports scientifiques pour la réussite de cette thèse.

Mes sincères remerciements à vous Professeur Émérite Faustin AISSI. Vous avez œuvré pour la réussite de ma formation en créant des collaborations entre nos différentes entités. Merci pour votre souci permanent à contribuer au développement scientifique des pays africains, en particulier le Bénin.

J'adresse mes remerciements à l'endroit des Professeurs Jean-Paul MORIN et Kou'santa Emile AMOUZOU pour avoir accepté d'évaluer ce travail ainsi qu'à Madame le Professeur Sophie ACHARD qui a accepté sans hésiter d'être examinateur de cette thèse. Une mention spéciale pour vous Jean-Paul MORIN pour votre disponibilité à corriger au fur et à mesure ce manuscrit.

À vous Professeur Lucie AYI-FANOU, je manque de mots pour exprimer ma gratitude... Vous avez toujours été là pour moi, surtout dans les moments difficiles. Vous êtes « Immaculée » et vous l'avez prouvé. Merci pour vos prières, conseils spirituels, encouragements et surtout pour votre soutien financier. Soyez bénie !

À Monsieur le Pharmacien du Palais, David ALAPINI et sa famille, je dis un grand merci pour vos aides inconditionnelles. Vous vous êtes toujours soucié de moi, de mon avenir sans me connaître. Merci pour la confiance que vous m'accordez et pour le gros trou que j'ai créé dans votre budget. Une fois encore je manque de mots... merci pour vos précieux conseils et pour les invitations au restaurant et à suivre les matchs de basket ; vous m'avez permis de sortir un peu de mon « coin ». Recevez toute ma reconnaissance et respectueuse gratitude.

Je souhaite exprimer toute ma profonde gratitude à toute l'équipe du Centre Commun de Mesures (CCM). Vous savez ... ce travail est en partie le vôtre. Vous y avez œuvré et vous l'avez bien conduit. Paul, Dorotheé, Agnès et mon « Chef » Fabrice le Directeur, je vous dis un grand merci. Fabrice, tu as beaucoup fait pour nous dans cette collaboration interuniversitaire. Je t'adresse nos sincères remerciements au nom de notre équipe et de notre université à Cotonou.

Une mention spéciale à toi Docteur Anthony VERDIN. Merci pour ta contribution scientifique à la réussite de cette thèse. Merci pour tes conseils, ton soutien sans faille et ta disponibilité à résoudre tous mes différents problèmes liés à cette thèse ainsi que ceux personnels. J'admire beaucoup tes qualités humaines et scientifiques. Ce travail, je ne l'ai tenu à bout tout seul. Il fallait un « capitaine » du bateau et c'était toi. Merci infiniment pour tout !

Je tiens à remercier tous mes collègues du Laboratoire de Toxicologie. Les Docteurs Sylvain BILLET, Perrine MARTIN et Capucine LEPERS. Merci à vous pour votre disponibilité à rendre service et pour vos diverses contributions à la réussite de ce travail. Je n'oublie pas le Docteur Stéphane FIRMIN pour avoir consacré une partie de son temps à ce travail.

Je remercie chaleureusement tous mes collègues du Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire pour vos encouragements et votre sympathie.

Mes remerciements vont également à l'endroit des Docteurs et thésards avec qui j'ai fait une partie du chemin : Bertrand, Mireille, Denis, Mathilde, Mona, Serge, Tarek, Adib, mes amis de LPCA. Sohayb, un merci particulier à toi pour ta précieuse aide.

Mes autres amis du LOG et de LPCA, trop nombreux pour les citer, je vous dis un grand merci. Une pensée particulière à Denis MARIN, merci pour tout et bon rétablissement à toi.

Mes copines Virginie PICOTIN et Véronique VANVINCQ, merci infiniment à vous pour votre soutien indéfectible. Vos qualités humaines m'ont beaucoup touché. Merci d'avoir pensé à moi et pour cet anniversaire que vous avez si bien organisé ; ce fut

une grande surprise pour moi.... Merci à toi « belle-mère » pour les nombreuses invitations à tes spectacles que je n'ai pu honorer. Ce n'est que partie remise !

Je ne manquerai de remercier tous mes amis de l'UCEIV et de la MREID ainsi que le personnel pour leur soutien et leur bonne humeur.

Merci à toi Amaury pour ta disponibilité et ta gentillesse. Je ne manquerai de remercier également Jérôme pour sa sympathie.

Je fais une mention spéciale à mes amis, collègues et colocataires, Amadou, Cheikh, Thierry en souvenir des bons moments passés ensemble. Vous m'avez donné un grand coup de pouce dans la résolution des difficultés rencontrées. Partager ces instants de ma vie avec vous m'a énormément enrichi. Recevez mes sincères remerciements. Je ne manquerai de te remercier Fleur pour m'avoir permis de finir à bien ce travail. Merci pour tout !

Merci à vous Eric KOSSOU et Cynthia ATINDEHOU pour vos prières et vos encouragements.

Merci à toi Agnès KOUASSI. Tu m'as considéré comme ton frère et m'as soutenu tout au long de cette thèse. Pour reprendre tes mots, ton « superman » achève cette expérience pour laquelle tu y as beaucoup participé. Reçois mes sincères remerciements. Merci à toi aussi Samira pour tout.

Je remercie également tous mes amis et proches au Bénin, sans citer de noms de peur d'en oublier. Ce travail est également le vôtre.

À toute ma famille, merci pour votre amour, votre patience, votre soutien et vos sacrifices qui m'ont permis de mener à bien ce travail. Que cette thèse soit le fruit de vos efforts. Merci pour tout !

À toi aussi Lony, merci pour ton amour, ta patience et ton soutien sans faille.

Que tous trouvent ici, l'expression de ma profonde et sincère gratitude.

Financements

Cette étude a été réalisée dans le cadre d'une cotutelle entre l'Université d'Abomey-Calavi (Bénin) et l'Université du Littoral Côte d'Opale, Dunkerque (France) grâce au soutien financier du Ministère français des Affaires Étrangères à travers l'Ambassade de France, près le Bénin que je tiens à remercier ainsi que la Commission Universitaire pour le Développement (CUD) à travers son programme CUI.



Ce travail a été également réalisé grâce au soutien de l'Université du Littoral Côte d'Opale, Dunkerque, de l'Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV, EA4492) ainsi que du Centre Commun de Mesures (CCM).



Valorisations

Publications dans des revues scientifiques internationales à comité de lecture

1. Avogbe, P.H., Ayi-Fanou, L., **Cachon, B.**, Chabi, N., Debende, A., Dewaele, D., Aissi, F., Cazier, F., Sanni, A. Hematological changes among Beninese motor-bike taxi drivers exposed to benzene by urban air pollution. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 2011, 5, 464–472.
2. **Cachon, B.**, Ayi-Fanou, L., Cazier, F., Genevray, P., Adéoti, K., Dewaele, D., Debende, A., Aissi, F., Sanni, A. Analysis of Gasoline Used by Motorbike-Taxi Drivers in Cotonou. *Environment and Pollution*, 2013, 2.
3. **Cachon, B. F.**, Firmin, S., Verdin, A., Ayi-Fanou, L., Billet, S., Cazier, F., Martin, P. J., Aissi, F., Courcot, D., Sanni, A., Shirali, P. Proinflammatory effects and oxidative stress within human bronchial epithelial cells exposed to atmospheric particulate matter (PM_{2.5} and PM_{>2.5}) collected from Cotonou, Benin. *Environmental Pollution*, 2014, 185, 340-351. (IF 2012 = 3,730)

Publications soumises dans des revues scientifiques internationales à comité de lecture

4. **Cachon, B. F.**, Ayi-Fanou, L., Cazier, F., Dewaele, D., Genevray, P., Delbende, A., Verdin, A., Aissi, F., Courcot, D., Shirali, P., Sanni, A. Physicochemical characterization of air pollution particulate matter (PM_{2.5} and PM_{>2.5}) in an urban area of Cotonou, Benin. (soumise à *Environmental Research*). (IF 2012 = 3,238)
5. **Cachon, B. F.**, Verdin, A., Dieme, D., Kouassi, K. S., Cazier, F., Billet, S., Courcot, D., Diouf, D., Djaman, J., Sanni, A., Shirali, P. Urban PM_{2.5} air pollution in Sub-Saharan Africa: a comparative study between case of Benin, Côte d'Ivoire and Senegal. (soumise à *Science of the Total Environment*). (IF 2012 = 3,258)

Communications lors de congrès internationaux ou nationaux

6. *Congrès de la Société de Pharmaco-Toxicologie Cellulaire (SPTC) – Chatenay-Malabry, France 6-7 juin 2012 - Prix obtenu : **Prix Ivan Chouroulinkov***
Caractérisation physico-chimique et impact toxicologique des polluants particulaires PM_{2.5} et PM_{>2.5} collectés à Cotonou (Bénin).
Cachon, B. F., Firmin, S., Verdin, A., Billet, S., Cazier, F., Aissi, F., Sanni, A., Shirali, P.

7. *Journée IRENI 2012 – Dunkerque, France 23 novembre 2012*
Caractérisation physico-chimique et effets toxicologiques des polluants particulaires d'origine automobile de la ville de Cotonou, Bénin.
Cachon, B. F., Firmin, S., Verdin, A., Billet, S., Cazier, F., Aissi, F., Sanni, A., Shirali, P.

Résumé

La pollution de l'environnement, et particulièrement la pollution atmosphérique et son possible impact sur la santé humaine, suscite un intérêt grandissant dans les pays en développement. Ce travail de thèse s'inscrit dans cette thématique et constitue une étude pionnière en Afrique, et au Bénin plus particulièrement.

Nos résultats ont montré que l'essence utilisée à Cotonou était de piètre qualité, caractérisée par l'absence d'additifs et par une forte concentration en benzène, et pouvait être à l'origine de la dégradation de la qualité de l'air de la ville. De même, l'analyse d'échantillons de particules (PM_{2.5} et PM_{>2.5}) prélevés dans le quartier de St Michel à Cotonou, a mis en exergue un taux anormalement élevé de particules en suspension dans l'air. La caractérisation physicochimique de ces particules a montré la présence d'un cocktail de composés chimiques (ions, métaux, COVs, paraffines, HAPs, etc.), en proportions plus élevées dans les particules fines PM_{2.5}.

L'appareil respiratoire constituant la principale voie d'exposition de l'Homme à ces particules atmosphériques, leur potentiel toxique a été évalué au travers d'une étude *in vitro* menée sur des cellules épithéliales bronchiques humaines (BEAS-2B). Il a été ainsi démontré les propriétés cytotoxiques des deux échantillons de particules ainsi que leur capacité à induire l'expression génique des enzymes de métabolisation des composés organiques et à générer un stress oxydatif. Le déclenchement du processus inflammatoire *via* l'induction de l'expression génique et la sécrétion protéique de cytokines et l'apparition de modifications dans la voie de l'acide arachidonique (leucotriènes, prostaglandine, thromboxane) ont été notés.

Enfin, l'approche comparative des PM_{2.5} prélevées au niveau de trois villes d'Afrique de l'Ouest a permis de mettre en évidence des caractéristiques proches au Bénin, en Côte d'Ivoire et au Sénégal et la contribution des émissions du trafic routier dans la pollution de l'air.

Mots-clés : Pollution atmosphérique ; PM_{2.5} ; PM_{>2.5} ; caractérisation physicochimique ; impact toxicologique ; Cotonou.

Abstract

Air pollution and its adverse health effects have shown a growing interest in developing countries. This study deals with this subject and is one of the first conducted in African countries, particularly in Benin.

Our results showed that the quality of gasoline used in Cotonou was poor, characterized by the absence of additive and a high concentration of benzene. Thus, it could be responsible for the degradation of the city air quality. Therefore, particulate matter samples ($PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$) were collected in St Michel neighborhood at Cotonou and results showed very high levels of particles in the ambient air. Physicochemical characterization of these particles revealed a presence of various chemicals compounds (ions, metals, VOCs, paraffins, PAHs, etc.) in higher proportion in $PM_{2.5}$ than $PM_{>2.5}$.

The respiratory system, the main way of exposure to these airborne particles, was investigated through an *in vitro* study assessing the toxic potential of PM on human bronchial epithelial cells (BEAS-2B). It has been demonstrated that the two types of particles have cytotoxic properties and ability to induce gene expression of organic compounds metabolizing enzymes and to generate oxidative stress. These particles have triggered the inflammatory process through the induction of gene expression and protein secretion of cytokines, and changes in the arachidonic acid pathway (leukotrienes, prostaglandin, and thromboxane).

Finally, comparative approach for $PM_{2.5}$ sampled in three West African cities highlighted the closeness of particles characteristics in Benin, Côte d'Ivoire and Senegal, and a significant contribution of road traffic emissions in the air pollution.

Key-words: Atmospheric pollution ; $PM_{2.5}$; $PM_{>2.5}$; physicochemical Characterization ; toxicological effects ; Cotonou.

Sommaire

Contexte & Objectifs -----1

Chapitre 1 : Pollution atmosphérique & ses conséquences

A. Pollution atmosphérique -----6

1. Échelles de la pollution atmosphérique -----7

1.1 Pollution atmosphérique locale -----7

1.2 Pollution atmosphérique régionale-----8

1.3 Pollution atmosphérique planétaire -----8

2. Polluants classiques de l'air-----8

3. Pollution particulaire -----9

3.1 Matières particulaires ----- 11

3.2 Mécanismes de formation des particules----- 12

3.3 Différents types de matières particulaires ----- 14

B. Bilan mondial de la pollution atmosphérique -----18

1. Situation dans les pays développés ----- 18

2. Situation dans les pays en développement----- 25

2.1 Cas général----- 25

2.2 Cas particulier du Bénin : Cotonou ----- 32

2.2.1 Phénomène des taxi-motos ----- 36

2.2.2 Phénomène de vente illicite d'essence ----- 37

3. Pollution atmosphérique en images dans le monde ----- 39

4. Réglementation générale de la pollution atmosphérique -----	42
4.1 Réglementation occidentale et mondiale-----	42
4.2 Réglementation au Bénin contre la pollution de l'air -----	46
C. Sources d'émission, évaluation et surveillance-----	50
1. Émissions naturelles-----	50
2. Émissions anthropiques-----	50
2.1 Émissions par secteur-----	50
2.2 Émissions par les polluants majeurs -----	52
4.1 Bioindicateurs dans la surveillance de la qualité de l'air -----	57
4.2 Traceurs de pollution de l'air -----	60
D. Conséquences de la pollution atmosphérique -----	62
1. Impacts sanitaires de la pollution atmosphérique-----	63
2. Toxicité des particules atmosphériques-----	66
2.1. Pénétration des particules dans l'organisme par voie aérienne -----	66
2.2 Pathologies pulmonaires & cardiovasculaires -----	69
2.3 Effets biologiques des polluants de l'air sur les autres organes -----	71
3. Mécanismes d'action toxique des PM -----	74
3.1 Métabolisme des xénobiotiques -----	75
3.2 Stress oxydant cellulaire -----	81
3.2.1 Espèces réactives de l'oxygène-----	82
3.2.2 Dommages oxydatifs-----	84
3.2.3 Mécanismes de défense antioxydants -----	86
3.2.4 Stress oxydant induit par les particules atmosphériques-----	88

3.3 Inflammation & mécanismes proinflammatoires-----	92
3.3.1 Médiateurs de l'inflammation -----	95
3.3.2 Inflammation induite par les particules atmosphériques -----	100
3.3.3 Médiateurs & mécanisme de l'acide arachidonique -----	104

Chapitre 2 : Démarche expérimentale

A. Différents choix pour la méthodologie d'étude ----- 110

1. Présentation du site d'étude -----	110
2. Choix des particules atmosphériques -----	110
3. Choix du modèle cellulaire -----	111
4. Choix des paramètres biologiques -----	112
5. Choix des concentrations d'expositions-----	114
6. Choix de la cinétique d'exposition -----	114

B. Échantillonnages ----- 115

1. Campagne de prélèvements-----	115
2. Collecte des particules-----	117
3. Échantillonnage des essences-----	119
4. Conditionnement des échantillons d'essences et de particules -----	119
5. Méthodologie générale de l'étude -----	120

C. Techniques analytiques pour la caractérisation des particules ----- 121

1. Analyses physiques des particules -----	121
1.1 Distribution granulométrique des particules-----	121

1.2 Réactivité des particules -----	122
2. Analyses chimiques des particules-----	124
2.1 Caractérisation des métaux -----	124
2.3 Caractérisation des composés organiques et aromatiques polycycliques -----	128
2.4 Analyse élémentaire des particules -----	132
3. Analyse des essences -----	133
D. Paramètres biologiques étudiés-----	134
1. Préparation des suspensions particulières -----	134
2. Culture cellulaire -----	134
3. Méthodes d'évaluation de la viabilité des cellules-----	135
3.1 Évaluation de l'intégrité et de la perméabilité membranaire -----	136
3.2 Évaluation de l'activité mitochondriale -----	137
3.3 Évaluation de la prolifération des cellules -----	138
4. Méthodes d'évaluation des atteintes cellulaires -----	139
4.1 Expression des gènes impliqués dans la métabolisation des composés organiques -----	139
4.2 Exposition des cellules aux particules pour l'étude du stress oxydant et de l'inflammation -----	144
4.3 Évaluation de la réponse oxydative des cellules -----	145
4.3.1 Dosage du malondialdéhyde -----	145
4.3.2 Dosage de la superoxyde dismutase -----	146
4.3.3 Évaluation du statut du glutathion -----	147
4.4 Évaluation de la réponse inflammatoire des cellules -----	148

4.4.1 Dosage des cytokines	149
4.4.2 Dosage des médiateurs de l'acide arachidonique	151
4.5 Dosage des protéines	152
5. Analyses statistiques.....	153

**Chapitre 3 : Principaux facteurs affectant la qualité de l'air à Cotonou :
Essences utilisées par les conducteurs de taxi-motos..... 154**

Synthèse de la publication 1 154

1. Principaux composants des essences utilisées à Cotonou.....	154
2. Traceurs de source de pollution.....	155
3. Publication : Analysis of gasoline used by motorbike-taxi drivers in Cotonou Environment and Pollution, 2013	39

**Chapitre 4 : Particules atmosphériques $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$: Caractérisation
physicochimique**

Synthèse de la publication 2 167

1. Caractérisation physique des particules	167
2. Caractérisation chimique des particules.....	168
3. Publication 2 : Physicochemical characterization of air pollution particulate matter ($PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$) in urban area of Cotonou, Benin	171

Chapitre 5 : Réponses biologiques des cellules pulmonaires exposées aux particules

Synthèse de la publication 3 ----- 1900

1. Cytotoxicité globale-----1900

2. Expression génique et activation métabolique des xénobiotiques-----1911

3. Réponses oxydatives des cellules exposées aux particules-----1911

4. Réponses inflammatoires des cellules exposées aux particules-----1922

5. Publication 3: Proinflammatory effects and oxidative stress within human bronchial epithelial cells exposed to atmospheric particulate matter ($PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$) collected from Cotonou, Benin-----1944

Chapitre 6 : Pollution de l'air en Afrique Subsaharienne : Étude comparative de la pollution particulaire $PM_{2.5}$ – Cas du Bénin, de la Côte d'Ivoire et du Sénégal

Synthèse de la publication 4 ----- 220

1. Principales caractéristiques des villes ----- 220

2. Caractéristiques physicochimiques des $PM_{2.5}$ dans les villes d'étude ----- 221

3. Identification des sources d'émission ----- 222

4. Publication 4: Urban $PM_{2.5}$ air pollution in Sub-Saharan Africa: a comparative study between case of Benin, Côte d'Ivoire and Senegal----- 223

Synthèse générale & Perspectives

Synthèse générale ----- 239

Perspectives ----- 260

Références Bibliographiques ----- 262

Liste des Figures

Chapitre 1 : Pollution atmosphérique & ses conséquences

Figure 1 : Différentes échelles de pollution atmosphérique	7
Figure 2 : Diamètres aérodynamiques des aérosols dans l'atmosphère	10
Figure 3 : Mécanismes de formation des particules	13
Figure 4 : Principales classes granulométriques des particules	14
Figure 5 : Distribution de taille des particules et principaux processus	16
Figure 6 : Émissions directes de CO ₂ par habitant dans le monde liées à la combustion de l'énergie (tCO ₂ /hab)	18
Figure 7 : Émissions annuelles des polluants primaires en Europe	21
Figure 8 : Concentrations d'ozone troposphérique enregistrées en Europe par rapport à la valeur cible sur la moyenne de 8 heures maximum par jour	22
Figure 9 : Concentrations moyennes annuelles de PM ₁₀ et de PM _{2.5} (µg/m ³) des émissions anthropogéniques en Europe	24
Figure 10 : Émissions anthropogéniques mondiales de SO ₂	27
Figure 11 : Représentation des émissions troposphériques annuelles mondiales de NO ₂ (en 10 ¹⁵ molécule/cm ²)	28
Figure 12 : Émissions annuelles de CO en Asie (A) comparées à celles de l'Europe et des États-Unis (B)	29
Figure 13 : Pollution atmosphérique urbaine particulaire PM ₁₀ dans le monde	30
Figure 14 : Concentrations moyennes annuelles de PM _{2.5} (µg/m ³) de 2001 à 2006	31
Figure 15 : Émissions des automobiles et motos à Cotonou	33

Figure 16 : Pollution particulaire à Cotonou-----	35
Figure 17 : Phénomène de taxi-motos à Cotonou (principal mode de transport)----	36
Figure 18 : Phénomène d'essence frelatée -----	38
Figure 19 : Pollution atmosphérique dans l'agglomération de Paris -----	39
Figure 20 : Pollution de l'air au-dessus de New-York -----	39
Figure 21 : Pollution atmosphérique à Moscou-----	40
Figure 22 : La pollution atmosphérique chinoise parvient jusqu'en Tokyo-----	40
Figure 23 : Pollution atmosphérique à Pékin le 9 mars 2013, aggravée par une tempête de sable-----	40
Figure 24 : Pollution atmosphérique à grande échelle à Séoul-----	40
Figure 25 : Téhéran sous la pollution atmosphérique-----	41
Figure 26 : La présidence enveloppée par la pollution de l'air à New Delhi-----	41
Figure 27 : Les populations de New Delhi en Inde ressentent l'air dégradé-----	41
Figure 28 : La pollution atmosphérique à Dakar-----	41
Figure 29 : La ville de Cotonou entourée par la pollution atmosphérique-----	42
Figure 30 : Principales sources anthropiques émettrices des polluants majeurs de l'atmosphère -----	52
Figure 31 : Quelques bioindicateurs et bioaccumulateurs de pollution de l'air -----	58
Figure 32 : Estimation visuelle des dégâts foliaires après une exposition des plantes à la pollution atmosphérique -----	58
Figure 33 : Développement des croûtes noires dues à la pollution de l'air -----	62
Figure 34 : Structure de l'appareil respiratoire -----	67
Figure 35 : Mécanismes de déposition dans le système respiratoire en fonction de la granulométrie des particules -----	68

Figure 36 : Principaux effets toxiques résultant de l'interaction entre un composé xénobiotique et les constituants cellulaires -----	73
Figure 37 : Schéma illustrant le métabolisme des xénobiotiques -----	76
Figure 38 : Mécanismes de l'induction du gène CYP1A1 par activation transcriptionnelle et rétrocontrôle négatif de AhR par AhRR -----	78
Figure 39 : Métabolisme du benzène -----	80
Figure 40 : Principales sources des espèces réactives de l'oxygène -----	83
Figure 41 : Principaux dommages induits par les espèces réactives de l'oxygène ----	85
Figure 42 : Schéma illustrant les principaux mécanismes de défense induits par les particules atmosphériques dans les poumons -----	91
Figure 43 : Phénomène de la diapédèse leucocytaire chez les polynucléaires neutrophiles -----	94
Figure 44 : Interactions et rétrocontrôles des principales cytokines étudiées -----	100
Figure 45 : Structure de l'acide arachidonique -----	104
Figure 46 : Principales voies de métabolisation de l'acide arachidonique -----	105
 Chapitre 2 : Démarche expérimentale	
Figure 47 : Cellules BEAS-2B en culture observées au microscope (X1000) -----	112
Figure 48 : Carte du site de prélèvement à Cotonou -----	116
Figure 49 : Retrotrajectoires des masses d'air pendant la campagne de prélèvement -----	117
Figure 50 : Schéma de l'impacteur en cascade utilisé pour le prélèvement -----	118
Figure 51 : Méthodologie générale de l'étude -----	120

Figure 52 : Principe de la granulométrie laser -----	121
Figure 53 : Méthode BET pour la détermination de la surface spécifique -----	122
Figure 54 : Principe de fonctionnement de l'ICP-MS-----	125
Figure 55 : Schéma simplifié d'une chromatographie ionique -----	127
Figure 56 : Schéma illustrant les différentes parties de la GC-MS -----	129
Figure 57 : Représentation schématique d'un extracteur soxhlet -----	131
Figure 58 : Schéma simplifié de l'analyseur CHNS -----	132
Figure 59 : Schéma de microplaque pour l'étude de la cytotoxicité-----	136
Figure 60 : Structure et principe de fonctionnement de la sonde TaqMan® -----	140
Figure 61 : Technique ELISA pour le dosage des médiateurs de l'inflammation ---	150

Synthèse générale & Perspectives

Figure 62 : Schéma simplifié des mécanismes possibles induits par les particules à partir des données du tableau de corrélation-----	259
---	-----

Liste des Tableaux

Chapitre 1 : Pollution atmosphérique & ses conséquences

Tableau 1 : Normes directives de l'OMS et de l'UE concernant les $PM_{2.5}$ et PM_{10} -----	23
Tableau 2 : Les dix pays les plus émetteurs de CO_2 dans l'atmosphère -----	26
Tableau 3 : Estimations des émissions annuelles des principaux polluants de l'air à Cotonou en 2005 -----	34
Tableau 4 : Principales législations européennes régulant les émissions des polluants atmosphériques-----	44
Tableau 5 : Valeurs guides des principaux polluants atmosphériques -----	45
Tableau 6 : Normes de qualité de l'air ambiant au Bénin comparées à celles de l'OMS -----	48
Tableau 7 : Estimation des émissions de particules dans l'atmosphère -----	55
Tableau 8 : Quelques ratios d'identification des sources de pollution -----	61
Tableau 9 : Les effets de la pollution de l'air sur l'environnement -----	64
Tableau 10 : Principales espèces réactives de l'oxygène-----	82
Tableau 11 : Études <i>in vitro</i> sur les effets oxydatifs induits par les particules atmosphériques-----	90
Tableau 12 : Études sur les réponses inflammatoires induites par les particules atmosphériques-----	102

Chapitre 4 : Particules atmosphériques $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$: Caractérisation physicochimique

Tableau 13 : Ensemble des données de prélèvements et concentrations des particules
----- 168

Synthèse générale & Perspectives

Tableau 14 : Caractéristiques physicochimiques des deux types de particules ----- 243

Tableau 15 : Indicateurs de source des composés adsorbés sur les PM ----- 245

Tableau 16 : Corrélation entre les différents paramètres étudiés ----- 249

Tableau 17 : Caractéristiques chimiques des $PM_{2.5}$ des trois villes ----- 256

Tableau 18 : Indicateurs de source des composés adsorbés sur les $PM_{2.5}$ des trois villes (Cotonou, Abidjan et Dakar) ----- 257

Acronymes & Abréviations

— A —

AA :	Acide arachidonique
AhR :	Aryl hydrocarbon receptor
AhRR :	Aryl hydrocarbon receptor repressor
ARNT :	Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator
AVC :	Accidents vasculaires cérébraux

— B —

B :	Benzène
B(a)P :	Benzo(a)pyrène
BET :	Brunauer Emmet and Teller
BHT :	Butylhydroxytoluène
BLT1 :	Récepteur LTB4-1
BPCO :	Broncho-pneumopathie chronique obstructive
BrdU :	5-Bromo-2'-DésosyUridine
BTEX :	Benzène, toluène, éthylbenzène, xylène

— C —

CAN :	Canada
CAT :	CAT :Catalase
CI :	Concentration inhibitrice
CIRC :	Centre Internationale de Recherche sur le Cancer
CO :	Monoxyde de carbone
CO ₂ :	Dioxyde de carbone
COVNM :	Composés organiques volatils non méthanique
COVs :	Composés organiques volatils
COX :	Cyclooxygénase
CYP :	Cytochromes P450

— D —

DHm :	DésHydrogénase mitochondriale
-------	-------------------------------

— E —

EB :	Ethylbenzene
EEA :	European Environment Agency
EIA :	Enzyme Immuno Assay
ELISA :	Enzyme linked ImmunoSorbent Assay
EMEP :	European Monitoring and Evaluation Programme
EPA :	Environmental Protection Agency
ERO :	Espèces réactives de l'oxygène
EROD :	Ethoxyrésorufine-O-dééthylase
ERX :	Éléments de réponse aux xénobiotiques
ESA :	European Space Agency
ETBE :	Éther éthyle tertibutyle
ETM :	Éléments traces métalliques

— G —

GES :	Gaz à effet de serre
GPx :	Glutathion peroxydase
GR :	Glutathion réductase
GSH :	Glutathion réduit
GSH-Px :	Glutathion peroxydase
GSSG :	Glutathion disulfure
GST :	Glutathion-S-transférase
Gt :	Milliards de tonnes

— H —

H ₂ O ₂ :	Peroxyde d'hydrogène
H ₂ SO ₄ :	Acide sulfurique
HAPs :	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HFC :	Hydrofluorocarbure
HNE :	4-hydroxy-2-nonal
HPGPx :	GPx phospholipide-hydroperoxyde
Hsp90 :	Heat shock protein

— I —

ICE : IL-1 β -convertase enzyme
 IL : Interleukine

PM_{2.5} : Particules \leq à 2,5 μm
 PM_{2.5-10} : 2,5 μm \leq Particules \leq à 10 μm
 ppb : Partie par billion
 ppm : Partie par million
 PUF : Particules ultrafines

— L —

LDH : Lactate DésHydrogénase
 LTB₄ : Leucotriène B₄
 LTC₄ : Leucotriène C₄
 LTC₄S : LTC₄ synthase
 LTD₄ : Leucotriène D₄
 LTE₄ : Leucotriène E₄

SF₆ : Hexafluorure de soufre
 SO₂ : Dioxyde de soufre
 SOD : Superoxyde dismutase
 SPE : Solid phase extraction
 SULT : Sulfotransférase

— S —

— M —

MDA : Malondialdehyde
 MDR : Multi drug resistance protein
 MPO : Myéloperoxydase
 MRP : Multi drug resistance-associated protein
 Mt : Mégatonnes

T/B : Toluène/benzène
 TBA : Acide thiobarbiturique
 TEOM-FDMS : Tapered element oscillating microbalance coupled with Filter Dynamics Measurement Systems
 TMB : Triméthylbenzène
 TSP : Particules totales
 TXA₂ : Thromboxane A₂

— T —

— N —

N₂O : Protoxyde d'azote
 NF-kB : Nuclear Factor-kB
 NO_x : Oxydes d'azote
 NQO1 : NADPH quinone oxydoréductase

UE : Union Européenne
 UGT : UDP-glucuronosyltransférase
 USA : États-Unis

— U —

— O —

O₂⁻ : Anion superoxyde
 O₃ : Ozone
 8-OHdG : 8-hydroxy-désoxyguanine
 OMS : Organisation Mondiale de la Santé

VLE : Valeurs limites d'exposition
 VLR : Valeurs limites réglementaires

— V —

— P —

PARP : Poly(ADP-ribose) polymérase
 PBS : Phosphate-buffered saline
 PDi : Particules diesel
 PGP : P-glycoprotéine
 PM : Particulate matter
 PM_{0.1} : Particules \leq à 0,1 μm
 PM₁ : Particules \leq à 1 μm
 PM₁₀ : Particules \leq à 10 μm

X/E : Xylène/éthylbenzène

— X —

Contexte & Objectifs

La qualité de l'air a connu ces dernières décennies une attention particulière. Ceci fait suite à l'augmentation régulière de la pollution atmosphérique enregistrée de par le monde, avec pour cause des rejets dans l'atmosphère d'éléments toxiques principalement d'origine anthropique. Ceci engendre des dégradations évidentes et importantes de l'environnement et des écosystèmes.

Par ailleurs, la modernisation des outils de production et le développement sans cesse croissant des nouvelles technologies se sont accompagnés d'intenses activités industrielles, agricoles, commerciales et de transport favorisant un fort exode rural notamment dans les pays émergents du sud. Ce sont les facteurs déterminants de la pollution atmosphérique dans les grandes agglomérations urbaines qui ont nécessité des études épidémiologiques et toxicologiques afin d'évaluer les conséquences sanitaires que peuvent engendrer les polluants toxiques. Ces polluants largués constamment dans l'atmosphère, pénètrent principalement le corps humain par le système respiratoire (Badyda et al., 2013; Chuang et al., 2013; Wang et al., 2013). Ils peuvent atteindre les organes où s'effectuent les échanges d'oxygénation du sang ainsi que les parties inférieures des tissus pulmonaires que sont les alvéoles.

De récentes recherches scientifiques ont montré la relation existante entre la pollution de l'air et les effets sur la santé humaine tels que les maladies cardiovasculaires et pulmonaires, les cancers de nombreux organes aux fonctions vitales du corps humain, avec pour conséquence la réduction de l'espérance de vie dans l'Union Européenne de plus de huit mois (European Environment Agency, 2013), la mortalité et la morbidité (Kelly and Fussell, 2012; Khan et al., 2010; Merbitz et al., 2012; Pope et al., 2011; Raaschou-Nielsen et al., 2011; Sun et al., 2012; Turner et al., 2011). En 2008, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a rapporté que 1,3 million de décès annuels de par le monde seraient imputables à la

pollution atmosphérique, dont 82 000 en Afrique Subsaharienne ([World Health Organization, 2008](#)). L'OMS a enregistré (entre 2004 et 2008) aussi une augmentation de 16 % du nombre total de décès attribuables à la pollution de l'air.

Parmi les différents types de pollution atmosphérique, la pollution particulaire tient une place importante (particules en suspension = particulate matter : PM). Elle est décrite dans la littérature comme étant un mélange complexe de métaux, de sels, de composés organiques issus de la combustion et de carbone élémentaire ainsi que de microorganismes ([Baulig et al., 2009](#); [Osornio-Vargas et al., 2011](#); [Perrone et al., 2010](#)). Ces polluants particulaires sont généralement subdivisés en deux grandes classes que sont les particules fines et les particules grossières. Les particules fines (PM_{2.5}) ont une taille granulométrique inférieure à 2,5 µm et sont reconnues, à travers des études épidémiologiques comme étant associées aux différentes pathologies précédemment citées ainsi qu'à l'asthme surtout chez les enfants et à la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) qui affecte tant l'enfant que l'adulte ([Boublil et al., 2013](#); [Gualtieri et al., 2010](#); [Michael et al., 2013](#)). Ces particules fines sont capables d'adsorber à leur surface des composés organiques volatils (COVs), des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et de favoriser la formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO), conduisant ainsi à l'induction du stress oxydant dans les cellules, des réponses inflammatoires, des dommages à l'ADN et à la mort cellulaire ([Dergham et al., 2012](#); [Gualtieri et al., 2011](#); [Okuda, 2013](#); [Reche et al., 2012](#)). Elles se sont révélées être plus toxiques en terme de nombre que les grosses particules (PM₁₀) ([Senlin et al., 2008](#)) qui ont un diamètre inférieur à 10 µm et sont connues pour leurs propriétés cytotoxiques et proinflammatoires ([Camatini et al., 2012](#); [Gualtieri et al., 2010](#); [Longhin et al., 2013](#)).

Vu la diversité des maladies imputables à la pollution particulaire, de nombreuses études ont été conduites afin d'évaluer les effets sanitaires afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-jacents à l'exposition aux PM ([Boublil et al., 2013](#); [Dergham et al., 2012](#); [Dieme et al., 2012](#); [Sun et al., 2012](#)). Dans les pays industrialisés, des plans de mesures de protection

et de réglementation se sont très rapidement implantés avec comme objectif bien précis la réduction des émissions des différents polluants atmosphériques. Les pays en développement connaissent eux, un démarrage ralenti de prises de décision, de réglementation contre les concentrations croissantes de la pollution de l'air. En Afrique Subsaharienne, peu de données sont disponibles concernant l'évaluation des effets sanitaires de la pollution particulaire (Adohinzin et al., 2011; Diouf et al., 2006; Kouassi et al., 2010). De nombreuses recherches ont montré l'influence de la caractérisation des aérosols particuliers sur les réponses biologiques (Dergham et al., 2012; Oh et al., 2011; Peacock et al., 2011). De récentes études toxicologiques conduites en Afrique de l'Ouest, plus précisément au Sénégal (Dakar, Dieme et al., 2012) où des particules fines PM_{2.5} avaient induits dans des cellules épithéliales bronchiques humaines (cultivées *in vitro*) des perturbations du cycle cellulaire ainsi que des effets oxydatifs et inflammatoires. C'est le cas également dans une étude réalisée en Côte d'Ivoire (Abidjan, Kouassi et al., 2010) où la composition hétérogène des particules fines en suspension dans l'air est suspectée être responsable des effets oxydatifs sur des cellules de carcinome du poumon humain.

À Cotonou, la capitale économique du Bénin, une mauvaise qualité de l'air a été récemment reportée (Cachon et al., 2013). L'augmentation de la pollution atmosphérique enregistrée est due principalement à l'exode rural (populations rurales en quête de devenir meilleurs dans les villes) (United Nations, 2010), au manque de transport en commun, à l'utilisation de véhicules vétustes (plus de 15 ans d'âge) (Programme des Nations Unies pour l'Environnement, 2013), de cyclomoteurs à deux temps très polluants et à la vente d'essence illicite aux abords des voies (Avogbe et al., 2011; Ayi Fanou et al., 2006; Cachon et al., 2013). Actuellement, il est estimé que plus de 94 000 cyclomoteurs et 350 000 véhicules d'occasion sont en circulation à Cotonou (Kèlomé et al., 2006). De plus, des bombonnes de carburant contenant de l'essence sans plomb de piètre qualité commercialisée depuis le Nigéria voisin sans aucune précaution, abondent les rues et les artères de Cotonou. Ce phénomène galopant favorise la libération dans l'air de certains composés chimiques volatils comme le benzène, classé cancérigène par

le Centre Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC, 1974). Aussi, ces essences vendues au Bénin respectent-elles les normes standards qui spécifient le taux de benzène de 1 % dans l'essence sans plomb ? Ayi-Fanou et al. (2011) a montré que les niveaux élevés de concentrations des polluants chimiques dans l'air favorisent l'apparition des adduits encombrants à l'ADN chez les populations citadines de Cotonou alors que Avogbe et al. (2011) a rapporté des perturbations hématologiques à travers une diminution des globules rouges, des lymphocytes et des neutrophiles parmi une cohorte de conducteurs de taxi-motos exposés à des concentrations dans l'ordre de 0,1 ppm de benzène. Il apparait de ce fait important d'avoir une meilleure connaissance de la pollution de l'air, de son impact délétère sur la santé des populations et de disposer des outils d'évaluation précoce des mécanismes de toxicité et d'action des polluants.

Dans une continuité des quelques recherches déjà effectuées, la présente thèse a pour objectif de se focaliser sur l'étude des particules fines ($< 2,5 \mu\text{m}$) et grosses ($> 2,5 \mu\text{m}$) telles que définies ci-dessus ainsi que leur toxicité, ce qui est une première au Bénin. Ainsi, cette étude aura quatre principaux objectifs :

- A) Déterminer la composition et l'origine de l'essence utilisée au Bénin.
- B) Contribuer à une meilleure connaissance de la composition chimique et des propriétés physiques de la pollution particulaire de Cotonou et plus particulièrement des polluants particulaires ayant un diamètre inférieur compris entre 0,3 et 2,5 μm ($\text{PM}_{2.5}$) et de ceux ayant une taille compris entre 2,5 et 7,2 μm ($\text{PM}_{>2.5}$).
- C) Évaluer les effets toxiques des deux types de particule sur des cellules épithéliales bronchiques humaines (BEAS-2B) en culture *in vitro*.
- D) Enfin, comparer les caractéristiques des particules fines $\text{PM}_{2.5}$ collectées au Bénin avec celles des pays de l'Afrique de l'Ouest comme la Côte d'Ivoire et le Sénégal.

Ces objectifs nous conduisent à articuler la présente thèse en six principaux chapitres :

- I. Présenter une synthèse bibliographique sur la pollution atmosphérique et ses conséquences en mettant en exergue les différents types de pollution atmosphérique, les sources d'émission, les réglementations, les bioindicateurs dans l'évaluation et la surveillance de la qualité de l'air.
- II. Décrire la démarche expérimentale, en présentant plus particulièrement les différentes techniques analytiques utilisées.
- III. Indiquer les principaux facteurs favorisant la mauvaise qualité de l'air à Cotonou notamment l'étude des essences utilisées dans les véhicules à moteur à deux et à quatre roues en vue d'identifier les principaux composants des essences et les traceurs de source de pollution.
- IV. Caractériser de façon physicochimique les matières particulaires $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$ afin de déterminer le cocktail toxique adsorbé sur les particules.
- V. Évaluer les réponses biologiques des cellules exposées aux particules en mettant en évidence le potentiel toxique des polluants particulaires sur les poumons, l'altération de la membrane cellulaire, la viabilité des cellules, l'activité mitochondriale ainsi que les réponses oxydatives et inflammatoires induites par les particules.
- VI. Enfin, faire l'étude comparative de la pollution particulaire $PM_{2.5}$ en Afrique Subsaharienne en décrivant particulièrement les caractéristiques des particules fines de trois pays de l'Afrique de l'Ouest que sont le Bénin, la Côte d'Ivoire et le Sénégal.

Ce manuscrit présentera pour terminer, une synthèse générale, les perspectives et les recommandations de cette étude.

Chapitre 1

Pollution atmosphérique & ses conséquences

A. Pollution atmosphérique

On évoque le terme de pollution de l'air lorsque celui-ci est altéré par des éléments chimiques et/ou biologiques à caractère polluant. Cet air pollué devient à court ou à long terme nuisible à notre santé et à l'environnement : on parle de pollution de l'air ou pollution atmosphérique. La pollution atmosphérique est une problématique qui a réveillé les consciences depuis le début de l'ère industrielle dès 1848, et est devenu plus visible à la fin du XIXe siècle. Ce phénomène a retenu l'attention des décideurs publics, qui se sont penchés résolument sur le devenir de notre environnement en commençant par lui donner une définition adéquate à partir du milieu du siècle précédent.

Ainsi, plusieurs définitions de la pollution atmosphérique ont vu le jour depuis 1968. Chacun des grands pays développés et en émergence dispose de ses propres lois et normes en matière d'environnement. Les définitions sont parfois variées et spécifiques, mais convergent toutes vers les mêmes concepts de base. Il a fallu attendre la fin du XXe siècle pour avoir la définition la plus utilisée qui est celle de la loi sur l'air et l'utilisation rationnelle de l'énergie de 1996 qui décrit la pollution de l'air ou la pollution atmosphérique comme étant : **« L'introduction par l'Homme directement ou indirectement, dans l'atmosphère et les espaces clos, de substances ayant des conséquences préjudiciables de nature à mettre en danger la santé humaine, à nuire aux ressources biologiques et aux écosystèmes, à influencer sur les changements climatiques, à détériorer les biens matériels et à provoquer des nuisances olfactives »** (ADEME, 1996). Cette définition ressort l'aspect anthropique de la pollution de l'air. Ce qui dénote que les activités humaines sont en générales les plus productrices de pollution atmosphérique. Les polluants rejetés dans l'air connaissent des concentrations variables et sont fonction de différents paramètres tels la température, la pluie, l'ensoleillement, le vent, etc. Notre environnement est donc menacé par nos propres activités et ceci à différentes échelles.

1. Échelles de la pollution atmosphérique

La pollution de l'air que nous abordons dans ce travail de thèse sera présentée à trois niveaux : à l'échelle locale, régionale et planétaire ou globale.

1.1 Pollution atmosphérique locale

La pollution atmosphérique locale est essentiellement due aux activités humaines et s'observe notamment dans les agglomérations quand on est proche des sources d'émissions comme les émanations des systèmes de chauffage des habitations, les rejets industriels et des gaz liés aux moyens de transport, etc. comme le montre la figure 1. Les polluants induits sont en général d'origine métallique qualifiés de matières particulaires (« particulate matter : PM » en anglais) ou oxyde comme le monoxyde de carbone (CO), le dioxyde de soufre (SO₂), les oxydes d'azote (NO_x) ou encore carbonée comme les composés organiques volatils (COVs), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), le carbone élémentaire ou carbone suie, etc. La pollution de proximité à l'échelle locale affecte la santé des populations, nuit aux plantes et au développement agricole et favorise la dégradation des monuments et des bâtiments.

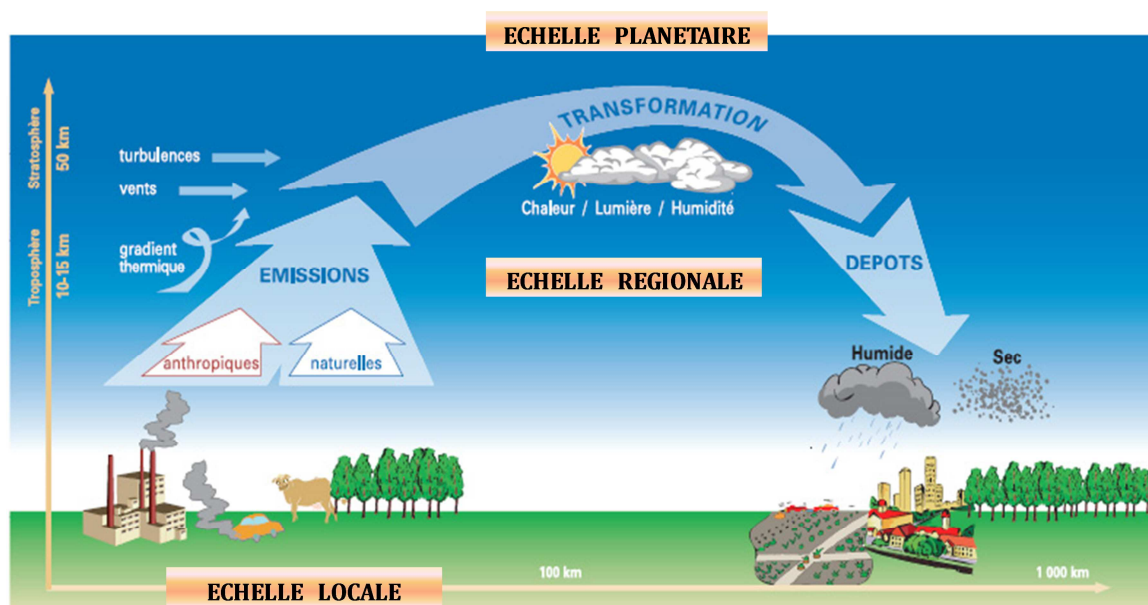


Figure 1 : Différentes échelles de pollution atmosphérique
(Source : adaptée de ADEME in AFSSET, 2006)

1.2 Pollution atmosphérique régionale

Cette forme de pollution recouvre de larges territoires et est souvent décrite comme étant le résultat de la transformation chimique ou photochimique des polluants primaires (SO_2 , NO_x , COVs, etc.) en polluants secondaires (O_3 : ozone troposphérique, acide sulfurique, acide nitrique, etc.). Ces polluants sont issus des rejets des villes et des campagnes (engrais chimiques agricoles et feux de brousse en particulier) et sont généralement à l'origine des pluies acides. C'est une pollution décalée des sources émettrices. Elle est caractérisée par la formation de brouillard ou smog (en anglais) lorsque les concentrations en ozone (mauvais ozone) dans l'air ambiant sont élevées.

1.3 Pollution atmosphérique planétaire

La pollution atmosphérique globale ou planétaire est une pollution qui contribue aux changements climatiques. Le réchauffement planétaire causé par l'accumulation des gaz à effet de serre est l'une des caractéristiques de cette pollution. Elle affecte la couche d'ozone stratosphérique (bon ozone) notamment à partir des rejets dans l'air du dioxyde de carbone (CO_2), du méthane, du protoxyde d'azote (N_2O) et des gaz halogénés (hydrofluorocarbure : HFC, hexafluorure de soufre : SF_6 , etc.) issus des activités domestiques. Cette réduction de la couche d'ozone protégeant des radiations ultraviolettes peut causer des dommages tels que le cancer de la peau chez l'homme.

2. Polluants classiques de l'air

La composition chimique de l'air dépend de plusieurs facteurs et résulte d'un mélange très complexe de centaines de polluants difficilement quantifiables. Il existe naturellement dans l'air certains polluants qui connaissent des concentrations variables qui deviennent parfois très critiques souvent en raison des activités anthropiques. Les majeurs polluants secondaires et primaires de l'air couramment rencontrés sont :

- l'ozone troposphérique (O₃),
- les oxydes d'azote (NO_x),
- le monoxyde de carbone (CO),
- le dioxyde de soufre (SO₂),
- les composés organiques volatils (COVs),
- les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs),
- les métaux lourds (plomb, cadmium, etc.),
- les matières particulaires en suspension.

Les matières particulaires font partie de la pollution particulaire qui est une forme de pollution atmosphérique très peu connue du grand public. Le monde scientifique s'attèle de plus en plus de nos jours à mieux comprendre cette forme de pollution, ses origines et son impact sur la santé humaine. Cette pollution particulaire constituera particulièrement l'objet de notre étude.

3. Pollution particulaire

Depuis quelques décennies, les particules atmosphériques viennent agrandir le nombre de polluants généralement retrouvés dans l'atmosphère. Elles participent fortement à la pollution particulaire qui est généralement définie comme étant un mélange complexe de substances microscopiques solides et/ou liquides en suspension dans l'air. Elles subissent des trajectoires variables, peuvent être transportées sur plusieurs milliers de kilomètres et demeurer longtemps dans l'atmosphère à cause de leur très faible sédimentation gravitationnelle liée à leur masse.

La pollution particulaire regroupe les aérosols solides et liquides qui proviennent de sources directes ou indirectes. Ils sont majoritairement issus de l'influence humaine, mais proviennent également des éruptions volcaniques et des incendies naturels de forêts surtout en période chaude. Les aérosols sont formés à partir de la condensation de gaz atmosphériques, de la végétation (suspensions de spores, de pollens), de la vaporisation de l'eau de mer, du soulèvement de poussières, etc. La durée de vie des aérosols dépend principalement de leur taille

qui varie approximativement entre 0,001 μm et 100 μm (Ahmadi, 2004). Les aérosols ayant une taille de l'ordre de 10 μm restent quelques heures dans l'atmosphère alors que les plus petits (inférieurs à 0,1 μm) ont une durée de vie de plusieurs jours. Leur évolution dans l'atmosphère dépend de la concentration en particules, de l'agrégation de particules fines dans la fraction grossière, etc. Les effets des particules dépendent de leur taille, leur nature et de leur composition en éléments chimiques (Plé et al., 2013) et en éléments biologiques comme les pollens, les spores, les bactéries, les champignons, etc. La classification des particules est liée à ce paramètre très déterminant qu'est la taille dans leur caractérisation physicochimique et dans la détermination des impacts négatifs qu'elles peuvent engendrer. Elle est appelée aussi diamètre aérodynamique, terme plus utilisé dans le monde scientifique. Comme les particules ne sont pas toutes sphériques, il est parfois difficile de définir leur taille.

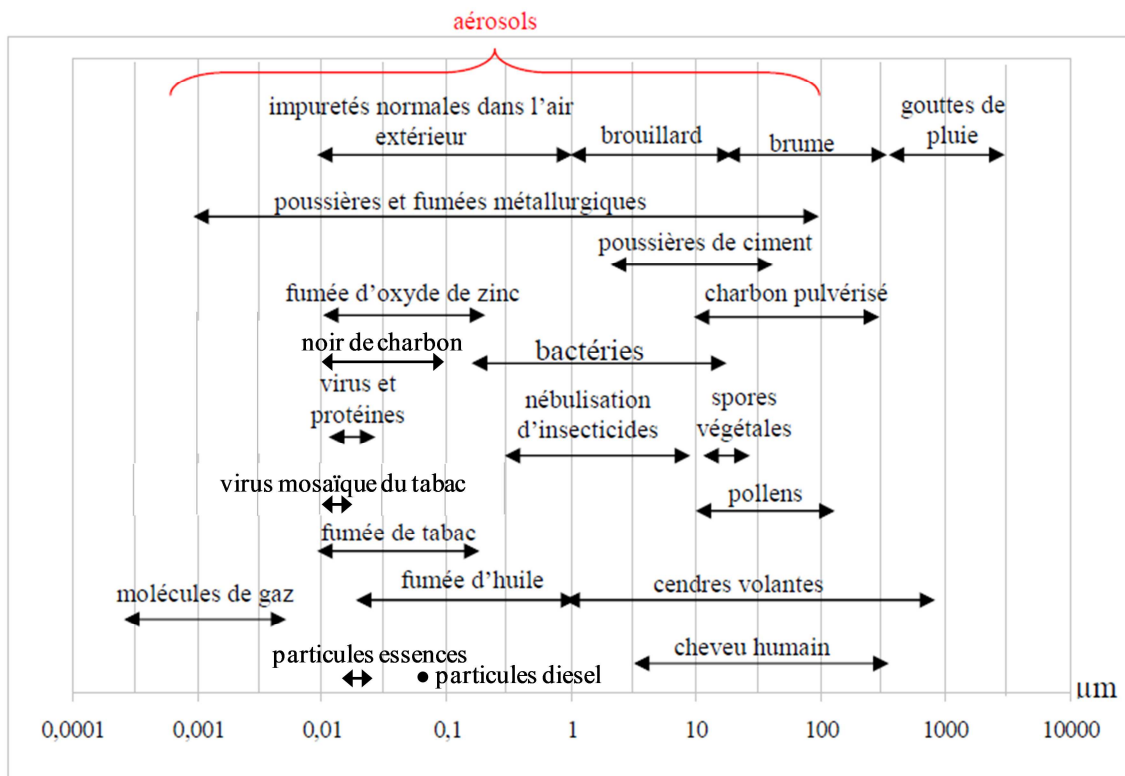


Figure 2 : Diamètres aérodynamiques des aérosols dans l'atmosphère
(Source : adaptée de Lamy, 2004)

C'est ainsi que le concept de « *diamètre aérodynamique* » est né et décrit le diamètre d'une sphère à la densité normalisée de 1 g/cm^3 (Debry, 2010) qui a la même vitesse de chute dans l'air immobile ou fluide que les particules elles-mêmes dont on ne connaît pas précisément la forme. La figure 2 illustre les différents diamètres (en micromètre) des différentes substances dans l'atmosphère.

Aussi, le terme aérosol est parfois utilisé à tort en parlant de particules atmosphériques. En effet, l'aérosol regroupe un grand nombre de petites particules liquides (gouttelettes en suspension, brouillards, nébulisation des peintures, des lubrifiants, des pesticides, des détergents, etc.) et solides (suspension de farine, de ciment, de poussière, etc.) d'origines diverses et renfermant des composés chimiques et/ou biogéniques. Le développement de cette étude ne tient pas compte de la fraction « vivante » ou biologique des aérosols, mais se concentre essentiellement sur l'aspect physique des matières particulaires ainsi que les composés chimiques adsorbés sur leur surface.

3.1 Matières particulaires

Les matières particulaires encore appelées particules en suspension ou poussières en suspension ou encore particules atmosphériques ou particulate matter PM sont autant de terminologies pour décrire un mélange de solides et de liquides en suspension dans l'air. Généralement, dans les grandes villes, la caractérisation de ces matières particulaires désigne celle des particules et des émanations en suspension dans l'air ambiant, qui se déposent et s'accumulent sous forme solide à la surface des infrastructures routières, immobilières, des monuments et même sur des surfaces des murs, planchers et plafonds à l'intérieur des maisons.

Les particules en suspension sont des polluants à l'échelle microscopique, de quelques nanomètres à quelques dizaines de micromètres. Elles proviennent le plus souvent des processus de combustion (imbrûlé des chambres de combustion des moteurs à explosion, pot d'échappement des voitures, systèmes de chauffages

au bois, feux de brousse, etc.) : on parle de « **particules primaires** ». Ces particules sont aussi issues de l'usure pneumatique, du frottement des freins, des poussières naturelles, de la fumée de cigarette, des centrales thermiques, des émanations industrielles, etc. Elles subissent dans l'atmosphère des réactions chimiques ou photochimiques suite à des interactions avec d'autres polluants primaires. Ces interactions et transformations complexes conduisent à la formation d'autres particules plus complexes appelées « **particules secondaires** » à partir des gaz précurseurs (dioxyde de soufre, oxydes d'azote, ammoniac, composés organiques volatils).

Les matières particulaires contiennent entre autres des espèces chimiques telles que SO₂, NO_x, métaux lourds et hydrocarbures aromatiques polycycliques. Elles sont responsables de la pollution atmosphérique urbaine et de la formation d'ozone troposphérique (mauvais ozone, chef de file de la pollution photooxydante) qui sont le résultat des réactions photochimiques impliquant des précurseurs notamment les oxydes d'azote (NO, NO₂) et les COVs. Ces particules se forment dans l'atmosphère à différentes échelles granulométriques, et suivant des mécanismes plus ou moins complexes.

3.2 Mécanismes de formation des particules

Bien que certaines particules se retrouvent directement dans l'atmosphère à partir des aérosols naturels ou anthropiques (sel de mer provenant des embruns, résidus de combustion incomplète, pollen, etc.), un grand nombre de particules se forment cependant dans l'atmosphère à partir des phénomènes récemment élucidés (Metzger et al., 2010). Les processus de formation des matières particulaires se résument généralement à trois mécanismes. Il s'agit de la nucléation, la condensation et la coagulation qui sont représentées sur la figure 3.

➡ **Nucléation** : Une fraction significative du nombre total de particules présentes dans l'atmosphère est formée initialement par nucléation homogène à partir de la phase gazeuse (Curtius, 2006) : c'est la genèse des particules. Ces

particules ont un diamètre compris entre 1 et 2 nm. Le phénomène de nucléation que connaissent ces particules a été souvent basé sur la combinaison de deux molécules d'acide sulfurique (H_2SO_4), gaz précurseur essentiel.

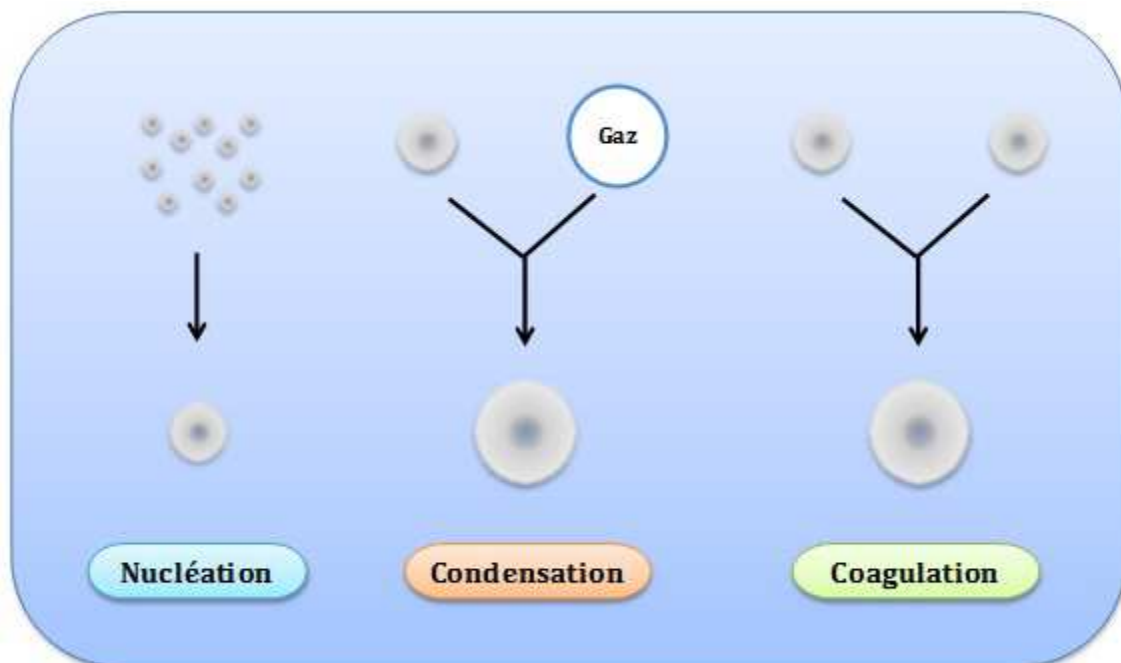


Figure 3 : Mécanismes de formation des particules

L'équipe d'[Axel Metzger](#) a décodé récemment dans une chambre à smog (pour la reproduction des processus atmosphériques) le mystère caché par le mécanisme de la nucléation : ***l'association d'une molécule d'acide sulfurique et d'une molécule organique***. En effet, sous l'action de la lumière du soleil, le dioxyde de soufre (SO_2) se transforme en H_2SO_4 et le triméthylbenzène (TMB) s'oxyde en composés moins volatils. La combinaison de ces deux produits d'oxydation conduit à une concentration d'acide sulfurique proche de celle retrouvée dans l'atmosphère lors du mécanisme de nucléation ([Metzger et al., 2010](#)). Cependant, l'identité de la molécule organique n'est pas élucidée.

➤ **Condensation :** C'est un processus où des molécules gazeuses se condensent sur les particules. Ce mécanisme augmente le diamètre des particules tout en conservant leur nombre.

➤ **Coagulation :** C'est un processus qui augmente le diamètre des particules primaires en diminuant leur nombre. Il s'agit ici de la formation d'une particule à partir de la combinaison de deux ou plusieurs particules élémentaires.

Ces mécanismes de formation des matières particulaires conduisent à différentes classes de particules réparties suivant la distribution de leur diamètre aérodynamique.

3.3 Différents types de matières particulaires

Les particules ayant différents diamètres aérodynamiques, possèdent des propriétés différentes de pénétration dans le système respiratoire humain. Des connaissances sur la distribution de leur taille sont donc essentielles pour estimer leur degré de nuisance sur la santé. Ainsi, les particules en suspension sont regroupées en plusieurs classes dont les plus connues sont : les PM_{10} , les $PM_{2.5}$, les $PM_{2.5-10}$, les PM_1 , les $PM_{0.1}$ et les particules totales (TSP). La figure 4 illustre les classes granulométriques des particules.

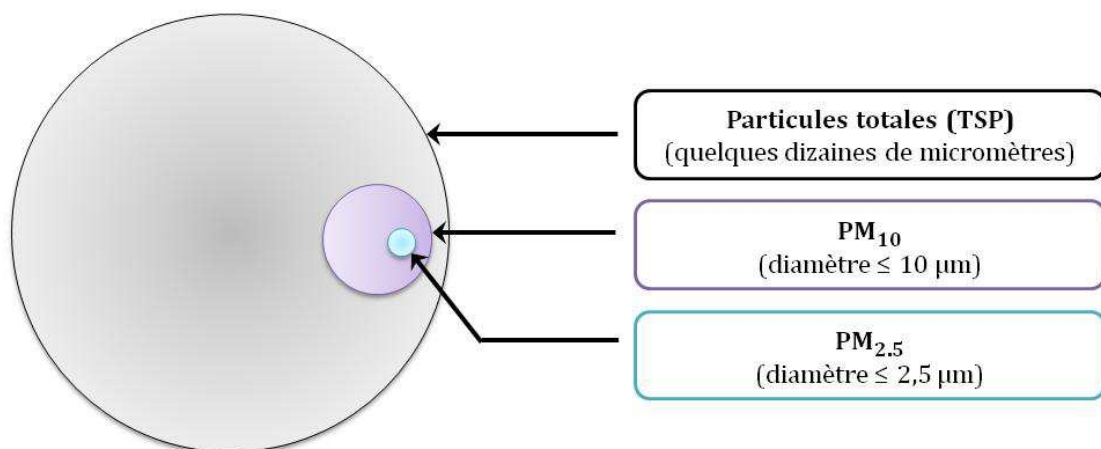


Figure 4 : Principales classes granulométriques des particules

✦ **TSP** : Cette classe de particules regroupe les particules totales en suspension dont la taille peut atteindre quelques dizaines de micromètres. Ces particules sont également appelées « **total suspended particles : TSP** » (Kulshrestha et al., 2009).

✦ **PM₁₀** : Les particules ayant un diamètre aérodynamique inférieur ou égal à 10 µm sont réunies dans cette catégorie. Dans les études toxicologiques, elles sont appelées « **particules inhalables** » (Kulshrestha et al., 2009) et sont connues pour leurs propriétés cytotoxiques et proinflammatoires (Camatini et al., 2012; Gualtieri et al., 2010). Dans la littérature, en terme de masse, les PM₁₀ sont parfois plus toxiques que les PM_{2.5}. Ceci pourrait être dû aux effets combinés de leur taille et de leur composition chimique (Duvall et al., 2008; Osornio-Vargas et al., 2011).

✦ **PM_{2.5}** : Ce sont des particules qui ont un diamètre aérodynamique inférieur ou égal à 2,5 µm. Elles sont connues sous l'appellation « **particules fines** » et sont issues majoritairement du **mode d'accumulation** (allant de 0,1 à 2,5 µm) (Ladji et al., 2009) à partir de la conversion des gaz et de particules en « particules secondaires ». Elles proviennent aussi de la condensation des particules primaires avec des gaz précurseurs (SO₂, NO_x, etc.) et de la coagulation des particules primaires issues des combustibles fossiles (figure 5). Cette fraction fine des particules possède une capacité élevée d'adsorption de composés chimiques et biogéniques tels que des composés organiques volatils, des hydrocarbures aromatiques polycycliques, les métaux, les microorganismes, etc. (Longhin et al., 2013; Osornio-Vargas et al., 2011). Elles ont également la propriété de pénétrer dans l'appareil respiratoire et d'atteindre les alvéoles pulmonaires où elles exercent leur toxicité (Delfino et al., 2011; Raaschou-Nielsen et al., 2011). Elles sont souvent associées à diverses pathologies respiratoires et cardiovasculaires (Boublil et al., 2013; Gualtieri et al., 2010). Dans la littérature, elles se sont révélées être capables d'adsorber des éléments plus toxiques tels que l'As, le Pb, le Zn, le Cd, le Ni, le Cr, etc. (Senlin et al., 2008). Les particules fines peuvent rester dans l'atmosphère pendant plusieurs semaines et peuvent être transportées plus loin

par l'air ambiant (Wang et al., 2013). Les particules fines, par conséquent, influent considérablement sur l'environnement.

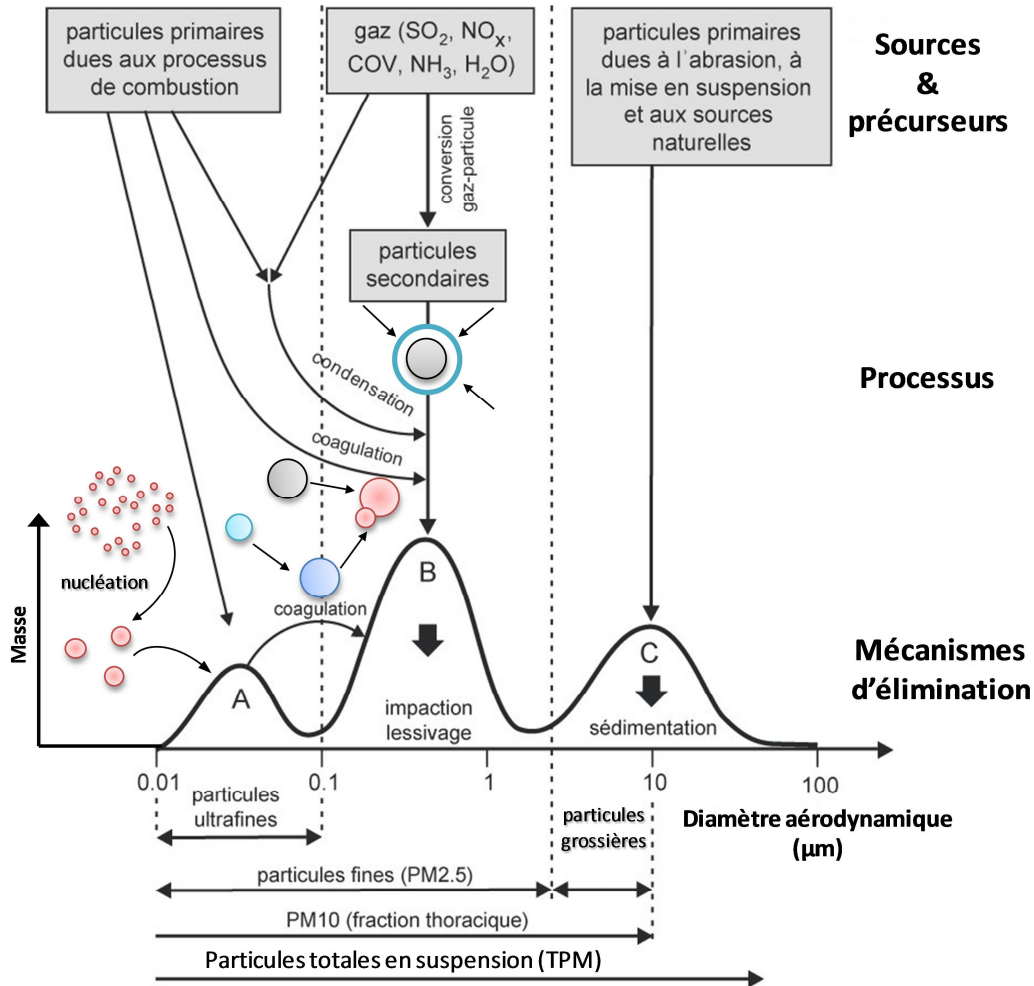


Figure 5 : Distribution de taille des particules et principaux processus
(Source : adaptée de DE TEC, 2011)

➔ **PM_{2,5-10}** : Ces particules ont un diamètre aérodynamique compris entre 2,5 et 10 µm. Pour des études sanitaires, épidémiologiques et toxicologiques, on parle de « **grosses particules** ou **particules grossières** ». Cette fraction comprend le « **mode grossier** » où les particules peuvent fortement contribuer à la masse des particules, mais leur nombre, comparé à celui des particules fines, est cependant très petit. Elles sont issues en grande partie de la sédimentation de

particules primaires provenant entre autre de l'abrasion des pneus et freins ainsi que des sources naturelles. En raison de leur taille relativement grande, les grosses particules tombent généralement sur le sol lorsqu'elles sont soumises à une humidification (Wang et al., 2013).

➤ **PM₁**: Cette classe de particules ne prend en compte que les particules ayant un diamètre aérodynamique inférieur ou égal à 1 µm.

➤ **PM_{0.1}**: Ce sont des particules dont le diamètre aérodynamique est inférieur ou égal à 0,1 µm. Ces « **nanoparticules** » encore appelées « **particules ultrafines : PUF** » sont moins répandues dans l'atmosphère en terme de masse comparées aux particules fines. Grâce à leur très petite taille, elles possèdent des propriétés de pénétration intracellulaire bien spécifique (Geiser et al., 2005). Les particules ultrafines sont directement émises par combustion ou formées dans l'atmosphère par **nucléation** homogène (Ladji et al., 2009) de particules nanométriques.

Toutes les classes citées ci-dessus sont incluses dans les TPM alors que la classe des PM₁₀ inclut les PM_{2.5} comme le montre la figure 5. Les émissions des particules sont généralement quantifiables en termes de masse. Il n'est donc pas correct d'y intégrer des rejets de PM_{2.5} ou de PM₁₀ qui excèdent les TPM. De même, les émissions de PM_{2.5} dans l'air ambiant ne peuvent non plus excéder celles des PM₁₀. La quantification de ces émissions de particules dans l'atmosphère à l'échelle mondiale est parfois difficile à réaliser. Cependant, des normes de réglementation, d'évaluation et de surveillance de la qualité de l'air permettent de réduire progressivement dans les grandes villes occidentales leur émission dans l'atmosphère.

B. Bilan mondial de la pollution atmosphérique

1. Situation dans les pays développés

La pollution de l'air fait annuellement de nombreuses victimes et ceci est dû en grande partie aux rejets importants de polluants dans l'atmosphère provenant principalement des activités anthropiques. En effet, le développement économique important des pays du Nord au cours de la deuxième partie du XXe siècle (période des « trente glorieuses ») a généré des activités industrielles et commerciales de haute densité. Cela a contraint les décideurs publics à prendre des dispositions réglementaires en vue de préserver la santé des populations et de sauvegarder l'écosystème planétaire. Ainsi, Les objectifs du Sommet de Cancun, en 2010, fixent les émissions de CO₂ à 32 milliards de tonnes par an afin de limiter la hausse des températures à 2 °C, seuil au-delà duquel les conséquences du réchauffement climatique risquent de devenir incontrôlables. En 2012, selon le [Service de l'observation et des statistiques](#), 31,7 milliards de tonnes de CO₂ sont émises dans l'atmosphère. Les pays industrialisés contribuent fortement à cette pollution atmosphérique dans le monde dont l'Europe serait responsable de 7,3 tonnes de rejets de CO₂ dans l'atmosphère par habitant en 2010 ([Service de l'observation et des statistiques, 2013](#)).

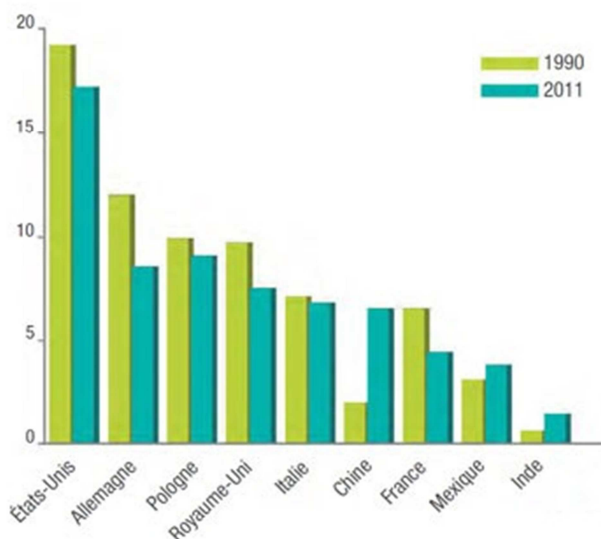


Figure 6 : Émissions directes de CO₂ par habitant dans le monde liées à la combustion de l'énergie (tCO₂/hab)

(Source : ADEME, 2012)

tCO₂/hab = tonnes de CO₂ par habitant

La figure 6 présente les pays de l'Union Européenne les plus émetteurs de CO₂. On y retrouve dans l'ordre pour l'Europe : l'Allemagne, la Pologne, le Royaume-Uni, l'Italie, et la France. Mais il y a également, les États-Unis qui sont en tête de file avec une importante émission de plus de 15 tonnes par habitant en 2011.

Par ailleurs le Canada s'est vu contraint de quitter le protocole de Kyoto à la fin de l'année 2011. En effet, le Canada s'était engagé à réduire ses émissions de gaz à effet de serre (GES) de 6 % en 2012 par rapport au niveau de 1990. En 2010, ses émissions totales de GES s'élevaient à 692 mégatonnes (Mt) d'équivalent de CO₂, ce qui représente 17 % (102 Mt) au-dessus des émissions de 1990¹. Il est à souligner que certains états de l'Union Européenne ont fait un effort dans la réduction de leur émission de CO₂. Ainsi, les émissions ont chuté au Portugal (- 9 %), en Grèce (- 7 %) et en Espagne (- 5 %). En revanche, elles ont connu une hausse en Estonie (+ 26 %), en Suède (+ 15 %), en Finlande (+ 14 %), au Royaume-Uni (+ 3,9 %), en Italie (+ 2,3 %), en Allemagne (+ 1,9 %) et en France (+ 1,8 %) ([Service de l'observation et des statistiques, 2013](#)).

Le dioxyde de soufre SO₂ fait également partie des principaux polluants atmosphériques. Il forme avec l'eau dans l'atmosphère des smogs ou brouillards ainsi que des aérosols d'acide sulfurique. C'est le précurseur des sulfates, principale composante des particules en suspension dans l'atmosphère, aussi responsables des problèmes respiratoires. Dans les pays développés, les émissions anthropogéniques de SO₂ décroissent considérablement et de façon exponentielle depuis les années 1980 jusqu'en 2005. Les émissions dans l'atmosphère de SO₂ venant de l'Europe représentent 9,6 % des émissions globales ([Smith et al., 2011](#)). Les pays de l'Union Européenne les plus pollueurs en SO₂ sont les pays de l'Europe de l'Ouest (Allemagne, Royaume-Uni, Italie, France, Espagne, etc.) qui émettent plus de 5 % de SO₂ dans le monde. Mais il y a également les gros pollueurs tels que les États-Unis et le Canada (13 % des émissions mondiales).

¹ www.ec.gc.ca (Consulté le 06-08-2013)

Les émissions anthropiques d'oxydes d'azote (NO_x) peuvent changer rapidement en raison de la croissance économique et de l'avancée technologique. Les estimations des émissions du dioxyde d'azote (NO₂) permettent d'avoir une meilleure connaissance de la pollution de l'air, des pluies acides et des changements climatiques. Les NO_x participent à la formation de l'ozone troposphérique et sont formés à partir des processus de combustion. Les observations par satellite des colonnes de NO₂ troposphériques sont des outils fréquemment utilisés pour des données en temps réel ou pour estimer l'évolution des émissions des NO_x. Ainsi, les données du satellite SCIAMACHY (Scanning Imaging Absorption Spectrometer for Atmospheric Cartography) de l'Agence Spatiale Européenne (ESA : European Space Agency) (Lamsal et al., 2011) ont permis d'observer depuis 2005 jusqu'en 2010 une régression des émissions de NO₂ aux États-Unis (22,7 %), au Japon et dans certains pays de l'Europe (13,7 %) (Streets et al., 2013).

De même, depuis une vingtaine d'année, des réductions importantes des émissions d'autres polluants atmosphériques ont été observées en Europe et aux États-Unis. Outre les CO₂, SO₂, NO_x, les émissions de monoxyde de carbone (CO), d'ammoniac (NH₃) et de composés organiques volatils non méthaniques (COVNM) ont connu une diminution significative en Europe comme l'illustre la figure 7 à partir des données établies par le réseau de surveillance et d'évaluation des polluants atmosphériques en Europe (EMEP : European Monitoring and Evaluation Programme). Ainsi, on observe une réduction de 39 % pour les émissions du CO, 38 et 23 % pour les émissions respectives de COVNM et NH₃ (Monks et al., 2009).

Aux États-Unis, selon l'Agence pour la protection de l'environnement (EPA : Environmental Protection Agency), les véhicules routiers et les centrales électriques sont les principaux responsables de la majorité des émissions anthropogéniques de CO, NO_x et de SO₂ enregistrées dans l'air ces vingt dernières années (Monks et al., 2009). Les émissions de CO ont diminué de 3 à 5 % chaque année de 1990 à 2005.

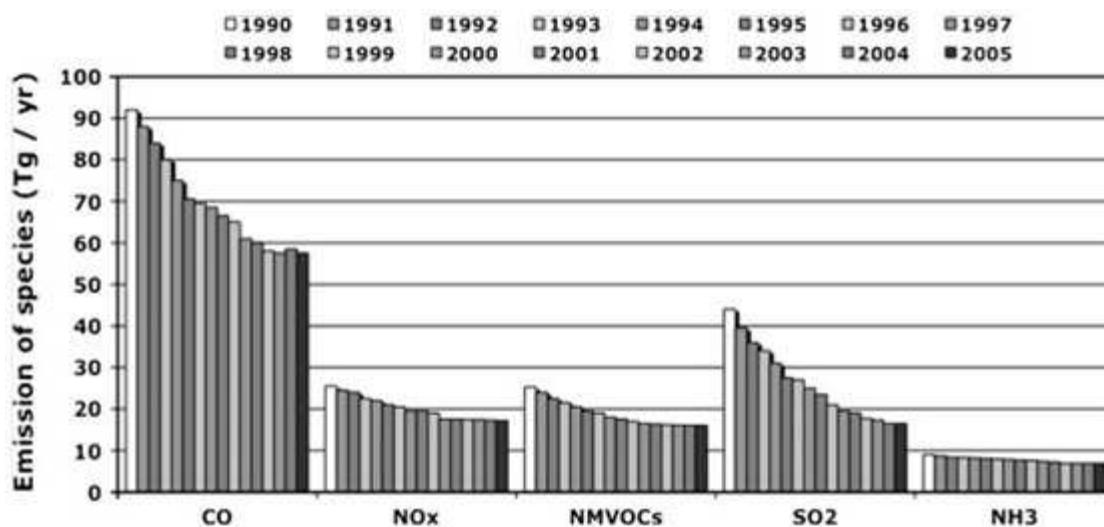


Figure 7 : Émissions annuelles des polluants primaires en Europe

(Source : Monks et al., 2009)

Tg/yr = million de tonne par an

Les COVs, les NOx et le CO sous l'action de la lumière, se décomposent et favorisent par plusieurs réactions photochimiques la formation de l'ozone troposphérique qui est aussi responsable des troubles respiratoires, du ralentissement de la photosynthèse chez les plantes, de l'appauvrissement des récoltes agricoles, etc. Quant aux concentrations d'ozone troposphérique dans l'atmosphère, elles ont diminué progressivement de façon générale dans le monde surtout en Amérique du Nord et dans les pays de l'Union Européenne (Jonson et al., 2006; Lefohn et al., 2010, 2008) et ont cessé d'augmenter depuis une décennie (Foucart, 2012). Les pays comme la France, la République Tchèque, l'Allemagne, la Grèce, l'Australie et l'Italie ont vu baisser leurs concentrations en ozone en 2010 par rapport à 2001. La figure 8 présente cette baisse significative des concentrations de O₃ dans les États membres de l'Union Européenne, mais aussi les observations les plus basses et les plus élevées sur la base du dépassement au 26^{ème} jour du maximum journalier de la moyenne sur 8 heures des concentrations (120 µg/m³, valeur cible).

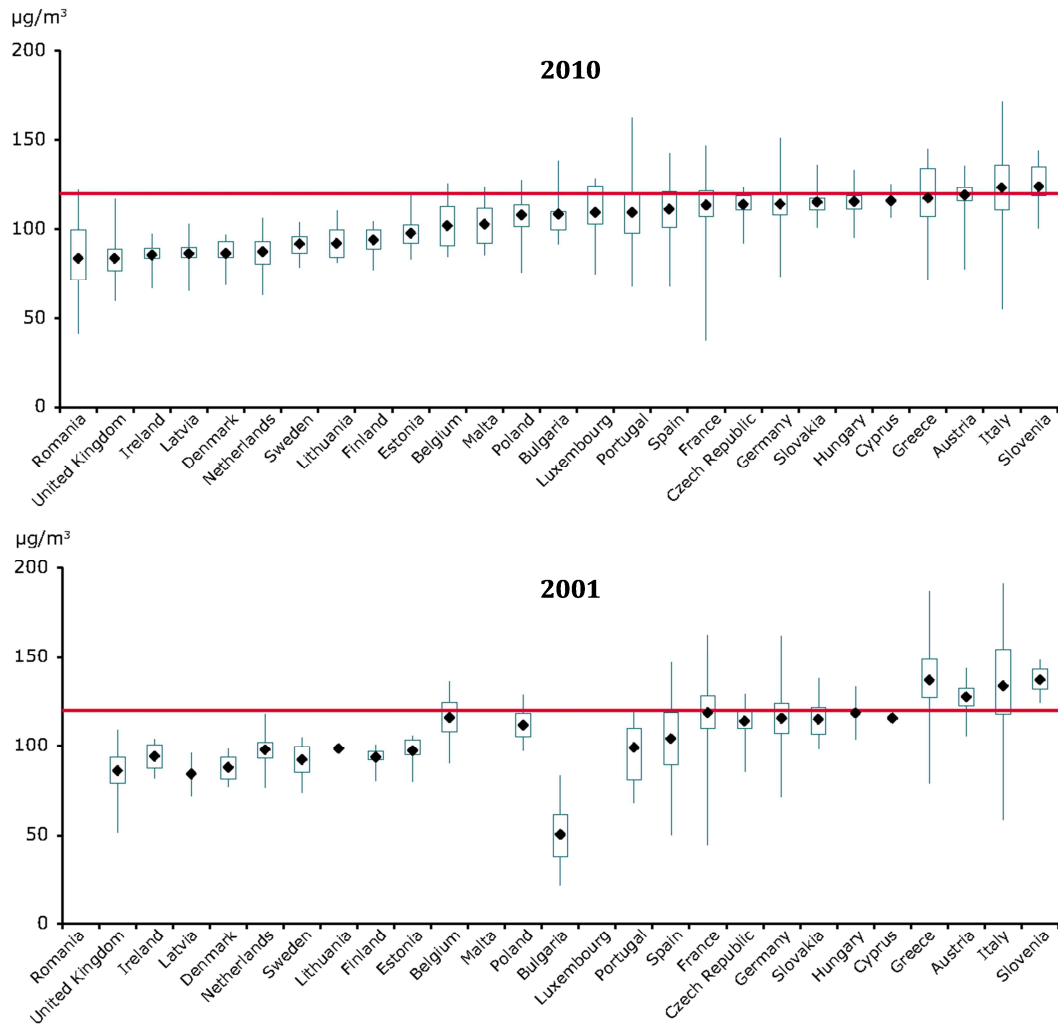


Figure 8 : Concentrations d’ozone troposphérique enregistrées en Europe par rapport à la valeur cible sur la moyenne de 8 heures maximum par jour (Source : European Environment Agency, 2012a)

L’évolution des concentrations en matières particulaires PM_{2.5} et PM₁₀ de l’atmosphère ces dernières années mérite une attention particulière. Selon un communiqué de presse de l’Organisation Mondiale de la Santé (OMS) tenue en Septembre 2011 à Genève, la pollution atmosphérique liée aux matières particulaires atteint des niveaux dangereux pour la santé dans de nombreuses villes. Les données sur la qualité de l’air regroupent les statistiques de 1100 villes dans 91 pays, dont des capitales et des villes de plus de 100 000 habitants. Les

lignes directrices de l’OMS relatives à la qualité de l’air fixent le seuil de concentration moyenne annuelle des particules PM₁₀ à 20 µg/m³, mais certaines villes dépassent ce seuil et la concentration peut atteindre et même excéder 300 µg/m³ (Organisation Mondiale de la Santé, 2011a). En Europe, les villes les plus exposées et les plus polluées en matières de particules PM₁₀ sont Plovdiv (70 µg/m³, Bulgarie), Sofia (68 µg/m³, Bulgarie), Ashkelon (61 µg/m³, Israël), Pleven (57 µg/m³, Bulgarie), Thessalonique (56 µg/m³, Grèce), Nicosie (53 µg/m³, Chypre), Torino (47 µg/m³, Italie), Zaragoza (45 µg/m³, Espagne) (World Health Organization, 2011a). Il existe encore d’autres pays de l’Union Européenne (UE) dont les concentrations en PM₁₀ excèdent largement les normes directives (tableau 1) de l’OMS (moyenne annuelle 20 µg/m³) et de l’UE (moyenne annuelle 40 µg/m³, European Environment Agency, 2012a).

Tableau 1 : Normes directives de l’OMS et de l’UE concernant les PM_{2.5} et PM₁₀
(Source : European Environment Agency, 2012a)

Particules	OMS		UE	
	Moyenne		Moyenne	
	horaire	annuelle	horaire	annuelle
PM _{2.5}	25 µg/m ³ (24 h)	10 µg/m ³		25 µg/m ³ ^a
				20 µg/m ³ ^b
PM ₁₀	50 µg/m ³ (24 h)	20 µg/m ³	50 µg/m ³ ^c (24 h)	40 µg/m ³ ^d

^a valeur limite à atteindre au 1er Janvier 2010 ; ^b valeur limite à atteindre au 1er Janvier 2015 ; ^c valeur limite à ne pas dépasser plus de 35 j/an. Valeur à atteindre au 1er Janvier 2005 ; ^d valeur limite à atteindre au 1er Janvier 2005.

La figure 9 illustre les concentrations de PM₁₀ et de PM_{2.5} enregistrées en Europe en 2001 et en 2011. Selon l’*AirBase V.7* de l’Agence Européenne pour l’Environnement (European Environment Agency : EEA), les pays de l’Europe de l’Ouest (Portugal, Espagne, Italie, Grèce, Belgique, Allemagne, Turquie) ont rejeté des quantités importantes de particules PM₁₀ dans l’atmosphère en 2001. En 2011, l’évolution spectaculaire des particules PM₁₀ émises dans l’atmosphère montre que le Sud-Est de l’Europe est sérieusement affecté. Cependant, ce sont des estimations

à prendre avec précaution car en 2007, la méthode de mesures réglementaires des particules prend désormais en compte la fraction semi-volatile à l'aide de la technologie TEOM-FDMS (Tapered element oscillating microbalance coupled with Filter Dynamics Measurement Systems).

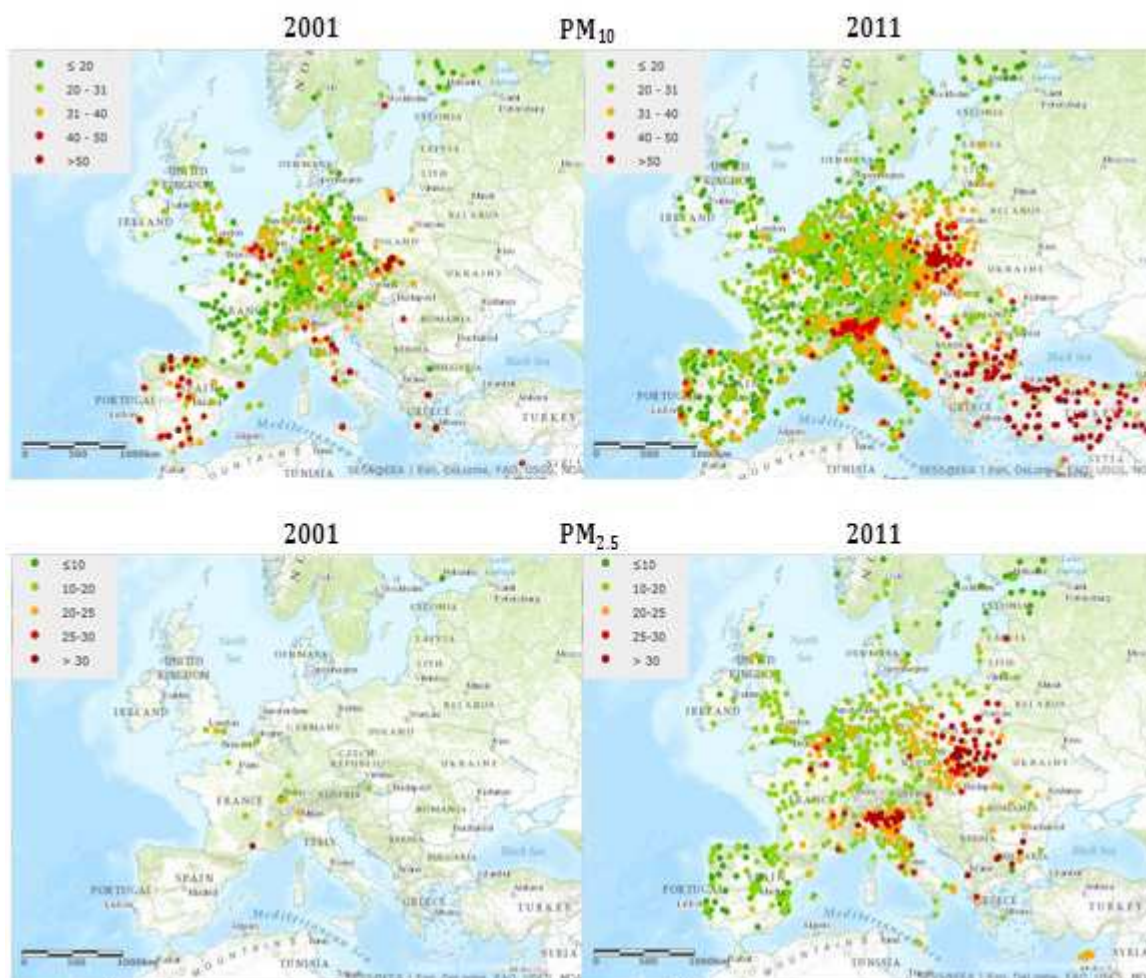


Figure 9 : Concentrations moyennes annuelles de PM₁₀ et de PM_{2.5} (µg/m³) des émissions anthropogéniques en Europe

(Source : European Environment Agency, AirBase v.7)

Concernant les concentrations de PM_{2.5}, les pays comme la Pologne (Zabrze, 40 µg/m³), l'Italie (Torino, 34 µg/m³), la Grèce (Athènes, 27 µg/m³), l'Autriche (Graz, 24 µg/m³), la France (Paris, 23 µg/m³), la Belgique (Liège, 21 µg/m³), l'Allemagne (Berlin, 21 µg/m³), etc. ont connu des niveaux élevés en 2008

dépassant le seuil fixé par l'OMS (moyenne annuelle $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$) ([World Health Organization, 2011a](#)). Les lignes directives de l'UE fixent ce seuil à $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ à atteindre avant le 1^{er} janvier 2015 ([European Environment Agency, 2012a](#)). De fait, par manque de données sur certains pays de l'UE en 2001, la cartographie de la figure 9 présente peu de données sur les concentrations des particules fines $\text{PM}_{2.5}$ pendant cette période. Néanmoins les concentrations étaient relativement moins élevées en Belgique, en Allemagne, en Angleterre, en Italie et en Autriche. Seul le Sud-Est de la France était en alerte rouge. En 2011, la Pologne, la Bulgarie et l'Italie sont les plus pollueurs en matière de $\text{PM}_{2.5}$.

Selon l'OMS, aux États-Unis (USA) et au Canada (CAN), les concentrations élevées en PM_{10} étaient retrouvées en Bakersfield ($38 \mu\text{g}/\text{m}^3$, USA), en Hinton ($36 \mu\text{g}/\text{m}^3$, CAN), en Fresno ($35 \mu\text{g}/\text{m}^3$, USA) et en Sarnia, Montréal ($34 \mu\text{g}/\text{m}^3$, CAN). Celles des particules fines $\text{PM}_{2.5}$ sont de $51 \mu\text{g}/\text{m}^3$ au Mexique, $34 \mu\text{g}/\text{m}^3$ au Pérou, $33 \mu\text{g}/\text{m}^3$ au Chili, etc. ([World Health Organization, 2011a](#)).

Pendant que les pays Américains et Européens bénéficient d'un air de plus en plus sain et plus propre (que les siècles derniers) en s'efforçant de réduire leurs émissions dans l'atmosphère, les pays en développement produisent l'effet contraire et aggravent la qualité de l'air ambiant.

2. Situation dans les pays en développement

2.1 Cas général

Les pays émergents connaissent de nos jours une croissance démographique très importante et une modernisation en plein essor. Plusieurs pays en développement sont encore liés aux habitudes traditionnelles, c'est-à-dire aux combustibles fossiles. Ils contribuent de ce fait à une dégradation de l'environnement et surtout de l'atmosphère. Ainsi, dans les pays en développement comme l'Afrique, l'Asie du sud et l'Asie pacifique, les émissions de CO_2 liées aux consommations d'énergie par personne varient de manière significative et sont aux alentours de $2 \text{ tCO}_2/\text{hab}$ comparées aux $19 \text{ tCO}_2/\text{hab}$ d'Amérique du Nord

(ADEME, 2012). Les émissions mondiales de CO₂ liées à la combustion d'énergie étaient de - 1,7 % en 2009 et grimpent à + 4,7 % en 2010. La Chine, le premier émetteur mondial devant les États-Unis, à cause du fait de l'utilisation de charbon dans leurs centrales thermiques, gonfle les émissions mondiales de CO₂ (30,3 milliards de tonnes (Gt) de CO₂) dont 7,3 Gt CO₂ lui sont attribuables soit 5,5 tCO₂/hab (comme la France) (Service de l'observation et des statistiques, 2013). En Afrique, ces émissions sont de 0,9 tCO₂/hab en 2010, soit 3,1 % des émissions mondiales. Le tableau 2 met en évidence les pays les plus émetteurs de CO₂ dans l'atmosphère avec à leur tête la mégalopole chinoise. L'Inde, après les États-Unis, contribue pour 5,4 %.

Tableau 2 : Les dix pays les plus émetteurs de CO₂ dans l'atmosphère²
(Source : Service de l'observation et des statistiques, 2013)

Pays	Émissions de CO ₂ en 2010 (10 ⁶ tonnes)	Émissions mondiales (%)
Chine	7 311	24,1
États-Unis	5 369	17,7
Inde	1 626	5,4
Russie	1 581	5,2
Japon	1 143	3,8
Allemagne	762	2,5
Iran	572 ³	1,8 ³
Corée du Sud	563	1,9
Canada	537	1,8
Royaume-Uni	484	1,6

² Tableau reconstitué à partir des données du Service de l'observation et des statistiques, 2013

³ (United Nations Statistics Division, 2013). Données de 2010 recueillies sur <http://mdgs.un.org/unsd/mdg/SeriesDetail.aspx?srid=749&crd=> (Consulté le 08-08-2013)

Aussi, les pays en développement rejettent dans l'air d'autres polluants tels que le SO₂. Pendant que les pays industrialisés comme les États-Unis et ceux de l'Union Européenne connaissent en 2005 des réductions importantes de SO₂ dans l'air, les pays émergents, présentent une tendance inverse avec des émissions croissantes de SO₂ comme l'illustre la figure 10.

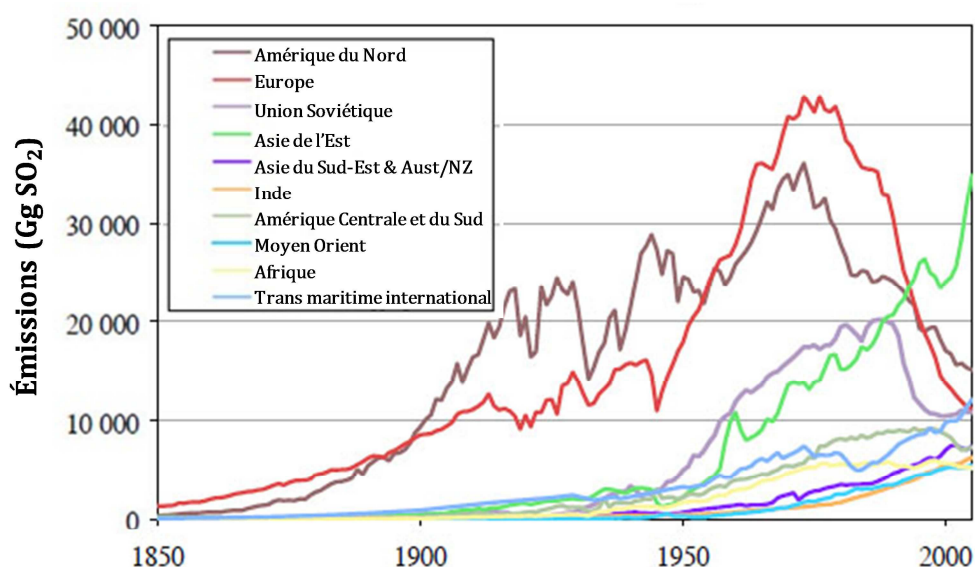


Figure 10 : Émissions anthropogéniques mondiales de SO₂

(Source : Smith et al., 2011)

Gg = milliard de gramme ; Aust/NZ = Australie + Nouvelle Zélande ; Trans = Transport

Par ailleurs, les pays Asie et du Moyen-Orient et du Sud Afrique connaissent une augmentation des émissions des oxydes d'azote (NO_x) qui regroupent le monoxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂). Des augmentations de 24,9 % et 26,8 % sont observées depuis 2005 respectivement en Asie de l'Est et dans la grande métropole chinoise (Streets et al., 2013). Cette augmentation est due à l'utilisation accrue de combustibles fossiles dans une économie ascendante. Les images satellitaires de l'Agence Spatiale Européenne montrent sur la figure 11 ci-contre les émissions globales de NO₂ qui sont très accentuées dans les pays émergents surtout en Asie de l'Est.

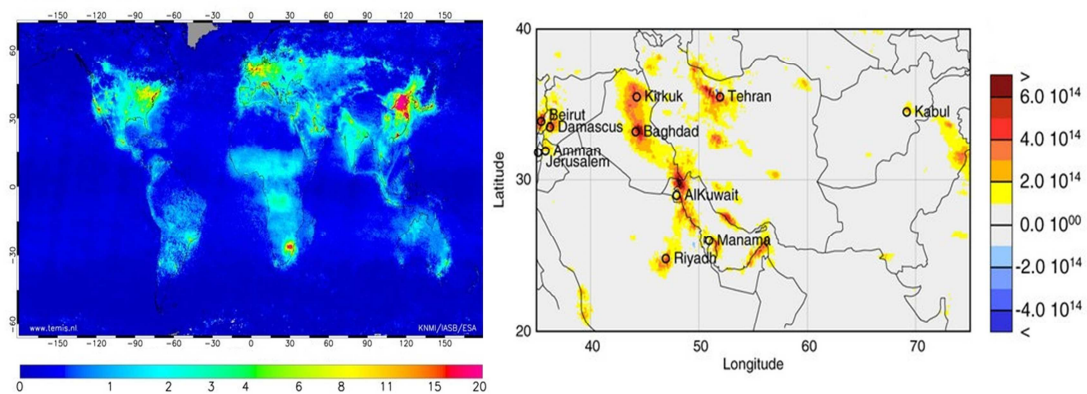


Figure 11 : Représentation des émissions troposphériques annuelles mondiales de NO_2 (en 10^{15} molécule/ cm^2)

(Source : European Space Agency, 2012, 2007)

La chimie de l'atmosphère étant complexe, se repose également sur les processus de formation d'ozone dans l'air et de ses précurseurs (Sikder et al., 2011). En Chine, en Inde et dans les pays de l'Asie du Sud-Est, de fortes concentrations d'ozone furent enregistrées ces quinze dernières années. Ces concentrations élevées en ozone de cette région du monde ont affecté à travers le Pacifique (l'atmosphère de l'Océan Pacifique est aussi influencé par cette région, Tanimoto, 2009) et aux trajectoires des masses d'air, la région de l'Ouest des États-Unis (Ambrose et al., 2011; Ou Yang et al., 2012; Perrin, 2010; Villeneuve, 2010) aggravant ainsi la qualité de l'air en Amérique. Dans les couches atmosphériques des pays africains, précisément à l'Ouest et au Centre, les concentrations moyennes annuelles d'ozone sont plus ou moins faibles. Elles varient de 4 à 14 ppb⁴ pour la période de 2001 à 2007 (Adon et al., 2010) alors qu'elles sont de 43,6 ppb en Chine et 35,9 ppb au Japon et en Corée, et ceci pour la période de 2006 à 2009 (Ou Yang et al., 2012). L'industrialisation peu prononcée explique sans doute ces faibles taux. On pourrait également expliquer ces faibles concentrations par l'existence de nombreuses zones arides, et les faibles émissions de COVs par la végétation dans ces régions.

⁴ ppb = partie par billion

Les émissions anthropogéniques des pays en développement, surtout en Asie, sont toujours en croissante évolution (figure 12A) et dépassent largement celles des États-Unis et de l'Europe comme le montre la figure 12B. Les inventaires des émissions de CO en Asie indiquent une fois encore la quantité importante de CO émise dans l'atmosphère. En 2000, les émissions de CO en Asie étaient de 306 Tg (Monks et al., 2009) et celles de la Chine étaient estimées à 141 Tg (Streets et al., 2006).

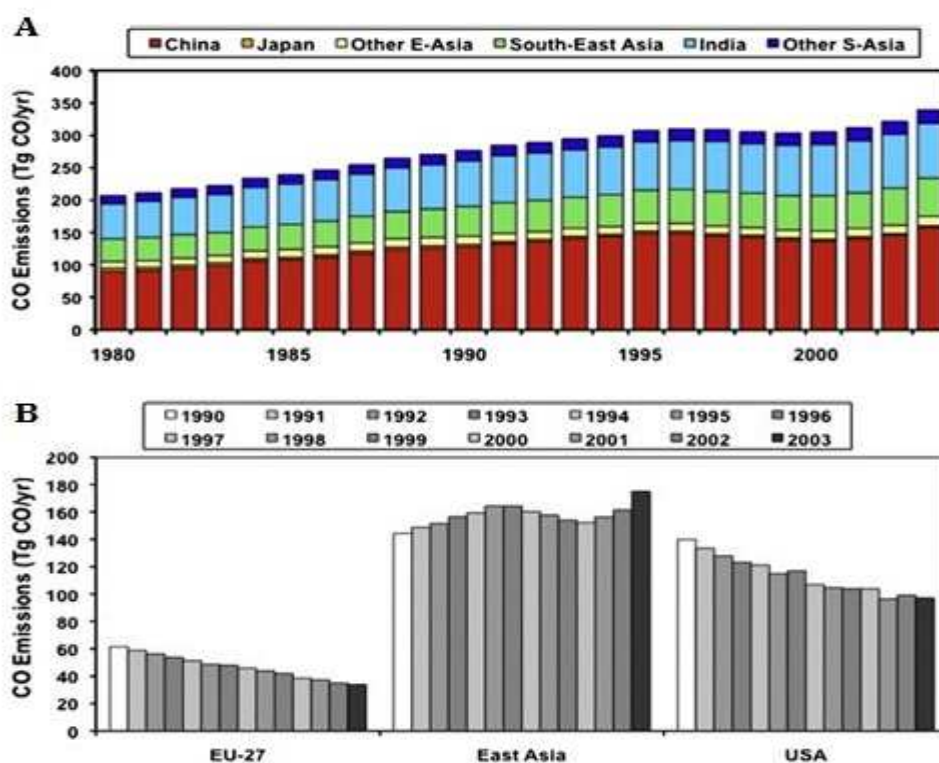


Figure 12 : Émissions annuelles de CO en Asie (A) comparées à celles de l'Europe et des États-Unis (B)
 (Source : Monks et al., 2009)

E-Asia = Asie de l'Est ; S-Asia = Asie du Sud ; EU-27 = Union Européenne composée de 27 pays

Les émissions de CO de l'Asie de l'Est atteignent pratiquement les 180 Tg/an en 2003 alors qu'elles sont environ à 100 Tg pour les États-Unis et 40 Tg pour l'Union Européenne (27 pays). Les émissions mondiales ont grimpé de 523 à 542 Tg de CO/an de 1990 à 2000, soit une augmentation de 3,6 %.

Par ailleurs, les pays de la Méditerranée, du Pacifique et de l'Asie du Sud-Est rejettent dans l'hémisphère nord d'importantes particules atmosphériques. Les villes comme Ahwaz ($372 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Iran), Oulan Bator ($279 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Mongolie), Sanandaj ($254 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Iran), Ludhiana (Inde) et la ville pakistanaise de Quetta, avec $251 \mu\text{g}/\text{m}^3$, connaissent les plus fortes concentrations en PM_{10} jamais enregistrées dans le monde (Rivière, 2012). Selon la Banque Mondiale, la pollution atmosphérique urbaine serait concentrée en particules PM_{10} surtout dans les pays de l'Asie, du Moyen-Orient et de l'Afrique de l'Ouest comme l'indique la figure 13.

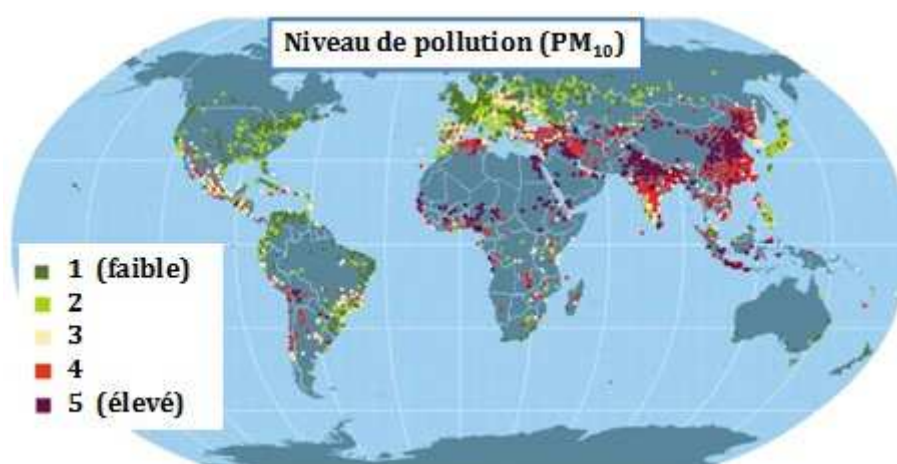


Figure 13 : Pollution atmosphérique urbaine particulaire PM_{10} dans le monde
(Source : Banque Mondiale⁵)

Les données de l'OMS basées sur les chiffres de 2008 et de 2009 ont révélé que les populations des pays comme la Chine ($150 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Lanzhou), la Corée du Sud ($64 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Séoul) ainsi que les pays de l'Afrique de l'Ouest comme le Sénégal ($145 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Dakar), le Nigéria ($122 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Lagos), le Ghana ($98 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Accra), le Madagascar ($68 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Antananarivo), l'Afrique du Sud ($66 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Johannesburg) sont victimes d'une forte pollution particulaire PM_{10} (World Health Organization, 2011a). Cette pollution engendre de nombreux décès prématurés chaque année.

⁵ <http://www.astrium.com/Pollution-atmosphérique-urbaine-monde.html> (Consulté le 08-08-2013)

Selon une étude récente réalisée par [van Donkelaar et al. \(2010\)](#), 80 % de la population mondiale vit dans des régions où les concentrations moyennes annuelles de $PM_{2.5}$, excèdent les objectifs de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ fixé par l’OMS. Ainsi, les pays en développement, les plus émetteurs et exposant leurs populations aux particules fines sont la Mongolie ($63 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Oulan Bator), la Chine ($41 \mu\text{g}/\text{m}^3$, Hong Kong), le Koweït ($51 \mu\text{g}/\text{m}^3$). En Afrique, le Sénégal, le Ghana, et le Madagascar ont enregistré respectivement $38 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Dakar), $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Accra) et $59 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Antananarivo) ([World Health Organization, 2011a](#)). La figure 14 met en exergue les fortes concentrations de particules fines qui s’étendent de l’Afrique du Nord (Désert du Sahara) jusqu’à l’Est de l’Asie. Ces concentrations de $PM_{2.5}$ enregistrées dans les pays émergents du continent africain et asiatique, sont largement supérieures à celles de l’Europe, de l’Est des États-Unis et de l’Ouest de l’Amérique du Sud. Ces fortes concentrations de particules fines surtout dans l’Afrique subsaharienne pourraient être issues non seulement de sources terrigènes, de la combustion automobile et de biomasse mais aussi sous influence du désert du Sahara.

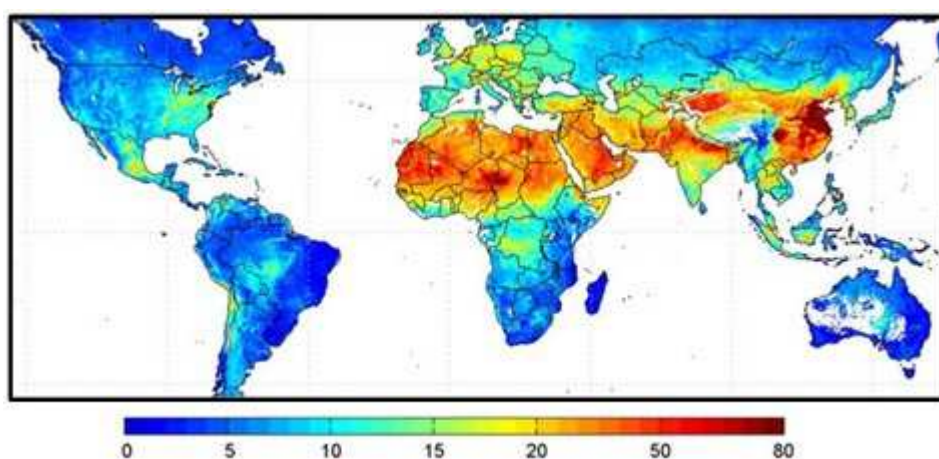


Figure 14 : Concentrations moyennes annuelles de $PM_{2.5}$ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) de 2001 à 2006 (Source : [van Donkelaar et al., 2010](#))

Ces matières particulaires font particulièrement l’objet de cette étude car elles sont à l’origine de nombreuses pathologies respiratoires. À Cotonou, la capitale économique du Bénin, elles sont issues principalement du transport

routier qui favorise une pollution atmosphérique importante et perceptible, suscitant d'énormes interrogations concernant la qualité de l'air au Bénin.

2.2 Cas particulier du Bénin : Cotonou

Au Bénin, les problèmes environnementaux sont devenus de plus en plus perceptibles et aigus depuis quelques années, en particulier à Cotonou, la capitale économique. Ceci est dû principalement à l'accroissement rapide de la population, conséquence d'un exode rural massif, le développement commercial et industriel, et les mauvaises infrastructures routières. Ces problèmes environnementaux résultent en particulier de la pollution atmosphérique qui connaît une évolution fulgurante à Cotonou, où après les émissions domestiques, le secteur du transport semble être le principal responsable mais également d'une activité portuaire territorialement concentrée et des activités commerciales désordonnées et mal maîtrisées nécessaires à la survie des populations confrontées à un marché de l'emploi difficilement accessible. À l'instar des grandes métropoles africaines en croissance, la qualité de l'air est devenue une préoccupation importante au Bénin.

La pollution atmosphérique ou pollution de l'air, selon la loi-cadre sur l'environnement en République du Bénin est définie comme étant « ***l'émission dans la couche atmosphérique de gaz, de fumées ou de substances de nature à incommoder les êtres vivants, à compromettre la santé et la sécurité publique ou susceptible de nuire à la production agricole, à la conservation des constructions et monuments ou au caractère des sites*** ». En effet, à l'entrée de la ville de Cotonou, des nuages de fumée blanche surplombent les habitations et les populations. Ces fumées sont issues des activités de combustion de bois, des feux des ordures ménagères du fait d'une non prise en compte de leur incinération par les communes, parfois des feux de brousse (aux alentours de Cotonou), des émanations des industries et surtout des gaz d'échappement des nombreux véhicules vétustes y compris des motos. Ainsi, la pollution de l'air à Cotonou est caractérisée essentiellement par un mélange d'hydrocarbures, de composés organiques volatils et de poussières venant globalement de l'ensemble des

transports et en particulier des transports terrestres. Cependant, il ne faut pas négliger les émissions de particules ainsi que de SO₂ issues du transport maritime. Le secteur du transport routier en zone urbaine à Cotonou regroupe en majorité les motos et les véhicules automobiles qui ont une moyenne d'âge d'environ 15 ans (Banque Mondiale, 2007). Les véhicules sont au nombre de 446 000 unités, dont 96 000 motos à Cotonou (Kèlomé et al., 2006). Ce nombre important de motos et de voitures engendre la congestion du trafic rendant la fluidité de la circulation difficile surtout aux heures de pointe. Ceci occasionne dans la ville, la libération de nombreux polluants atmosphériques à travers les gaz d'échappement des automobiles et des motos comme illustrés sur la figure 15.



Figure 15 : Émissions des automobiles et motos à Cotonou
(Photo : CACHON, 2013)

L'ensemble de ces émissions de fumées cache de nombreux polluants atmosphériques. Des études récentes ont montré que l'air de Cotonou est contaminé par divers polluants comme les composés organiques volatils (COVs),

les particules en suspension ainsi que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) (Avogbe et al., 2011, 2005; Ayi Fanou et al., 2006). En 2007, une étude de la Banque Mondiale a montré qu'en plus des polluants précités, l'air de Cotonou contenait également du dioxyde d'azote (NO₂), du dioxyde de soufre (SO₂), du dioxyde de carbone (CO₂) et de l'ozone (O₃) en forte concentration (Banque Mondiale, 2007). Parmi ces polluants, le benzène, classé comme puissant carcinogène a été trouvé à un taux de 76 µg/m³ à Cotonou, soit un niveau 15 fois plus élevé que la norme de 5 µg/m³ admise par l'OMS (World Health Organization, 2006). Le tableau 3 présente les estimations des émissions des principaux polluants rejetés en zones urbaines dans la ville de Cotonou. Les émissions annuelles de PM₁₀ issues des foyers domestiques semblent être très importantes comparées à celles émises par les véhicules à moteur. Ceci pose sans doute un problème d'accumulation de polluants à l'intérieur des maisons et concessions. Aussi, les COV liés à l'énergie domestique seront surement importants. Malheureusement, nous disposons très peu de données sur les polluants retrouvés à l'intérieur des habitations.

Tableau 3 : Estimations des émissions annuelles des principaux polluants de l'air à Cotonou en 2005 (Source : adapté de Banque Mondiale, 2007)

	Émissions annuelles (tonnes)			
	PM ₁₀	NO _x	SO ₂	COVs
Concentrations annuelles (µg/m³)	78	36	9	30^a
Véhicules	1 616	4 693	1 249	45 245
Industries	120	235	1 199	
Énergie domestique	13 886	1 377		

^a 30 µg/m³ = concentration de benzène

À Cotonou, les émissions urbaines représentent 80 % de l'ensemble des émissions urbaines du territoire national (Banque Mondiale, 2007). Ainsi, les

émissions des NOx en zones urbaines sont de 3 369 t et 1 324 t par an provenant respectivement des véhicules à essence et des véhicules diesel. D'énormes quantités de COVs sont rejetées dans l'air à Cotonou par l'ensemble des véhicules. Les émissions domestiques provenant des bois et charbon de bois ne sont pas non plus à négliger. Concernant la part des émissions provenant des motos, les émissions annuelles de particules PM₁₀ sont de 1 359 t. Les COVs et surtout les matières particulaires restent les principales sources de pollution de la ville.

Les particules PM₁₀ font très peu partie des mesures sur la qualité de l'air à Cotonou, encore moins les PM_{2.5}. Les matières particulaires sont de plus en plus importantes dans l'air et on peut apprécier à une dizaine de kilomètres cette pollution particulaire au-dessus de la ville, due principalement aux rejets issus des imbrulés de la combustion au niveau des véhicules. La figure 16 montre la ville de Cotonou où juste en dessous du ciel bleu règne la pollution particulaire bien visible (couleur brune tannée).



Figure 16 : Pollution particulaire à Cotonou (Photo : CACHON, 2013)

Cette pollution est majoritairement issue des émissions des motos, surtout des taxi-motos, dont les propriétaires, par manque de moyen, négligent l'entretien. Ceci est à l'origine du rejet d'énormes quantités de polluants dans l'atmosphère.

2.2.1 Phénomène des taxi-motos

Le manque de transports en commun, un secteur moins développé au Bénin, a favorisé dans la ville de Cotonou un nouveau mode de transport – assuré par les conducteurs de taxi-motos – communément appelés « **zémidjans** ». Ce phénomène s'est accentué lors de la crise économique au début des années 90 où les premiers taxis motos sont apparus à Porto-Novo en 1977 où les derniers taxis de ville avaient cessé leur activité par manque de routes praticables et de clients. Ce phénomène s'est étendu à Cotonou en 1983 avec une croissance rapide. Aujourd'hui, les zémidjans deviennent de plus en plus nombreux et « pullulent » un peu partout dans la ville (figure 17).



Figure 17 : Phénomène de taxi-motos à Cotonou (principal mode de transport)
(Photo : CACHON, 2013)

Ils sont favorisés au détriment des taxis de ville à cause de leur prix relativement abordable, leur accessibilité, leur porte-à-porte, leur rapidité à atteindre la destination souhaitée malgré l'état parfois dégradé de la route. Ils assurent l'essentiel du transport routier (70 % des déplacements de la ville) et sont estimés à 96 000 sur un total de 219 200 zémidjans au Bénin ([Banque Mondiale, 2007](#)). Ils utilisent pour la plupart des motos à deux temps (70 %) mais aussi plus rarement des motos à quatre temps moins polluants. Le fréquent manque d'entretien de leur moteur, l'utilisation d'essence de mauvaise qualité ont fait des zémidjans les principaux acteurs de la pollution de l'air à Cotonou. Ils libèrent à longueur de journée des traînées de fumées blanchâtres qui forment le nuage impressionnant qui surplombe la ville, rendant ainsi la qualité de l'air extrêmement médiocre.

Bien que la pollution de l'air par les transports terrestres soit la plus visible et constitue la préoccupation majeure à l'heure actuelle, celle liée aux émanations des composés organiques volatils issues de la vente illicite de carburant de qualité douteuse joue un rôle très important dans les émissions de polluants dans l'atmosphère.

2.2.2 Phénomène de vente illicite d'essence

Selon une étude sur la qualité de l'air faite à Cotonou en 2000 par la [société Tractebel](#), le bilan énergétique du Bénin a montré que le secteur du transport est un consommateur important d'énergie et le premier consommateur de produits pétroliers ([Tractebel, 2000](#)). Aussi, le parc automobile est constitué essentiellement de véhicules roulant à l'essence. 80 % des automobiles roulent à l'essence à Cotonou et 20 % au gasoil ([Banque Mondiale, 2007](#)). Ceci permet de comprendre le rôle important de l'utilisation de l'essence dans la pollution de l'air. Par ailleurs, la manipulation incontrôlée et sans précaution d'essence importée frauduleusement du Nigéria voisin et vendue le long des artères et voies principales de Cotonou. Malgré l'interdiction par le gouvernement béninois de l'importation illicite et de la vente de l'essence frelatée localement appelée

« *kpayo* » dans les villes, ce phénomène se répand à tous les coins de rue de Cotonou ainsi qu'à l'intérieur du pays (figure 18).



Figure 18 : Phénomène d'essence frelatée (Source : Bourbao, 2006)

Les principales actrices de cette filière sont des femmes qui sont la plupart du temps avec des enfants au dos ou des enfants de moins de 5 ans. Les stands de vente sont parfois confiés aux enfants par leurs parents. Les vendeurs (ou vendeuses) stockent les essences dans des bidons, des bombonnes et des bouteilles exposant leur environnement immédiat à des évaporations importantes dans l'air de composés organiques volatils surtout de benzène, l'un des composés les plus cancérigènes. Les gros bidons noirs servent à transporter le carburant depuis le Nigéria. Plus de 10 % de la population, soit 500 000 personnes vivent de ce trafic d'essence. Selon le gouvernement béninois, ce trafic illicite représenterait près de 80 % du marché des carburants. Ce marché informel ferait perdre près de 20 milliards de francs CFA à l'État chaque année (Bourbao, 2006). Le gouvernement béninois a pris en cette année 2013 une nouvelle décision drastique d'interdiction de vente de ces carburants illicites qui a été respectée seulement pendant quelques semaines. Puis le commerce illicite a repris de façon plus limitée en ne vendant que par contenant de 1 à 5 litres (les bombonnes de 10 et 20 litres

restant dans les arrière-cours en vente discrète). En réalité, il s'agit d'un problème social lié à l'exercice de travail informel que le gouvernement intègre dans ses propres statistiques de 80 % de sous-emplois affichés à l'ANPE, ne faisant apparaître qu'un chiffre officiel de 2,6 % de chômage.

En effet, toute activité génératrice de revenus mêmes les plus dérisoires (quelques dizaines ou centaines de FCFA par jour) exercée par exemple par les vendeurs de rues aux différents carrefours de la capitale économique ne rentre pas dans les statistiques officielles de chômage. Selon quelques grands partis d'opposition, ce commerce illicite d'essence dans les rues des grandes villes béninoises ne disparaîtra pas tant qu'il continuera d'avoir des ruptures de stock fréquentes dans les stations officielles d'essence, et surtout qu'il n'y aura pas d'emploi de substitution. Par ailleurs, n'oublions pas que la plus grande partie de la pollution atmosphérique générée est liée à l'état de vieillesse surannée des véhicules à moteur.

3. Pollution atmosphérique en images dans le monde

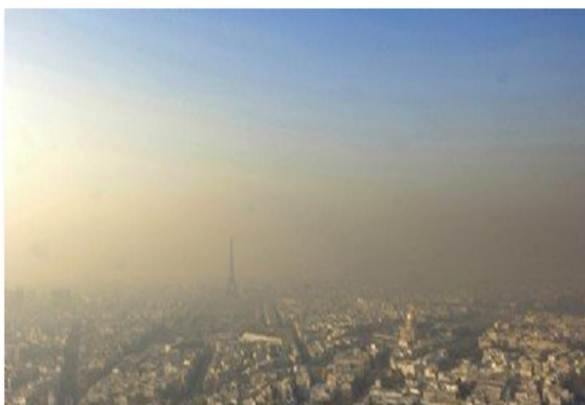
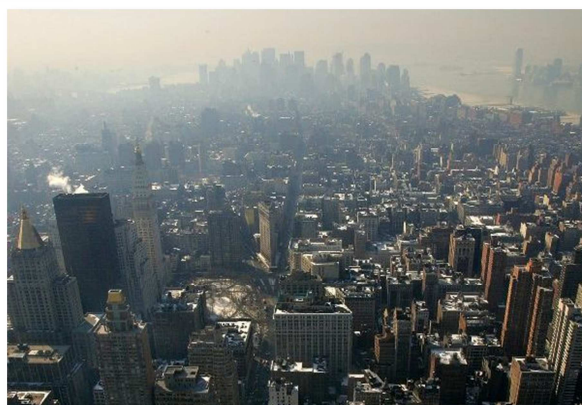


Figure 19 : Pollution atmosphérique dans l'agglomération de Paris (Source : Ladonne, 2009)

Figure 20 : Pollution de l'air au-dessus de New-York (Source : Beja, 2012)





**Figure 21 : Pollution
atmosphérique à Moscou
(Source : 7s7, 2010)**

**Figure 22 : La pollution
atmosphérique chinoise parvient
jusqu'en Tokyo⁶**



**Figure 23 : Pollution
atmosphérique à Pékin le 9 mars
2013, aggravée par une tempête
de sable (Source : Upton, 2013)**

**Figure 24 : Pollution
atmosphérique à grande échelle à
Séoul
(Source : John, 2013)**



⁶ <http://www.hebdo.ch/la-pollution-atmosph%C3%A9rique-chinoise-arrive-au-japon>
(Consulté le 08-08-2013)



Figure 25 : Téhéran sous la pollution atmosphérique
(Source : Erdbrink, 2013)

Figure 26 : La présidence enveloppée par la pollution de l'air à New Delhi
(Source : Mandhana, 2012)



Figure 27 : Les populations de New Delhi en Inde ressentent l'air dégradé
(Source : Delhigo, 2012)

Figure 28 : La pollution atmosphérique à Dakar⁷



⁷ <http://www.planet-action.org/web/85-project-detail.php?projectID=7905> (Consulté le 08-08-2013)



Figure 29 : La ville de Cotonou entourée par la pollution atmosphérique
(Photo : CACHON, 2013)

4. Réglementation générale de la pollution atmosphérique

La pollution atmosphérique est devenue une préoccupation mondiale et pour mieux la contrôler, les instances nationales et internationales comme l’OMS ont établi sur la base des études épidémiologiques et toxicologiques, des valeurs guides, des valeurs limites d’exposition (VLE) ou encore des valeurs limites réglementaires (VLR). Aussi, la pollution diffuse ou transfrontalière a favorisé une harmonisation internationale des réglementations. Ce document présentera les principales réglementations en vigueur ainsi que les valeurs-guides des polluants majeurs rejetés dans l’atmosphère.

4.1 Réglementation occidentale et mondiale

La législation liée à la pollution atmosphérique de l’Union Européenne vise à protéger la santé humaine et l’environnement de façon générale. Les premières législations furent celles de la convention sur la pollution atmosphérique transfrontière à longue distance, tenue à Genève, le 13 novembre 1979 et entrée en vigueur le 16 mars 1983. Cette convention porte sur l’élaboration de politiques appropriées, l’échange d’informations, la réalisation d’activités de recherche et sur la mise en œuvre et le développement d’un mécanisme de surveillance de la qualité de l’air. Les États membres qui ont ratifié la convention se sont engagés à

limiter, à prévenir et à réduire progressivement leurs rejets de polluants atmosphériques et, de ce fait, à lutter contre la pollution transfrontière qui en résulte. Les conventions et protocoles les plus marquants de l'histoire de la pollution atmosphérique sont ceux de :

- Vienne (22 mars 1985, portant protection de la couche d'ozone ; 1986, convention sur les accidents nucléaires – à partir de la catastrophe de Tchernobyl) ;
- Montréal (16 septembre 1987, relatif à des substances qui appauvrissent la couche d'ozone ; adapté et modifié par la réunion de Londres de 1990 et par la réunion de Copenhague de novembre 1992) ;
- Rio de Janeiro (juin 1992, convention-cadre des Nations Unies concernant les changements climatiques, signée par 155 États) ;
- Kyoto (11 décembre 1997, visant à réduire les émissions de gaz à effet de serre de 5,2 % en moyenne d'ici 2012, par rapport au niveau de 1990. Il entra en vigueur le 16 février 2005. Ce protocole a été ratifié par 141 pays à l'exception des États-Unis et de l'Australie).

Plus récemment, le 21 mai 2008 en vue d'une qualité de l'air ambiant et un air pur pour l'Europe, la législation européenne relative à la qualité de l'air ambiant a été révisée par le Parlement européen et le Conseil européen (Directive 2008/50/CE). Le tableau 4 ci-après présente l'ensemble des législations européennes en termes de régulations des émissions des polluants atmosphériques. Cette directive permet de réduire les effets nocifs des polluants pour la santé et l'environnement, d'évaluer la qualité de l'air dans les États membres sur la base de critères et de méthodes communs, de surveiller les tendances à long terme, d'informer le public, etc. C'est une directive qui a des objectifs bien spécifiques en matière de pollution par les PM_{2.5} et PM₁₀. Le texte maintient les normes déjà existantes pour les PM₁₀.

Tableau 4 : Principales législations européennes régulant les émissions des polluants atmosphériques

(Source : adapté de European Environment Agency, 2012a)

	Directives	Polluants pris en compte						
Directives régulant la qualité de l'air ambiant	2008/50/CE	PM	O ₃	NO ₂	SO ₂	CO	Pb	C ₆ H ₆
	2004/107/CE						As, Cd, Hg, Ni	BaP
Directives régulant les émissions des polluants de l'air	2001/81/CE	(a)	(b)	NO _x , NH ₃	SO ₂			COVNM
	2010/75/UE	PM	(b)	NO _x , NH ₃	SO ₂	CO	Cd, Tl, Hg, Sb, As, Pb, Cr, Co, Cu, Mn, Ni, V	COV
	Limites Euro sur les émissions des véhicules routiers	PM	(b)	NO _x		CO		HC, HCNM
	94/63/CE	(a)	(b)					COV
	2009/126/CE	(a)	(b)					COV
	1999/13/CE	(a)	(b)					COV
	Directives régulant la qualité des carburants	1999/32/CE	(a)			S		
	2003/17/CE	(a)	(b)		S		Pb	C ₆ H ₆ , HC, HAP, COV
Conventions internationales	MARPOL 73/78	PM	(b)	NO _x	SO _x			
	LRTAP	PM	(b)	NO ₂ , NH ₃	SO ₂	CO	Cd, Hg, Pb	COVNM, BaP

HC = Hydrocarbures ; HCNM = Hydrocarbures non méthanique ; C₆H₆ = Benzène ; BaP = Benzo(a)pyrène
 MARPOL = Marine Pollution Convention ; LRTAP = Long-range Transboundary Air Pollution Convention

(a) Directives et conventions limitant les émissions des précurseurs des PM (SO₂, NO_x, NH₃ et COV) dans le but de réduire les concentrations de PM de l'air ambiant

(b) Directives et conventions limitant les émissions des précurseurs de O₃ (NO_x, CO et COV) dans le but de réduire les concentrations de l'ozone troposphérique

Les concentrations de PM₁₀ sur 24 h ne doivent pas dépasser 50 µg/m³ plus de 35 fois par an et la concentration moyenne annuelle maximum est fixée à 40 µg/m³ (Court, 2012). Cette directive prend particulièrement en compte les particules potentiellement toxiques pour la santé : les PM_{2.5}. Les États membres devront faire l'effort de réduire l'exposition aux particules fines en zone urbaine de

20 % en moyenne d'ici 2020 par rapport à 2010. La valeur cible de 25 µg/m³ devra être atteinte au niveau des États membres dans la mesure du possible en 2010 sinon pour 2015 (tableau 5).

Tableau 5 : Valeurs guides des principaux polluants atmosphériques
(Source : adapté de European Environment Agency, 2012a; US EPA, 2011)

Polluants	OMS		UE		US EPA	
	Moyenne		Moyenne		Moyenne	
	horaire	annuelle	horaire	annuelle	horaire	annuelle
PM_{2.5}	25 µg/m ³ (24 h)	10 µg/m ³		25 µg/m ³ ^a 20 µg/m ³ ^b	35 µg/m ³ (24 h)	15 µg/m ³
PM₁₀	50 µg/m ³ (24 h)	20 µg/m ³	50 µg/m ³ ^c (24 h)	40 µg/m ³ ^d	150 µg/m ³ (24 h)	
O₃	100 µg/m ³ (8 h)		120 µg/m ³ ^e (8 h)		150 µg/m ³ (8 h)	
NO₂	200 µg/m ³ (1 h)	40 µg/m ³	200 µg/m ³ ^f (1 h)	40 µg/m ³	190 µg/m ³ (1 h)	100 µg/m ³
BaP		0,12 ng/m ³		1 ng/m ³ ^g		
SO₂	500 µg/m ³ (10 min)		350 µg/m ³ ^h (1 h)		200 µg/m ³ (1 h)	
	20 µg/m ³ (24 h)		125 µg/m ³ ⁱ (24 h)			
CO	30 mg/m ³ (1h)		10 mg/m ³ (8 h)		40 mg/m ³ ^l (1h)	
	10 mg/m ³ (8 h)				10 mg/m ³ ^l (8 h)	
Pb		500 ng/m ³		500 ng/m ³ ^j		150 ng/m ³
Benzène		5 µg/m ³		5 µg/m ³ ^k		

^a valeur limite à atteindre au 1er Janvier 2010 ; ^b valeur limite à atteindre au 1er Janvier 2015 ; ^c valeur limite à ne pas dépasser plus de 35 j/an. Valeur à atteindre au 1er Janvier 2005 ; ^d valeur limite à atteindre au 1er Janvier 2005 ; ^e valeur cible à atteindre au 1er Janvier 2010 et à ne pas dépasser 25 j/an sur 3 ans ; ^f valeur à ne pas dépasser 18 h/an ; ^g valeur cible à atteindre en 2013 ; ^h valeur à ne pas dépasser 24 h/an ; ⁱ valeur à ne pas dépasser 3 j/an ; ^k valeur limite à atteindre en 2010 ; ^j valeur limite à atteindre au 1er Janvier 2005 ; ^l valeur à ne pas dépasser plus d'une fois/an

Aussi, les niveaux d'exposition doivent être au-dessous de 20 µg/m³ d'ici 2015 (European Environment Agency, 2012a). Dans tous les cas, cette limite reste supérieure au taux de 10 µg/m³ préconisé par l'OMS. Le tableau 5 résume les normes et valeurs guides des principaux polluants de l'air promulguées par les Nations Unies et l'Union Européenne. Concernant la régulation de la pollution atmosphérique, ces normes internationales sont très strictes par rapport à celles des pays en développement.

4.2 Réglementation au Bénin contre la pollution de l'air

Dans les pays en développement et plus particulièrement en Afrique, les législations concernant la pollution de l'air peinent à surgir et même si elles existent, ne sont pas appliquées véritablement en vue d'une amélioration de la qualité de l'air et de la protection de l'environnement. Les instruments juridiques bien spécifiques à la pollution atmosphérique, qui doivent accompagner les politiques nationales et sanctionner en cas de non respect des lois et codes en vigueur, ne sont pas le plus souvent suivis d'arrêtés d'application et laissent croire à des « *pays sans police* ».

Au Bénin, des réglementations existent en matière de protection de l'atmosphère dont les plus spécifiques à la pollution atmosphérique sont :

- le décret N°2001-110 du 04 avril 2001 fixant les normes de qualité de l'air en République du Bénin ;
- l'arrêté interministériel⁸ du 23 novembre 2004 fixant les normes de qualité de l'essence sans plomb commercialisée en République du Bénin ;
- l'arrêté⁹ du 07 mars 2005 fixant les normes de qualité des essences sans plomb commercialisées en République du Bénin.

⁸ N° 94MMEH/MEHU/MICPE/DC/SG/CTRNE/CTJ-DGE/DE/SA

⁹ N° 10/MMEH/DC/SGM/CTRNE/CTJ/DGE/SA

Il existe également des textes juridiques qui, bien que n'étant pas spécifiques à la pollution de l'air participent à la lutte contre la pollution atmosphérique. Il s'agit :

- de la loi-cadre sur l'environnement (N° 98-030) du 12 février 1999 ;
- du décret N°2001-096 du 20 février 2001 portant création, attribution, organisation et fonctionnement de la police environnementale ;
- de l'arrêté interministériel¹⁰ du 08 janvier 2003 portant réglementation de l'importation des substances appauvrissant la couche d'ozone et des appareils et équipements usagés utilisant de telles substances ;
- du décret N°2003-332 du 27 août 2003 portant gestion des déchets solides en République du Bénin ;
- de l'arrêté interministériel¹¹ du 17 octobre 2003 fixant les modalités d'agrément des garagistes pour le réglage antipollution et la réparation des moteurs en vue du respect des normes d'émission de gaz polluants ;
- du décret N°2004-710 du 30 décembre 2004 portant obligation d'importer des véhicules automobiles équipés de pots catalytiques.

L'analyse minutieuse des textes à montré qu'ils contiennent des faiblesses telles que les non prises en compte des émissions des feux de brousse, des pratiques domestiques et de l'incinération des déchets. Les textes ne prennent pas non plus en compte l'intervention et la concertation des acteurs ainsi que les lois et code en vigueur ([Banque Mondiale, 2007](#)). Certains même de ces arrêtés sont surréalistes en ce sens qu'ils sont inapplicables tant les services de contrôle sont quasiment inexistantes. En effet, près de dix ans après le décret du 30 décembre 2004, la très grande majorité des « venus de France », véhicules importés transitant par le port de Cotonou reste encore des voitures d'occasion de plus de

¹⁰ N° 002/MEHU/MICPE/MFE/DC/SG/DE/SEL/DEE/SA

¹¹ N° 0062/MEHU/MTPT/DC/CTE/SG/DE/SA

10 ou 15 ans sans pot catalytique d'origine qui reçoivent néanmoins le feu vert de circulation. De plus, rares sont les véhicules qui sont recalés après un contrôle technique pour manquement aux mesures préventives destinées à améliorer la qualité de l'air.

La convention cadre sur les changements climatiques adoptée à Rio de Janeiro le 13 juin 1992 est entrée en vigueur au Bénin le 13 décembre 1993 et celle de Vienne relative à la protection de la couche d'ozone et le protocole de Montréal relatif aux substances qui appauvrissent la couche d'ozone sont entrés respectivement en vigueur au Bénin les 30 juin 1994 et 16 mars 1993. Le tableau 6 reporte les normes de qualité de l'air ambiant au Bénin.

Tableau 6 : Normes de qualité de l'air ambiant au Bénin comparées à celles de l'OMS

(Source : adapté de *La présidence, 2001; World Health Organization, 2006*)

Polluants	Bénin		OMS	
	Moyenne		Moyenne	
	horaire	annuelle	horaire	annuelle
O₃	160 µg/m ³ (8 h)		100 µg/m ³ (8 h)	
PM₁₀	230 µg/m ³ (24 h)	50 µg/m ³	50 µg/m ³ (24 h)	20 µg/m ³
NO₂	150 µg/m ³ (24 h)	100 µg/m ³	200 µg/m ³ (1 h)	40 µg/m ³
SO₂	1300 µg/m ³ (1 h)		500 µg/m ³ (10 min)	
	200 µg/m ³ (24 h)	80 µg/m ³	20 µg/m ³ (24 h)	
CO	40 mg/m ³ (1h)		30 mg/m ³ (1h)	
	10 mg/m ³ (8 h)		10 mg/m ³ (8 h)	
Pb		2000 ng/m ³		500 ng/m ³

Comparées aux normes européennes et de l’OMS, ces normes sont peu strictes. Le benzène, un des polluants cancérigènes rencontré dans l’air, ne fait même pas partie des normes établies. Les normes des concentrations annuelles de particules sont très larges.

Selon le rapport de la Banque Mondiale, les concentrations moyennes annuelles des PM₁₀ sont de 78 µg/m³ avec des pointes journalières dépassant 300 µg/m³ alors que celles de l’OMS sont de 50 µg/m³ (norme journalière) et 20 µg/m³ (norme annuelle). Aussi, les législations devront être révisées, car elles ne tiennent pas compte des particules fines PM_{2.5} qui sont considérées comme plus toxiques. Les informations contenues dans la base de données de l’OMS doivent principalement permettre aux villes de surveiller l’évolution de la pollution atmosphérique dans le temps à travers les différentes sources afin de choisir des interventions efficaces, de les améliorer et de les généraliser.

C. Sources d'émission, évaluation et surveillance

1. Émissions naturelles

Il s'agit ici des émissions non anthropiques telles que les embruns marins, et des éruptions volcaniques qui rejettent des milliers de tonnes de CO₂, de soufre, d'aérosols et autres polluants dans l'atmosphère. Les facteurs « naturels » comme les conditions météorologiques, aggravent ou améliorent la qualité de l'air. Les conditions météorologiques parfois défavorables limitent la dispersion des polluants dans l'atmosphère et contribuent à l'observation de pics de pollution qui dégradent la qualité de l'air (temps froid ou ensoleillé, anticyclone, vent faible ou violent, etc.). Les émissions naturelles regroupent également les incendies naturels de forêts, la décomposition de la matière organique, le soulèvement naturel de poussières, etc. Elles ne sont donc pas à négliger.

Selon [Auby \(2012\)](#), les émissions naturelles de composés organiques volatils par la végétation seraient cinq fois plus intenses que celles d'origine anthropique. Généralement, l'analyse des composés organiques volatils ne tient pas compte du méthane (CH₄). C'est un composé qui est surtout lié aux émissions naturelles. C'est pourquoi il n'est pas compté, pour ne pas « fausser » les chiffres, parmi les COV (on parle de COVNM = COV non méthanique). Cependant, les rapports des flux anthropiques aux flux naturels sont bien plus importants pour certains polluants atmosphériques.

2. Émissions anthropiques

2.1 Émissions par secteur

De nombreuses activités humaines contribuent à une augmentation de la pollution atmosphérique, en particulier les activités industrielles, agricoles et les activités liées aux transports.

Dans les pays occidentaux, l'industrie demeure l'un des premiers responsables de la pollution atmosphérique. Pourtant, les efforts de traitement et de réduction de la pollution ont été considérables ces dernières années. Dans les pays en développement, la situation est parfois critique. La surveillance, les installations de dépollution des industries et les législations en matière de protection de l'environnement sont presque inexistantes ou non respectées.

L'agriculture joue un rôle très important dans l'assainissement de la qualité de l'air, en fixant des polluants atmosphériques comme le dioxyde de carbone ou certains polluants acides. Cependant, ce secteur n'en demeure pas moins responsable d'émissions polluantes variées (telle que l'utilisation des pesticides) dont la dispersion peut se faire sur de très longues distances.

L'incontournable secteur des transports participe de façon considérable à la pollution de l'air. Les gaz d'échappement, l'usure des organes mécaniques (freins, pneus, etc.), l'évaporation et la combustion incomplète des carburants sont autant de sources de pollution liées au transport.

Les centrales énergétiques ou thermiques constituent l'une des sources de pollution de l'air surtout dans les pays occidentaux. Dans les pays en développement, des phénomènes d'émissions polluantes ont été pendant longtemps et même de nos jours parfois peu considérés. En effet, les incinérations et surtout les feux de brousse ou de biomasse liés aux activités de défrichage pour l'utilisation permanente de terres pour l'agriculture, l'élevage et l'élimination des résidus agricoles ([Assamoi, 2011](#)) ainsi que les chauffages domestiques pour la cuisson (utilisation du bois de chauffage et de charbon) constituent des sources locales non négligeables produisant une importante pollution atmosphérique. Cependant, la principale cause de la pollution atmosphérique est d'origine automobile. Plus de 85 % des gaz polluant l'atmosphère proviennent de la

combustion de carburant fossile¹². La figure 30 illustre les principales sources anthropiques émettrices de polluants atmosphériques.

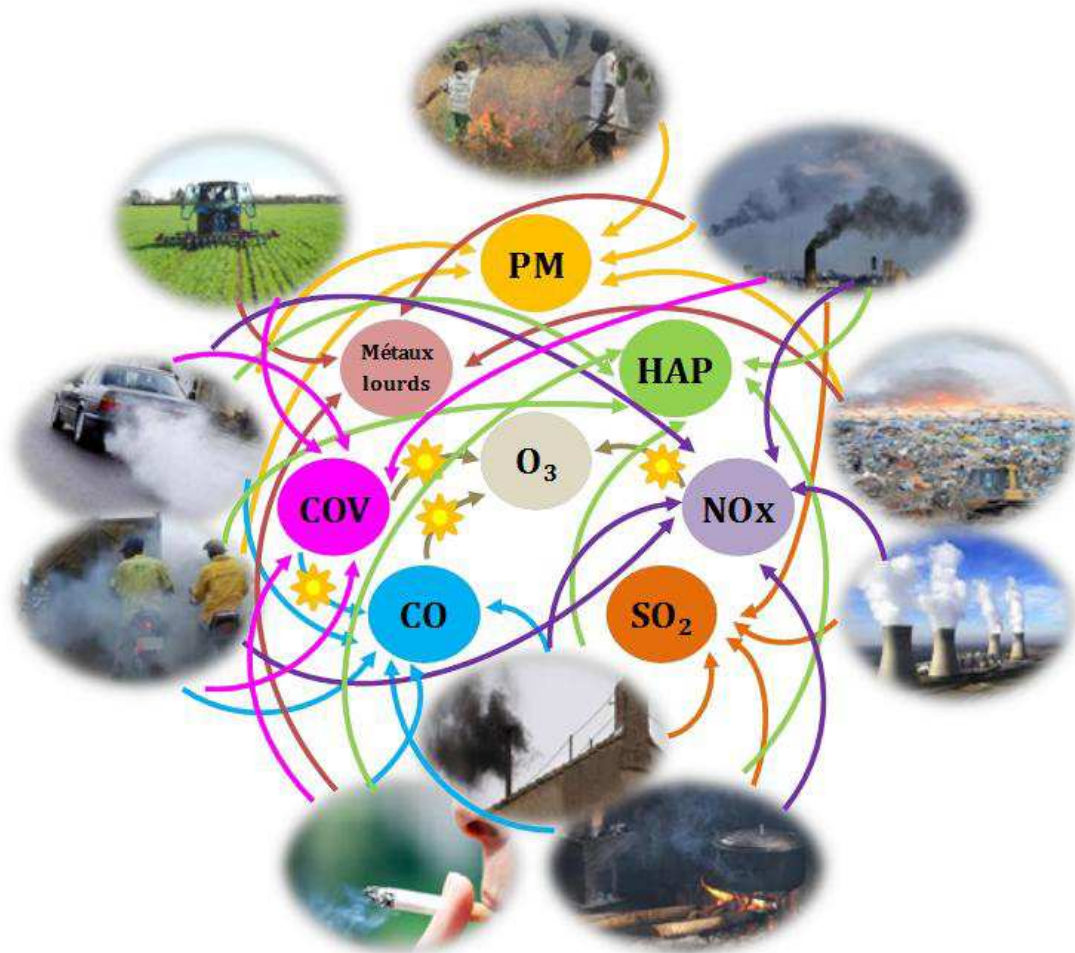


Figure 30 : Principales sources anthropiques émettrices des polluants majeurs de l'atmosphère

2.2 Émissions par les polluants majeurs

Les COVs proviennent généralement des sources mobiles (transports routiers), des évaporations des carburants (surtout dans les pays en développement comme le Bénin) et des procédés industriels tels que le raffinage

¹² <http://www.edunet.ch/activite/wall/enfants/dossiers/pollution/sources.htm> (Consulté le 10-08-2013)

du pétrole, l'application de peintures et de vernis, l'imprimerie, etc. (ASPA, 2007). Le méthane (CH₄), également un COV, est libéré à partir de l'extraction du gaz naturel, des mines de charbon, des décharges, des eaux usées, des animaux ruminants, de la riziculture et de la combustion de biomasse (European Environment Agency, 2012b).

Le secteur des transports (gaz d'échappement, combustion des carburants, poussières en suspension des routes), les pratiques domestiques (combustion du bois ou du charbon) et le secteur industriel (incluant la génération d'énergie des centrales thermiques et les procédés industriels), l'incinération anarchique et les feux de biomasse (dans les pays en développement) sont les principaux émetteurs de matières particulaires.

Les véhicules diesel et les centrales électriques sont les principales sources d'émissions de NO_x. Grice et al. (2009) a montré que le pourcentage d'émissions de NO₂ primaire peut atteindre 70 % au niveau des véhicules diesel. Aussi, le SO₂ est émis dans l'atmosphère lors de la combustion des combustibles contenant du soufre et le CO provient essentiellement du transport (combustion incomplète des combustibles fossiles et biocarburants).

Quant aux éléments traces métalliques (ETM), les principales activités responsables de leurs émissions dans l'atmosphère sont l'industrie (Götschi et al., 2005; Rajšić et al., 2008; Salvador et al., 2012; Vallius et al., 2005), avec en particulier la production d'acier en ce qui concerne les éléments Pb, Cd, Cr, Zn, Mn, As, Ni (Moreno et al., 2006), les cimenteries (Al, Si, Ca, K, Cd, Pb, As, Cu, Mg, Santacatalina et al., 2010), la pétrochimie (Ni, V, Zn, Cr, Co (Moreno et al., 2006) et Pb dans certains pays africains), la combustion des carburants (Ni, Mo, Co, V, Ilacqua et al., 2007; Mazzei et al., 2008; Pakkanen et al., 2001), la combustion du charbon (Se, Pb, Cd, Salvador et al., 2012; Schleicher et al., 2011) et les gaz d'échappement (Cu, K, Mn, Zn, Pb, Ba, Sb, Br, As, V, Cd, Bešlić et al., 2008; Ilacqua et al., 2007; Mazzei et al., 2008).

Par ailleurs, les HAPs sont adsorbées sur des particules fines provenant de la combustion incomplète de matière organique ([European Environment Agency, 2012b](#)). Leurs émissions sont souvent favorisées par le chauffage au bois, les feux de brousse, de pneus, ainsi que l'incinération des déchets.

3. Flux d'émissions des particules dans l'atmosphère

À l'échelle globale, de nombreux travaux fournissent une estimation à la fois des émissions de particules primaires et des quantités de particules secondaires présentes dans l'atmosphère, ceci en les différenciant suivant leur origine anthropique ou naturelle (tableau 7). La première information tirée de ces données est la disproportion importante entre l'intensité des émissions naturelles (qui représentent plus de 90 % du flux total d'émission) et des émissions anthropiques. Plus précisément, on s'aperçoit que l'origine de cette disproportion est essentiellement due aux émissions de particules primaires marines et désertiques, c'est-à-dire respectivement aux sels de mer et aux poussières minérales. L'examen global des contributions respectives des émissions naturelles et anthropiques suggère une faible perturbation du cycle des aérosols par les activités humaines, puisque celles-ci n'interviennent que pour 10 % environ de la masse d'aérosols émise chaque année dans l'atmosphère à l'échelle de la planète. Il ne faut pourtant pas négliger les émissions anthropiques : celles-ci se répercutent en forte proportion sur le mode fin des aérosols. De plus, leur composition retient l'attention des scientifiques : les composés organiques tels les COVs, les HAPs et PCB, mais aussi un grand nombre de métaux de transition, présentant des risques pour la santé humaine et notre environnement, proviennent de contributions anthropiques. Plus précisément, 70 à 90 % de la concentration atmosphérique de certains métaux lourds, du soufre particulaire et de certains composés organiques sont aujourd'hui directement liés aux émissions anthropiques. Autrement dit, les activités humaines émettent chaque année dans l'atmosphère 4 à 5 fois plus de ces éléments que ne le fait l'ensemble des sources naturelles ([Delmas et al., 2005](#)).

Tableau 7 : Estimation des émissions de particules dans l'atmosphère
(Source : Delmas et al., 2005)

Origine de la source	Sources	Flux (106 t/an)	
		Estimation moyenne	Estimation Min et Max
Naturelles	Primaires		
	Poussières minérales	1 500	1 000 - 3 000
	Sels de mer	1 300	1 000 10 000
	Cendres volcaniques	33	4 - 10 000
	Débris biogéniques	50	26 - 80
	Secondaires		
	Sulfates biogéniques	90	80 - 150
	Sulfates volcaniques	12	5 - 60
	Aérosols organiques secondaires	55	40 - 200
	Nitrates	22	15 - 50
	Total	3 060	2 170 23 540
Anthropiques	Primaires		
	Suies	20	5 - 20
	Poussières industrielles	100	40 - 130
	Secondaires		
	Feux de végétations	80	60 - 160
	Sulfates anthropiques	140	170 - 250
	Nitrates anthropiques	36	25 - 65
	Aérosols organiques	10	0,5 - 25
		Total	390

Une deuxième information qu'apporte ce tableau est l'incertitude importante liée à ces estimations. La variabilité de l'estimation est proportionnellement plus grande pour les sources d'aérosols secondaires que pour les sources primaires. De même, l'incertitude sur l'estimation des émissions particulaires secondaires et primaires est proportionnellement plus importante pour les sources naturelles que pour les sources anthropiques. Il faut mentionner que les flux d'émissions sont calculés à partir d'un paramètre caractéristique d'activités pour la source concernée (énergie consommée, quantité de produits fabriqués, etc.) pondéré par un « facteur d'émission » caractérisant le rejet de la source liée à l'activité. Si les

facteurs d'émission sont relativement bien connus pour les gaz comme les oxydes d'azote ou le monoxyde de carbone, ils le sont moins pour les émissions de particules, car ils sont extrêmement variables en fonction de l'activité considérée. Par exemple, les facteurs d'émissions par les véhicules diesels varient du simple au triple suivant le type de véhicule et le mode de conduite. De même, la quantité de particules émises par les feux de biomasse dépend très fortement du type de combustion. Il en résulte une grande incertitude sur les émissions des sources fixes, c'est-à-dire les sources ponctuelles comme les industries et les sources surfaciques comme les décharges.

Toutes ces émissions de polluants toxiques dans l'atmosphère méritent d'être évaluées et suivies pour une meilleure protection de la santé des populations exposées et de l'environnement.

4. Évaluation de la qualité de l'air

Il existe différentes façons d'évaluer la qualité de l'air. Outre la caractérisation physique et/ou chimique des polluants atmosphériques, la qualité de l'air peut être évaluée grâce à la bioindication des polluants et par le traçage des sources de pollution. Cependant, le premier suivi mis en place partout dans le monde est la surveillance par les réseaux de mesure. Ces réseaux assurent la surveillance de la qualité de l'air extérieur et l'information auprès du public. Il s'agit des associations agréées de la surveillance de la qualité de l'air (AASQA) du réseau ATMO, le programme européen de surveillance des retombées atmosphériques (EMEP), le réseau national de surveillance aérobiologique (RNSA), le réseau national de surveillance de la pollution atmosphérique (RNSPA, Canada), l'agence de protection environnementale (US-EPA, États-Unis), etc. Dans ce manuscrit, nous nous intéressons à la biosurveillance qui fait partir de nos perspectives visant à contribuer à la surveillance de la qualité de l'air et à la sensibilisation du public dans nos mégapoles africaines.

4.1 Bioindicateurs dans la surveillance de la qualité de l'air

La biosurveillance de la qualité de l'air est un outil simple et peu coûteux, complémentaire aux mesures physico-chimiques réalisées par les réseaux de surveillance. Elle ne permet pas de connaître la concentration de l'air en polluants, mais elle donne des indications sur les impacts potentiels que ces polluants atmosphériques peuvent avoir sur les êtres vivants. Nous présentons ici la biosurveillance végétale bien que l'usage des animaux pour la caractérisation de la qualité de l'air soit également bien connu. La biosurveillance végétale reste encore trop peu employée en tant qu'outils de caractérisation ou de suivi de la qualité de l'air par les réseaux de mesure (Moha_123, 2010a).

La bioindication est une méthode qui permet d'observer la dégradation des compartiments de l'environnement grâce à des végétaux bien spécifiques. Dans le cas de la surveillance de la qualité de l'air, des bioindicateurs permettent de réaliser des prévisions et des cartographies. Ce sont des outils qui favorisent l'observation en temps réel des effets néfastes des polluants chimiques de l'atmosphère sur les végétaux. Ils permettent également de mesurer les niveaux de pollution et d'obtenir des informations précises sur la répartition spatiale des polluants. Cette méthode de la surveillance de la qualité de l'air se repose essentiellement sur l'usage des plantes de culture telles que le tabac, la misère ou le peuplier qui sont utilisées comme bioindicateurs de pollution à l'ozone ou aux substances mutagènes contenues dans l'air. La figure 31 regroupe quelques plantes fréquemment utilisées dans le suivi de la pollution atmosphérique. La plante de tabac sauvage **Bel W3** (*Nicotina tabacum*) (figure 31A) est un bioindicateur de l'ozone (Klumpp et al., 2006a, 2006b) connu depuis les années 1960. Les graines sont cultivées généralement sous serre puis les jeunes plants sont exposés afin d'observer la dégradation de la chlorophylle des feuilles par l'ozone à travers les taches appelées nécroses. Le taux de nécroses est représentatif de la pollution subie pendant la durée d'exposition (figure 32). Le peuplier (*Populus nigra*: Brandaris) (figure 31B) est également une plante sensible à l'ozone (Bortier et al., 2001) qui présente des nécroses, chloroses (jaunissement

ou chute prématurée des feuilles) et une diminution de la croissance des feuilles en cas de concentrations relativement élevées en ozone. La misère (*Tradescantia occidentalis*) (figure 33C) est une plante qui présente des altérations chromosomiques suite aux contaminations par des substances mutagènes (van Haluwyn, 2009).

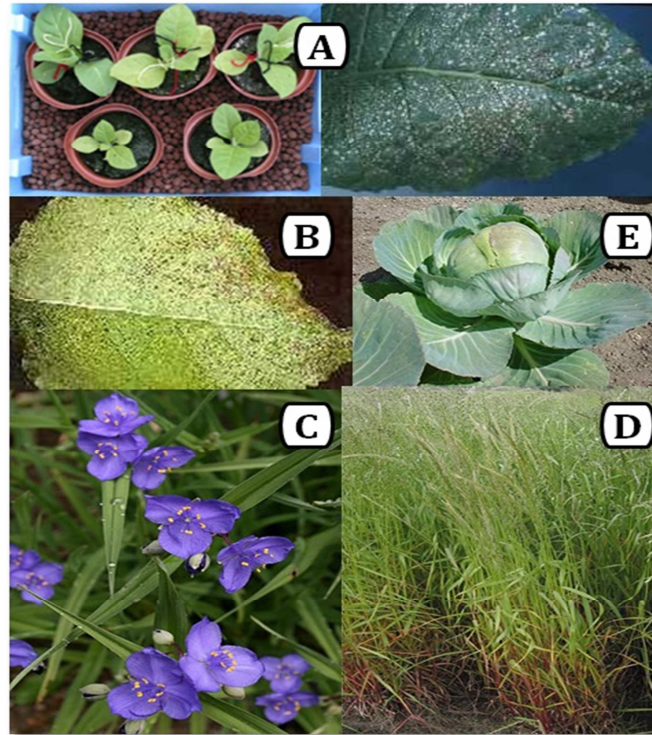


Figure 31 : Quelques bioindicateurs et bioaccumulateurs de pollution de l'air

A = tabac ; B = peuplier ; C = misère ; D = ray-grass ; E = chou vert

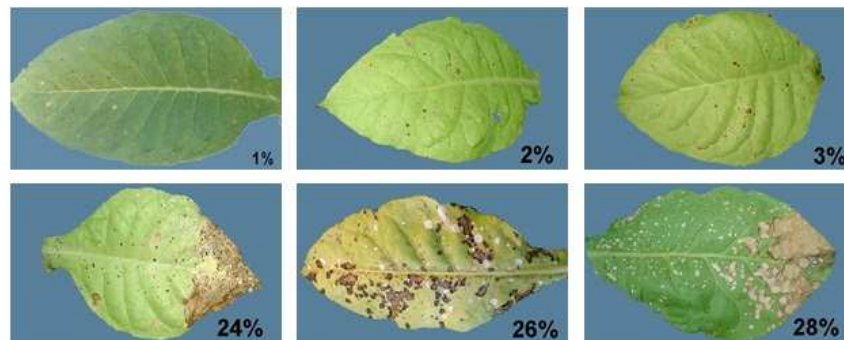


Figure 32 : Estimation visuelle des dégâts foliaires après une exposition des plantes à la pollution atmosphérique (Source : Castell, 2009a)

De nombreux végétaux peuvent être utilisés pour la biosurveillance de la qualité de l'air, soit parce qu'ils présentent des réactions biologiques caractéristiques en réponse à certains polluants, soit parce qu'ils accumulent dans leurs tissus certains des composés toxiques qui se trouvent dans l'air qui les entoure. En effet, il existe des plantes bioaccumulatrices qui ont pour propriété de retenir certains polluants atmosphériques. Il s'agit du ray-grass (*Lolium multiflorum*) (figure 31D) qui accumule le soufre et surtout les ETM (Bidar et al., 2009; Klumpp et al., 2009). Le chou vert (*Brassica oleracea*) (figure 31E) qui est reconnu être un accumulateur des HAPs (Tankari Dan-Badjo, 2007). En outre, les plantes de haricot et les lichens présentent des différences de sensibilité aux polluants et sont également de bons bioindicateurs de la pollution de l'air (Castell, 2009b; Moha_123, 2010b).

Cette approche biologique de la surveillance est un outil de sensibilisation du public aux questions environnementales, en particulier, aux problèmes liés à la qualité de l'air. C'est aussi un outil d'aide à la décision en matière de politique de santé humaine. Dans le contexte actuel d'un « principe de précaution » en matière d'environnement, la biosurveillance peut être vue comme un outil d'alerte pour l'opinion publique. Dans les pays en développement, cette méthode est très peu utilisée et il serait intéressant de rechercher à l'avenir des plantes tropicales qui serviront de bioindicateurs ou bioaccumulateurs de polluants atmosphériques, principalement dans les pays d'Afrique subsahariens.

Par ailleurs, pour évaluer la qualité de l'air, les bioindicateurs de polluants ne suffisent plus. Le croisement d'informations sur la mesure des concentrations de polluants, le traçage de leurs sources d'émission, sont mis à contribution pour évaluer de façon plus précise la pollution.

4.2 Traceurs de pollution de l'air

Bien que les traceurs biologiques soient largement utilisés à des fins de recherches scientifiques et d'études d'impact de la pollution atmosphérique sur la santé humaine, des traceurs chimiques font l'objet de recherches approfondies dans la surveillance et le contrôle des émissions de polluants atmosphériques dans le but d'une optimisation de la qualité de l'air dans les villes. Ce sont généralement des polluants caractéristiques d'une pollution spécifique. Cette thèse se penchera sur les traceurs de sources d'émission de polluants atmosphériques.

La présence des polluants traceurs dans l'écosystème permet de détecter le dépôt et le cheminement de la pollution de l'air de façon à déterminer le plus distinctement possible les différentes sources d'émission. Des chercheurs utilisent par exemple le carbone isotopique pour évaluer la pollution urbaine de CO ou CO₂ (Kèlomé et al., 2006; Piletic et al., 2013), l'ozone comme traceur et indicateur de pollution photochimique (Duan et al., 2008; Sikder et al., 2011), le SO₂, le traceur habituel de la pollution industrielle, le NO, le NO₂ et les nitrates isotopiques sont des traceurs de pollution liée au trafic (Kojima et al., 2011), les HAPs pour la pollution provenant de phénomènes de combustion : combustion de biomasse (AMPASEL et al., 2010), rejets automobiles et émissions industrielles (Cazier et al., 2011; Tobiszewski and Namieśnik, 2012). De plus la dégradation de la qualité de l'air suite aux conditions météorologiques défavorables est parfois suivie par les COVs (Liu et al., 2012). Dans ce document, nous avons utilisé des ratios pour la détermination des sources de pollution. Le tableau 8 présente un panel de ratios de composés chimiques couramment rencontrés dans l'atmosphère ou adsorbés sur des particules. L'évaluation et la surveillance de la qualité de l'air à travers la bioindication, le traçage des sources d'émission et la caractérisation physicochimique complète réalisés par les réseaux de surveillance, contribuent significativement à la mise en place des politiques de santé publique et réduisent au mieux les impacts environnementaux et surtout sanitaires de la pollution atmosphérique.

Tableau 8 : Quelques ratios d'identification des sources de pollution

Ratios HAPs	Valeurs	Sources	Référence
$\Sigma\text{COMB}/\Sigma\text{HAPs}$	~ 1	Combustion	Ravindra et al. (2008)
BaP/BghiP	< 0,6	Émissions non liées au trafic	Katsoyiannis et al. (2007)
	> 0,6	Émissions liées au trafic	
BaP/(BaP + Chr)	0,5	Émissions de moteurs diesel	Cazier et al. (2011)
	> 0,5	Émissions de moteurs à essence	
BaP/(BaP + BeP)	~ 0,5	Émissions fraîches de particules	Oliveira et al. (2011)
	< 0,5	Vieillissement de particules	
BaA/(BaA + Chr)	0,2-0,35	Combustion du charbon	Akyüz and Çabuk (2010)
	> 0,35	Émissions de véhicules	
$\Sigma\text{MePhe}/\text{Phe}$	< 1	Combustion du pétrole	Callén et al. (2011)
	> 1	Combustion du diesel	
BbF/BkF	2,5-2,9	Émissions des alumineries	
Ant/(Ant + Phe)	< 0,1	Origine pétrogénique	Pies et al. (2008)
	> 0,1	Origine pyrogénique	
Flu/(Flu + Pyr)	< 0,4	Origine pétrogénique	Torre-Roche et al. (2009)
	0,4-0,5	Combustion de combustibles fossiles	
	> 0,5	Combustion du bois, du charbon, de l'herbe	
	> 0,5	Émissions de moteurs diesel	Ravindra et al. (2006)
	< 0,5	Émissions de moteurs à essence	
Ind/(Ind + BghiP)	0,35-0,70	Émissions de moteurs diesel	Ravindra et al. (2006)
Ratios COVs			
T/B	1,5-4	Émissions du trafic routier	Miller et al. (2012)
B/T	0,4	Émissions de véhicules	Wang et al. (2012)
X/E	0,2-0,9	Réactions photochimiques (présence d'ozone)	Lan and Binh (2012)
Autres ratios			
Ste/Pal	< 0,25	Fumée de bois, combustion de la végétation	Rogge et al. (2006)
	0,25-0,5	Émissions de véhicules diesel	
	0,5-1	Poussières du trafic routier	
OC/EC	0,3-0,4	Combustion de véhicules	Pio et al. (2011)
	8,5-10,9	Combustion de biomasse	Satsangi et al. (2012)

Benzo[a]Pyrene = BaP, Benzo[g,h,i]Perylene = BghiP, Chrysene = Chr, Benzo[e]Pyrene = BeP, Benzo[a]Anthracene = BaA, MePhe = Methylphenanthrene, Phenanthrene = Phe, Benzo[b]Fluoranthene = BbF, Benzo[k]Fluoranthene = BkF, Anthracene = Ant, Fluoranthene = Flu, Pyrene = Pyr, Indeno[1,2,3-c,d]Pyrene = Ind, ΣHAPs = Somme des HAPs non alkylés, T = Toluène, B = Benzène, E = Ethylbenzène, X = Xylène, Ste = Acide stéarique, OC = Carbone organique, EC = Carbone élémentaire, Pal = Acide palmitique, ΣCOMB = Σ BaP, Chr, Flu, Pyr, BaA, Ind, BkF, BbF, et BghiP

D. Conséquences de la pollution atmosphérique

Les effets de la pollution atmosphérique sur l'environnement peuvent se ressentir à différents niveaux. Ces effets sont visibles sur les bâtiments et monuments suite à la corrosion générée par les composés soufrés, aux noircissements et encroûtements par les poussières ou particules de la combustion des combustibles fossiles, en association avec l'humidité et les microorganismes (figure 33).



Figure 33 : Développement des croûtes noires dues à la pollution de l'air¹³

Les effets de la pollution de l'air sur les végétaux sont plus visibles à travers des nécroses sur les feuilles des plantes (illustrées dans le sous-chapitre précédent), ainsi qu'une réduction de leur croissance, occasionnant parfois une mauvaise production agricole. D'autres effets néfastes sont les pluies acides, entraînant le dépérissement des forêts et l'appauvrissement des sols.

Outre ces impacts environnementaux perceptibles et très peu étudiés, le monde de la recherche scientifique s'investit et se focalise majoritairement sur les effets sanitaires parfois mortels pour l'homme.

¹³ <http://www.airparif.asso.fr/pollution/effets-de-la-pollution-generalites> (Consulté le 10-10-2013)

1. Impacts sanitaires de la pollution atmosphérique

La pollution atmosphérique est incontestablement génératrice d'effets néfastes sur la santé humaine. Selon l'OMS, l'exposition à la pollution atmosphérique constitue la 13^{ème} cause de mortalité dans le monde (Ezzati et al., 2002). Le journaliste Mat McDermott avait écrit un article à ce sujet : « **La pollution de l'air tue plus de personnes dans le monde chaque année que le sida et le paludisme réunis** ». En effet, depuis 2010 à ce jour, la pollution de l'air extérieur a causé 3,3 millions de morts et celle de l'intérieur a engendré 3,5 millions de décès (Karl, 2013) alors que moins de 2 millions de décès sont imputables au sida et au paludisme réunis (World Health Organization, 2011b, 2011c). Les endroits les plus touchés par la pollution de l'air sont généralement les pays en développement, plutôt pauvres, disposant des normes moins rigoureuses avec des technologies d'évaluation encore obsolètes et dont les ressources sont faibles. D'ailleurs, l'OMS estime que la pollution de l'air intérieur est responsable d'environ 2 millions de décès prématurés par an, principalement dans des pays en développement. Celle du milieu urbain serait responsable de 1,3 million de décès dans le monde par an dont 82 000 en Afrique Subsaharienne (World Health Organization, 2008). Les plus vulnérables sont les enfants de moins de 5 ans. En Asie, la pollution atmosphérique a causé la mort de 2,1 millions de personnes en 2010, ce qui correspond à 52 millions d'« années de vie corrigées de l'incapacité » (disability-adjusted life years en anglais) qui ont été perdues en Asie, soit la somme des années de vie potentielles perdues en raison d'une mortalité prématurée et des années productives perdues en raison d'incapacités (Garric, 2012).

Les efforts de réduction des émissions polluantes surtout dans les pays développés n'ont pas suffi à améliorer de façon permanente la qualité de l'air. Ainsi, une proportion importante de la population mondiale reste exposée à des concentrations élevées de polluants atmosphériques agressifs et dangereux pour l'homme. Les particules et l'ozone troposphérique sont reconnus comme étant les deux polluants les plus significatifs en termes d'incidence sur la santé (European Environment Agency, 2013). Il ne faut cependant pas omettre d'autres polluants

tels le dioxyde d'azote dont l'impact sanitaire peut parfois se révéler plus important que celui de l'ozone. Une récente étude a démontré, à partir des calculs d'exposition quotidienne de la population générale ou des professionnels du transport, et en tenant compte des données de fond et de proximité du trafic, que les expositions aux oxydes d'azote étaient sous-estimées par rapport à celles de l'ozone qui elles étaient surestimées (Morin et al., 2009). De nombreuses études épidémiologiques ont montré la corrélation existant entre l'exposition aux matières particulaires et l'apparition des pathologies comme les maladies respiratoires et cardiovasculaires ainsi que la mortalité (Kelly and Fussell, 2012; Merbitz et al., 2012; Sun et al., 2012; Turner et al., 2011). Selon les estimations, les particules fines (PM_{2.5}) dans l'air ont réduit l'espérance de vie statistique dans l'UE de plus de huit mois (European Environment Agency, 2013). Le tableau 9 résume l'ensemble des effets néfastes de la pollution de l'air sur l'environnement, la santé et le climat.

Tableau 9 : Les effets de la pollution de l'air sur l'environnement

(Source : adapté de European Environment Agency, 2012a)

Polluants	Effets sur la santé	Effets sur l'environnement	Effets sur le climat
PM	Affecte les systèmes nerveux central et de reproduction, peut causer ou aggraver les maladies cardiovasculaires et pulmonaires, les crises cardiaques, le cancer et la mort prématurée.	Affecte les écosystèmes, les animaux et la croissance des plantes. Effets de salissure des monuments et bâtiments.	Effet sur le climat varie en fonction de la taille et de la composition: refroidissement ou réchauffement. Peut modifier les précipitations.
O ₃	Peut diminuer la fonction pulmonaire, aggraver l'asthme et d'autres maladies pulmonaires. Peut conduire à une mortalité prématurée.	Endommage la végétation, la croissance et la reproduction des plantes, diminuant les rendements agricoles. Peut altérer la structure des écosystèmes, réduire la photosynthèse et la biodiversité.	Gaz à effet de serre contribuant au réchauffement de l'atmosphère.
NO _x	Affecte le foie, les poumons, la rate et le sang. Peut aggraver les maladies pulmonaires et accroître la susceptibilité aux infections respiratoires. Impacts cardiaques, aggravation de l'asthme.	Contribue à l'acidification et à l'eutrophisation des sols et de l'eau conduisant aux changements de la biodiversité. Est un précurseur de l'O ₃ et des PM. Endommage les bâtiments.	Contribue à la formation de l'O ₃ et des PM.

SO ₂	Aggrave l'asthme et peut réduire la fonction pulmonaire. Peut causer des maux de tête, malaise général et l'anxiété.	Contribue à l'acidification des sols et des eaux de surface. Cause des dommages à la végétation, des pertes d'espèces dans les écosystèmes. Contribue à la formation des PM. Endommage les bâtiments.	Contribue à la formation de particules sulfurées, au refroidissement de l'atmosphère.
CO	Peut conduire à des maladies cardiaques, endommager le système nerveux et provoquer des maux de tête, la fatigue et des étourdissements.	Peut affecter aussi les animaux.	Contribue à la formation de gaz à effet de serre tels que le CO ₂ et l'O ₃ .
Cd	Notamment l'oxyde de cadmium est susceptible d'être cancérigène. Peut causer des dommages aux systèmes respiratoire et de reproduction.	Toxique pour la vie aquatique. Il est très persistant dans l'environnement et s'accumule. Contamine les sols et les aliments.	Pas d'effet spécifique.
Pb	Peut affecter presque tous les organes et systèmes, en particulier le système nerveux. Peut causer une naissance prématurée, une réduction de la croissance, altérer le développement mental.	S'accumule dans les organismes vivants et perturbe les mécanismes et équilibres biologiques. Problèmes de comportement et de reproduction chez les animaux.	Pas d'effet spécifique.
COVs Benzène	Cancérogène pour l'homme. Peut causer la leucémie, affecter les systèmes nerveux central, immunitaire et de reproduction.	Effet toxique aigu sur la vie aquatique. S'accumule, surtout chez les invertébrés. Conduit à des problèmes de reproduction et des changements de comportement. Peut endommager les feuilles et causer la mort des plantes.	Gaz à effet de serre contribuant au réchauffement de l'atmosphère. Contribue également à la formation d'O ₃ et des aérosols organiques secondaires.
HAPs B(a)P	Cancérigène. Peut irriter les yeux, le nez, la gorge et les bronches.	Toxique pour la vie aquatique et les oiseaux. S'accumule surtout chez les invertébrés.	Pas d'effet spécifique.

Comment les polluants atmosphériques, notamment les particules, arrivent-ils à pénétrer dans l'organisme et exercer leur toxicité ?

2. Toxicité des particules atmosphériques

2.1. Pénétration des particules dans l'organisme par voie aérienne

L'appareil respiratoire est la cible privilégiée des agents pathogènes et polluants toxiques de l'air que nous respirons. Les particules en suspension pénètrent dans l'appareil respiratoire par les voies aériennes supérieures (Chuang et al., 2013; Wang et al., 2013). Celles-ci comprennent notamment le nez, les voies nasales, la bouche, les sinus, le pharynx et le larynx où les particules grossières $PM_{2.5-10}$ sont bloquées. Celles-ci sont avalées ou éliminées par des éternuements et la toux. Les plus fines ($PM_{2.5}$) échappent à cette barrière nasopharyngienne et poursuivent leur chemin à travers les voies aériennes inférieures comprenant la trachée et ses ramifications : les bronches et les bronchioles et peuvent ainsi atteindre les petits sacs d'air (figure 34) que sont les alvéoles (Boublil et al., 2013; Li et al., 2013) qui assurent les échanges d' O_2 et de CO_2 entre l'air et le sang sur une surface développée de 100 à 150 m^2 . Elles sont également capables de libérer dans l'organisme des substances toxiques via la circulation sanguine.

Le profil granulométrique des particules atmosphériques conditionne étroitement leur degré de pénétration, de rétention et d'élimination (Ricaud and Witschger, 2012). La déposition des particules dans l'appareil respiratoire est fonction de 5 principaux mécanismes. La figure 35 illustre le cheminement des particules en fonction de leur taille et les modes de déposition associés. Il s'agit de :

- ➔ ***l'impaction*** : les particules en suspension dans l'air ont tendance à suivre leur trajectoire initiale. Toutefois, lorsqu'elles atteignent une courbe dans les voies aériennes, plutôt que de suivre l'écoulement d'air, de nombreuses particules, continuent tout droit et s'impactent sur les parois au niveau des bifurcations. La probabilité d'impaction dépend de la vitesse de l'air et de la masse de la particule. Ce mode de dépôt concerne particulièrement les particules $> 0,5 \mu m$ (Balashazy et al., 2003).

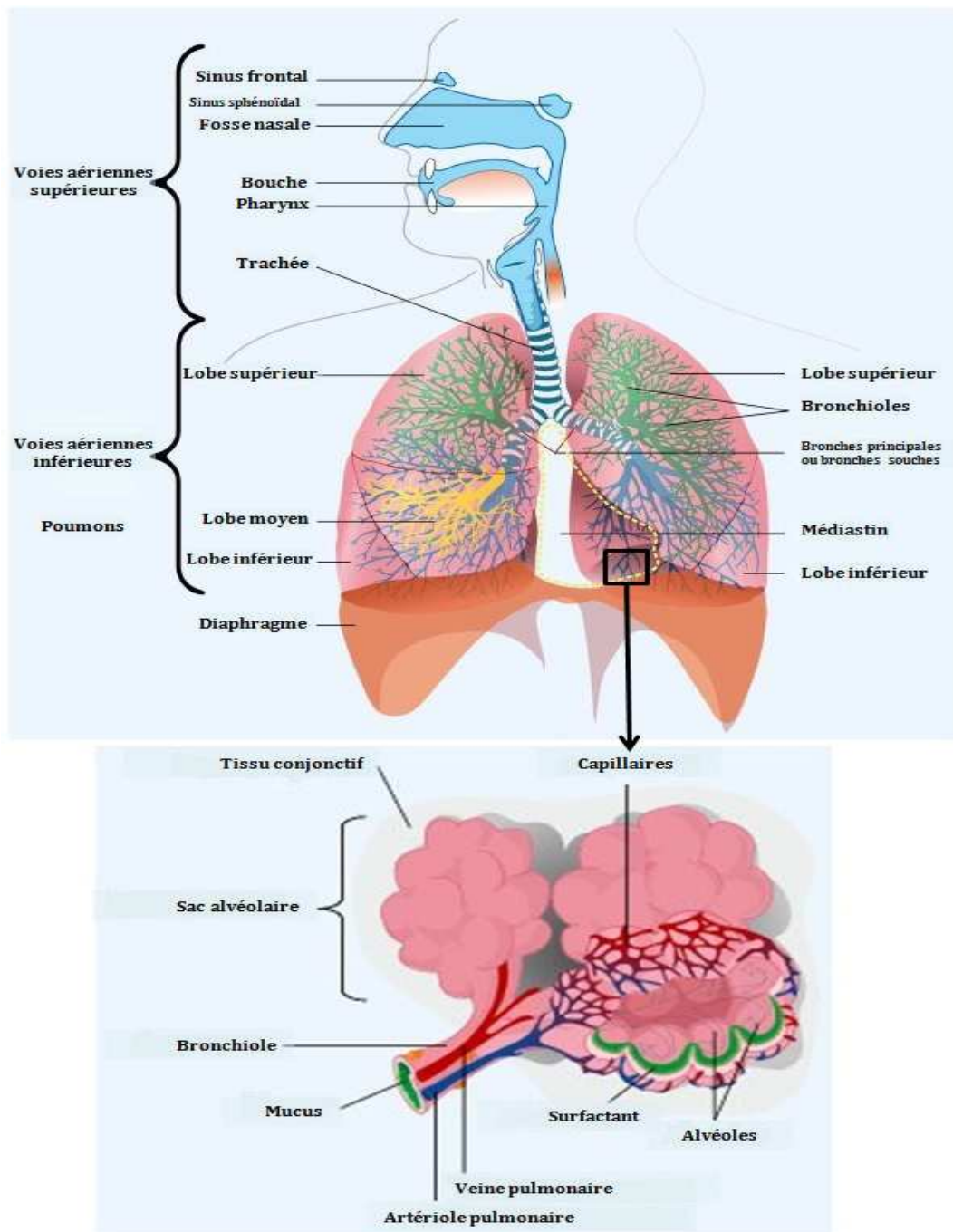


Figure 34 : Structure de l'appareil respiratoire¹⁴

¹⁴ http://www.auxbulles.com/decouverte-plongee-physiologie_la_respiration_et_la_plongee_sous_marine.html
(Consulté le 11-10-2013)

- ➔ **la sédimentation** : l'attraction gravitationnelle et la résistance de l'air finissent par annuler la flottabilité des particules (leur tendance à demeurer dans l'air), ce qui entraîne leur dépôt sur la muqueuse des poumons où la vitesse de l'air est faible. Ce type de dépôt est très fréquent dans les bronches et bronchioles.

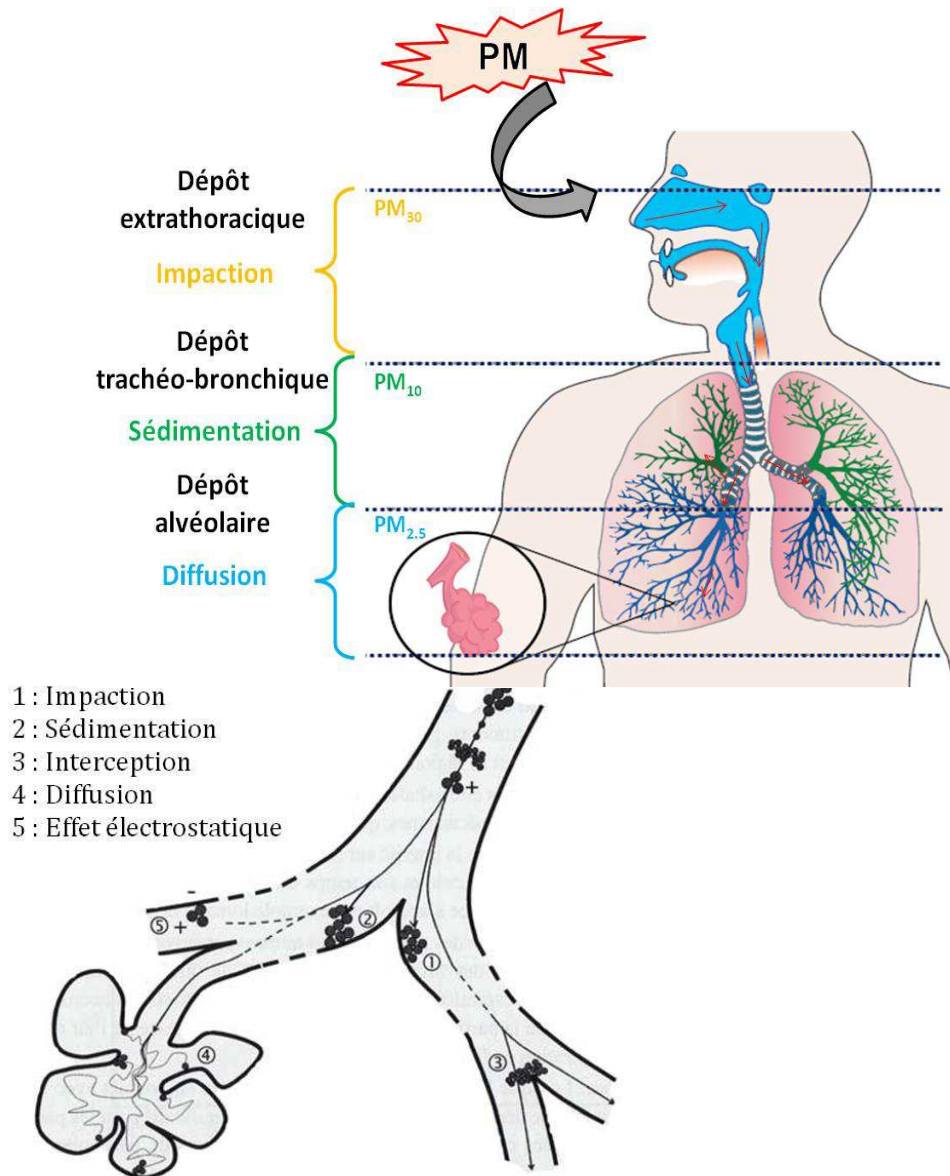


Figure 35 : Mécanismes de déposition dans le système respiratoire en fonction de la granulométrie des particules

(Source : adapté de Hervé-Bazin, 2007)

- ***l'interception*** : les particules ne suivant pas l'écoulement d'air ou étant trop grosses sont interceptées au niveau des points de jonction de l'arbre bronchique. Ce mode de dépôt est visible pour les fibres comme l'amiante.
- ***la diffusion brownienne*** : c'est le mouvement aléatoire des particules. Plus la particule est petite, plus cette agitation est énergique. Lorsque des particules sont agitées par un mouvement aléatoire, leur dépôt sur les parois des poumons se fait au hasard. La diffusion est le mécanisme de dépôt le plus important dans les voies aériennes inférieures surtout dans les alvéoles et concerne particulièrement les particules fines < 0,5 µm.
- ***l'interaction électrostatique*** : ce phénomène se produit en raison de la charge inverse présente sur les parois, mais uniquement pour des particules fortement chargées.

Les particules fines et ultrafines, arrivées dans les sacs alvéolaires, séjournent, s'accumulent et exercent leur mécanisme de toxicité conduisant généralement à des affections respiratoires aiguës et chroniques.

2.2 Pathologies pulmonaires & cardiovasculaires

Le système respiratoire constitue la voie d'exposition principale aux polluants atmosphériques. La respiration est un phénomène physiologique involontaire sur lequel l'individu possède très peu de contrôle (Lajoie et al., 2003). Près de 10 000 L d'air sont respirés en 24 heures chez l'adulte, ce qui prédispose l'homme à de fortes contaminations extérieures. Les contaminants diminuent les moyens de défense immunitaire et augmentent la susceptibilité aux pathologies respiratoires pulmonaires ou cardiovasculaires telles que les bronchiolites, les rhino-pharyngites, l'œdème pulmonaire, l'hypersécrétion bronchique, la pneumopathie d'hypersensibilité, l'hypertension artérielle. À travers les mécanismes de déposition, les polluants de l'air en particulier les PM favorisent la contraction des muscles lisses des poumons, ce qui conduit à l'obstruction des voies respiratoires notamment les bronches entraînant des maladies comme la broncho-

pneumopathie chronique obstructive (BPCO) et une dégradation de la fonction ventilatoire conduisant aux crises d'asthme surtout chez les enfants (Boublil et al., 2013; Gualtieri et al., 2010; Michael et al., 2013). Lors d'une crise d'asthme, le muscle bronchique se contracte (bronchoconstriction), la paroi des bronches s'épaissit (œdème) et secrète d'importantes mucosités (hypersecrétion), ce qui entraîne un rétrécissement de leur calibre et réduit le débit d'air inspiré et expiré. Les causes profondes de l'asthme restent à élucider. Cependant, selon l'OMS, l'exposition aux particules atmosphériques est l'un des facteurs de risque susceptible de provoquer des réactions allergiques, d'irriter les voies respiratoires et même d'entraîner une mortalité à long terme. Il existe actuellement 235 millions d'asthmatiques dans le monde et plus de 180 000 en décèdent chaque année (Organisation Mondiale de la Santé, 2011b). L'asthme touche aussi bien les pays développés que les pays en développement. Les particules (PM_{2.5}) sont également responsables des cancers de poumons, d'une augmentation de la morbidité cardiovasculaire et ont une incidence sur la mortalité à long terme par effets mutagènes (Pope et al., 2011; Raaschou-Nielsen et al., 2011; Tie et al., 2009).

Les pathologies cardiovasculaires sont peuvent être associées à l'exposition aux particules (Brook et al., 2010; Pope et al., 2009). Les plus fréquentes sont l'infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux (AVC) et l'angine de poitrine. Une étude Nord-Américaine a d'ailleurs conclu qu'une augmentation de l'exposition moyenne sur un an à une concentration de particules supérieure à 10 µg/m³ se traduit par une augmentation de 16 % du taux global de mortalité et un accroissement de 43 % du taux de mortalité par infarctus (Ferrer and Maherou, 2013). En effet, l'exposition à la fraction ultrafine des particules est souvent responsable des crises d'hypertension et d'autres symptômes cardiaques qui s'observent seulement 2 jours après exposition (Franck et al., 2011). On retrouve également ces effets à court terme lors des expositions à d'autres polluants tels que le dioxyde d'azote. Des études sur les émissions de moteurs à combustion ont révélé que la phase gazeuse est responsable des impacts cardiovasculaires plutôt que la phase particulaire (Morin et al., 1999; Ohyama et al., 1999). Cependant, l'exposition aux PM_{2.5} pendant quelques heures à quelques semaines peut

bouleverser le rythme cardiaque et une exposition à long terme entraîne une mortalité et une réduction de l'espérance de vie (Brook et al., 2010). Cependant, les mécanismes biologiques qui sous-tendent les affections cardiaques aux expositions à long terme sont peu élucidés. Néanmoins, certains auteurs pensent que les PM seraient liées à une inflammation systémique, au déséquilibre du système nerveux, à une structure cardiaque altérée et au développement de l'athérosclérose (Gill et al., 2011; Hoffmann et al., 2007).

2.3 Effets biologiques des polluants de l'air sur les autres organes

De nombreuses études s'intéressent à la toxicité des polluants de l'air (en particulier des PM) sur les organes ne dépendant pas des systèmes cardiovasculaires et respiratoires. Outre les poumons, la cible des PM, les reins sont préférentiellement la cible des métaux lourds tels que le plomb et le cadmium qui entraînent à long terme des insuffisances rénales (Cabral et al., 2012; Carrier et al., 2012; Houston, 2007). Certains polluants, par un effet toxique indirect sur les tissus, provoquent des lésions en se comportant comme des antigènes et déclenchent une réponse immune délétère. Les organes atteints sont surtout le système nerveux central, le foie et les reins (organes très vascularisés) avec des mécanismes physiopathologiques très complexes. Les particules fines, ultrafines et certains ETM associés franchissent la barrière épithéliale, la paroi des vaisseaux, se retrouvent dans le flux sanguin et peuvent s'accumuler dans les autres organes. Des études chez des mineurs exposés à des poussières ultrafines de charbon ont démontré l'accumulation de ces poussières au niveau du foie et de la rate (Donaldson et al., 2005). En effet, le foie est un site majeur d'accumulation. De plus, chez le rat, des accumulations mineures ont été retrouvées dans le cœur et dans les reins (Akerman et al., 2002). Aussi, les particules peuvent traverser la barrière placentaire affectant ainsi le fœtus. En effet, d'autres polluants atmosphériques tels que le benzène, chef de file des COVs, joue un rôle dans la foetotoxicité mise en évidence chez le rat par une diminution du poids du fœtus (AFSSET, 2008). L'étude de Coate *et al.* (1984) menée chez 250 rats femelles en gestation exposés à 1, 10, 40 et 100 ppm (3,24 – 32,4 – 129,6 – 324 mg/m³) de benzène, 6 heures par jour du

6^{ème} au 15^{ème} jour de gestation a montré une diminution significative du poids des fœtus à partir de 100 ppm (325 mg/m³) de benzène comparé au groupe témoin ($p < 0,05$). Ces concentrations sont nettement supérieures aux niveaux de concentration moyens annuels en benzène relevés dans l'air extérieur par les AASQA (1 µg/m³ en sites urbains de fond et plus de 10 µg/m³ en sites de proximité au trafic)¹⁵. Le benzène est connu également pour son accumulation dans les tissus riches en lipides et pour sa toxicité sur la moelle osseuse réduisant la production des globules sanguins et augmentent le risque de leucémie. Il a été constaté chez des sujets exposés à 1 ppm (3,25 mg/m³) de benzène, une réduction des globules blancs, des plaquettes, et des valeurs hématologiques (Lan et al., 2004). Avogbe et al. (2011) a également montré une atteinte hématologique chez des conducteurs de taxi-motos de Cotonou exposés constamment aux gaz d'échappement et aux émanations des essences aux abords des rues. Il faut souligner que les niveaux exacts de benzène qui induisent la leucémie n'ont pas été clairement définis (Johnson et al., 2007). Certaines études ont suggéré que l'exposition au benzène associé à d'autres facteurs de risque, pourrait conduire à une diminution de la fertilité féminine (AFSSET, 2008), voire une stérilité féminine et une impuissance sexuelle chez l'homme, à des petits poids de naissance, des retards de croissance intra-utérine, et même des décès prématurés chez les enfants (Bohand et al., 2007). Il faut souligner que le benzène est considéré comme un polluant sans seuil en matière de potentiel cancérigène.

D'autres effets toxiques des particules touchent également la fertilité et la stérilité. En effet, l'exposition aux particules fines peut affecter le système de reproduction surtout lors du stade blastocyste, mais n'interfère pas dans le développement précoce de l'embryon (Maluf et al., 2009). Les particules ambiantes de l'air par instillation intra-trachéale (1 µg/µL) peuvent modifier l'hémostase chez les animaux en bonne santé et favoriser la formation de caillot sanguin chez les individus sensibles (Cozzi et al., 2007). Néanmoins, les mécanismes physiopathologiques associés aux différents effets restent à élucider et font

¹⁵ http://www.notre-planete.info/actualites/actu_133_pollution_benzene_locaux.php
(Consulté le 09-11-2013)

d'ailleurs l'objet de nombreuses recherches scientifiques à ce jour bien peu conclusives.

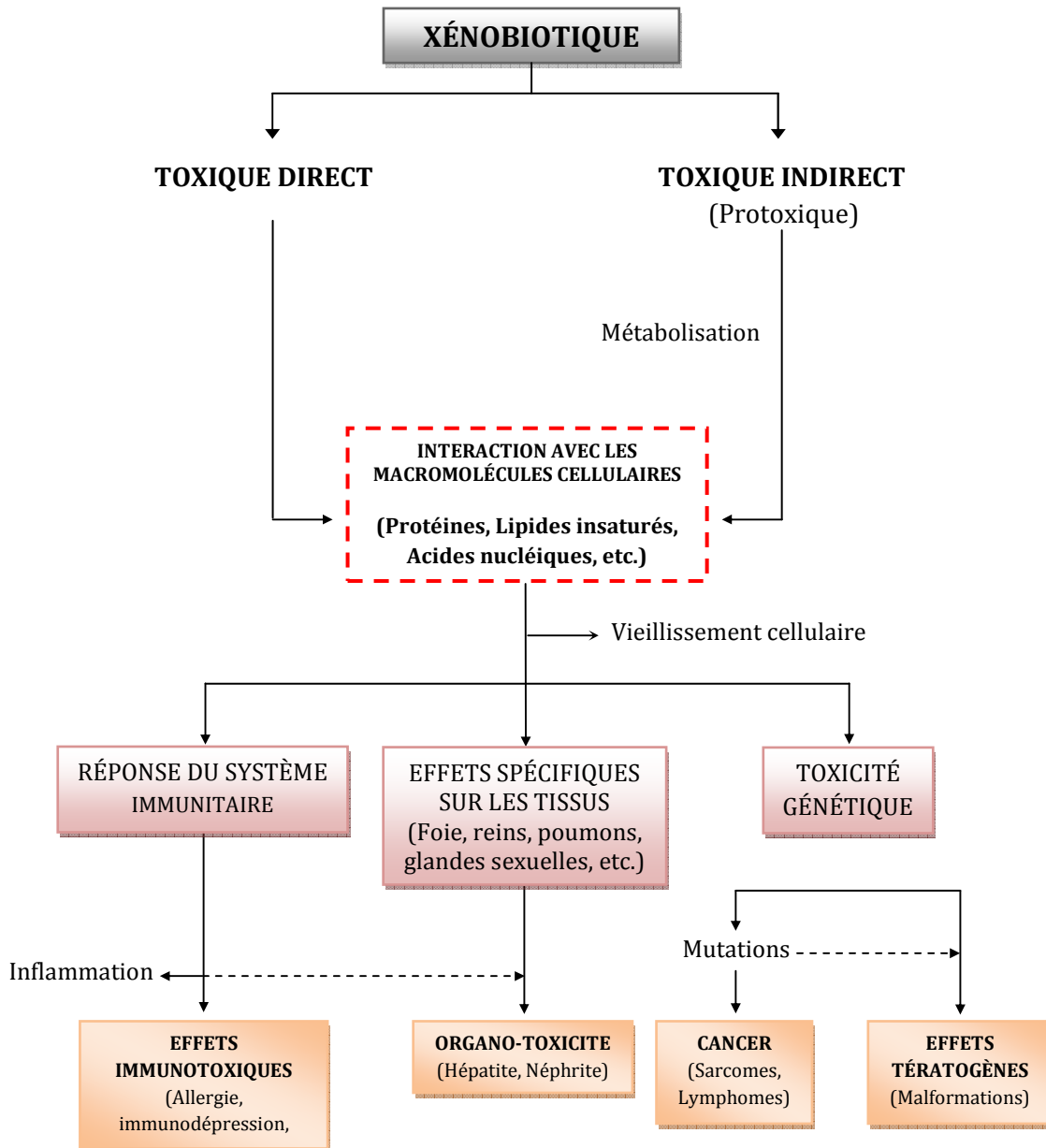


Figure 36 : Principaux effets toxiques résultant de l'interaction entre un composé xénobiotique et les constituants cellulaires

(Source : adapté de Picot, 2003)

3. Mécanismes d'action toxique des PM

Le plus souvent, la cible finale d'un xénobiotique toxique est la cellule, ou, plus précisément, certains de ses constituants vitaux, parmi lesquels les plus exposés sont les protéines, les phospholipides insaturés (constituants des membranes plasmiques délimitant les cellules) et les acides nucléiques (ADN et ARN). Lorsque les structures réactives formées lors de la métabolisation ne sont pas immédiatement neutralisées par les systèmes de défense de l'organisme (molécules soufrées comme le glutathion, mais aussi les vitamines C, E et les enzymes de défense), elles vont s'attaquer aux macromolécules cellulaires essentielles qui, une fois endommagées, ne pourront plus assurer leurs fonctions.

Ainsi, va apparaître un processus toxique qui selon la ou les cibles biologiques touchées pourra aller d'une simple destruction cellulaire (nécrose) à une atteinte des systèmes de défense immunitaire (effets immunotoxiques) ou plus grave, à des transformations du patrimoine génétique (effets génotoxiques). Dans ce dernier cas, l'apparition de modifications au niveau du génome (mutations) entraînera le démarrage d'un processus tumoral (cancer) ou l'apparition de malformations dans la descendance, si ce sont les cellules sexuelles (gamètes) qui sont touchées. La figure 36 ci-contre résume les interactions cellulaires et les types de toxicité après une attaque de xénobiotique.

Ainsi, les atteintes cellulaires par les xénobiotiques, au travers de l'attaque de cibles multiples peuvent avoir des conséquences graves, parfois même irréversibles. Afin de limiter leur impact, une meilleure évaluation de l'exposition et une compréhension approfondie du processus toxique est nécessaire. C'est en ce sens, et dans le but d'une détection précoce afin de prévenir ou de réduire l'exposition des organismes aux polluants que des « biomarqueurs » ont été développés. Le terme « biomarqueur » peut se référer à différents composants de l'organisme qui indiquent une modification sur l'état de santé. C'est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental qui révèle l'expression présente ou

passé d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Doly, 2007). Ainsi les biomarqueurs constituent un outil d'évaluation de la qualité de l'environnement. Ils peuvent permettre une bioévaluation à moyen et long termes des expositions et dommages à différents niveaux de l'organisation biologique. En effet, ils expriment un état pathologique ou une réponse à une contamination ou empoisonnement (Eurasanté, 2005). Ils peuvent être classés en deux groupes :

- les marqueurs de défense : indiquent la réaction de défense de l'organisme exposé à un contaminant,
- les marqueurs d'effets : indiquent les dommages et les modifications directes causés par un contaminant à un organisme.

Le monde de la recherche scientifique utilise des centaines de biomarqueurs qui sont spécifiques ou non. Dans ce manuscrit, nous nous limiterons aux biomarqueurs de toxicité, d'exposition et d'activité (marqueurs de cytotoxicité, du stress oxydant, de l'inflammation, de métabolisation des xénobiotiques et de détoxification).

3.1 Métabolisme des xénobiotiques

Nous sommes constamment et inévitablement exposés aux xénobiotiques atmosphériques. Ces substances sont fréquemment hydrophobes et/ou comportent des groupements chimiques réactifs. Leur métabolisme est donc nécessaire soit pour les rendre plus hydrophiles et donc plus facilement éliminables, soit pour neutraliser leurs groupements réactifs. Compte tenu de l'immense variabilité de structures chimiques potentielles et de réactions à catalyser, il existe un vaste nombre d'enzymes du métabolisme des xénobiotiques, chaque catégorie comportant plusieurs isoformes. Dans ce manuscrit, nous nous intéresserons essentiellement aux cytochromes P450 (CYP ou P450) du fait de leur implication dans la voie de métabolisation des composés toxiques tels que les HAPs et les COVs adsorbés sur les particules atmosphériques.

Les produits de métabolisation sont généralement moins toxiques que le xénobiotique initial, mais dans certains cas, les métabolites générés peuvent entraîner une toxicité plus importante. L'équilibre entre ces voies dépend de la nature et de l'expression des enzymes du métabolisme des xénobiotiques et, en particulier, des cytochromes P450. Les CYP jouent un rôle central dans les phénomènes de biotransformation, du métabolisme et/ou de la détoxification des composés étrangers à l'organisme. Le métabolisme des xénobiotiques se décompose en 3 phases qui aboutissent finalement à l'élimination des substances étrangères dans la bile et l'urine (Guéguen et al., 2006) (figure 37).

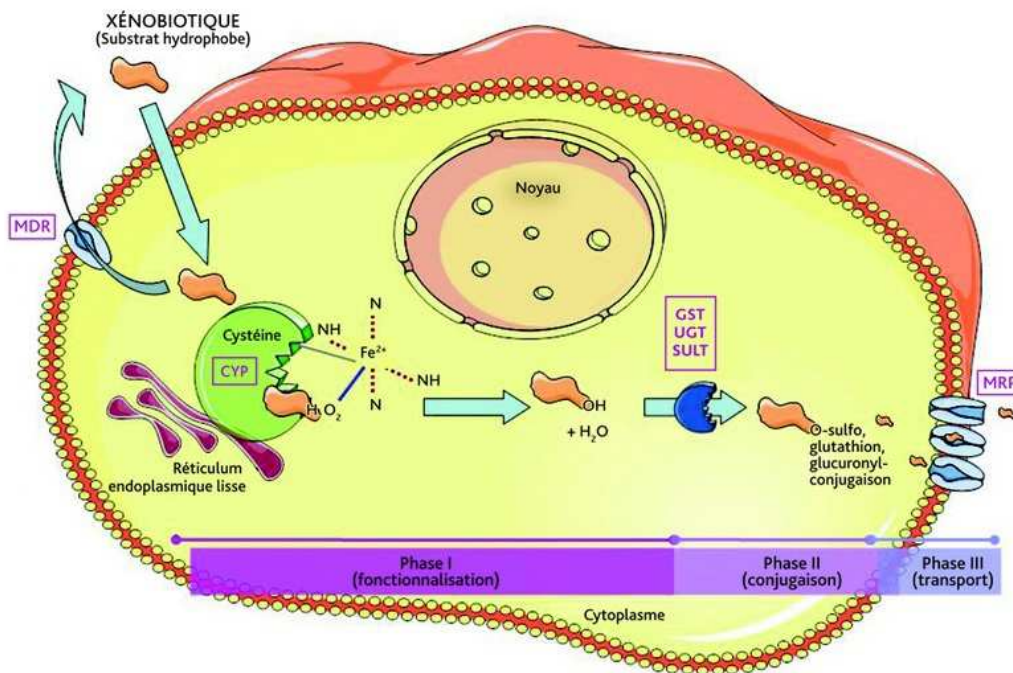


Figure 37 : Schéma illustrant le métabolisme des xénobiotiques¹⁶

¹⁶ <http://www.irsn.fr/FR/Larecherche/publications-documentation/aktis-lettre-dossiers-thematiques/envirhom/xenobiotique/Pages/xeno1.aspx> (Consulté le 15-10-2013)

Les enzymes de la phase I (essentiellement des CYP), dites de fonctionnalisation, catalysent essentiellement les réactions d'oxydoréduction et d'hydrolyse. Les CYP sont majoritairement localisés à la surface du réticulum endoplasmique. Le site actif du CYP contient un atome de fer (Fe) entouré d'atomes d'azote (N). Le composé organique est oxydé et un atome d'oxygène moléculaire est incorporé au produit chimique (-OH).

Après la métabolisation par les enzymes de la phase I, celles de la phase II (glutathion-S-transférase ou GST, UDP-glucuronosyltransférase ou UGT, sulfotransférase ou SULT, etc.), dites de conjugaison, prennent le relai en catalysant les réactions de transfert entraînant la formation de métabolites relativement hydrophiles pour faciliter leur élimination. Enfin, les transporteurs de la phase III (P-glycoprotéine ou P-gp, multi drug resistance protein ou MDR, multi drug resistance-associated protein ou MRP) évacuent au travers de la membrane plasmique les xénobiotiques, et surtout les dérivés conjugués hors de l'organisme. La superfamille des CYP humains comprend 57 gènes qui codent des enzymes jouant un rôle primordial dans la détoxification des xénobiotiques et dans le métabolisme de nombreux composés endogènes, tels que l'acide arachidonique, les éicosanoïdes, le cholestérol, les acides biliaires, les stéroïdes et la vitamine D (Guéguen et al., 2006).

La détoxification des xénobiotiques tels que les dioxines ou les HAPs (dont le benzo(a)pyrène B(a)P, le plus cancérogène) fait appel à la famille des CYP1 qui regroupent trois gènes importants de métabolisation à savoir : les CYP1A1, 1A2 et 1B1. Les CYP1A1 et 1B1 sont inductibles dans les poumons alors que le CYP1A2 est exprimé au niveau du foie (Guéguen et al., 2006). Les HAPs induisent en particulier l'expression du CYP1A1 qui est régulé au niveau transcriptionnel par les récepteurs AhR (aryl hydrocarbon receptor) et ARNT (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator). En effet, l'HAP, dès son entrée dans le cytoplasme, est pris en charge par la protéine AhR associée à la molécule chaperonne Hsp90 (Heat shock protein 90) qui le transporte jusqu'au noyau. Ce complexe HAP-AhR se lie à son tour au récepteur ARNT. Le nouveau complexe HAP-AhR-ARNT constitue un

hétérodimère, qui se fixant sur les éléments de réponse aux xénobiotiques (XRE) (séquences d'ADN) et jouant le rôle de facteur de transcription induisant l'expression du CYP1A1 (figure 38) et de certaines isoformes de GST (Whitlock, 1999).

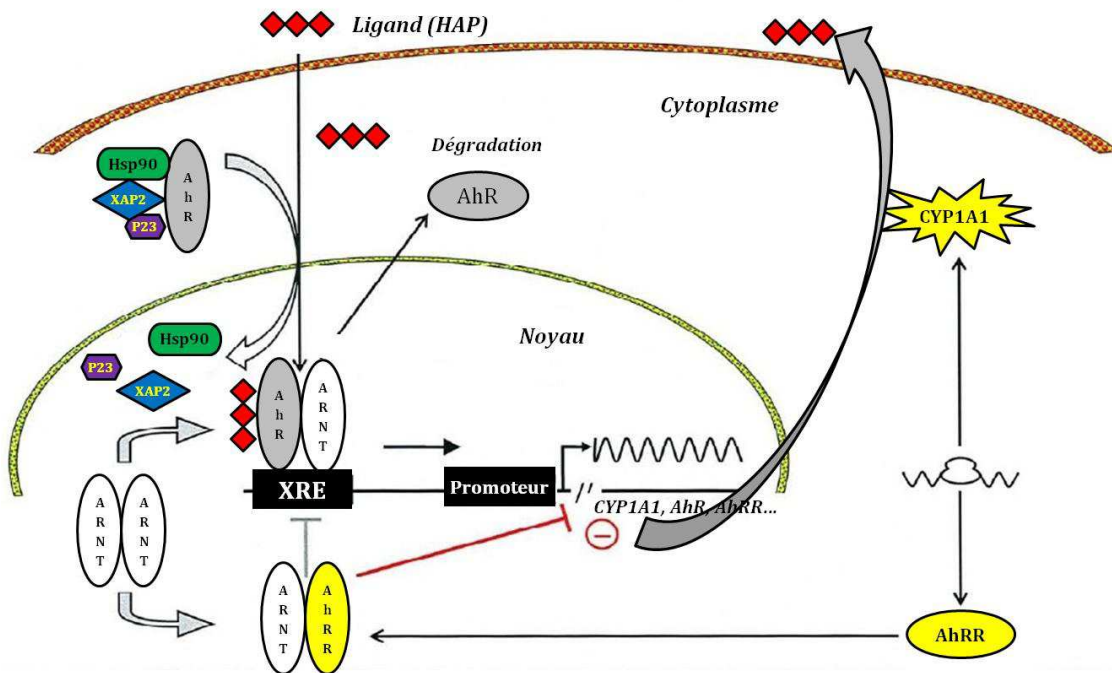


Figure 38 : Mécanismes de l'induction du gène CYP1A1 par activation transcriptionnelle et rétrocontrôle négatif de AhR par AhRR
(Source : adapté de Mimura and Fujii-Kuriyama, 2003)

Dans le noyau, existe le répresseur AhRR (AhR repressor) qui interagit spontanément avec ARNT (partenaire usuel d'hétérodimérisation de AhR) de façon indépendante de la présence d'un ligand d'AhR ou xénobiotique HAP dans l'environnement réactionnel. L'AhRR ne s'associe pas à Hsp90. En effet, lors d'essais *in vitro* utilisant la séquence cible XRE, l'hétérodimère AhRR-ARNT n'a montré aucune capacité de modulation d'expression génique. En revanche, dans des conditions expérimentales comparables, AhRR (exprimé dans le cœur, les poumons et le foie) est capable de réduire de manière dose dépendante l'activation

transcriptionnelle associée à l'activation d'AhR. Cette fonction de répression compétitive s'observe d'une part entre AhR et AhRR pour le recrutement d'ARNT (Lesca and Pineau, 2012) et d'autre part entre complexes AhR-ARNT et AhRR-ARNT pour la fixation aux sites XRE des gènes cibles. D'autres enzymes de la famille des CYP2 jouent également un rôle important notamment dans le métabolisme et la détoxification des COVs.

Parmi les xénobiotiques métabolisés dans les poumons, se trouvent les COVs. Le composé organique volatil le plus étudié est le benzène, car considéré cancérigène. C'est un composé à un seul noyau aromatique qui est inhalé et distribué dans l'ensemble du corps où il s'accumule de préférence dans les tissus riches en lipides. Il est non seulement métabolisé dans le foie, mais aussi dans d'autres tissus où il se fixe, notamment dans la moelle osseuse. La toxicité du benzène serait liée à l'action de ses métabolites. Nous verrons dans plus loin les processus de son activation métabolique et son mécanisme de toxicité.

Le processus de biotransformation du benzène fait appel à la famille des CYP2 et particulièrement le CYP2E1 (Rossi et al., 1999) qui oxyde le benzène en époxybenzène et en oxépine réarrangé spontanément en phénol (Figure 39). Le phénol, principal métabolite, peut-être hydroxylé en hydroquinone (HQ) ou en catéchol qui subissent par la suite une oxydation via le CYP2E1. Les métabolites primaires sont bioaccumulés dans la moelle osseuse où ils peuvent être bioactivés. La moelle osseuse est riche en myéloperoxydase (MPO) qui favorise la production de quinones extrêmement toxiques. Ces dérivés de quinones activent les enzymes de la phase II, NADPH quinone oxydoréductase (NQO1), GSH-S-époxyde transférase pour les processus de détoxification (sulfation, la glucuronidation, la conjugaison du glutathion).

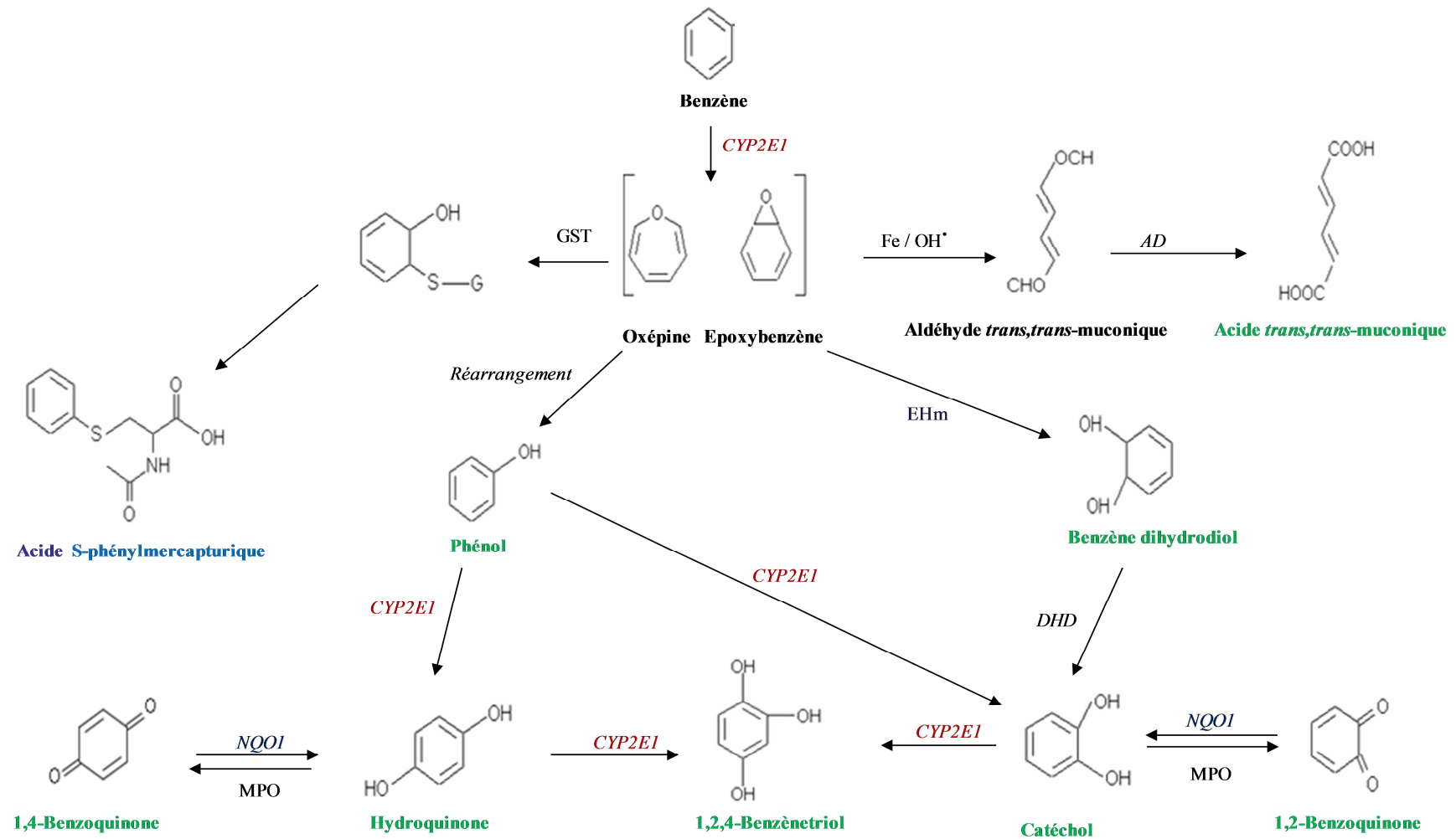


Figure 39 : Métabolisme du benzène (Cytochrome P450 (CYP)2E1, Epoxyde hydrolase microsomale (EHm), Dihydrodiol déshydrogénase (DHD), Myéloperoxydase (MPO), Glutathion-S-transférase (GST), NADPH quinone oxydoréductase (NQO1)

(Source : adapté de Kim et al., 2006)

La réduction de l'expression des enzymes de bioactivation diminue la toxicité du benzène (Singh and Winn, 2008). En effet, l'élimination du CYP2E1 et de l'époxyde hydrolase chez des souris, montrent une diminution de la toxicité après une exposition au benzène (Bauer et al., 2003). Cependant, la réduction de l'expression des enzymes de détoxification peut accroître la sensibilité à la toxicité du benzène (Singh and Winn, 2008; Zhang et al., 2007).

Le mécanisme de toxicité du benzène se traduit souvent par de la génotoxicité. En effet, les métabolites du benzène peuvent induire une alkylation de l'ADN, des cassures simple ou double brin, des délétions de bases nucléotidiques, des translocations chromosomiques, des modifications de l'activation des protéines (Bollati and Forni, 2009; Singh and Winn, 2008). De tels changements génétiques peuvent activer les oncogènes, perturber les gènes suppresseurs de tumeurs ou conduire à la production d'adduits à l'ADN (Snyder, 2004; Whysner et al., 2004). D'autres études ont montré que les métabolites du benzène favorisent la formation des espèces réactives de l'oxygène (Wan and Winn, 2007; Winn, 2003) qui peuvent se lier de manière covalente aux macromolécules cellulaires (protéines, ARN et ADN) induisant un stress oxydatif cellulaire.

3.2 Stress oxydant cellulaire

Le stress oxydant est un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défense antioxydants et les prooxydants en faveur de ces derniers. Ce déséquilibre est généralement dû à une défaillance des systèmes de défense ou à une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) d'origine exogène (polluants oxydants) par atteinte du métabolisme mitochondrial notamment par découplage de la chaîne respiratoire. Les altérations membranaires sont souvent associées à des expositions aux polluants atmosphériques, principalement les particules qui favorisent la production des ERO.

3.2.1 Espèces réactives de l'oxygène

Ce sont des molécules d'oxygène particulièrement réactives. Elles se forment au sein des cellules où leur activité oxydative peut occasionner de sérieux dommages aux composants intrinsèques comme les lipides, les protéines et l'ADN. Les ERO sont des molécules chimiques instables qui contiennent un ou plusieurs électrons non appariés (radicaux libres) et ayant une durée de vie très courte du fait de leur grande réactivité. D'autres sont non radicalaires (tableau 10).

Tableau 10 : Principales espèces réactives de l'oxygène

ERO	Espèces
Radicalaires	$O_2^{\cdot-}$ Anion superoxyde
	OH^{\cdot} Radical hydroxyle
	NO^{\cdot} Monoxyde d'azote
	ROO^{\cdot} Radical peroxyde
	RO^{\cdot} Radical alkoxyde
	NO_2^{\cdot} Dioxyde d'azote
Non radicalaires	1O_2 Oxygène singulet
	H_2O_2 Peroxyde d'hydrogène
	$ONOOH$ Nitroperoxyde
	$ONOO$ Peroxynitrite

Les sources endogènes productrices d'ERO sont nombreuses et varient selon les tissus. Outre le transfert d'électrons à partir de l' O_2 au niveau mitochondrial, l'activation des cellules immunitaires est une source importante de régénération d'ERO. En effet, lors d'une attaque de xénobiotique, un excès de consommation en O_2 par les macrophages entraîne la formation de radicaux libres qui non seulement neutralisent le corps étranger, mais aussi les tissus de l'organisme (Forman and Torres, 2002; Ray et al., 2012). Le NO est un acteur primordial via l'induction de la

iNOS (inductible nitrogen oxide synthase) dans de nombreux processus physiologiques (régulation de la pression artérielle, mécanismes de défense et de réparation, etc.) et physiopathologiques (inflammation, infections, maladies néoplasiques, cirrhose du foie, diabète, etc.) (Lechner et al., 2005) (figure 40).

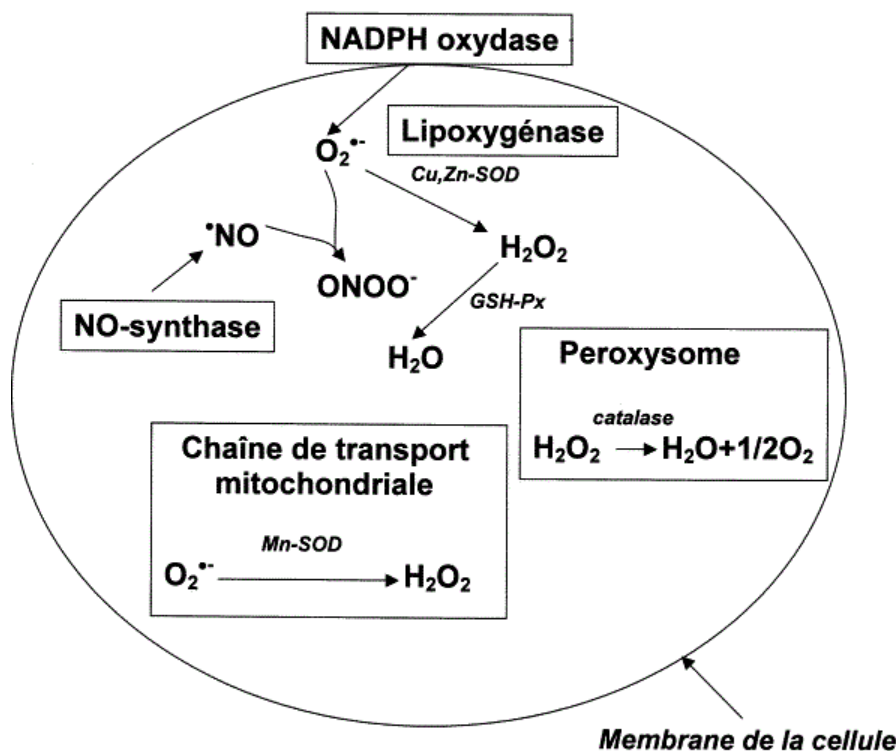


Figure 40 : Principales sources des espèces réactives de l'oxygène

(Source : adapté de Bonnefont-Rousselot et al., 2002)

GSH-Px : glutathion peroxydase ; SOD : superoxyde dismutase

La réaction de Fenton ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\cdot$) produit constamment des ERO dans la cellule. Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes en particulier les cytochromes P450 qui en oxydant les acides gras insaturés et les xénobiotiques toxiques génèrent les ERO qui régulent la sécrétion des protéines. La NADPH oxydase (dans le mécanisme phagocytaire), la xanthine oxydase (dans la métabolisation de l'hypoxanthine des cellules endothéliales, hépatiques et intestinales), la lipoxygénase (dans le métabolisme de l'acide arachidonique pour la synthèse des leukotriènes, médiateurs de l'inflammation) et l'autooxydation des molécules telles que l'adrénaline, les flavines, les hydroquinones et la dopamine,

favorisent la production des ERO (Acquier et al., 2013; Kelley et al., 2010; Shin et al., 2008). Les ERO sont activées dans différents compartiments cellulaires (mitochondries, noyau, peroxyosome, membrane cytoplasmique) en présence de métaux de transition tels que le fer et le cuivre.

Des productions d'ERO peuvent également être provoquées par des composés exogènes comme les expositions prolongées aux radiations solaires, l'administration de médicaments, l'alcool, le tabac, les sports intensifs, les polluants atmosphériques gazeux (NO_x, O₃) et particulaires (Araujo, 2011; Belkheiri, 2010; Imrich et al., 2007).

3.2.2 Dommages oxydatifs

Un stress oxydatif sévère ou prolongé entraîne des perturbations majeures du métabolisme cellulaire, en l'absence de réponse antioxydante. En effet, le déséquilibre entre la production de molécules oxydantes et les défenses antioxydantes aboutit à une augmentation importante d'ERO qui peut endommager les macromolécules endogènes et conduire à un dysfonctionnement cellulaire, myocardique et endothélial (Monteil et al., 2004). Le plus souvent, les peroxydations des acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires induisent la diminution de la fluidité et de la résistance des membranes cellulaires, voire des lésions membranaires conduisant à la mort cellulaire. De plus, la dénaturation de protéines spécifiques du cytoplasme conduit à une chute de l'activité enzymatique cytosolique. Les ERO peuvent inhiber la synthèse protéique par cassure de l'ADN et dégradation des intermédiaires transcriptionnels.

La production excessive de radicaux libres entraîne l'oxydation d'acides aminés dont les plus sensibles sont la cystéine, la méthionine et la tyrosine (Rinalducci et al., 2008; Trachootham et al., 2008). En effet, les processus réversibles d'oxydation et de réduction, notamment des groupements thiols de résidus cystéine des protéines, sont impliqués dans bon nombre de processus de signalisation et de régulation de l'expression des gènes (signalisation redox). Ils

nécessitent des concentrations d'ERO bien plus faibles que celles requises pour induire des dommages oxydatifs irréversibles.

La peroxydation lipidique membranaire est l'une des caractéristiques du stress oxydant. Le malondialdéhyde (MDA) est le plus important des biomarqueurs qui témoignent des altérations membranaires induites par la peroxydation lipidique (Ercal et al., 2001; Guan et al., 2000; Yoon et al., 2012). Aussi, le MDA et le 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) (un des marqueurs de peroxydation membranaire) réagissent très facilement avec les protéines et l'ADN pour former des adduits (Forman et al., 2008; Schutt et al., 2003; Tuma, 2002).

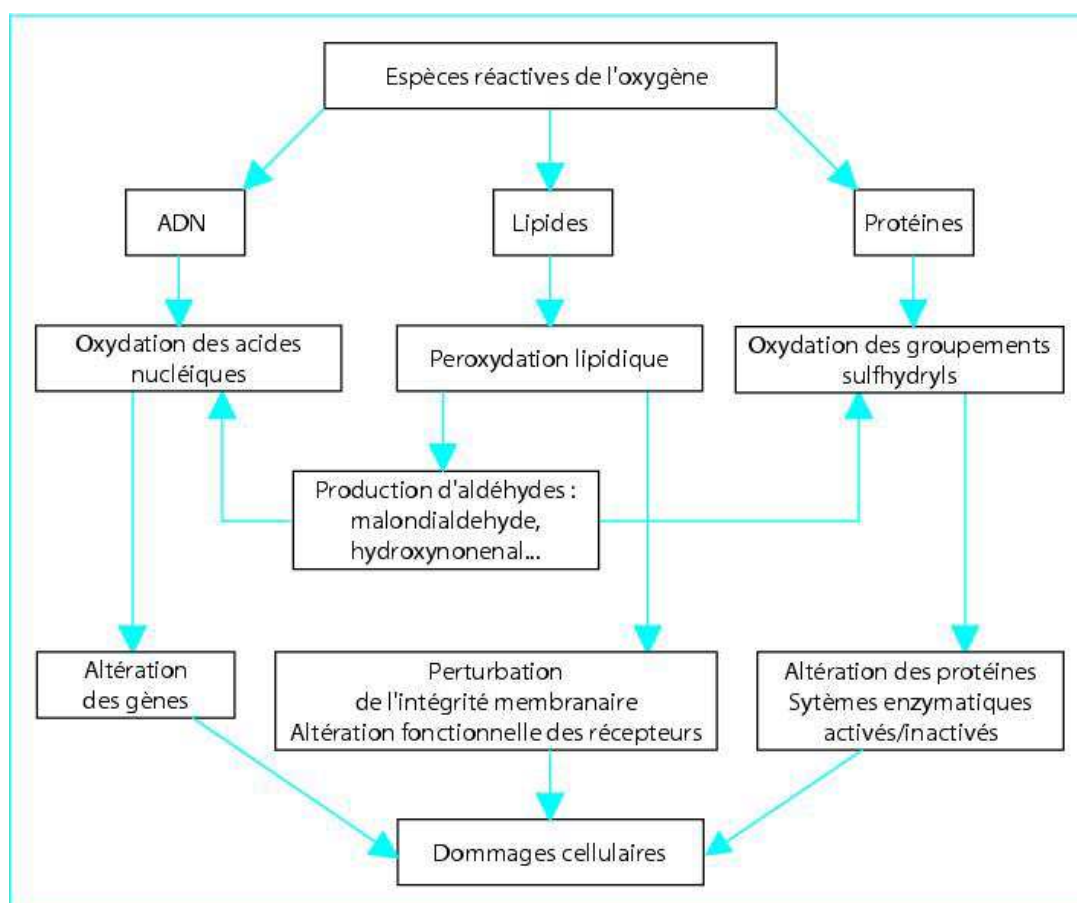


Figure 41 : Principaux dommages induits par les espèces réactives de l'oxygène
(Source : Monteil et al., 2004)

Les macromolécules telles que les acides nucléiques sont les cibles potentielles des ERO. Les bases nucléiques notamment la guanine subissent des attaques radicalaires conduisant à la formation de 8-hydroxy-désoxyguanosine (8-OHdG), adduit d'oxydation d'ADN et marqueur d'attaque oxydative des acides nucléiques (Prabhulkar and Li, 2010). Les dommages à l'ADN induits par les ERO regroupent en outre généralement les cassures de brins d'ADN, l'hydroxylation des bases nucléiques, les aberrations chromosomiques, les délétions de bases nucléiques, la distorsion de la double hélice de l'ADN (Su, 2006; Valavanidis et al., 2005). La figure 41 ci-contre regroupe les principales interactions entre les différents dommages induits par les ERO.

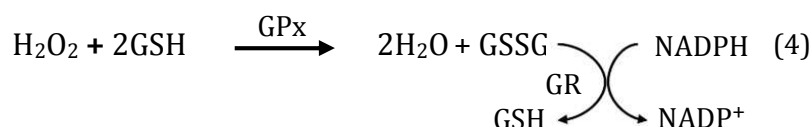
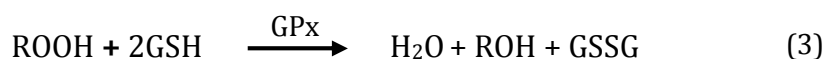
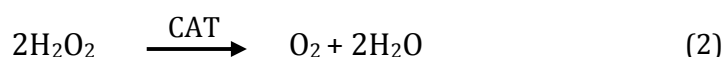
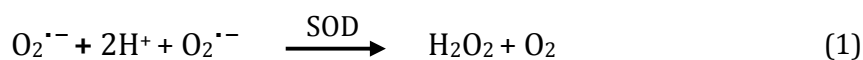
Par ailleurs, il apparaît également que le stress oxydatif constitue un facteur causal et aggravant du phénomène de sénescence chez l'animal. Le vieillissement cellulaire, qui conduit à l'apoptose, serait le résultat d'un déséquilibre chronique de plus en plus important entre la production interne de molécules oxydantes, les défenses antioxydantes, et les processus de réparation de l'ADN (l'oxydation intracellulaire générant des dommages irréversibles au niveau des hélices d'ADN). Aussi, l'implication du stress oxydatif dans les processus inflammatoires est, quant à elle, due à l'absence de contrôle par l'organisme d'une trop grande production ou de l'absence de destruction des radicaux libres en cause tant dans les phénomènes de prolifération tumorale, que dans des dépressions immunitaires ou des dégénérescences arthrosiques chroniques.

3.2.3 Mécanismes de défense antioxydants

Pour faire face à la production d'ERO et limiter les dégâts oxydatifs, l'organisme met en place un système de défense antioxydant. Ce système est constitué de molécules de poids moléculaires divers et assure le maintien de l'équilibre entre la production des ERO et les défenses antioxydantes.

Les régulateurs du taux de prooxydants dans l'organisme contre le stress oxydatif sont des systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. La

superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) sont des enzymes antioxydantes majeures qui agissent de manière coordonnée pour éliminer les ERO. Les principales réactions du système antioxydant enzymatique se résument comme suit :



L'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) formé est hydroxylé en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par la SOD (1) qui nécessite la présence des cofacteurs métalliques, activateurs de la réaction catalytique. Il existe trois isoformes de SOD chez les mammifères : la forme extracellulaire (EcCu-SOD) et deux formes à localisations intracellulaires différentes et prenant en charge des mécanismes différents. Il s'agit de la forme mitochondriale couplée au manganèse (Mn-SOD) et la forme cytosolique qui fait appel au cuivre et au zinc (Cu/Zn-SOD). L' H_2O_2 peut-être détoxifié par la CAT en H_2O et en O_2 (2) ou réduit en H_2O par le glutathion peroxydase (GPx) en oxydant le glutathion réduit (GSH) en glutathion disulfure (GSSG) (4).

La réaction enzymatique liée à la catalase est l'une des plus rapides. Chez les organismes aérobies, notamment eucaryotes, on la trouve dans le peroxysome des cellules (catalase A) et dans le cytosol (catalase T). La GPx est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries. C'est une enzyme à sélénium, ayant la propriété de catalyser la

réduction des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment, de type ROOH en ROH. La glutathion réductase (GR) permet ensuite la réduction rapide du glutathion oxydé en présence de la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) pour régénérer le GSH. Le rapport GSSG/GSH est largement utilisé dans les études scientifiques comme indicateur pertinent du degré de stress oxydatif (Abílio et al., 2003; Flohé, 2013). Les isoformes de la GPx contenant du sélénium sont la GPx extracellulaire, la GPx cytosolique et mitochondriale et la GPx phospholipide-hydroperoxyde (HPGPx) du cytosol qui réduit les phospholipides hydroperoxydes et hydroperoxydes de cholestérol (Comhair and Erzurum, 2002; Servais, 2004).

Les systèmes de défense antioxydants non enzymatiques sont constitués de molécules de faible poids moléculaire qui réagissent directement avec les agents oxydants et les désactivent. Il s'agit des vitamines E (tocophérol) et C (acide ascorbique), de l'acide urique et du glutathion. D'autres systèmes antioxydants regroupent les protéines de transport et de liaison des métaux telles que la ceruoplasmine, l'apotransferrine et la transferrine, (Kelly, 2003) et des molécules comme le β -carotène, le glucose, l'albumine, la thioredoxine, la coenzyme Q (ubiquinone), les acides gras mono-insaturés (acide oléique), etc.

3.2.4 Stress oxydant induit par les particules atmosphériques

L'existence d'une association étroite entre l'exposition aux polluants particuliers et le déclenchement d'un stress oxydatif n'est plus à démontrer. Selon Li et al., (2008), les particules ambiantes de l'air ont des effets néfastes sur les poumons notamment les PM₁₀ et les PM_{2.5} qui sont largement étudiées. De plus, les particules ultrafines sont encore plus dangereuses du fait des lésions oxydantes graves qu'elles engendrent. En Allemagne, une étude toxicologique récente des PM₁₀ de l'air ambiant a révélé que ces particules induisent non seulement des réponses inflammatoires, mais également des dommages oxydatifs chez des cellules épithéliales alvéolaires humaines (modèle A549) et des macrophages (modèle RAW264.7) exposés pendant 0-96 h à des concentrations croissantes de

PM (0-100 µg/mL) (Michael et al., 2013). Les effets toxicologiques sont dépendants de la composition chimique des particules et de leur source. En effet, les composés chimiques adsorbés sur les PM mettent en marche la machine de production des radicaux libres et affectent ainsi les systèmes antioxydants. Au Brésil, une diminution de la fonction pulmonaire et de l'activité des enzymes antioxydantes a été observée pendant les récoltes chez des travailleurs dans les champs de canne à sucre exposés à des concentrations élevées (61 µg/m³) de PM_{2.5} issues de la combustion de biomasse (Prado et al., 2012). Une étude réalisée dans notre laboratoire à Dunkerque en 2006 a montré une augmentation de façon dose-dépendante des marqueurs du stress oxydatif MDA, SOD, 8-OHdG, poly(ADP-ribose) polymérase (PARP) lorsque des cellules pulmonaires de type L132 sont exposées à des particules de 18,8 µg PM/mL et 75,4 µg PM/mL (Garçon et al., 2006). D'autres travaux ont montré une induction du stress oxydant au niveaux des cellules épithéliales pulmonaires humaines (L132 et A549) exposées à des particules fines PM_{2.5} prélevées en zone urbano-industrielle (Dagher et al., 2006; Kouassi et al., 2010). Les particules diesel peuvent également être à l'origine de la production de radicaux libres par les cellules pulmonaires endothéliales humaines et par les cardiomyocytes (Knuckles and Dreher, 2007). Le tableau 11 ci-contre résume quelques travaux de recherches qui mettent en évidence l'effet oxydatif des particules atmosphériques.

Les particules atmosphériques créent un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défense antioxydants et les prooxydants (ERO). Ceci engendre non seulement des mécanismes de défense antioxydants, mais également des réponses inflammatoires comme illustrées sur la figure 42 qui résume certains des mécanismes toxicologiques induits par les particules.

Tableau 11 : Études in vitro sur les effets oxydatifs induits par les particules atmosphériques

Particules	Types de cellules	Doses ou expositions	Effets	Références
PM _{2.5}	A549	25-200 µg/mL (48h)	↓ CAT activité ↓ SOD activité	(Deng et al., 2013)
PM ₁₀	BEAS-2B	100 µg/mL	↑ CAT ↑ SOD ↑ SE ↑ M	(Jung et al., 2012)
PM _{2.5}	BEAS-2B	50 µg/cm ³ (24h)	↑ CAT ↑ SOD	(Oh et al., 2011)
PM ₁₀ et PM _{2.5}	CEVOH	20 µg/cm ² (1h) 25 µg/cm ²	↑ H ₂ O ₂ ↑ ERO ↑ ERN	(Montiel-Dávalos et al., 2010)
PM ₁₀ et PM _{2.5}	A549	20 µg/cm ²	↑ 8-OHdG + Cassures d'ADN	(Shi et al., 2006)
PM _{2.5}	L132	18,8 et 75,4 µg/mL	↑ 8-OHdG	(Dagher et al., 2006)
PM _{2.5-10} , PM _{2.5} et PM ₁₀	NHBE et MA	11 µg/mL (pour NHBE) 50 µg/mL (pour MA) (18h)	↑ ERO	(Becker et al., 2005)
DEP	RAW264.7	10-100 µg/mL (6h)	↓ GSH/GSSG	(Xiao et al., 2003)

A549 = Cellules épithéliales alvéolaires ; BEAS-2B = Cellules épithéliales bronchiques ; CEVOH = Cellules endothéliales de veine ombilicale humaine ; L132 = Cellules embryonnaires d'épithélium pulmonaire humain ; NHBE = Cellules épithéliales bronchiques primaires humaines ; MA = Macrophages alvéolaires ; RAW264.7 = Cellules macrophages murines ; M = Mannitol ; SE = Sélénite ; ERN = Espèces réactives non radicalaires ; DEP = Particules diesel ; CAT = Catalase ; SOD = Superoxyde dismutase ; ERO = espèces réactives de l'oxygène ; GSSG/GSH = Glutathion oxydé/glutathion réduit ; 8-OHdG = 8-hydroxy-désoxyguanine.

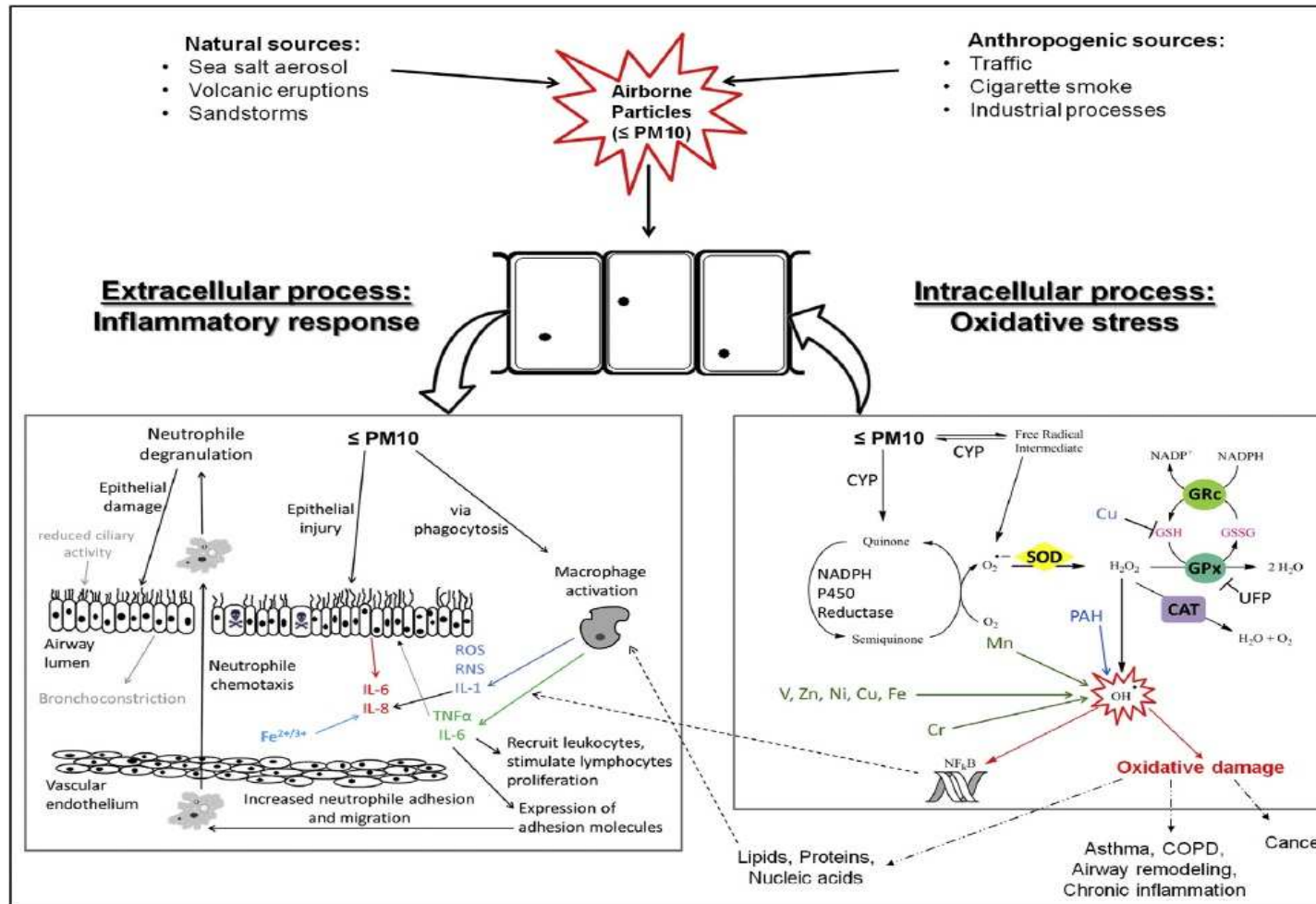


Figure 42 : Schéma illustrant les principaux mécanismes de défense induits par les particules atmosphériques dans les poumons (Source : Michael et al., 2013)

3.3 Inflammation & mécanismes proinflammatoires

L'inflammation est un processus de défense immunitaire stéréotypée de l'organisme dont le but est de neutraliser, de combattre ou d'éliminer l'agent pathogène en cause et de préparer la réparation des tissus affectés. Les agressions sont souvent de types infectieux (virus, bactéries, champignons), allergiques, physiques (chaleur, irradiations, traumatismes), mais peuvent également être de nature diverse comme les brûlures, les polluants chimiques, les particules atmosphériques, etc. ou de sources endogènes comme les pathologies auto-immunes. Parfois, notre système de défense est incapable d'assurer jusqu'au bout la neutralisation du corps étranger et la réparation des diverses structures et fonctions biologiques. Il se maintient alors dans un état d'activation permanent. On parle d'inflammation chronique qui peut durer des mois ou des années.

L'inflammation, lorsqu'elle est visible se manifeste classiquement par quatre signes cliniques : une rougeur, une douleur, une tuméfaction (œdème ou gonflement) et une augmentation de la température (Marnet, 2013). Au niveau cellulaire, les leucocytes, associés à des cellules aux fonctions bien organisées, sont les acteurs les plus importants des mécanismes de défense. La réponse inflammatoire est un phénomène très complexe, qui peut parfois solliciter l'utilisation de molécules dites anti-inflammatoires comme les corticoïdes ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Quelles que soient la source et la nature de l'agent pathogène, le déroulement d'une réaction inflammatoire suit les mêmes étapes mécanistiques. Cependant, ces étapes présentent des variations liées à l'organe affecté et à la nature de l'agent pathogène.

➤ *Les étapes d'une réaction inflammatoire*

🚧 **Réaction vasculo-exsudative** : Cette réaction regroupe la congestion active et l'œdème inflammatoire.

➤ **Congestion active** : une vasodilatation apparaît très rapidement, après une brève vasoconstriction. Cette vasodilatation est d'abord artériolaire puis capillaire dans la zone atteinte. Localement, il en résulte une augmentation de l'apport sanguin et un ralentissement du courant circulatoire. Les capillaires sanguins sont dilatés et gorgés d'hématies, leur endothélium est turgescent. La congestion active est déclenchée par un mécanisme nerveux (nerfs vasomoteurs) et l'action de médiateurs chimiques.

➤ **Œdème inflammatoire** : Il apparaît dans le tissu conjonctif interstitiel ou les cavités séreuses de l'exsudat (liquide fait d'eau et de protéines plasmatiques). C'est un gonflement des tissus, responsable de la douleur, et qui résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques, dont l'histamine et les quinines. L'œdème dilue les produits toxiques, limite le foyer par une barrière fibrineuse (fibrinogène), concentre sur place les moyens de défense humoraux (immunoglobulines), apporte des médiateurs chimiques et ralentit le courant circulatoire par hémococoncentration, ce qui favorise la diapédèse leucocytaire.

✚ **Réaction cellulaire** : Lors de cette phase cellulaire, les leucocytes (les polynucléaires, les lymphocytes, les mastocytes et les monocytes circulants) sont évacués hors des vaisseaux sanguins : c'est la diapédèse (figure 43). Ces leucocytes migrent vers le siège de la lésion où ils englobent les agents pathogènes et éliminent les débris cellulaires : c'est la phagocytose.

✚ **Détersion** : c'est l'élimination des tissus nécrosés (issus de l'agression initiale ou du processus inflammatoire lui-même), des agents pathogènes et de l'exsudat. La détersion prépare obligatoirement la phase terminale de réparation et cicatrisation. Si la détersion est incomplète, l'inflammation aiguë va évoluer en inflammation chronique.

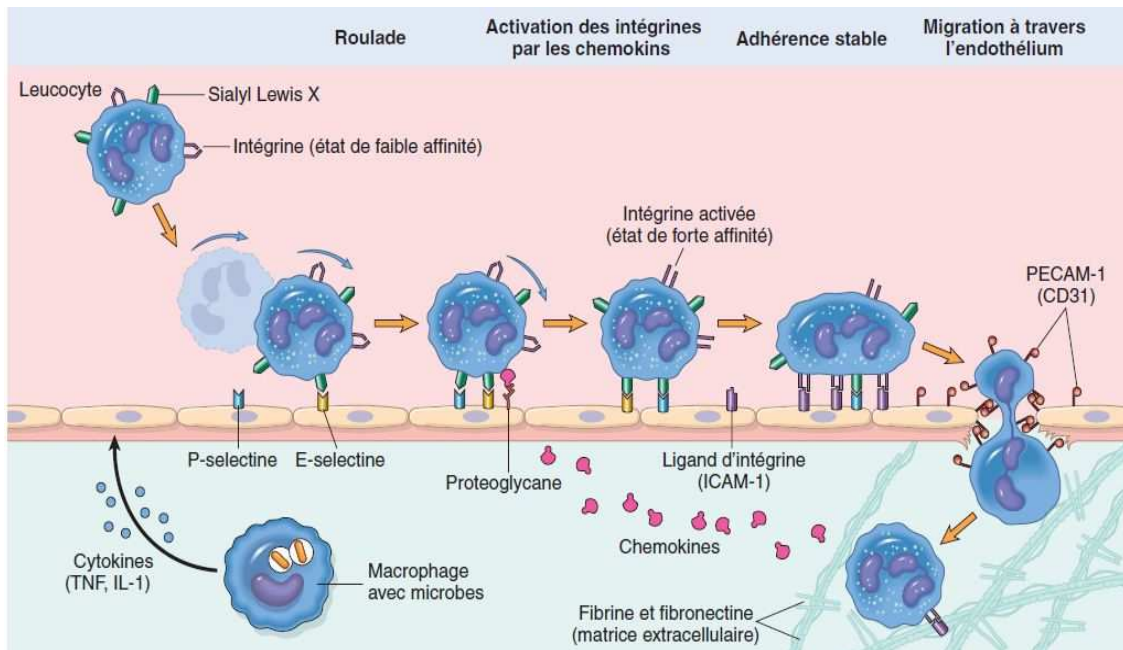


Figure 43 : Phénomène de la diapédèse leucocytaire chez les polynucléaires neutrophiles (Source : CoPath, 2011)

Les leucocytes subissent une roulade, puis sont activés et adhèrent à l'endothélium, enfin traversent cet endothélium et se dirigent vers le site de la réaction inflammatoire selon un gradient chimio attractant. Plusieurs molécules jouent un rôle important au cours de ce processus multi-étapes : les sélectines pour la roulade, les chemokines pour l'activation des leucocytes et des intégrines (passage vers un état de forte affinité), les intégrines pour l'adhérence stable à l'endothélium, et le CD31 pour la migration à travers la paroi vasculaire.

✚ **Phase terminale de réparation et cicatrisation :** c'est une détersion qui est complète. Si l'agent pathogène n'a engendré que de lésions tissulaires limitées, brèves, peu destructrices, la restitution ou régénération cellulaire est intégrale. Dans le cas où les lésions sont importantes, le processus de cicatrisation se met en marche après la reconstitution d'un nouveau tissu conjonctif (bourgeon charnu qui remplace les tissus détruits) jusqu'à la sclérose (phase finale de cicatrisation). Cette réaction inflammatoire nécessite la présence des médiateurs de l'inflammation.

3.3.1 Médiateurs de l'inflammation

Lors d'une agression, la présence de pathogène est détectée par les cellules immunitaires qui sont activées et libèrent des médiateurs de l'inflammation dans le milieu extracellulaire, dont les effets combinés vont permettre le recrutement de cellules circulantes, l'élimination du pathogène et la réparation de la lésion. Il existe plusieurs types de médiateurs qui interviennent dans l'inflammation. Ces médiateurs peuvent être décrits sous la forme d'une part de systèmes d'activation plasmatique et d'autre part de médiateurs cellulaires.

➔ **Les systèmes d'activation plasmatique :** Ce sont des systèmes multiprotéiques dont les composants sont produits à distance du foyer inflammatoire. Les différents composants de ces systèmes sont présents dans le sang circulant où ils demeurent à l'état de précurseurs inactifs, jusqu'à ce qu'ils soient mis en présence d'un activateur spécifique. Ces systèmes ont des interactions fonctionnelles très étroites. On peut distinguer le système de contact, le système de coagulation-fibrinogenèse, le système de la fibrinolyse et le système du complément. Le système de contact regroupe les protéines telles que le facteur de Hageman (enzyme sérique activée par les complexes Ag-Ac), la prékallikréine, le kininogène et le facteur XI. Le système de coagulation-fibrinogenèse aboutit à la formation de thrombine qui déclenche la formation de fibrine à partir du fibrinogène et le système de fibrinolyse aboutit à la formation de la plasmine qui détruit la fibrine par protéolyse. Le système du complément intervient dans les mécanismes de l'inflammation et dans les mécanismes de défense antibactérienne en complétant l'action des anticorps. Le complément C3a augmente la perméabilité vasculaire et intervient dans la phagocytose et l'opsonisation (recouvrement des bactéries par l'opsonine) et le C5a est un excellent inducteur de production d'interleukine 1(IL1) par les macrophages, de la libération des lipoxigénases et des cyclooxygénases par les cellules. Ce système compte une trentaine de protéines dont 12 sont directement impliquées dans les mécanismes d'élimination des pathogènes et les autres régulent finement l'activité des premières afin d'éviter une réaction auto-immune.

➤ **Les médiateurs cellulaires :** De nombreux médiateurs cellulaires interviennent dans les processus de l'inflammation. On retrouve les amines vasoactives (histamine, sérotonine), la neurokinine, les enzymes de destruction tissulaire, les radicaux libres oxygénés et monoxyde d'azote, les éicosanoïdes et les cytokines. Dans ce manuscrit, nous nous intéresserons aux médiateurs les plus importants que sont les cytokines et les médiateurs lipidiques de l'acide arachidonique que nous verrons en fin de ce chapitre.

Les cytokines (du grec « cyto » : cellules et « kinos » : mouvement) sont de petites protéines sécrétées par les cellules en réponse à divers stimuli. Au niveau de la réponse immunitaire, elles permettent la communication entre les cellules immunes, l'orientation de la réponse en fonction de la nature du signal détecté et une régulation du système immunitaire.

Ce sont des glycoprotéines synthétisées et libérées par diverses cellules leucocytaires (lymphocytes, monocytes et macrophages activés) et non leucocytaires. Elles agissent à faible concentration, généralement localement (à proximité de leur lieu de synthèse), sur les cellules qui les ont synthétisées (action autocrine) ou sur des cellules voisines (action paracrine), par l'intermédiaire d'une fixation à des récepteurs membranaires de haute affinité. Elles sont nombreuses et classées suivant les activités biologiques qu'elles exercent. Ainsi, la réaction inflammatoire est démarrée par les interleukines 1, 6 et 8. Les TNF sont spécialisés dans la régulation de l'inflammation, du sommeil, de la fièvre, de l'hématopoïèse (formation des cellules du sang) ou de la destruction osseuse. Les interférons sont les cytokines effectrices. Avec les facteurs nécrosant les tumeurs, ils assurent la défense de l'organisme vis-à-vis des cancers et des germes microbiens. Les cytokines immunorégulatrices (interleukines 2, 4, 5, 7, 10 et 12) régulent essentiellement la production d'anticorps et la formation des cellules du système immunitaire (tout particulièrement leur transformation en cellules tueuses). À ce jour au moins 45 cytokines (Oboki et al., 2011) ont été décrites dont les plus étudiées sont le TNF- α , les IL-1 et IL-6 (Mayol et al., 2013).

➤ **TNF** : Les facteurs de nécrose tumorale sont des cytokines impliquées dans l'inflammation systémique et dans la réaction inflammatoire de phase aiguë (Tracey et al., 2008). Ils sont de deux formes : TNF- α et TNF- β dont la plus étudiée est le TNF- α . Le TNF- β est produit exclusivement par les lymphocytes. A l'inverse, le TNF- α est produit par de nombreuses cellules : macrophages, monocytes, lymphocytes T et B, kératinocytes, cellules mésangiales, épithéliales, endothéliales, basophiles et mastocytes, polynucléaires neutrophiles, et éosinophiles, fibroblastes, etc. Le TNF- α stimule l'expression de molécules d'adhérence et la production de chimiokines par les cellules endothéliales permettant le recrutement des leucocytes sanguins vers le foyer inflammatoire. Il active aussi les systèmes microbicides des phagocytes et la production de facteurs de croissance, qui seront indispensables à la réparation du tissu endommagé. Il intervient de façon prépondérante dans l'inflammation et agit par l'intermédiaire d'un récepteur membranaire spécifique dont il existe deux formes : TNF-R1 et TNF-R2 (Patel et al., 2010). La présence d'une forme soluble du TNF-R constitue un système de régulation important, la synthèse du TNF-R étant sous le contrôle du TNF lui-même.

➤ **IL-1** : L'IL-1 existe également sous deux formes moléculaires, IL-1 α et IL-1 β différant par leur séquence d'acides aminés, mais ayant les mêmes propriétés biologiques. Néanmoins, l'IL-1 α aurait essentiellement des actions de messenger intracellulaire, l'IL-1 β assurant les activités extracellulaires. Cette interleukine est produite principalement par les cellules phagocytaires, mais également par les lymphocytes, les cellules endothéliales, les cellules épithéliales, les kératinocytes, les fibroblastes. L'IL-1 stimule l'expression de molécules d'adhésion au niveau de l'endothélium vasculaire favorisant ainsi la migration des leucocytes circulants vers le site enflammé. L'IL-1 est la première cytokine à être synthétisée puis stockée dans la cellule sous forme d'un précurseur inactif (Bossù et al., 2001; Solomon et al., 2001). L'action de l'IL-1 β -converting enzyme (ICE) ou caspase-1, est nécessaire à la formation de l'IL-1 β active, celle-ci agissant sur les cellules cibles par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique IL1-R (Oboki et al., 2011). L'IL1 active l'expression de nombreux gènes qui interviennent dans la synthèse des

médiateurs de l'inflammation et induit la fièvre lors d'une agression (Fabricio et al., 2006). En effet, il agit directement sur les centres de l'hypothalamus qui augmentent la température du corps donnant un avantage aux lymphocytes qui se divisent plus rapidement alors que certains pathogènes ne se divisent pas ou moins bien à des températures élevées.

➤ **IL-6** : L'Interleukine-6 est une cytokine proinflammatoire produite par les phagocytes (macrophages et cellules dendritiques) et les cellules endothéliales en cas d'inflammation grâce aux mécanismes transcriptionnels impliquant NF-kB (Nuclear Factor-kB). Des études récentes ont montré que l'IL-6 a un rôle très important dans la régulation de l'équilibre entre l'IL-17 produit par les cellules Th17 (T helper cells) et des cellules immunorégulatrices T (Kimura and Kishimoto, 2010; Smith and Maizels, 2013). Elle induit localement l'activation des phagocytes et la modification de l'endothélium. Elle favorise le recrutement de monocytes sanguins vers les tissus et la production de protéines de la phase aiguë par les hépatocytes. Elle est également décrite comme cytokine anti-inflammatoire dans la mesure où elle a un effet inhibiteur sur l'action de l'IL-1 et du TNF- α qui sont des cytokines proinflammatoires (Marie and Cavaillon, 1997).

D'autres cytokines intervenant dans les mécanismes inflammatoires sont décrites, comme les interférons (IFN) qui induisent la production de molécules antivirales (Senft et al., 2010), ainsi que l'IL-12 et l'IL-18, cytokines qui vont activer les cellules NK (Natural Killer), cellules de l'immunité innée (Heidemann et al., 2010; Ni et al., 2012). Les IFN sont des glycoprotéines naturellement sécrétées par les cellules de l'organisme et outre leurs propriétés antivirales, ils possèdent des propriétés antiprolifératives, antifibrotiques, anticancéreuses et modulatrices du fonctionnement immunitaire. Il en existe trois types : l'interféron alpha (IFN- α), produit par les monocytes et les lymphocytes T ; le bêta (IFN- β), par les fibroblastes ; le gamma (IFN- γ), par les lymphocytes T activés. Ils agissent en inhibant la synthèse des protéines et des acides nucléiques qui permettent la multiplication des virus. De ce fait, en cas de maladie virale, les cellules infectées

produisent des IFN- α et IFN- β qui inhibent la synthèse des constituants du virus, et donc sa multiplication (de Paus et al., 2013).

Les chimiokines ou chemokines sont des cytokines impliquées dans la migration cellulaire. Elles sont sécrétées par de nombreuses cellules sentinelles après stimulation par des signaux de dangers. Elles forment alors un gradient, et dirigent ainsi la migration des populations leucocytaires requises vers le tissu enflammé. Les chimiokines sont généralement réparties en deux groupes, en fonction de la distance séparant deux résidus cystéines conservés. On peut distinguer les chimiokines α qui ont une séquence CXC (cystéine-résidu aléatoire-cystéine) et les chimiokines β qui ont une séquence CC (cystéine-cystéine). La plupart des chimiokines interagissent avec plusieurs récepteurs, et chaque récepteur peut reconnaître plusieurs chimiokines. Chaque population leucocytaire exprime un groupe défini de récepteurs, ce qui permet aux différents types de cellules immunitaires de répondre spécifiquement à certaines chimiokines seulement (Mayol et al., 2013). Le chemokine le plus étudié est IL-8 ou CXCL8 en nomenclature internationale. C'est un facteur chimiotactique neutrophile qui est produit par les macrophages et d'autres types cellulaires tels que les cellules épithéliales, les cellules musculaires lisses des voies aériennes et les cellules endothéliales (Hedges et al., 2000). Elle a pour propriété principale d'attirer les leucocytes circulants vers un foyer inflammatoire. De nombreuses cellules stimulées par l'IL-1 ou les TNF- α (monocytes, macrophages, fibroblastes, cellules endothéliales, hépatocytes, etc.) produisent de l'IL8. Les polynucléaires neutrophiles (activés par induction de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase) (Roche et al., 2011) sont la cible privilégiée de l'IL8 par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique : l'IL8-R. De façon générale, les récepteurs spécifiques aux IL-8 sont CXCR1 et CXCR2 (Bertini et al., 2012). Le schéma ci-contre montre les différents interactions et rétrocontrôles entre les cytokines d'intérêts.

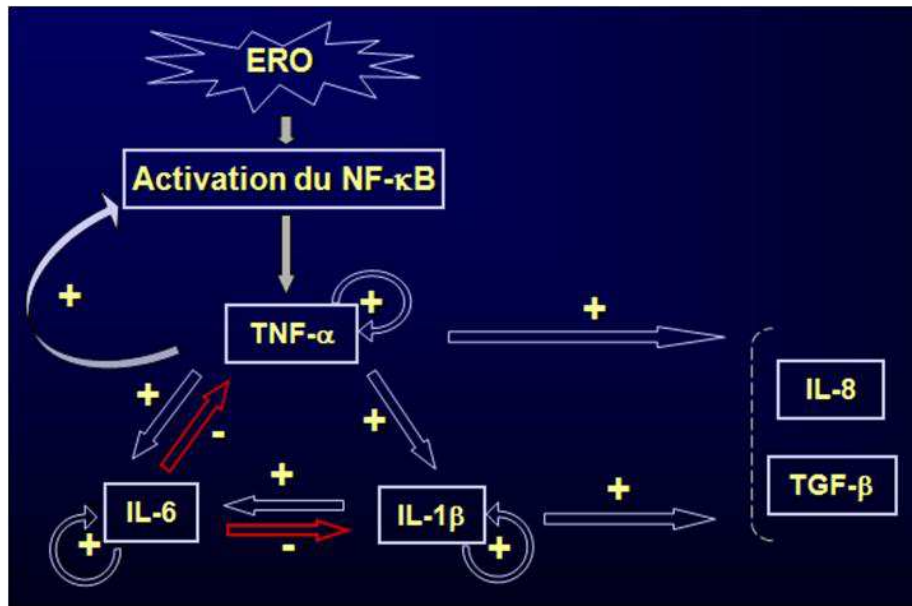


Figure 44 : Interactions et rétrocontrôles des principales cytokines étudiées

3.3.2 Inflammation induite par les particules atmosphériques

Les mécanismes d'action des particules atmosphériques dans les processus proinflammatoires ont fait l'objet de nombreuses études scientifiques qui cherchent à trouver des explications causales aux données épidémiologiques qui associent la pollution particulaire aux pathologies et mortalités respiratoires et cardiovasculaires. Des études en condition contrôlée *in vivo* ou *in vitro* permettent d'établir la relation dose/effet mise en évidence dans les études toxicologiques.

La composante inflammatoire paraît déterminante dans le développement des pathologies, et les cellules épithéliales participent directement à la réponse en libérant des médiateurs capables d'activer les cellules du système immunitaire (cellules épithéliales, monocytes, macrophages, mastocytes, lymphocytes T) (Marano et al., 2004). Il a été démontré que les particules PM₁₀, les PM_{2.5}, les ultrafines et les particules diesel induisent une augmentation de l'expression des gènes proinflammatoires ou la sécrétion des cytokines ou chimiokines telles que

TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 ou IL-10 (Baulig et al., 2009, 2003; Brown et al., 2000; Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Fujii et al., 2001; Gualtieri et al., 2010; Happo et al., 2013; Kouassi et al., 2010; Michael et al., 2013; Shang et al., 2013; van Eeden et al., 2001; Yoshida et al., 2010).

De récentes études toxicologiques ont montré l'induction de la sécrétion de ces cytokines par les particules, suite au stress oxydatif déclenché au niveau des cellules pulmonaires (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Gualtieri et al., 2011; Okuda, 2013; Reche et al., 2012). Musah et son équipe ont montré qu'une co-culture de macrophages (RAW 264.7) et de cellules épithéliales pulmonaires (MLE-12) était sensible à une exposition aux particules ambiantes de l'air. En effet, ils ont exposé des cellules monocytes/macrophages et des cellules épithéliales pulmonaires de souris à la concentration de 1,7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de PM pendant 24 heures. Ils ont constaté que les PM déclenchent la production du facteur de nécrose tumorale (TNF = Tumor necrosis factor) par les macrophages qui à leur tour stimulent les cellules épithéliales pour la sécrétion de cytokines proinflammatoires (Musah et al., 2012). Cette réaction d'action des macrophages dépend fortement de la taille des particules plutôt que de leur composition chimique. À travers les travaux de Nakayama Wong et al. (2011), les particules fines ambiantes induisent également une production des ERO endogènes, l'expression des gènes DUOX1, SOD2 et PTGS2 associés au stress oxydant et une induction de la réponse proinflammatoire associée à l'asthme et au BPCO (interleukines IL-1 α , IL-1 β , IL-8 et CCL20). Selon Shang et al. (2013), les dérivés de quinones (présents sur les PM) notamment le 1,4-naphthroquinone et le 9,10-anthraquinone, induisent sur des cellules épithéliales bronchiques A549, des dommages d'ADN et participent donc à la sécrétion des chemokines/cytokines proinflammatoires. Les particules sont capables d'inhiber les processus de réparation de l'ADN et favoriser la mutagenèse (Mehta et al., 2008).

Des tests *in vivo* ont révélé que l'inhalation ou l'instillation intra-trachéale de particules ultrafines engendre une augmentation des tumeurs suite à l'induction de la réponse inflammatoire (Donaldson et al., 2001). De nombreuses autres

études d'une part *in vivo* chez l'animal sain ainsi que chez des volontaires humains et d'autre part *in vitro* sur des modèles cellulaires tentent d'expliquer les phénomènes mécanistiques inflammatoires induits par les particules atmosphériques. Une partie de ces études est résumée dans le tableau 12.

Tableau 12 : Études sur les réponses inflammatoires induites par les particules atmosphériques

Particules	Types de cellules	Doses ou expositions	Effets	Références
Études <i>in vitro</i>				
PM _{2.5}	MA	400 µg/mL (8h)	↑ TNF-α, IL-6 ↑ IL-1α, MCP-1 ↑ CCL5, GM-CSF ↓ IL-10	(Shang et al., 2013)
PM _{10-2.5} PM _{2.5-0.2} et PM _{0.2}	RAW264.7	50-300 µg/mL (24h)	↑ TNF-α	(Happo et al., 2013)
PM	MLE-12 RAW264.7	0-172 µg/cm ² (24h)	↑ TNF	(Musah et al., 2012)
PM _{2.5-0.3}	BEAS-2B	2,83-15 µg/cm ² (24, 48 et 72h)	↑ TNF-α ↑ IL-6, IL-1β	(Dergham et al., 2012)
PM	NHBE	10 µg/mL (3h)	↑ IL-1α, IL-1β ↑ IL-8, GM-CSF	(Nakayama Wong et al., 2011)
DEP	A549	0,01-20 ppm	↑ IL-8	(Patel et al., 2011)
PM _{2.5}	BEAS-2B	1, 50 et 100 µg/mL (24h)	↑ IL-6, IL-1β, IL-7 ↓ IL-8, MCP-1 ↓ GM-CSF	(Fuentes-Mattei et al., 2010)

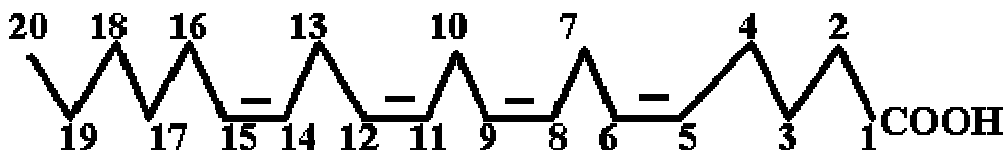
Particules	Espèces	Doses ou expositions	Effets	Références
Études <i>in vivo</i>				
PM _{10-2.5}	Souris	Instillation 100 µg/souris (0,5h et 1h)	↑ TNF-α ↑ macrophages morts	(Williams et al., 2013)
PM ₁₀	Rat	Instillation 0,3-10 mg/kg (24h)	↑ TNF-α ↑ IL-1β	(Guo et al., 2012)
PM _{2.5}	Volontaires humains		↑ IL-8	(Vattanasit et al., <i>in Press</i>)
PM _{2.5}	Souris	Instillation 5-15 µg/souris (24h)	↑ TNF-α, IL-6 ↑ MPO ↑ neutrophiles	(Riva et al., 2011)
PM _{2.5}	Rat	Instillation 0,3, 0,75, 2 et 5 mg/rat 7, 51 et 58 j	↑ TNF-α, IL-6 ↓ Capacité de phagocytose des macrophages	(Huang et al., 2008)
DEP	Souris	Inhalation 20-80 mg/m ³ (90 min)	↑ TNF-α	(Saber et al., 2006)
PM ₁₀	Volontaires humains	Instillation 500 µg/sujet (24h)	↑ TNF-α, IL-6 ↑ IL-1β ↑ neutrophiles	(Ghio and Devlin, 2001)

A549 = Cellules épithéliales alvéolaires ; BEAS-2B = Cellules épithéliales bronchiques ; MLE-12 = Cellules épithéliales pulmonaires ; NHBE = Cellules épithéliales bronchiques primaires humaines ; MA = Macrophages alvéolaires ; RAW264.7 = Cellules macrophages murines ; DEP = Particules diesel ; MCP-1 = Monocyte chemotactic protein-1 ; GM-CSF = granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.

D'autres médiateurs très peu étudiés et relativement liés aux cytokines proinflammatoires sont les sous-produits des éicosanoïdes qui jouent également un rôle très important au cours des différentes phases de la réaction inflammatoire.

3.3.3 Médiateurs & mécanisme de l'acide arachidonique

L'acide arachidonique (AA) est un acide gras à longue chaîne qu'on retrouve dans certaines huiles végétales. Il est symbolisé par les nombres 20:4 (n-6, n-9, n-12, n-15) (figure 45) pour indiquer qu'il a 20 atomes de carbone et quatre liaisons éthyléniques situées sur les carbones n° 5 (n-15), n° 8 (n-12), n° 11 (n-9) et n° 14 (n-6) : c'est un acide gras polyinsaturé.



20 : 4 (n-6 n-9 n-12 n-15)

Figure 45 : Structure de l'acide arachidonique

C'est un élément constitutif des membranes cellulaires (phospholipides membranaires). Il est fabriqué dans notre organisme à partir de l'acide linoléique et joue un rôle de précurseur direct de messagers cellulaires dans les neurones. Il exerce une fonction de régulation, un rôle de médiateur dans l'activité des cellules au cours de nombreux processus comme la contraction des muscles lisses, l'agrégation plaquettaire, la sécrétion gastrique, les réactions inflammatoires, etc. Dans cette étude, nous nous limiterons aux médiateurs de l'inflammation que sont ses métabolites.

Le métabolisme de l'acide arachidonique est complexe, car les métabolites intermédiaires et terminaux formés ont des effets variables et parfois antagonistes au cours de l'inflammation. Parmi ces métabolites, on distingue les

prostaglandines, les leucotriènes, les thromboxanes, les prostacyclines, les lipoxines, les cystéinyl-leucotriènes, les hépoxylines et les anandamides. Il existe deux principales voies métaboliques de l'acide arachidonique : la voie de la cyclooxygénase et la voie de la lipoxygénase (figure 46).

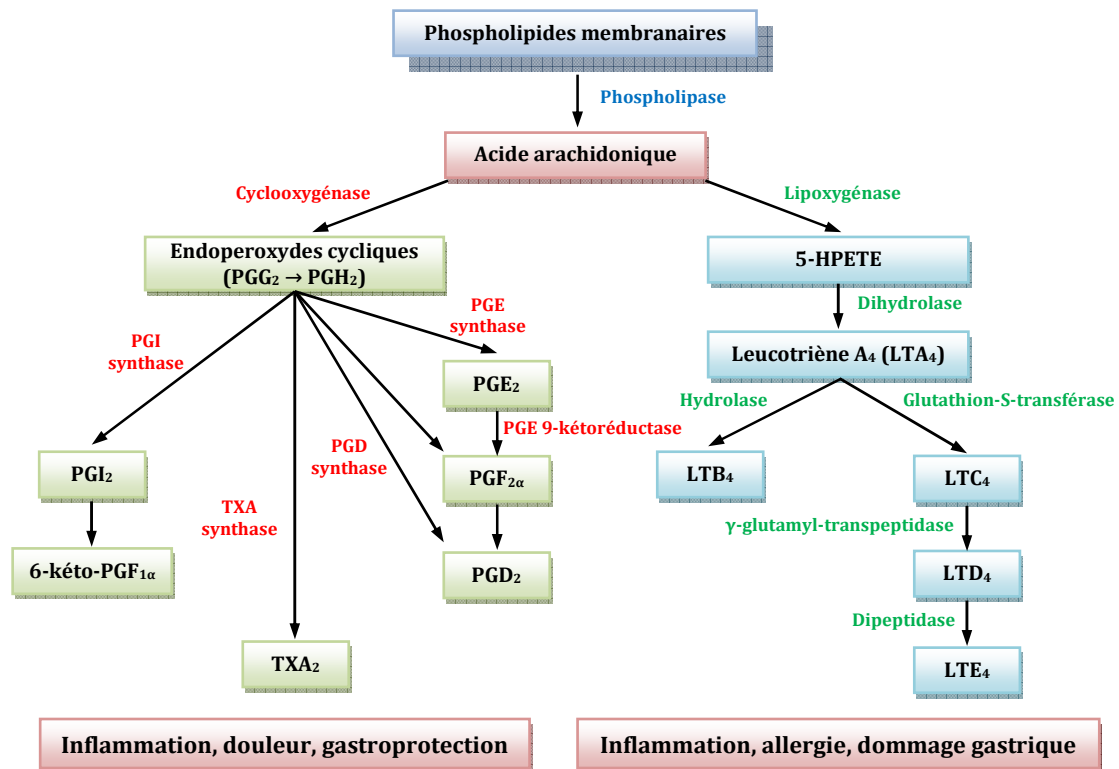


Figure 46 : Principales voies de métabolisation de l'acide arachidonique

➤ **Voie de la cyclooxygénase :** Cette voie conduit aux prostaglandines, thromboxanes et prostacyclines. On distingue les cyclooxygénases de type 1 ou COX-1, présentes au niveau de l'estomac, du rein, des thrombocytes et les cyclooxygénases de type 2 ou COX-2, présentes au niveau des fibroblastes, macrophages, et de l'utérus. La COX-1, dite constitutive est naturellement produite par l'organisme. A l'inverse, la COX-2 est induite lors des agressions (PM par exemple) (Macchione, 2013) et n'est active que lorsque les phagocytes sont exposés à un processus inflammatoire¹⁷.

¹⁷ <http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/module8/item112/texte11.htm> (Consulté le 17-10-2013)

- **Prostaglandines :** Les prostaglandines sont réparties en 9 classes et ont des effets très variables. Elles sont synthétisées dans de nombreuses cellules, en proportions très différentes suivant les organes (PGE2 et PGA2 au niveau rénal, PGI2 sur l'endothélium des vaisseaux et le cœur, PGD2 au niveau du cerveau, et même une dizaine d'entre elles dans la vésicule séminale, PGE2 dans la moelle épinière (Zeilhofer, 2005), etc.). Le plus souvent les prostaglandines entraînent la vasodilatation (PGE2, PGI2), la douleur (PGE2), l'hyperperméabilité vasculaire, le chimiotactisme, la fièvre. Elles interviennent dans la perméabilité membranaire aux ions (Ca^{2+}), la contraction des muscles lisses (PGA1, PGA2, PGE2), l'hypertension et la régulation de la pression artérielle (PGF2 α , PGE2, PGA2), et dans le déclenchement du travail au niveau de la sphère génitale (PGF2 α , PGE2) (Kelly et al., 2009). Elles agissent également au niveau des poumons, dans l'asthme bronchique, dans le contrôle de l'agrégation plaquettaire et de la formation des caillots, au niveau du système nerveux central (PGD2), des glandes endocrines et des ostéoblastes. La PGE2 inhibe l'activité des lymphocytes T suppresseurs (Kalinski, 2012), augmente la production d'immunoglobulines et diminue la production d'IL2 par les lymphocytes.
- **Thromboxanes :** On parle généralement de thromboxane A2 (TXA2) qui est un puissant agrégeant plaquettaire et vasoconstricteur (Kontogiorgis and Hadjipavlou-Litina, 2010). Il joue un rôle important dans différentes pathologies humaines telles que l'infarctus du myocarde, la thrombose, les troubles thrombotiques, l'hypertension pulmonaire, l'asthme, l'athérosclérose, etc.
- **Prostacyclines :** Elles sont produites par les cellules endothéliales. Par inhibition de la synthèse des thromboxanes, elles constituent des antiagrégants plaquettaires et vasodilatateurs. Elles peuvent avoir des effets bénéfiques à court terme chez les patients atteints d'hypertension artérielle pulmonaire (Paramothayan et al., 2005). La prostacycline est une prostaglandine à action rapide naturelle qui peut améliorer le flux sanguin

et l'oxygénation dans les poumons et réduire l'inflammation. Les recherches cliniques sont insuffisantes pour pouvoir soutenir l'utilisation de routine de la prostacycline inhalée en cas de lésion pulmonaire aigüe et de syndrome de détresse respiratoire aigüe chez les enfants ou les adultes gravement malades avec des niveaux bas d'oxygène dans le sang (Afshari et al., 2010).

➤ **Voie de la lipoxigénase :** C'est une voie qui regroupe des médiateurs qui ont une action chimiotactique puissante (leucotriène B₄, active les phagocytes), vasoconstricteurs, bronchoconstricteurs et qui augmentent la perméabilité vasculaire (leucotriènes C₄, D₄, E₄). Les leucotriènes (LTA₄, LTB₄) et les cystéinyl leucotriènes (LTC₄, LTD₄, LTE₄) sont des substances libérées par les macrophages, les polynucléaires neutrophiles, les monocytes, les mastocytes, etc. Ils jouent un rôle important dans l'inflammation des voies aériennes dans le traitement des pathologies pulmonaires telles que l'asthme (Gelfand and Dakhama, 2006; Hsu et al., 2012). En effet, le leucotriène B₄ (LTB₄) se lie au récepteur LTB₄-1 (BLT1) en favorisant le recrutement dans les voies respiratoires des lymphocytes T (CD8+) (Del Prete et al., 2007; Kim et al., 2006; Ohnishi et al., 2008) qui secrètent les interleukines IL-4, IL-5, IL-13 dans le cas de l'asthme (Gelfand and Dakhama, 2006; Ismail et al., 2012). Les LTC₄, LTD₄, LTE₄ agissent comme de puissants bronchoconstricteurs dans le remodelage bronchique, la sécrétion de mucus et la perméabilité vasculaire (Hallstrand and Henderson, 2009; Mehrotra and Henderson, 2009). Les protéines de liaison des acides gras jouent un rôle crucial dans la biosynthèse des leucotriènes par la stabilisation de LTA₄ contre l'hydrolyse (Tholander et al., 2010), résultant d'une augmentation de signalisation inflammatoire. Aussi, la production de LTC₄ dépend activement des protéines de liaison des acides gras (Long et al., 2013). La formation du leucotriène C₄ (LTC₄) est la première étape de la synthèse des cystéinyl leucotriènes (Lam, 2003). Hong and Yang (2012) ont montré chez le rat que l'ARNm et l'expression des protéines de LTC₄S (LTC₄ synthase) augmentent dans les hépatocytes et des cellules endothéliales sinusoïdales. Des tests *in vivo* ont révélé que le leucotriène D₄ (LTD₄) issu du LTC₄, induit chez la souris des troubles cognitifs par activation du récepteur CysLT1R stimulé par le NF-κB (Tang et al., 2013). Il augmente la

perméabilité des cellules épithéliales intestinales (Rodríguez-Lagunas et al., 2013). Le leucotriène E4 (LTE4) produit du LTD4, est démontré être un bon indicateur urinaire de l'inflammation induite chez les asthmatiques (Brockmann et al., 2012; Rabinovitch, 2012).

L'induction par les particules atmosphériques des médiateurs de l'inflammation de l'acide arachidonique est très peu étudiée. Néanmoins, des études récentes ont montré l'implication de ces particules ambiantes dans le développement de l'asthme surtout chez les enfants. Rabinovitch et al. (2006) a montré que l'exposition aux pics de concentration des PM (dans la matinée) a engendré une augmentation moyenne de 6,2 % des niveaux urinaires de LTE4 chez des enfants atteints d'asthme persistant, malgré l'utilisation de médicaments appropriés. Il ajoute que le tabagisme passif modifie les effets aigus de PM_{2.5} (niveau faible de concentration) et entraîne des niveaux élevés de LTE4 chez les enfants asthmatiques (Rabinovitch et al., 2011). Ainsi, l'exposition à des concentrations élevées de PM_{2.5} ambiantes engendre des réponses inflammatoires à travers des niveaux urinaires de LTE4 élevés. Cependant, le tabagisme passif pourrait fausser les effets des PM constatés (Baccarelli and Kaufman, 2011). Les PM₁ (particules < à 1 µm) peuvent causer le rétrécissement des voies respiratoires et la bronchoconstruction. Cet effet des PM₁ peut être révélé par les leucotriènes, mais reste incertain (Rundell et al., 2005).

D'autres études ont montré que les PM induisent l'expression de la COX-2 et la production des PGE2 (Zhao et al., 2009). Les travaux de Bai et al. (2012) et de son équipe ont révélé que l'exposition aux particules diesel (PDi) augmente l'expression de la COX-2 dans l'aorte thoracique et racinaire sans modifier l'expression de la COX-1. De plus, l'expression significative de la COX-2 est positivement corrélée avec la quantité des cellules du muscle lisse dans les lésions aortiques. Aussi, le niveau urinaire de la prostaglandine 6-kéto-PGF1-α est 15 fois plus élevé chez les souris exposées aux PDi par rapport aux témoins. Par ailleurs, les particules PM_{1.5} (10 µg/mL) induisent également chez le rat (4 mg/kg) l'afflux de neutrophiles, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et chez des

macrophages alvéolaires (*in vitro*) exposés pendant 24 h, la production de PGE2 (1,9 fois) ainsi que l'IL-6 alors les PM_{0.5} n'augmentent pas l'IL-6, mais accroît 2,5 fois la PGE2 ([Beck-Speier et al., 2009](#)).

Chapitre 2

Démarche expérimentale

A. Différents choix pour la méthodologie d'étude

Nous avons réalisé notre étude sur des échantillons de particules collectés à Cotonou au Bénin. Les dosages de COVs, HAPs, métaux majeurs, éléments traces métalliques, espèces ioniques ont été réalisés au Centre Commun de Mesures (CCM) de l'Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO), dirigé par le Dr fabrice CAZIER. Le Pr Dominique COURCOT et son équipe, de l'Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV) ont procédé à l'analyse par granulométrie laser et à la détermination de la surface spécifique des particules.

1. Présentation du site d'étude

Cette étude a été réalisée à Cotonou, la capitale économique du Bénin, en raison de l'importance du trafic routier. Cotonou est situé sur le cordon littoral entre le Lac Nokoué et l'Océan Atlantique. La ville est coupée en deux par un canal (lagune de Cotonou) creusé en 1855. Trois ponts assurent la liaison entre les deux rives. La ville comptait en 2011, une population de 1,2 million d'habitants avec une densité de 15 000 habitants par km².

Dans la ville, très peu d'installations industrielles sont enregistrées. Cependant, son parc automobile en pleine expansion (regorge de nombreux véhicules d'occasion) et l'activité sans cesse croissante des conducteurs de taxis-motos (principal mode de transport) exposent la population à une forte pollution atmosphérique. Ainsi, ces facteurs de risques environnementaux font de Cotonou un site de référence pour l'étude de la pollution atmosphérique et de ses impacts sur la santé des populations.

2. Choix des particules atmosphériques

Les études antérieures réalisées dans notre laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire (LBBM) de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de

l'Université d'Abomey-Calavi (UAC), ont révélé que la qualité de l'air à Cotonou était médiocre (Avogbe et al., 2011, 2005; Ayi Fanou et al., 2006; Ayi-Fanou et al., 2011; Cachon, 2009). Ces études ont porté d'une part sur les impacts sanitaires : profil hématologique, formation des adduits d'ADN, dommages oxydatifs chez les conducteurs de taxi-motos constamment exposés à la pollution atmosphérique et d'autre part sur les particules ultrafines en association avec des niveaux élevés de benzène et d'autres composés organiques.

Dans une continuité des travaux et étant largement décrite dans la littérature comme suspectée d'être cancérigène et confirmée tout récemment (17-10-2013) par l'IARC (International agency for research on cancer) (CIRC, 2013), la pollution particulaire a retenu notre attention, principalement les matières particulaires PM_{2.5} (fraction fine avec un diamètre aérodynamique $\leq 2,5 \mu\text{m}$) et les PM_{>2.5} (fraction grosse ayant un diamètre aérodynamique $> 2,5 \mu\text{m}$). La caractérisation complète et les tests toxicologiques *in vitro* de ces particules nous permettront de comprendre leur potentiel toxique, en particulier sur les poumons.

3. Choix du modèle cellulaire

Les poumons sont constitués d'au moins 40 types de cellules différents (Polak, 2011). L'étude toxicologique des particules atmosphériques a été réalisée *in vitro* sur une lignée cellulaire épithéliale d'origine pulmonaire humaine : une lignée bronchique (BEAS-2B) (figure 47).

Les cellules bronchiques de la lignée BEAS-2B utilisées dans nos expérimentations sont commercialisées par la société LGC Standards S.A.R.L. (Molsheim, France ; référence : ATCC-CRL-9609). La lignée BEAS-2B, isolée après transfection par SV40 de cellules épithéliales bronchiques humaines normales provenant de biopsies bronchiques humaines, a l'avantage de conserver un certain nombre de paramètres de différenciation (Kuntz et al., 2006). En particulier, ces cellules épithéliales ont toujours leur caractère et leur polarité fonctionnelle ainsi que la capacité à sécréter certains facteurs spécifiques tels que des facteurs

d'inflammation et des glycoprotéines du mucus. Cette lignée cellulaire est considérée comme étant un modèle *in vitro* pertinent pour l'étude de la toxicité des substances inhalables (Fuentes-Mattei et al., 2010). Ses capacités métaboliques ont été prouvées par Uppstad et collaborateurs (Uppstad et al., 2010).

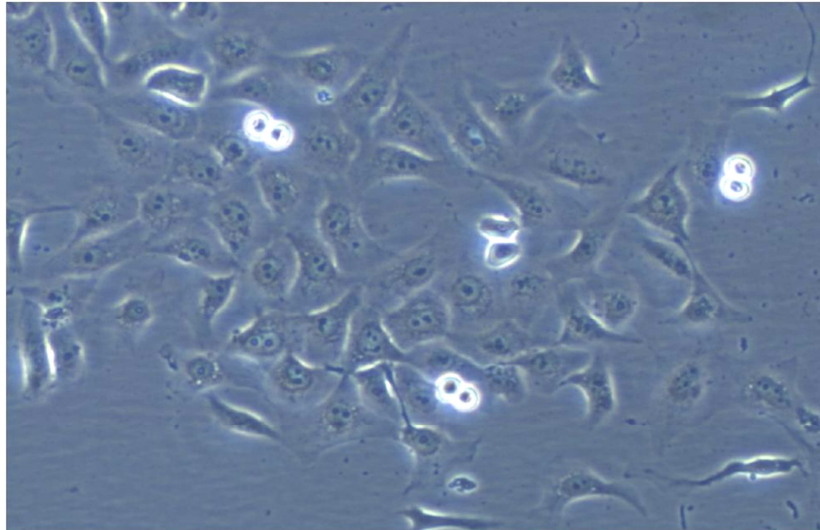


Figure 47 : Cellules BEAS-2B en culture observées au microscope (X1000)

4. Choix des paramètres biologiques

Dans cette étude d'évaluation de l'impact toxicologique de la pollution atmosphérique, le choix des paramètres biologiques s'avère très important. Ainsi, nous nous sommes référés aux paramètres les plus utilisés dans la littérature pour les études d'impacts sanitaires et en particulier ceux pour lesquels les BEAS-2B répondent le mieux.

Les dommages cellulaires sont fréquemment évalués par des tests colorimétriques complémentaires : l'intégrité/perméabilité membranaire à travers la LDH (Lactate DésHydrogénase), la viabilité cellulaire à travers la DHm (DésHydrogénase mitochondriale), la prolifération cellulaire à travers la BrdU (5-Bromo-2'-DésosyUridine) (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Lehmann et

al., 2006; Oostingh et al., 2011). Ces différents tests colorimétriques ont été utilisés dans cette thèse pour évaluer la cytotoxicité globale.

De nombreuses études ont montré l'utilisation du MDA, du ratio GSSG/GSH et de la SOD comme des biomarqueurs témoignant d'un stress oxydatif. De plus, les travaux de [Dergham et al. \(2012\)](#) et de [Dieme et al. \(2012\)](#) réalisés au sein de notre unité (Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant, UCEIV de l'Université du Littoral Côte d'Opale, ULCO, Dunkerque) ont montré que les particules fines PM_{2.5} peuvent générer un stress oxydatif chez les BEAS-2B à travers les différents paramètres précédemment cités. Nous avons donc décidé de vérifier si ces biomarqueurs identifiés peuvent témoigner d'une possible toxicité chez les cellules pulmonaires BEAS-2B suite à une exposition aux particules collectées à Cotonou.

De même, ces auteurs ont montré l'induction de l'expression de gènes des enzymes de métabolisation des composés organiques et aromatiques tels que les COVs et HAPs adsorbés sur les PM. Ces gènes sont les cytochromes P450 1A1, 1B1, 2E1 et NQO1. Nous avons ajouté d'autres gènes impliqués dans le mécanisme d'induction et qui sont décrits jouant un rôle de transporteur des xénobiotiques vers le noyau et de rétrocontrôle négatif ([Lesca and Pineau, 2012](#) ; [Mimura and Fujii-Kuriyama, 2003](#)). Il s'agit des récepteurs AhR, ARNT et AhRR.

Aussi, l'induction des gènes et la sécrétion des médiateurs de l'inflammation largement étudiées dans la littérature comme étant des biomarqueurs de toxicité des particules ont été également utilisées dans nos expérimentations, notamment les cytokines/chemokines proinflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8). D'ailleurs, les travaux de [Dergham et al. \(2012\)](#) et de [Dieme et al. \(2012\)](#) ont prouvé que les BEAS-2B répondent activement à travers ces biomarqueurs aux expositions aux particules atmosphériques. Nous avons également exploré la piste des métabolites de l'acide arachidonique qui sont aussi des médiateurs de l'inflammation interconnectés avec les cytokines surtout dans les pathologies pulmonaires (LTB₄,

LTC4, LTE4, PGE2, TXA2) (Gelfand and Dakhama, 2006; Hsu et al., 2012; Ismail et al., 2012; Kalinski, 2012).

5. Choix des concentrations d'expositions

Dans nos expérimentations d'exposition des cellules BEAS-2B aux particules, nous avons choisi d'utiliser une large gamme de concentrations (0 ; 1,5 ; 3 ; 6 ; 12 ; 24 ; 48 et 96 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) sur la base des études précédemment menées dans notre laboratoire (Billet et al., 2007; Dagher et al., 2006; Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Garçon et al., 2006) sur les lignées de cellules épithéliales pulmonaires humaines afin d'observer les impacts cytotoxiques des particules. Les cellules qui ont servi au dosage des autres biomarqueurs, ont été traitées avec les deux types de particules collectées ($\text{PM}_{2.5}$ et $\text{PM}_{>2.5}$) à deux concentrations également choisies à partir des résultats des tests de cytotoxicité. Il s'agit de 3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ et 12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, des concentrations à effets modérés et qui encadrent la CI_{10} (concentration inhibitrice à 10 %). Ceci nous a permis de disposer de cellules suffisantes pour l'étude des différents paramètres toxicologiques.

6. Choix de la cinétique d'exposition

Dans nos travaux de recherche, nous avons choisi des temps d'exposition relativement court afin d'apprécier les effets biologiques à court terme que peuvent engendrer les particules. En effet, de façon théorique, plus la concentration des particules est élevée, plus la durée des transformations biologiques est courte et par conséquent plus la réaction/réponse est rapide. Ce qui n'est pas toujours le cas dans la pratique. Ainsi, pour évaluer les réponses biologiques la cinétique d'exposition était de 24, 48 et 72 h.

B. Échantillonnages

1. Campagne de prélèvements

Dans les pays développés, très peu de personnes vivent ou travaillent en permanence le long des routes. C'est le contraire dans les pays en développement. Une grande partie de la population passe presque tout son temps aux abords directs des voies de trafic. Pour cette raison, selon une étude de la Banque Mondiale réalisée en 2007 sur la qualité de l'air à Cotonou, des sites « pic » s'avèreront plus représentatifs de l'exposition globale pour une partie de la population. Aussi, après avoir examiné les grands carrefours de Cotonou, St Michel (notre site d'étude) s'est révélé être le plus fréquenté et représentatif en matière de composition chimique des polluants retrouvés suite à une analyse des particules collectées sur filtre.

Sur cette base, les prélèvements de particules ont alors été effectués à St Michel, une zone urbaine et à Akassato (site témoin) situé à environ 20 km de Cotonou. En effet, durant toute la période de prélèvement (16 novembre 2010 au 8 décembre 2010), les particules collectées à Akassato ne nous ont pas permis d'avoir suffisamment de matière pour envisager une caractérisation complète des particules. Nous avons donc effectué les analyses physicochimiques uniquement sur les particules collectées à St Michel. Néanmoins, nous avons pu déterminer les concentrations des particules dans l'air à Akassato. Nous verrons par la suite ces concentrations qui confèrent à ce site la qualité de site témoin que nous pourrons utiliser dans nos études futures. Dans la suite de ce manuscrit, nous ne traiterons que des PM collectées à St Michel ainsi que leur impact sanitaire.

Les prélèvements de particules $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$ réalisés à St Michel ($6^{\circ}22'2,3''N/2^{\circ}25'46,4''E$) (figure 48) étaient basés sur une collecte en continu pendant 20 jours. Nous avons essayé d'identifier si des conditions météorologiques

particulières étaient rencontrées lors de la période de prélèvement. Ainsi, les données météorologiques locales (direction et vitesse du vent, température et humidité relative) fournies par l'ASECNA (Agence pour la Sécurité de la Navigation Aérienne en Afrique et à Madagascar) de l'aéroport international Bernardin Gantin ont été considérées ainsi que les retrotrajectoires de masse d'air fournis par l'application du modèle NOAA HYSPLIT (Draxler and Rolph, 2013).



Figure 48 : Carte du site de prélèvement à Cotonou

La température moyenne, la vitesse moyenne du vent (faible) et l'humidité relative étaient respectivement 31,4 °C, 3 m/s et 72 %. Les données de l'ASECNA

rejoignent celles des retrotrajectoires (figure 49) qui indiquent que les directions des vents dominants sont de secteur Sud Sud-Ouest, exposant le site aux masses d'air d'origine marine. En effet, les masses d'air viennent de l'Océan Atlantique traverse visiblement le Sud-Est du pays, en notant cependant que la distance parcourue en 24 h est faible ; ce qui signifie que les vitesses des vents associées étaient relativement faibles et favorisaient l'accumulation des particules sur le site de prélèvement.

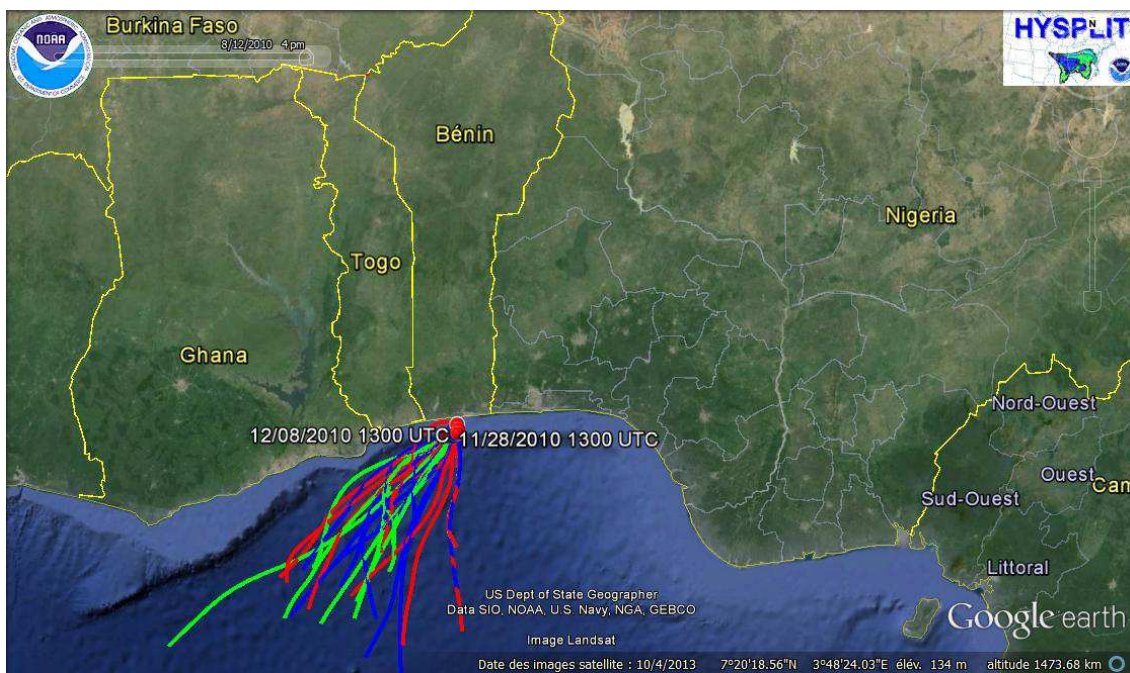


Figure 49 : Retrotrajectoires des masses d'air pendant la campagne de prélèvement

2. Collecte des particules

Les particules ont été prélevées à l'aide d'un impacteur en cascade de type Sierra 235 (Sierra Anderson, Smyrna, USA), comportant 6 étages dont les largeurs de fente sont décroissantes, et d'une pompe aspirante à haut débit (80 m³/h) (Staplex, modèle TFIA, New York, USA). Cette technique de collecte sélective

permet de réaliser une ségrégation en fonction de la taille aérodynamique des particules (figure 50).

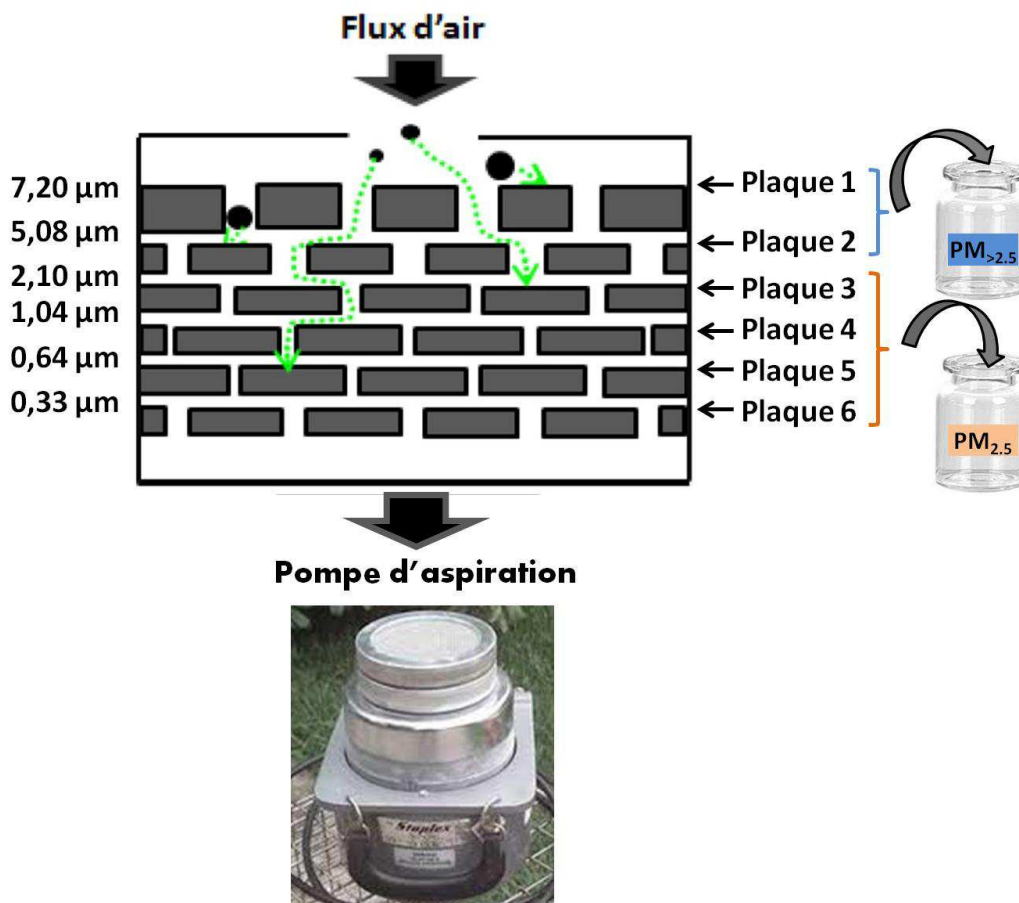


Figure 50 : Schéma de l'impacteur en cascade utilisé pour le prélèvement

L'impaction des particules est basée sur un principe physique de mécanique des fluides : l'inertie des particules dans un flux d'air. En effet, grâce au flux d'air, les aérosols sont dirigés au travers de chaque fente. Les particules animées d'une inertie suffisante s'écartent de la trajectoire et s'impactent sur le support de collection ; les autres sont dirigées vers les plaques ou étages inférieurs jusqu'à ce qu'elles acquièrent la quantité de mouvement suffisante pour se déposer. Les grosses particules sont ainsi recueillies sur la première plaque et les plus petites sur la dernière.

Le dispositif de prélèvement est placé sur un support de 1,5 mètre environ de hauteur, à environ 3 mètres de la voie de la circulation. Aussi, nous avons effectué sur les 20 jours de prélèvement, une collecte quotidienne de 10 h en moyenne avec parfois des difficultés liées aux délestages électriques et à la pluie. Les plaques ayant servi au prélèvement sont mises à sécher sous hotte à flux laminaire pendant 24 h avant la récupération des particules. Après grattage des plaques, les particules recueillies sont ensuite sériées comme l'indique la figure 50.

3. Échantillonnage des essences

Des échantillons d'essence ont été collectés en août 2009 à Cotonou et au Nigeria près de la frontière béninoise. À Cotonou, nous avons échantillonné dans des vials de 2 mL de l'essence provenant de 5 stations officielles (Oryx, Texaco, Total, Sonacop, et Pegaz) et 5 vendeurs ambulants installés le long des voies de circulations (Védoko, Okpè-Oluwa, St Michel, Zongo et Étoile rouge). Rappelons que cet échantillonnage d'essence est réparti sur l'ensemble de la ville. Aussi, trois échantillons d'essence ont été obtenus au Nigéria et un échantillon sans plomb 98 en France.

4. Conditionnement des échantillons d'essences et de particules

Les vials d'essence ont été étiquetés de 1 à 10 pour les échantillons collectés au Bénin et de 11 à 13 pour ceux du Nigéria. Les vials hermétiquement fermés ont été immédiatement stockés au congélateur à -20 °C. Tous les échantillons ont été ensuite convoyés à Dunkerque (France) pour les analyses chimiques liées à la composition intrinsèque des essences.

De la même manière, les deux lots de particules $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$ ont été recueillies dans des vials propres. Ces vials ont été immédiatement scellés et stockés à 4 °C puis expédiés à Dunkerque où ils ont été congelés à -20 °C afin de conserver au mieux leurs caractéristiques le temps de procéder aux analyses physicochimiques et de déterminer leur potentiel de nuisance à partir des tests *in vitro* précédemment décrits.

5. Méthodologie générale de l'étude

L'originalité de cette thèse repose sur une démarche transversale sur la compréhension des mécanismes de toxicité des particules atmosphériques collectées à Cotonou, avec l'influence de la taille et de la composition chimique de ces dernières, ainsi que d'autres facteurs qui favorisent leur accumulation et leur potentiel toxique. Le schéma ci-après (figure 51) résume la méthodologie générale de nos travaux de thèse.

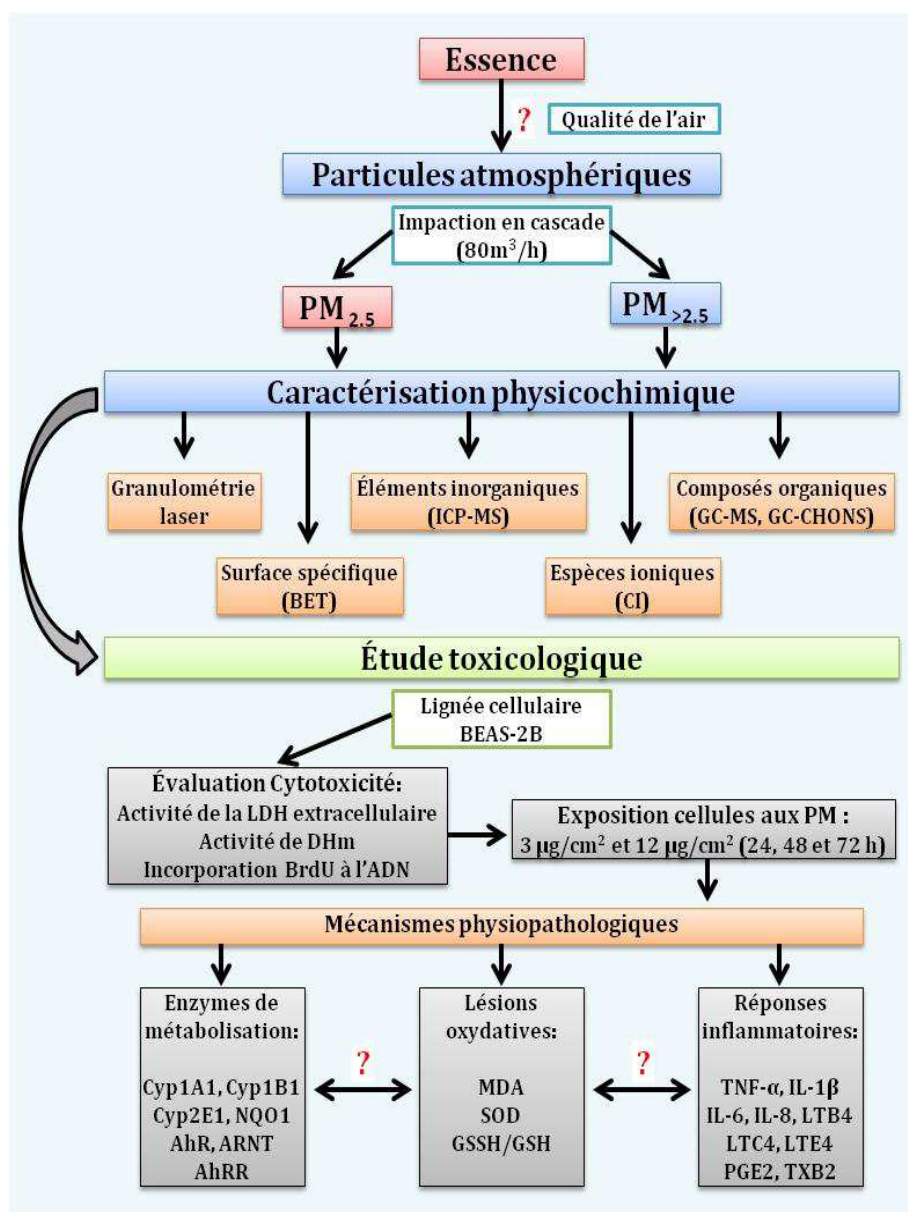


Figure 51 : Méthodologie générale de l'étude

C. Techniques analytiques pour la caractérisation des particules

1. Analyses physiques des particules

Les analyses physiques ont consisté en la détermination de la granulométrie et de la surface spécifique des particules.

1.1 Distribution granulométrique des particules

Principe

Le principe de la granulométrie par diffraction laser se repose sur la théorie de la diffusion de Mie. Elle prend en considération l'ensemble des phénomènes optiques liés à la diffusion des particules (diffraction, réfraction, réflexion). Le calcul de l'image de diffusion dépendra dans ce cas non seulement de la distribution granulométrique théorique considérée, mais également de la nature du matériau diffusant, par l'intermédiaire de ses propriétés optiques (figure 52).

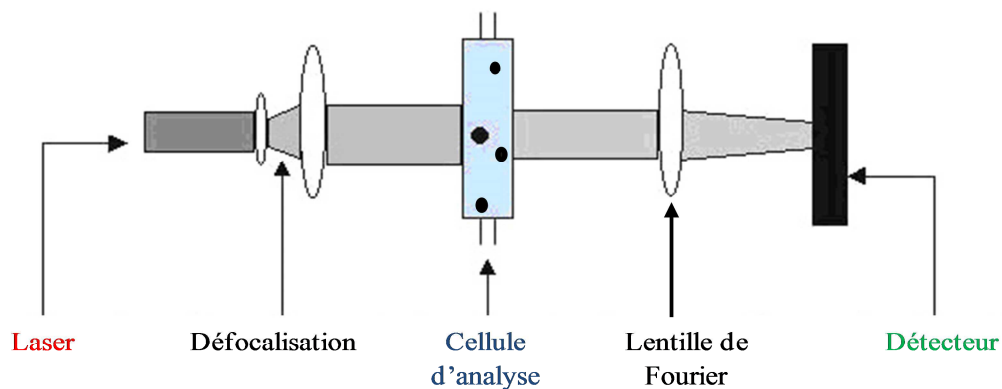


Figure 52 : Principe de la granulométrie laser

Protocole

Les échantillons de particules (environ 20 mg) ont été solubilisés dans 50 mL d'eau ultrapure. Ces particules sont dispersées aux ultrasons dans une phase aqueuse (Beckman Coulter LS 13 320 MW - Universal Liquid Module, France). Elles sont ensuite exposées à une lumière quasi monochromatique : rayonnement laser. Les intensités reçues aux différents angles par photodiodes en silicium sont numérisées. Ce granulomètre a une capacité de mesure comprise entre 0,017 et 2000 μm . L'obscurisation du faisceau est comprise entre 8 et 12 %. Les données sont traitées par le logiciel LS 3.01, en prenant en compte d'une part les indices de réfraction et d'adsorption des particules et d'autre part l'indice de réfraction du milieu dispersant (milieu aqueux). La distribution granulométrique est modélisée par une loi log-normale.

1.2 Réactivité des particules

Principe

La détermination de la surface spécifique repose sur l'adsorption de gaz à basse température. Ce phénomène d'adsorption s'effectue grâce à des forces dites faibles ou secondaires (forces de Van der Waals) à la surface des particules ; ces forces agissent vers l'extérieur, notamment sur des molécules de gaz qui entoureraient l'échantillon à analyser. Selon le modèle BET (Brunauer, Emmet et Teller) du 1938, il est possible d'établir la surface accessible d'un matériau, exprimée en m^2/g , et évaluer ainsi une certaine capacité d'adsorption (figure 53).

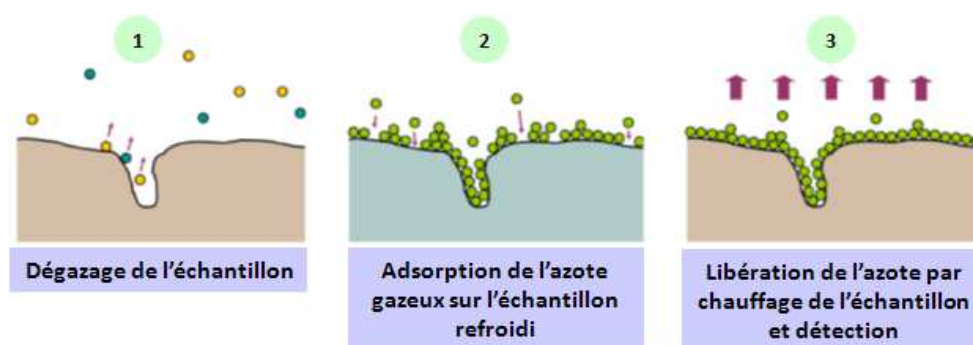


Figure 53 : Méthode BET pour la détermination de la surface spécifique

Protocole

Les différentes mesures ont été réalisées sur un sorptomètre Quantasorb (Ankersmit). Une masse d'échantillon comprise entre 30 et 50 mg a été introduite dans une microcellule en verre, qui sera insérée sur les canalisations de l'appareil. En un premier temps, l'échantillon a été dégazé sous flux d'azote pur (N60 : 99,999 %) à une température comprise entre 150 et 200 °C pendant 30 à 60 minutes, afin de sécher l'échantillon et d'évacuer les impuretés présentes sur sa surface. Une fois refroidi, l'échantillon a été balayé par un mélange d'azote (30 % gaz adsorbant) dans d'hélium (70 % gaz porteur inerte), utilisé pour effectuer l'adsorption de molécules d'azote à basse température (77 K soit -196 °C). La quantification du nombre de molécules adsorbées lors de cette étape a été déterminée à la suite de l'étape de désorption (lorsque l'échantillon est retiré de l'azote liquide puis réchauffé dans de l'eau) effectuée à température ambiante et suivie par un catharomètre de haute sensibilité (mesure de la variation de la conductivité thermique du flux gazeux résultant des changements de concentration de l'adsorbant). L'aire des pics obtenue est proportionnelle à la quantité d'azote retenue à la surface puis désorbée lors de la remontée en température de l'azote liquide. Dans le calcul de l'aire spécifique, il a été tenu compte que chaque molécule d'azote adsorbé occupait théoriquement une surface de $16,2 \text{ \AA}^2$ ($= 16,2 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$). Le calcul de l'aire spécifique est réalisé par rapport au témoin d'azote (Volume de calibration : 0,5 mL) suivant les formules :

$$S_t = 3,98 (1 - P/P_0) \frac{A * V_{cal}}{A_{cal}}$$

$$S = \frac{S_t}{M_E}$$

S_t : Surface théorique

S : Surface spécifique (en m²/g)

P₀ : P atm + 15

P : X_{N₂} * P atm

X_{N₂} : 0,3 (30 % N₂)

P atm : Pression atmosphérique (760 mm Hg)

A : Aire adsorption de l'échantillon

A_{cal} : Aire adsorption du calibrateur

V_{cal} : Volume calibration (en mL)

M_E : masse échantillon dégazée (en g)

Conditions : 3 bars (He), 2 bars (N₂), Intensité (140 A), Atténuation (8 ou 16)

2. Analyses chimiques des particules

L'analyse chimique des particules regroupe la caractérisation des métaux, COVs, HAPs, espèces ioniques et élémentaires, et acides gras adsorbés sur les particules ainsi que la détermination des composés contenus dans les échantillons d'essence.

2.1 Caractérisation des métaux

Principe

Les métaux et les éléments traces métalliques (ETM) ont été analysés par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS). Le principe fondamental consiste à injecter au niveau du faisceau ionique de l'ICP-MS, un gaz spécifique qui devra interagir avec l'interférent ou l'analyte (figure 54). L'échantillon introduit sous forme liquide est dispersé en très fines gouttelettes (de l'ordre de 10 μm) à l'aide d'un nébuliseur. Ces gouttelettes sont ramenées au centre de la torche à plasma, alimentée par de l'argon où les températures variant entre 6000 et 8000 °C vont permettre l'ionisation complète de l'échantillon sous forme de cations monovalents. Une interface, composée de deux cônes (un cône échantillonneur et un cône écreteur) suivie d'une série de lentilles, permet d'éliminer les photons et les neutrons et de focaliser les cations vers le quadripôle où ils seront séparés en fonction du rapport de leur masse atomique sur la charge (m/z). Cette technique dispose d'une grande sensibilité aux éléments réfractaires. L'utilisation d'un gaz de collision ou réaction permet l'élimination des interférences spectrales isobariques ou polyatomiques par les collisions ou les réactions engendrées au sein du faisceau ionique.

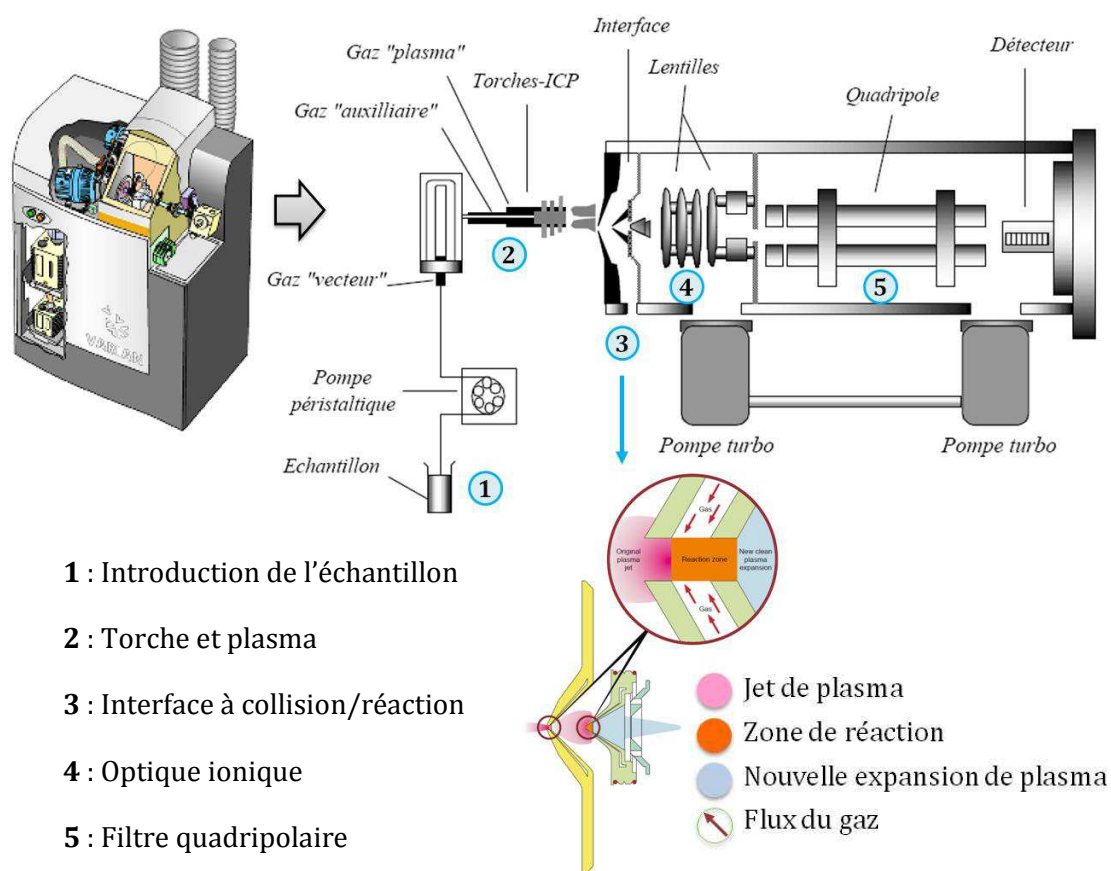


Figure 54 : Principe de fonctionnement de l'ICP-MS

Protocole

Traitement des échantillons : Les échantillons de particules ont subi d'abord une minéralisation à l'aide d'un digesteur (MARS 5 XPRESS, CEM Corporation). En effet, une masse d'échantillon d'environ 20 mg a été introduite dans un réacteur en téflon avec un mélange concentré d'acides nitrique (HNO_3 , 2 mL) et perchlorique (HClO_4 , 1 mL). Un « blanc » constitué du mélange d'acides seul est également inclus dans chaque série de minéralisation. Les réacteurs contenant les échantillons ainsi que celui du blanc sont ensuite hermétiquement fermés puis introduits dans le digesteur (four micro-onde). Un programme variable de paramètres (puissance 1600 W, température 180 °C et pression 24

bars, durée de digestion 20 min) avec une montée progressive en température et en pression permet de détruire la matrice et de solubiliser totalement les divers éléments adsorbés sur les particules. Les solutions obtenues après minéralisation sont filtrées sur filtre cellulose (0,45 µm, Whatman) puis diluées avec de l'eau ultrapure à 50 mL. Les dilutions ainsi obtenues sont analysées par l'ICP à travers une injection dans le plasma, sous la forme d'un fin aérosol, généré par un nébuliseur.

Conditions d'analyse : L'ICP-MS utilisé est de modèle Varian 820-MS, équipée d'une interface à collision/réaction afin d'éliminer les interférences par injection de gaz simples (hydrogène H₂, hélium He) dans le plasma lors du passage à travers les orifices des cônes. Ce modèle permet l'analyse précise et rapide des éléments en traces et ultra-traces. La calibration de l'appareil est réalisée à l'aide d'un standard multi-élémentaire commercial à 10 ppm (mélange de 33 éléments – SCP33MS, SCP Sciences-Quebec, Canada) dilué dans une matrice HClO₄/HNO₃ de concentration équivalente à celle des échantillons à analyser. La gamme d'étalonnage est de 0 à 50 ppb. L'instrument dispose d'un multiplicateur d'électrons comme système de détection/amplification du signal. Les éléments recherchés sont : Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, Tl, V, Zn.

2.2 Composition ionique des particules

Principe

L'analyse des espèces ioniques a été réalisée par chromatographie ionique (CI) dont le principe repose sur les propriétés des résines échangeuses d'ions qui permettent une fixation sélective des anions ou des cations présents dans une solution. Les ions sont entraînés par une phase mobile (éluant) et séparés par la phase stationnaire. Selon que l'interaction électrostatique entre la résine de la colonne et les ions à séparer est plus ou moins forte, la séparation se fera plus ou moins facilement. La détection spécifique des composés ioniques à partir de leur caractère polaire est rendue difficile par leur faible concentration, au regard de

l'abondance des ions présents dans la phase mobile. L'emploi d'un suppresseur est alors nécessaire pour convertir l'éluant fortement ionique en une espèce électriquement neutre. Ce qui permet un gain considérable de sensibilité avec une diminution du bruit de fond et une augmentation du signal des espèces à analyser. Un éluant circulant en permanence sur la colonne, permet une séparation progressive des ions en fonction de leur taille, leur charge et leur degré d'hydratation. Chaque espèce ionique est ainsi séparée et détectée par conductimétrie à la sortie de la colonne (figure 55). La concentration de l'espèce ionique dans la solution est directement proportionnelle à la conductivité. L'identification des ions est réalisée par comparaison des temps de rétention relevés pour des ions présents dans les échantillons avec ceux correspondant à des étalons externes.

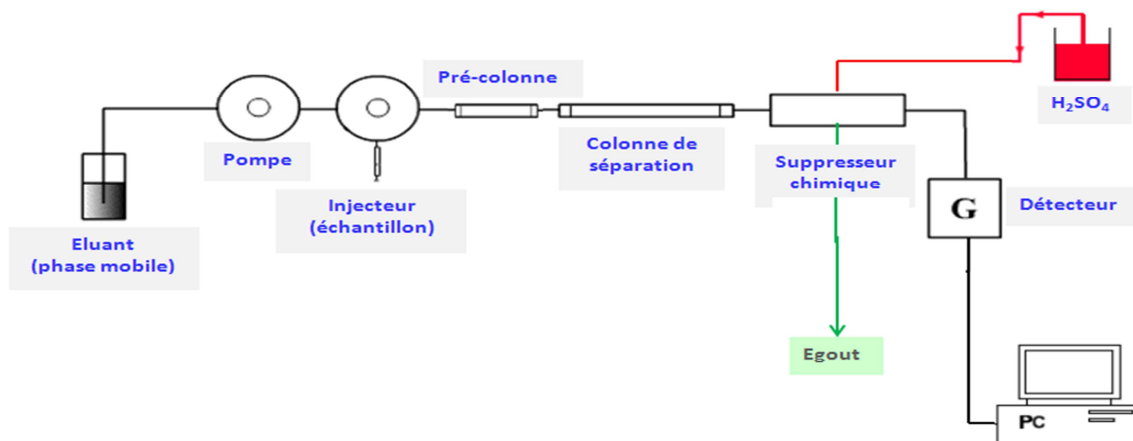


Figure 55 : Schéma simplifié d'une chromatographie ionique

Protocole

Traitement des échantillons : Les échantillons de particules collectés sont lixiviés dans 5 ou 10 mL d'eau ultrapure sous ultrasons pendant 30 minutes. Ensuite, le lixiviat chargé des ions solubilisés est filtré sur filtre millipore en cellulose de 0,45 μm et conservé à 4 °C avant analyse. Le filtre usagé et les particules lavées sont à nouveau lixiviés dans de l'eau ultrapure et le nouveau

lixiviat est traité comme précédemment. Cette procédure est reconduite 6 fois pour s'assurer que la totalité des ions hydrosolubles adsorbés à la surface des particules prélevées a bien été suffisamment solubilisée. Les différents lixiviats sont ensuite analysés par CI. Il est à noter que l'optimisation de la méthode d'extraction a montré qu'un minimum de 4 lixiviations était nécessaire pour extraire plus de 95 % des ions majeurs.

Conditions d'analyse : L'analyse simultanée des anions (F^- , Cl^- , NO_3^- et SO_4^{2-}) et des cations (Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} et Ca^{2+}) solubles a été réalisée sur une chaîne anionique DX100 et une chaîne cationique ICS900 de marque DIONEX. Les anions sont déterminés par un suppresseur électrochimique de type ASRS-ULTRA II et les cations par un suppresseur CSRS 300. La gamme est comprise entre de 0,5 à 100 ppm et est réalisée comme suit :

- étalonnage anion : NaF, NaCl, $NaNO_3$ et Na_2SO_4 ,
- étalonnage cation : NaCl, KCl, NH_4Cl , $MgCl_2 (6H_2O)$ et $CaCl_2$.

L'éluant anionique est constitué de Na_2CO_3 (3,5 mM) et de $NaHCO_3$ (1 mM) et passe à travers la précolonne (Ion Pac AG14A, 4x50 mm) et ensuite par la colonne (Ion Pac AS14A, 4x250 mm) avec un débit de 1,2 mL/min. Celui cationique est préparé à partir de 20 mM d'acide méthane sulfonique (CH_3SO_3H) qui alimente la précolonne cationique (Ion Pac CG12A, 4x50 mm) puis la colonne (Ion Pac CS12A, 4x250 mm) avec le même débit. 25 μ L de chaque lixiviat ont été injectés dans la CI.

2.3 Caractérisation des composés organiques et aromatiques polycycliques

Principe

La détermination des composés organiques et aromatiques polycycliques s'est basée sur la technique couramment utilisée en chimie analytique qu'est la chromatographie gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (GC-MS). Cette technique permet de séparer des molécules d'un mélange plus ou moins complexe de caractéristiques physicochimiques diverses. Elle s'applique principalement aux

composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans être dénaturés. L'échantillon injecté, est vaporisé à l'entrée de la colonne chromatographique et ses composés sont séparés en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire. La ligne de transfert chauffée à 310 °C permet le passage des composés en phase gazeuse dans la chambre d'ionisation du spectromètre de masse où un filament chauffé (280 °C) va les ioniser grâce à un faisceau d'électrons. À ce stade, tout composé formé de molécules conduit à un mélange statistique d'ions de fragmentation. Un champ magnétique sépare les ions ainsi formés en fonction de leur masse et les dirige vers le détecteur (figure 56). L'étude des trajectoires suivies, dans une enceinte où règne un vide poussé, permet de déterminer la nature des ions en fonction de leur masse/charge (m/z). Le détecteur traduit l'empreinte de chaque composé sous forme de spectre masse, représentant l'abondance de chaque ion formé, suivant son rapport masse/charge. Il traduit, en intensité, la présence du très grand nombre d'espèces individuelles semblables, apparues à partir de la quantité de tout échantillon soumis à cette analyse. En opérant dans les mêmes conditions, ce spectre est reproductible et caractéristique du composé. La quantification absolue est effectuée par étalonnage externe via l'injection de standards.

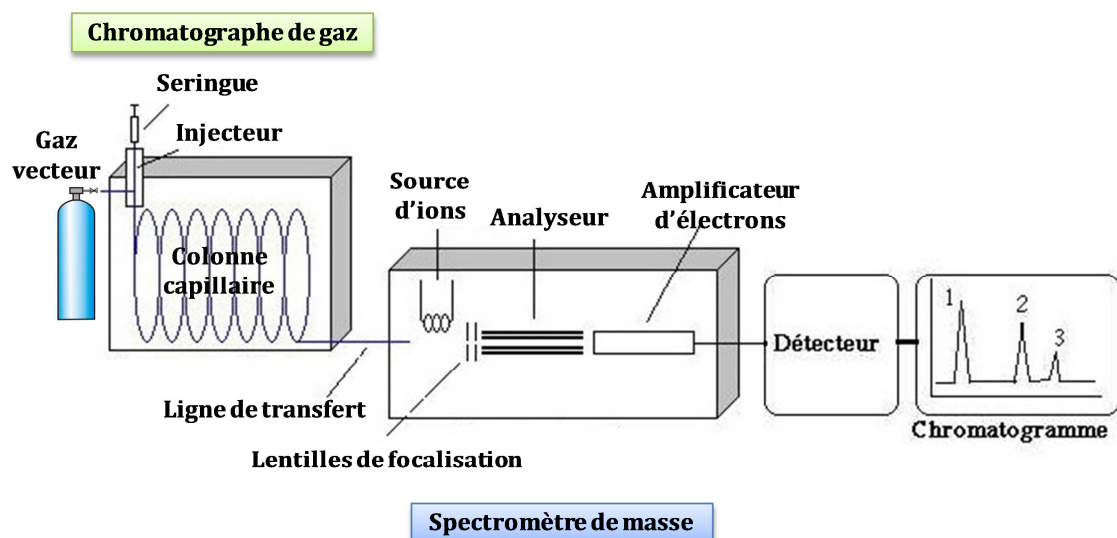


Figure 56 : Schéma illustrant les différentes parties de la GC-MS

Protocole

Les protocoles utilisés ont été préalablement expérimentés puis validés de manière à réaliser simultanément l'analyse des COVs, des HAPs, des acides gras et des paraffines. Une même prise d'essai dédiée pour les composés organiques a d'abord été désorbée thermiquement pour atteindre les composés les plus volatils, puis ces mêmes particules ont été placées dans un extracteur soxhlet pour extraire les composés semi et non volatils par l'intermédiaire d'un solvant. Les composés légers ont été analysés par GC-MS (modèle Brüker EM640). Les composés lourds ont été quantifiés par un chromatographe de gaz (Varian 3800) couplé à un spectromètre de masse (Varian 1200 TQ).

Conditions analytiques des composés légers : Dans un premier temps, des cartouches de verre sont préparées en intercalant l'échantillon de PM (environ 20 mg) avec de la laine de quartz à chaque extrémité, celle-ci est préalablement purifiée dans un four à 500 °C pendant 6 heures (la qualité de cette purification a tout d'abord été vérifiée en réalisant un blanc de cartouche). Les cartouches sont placées dans le désorbeur thermique intégré à la GC-MS chauffé à 220 °C. Le temps de désorption est de 3 min et la durée d'analyse est d'une heure. Les conditions ont été optimisées afin de désorber que les composés les plus volatils sans atteindre les semi-volatils et les composés lourds.

Conditions analytiques des composés lourds : Après la désorption, les mêmes échantillons de particules sont récupérés et introduits dans une cartouche (cellulose) puis dans un soxhlet afin d'extraire les composés organiques lourds. Il s'agit d'une extraction solide-liquide, reposant sur le principe de la percolation d'un solvant à travers un échantillon solide contenu dans une cartouche poreuse. Le corps de l'extracteur (i.e. le soxhlet), comprenant la cartouche, est fixé sur un ballon contenant le dichlorométhane. Le solvant est vaporisé puis condensé, et reste en contact avec le solide. La solution est soutirée périodiquement par l'amorçage d'un siphon. La solution du ballon s'enrichit petit à petit en soluté et le solide est toujours mis en contact avec du solvant fraîchement distillé (figure 57).

Le dichlorométhane (100 mL) permet de préserver l'intégrité de la matière organique adsorbée à la surface des particules. L'ébullition du solvant est effectuée pendant 16 heures. L'extrait obtenu est concentré sous flux d'azote à 2 mL voire 200 μL et 1 μL est injecté (split de 1:20) en automatique dans la colonne capillaire (VF-5 ms, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) de la GC-MS et véhiculé par un gaz vecteur (He). La durée d'analyse est d'une heure, la température de la source est de 280 °C et la tension de l'impact électronique est de 70 eV. Les composés ont été recherchés entre 40 et 350 unités de masse.

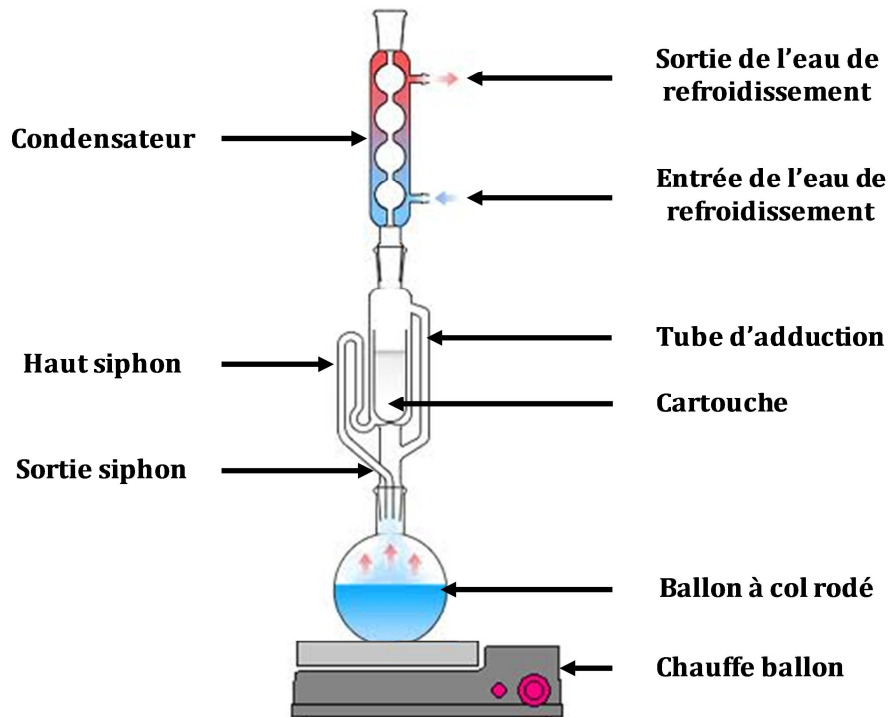


Figure 57 : Représentation schématique d'un extracteur soxhlet

2.4 Analyse élémentaire des particules

Principe

L'analyse élémentaire permet la détermination de la composition centésimale d'une substance. Elle certifie de sa structure et de sa pureté. La technique est basée sur la méthode classique de Dumas. L'échantillon contenu dans une petite capsule d'étain est introduit automatiquement dans un réacteur constitué par un tube vertical en quartz maintenu à la température de 1000 °C et dans lequel passe un courant d'hélium (figure 58). À l'introduction de l'échantillon, le courant d'hélium est automatiquement enrichi par une quantité déterminée d'oxygène pur (99,9995 %), provoquant ainsi la combustion éclair (flash) de la capsule et de l'échantillon.

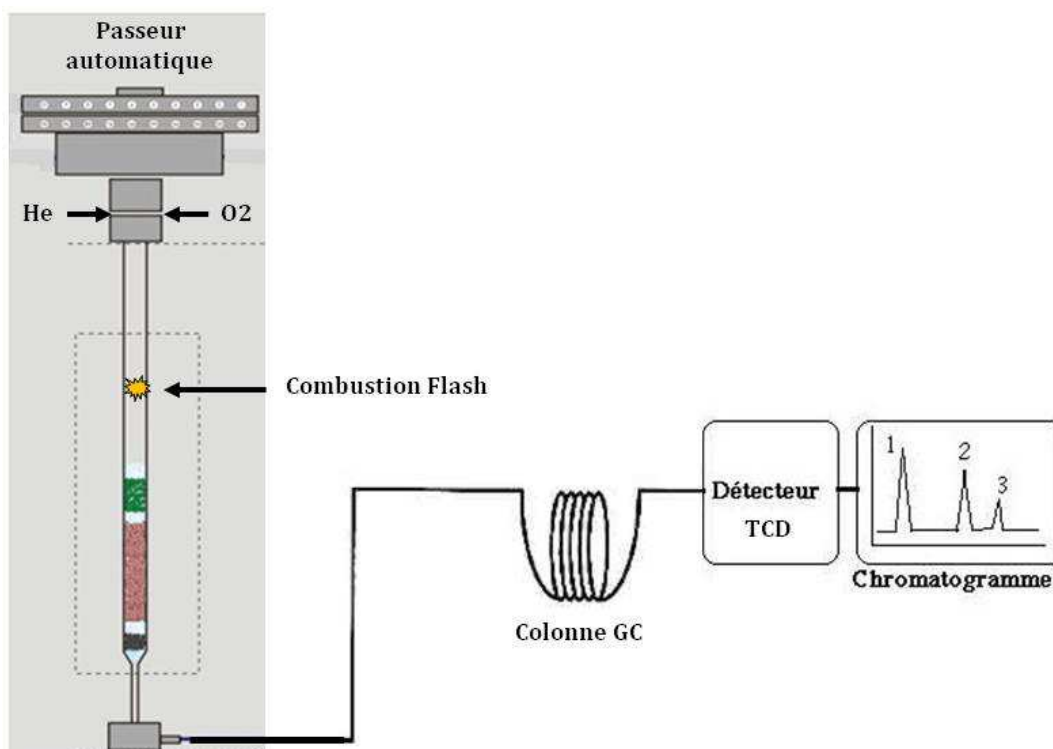


Figure 58 : Schéma simplifié de l'analyseur CHNS

Les gaz de combustion entraînés par le courant d'hélium passent sur un catalyseur d'oxydation (oxyde de cuivre) qui les transforme en CO₂, H₂O, SO₂, SO₃, N_xO_y. Ces gaz passent alors sur un deuxième catalyseur (cuivre réduit) qui va réduire les oxydes d'azote en azote élémentaire, le SO₃ en SO₂ et piéger l'excès d'oxygène. À la sortie du tube, on trouve en plus du gaz vecteur hélium, les gaz N₂, SO₂, CO₂ et H₂O. Les produits non dosés sont piégés. Les gaz obtenus sont alors séparés dans une colonne de chromatographie et quantifiés par un détecteur à conductibilité thermique. Le signal obtenu est amplifié puis traité par l'informatique.

Protocole

L'appareil d'analyse élémentaire CHNS/O (FlashEA 1112 équipé de deux injecteurs MAS200R, Thermo Fisher Scientific) a permis de doser le carbone, l'hydrogène, l'azote et le soufre dans les échantillons de particules. Les analyses sont effectuées avec une masse d'environ 1 mg de particules piégées dans la capsule en étain avec ~1 mg de vanadium pentoxyde (catalyseur du soufre). La capsule enroulée est ensuite introduite dans le four (température de 950 °C) à l'aide d'un passeur automatique. Le débit du gaz vecteur (He) est de 140 mL/min et les pressions sont de 250 kPa (He) et 220 kPa (O₂). La colonne de séparation (PTFE, 2 m, 6x5 mm) de la GC est chauffée à 70 °C. Le standard utilisé est le sulfanilamide (C₆H₈N₂O₂S) traité dans les mêmes conditions que les échantillons. Après une première analyse, chaque échantillon de particules est incinéré à 450 °C puis analysé à nouveau. Ceci permet de déterminer le carbone organique et le carbone minéral contenus dans les particules. Les résultats sont validés pour trois essais minimum.

3. Analyse des essences

Les échantillons d'essence ont été analysés par un chromatographe de gaz (Varian 3800) couplé à un spectromètre de masse (Varian 1200 TQ). Les essences ont été injectées directement dans les mêmes conditions d'analyse que celles décrites précédemment. L'identification des composés est effectuée à partir du mode TIC (Total Ion Current).

D. Paramètres biologiques étudiés

1. Préparation des suspensions particulaires

Chaque échantillon de particules est pesé en fonction de la gamme de concentration à préparer. La concentration de la suspension de particules tient compte de la surface du puits de microplaque de culture ou des flacons de culture et s'exprime en μg de PM/cm². Les particules prélevées sont solubilisées dans du milieu de culture supplémenté. La suspension mère a été traitée avec de la fongizone pour une concentration finale de 1 % (v/v) dans les puits ou les flacons et mise sous ultrasons pendant 5 à 10 minutes avant l'exposition.

2. Culture cellulaire

Les cellules BEAS-2B ont étéensemencées dans des microplaques de culture stériles (6 ou 96 puits) ou encore dans des flacons de culture stériles (150 cm²) dont la surface d'adhérence a été prétraitée (Cell Coated ; Corning, USA). Le traitement de Corning® CellBIND®, est un traitement de surface physique intégrant un micro-onde à haute énergie, une chambre sous vide et un mélange de gaz (azote/oxygène) afin de créer un plasma très réactif. Ce dernier va pénétrer dans tous les interstices des flacons en polystyrène à traiter dans le but d'augmenter leurs tensions superficielles (hydrophilie) favorisant ainsi la dispersion et l'adhérence des cellules.

Le milieu de culture utilisé est un milieu défini : Bronchial Epithelial cell Basal Medium (BEBM ; Lonza ; USA) (500 mL) supplémenté avec de l'insuline (0,5 mL), de l'extrait d'hypophyse de bœuf (2 mL), hydrocortisone (0,5 mL), du sulfate de gentamicine, de l'amphotéricine (GA-100) (0,5 mL), de l'acide rétinoïque (0,5 mL), de la transferrine (0,5 mL), du triiodothyronine (0,5 mL), de l'épinéphrine (0,5 mL), et du facteur de croissance épidermique recombinant

humain (hEGF) (0,5 mL). Les cellules en culture ont été incubées dans des conditions de culture classiques ($T = 37\text{ °C}$; $\text{CO}_2 = 5\%$; atmosphère saturée en humidité). Des passages successifs ont été réalisés afin d'obtenir, à partir d'une même ampoule de cellules mères, un nombre suffisant de cellules en phase exponentielle de croissance, pour pouvoir appliquer notre protocole d'exposition. Les cellules en culture ne doivent pas excéder 80 % de confluence pour initier la différenciation cellulaire (risque potentiel de modifications physiologiques).

3. Méthodes d'évaluation de la viabilité des cellules

Les cellules BEAS-2B ont étéensemencées dans des microplaques de culture à 96 puits. La cinétique d'exposition observée était de 24, 48 et 72 h. Cette cinétique nous a conduit à utiliser trois microplaques par échantillon de particules. Chaque puits a étéensemencé avec 10×10^3 , 5×10^3 et $2,5 \times 10^3$ cellules dans 200 μL de BEGM, respectivement pour 24, 48 et 72 h. Dans chacune des microplaques, 8 puits ont été exposés pour chaque concentration de la gamme (1,5 ; 3 ; 6 ; 12 ; 24 ; 48 et 96 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), 16 puits ne contenant que de BEGM ont été considérés comme des témoins négatifs, et 8 puits contenant du Triton X100 (2 % v/v) ont servi de témoins positifs de mortalité (figure 59). La cytotoxicité a été évaluée grâce à trois méthodes complémentaires, visant à étudier la perméabilité membranaire, le métabolisme mitochondrial et la prolifération cellulaire.

Chaque test de cytotoxicité a fait l'objet d'une observation en microscopie optique inversée (Olympus XKX41 ; Clara vision ; France) muni d'une glissière de contraste de phase pré-centrée (IXS2-SL ; Clara Vision). Une acquisition d'images a été réalisée à l'aide d'une caméra numérique couleur (Scion CFW-1310C ; Clara Vision) et du logiciel Perfect Image (Clara Vision).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	BEGM	BEGM + PM	BEGM + cellules (Témoins négatifs)		1,5 µg/cm²	3 µg/cm²	6 µg/cm²	12 µg/cm²	24 µg/cm²	48 µg/cm²	96 µg/cm²	BEGM + Cellules + PM	BEGM + cellules + Triton X-100 4% (Témoins positifs)
B													
C													
D													
E													
F													
G													
H													

Figure 59 : Schéma de microplaque pour l'étude de la cytotoxicité

3.1 Évaluation de l'intégrité et de la perméabilité membranaire

Principe

L'intégrité et la perméabilité membranaire ont été évaluées par dosage de la lactico-déshydrogénase ou lactate déshydrogénase (LDH), enzyme cytosolique stable impliquée dans la fermentation lactique, relarguée par les cellules dans le milieu extracellulaire lorsqu'elles subissent des dommages membranaires. Le principe du test repose sur la catalyse par la LDH de l'oxydation du lactate en pyruvate, qui est associée à la réduction de son co-facteur, le NAD^+ en $\text{NADH} + \text{H}^+$, qui se régénère en réduisant un sel de tétrazolium (2-[4-iodophényl]-3-[4-nitrophényl]-5-phényltétrazolium chloride) en un composé formazan chromogène, dont l'absorbance est déterminée par spectrophotométrie à la longueur d'onde test de 490 nm (longueur d'onde de référence : 630 nm) grâce à un lecteur de microplaques (MRX ; Dynatech laboratories, France).

Protocole

La détermination de l'activité enzymatique de la LDH extracellulaire est réalisée sur les surnageants (100 µL/puits), prélevés dans les microplaques de culture avant la mesure de l'activité de la Déshydrogénase mitochondriale (DHm), grâce au Cytotoxicity detection kit (LDH ; Roche Applied Science, Allemagne) suivant les instructions du fabricant. La courbe d'absorbance obtenue reflète l'augmentation de la libération de la LDH à l'extérieur des cellules indiquant de ce fait la perturbation de l'intégrité et/ou de la perméabilité membranaire causée par les particules.

3.2 Évaluation de l'activité mitochondriale

Principe

La mesure de l'activité de la Déshydrogénase mitochondriale a été effectuée en utilisant le test de cytotoxicité WST-1 (Roche Applied Science, Allemagne). Ce dernier consiste à étudier la transformation par clivage enzymatique d'un sel de tétrazolium (4-[3-(4-Iodophényl)-2-(4-nitrophényl)-2H-5-tétrazolio]-1,3-benzène disulfonate) en un composé formazan chromogène, dont l'absorbance est déterminée par mesure spectrophotométrique à la longueur d'onde de 450 nm (longueur d'onde de référence : 630 nm) grâce à un lecteur de microplaques (MRX ; Dynatech laboratories, France).

Protocole

L'activité enzymatique de la Déshydrogénase mitochondriale (DHm) a été déterminée dans les puits des plaques après prélèvement de surnageants pour l'étude de la LDH. Le kit utilisé est commercialisé par Roche Applied Science (Allemagne) et le test a été effectué suivant les instructions du fabricant. La cinétique obtenue traduit la diminution de l'activité de la DHm engendrée par les particules.

3.3 Évaluation de la prolifération des cellules

Principe

La prolifération cellulaire est directement corrélée à l'incorporation de la 5-bromo-2'-désoxyuridine (BrdU), un analogue de la thymidine qui s'incorpore dans le matériel génétique pendant la phase de synthèse de l'ADN, lors de la réplication. C'est un reflet de l'activité mitotique qui renseigne sur la prolifération cellulaire. Le principe de ce test de cytotoxicité consiste en l'immunodétection par fixation d'un complexe anticorps anti-BrdU conjugué à une peroxydase sur la BrdU incorporée à l'ADN des cellules exposées. La conversion de la tétraméthylbenzidine par la peroxydase est quantifiée par une mesure spectrophotométrique à 370 nm (longueur d'onde référence : 490 nm) grâce à un lecteur de microplaques (MRX ; Dynatech laboratories ; France).

Protocole

Le test de cytotoxicité de l'incorporation de la BrdU dans l'ADN a été réalisé à l'aide du kit « Cell proliferation ELISA BrdU (colorimetric) » (Roche Applied Science, Allemagne) suivant les instructions du fabricant. Les cellules contenues dans les puits de microplaque ont été exposées simultanément aux suspensions de particules et à la solution de BrdU contenue dans le Kit (20 µL/puits, 40 µL/puits et 60 µL/puits, respectivement pour 24, 48 et 72 h). La courbe d'absorbance obtenue représente la diminution de l'incorporation de la BrdU, et donc la diminution de la prolifération cellulaire engendrée par les particules.

L'étude des trois tests complémentaires de cytotoxicité nous a permis de travailler à une concentration modérée de suspension particulaire ($3 \mu\text{g}/\text{cm}^2 < CI_{10} < 12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) afin d'obtenir suffisamment de cellules pour l'étude des différents paramètres toxicologiques.

4. Méthodes d'évaluation des atteintes cellulaires

4.1 Expression des gènes impliqués dans la métabolisation des composés organiques

La détermination de l'expression génique des enzymes impliquées dans l'activation métabolique de la fraction organique des particules atmosphériques a été effectuée par la méthode de la RT-qPCR en temps réel.

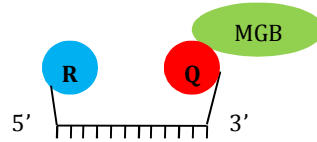
Principe

La méthode de *real-time quantitative Polymerase Chain Reaction* (**qPCR**, PCR quantitative en temps réel), précédée d'une étape de Rétro-Transcription (**RT**) des ARNm contenus dans les cellules, permet la détermination du niveau d'expression de gènes cibles dans les cellules et la comparaison de ces niveaux entre les différentes expositions. Cette méthode comprend plusieurs étapes permettant successivement :

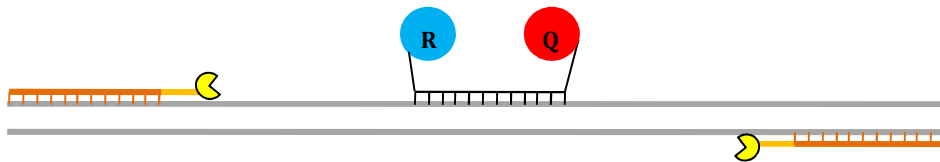
- ➔ l'extraction des ARN (ici sans purification)
- ➔ la rétro-transcription des ARNm en ADNc (RT)
- ➔ l'amplification et la quantification des ADNc (qPCR)

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé la chimie TaqMan®. Cette dernière repose sur l'utilisation, pour chaque gène cible, d'un couple d'amorces (*primers*) et d'une sonde (*probe*) spécifiques. Les amorces sont choisies à la jonction exon-exon, évitant ainsi l'amplification d'un éventuel ADN génomique résiduel et assurant la spécificité de la réaction. La sonde est associée à un « Minor Groove Binder » (**MGB®**), qui augmente la température de fusion (**T_m**) de la sonde et stabilise son interaction avec la matrice d'ADN. Il est ainsi possible d'utiliser des sondes de plus petite taille, constituées de 12 à 20 bases contre 25 à 30 pour les sondes TaqMan® classiques. La méthode gagne alors en sensibilité, car l'efficacité du quenching est améliorée par la faible longueur de la sonde. La sonde MGB®

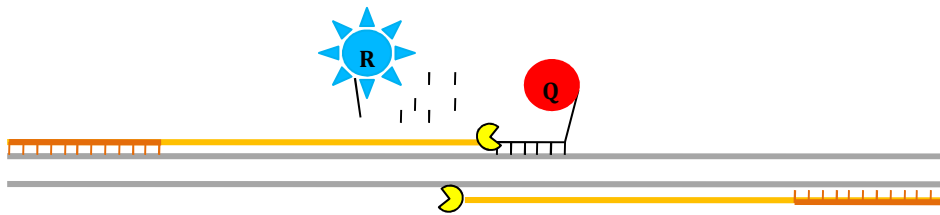
permet également d'éviter au maximum les mésappariements, ce qui accroît leur spécificité (figure 60).



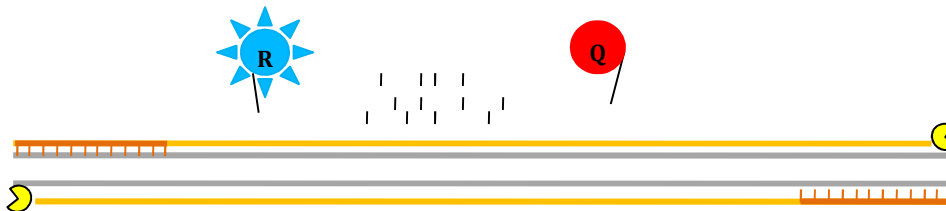
A. La sonde est composée de 12 à 20 bases, auxquelles sont ajoutés un Rapporteur (R) en 5' et un Quencher (Q) en 3' qui empêche le rapporteur d'émettre sa fluorescence. Le Minor Groove Binder (MGB) est également situé en 3', associé au quencher. Dans un souci de simplification, le MGB n'est plus représenté dans les étapes suivantes, mais reste associé au quencher.



B. Hybridation et début de l'élongation, la Taq polymérase progresse le long du brin. Lorsque la sonde Taqman[®] est hybridée, la fluorescence du rapporteur est quenchée.



C. Poursuite de l'élongation, l'activité 5'>3' exonucléase de la Taq polymérase permet le clivage progressif de la sonde, libérant le rapporteur. Le rapporteur n'est alors plus quenché et devient fluorescent.



D. Fin de l'élongation, la sonde TaqMan[®] est totalement dégradée.

Figure 60 : Structure et principe de fonctionnement de la sonde TaqMan[®]

Protocole

Exposition des cellules : Les cellules BEAS-2B ont étéensemencées dans des microplaques de culture stériles (6 puits) dont la surface d'adhérence a été prétraitée (Cell Coated ; Corning, USA), contenant 1,5 mL de milieu de culture BEBM (Lonza ; USA) supplémenté, à raison de : 250×10^3 , 125×10^3 et $62,5 \times 10^3$ cellules/puits, respectivement pour les temps d'exposition de 24, 48 et 72 h. Vingt-quatre heures après ensemencement, les cellules ont été exposées aux différentes particules atmosphériques à des concentrations de 3 et $12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. À l'issue de chaque temps d'exposition (i.e. 24, 48 et 72 h), les surnageants de culture ont été retirés et chaque puits a été rincé avec 2 mL de PBS frais (phosphate-buffered saline ; 0,01 M - pH 7,2). Les microplaques ont été immédiatement congelées à -80°C pour l'étude de l'expression génique des enzymes impliquées dans la métabolisation des HAPs et des COVs ainsi que l'expression génique des médiateurs de l'inflammation que sont le TNF- α , l'IL-1 β , l'IL-6 et l'IL-8.

Prélèvements des cellules : Les microplaques ont été retirées de -80°C , puis sur la glace, on ajoute 250 μL de PBS frais dans chaque puits. À l'aide d'un grattoir stérile, les cellules ont été récupérées dans des tubes PCR et 5 μL de chaque puits ont servi à l'expression génique.

Conditions d'analyse : Nous avons quantifié les ARNm de sept XRE cibles (CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1, NQO1, AhR, ARNT, AhRR) dans des cellules exposées ou non. Pour ce faire, nous avons utilisé le kit TaqMan® Gene Expression Cells-to-C_T[™] (Life Technologies) en suivant les instructions du fournisseur.

L'extraction des ARN a été réalisée en ajoutant 50 μL de tampon de lyse contenant 1 % (v/v) de DNase I dans chaque tube contenant les 5 μL de cellules. Après 5 min d'incubation à température ambiante, la réaction a été arrêtée par l'ajout de 5 μL de solution stop suivie d'une incubation de 2 min à température ambiante. Les lysats cellulaires ont ensuite été placés sur la glace puis déposés dans une plaque 96 puits pour la RT.

La RT a été réalisée à partir de 5 μ L de lysat cellulaire ou d'eau *nuclease free* (contrôle négatif de RT) auxquels ont été ajoutés 20 μ L de mélange réactionnel contenant :

- ➔ 12,5 μ L de RT Buffer 2X
- ➔ 1,25 μ L de RT Enzyme Mix
- ➔ 6,25 μ L d'eau ultrapure.

La RT a été réalisée en utilisant le thermocycleur 7500 Fast Real-Time PCR System (Life Technologies) programmé comme suit :

- ➔ 60 min à 37 °C (rétro-transcription)
- ➔ 5 min à 95 °C (inactivation)
- ➔ maintien à 4 °C.

Les produits de RT ont ensuite été répartis sur différentes plaques pour procéder aux PCR. Les plaques n'étant pas utilisées immédiatement ont été stockées à - 20 °C.

La PCR a été réalisée à partir de 2 μ L d'ADNc (échantillons ou contrôle de RT) ou d'eau ultrapure (contrôle négatif de PCR) auxquels ont été ajoutés 18 μ L de mélange réactionnel contenant :

- ➔ 10 μ L de TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix 2X
- ➔ 1 μ L de TaqMan® Gene Expression Assay, spécifique de la cible :
 - ARN 18S : référence Hs99999901_s1 (contrôle endogène)
 - CYP1A1 : référence Hs00153120_m1
 - CYP1B1 : référence Hs00164383_m1
 - NQO1 : référence Hs00168547_m1
 - AhR : référence Hs00169233_m1
 - ARNT : référence Hs01121918_m1
 - AhRR : référence Hs01005075_m1
- ➔ 7 μ L d'eau ultra-pure.

La PCR a été réalisée sur le même appareil que la RT, configurée en mode « Fast », selon le protocole suivant :

- ➔ 20 s à 95°C (activation de la Taq polymérase)
- ➔ 40 cycles d'amplification :
 - 3 s à 95°C (dénaturation)
 - 30 s à 60°C (hybridation-élongation & collecte des données).

Analyse des résultats : Les résultats de l'amplification ont été visualisés en temps réel et exprimés sous la forme de ΔR_n (différence entre l'intensité de fluorescence émise par le rapporteur et le bruit de fond de fluorescence) en fonction du nombre de cycles d'amplification. Pour chaque gène, le cycle seuil (**Cycle threshold**, Ct), défini comme le nombre de cycles d'amplification permettant une augmentation significative de l'intensité de fluorescence au-delà de la ligne de base, a été déterminé grâce au logiciel Sequence Detection Software v.2.0.3.

Les calculs ont ensuite été réalisés selon la méthode des $2^{-\Delta\Delta C_t}$ décrite par Livak et Schmittgen ([Livak and Schmittgen, 2001](#)). La valeur du Ct correspondant à l'ARN 18S, utilisé comme contrôle endogène, a été retranchée au Ct du gène cible pour obtenir le ΔC_t pour chaque cible et chaque échantillon de cellules :

$$\Delta C_{t\text{échantillon}} = C_{t\text{cible}} - C_{t18S}$$

Utiliser cette valeur lors des calculs ultérieurs rend possible les comparaisons entre les résultats des différentes expositions. En effet, l'ARN 18S est exprimé de manière forte et ubiquitaire. Son ADNc peut donc être utilisé pour normaliser les résultats, afin de s'affranchir d'éventuelles variations de qualité des ARN et/ou d'efficacité de RT.

Le facteur d'expression relative (**RQ**) a été calculé pour chaque gène et pour chaque temps d'exposition par rapport aux cellules non-exposées selon la formule :

$$\mathbf{RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}, \text{ avec } \Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{exposition}} - \Delta Ct_{\text{cellules_non-exposées}}}$$

Les résultats sont exprimés à partir de cinq répliquas biologiques.

4.2 Exposition des cellules aux particules pour l'étude du stress oxydant et de l'inflammation

Protocole

Exposition des cellules : Les cellules BEAS-2B ont étéensemencées dans des flacons de culture stériles (150 cm²) dont la surface d'adhérence a été prétraitée (Cell Coated ; Corning, USA), contenant 30 mL de milieu de culture BEBM (Lonza ; USA) supplémenté, à raison de : 4x10⁶, 2x10⁶ et 1x10⁶ cellules/puits, respectivement pour les temps d'exposition de 24, 48 et 72 h. Vingt-quatre heures après ensemencement, les cellules ont été exposées aux différentes particules atmosphériques à des concentrations de 3 et 12 µg/cm².

Prélèvements de surnageant et des cellules : À l'issue de chaque temps d'exposition (i.e. 24, 48 et 72 h), des aliquotes de surnageant de culture ont été récupérés et immédiatement congelés à - 80 °C. Ces surnageants ont servi à la détermination des protéines totales et de la sécrétion protéique des médiateurs de l'inflammation que sont le TNF-α, l'IL-1β, l'IL-6 et l'IL-8.

Le reste de surnageant des flacons a été retiré puis les cellules ont été collectées et centrifugées à 200 g pendant 10 min. Les culots de cellules ont été remis en suspension et lavés deux fois avec 4 mL de PBS frais (0,01 M ; pH 7,2) puis aliquotés dans des tubes en tenant compte du nombre de cellules nécessaires pour les différents paramètres à étudier. Les tubes ont été centrifugés comme

décrit précédemment. Les surnageants sont retirés et les culots de cellules sont congelés immédiatement à - 80 °C.

4.3 Évaluation de la réponse oxydative des cellules

Les propriétés prooxydantes des particules anthropogéniques et la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) participent à l'apparition de dommages cellulaires et à l'induction de mécanismes physiopathologiques. Les ERO constituent des entités chimiques certes réactives, mais indispensables au métabolisme des êtres vivants. Cependant, en cas de déséquilibre de l'homéostasie redox cellulaire, la genèse d'un stress oxydant peut engendrer de graves conséquences délétères sur les diverses macromolécules cellulaires (protéines, lipides, ADN) produisant des molécules souvent toxiques que l'on retrouve dans les fluides biologiques et qui constituent des biomarqueurs du stress oxydant.

Pour cette étude, nous nous sommes limités au dosage du malondialdéhyde (MDA) et de la superoxyde dismutase (SOD) et du glutathion (GSSG/GSH).

4.3.1 Dosage du malondialdéhyde

Principe

Le stress oxydant induit par les particules atmosphériques peut résulter de différentes sources notamment la production directe des ERO à la surface des particules, des composés solubles tels que des métaux de transition ou encore des composés organiques, le complexe NADH oxydase, etc. Certains composés de la fraction inorganique des particules collectées, tels que le fer, sont à l'origine d'altérations oxydatives cellulaires dont la peroxydation des lipides cellulaires qui aboutit à la formation d'aldéhydes très réactifs et donc extrêmement toxiques tels que le malondialdéhyde. En milieu acide (pH 3,5), à chaud (95-100 °C), le MDA forme avec deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA), une base de Schiff extractible par des solvants organiques absorbants à 532 nm.

Protocole

Dans un culot cellulaire, on ajoute 200 μL de PBS (0,01 M ; pH 7,2) puis 100 μL de la suspension cellulaire ont été repris dans un tube en polypropylène et additionné à 1 mL d'acide d'HCl (0,1 M,). Après agitation, 3 mL d'acétate d'éthyle ont été ajoutés au mélange pour en extraire le MDA. Ce mélange est agité pendant 5 min puis les tubes sont centrifugés à 900 g à 4 °C pendant 10 min. Cette étape d'extraction est répétée deux fois. La phase organique ainsi obtenue est récupérée dans un tube en verre et évaporée sous flux d'azote jusqu'à l'obtention d'un extrait sec. Ce dernier est reconstitué dans 100 μL de méthanol puis ajouté au mélange réactionnel contenant de TBA à 0,6 % (m/v eau ultrapure) et d'acide orthophosphorique (H_3PO_4) au 1/100 placé dans un bain-marie à 100 °C pendant 30 minutes. Après refroidissement, 50 μL de la solution colorée sont analysés par HPLC (détecteur UV SPD-M20A, Shimadzu LC-20AD). La phase mobile est constituée d'un mélange de tampon phosphate (KH_2PO_4 , pH 6,8) et de méthanol (60 % et 40 % en volume). La pompe est réglée à un débit de 0,5 mL/min avec une température ambiante et une durée d'analyse de 3 min à une longueur d'onde de 532 nm. Les concentrations ont été collectées numériquement avec le logiciel LC Solution Version 1.23.

4.3.2 Dosage de la superoxyde dismutase

Principe

La SOD est une enzyme qui catalyse la dismutation du radical superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et dioxygène (O_2), évitant ainsi la formation de dérivés plus toxiques comme la peroxynitrite (ONOO) ou le radical hydroxyle (OH^{\cdot}). L'activité de la SOD constitue un élément essentiel dans le système cellulaire antioxydant pour protéger la matrice extracellulaire ainsi que les cellules des effets délétères de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) et ces dérivés. Elle constitue donc un biomarqueur de la production de l'ion superoxyde cellulaire liée à l'exposition de particules atmosphériques.

Le principe repose sur l'oxydation de la xanthine en acide urique et en peroxyde d'hydrogène par la Xanthine OxyDase (XOD). Les ions superoxyde (O_2^-), générés lors de cette oxydation subissent la dismutation par la SOD, ce qui entraîne la conversion du NitroBlue Tetrazolium (NBT) en composé NBTdiformazan qui absorbe à la longueur d'onde de 550 nm. La SOD réduit la concentration en ions superoxyde et, par conséquent, diminue la quantité de NBT-diformazan formée. L'activité de la SOD présente dans l'échantillon est dosée par mesure spectrophotométrie.

Protocole

L'extrait cytosolique a été réalisé à partir d'un culot cellulaire ($\sim 5 \times 10^6$ cellules) traité avec du Tris-HCl frais (100 mM, pH 7,5, EDTA 1 mM) sous ultrasons pendant 5 min. La suspension est centrifugée à 10 000 g pendant 15 min à 4 °C. Le surnageant est retiré et l'extrait cytosolique a été traité à l'aide du Kit « Superoxide Dismutase Assay Kit » (R&D Systems Europe, Ltd. Abingdon, Royaume-Uni) en suivant les instructions du fournisseur. La lecture de l'absorbance est faite à 550 nm et à chaque 30 secondes pendant 5 min avec un lecteur de plaques MRX (Dy nex technologies, France ; Logiciel : Revelation v3.2).

4.3.3 Évaluation du statut du glutathion

Le glutathion, tripeptide antioxydant indispensable à la défense cellulaire, existe sous deux formes : une forme oxydée (GSSG) et une forme réduite (GSH). Le calcul du ratio glutathion oxydé/glutathion réduit (GSSG/GSH) est une manière simple d'apprécier le niveau d'oxydation du couple GSSG/GSH. Alors, en complément des dosages des paramètres du stress oxydant, nous avons cherché à mettre en évidence les concentrations en glutathion oxydé et réduit dans les cellules BEAS-2B, après traitement, à l'aide de la méthode chromatographique (HPLC) décrite par [Kand'ár et al. \(2007\)](#).

Les aliquotes de cellules BEAS-2B qui ont été réalisés précédemment et maintenus à - 80 °C, ont été utilisés pour les analyses du ratio GSSG/GSH. Le traitement pré-analytique concernant le dosage des glutathions réduit et oxydé a été réalisé comme suit : Les protéines ont été précipitées par ajout de 280 µL d'acide chlorhydrique froid (HCl, 0,1N) à 120 µL de surnageant. Après sonication pendant 10 min et centrifugation (15 000 g, 10 min, 4°C), la totalité du surnageant est transféré dans un tube propre puis 100 µL sont injectés dans un système HPLC (Shimadzu LC-20AD, Kyoto, Japon) équipé d'un détecteur UV à barrettes de diodes (SPD-M20A) et d'un détecteur de fluorescence (RF-10AX2). Une pompe (P4000, Spectra Physics) est raccordée au système en sortie de colonne afin de délivrer l'acide orthophosphorique (OPA 0,15 %, m/v phase mobile), un agent de dérivation fluorogénique à 0,5 mL/min.

La séparation des formes oxydées et réduites du glutathion est réalisée à l'aide d'une colonne RP 80A (Synergy Hydro, 150 mm × 4,6 mm) munie d'une colonne de garde (Guard security) fournie par Phenomenex (Le pecq, France) maintenue à 27 °C en utilisant une phase mobile isocratique (KH₂PO₄ 10 mM, pH 2,6 avec 0,01 % EDTA) à 1 mL/min. Les composés sont détectés en fluorescence à la longueur d'onde d'excitation fixée à 350 nm et à la longueur d'onde d'émission fixée à 420 nm. Les temps de rétention sont de 4 min pour le GSH et 9 min pour le GSSG. Pour les standards et les surnageants de culture, 2 µL pour le GSH et 100 µL pour le GSSG ont été injectés dans le système. Les données ont été collectées numériquement avec le logiciel LC Solution Version 1.23.

4.4 Évaluation de la réponse inflammatoire des cellules

L'étude de la réponse inflammatoire est basée sur la quantification de l'expression génique et du dosage de la sécrétion protéique des cytokines TNF- α , IL-1 β , IL-6 et IL-8. Les médiateurs issus du métabolisme de l'acide arachidonique (LTB₄, LTC₄, LTE₄, PGE₂ et TXB₂) ont été également dosés.

4.4.1 Dosage des cytokines

Expression génique : Les profils de l'expression génique des cytokines TNF- α , IL-1 β , IL-6 et IL-8 ont été étudiés par la méthode de la RT-PCR en temps réel décrit dans le paragraphe « 4.1 Expression des gènes impliqués dans la métabolisation des composés organiques ». Le protocole expérimental utilisé est également identique à celui décrit dans ce paragraphe. TaqMan® Gene Expression Assay, spécifique de la cible :

- ARN 18S : référence Hs99999901_s1 (contrôle endogène)
- TNF- α : référence Hs99999043_m1
- IL-1 β : référence Hs00174097_m1
- IL-6 : référence Hs00174131_m1
- IL-8 : référence Hs00174103_m1

Sécrétion protéique : Les concentrations protéiques des médiateurs de l'inflammation ont été déterminées par la méthode immunoenzymatique ELISA (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). Le principe de cette méthode implique la reconnaissance de la cytokine d'intérêt par un premier anticorps spécifique qui est immobilisé sur une matrice. Dans un deuxième temps, un deuxième anticorps spécifique, couplé à une enzyme (un conjugué), est fixé sur la cytokine d'intérêt. Le système est ensuite révélé par l'addition d'un substrat qui se colore.

Le protocole expérimental pour le dosage des cytokines TNF- α , IL-1 β , IL-6 et IL-8 s'est basé sur des kits « Quantikine ELISA kits » (R&D Systems, France) et est décrit dans la figure 61. Les surnageants de cultures (- 80 °C) ont été décongelés pour le dosage protéique (des cytokines d'intérêts) décrit dans le paragraphe « 4.5 Dosage des protéines ».

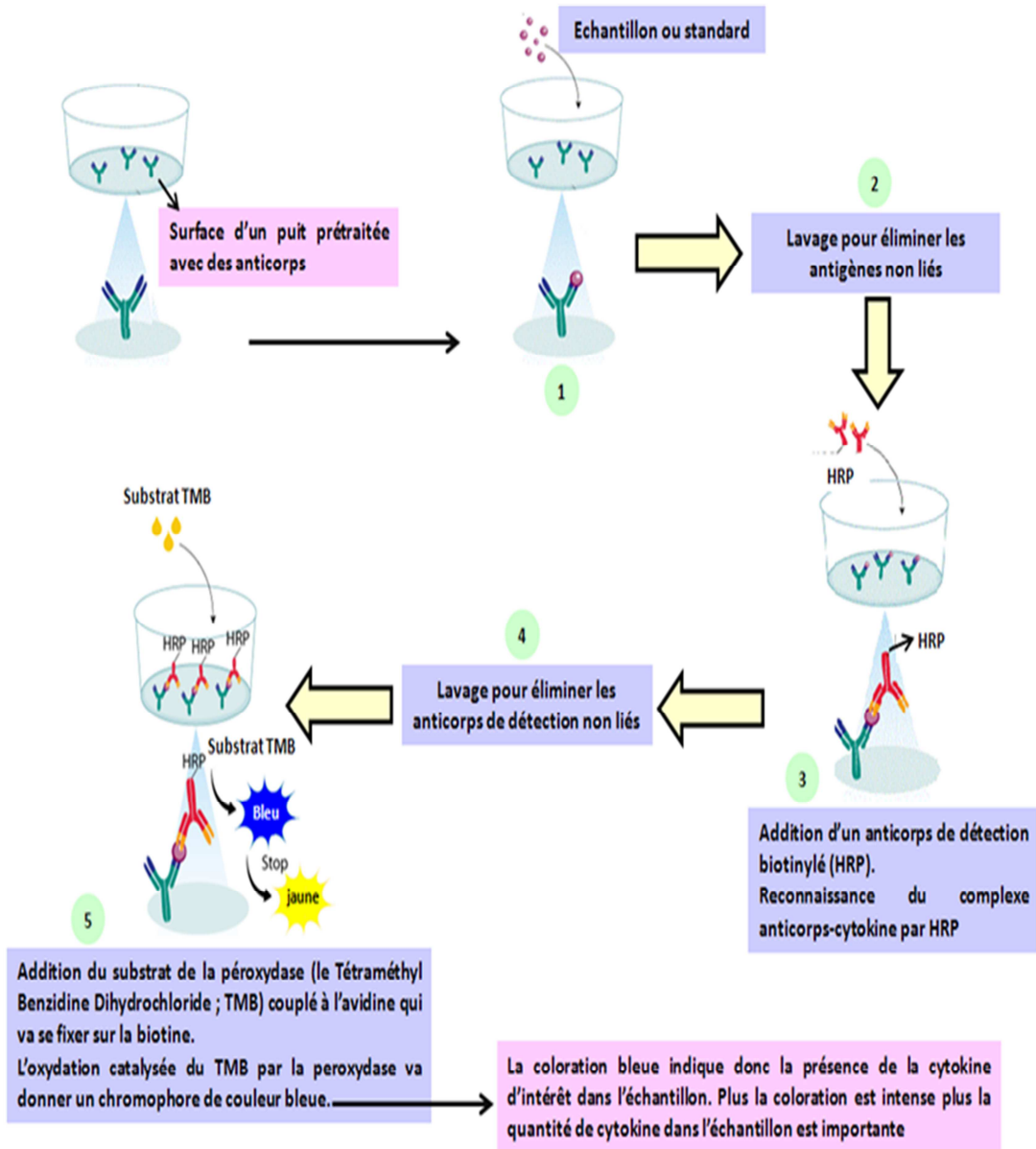


Figure 61 : Technique ELISA pour le dosage des médiateurs de l'inflammation

4.4.2 Dosage des médiateurs de l'acide arachidonique

Principe

L'analyse de traces de composés organiques présents dans les matrices aqueuses est principalement réalisée par chromatographie. Cependant la sensibilité des détecteurs associés à ces méthodes de séparation ne permet pas l'analyse directe des échantillons. Une étape de concentration avant analyse est nécessaire. Une méthode dite d'extraction sur phase solide (SPE : solid phase extraction), de plus en plus utilisée en raison de sa rapidité et de son efficacité, consiste à percoler l'échantillon aqueux sur un support solide (phase stationnaire) contenu dans une cartouche (de la forme d'un corps de seringue) pour piéger les analytes recherchés. Les lavages permettent d'éliminer les composés gênants.

Protocole

Les surnageants de culture ont été purifiés en utilisant la méthode d'extraction en phase solide (SPE) sous vide. Les colonnes adsorbant C18 PolyClean™ HCX sont fournies par Interchim (Montluçon, France) et sont en polypropylène (100 mg/1 mL) avec un diamètre de 60 µm de filtres en polyéthylène.

Les surnageants de culture ont été traités avec 5 µL de butylhydroxytoluène BHT 1 % (m/v dans du méthanol) afin d'éviter la peroxydation lipidique. Après une acidification des surnageants (250 µL de HCl frais 1 M), les protéines dénaturées sont centrifugées à 1900 g. Les surnageants ont été retirés et purifiés par des colonnes Polyclean (conditionnement : 100 % méthanol 5 mL/100 % d'eau ultrapure 5 mL, pH 3). Après le conditionnement des colonnes, 10,5 mL de surnageant sont filtrés et les colonnes sont ensuite rincées avec 10 mL de solvant de lavage (eau ultrapure pH 3,0/méthanol, 95/5, v/v) afin d'éliminer toutes les impuretés. Les colonnes sont séchées 2 min pour éliminer l'eau. Après le séchage, 5 µL de BHT 1 % ont été ajoutés puis les colonnes ont été rincées par 750 µL de solvant frais (acétate d'éthyle/méthanol, 95/5, v/v). Cette dernière étape a été

répétée quatre fois. Après évaporation à sec sous flux d'azote, les extraits organiques ont été reconstitués dans 250 µL de tampon fourni par le fabricant (EIA Kit, Cayman Chemical, Interchim, Montluçon, France) et directement stockés à -80 °C jusqu'au dosage des médiateurs de l'inflammation qui sont ici des dérivés de l'acide arachidonique (LTB₄, LTC₄, LTE₄, PGE₂, et TXB₂). Ces cinq médiateurs ont été déterminés à partir des extraits reconstitués en utilisant la méthode immunoenzymatique à l'aide des kits EIA (Enzyme Immuno Assay) (Cayman Chemical, Interchim, Montluçon, France).

4.5 Dosage des protéines

Principe

Ce test colorimétrique a été inventé par Paul Smith en 1985. Il est basé sur la réaction entre l'acide bicinchoninique avec les complexes de Cu²⁺ et de protéines dans un milieu alcalin en formant un complexe de couleur pourpre. L'absorbance de ce complexe à 562 nm est proportionnelle à la quantité de protéines. Elle est déterminée par rapport à une courbe d'étalonnage réalisée avec de l'albumine sérique bovine (BSA) (protéine de référence). Cette méthode est sensible (jusqu'à 2 µg/mL), rapide, et généralement compatible avec les détergents (SDS, etc.).

Protocole

La première étape du protocole décrit par Pierce (Rockford, USA) a consisté à préparer une gamme étalon (1000 à 50 µg/mL en duplicat) à partir d'une solution mère de BSA diluée dans le même tampon que les échantillons à doser. On a distribué 25 µL de BSA ou d'échantillons sur une plaque de 96 puits. Deux blancs (diluants seuls) sont ensuite réalisés. On a préparé le tampon réactionnel (19,5 mL de réactif A « BCA » avec 0,39 µL du réactif B « CuSO₄ »). On a ajouté 200 µL du tampon réactionnel aux puits et la plaque a été incubée pendant 30 min à 37 °C avec une légère agitation. Après refroidissement de la plaque à la température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 570 nm avec un lecteur de plaques MRX (Dynex technologies, France ; Logiciel : Revelation v3.2). La mesure de la densité

optique reportée sur la courbe étalon indique la concentration en protéines de l'échantillon.

5. Analyses statistiques

Les variables aléatoires quantitatives continues (DHm, LDH, BrdU, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, MDA, SOD, GSH, et GSSG) ont été décrites par leurs moyennes et leurs écarts-types. Les variables aléatoires de chaque groupe (contrôles négatifs, contrôles positifs et concentrations croissantes des aérosols particuliers prélevés) ont été comparées à celles du groupe non-exposé, via le test non paramétrique U de Mann-Whitney. Le niveau de significativité est $P < 0,05$ et la corrélation de Person dans cette étude est $r \geq 0,8$ pour un $R^2 = 0,64$. Le traitement des données a été réalisé avec le logiciel d'analyses statistiques SPSS pour Windows, Version 17.0.0, 2010 (SPSS France, Paris, France).

Chapitre 3

Principaux facteurs affectant la qualité de l'air à Cotonou : Essences utilisées par les conducteurs de taxi-motos

Synthèse de la publication 1

La pollution de l'environnement, et particulièrement la pollution atmosphérique et son possible impact sur la santé humaine, est considérée depuis des décennies comme un enjeu majeur dans les pays industrialisés, et commence désormais à constituer un centre d'intérêt dans les pays en développement. Jusqu'alors, très peu d'études en la matière ont été menées sur le continent Africain, et ce travail s'avère être une étude pionnière dans le domaine au Bénin.

Dans le souci d'examiner les facteurs qui peuvent influencer et/ou affecter la qualité de l'air à Cotonou, nous avons d'abord cherché à savoir si la qualité des carburants vendus dans la ville, en particulier l'essence majoritairement utilisée pour alimenter les véhicules à moteur, répondait aux normes en vigueur. De même, des composés suspectés dans l'essence ont été recherchés dans l'air ambiant à partir des badges GABIE afin de déterminer leur concentration.

1. Principaux composants des essences utilisées à Cotonou

L'analyse par GC-MS des essences a révélé que les 13 échantillons d'essence collectés à Cotonou puis au Nigéria en 2009 présentaient une composition similaire concernant les pourcentages massiques des différents composés aussi bien dans les stations officielles qu'au niveau des stations ambulantes. L'ETBE (Éther éthyle tertiobutyle), un additif des carburants oxygénés couramment utilisé dans la production d'essence et qui augmente l'indice d'octane), est pratiquement inexistant dans les échantillons de Cotonou et de Nigéria. Cependant, l'ETBE est retrouvé, mais en très faible proportion dans un échantillon de station officielle (0,75 % - Pegaz, Cotonou) et dans deux stations ambulantes (0,29 % - Védoko et 0,65 % - Étoile rouge). L'échantillon SP 98 de la France, analysé à titre de comparaison, renfermait quant à lui 13,68 % d'ETBE.

Les pourcentages massiques de benzène dans les essences étaient également très proches. Il a été enregistré un pourcentage de 3,44 % de benzène au niveau des stations officielles de Cotonou, 3,21 % dans les trois stations officielles du Nigéria et 2,84 % au niveau des stations ambulantes. L'essence SP 98 issue de la France présentait une quantité bien plus faible de benzène avec un pourcentage proche de 0,7 % seulement.

La composition moyenne en composés aromatiques des essences était de 43,92 % et 51,68 % respectivement dans les stations officielles de Cotonou et de Nigéria et 41,12 % dans les stations ambulantes alors que la composition aromatique de l'essence SP 98 était 44,70 %.

En outre, les proportions de paraffine totale des stations officielles du Bénin variaient de 5,71 à 6,25 % et 3,32 à 8,54 % pour les stations ambulantes alors qu'elles étaient de 2,34 à 6,15 % dans les trois stations officielles de Nigeria. L'essence sans plomb française avait révélé un pourcentage de paraffines de 5,41 %.

2. Traceurs de source de pollution

Le ratio toluène/benzène (T/B), fréquemment utilisé pour le traçage de sources de pollution était en moyenne de 2,76 dans les stations officielles de Cotonou, 2,83 au Nigéria et 3,76 au niveau des stations ambulantes alors que ce ratio était de 10,25 dans l'essence SP 98. Les résultats montrent également que le pourcentage de toluène varie de 5,59 à 11,38 % pour les essences officielles de Cotonou. Au niveau des stations ambulantes, nous avons enregistré des valeurs de toluène allant de 7,51 à 12,02 % alors qu'elles étaient de 6,44 à 10,83 % dans l'essence à la frontière bénino-nigériane. En France, le pourcentage de toluène dans l'essence SP 98 était d'environ 7 %.

Le ratio T/B dans l'air obtenu à partir de l'exposition d'une semaine des conducteurs de taxi-motos à l'aide des badges GABIE, varie de 0,03 à 0,72. Ce ratio

s'explique par des concentrations relativement élevées de benzène dans l'air qui étaient en moyenne de 35,07 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ et des concentrations faibles de toluène dont la moyenne était de 3,09 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

**3. Publication : Analysis of gasoline used by motorbike-taxi drivers in Cotonou
Environment and Pollution, 2013**

Analysis of Gasoline Used by Motorbike-Taxi Drivers in Cotonou

Boris Cachon^{1,2,3}, Lucie Ayi-Fanou³, Fabrice Cazier^{1,4}, Paul Genevray⁴, Kifouli Adéoti³, Dorothee Dewaele^{1,4}, Agnes Debende^{1,4}, Faustin Aissi¹ & Ambaliou Sanni³

¹ Université Lille Nord de France, Lille, France

² Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV) EA 4492, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 2, Université du Littoral-Côte d'Opale, 189A Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

³ Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 04 BP 0320 Cotonou, Bénin

⁴ Centre Commun de Mesures, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 1, Université du Littoral-Côte d'Opale, 145 Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

Correspondence: Ambaliou Sanni, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 04 BP 0320 Cotonou. Tel: 229-21-30-1024. E-mail: ambaliou.sanni@gmail.com

Received: December 24, 2012 Accepted: February 4, 2013 Online Published: March 12, 2013

doi:10.5539/ep.v2n2p39

URL: <http://dx.doi.org/10.5539/ep.v2n2p39>

Abstract

In 2009, samples from itinerant stations were taken in Cotonou. Official reference gasoline stations (French and boundary African country) were also studied. The analysis was done by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC-MS). The results showed appreciate difference between itinerant and official gasoline samples: ETBE (Ethyl Tert-Butyl Ether) was found in the composition of the French reference but not in the African gasolines composition. Benzene was detected at yields less than 1 % in the French reference gasoline whereas in the gasoline made in the African countries benzene yields were between 2.36 and 4.39 %. The ratio of toluene/benzene varied between 1.27 and 10.25 in studied gasoline and was much lower in ambient air. For major components (aromatics and paraffin compounds), we observed another heterogeneity for itinerant gasoline (probably due to numerous hands making and transport).

Keywords: ETBE, toluene/benzene ratio, gasoline, motorbike-taxi drivers, Cotonou

1. Introduction

All the way from Cotonou, to approximately 3 km of the international airport Bernardin GANTIN, it is easy to note an exposition to gasoline carboys along the roadside and to observe above the different crossroads, a thick layer of smoke which wraps the population. These gasoline carboys contain unleaded gas coming from Nigeria (Avogbe et al., 2011) and frequently crossing the countryside all the way to Cotonou without taking any precaution.

Nearly 90% of Cotonou's population gets its supplies of gasoline from these exposed carboys. This preference is due to the low income and the low costs of this gasoline coming from Nigeria, supported by the currencies exchanges on the unofficial market (currently 300 FCFA in 2009 against 490 FCFA in the official stations). This phenomenon is of big concern because it contributes to the deterioration of the environment and a worrying atmospheric pollution.

In such situation, a pilot study has been conducted to examine the quality of the ambient air (Avogbe et al., 2005; Ayi-Fanou et al., 2006). Our results showed that the ambient air in Cotonou contained many air pollutants including volatile organic compounds (VOCs) like benzene and its derivatives, ultrafine particles (UFPs) associated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at high concentrations. The

benzene reaches an average concentration of $76 \mu\text{g}/\text{m}^3$, a value higher than the admissible concentration of $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ recommended by the WHO; PAHs and UFPs reach $103 \text{ ng}/\text{m}^3$ and $166816 \text{ particles}/\text{m}^3$ respectively, against $1.55 \text{ ng}/\text{m}^3$ and $5276.5 \text{ particles}/\text{m}^3$ in a pilot site located at 80 km to Cotonou (Sohon village).

Moreover, aren't any petrochemical industries in Benin that use benzene, a product classified as a carcinogenic compound (International Agency for Research on Cancer [IARC], 1974).

At the moment, Benin has adopted the unleaded gas, and new investigations have been led to know the potential origin of the pollutants which have been encountered in the air. The main purpose was to know if the gasoline sold in Benin (carboys along the road and official stations) respected the international standard specification with a benzene concentration of 1% in the gasoline (Kolmetz & Gentry, 2007) similar to that sold in the developed countries such as France. Indeed, the unleaded gasoline is mainly a mixture of hydrocarbons and oxygenated compounds such as Ethyl Tert-Butyl Ether (ETBE) (Linnekoski, Krause, & Rihko, 1997; Reich, Cartes, Wisniak, & Segura, 1999; Vinuesa, Mirabel, & Ponche, 2003) which increase the octane number of the gasoline (Dagaust, 2007) and reduce the concentrations of aromatic compounds in the mixture (Nadim, Zack, Hoag, & Liu, 2001). This additive can be added to a total value of 15% in the gasoline in France. The ethanol seems to decrease the steam pressure of the gasoline, reducing the losses by evaporation (da Silva, Cataluna, de Menezes, Samios, & Piatnicki, 2005). In contrast, the addition of ethanol in gasoline reduces by 10 % the emission of carbon monoxide (Pouloupoulos, Samaras, & Philippopoulos, 2001). Furthermore, an American study carried out within the framework of American Car/Oil Program showed that the addition of ETBE in the gasoline leads to a reduction in the carbon monoxide emissions (Kivi, Niemi, Nylund, Kuto, & Orre, 1992; Reuter et al., 1992; Noorman, 1993) and hydrocarbons (Guibet, 1998; de Menezes, Cataluña, Samios, & da Silva, 2006).

Thus, samples of gasoline were taken in Cotonou from the official stations and carboys along the roadside. The main objective was to determine their composition in benzene and its derivatives and in ETBE and to compare their concentrations to those in French unleaded gasoline label "Sans Plomb 98" and motorbike-taxi drivers (MBTD) exposition followed for few years (Avogbe et al., 2011).

2. Method

2.1 Sampling Campaign

In August 2009, gasoline samples were taken in Cotonou (Figure 1) and Nigeria. Samples were convoyed for analysis in Dunkirk, France. The samples were selected as follow: one French gasoline from Total France sampled in Dunkirk and thirteen African gasolines originated from Nigeria and Benin. The latter were sampled in official stations (Oryx, Texaco, Total, Sonacop, and Pegaz) and carboys along the roadside (at Vedoko, Opke-oluwa, St Michel, Zongo and red Star site "Place Etoile rouge"). Samples were collected in 2 mL sealed vials (3 replicates) only one was analysed and referred in the following way: gasoline from France: SP 98, gasoline from Benin: samples 1 to 10 and gasoline from Nigeria: samples 11 to 13. All the samples were stored in the freezer at $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ before analysis.

2.2 Analytical Conditions

Volatile and semi-volatile hydrocarbons analysis were based on the analytical methods described by Caplain et al. (2006). $1 \mu\text{l}$ of each sample was injected (split ratio of 20:1) in a gas chromatograph (VARIAN 3800) coupled to a mass spectrometer (VARIAN 1200 TQ). The capillary column is a Factor four VF-5 ms ($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$) and helium used as carrier gas. The total time for this analysis was 60 mins ; $40 \text{ }^\circ\text{C}$ for 5 mins, $5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ up to $300 \text{ }^\circ\text{C}$ and $310 \text{ }^\circ\text{C}$ for 3 mins. The parameter of mass detector was impact electronic ion current = 70eV and temperature of source $280 \text{ }^\circ\text{C}$. The samples were analyzed between 40 and 350 mass unit. Benzene and ETBE were identified based on their characteristic ions: $m/z = 78$ for benzene and $m/z = 57$ and 89 for ETBE. The total composition of the gasoline was given by using the mode TIC (Total Ion Current).

2.3 Identification of Compounds

Compounds were identified by comparing retention times of chromatographic peaks from gasoline samples with those from standard mixtures and by comparing mass spectra with those contained in NIST and/or WILEY libraries. The percentage of each compound was determined using TIC surface areas.

2.4 Study of the Exposure of Motorbike-Taxi Drivers to Benzene and Toluene

Benzene and toluene ambient concentrations of personal exposure were determined by using GABIE (Gas Adsorbent Badge for Individual Exposure) diffusive samplers (ARELCO, ARC20001UP, France) consisting of an active carbon cartridge. A random selection of MBTD was performed to obtain individual-level measurements of benzene and toluene. Selected MBTD wore GABIE badges while driving all over the city for about sixty-three hours for one-week (that is, 9 h/day). Benzene, toluene, ETBE, paraffin and aromatic compounds were analysed by GC-MS using the method described by Sørensen, Skov, Atrup, Hertel, and Loft (2003). The ratio of toluene/benzene was used to evaluate the variability and origin of fuel (Guo, Lee, Louie, & Ho, 2004).



Figure 1. Geographical location of the sampling site in Cotonou

3. Results and discussion

Alkyl-lead compounds are replaced by oxygenated compounds which have become increasingly important components in automotive gasoline, thus improving octane rating (Nadim et al., 2001) and reducing the emission of carbon monoxide (de Menezes et al., 2006). One of the most widely used oxygenated compounds in gasoline is ETBE (van Wezel, Puijker, Vink, Versteegh, & de Voogt, 2009). We will show in this section the main results of gasoline compositions (Benzene, toluene, ETBE, paraffin and aromatics) present in gasoline using by motorbike-taxi drivers of Cotonou. The Table 1. shows the compositions of gasoline (benzene, ETBE) determined by GC-MS analysis.

Table 1. Benzene and ETBE amounts (percent) in the samples of examined gasoline

	Sample	Benzene	Median	Mean \pm SD	ETBE
SP 98	SuperPlus	0.69			13.68
Official stations Benin	2	4.15	3.58	3.44 \pm 0.91	n.d.*
	3	2.92			n.d.*
	6	3.58			n.d.*
	8	2.18			n.d.*
	10	4.39			0.75
Official stations Nigeria	11	2.36	3.16	3.21 \pm 0.87	n.d.*
	12	4.10			n.d.*
	13	3.16			n.d.*
Itinerant stations	1	1.98	2.84	2.81 \pm 0.64	0.29
	4	2.84			n.d.*
	5	3.19			n.d.*
	7	3.63			n.d.*
	9	2.42			0.65

* n.d. : not detected

For these studied gasoline, we can see that the compositions of all thirteen samples are relatively similar for gasoline originating from both official stations and itinerant stations (African stations). ETBE are not detected in all samples except Pegaz of official stations, Vedoko and Etoile of itinerant stations who have respectively 0.75, 0.29 and 0.65 % of ETBE whereas it was 13.68 % in SP 98 of France. According to french regulations, ETBE concentration in gasoline can reach 15% (Norme NF EN 228, 2008). Westphal, Krahl, Brüning, Hallier, and Bünger (2010) and Kim, O'Shea & Cooper (2012) had similar results. There was no difference concerning the percentage of benzene in all examined gasolines. Official and itinerant stations showed a remarkably higher percentage of benzene. The highest percentage (4.39 %) was observed in official stations whereas in SP 98 it was less 1 % either three to six times as high as french unleaded gasoline. The benzene concentration level in the gasoline is 1 % in international standard specification (Kolmetz & Gentry, 2007). Some studies showed that the gasolines respect this regulation (France, Simon et al., 2004; Italy, Adami et al., 2006 ; Brazil, Bonfim, Alves, & Filho, 2012). Table 2 lists some average ETBE, aromatic compounds, paraffin and ratio of toluene/benzene for various countries.

Table 2. Summary of average ETBE, aromatic compounds, paraffin and ratio of toluene/benzene in gasoline for different countries

Cities/Countries	ETBE	Aromatics	Paraffin	Ratio T/B	Benzene	Reference
Germany	10%	-	-	-	-	Westphal et al., 2010
USA	15.7%	-	-	-	-	Kim et al., 2012
Italy	-	29.02-41.77%	36.68-44.75%	6.59-15.54	0.39-1.06%	Adami et al., 2006
Brazil	-	-	-	-	0.30-0.60%	Bonfim et al., 2012
Brazil (Sao Paulo)	-	-	-	1.68	16.7 μ g/m ³	Gee et al., 1998
Chile (Santiago)	-	-	-	2.01	14.8 μ g/m ³	Gee et al., 1998
Chine (Hong Kong)	-	-	-	7.07	10.05 μ g/m ³	Lee et al., 2002
Spain	-	64%	-	-	-	Montells et al., 2000
Scotland	-	30.5%	-	-	-	Sentenac et al., 2012
Brazil	-	26.90-38.50%	10.10-13.70%	-	-	de Menezes et al., 2006
USA (Atlanta)	-	-	-	5.14	0.55%	NESCAUM, 1995
USA	-	-	-	3.56	11.50 mg/mL	Kaplan et al., 1997
Brazil	-	-	-	3.33	30 g/L	Montells et al., 2000

(-) not available

ETBE is also used in gasoline formulation to decrease the concentration of aromatics (Pumphrey, Brand, & Scheller, 2000; Nadim et al., 2001).

Table 3. shows trends of paraffin and aromatic hydrocarbons found in all three types of gasolines.

Table 3. Values (percent) of paraffin and aromatic hydrocarbons in the three types of gasoline

	Paraffin	Median	Mean \pm SD	Aromatic	Median	Mean \pm SD
SP 98	5.41			44.70		
Official stations	5.07	5.57	5.57 \pm 0.46	39.91	44.26	43.92 \pm 3.87
Benin	6.25			40.14		
	5.57			48.51		
	5.23			46.80		
	5.71			44.26		
Official stations	6.15	2.37	3.62 \pm 2.19	51.51	51.56	51.68 \pm 0.26
Nigeria	2.34			51.56		
	2.37			51.98		
Itinerant stations	8.54	6.88	5.91 \pm 2.26	39.40	41.39	41.12 \pm 2.18
	6.88			41.39		
	7.04			41.49		
	3.75			38.91		
	3.32			44.42		

In this study, total concentration of aromatics was equivalent in studied gasoline (Mean: 41.12 to 51.68 %). These concentrations were lower than the aromatics level in unleaded gasoline in Spain (Montells, Aceves, & Grimalt, 2000) and higher than the level in Scotland (Sentenac, Ayeni, & Lynch, 2012), Brazil (de Menezes et al., 2006) and Italy (Adami et al., 2006) (Table 2). This high level of aromatics in examined gasolines could be probably due to the weak rate of ETBE. Furthermore the total paraffin values of official stations of Benin ranged from 5.71 to 6.25 % against 3.32 to 8.54 % for itinerant stations and 2.34 to 6.15 % for official stations of the border between Benin and Nigeria. French unleaded gasoline showed 5.41 percent of paraffin. These concentrations of paraffin were lower than those reported in Brazil (de Menezes et al., 2006) and Italy (Adami et al., 2006). The means and medians obtained show a better homogeneity resulting from the three types of gasoline as well as for total paraffin and total aromatic hydrocarbons. Some authors used concentration ratios of toluene/benzene in order to evaluate different types of fuel and rate of diesel or gasoline vehicles driven in different urban sectors (Guo et al., 2004).

Table 4. present toluene/benzene ratio in examined gasolines.

Table 4. Ratio of toluene and benzene in the three types of gasoline

	Benzene (%)	Toluene (%)	Toluene/benzene	Mean \pm SD
SP 98	0.69	7.03	10.25	
Official stations	4.39	5.59	1.27	2.76 \pm 1.38
Benin	4.15	6.30	1.52	
	2.92	11.38	3.89	
	3.58	9.79	2.74	
	2.18	9.56	4.38	
Official stations	2.36	6.44	2.73	2.83 \pm 0.26
Nigeria	4.10	10.83	2.64	
	3.16	9.88	3.13	
Itinerant stations	1.98	11.45	5.77	3.76 \pm 1.30
	2.84	12.02	4.24	
	3.19	10.42	3.27	
	3.63	8.84	2.43	
	2.42	7.51	3.10	

The mean toluene/benzene (T/B) ratio of unleaded gasolines of official stations in Benin, Nigeria and itinerant stations were respectively 2.76, 2.83 and 3.76 (Table 4). These results showed a similarity between these different stations. The toluene/benzene ratio in gasoline is in the order of 9 (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques [INERIS], 2010). This ratio was 10.25 in unleaded gasoline SP98 of France. On the other hand the value of this ratio was low in Atlanta city (5.14 while considering percent of toluene and benzene, Northeast States for Coordinated Air Use Management [NESCAUM], 1995), USA (3.56 while considering average (mg/mL) of toluene and benzene, Kaplan, Galperin, Lu, & Lee, 1997) and Brazil (3.33 while considering concentration (g/L) of toluene and benzene, Montelles et al., 2000). This ratio varied from 6.59 to 15.54 in examined gasoline in Italy considering the percentage of toluene and benzene (Adami et al., 2006). The values obtained in this study vary from 2.76 to 3.76. The differences observed between values obtained in African and developed countries may be due to differences in the composition of gasoline and/or concentration of compounds. The results showed a low ratio of toluene/benzene in sampled gasolines which indicates a high concentration of benzene in gasolines.

The main source of benzene and toluene is vehicle exhaust gases and Lee, Chiu, Ho, Zou, and Wang (2002) described that the ratio of toluene/benzene increases with traffic. Meuwese-Mulder (2006) showed clearly that at remote urban sites ratios of toluene to benzene are often below 1, the well-known standard values ranging from 3 to 5 corresponding to a city's background. This result is also confirmed by the paper of Gelencsér, Siszler & Hlavay (1997), where the ratio of toluene/benzene was used as a tool for characterizing the distance from vehicles emission sources (1 to 1.5). For Xu, Pereira, Miller, Grgicak-Mannion, and Wheeler (2010), benzene is predominantly emitted from traffic whereas toluene is generated from both traffic and solvents. The ratio between toluene and benzene (T/B) can act as an indicator of traffic emissions when this ratio is within the range of 1.5 to 4.3 as repeated by previous studies (Hoque, Khillare, Agarwal, Shridhar, & Balachandran, 2008; Liu et al., 2009). For ratios > 4.3

solvent source compounds likely. For fresh plumes ratio of toluene/benzene was 2 to 2.4 and aged to < 1 (Bahreini et al., 2012). In this study, the results of personal exposure monitoring are presented in Table 5.

Table 5. Summary of personal exposure monitoring for one-week

Compounds	motorbike-taxi drivers					Mean \pm SD
	1	2	3	4	5	
Benzene ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	14.05	4.65	24.57	44.79	87.27	35.07
Toluene ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	0.82	3.34	5.51	2.90	2.86	3.09
Ratio T/B	0.06	0.72	0.22	0.06	0.03	0.22

The benzene concentration of MBTD over one-week average exposure was more ten times as high as toluene concentration. Therefore the ratio of T/B was between 0.03 and 0.72. These results indicated much lower ratio of T/B within MBTD. This ratio in air is in the order of 5 (INERIS, 2010). In Toulouse City, Simon et al. (2004) have found ratio of T/B equal to 5.54, 2.90 to 3.40, 2.20, 3.80 to 4.40, 8.60, and up to 10 were observed in Paris (Vardoulakis, Gonzalez-Flesca & Fisher, 2002), Copenhagen (Hansen & Palmgren, 1996), Mortsel (Belgium; Buczynska et al., 2009), Ren-Wu (Taiwan; Hsieh, Yang, & Chen, 2006), Hong Kong (Lee et al., 2002), respectively. Buczynska et al. (2009) suggested the same common source (traffic exhausts) of toluene and benzene as an explanation for such low values of T/B ratio. In this work, this ratio was much smaller because of high benzene concentration level (Mean: 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$). Benzene concentration in Cotonou ambient air was seven times as high as the European limit value (5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$). It suggests the existence of other sources than traffic exhausts which could result using itinerant gasoline along the roadside and different crossroads. This could be the proof of an excessive manipulation of gasoline (successive transfer and/or evaporations).

In conclusion, Benin unleaded gasolines doesn't contain ETBE which increase the octane number of the gasoline (Dagaust, 2007) what promote a reduction of concentrations of aromatics (Nadim et al., 2001), carbon monoxide emissions (Noorman, 1993) and hydrocarbons (de Menezes et al., 2006). Moreover, benzene is found in high level in the gasoline. The same conclusions have been found in the gasoline of the border Benin-Nigeria. It confirms that Benin gets a stock in gasoline to Nigeria neighboring country. These results demonstrate that the ambient air in Cotonou contains high levels of benzene, carcinogenic compound by IARC (1974) which come as well as traffic exhaust that gasoline.

References

- Adami, G., Larese, F., Venier, M., Barbieri, P., Lo Coco, F., & Reisenhofer, E. (2006). Penetration of benzene, toluene and xylenes contained in gasolines through human abdominal skin in vitro. *Toxicology in Vitro*, 20 (8), 1321-1330. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2006.05.008>
- Avogbe, P. H., Ayi-Fanou, L., Autrup, H., Loft, S., Fayomi, B., Sanni, A., ... Møller, P. (2005). Ultrafine particulate matter and high-level benzene urban air pollution in relation to oxidative DNA damage. *Carcinogenesis*, 26, 613-620. <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgh353>
- Avogbe, P. H., Ayi-Fanou, L., Cachon, B., Chabi, N., Debende, A., Dewaele, D., ... Sanni, A. (2011). Hematological changes among Beninese motor-bike taxi drivers exposed to benzene by urban air pollution. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 5(6), 464-472.
- Ayi Fanou, L., Mobio, T. A., Creppy, E. E., Fayomi, B., Fustoni, S., Møller, P., ... Autrup, H. (2006). Survey of air pollution in Cotonou, Benin - air monitoring and biomarkers. *Science Total Environment*, 358 (1-3), 85-96. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.03.025>
- Bahreini, R., Middlebrook, A. M., Gouw, J. A. de, Warneke, C., Trainer, M., Brock, C. A., ... Parrish, D. D. (2012). Gasoline emissions dominate over diesel in formation of secondary organic aerosol mass. *Geophysical Research Letters*, 39, L06805. <http://dx.doi.org/10.1029/2011GL050718>

- Bonfim, R. R., Alves, I. R. M., & Filho, N. R. A. (2012). Fast-HRGC method for quantitative determination of benzene in gasoline. *Fuel*, 99, 165-169. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2012.04.027>
- Buczynska, A. J., Krata, A., Stranger, M., Godoi, A. F. L., Kontozova-Deutsch, V., Bencs, ... Grieken, R.V. (2009). Atmospheric BTEX-concentrations in an area with intensive street traffic. *Atmospheric Environment*, 43(2), 311-318. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.09.071>
- Caplain, I., Cazier, F., Nouali, H., Mercier, A., Déchaux, J. C., Nollet, V., ... Vidon, R. (2006). Emissions of unregulated pollutants from European gasoline and diesel passenger cars. *Atmospheric Environment*, 40, 5954-5966. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.12.049>
- Da Silva, R., Cataluna, R., de Menezes, E. W., Samios, D. & Piatnicki, C. M. S. (2005). Effect of additives on the antiknock properties and Reid vapor pressure of gasoline. *Gasoline*, 84, 951-959. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2005.01.008>
- Dagaust, P. (2007). Influence of MTBE and ETBE on the emission of exhaust gases. *Third European combustion meeting ECM*. Retrieved from http://www.combustion.org.uk/ECM_2007/ecm2007_papers/2-12.pdf
- De Menezes, E. W., Cataluña, R., Samios, D., & da Silva, R. (2006). Addition of an azeotropic ETBE/ethanol mixture in eurosuper-type gasolines. *Fuel*, 85(17-18), 2567-2577. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2006.04.014>
- Gelencsér, A., Siszler, K., & Hlavay, J. (1997). Toluene-Benzene Concentration Ratio as a Tool for Characterizing the Distance from Vehicular Emission Sources. *Environmental Science & Technology*, 31, 2869-2872. <http://dx.doi.org/10.1021/es970004c>
- Guibet, J. C. (1998). Carburants liquides. *Techniques de l'ingénieur, Génie énergétique* 3, n° BE8545 (s. d.): BE8545.1 -BE8545.31.
- Guo, H., Lee, S. C., Louie, P. K. K., & Ho, K. F. (2004). Characterization of hydrocarbons, halocarbons and carbonyls in the atmosphere of Hong Kong. *Chemosphere*, 57, 1363-1372. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.07.055>
- Hansen, A. B., & Palmgren, F. (1996). VOC air pollutants in Copenhagen. *The Science of the Total Environment*, 189-190, 451-457. [http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697\(96\)05245-X](http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697(96)05245-X)
- Hoque, R. R., Khillare, P. S., Agarwal, T., Shridhar, V., & Balachandran, S. (2008). Spatial and temporal variation of BTEX in the urban atmosphere of Delhi, India. *Science of the Total Environment*, 392, 30-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.08.036>
- Hsieh, L. T., Yang, H. H., & Chen, H.W. (2006). Ambient BTEX and MTBE in the neighborhoods of different industrial parks in Southern Taiwan. *Journal of Hazardous Materials*, 128(2-3), 106-115. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.08.001>
- Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques. (2010). Impact local des stations-service sur les concentrations de benzène dans l'environnement (air intérieur et extérieur)–Etude exploratoire sur deux sites parisiens. Retrieved from <http://www.ineris.fr/.../drc-09-104235-03943a-final-def-en-ligne.pdf>
- International Agency for Research on Cancer. (1974). Benzene. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. *International Agency for Research on Cancer* (vol. 7, pp. 203-221). Lyon, France.
- Kaplan, I. R., Galperin, Y., Lu, S. T., & Lee, R. P. (1997). Forensic Environmental Geochemistry: differentiation of fuel-types, their sources and release time. *Organic Geochemistry*, 27(5-6), 289-299, 301-317. [http://dx.doi.org/10.1016/S0146-6380\(97\)87941-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0146-6380(97)87941-7)
- Kim, D. K., O'Shea, K. E., & Cooper, W. J. (2012). Oxidative degradation of alternative gasoline oxygenates in aqueous solution by ultrasonic irradiation: Mechanistic study. *Science of the Total Environment*, 430, 246-259. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.09.016>
- Kivi, J., Niemi, A., Nylund, N. O., Kuto, M., & Orre, K. (1992). Use of MTBE and ETBE as gasoline reformulation components. *SAE Technical Paper*, 922379, 1-17. <http://dx.doi.org/10.4271/922379>

- Kolmetz, K., & Gentry, J. C. (2007). Guidelines for BTX Revamps, *AIChE Spring Conference*.
- Lee, S. C., Chiu, M. Y., Ho, K. F., Zou, S. C., & Wang, X. M. (2002). Volatile organic compounds (VOCs) in urban atmosphere of Hong Kong. *Chemosphere*, 48, 375-382. [http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00040-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00040-1)
- Linnekoski, J. A., Krause, A. O., & Rihko, L. K. (1997). Kinetics of heterogeneously catalysed formation of tert-amyl ethyl ether. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 36, 310-316. <http://dx.doi.org/10.1021/ie960251+>
- Liu, J., Mu, Y., Zhang, Y., Zhang, Z., Wang, X., Liu, Y., & Sun, Z. (2009). Atmospheric levels of BTEX compounds during the 2008 Olympic Games in the urban area of Beijing. *Science of the Total Environment*, 408, 109-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.09.026>
- Meuwese-Mulder, T. (2006). The ratio of benzene and toluene in measurements of a background urban site at different weather conditions. Groningen, NL, Synspec. Retrieved from http://www.synspec.nl/pdf/Ratio_of_B-T.pdf
- Montells, R., Aceves, M., & Grimalt, J. O. (2000). Sampling and analysis of volatile organic compounds emitted from leaded and unleaded gasoline powered motor vehicles. *Environmental Monitoring and Assessment*, 62, 1-14. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1006201100174>
- Nadim, F., Zack, P., Hoag, G. E., & Liu, S. (2001). United States experience with gasoline additives. *Energy Policy*, 29, 1-5. [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-4215\(00\)00099-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-4215(00)00099-9)
- Noorman, M. T. (1993). The effect of MTBE, DIPE and TAME on vehicle emissions. *SAE Technical Paper*, 932668. <http://dx.doi.org/10.4271/932668>
- Norme NF EN 228 (2008, November). *Carburants pour automobiles-Essence sans plomb-Exigences et methodes d'essai*.
- Northeast States for Coordinated Air Use Management. (1995). Preview of the 1994 ozone precursor concentrations in the northeastern U.S. 5/1/94 draft report prepared by the Ambient Monitoring and Assessment Committee of the Northeast States for Coordinated Air Use Management, Boston, MA.
- Pouloupoulos, S. G., Samaras, D. P., & Philippopoulos, C. J. (2001). Regulated and unregulated from an internal combustion engine operating on ethanolcontaining gasolines. *Atmospheric Environment*, 35, 4399-4406. [http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310\(01\)00248-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310(01)00248-5)
- Pumphrey, J. A., Brand, J. I., & Scheller, W. A. (2000). Vapour pressure measurements and predictions for alcohols-gasoline blends. *Fuel*, 79, 1405-1411. [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-2361\(99\)00284-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-2361(99)00284-7)
- Reich, R., Cartes, M., Wisniak, J., & Segura, H. (1999). Phase equilibria in the ternary system hexane+ethyl 1,1-dimethylethyl ether+heptane. *Fluid Phase Equilibria* 154, 99-108. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-3812\(98\)00420-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-3812(98)00420-8)
- Reuter, R. M., Benson, J. D., Burns, V., Gorse, R., Hochhausser, A. M., Koelh, W., ... Rutherford, J. (1992). Effects of oxygenated gasolines and RVP on automotive emission. Auto-oil improvement program. *SAE Technical Paper*, 920326. <http://dx.doi.org/10.4271/920326>
- Sentenac, P., Ayeni, S., & Lynch, R. J. (2012). Effects of gasoline and diesel additives on kaolinite. *Environment Earth Science*, 66, 783-792. <http://dx.doi.org/10.1007/s12665-011-1287-2>
- Simon, V., Baer, M., Torres, L., Olivier, S., Meybeck, M., & Massa, J. P. D. (2004). The impact of reduction in the benzene limit value in gasoline on airborne benzene, toluene and xylenes levels. *Science of The Total Environment*, 334-335, 177-183. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.04.065>
- Sørensen, M., Skov, H., Autrup, H., Hertel, O., & Loft, S. (2003). Urban benzene exposure and oxidative DNA damage : influence of genetic polymorphisms in metabolism genes. *Science Total Environment*, 309, 69-80. [http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697\(03\)00054-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697(03)00054-8)
- Van Wezel, A., Puijker, L., Vink, C., Versteegh, A., & de Voogt, P. (2009). Odour and flavour thresholds of gasoline additives (MTBE, ETBE and TAME) and their occurrence in Dutch drinking water

- collection areas. *Chemosphere*, 76(5), 672-676.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.073>
- Vardoulakis, S., Gonzalez-Flesca, N., & Fisher, B. E. A. (2002). Assessment of traffic-related air pollution in two street canyons in Paris: Implications for exposure studies. *Atmospheric Environment*, 36, 1025-1039. [http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310\(01\)00288-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310(01)00288-6)
- Vinuesa, J. F., Mirabel, P., & Ponche, J. L. (2003). Air quality effects of using reformulated and oxygenated gasoline blends: application to the Strasbourg area (F). *Atmospheric Environment*, 37, 1757-1774. [http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310\(03\)00067-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310(03)00067-0)
- Westphal, G. A., Krahl, J., Brüning, T., Hallier, E., & Bünger, J. (2010). Ether oxygenate additives in gasoline reduce toxicity of exhausts. *Toxicology*, 268, 198-203.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2009.12.016>
- Xu, X., Pereira, M., Miller, L. J., Grgicak-Mannion, A., & Wheeler, A. (2010). Methods used to detect additional sources using Toluene/Benzene in Windsor, Ontario (2004-2006). *American Geophysical Union Fall Meeting Abstracts #A33E-0217*.

Chapitre 4

*Particules atmosphériques $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$:
Caractérisation physicochimique*

Synthèse de la publication 2

Après avoir démontré que l'essence utilisée à Cotonou, issue d'un commerce illicite en provenance du Nigeria, était de piètre qualité et pouvait donc être source d'une dégradation de la qualité de l'air dans la ville de Cotonou, il a été retenu de se pencher sur la question des caractéristiques physicochimiques des particules en suspension dans l'air. Après avoir étudié plusieurs quartiers de Cotonou en y suivant les concentrations d'éléments traces métalliques (Cr, Cu, Mn, Pb, etc.), nous avons sélectionné le quartier St Michel pour y mener une campagne d'échantillonnage des particules. En effet, de par sa position au cœur même de la ville, le quartier St Michel est un des quartiers les plus fréquentés par la population et par conséquent il est sans cesse traversé par les véhicules à moteur.

Dans le but de savoir si les particules ($PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$) peuvent représenter un risque pour la population qui y serait exposée, ce chapitre se propose de présenter les principaux résultats liés au prélèvement et à la caractérisation physicochimique des particules collectées à Cotonou.

1. Caractérisation physique des particules

Afin de déterminer le potentiel risque sanitaire encouru par la population en relation avec l'exposition aux particules en suspension, il était primordial de connaître la concentration des particules dans l'air ambiant. Ainsi, le tableau 13 ci-après résume l'ensemble des données issues de l'échantillonnage des particules $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$, ainsi que leur concentration dans l'air à Cotonou. Nous avons inséré les informations liées aux concentrations des particules collectées à Akassato, qui correspond à un site rural de référence, au niveau duquel un échantillonnage de particules a également été entrepris dans ce travail. Cependant, nous ne développerons par la suite que la caractérisation des particules échantillonnées à Cotonou (St Michel) car cette dernière n'a pu être effectuée sur

les échantillons d'Akassato, faute de quantité suffisante de matières particulaires rurales.

Tableau 13 : Ensemble des données de prélèvements et concentrations des particules

Site de prélèvement	PM	Masse collectée (mg)	Durée de Prélèvement (h)	Nb de jour	Durée (h)/J	Débit	Volume pompé (m ³)	Conc PM Air (µg/m ³)
Urbain (St Michel)	PM _{2.5}	2 329,78	214,67	20	10,73	80 m ³ /h	17 173,6	180,88
	PM _{>2.5}	1 217,5						94,52
Rural (Akassato)	PM _{2.5}	150,9	201,9	18	11,22	80 m ³ /h	16 152	12,46
	PM _{>2.5}	140,4						11,59

Rappelons que notre dispositif d'impaction en cascade présente un diamètre de coupure de 0,33 µm sur la dernière plaque. Ce qui signifie que les particules les plus fines (<0,33 µm) ne sont pas retenues par ce système. La distribution granulométrique des particules, déterminée par granulométrie laser, présente un profil granulométrique semblable pour les deux types de particules avec une fréquence cumulée de 97,5 % de PM_{2.5}. Les fréquences relatives indiquent une proportion également identique au niveau des deux PM (55,2 % pour les particules comprises entre 0,5 et 1 µm). Les particules de diamètre aérodynamique compris entre 0,33 et 0,5 µm étaient retrouvées à 24,0 % et 22,5 % respectivement pour les PM_{2.5} et les PM_{>2.5}. De même, la réactivité et la capacité des particules à adsorber des composés chimiques et biogéniques, à travers la détermination de la surface spécifique par porosimétrie à azote ont révélé des valeurs d'aires spécifiques relativement élevées et assez proches dans les deux échantillons de particules. Ces valeurs étaient de 11 m²/g pour les PM_{2.5} et de 13 m²/g pour les PM_{>2.5}.

2. Caractérisation chimique des particules

L'analyse par ICP-MS des éléments inorganiques dans les échantillons de particules a permis de déterminer les teneurs globales en éléments majoritaires et

éléments traces métalliques (ETM) présents dans les particules. Il apparaît dans les $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$ une différence de niveaux de concentration des éléments majeurs et ETM, qui se traduit par une concentration totale en éléments analysés deux fois plus élevée dans les particules fines que les particules grossières : $10,78 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour les $PM_{2.5}$ et de $5,68 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour les $PM_{>2.5}$. Le fer et l'aluminium étaient les éléments les plus abondants dans nos deux échantillons de particules. En suivant un ordre de concentration décroissant, les éléments relativement concentrés sont Na, Mg, Zn, Ti, Mn, Cu et Pb, en mentionnant l'origine anthropique prépondérante pour Zn, Mn, Cu et Pb. En observant la composition qualitative de ces éléments, on s'aperçoit que les $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$ présentaient pratiquement la même distribution en ETM.

L'analyse des espèces ioniques par chromatographie ionique a révélé une abondance d'espèces ioniques plus importante dans les particules fines que dans celles de la fraction grossière. Les ions majoritaires étaient : Ca^{2+} ($2,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ou 39,2 % pour les $PM_{2.5}$ contre $1,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ou 37,7 % pour les particules $> 2,5 \mu\text{m}$), SO_4^{2-} ($1,4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ou 21,5 % contre $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ou 16,6 %) et NO_3^- ($0,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ou 13,0 % contre $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ou 5,8 %). Les ions Na^+ et Cl^- , essentiellement associés à une influence marine, étaient quant à eux retrouvés à une même concentration. Les concentrations totales d'espèces ioniques dans les $PM_{2.5}$ étaient de $6,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ contre $3,0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dans les $PM_{>2.5}$.

L'analyse élémentaire CHONS a révélé une forte proportion de carbone organique, deux fois plus élevée dans les $PM_{2.5}$ que pour les $PM_{>2.5}$ avec un pourcentage de 21,21 % pour les particules fines et 12,81 % pour les plus grossières. L'azote, l'hydrogène, et le soufre étaient relativement en faible proportion avec une prédominance pour l'hydrogène dans les deux échantillons de particules. En outre, le ratio du pourcentage de chaque élément sur le carbone total révèle une répartition similaire des éléments par rapport à la quantité totale de carbone dans les deux types de PM.

Les concentrations de COVs retrouvés dans les échantillons étaient 7 fois plus élevées dans les particules fines que les plus grossières avec une répartition proche en benzène (B) et en éthylbenzène (EB) (B : 5,2 % et 4,2 % respectivement pour PM_{2.5} et PM_{>2.5} ; EB : 9,3 % et 8,3 % respectivement pour PM_{2.5} et PM_{>2.5}). Les ratios d'identification de sources de pollution étaient respectivement 3,9 ; 0,3 et 4,2 pour T/B (toluène/benzène), B/T (benzène/toluène) et X/E (xylène/éthylbenzène) pour les PM_{2.5} et 1,4 ; 0,7 et 0,7 pour les PM_{>2.5}.

Les HAPs et les paraffines étaient de manière générale en plus forte concentration dans les PM_{2.5}. Toutefois, des paraffines lourdes (C29 à C36) ont été retrouvées majoritairement dans les PM_{>2.5}.

Concernant les acides gras, les acides palmitique (C16) et stéarique (C18) étaient les plus abondants dans nos deux échantillons. Les concentrations totales en acides gras étaient élevées et atteignaient 330,76 µg/m³ pour les PM_{2.5} et 196,31 µg/m³ pour les PM_{>2.5}.

Différents ratios de concentrations de composés organiques habituellement utilisés dans la littérature pour la détermination des sources d'émission des différents polluants étudiés ont été utilisés et sont présentés dans la publication ci-après. Cet examen permet de mettre en évidence le mélange de contributions naturelles et anthropiques qui se répercutent sur la composition des particules.

3. Publication 2 : Physicochemical characterization of air pollution particulate matter ($PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$) in urban area of Cotonou, Benin

Soumis

Physicochemical characterization of air pollution particulate matter ($PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$) in an urban area of Cotonou, Benin

Boris Fresnel Cachon^{1,2,3}, Lucie Ayi-Fanou³, Fabrice Cazier^{1,4}, Dorothee Dewaele^{1,4}, Paul Genevray^{1,4}, Agnes Debende^{1,4}, Anthony Verdin², Dominique Courcot^{1,2}, Faustin Aissi¹, Pirouz Shirali^{1,2} & Ambaliou Sanni³

¹ Université Lille Nord de France, Lille, France

² Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV) EA 4492, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 2, Université du Littoral Côte d'Opale, 189A Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

³ Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 04 BP 0320 Cotonou, Bénin

⁴ Centre Commun de Mesures, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 1, Université du Littoral Côte d'Opale, 145 Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

Corresponding author: Dr. Fabrice CAZIER, Pr. Dominique COURCOT

Centre Commun de Mesures, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 1, Université du Littoral Côte d'Opale, 145 Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

Tel: +33 3 28658240

E-mail address: cazier@univ-littoral.fr, dominique.courcot@univ-littoral.fr

Abstract

$PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$ samples were collected in Cotonou (Benin) using high volume cascade impaction air samplers. The samplings were based on continuous collection during twenty days (from November 16, 2010 until December 08, 2010). Physical and chemical characteristics of samples were determined by size distribution (laser granulometry), specific surface areas (BET method), inorganic elements (ICP-MS), ionic species (IC), CHNS analysis and organic compounds (GC-MS). Average concentrations of air particulate matter were $180.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ and $94.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in $PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$, respectively. The most abundant ionic species concentrations recorded were Ca^{2+} , SO_4^{2-} , NO_3^- , Na^+ and Cl^- for both PM. Moreover, concentrations were almost two fold higher in $PM_{2.5}$ than in $PM_{>2.5}$ with total metals of $10.78 \mu\text{g}/\text{m}^3$ found in $PM_{2.5}$ versus $5.68 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in $PM_{>2.5}$. Both PM samples under study presented similar repartition of elements as considering their percentage. Results suggested that particle $PM_{>2.5}$ sample contain within it agglomerate fine particles. Identification tools of major pollution source as inorganic elements, paraffins, fatty acids ratios and PAHs ratios indicated that PM under study were originated from traffic exhaust.

Keywords: Air pollution, Particulate matter, metals, PAHs ratio, Cotonou

1. Introduction

Air pollution particulate matter (PM) is a complex mixture of metals, salts, organic chemicals and biological materials (Baulig et al., 2009; Osornio-Vargas et al., 2011; Perrone et al., 2010). Several studies used chemical and physical characterization of PM (source, size, mass, surface area, organic composition, metals, etc.) to assess adverse health effects linked to particles (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Yoshida et al., 2010). In the atmosphere, particles could be generated by different ways (Fig. 1). Airborne particulate matters, especially particles with aerodynamic diameter below than $2.5 \mu\text{m}$ (fine particles $PM_{2.5}$) had large surface area and are able to adsorb various compounds such as heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), and many other organic compounds. Their low diameter allow them to reach the alveoli and cause lung cancer and cardiopulmonary mortality (Cazier et al., 2011; Delfino et al., 2011; Raaschou-Nielsen et al., 2011), and has been reported that exposure to these particles is probably more toxic than coarse particles (Senlin et al., 2008).

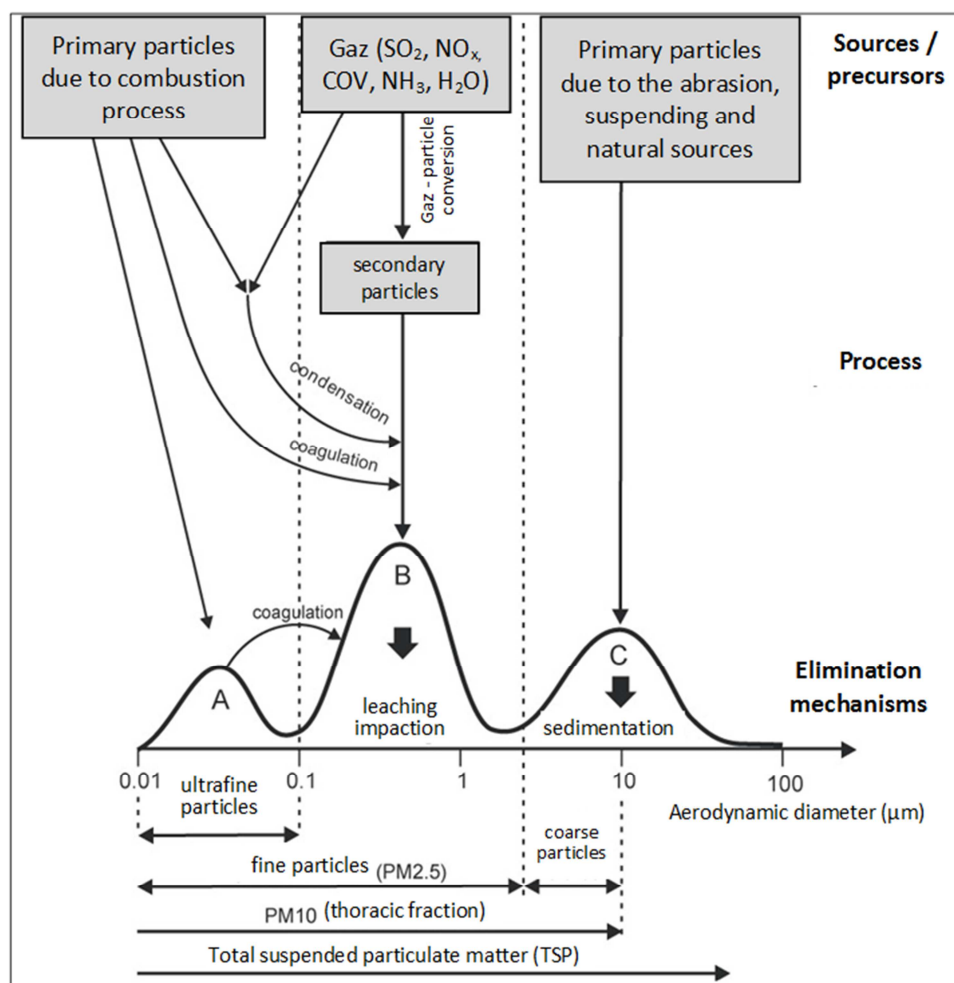


Fig. 1. Simplified size distribution of atmospheric aerosol particles and important process. A = ultrafine particles, B = accumulation mode, C = Coarse particles. Away from sources, mode B predominates. Source: DETEC (2011)

Many studies have shown the influence of particle characteristics on biological responses that may cause many diseases (Dergham et al., 2012; Oh et al., 2011; Peacock et al., 2011). Therefore, Pacenti et al. (2009) published that the main PM source is the vehicle exhaust emission and that the traffic has a significant impact on both quantitative and qualitative aspects of ambient PM. However, in developing countries, there is only few data concerning physicochemical characterization and adverse health effects assessment (Diouf et al., 2006; Kouassi et al., 2010). In Sub-Saharan Africa countries, it appears important to have a better knowledge on the air pollution. Over the past decade, air quality of Cotonou, the economic capital of Benin, has worsened in the city due to the widespread use of motorbikes and old second-hand cars (Avogbe et al., 2011; Cachon et al., 2013). The city had more than 94,000 motorbikes and more than 350,000 old second-hand cars (Avogbe et al., 2011; Kèlomé et al., 2006). In such a situation, to examine the quality of ambient air, a pilot study has reported the presence of many air pollutants including volatile organic compounds (VOCs) like the benzene and its derivatives, fine and ultrafine particles (UFPs) associated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at high concentrations (Avogbe et al., 2005; Ayi Fanou et al., 2006).

In this study, samples of ambient particulate matter $PM_{2.5}$ and fraction of particles with aerodynamic diameter above $2.5 \mu m$ ($PM_{>2.5}$) were collected in Cotonou where the traffic is remarkably dense. The main objective was to determine physical and chemical characteristics of particles in order to choose specific physicochemical parameters for possible selection of urban activities tracers to assess adverse health effects.

2. Materials and Methods

2.1. Site description and PM sampling

Two PM ($PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$) samples were collected in Cotonou, Benin (Fig. 2) and samplings were based on continuous collection from November 16, 2010 until December 08, 2010. Samples were exactly from St Michel ($6^{\circ}22'2.3''N/2^{\circ}25'46.4''E$), the district which record a dense traffic and where the roofs of the houses are covered of soot. The sampling site (under urban-related emission sources) has SSW/SW as prevailing wind direction. Other meteorological conditions were $31.4^{\circ}C$ of average temperature, 72 % of relative humidity and 3.0 m/s as wind speed average. Both particles were collected during twenty days, using high volume cascade impaction air samplers (Staplex, New-York, USA), as collection method described by Billet et al. (2007). Briefly, the impactor's plates were mounted without any filter and backup filter to maintain a constant aspiration flow rate (i.e., $80 m^3/h$). The impactor system consists in 6 impaction plates collecting particles from $7.2 \mu m$ to $0.33 \mu m$. Two identical impacting systems have been used alternatively, protected of the possible rains and were changed every three days. Samples were pooling after each collection. Sampling pumps were placed to approximately 50 meters of the crossroad and about 1.5 m above the ground. ASECNA (Agence pour la Sécurité de la Navigation Aérienne en Afrique et à Madagascar) of the international airport Bernardin GANTIN supplied meteorological data (wind direction and speed, temperature and relative humidity). After PM sampling, impacting plates were dried under a laminar flow bench. Then, PM were removed from plates and divided into two size fractions : particles ranging from $2.5 \mu m$ to $0.33 \mu m$ named $PM_{2.5}$ and particles ranging from $7.2 \mu m$ to $2.5 \mu m$ named $PM_{>2.5}$. The two types of particles were kept in cleaned vials and immediately stored at $4^{\circ}C$.



Fig. 2. Map of urban sampling site in Cotonou, Benin.

2.2. Experimental analysis

2.2.1. PM physical characterization

PM size distribution

At the beginning, each sample was prepared with 20 mg of particle in 50 mL of distilled water and well mixed. Samples suspensions were ultrasonically dispersed before measurement. PM size distribution was studied by using laser granulometry. The laser granulometer (Beckman Coulter LS 13 320 MW with Universal Liquid Module) measures particle size distribution over the range from 0.017 to 2000 μm of samples suspensions, based on polarization intensity differential scattering (PIDS). All measurements beam obscuration was kept within the limits of 8 % to 12 %. Cumulative frequency and relative frequency size distribution were used for analysis of results.

Specific surface area

About 50 mg of each PM were placed in a small Pyrex U-shaped cell and analysed by using a Quantasorb[®] Surface Area Analyzer (Quantachrome Corporation, New York, U.S.A.) which is based on Brunauer Emmett Teller (BET) theory. Particle samples were outgassed at 200 °C for 1 h. Nitrogen was used as a calibration gas and helium as an inert carrier gas with a rate of 30 % versus 70 % nitrogen. Current was 140 A and pressures of helium and nitrogen were 3 and 2 bars, respectively. Thereafter, volumes of pure nitrogen gas were adsorbed to their surface at -196 °C. The amount of nitrogen adsorbed at various partial pressures was used to calculate the sample's surface area and pore structure.

2.2.2. Inorganic elements and ionic composition

Both PM were mineralised (about 20 mg) using HNO_3 and HClO_4 (ratio 1:2) by microwave digestion (MARS 5 XPRESS, CEM Corporation). Experimental conditions were 1600 W of power, 180 °C as temperature, pressure of 24.16 bars and 20 min of run time. Thereafter, the solutions were filtered

by Whatman cellulose filters, diluted up to 25 mL with ultrapure water and analyzed by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS, Varian 820 MS). Calibration solutions were prepared in 1 % HNO₃ matrix using a commercial 10 ppm multi-element standard (SCP33MS, SCP Science-Quebec, Canada).

About 20 mg of particles collected were leached in 10 mL ultrapure water by ultrasonic agitation for 30 min. Extract solutions were filtered on cellulose acetate filter 0.45 µm. This step was repeated six times on the same aliquot to recover 95 % of soluble ions and then 25 µL were injected. Soluble anions were determined by chemically suppressed ion chromatography (carbonate 1mM/bicarbonate 3.5 mM eluents and AG14A/AS14A columns, 1.2 mL/min) using a Dionex DX 100 ion chromatograph. Soluble cations were determined by chemically suppressed ion chromatography (methane sulfonic acid 20 mM eluents and CG12A/CS12A columns, 1 mL/min) using a Dionex ICS 900 ion chromatograph. Chromatographic data were analyzed by Chromeleon[®] software.

2.2.3. Element composition

Element concentrations (carbon, nitrogen, hydrogen, sulphur) were detected by using CHNS/O Elemental Analysers (FlashEA 1112 equipped to 2 injectors MAS200R, Thermo Fisher Scientific). Carbon is converted by oxidation to carbon dioxide; hydrogen to water; nitrogen to nitrogen gas/oxides of nitrogen and sulphur to sulphur dioxide. CO₂, H₂O, N₂ and SO₂ obtained after oxidation and reduction of gases (Baneschi et al., 2013; Eksperiandova et al., 2011) were separated by a GC packed column (PTFE, 2 m, 6 x 5 mm), kept at 70 °C and detected by a thermo conductivity detector. A quartz reactor was used to determine elements and kept at 950 °C with 140 mL/min of He flow as carrier gas. For oxidation of the samples, pressure of 250 kPa (He) and 220 kPa (O₂) were required. Cycle run time, sampling delay and oxygen injection end were 600, 25, 17 sec, respectively. PM samples were introduced in tin capsules and packed carefully. Sulphanilamide (Thermo Fisher Scientific) was used as standard of calibration. After first analysis, each sample was incinerated at 450 °C in order to remove organic carbon and then analyzed again for determine mineral carbon. The amounts of gases in column output were proportional to the carbon, hydrogen, nitrogen and sulphur containing in the samples.

2.2.4. Organic and polycyclic aromatic compounds

The used volatile compounds (VOCs) analytical method was based on these described by Caplain et al. (2006). At the beginning, samples have been trapped in a glass tubes prior and desorbed by thermal desorption at 220 °C using GC/MS (Combi Injector/Desorber module - EM640 Brüker). Desorption time was 3 min to desorb VOCs and compounds from C₁₀ to C₁₅ without reach the semi-volatile compounds extracted with solvent later.

After thermal desorption, the two particles samples were extracted by soxhlet extraction with 100 mL of dichloromethane for 16 h to determine polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and paraffins. The extracts were concentrated under nitrogen flux. 1 µl of each sample was injected in a gas chromatograph (VARIAN 3800) coupled to a mass spectrometer (VARIAN 1200 TQ). The capillary column is a Factor four VF-5 ms (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) and used helium as carrier gas. The total time for this analysis was 60 min ; 40 °C for 5 min, 5 °C/min up to 310 °C and 310 °C for 3 min. The parameter of mass detector was impact electronic ion current = 70eV and temperature of source 280 °C. The samples were analyzed between 40 and 350 mass unit. Compounds were identified by comparing retention times of chromatographic peaks from samples with those from standard mixtures and by comparing mass spectra with those contained in NIST and/or WILEY libraries.

3. Results and discussion

Air pollution is a serious environmental health risk factor for humans (Bachmann, 2007; Pope et al., 2009). Epidemiological studies have shown that particle exposure causes many diseases in both developed and developing countries (Cao et al., 2012; Kelly and Fussell, 2012; Zhu et al., 2013). However, the underlying mechanisms of action generating adverse health effects are still unclear. Other toxicological studies reported the relationship between physicochemical characterization, particle concentration and toxic effects of particulate matter (Billet et al., 2007; Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Kouassi et al., 2010). In Sub-Saharan Africa countries, there is little available data in this topic (Diouf et al., 2006; Kouassi et al., 2010). It appears now necessary to have a better knowledge on the African air pollution.

3.1. PM physical characteristics

During this study, St Michel district (sampling site) recorded SSW as dominant wind direction. Total masses of the two types of collected PM were 2.3 g and 1.2 g for PM_{2.5} and PM_{>2.5}, respectively. During the collection period, average concentrations of air particulate matter were 180.9 µg/m³ for PM_{2.5} and 94.5 µg/m³ for PM_{>2.5}. Fig. 3 showed size distribution by cumulative frequency (%) and relative frequency (%). Total PM number with geometric diameter ≤ 2.5 µm was identical (97.5 %) in both PM. The highest particle number detected in size classes was also identical (55.2 %) for 0.5-1.0 µm. For 0.33-0.5 µm class, we found 24.0 % and 22.5 % for PM_{2.5} and PM_{>2.5}, respectively.

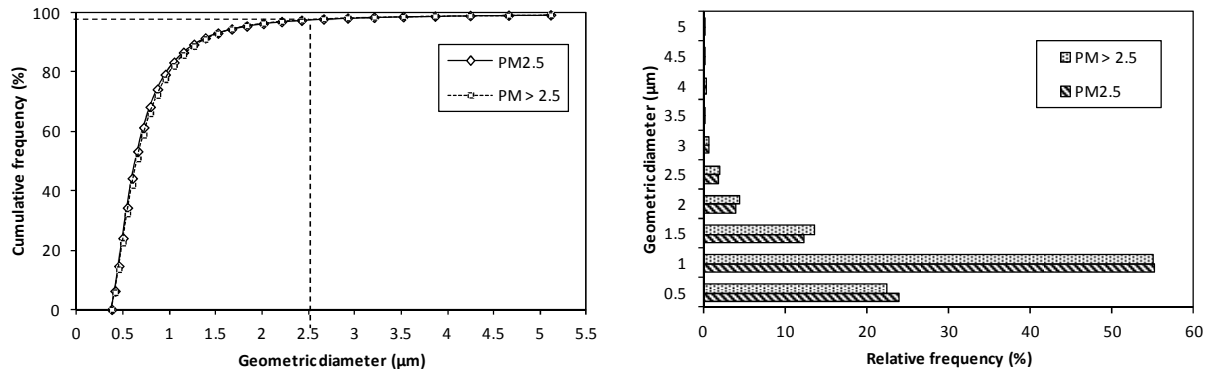


Fig. 3. Size distribution by cumulative frequency (%) and relative frequency (%) of PM_{2.5} and PM_{>2.5} collected in an urban site, Cotonou.

Recent studies conducted in West Africa have also shown a significant level of PM_{2.5} fraction in ambient air of urban city. However, concentrations found in this work were markedly higher than those recorded in Abidjan (88.3 % of fine particle number, Kouassi et al., 2010) and Dakar (94.7 % of fine particle number, Dieme et al., 2012). Nevertheless, other countries have found PM concentrations markedly lower than those recorded in this work (Table 1).

In a nutshell, concentrations recorded in African countries, particularly for the case of Benin, were very high and exceeded PM regulations of the guidelines adopted by the World Health Organization (2006). These regulations promulgated 25 µg/m³ (24 h average concentration) and 10 µg/m³ (annual average) for PM_{2.5}. For PM₁₀, concentrations are 20 and 50 µg/m³ for annual and 24 h average concentration, respectively.

On the other hand, the studied PM had high specific surface areas ranging from 10.7 m²/g to 12.7 m²/g for PM_{2.5} and PM_{>2.5}, respectively. Similar values were found by Dieme et al. (2012) and Kouassi et al. (2010) in urban city (12.7 m²/g and 9.0 m²/g in Dakar and Abidjan, respectively). In reference materials, values of specific surface areas were 35.7 m²/g for fine particles CRM#8 and 2.0 m²/g for coarse particles SRM1649a (Okuda, 2013). The high value of specific surface area recorded in this study was likely to be associated mostly with the motors. Similar results in PM_{2.5} and PM_{>2.5} suggest that PM_{>2.5} contain aggregates and/or agglomerates fine particles within it. This result confirms an identical granulometry profile of both particles. These two characteristics are known to greatly influence the PM capacity to adsorb chemical compounds.

Table 1

Concentrations of fine and coarse particles and ionic elements (sulphate, nitrate) in worldwide.

Continent	City/Country	Concentration ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)		Sulphate				Nitrate				References
				$PM_{2.5}$		PM_{10}		$PM_{2.5}$		PM_{10}		
		$PM_{2.5}$	PM_{10}	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	%	
Africa	Present study Cotonou (Benin)	180.9	94.5	1.4	21.5	0.5	16.6	0.8	13.0	0.2	5.8	
	Abidjan (Côte d'Ivoire)	105.1	-	1.1	21.6	-	-	1.6	31.7 ^a	-	-	Kouassi et al. (2010)
	Dakar (Senegal)	75.1	-	1.9	17.3	-	-	1.6	14.3 ^a	-	-	Dieme et al. (2012)
	Conakry (Guinea)	38 - 177	80 - 358	1.5	31.1 ^a	2.2	21.3 ^a	0.9	20.2 ^a	3.4	32.9 ^a	Weinstein et al. (2010)
	Accra (Ghana)	21 - 39	49 - 96	-	-	-	-	-	-	-	-	Dionisio et al. (2010)
	Nairobi (Kenya)	10.7 - 98.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Kinney et al. (2011)
	Asia	Yokohama (Japan)	20.6	9.6	3.8	48.3 ^a	0.2	7.6 ^a	1.0	12.2 ^a	1.0	34.7 ^a
China		43	50	-	-	-	-	-	-	-	-	Pillai et al. (2002)
Europe	Dunkerque (France)	9.9	-	0.5	18.2 ^a	-	-	0.8	32.5 ^a	-	-	Dergham et al. (2012)
	Barcelona (Spain)	20.0	26.3	-	24	-	2.1	-	6.8	-	11	Sillanpää et al. (2006)
	Duisburg (Germany)	14.7	7.2	-	19	-	3.4	-	13	-	12	
	Athens (Greece)	25.3	28.7	-	31	-	1.3	-	1.1	-	5.5	
	Amsterdam (Netherland)	25.4	8.4	-	14	-	5.3	-	18	-	14	
	Prague (Czech Republic)	29.6	5.4	-	20	-	6.8	-	7.5	-	6.5	
	Helsinki (Finland)	8.4	12.8	-	26	-	0.8	-	4.7	-	3.7	
America	Harlem - New York (America)	42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Kinney et al. (2000)

(-) = not available

^apercentage is calculated considering raw data

3.2. Inorganic elements and ionic composition

Ionic species concentrations were presented in Fig. 4. Ionic concentrations of PM_{2.5} were higher than those of PM_{>2.5}. The most abundant compounds were Ca²⁺ (2.5 µg/m³ / 39.2 % for PM_{2.5} versus 1.1 µg/m³ / 37.7 % for PM_{>2.5}), SO₄²⁻ (1.4 µg/m³ / 21.5 % versus 0.5 µg/m³ / 16.6 %) and NO₃⁻ (0.8 µg/m³ / 13.0 % versus 0.2 µg/m³ / 5.8 %). Na⁺ and Cl⁻ have same concentration (0.6 µg/m³ for PM_{2.5} versus 0.5 µg/m³ for PM_{>2.5}). Na⁺ and Cl⁻ presented also similar percentages (9.8 %, 9.7 % for PM_{2.5}, respectively versus 15.8 %, 17.9 % for PM_{>2.5}). Total ionic species concentrations of PM_{2.5} were 6.3 µg/m³ versus 3.0 µg/m³ for PM_{>2.5}.

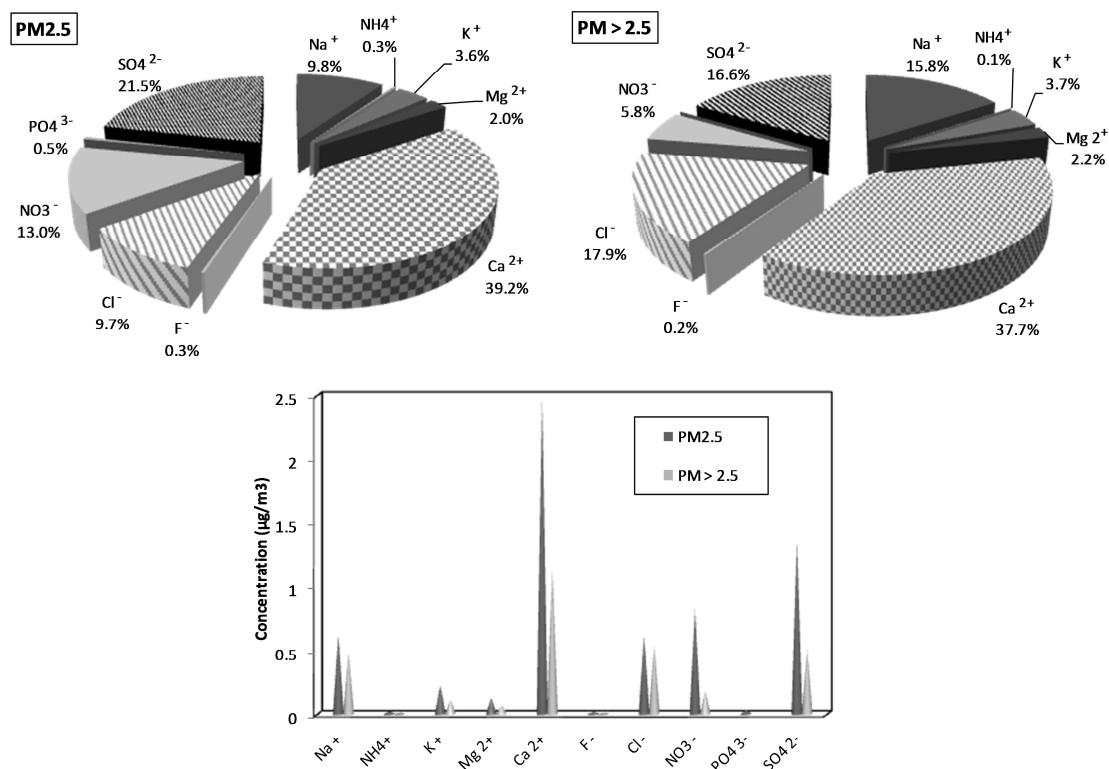


Fig. 4. Ionic species concentrations of the two aerosols collected are in species mass per air volume pumped and in percentage. The concentration of PO₄³⁻ was under of quantification limit in PM_{>2.5}.

The most abundant ionic species concentrations recorded were Ca²⁺, SO₄²⁻, NO₃⁻, Na⁺ and Cl⁻ for both PM. Na⁺, Cl⁻ and Mg²⁺ revealed marine dust influence (Cazier et al., 2011; Rodríguez et al., 2004). While the high concentration of Ca²⁺ could come from natural erosion and/or dust of cement industry which is located at about 1 km of sampling site. Cazier et al. (2011) found a similar result concerning amounts of CaCO₃ which are significant and handled to carry out the desulphuration of ores. Sulphates and nitrates clearly revealed anthropogenic activities (Cazier et al., 2011; Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Khan et al., 2010). In West Africa, values of sulphate concentration are often high. Sulphates in studied particulate matters were likely due to the unregulated fuels in motor vehicles and/or industrial sources. With regards to nitrate concentrations found in PM_{2.5}, they were also similar to those recently published (Cazier et al., 2011; Dergham et al., 2012; Khan et al., 2010; Weinstein et al., 2010). Moreover, this nitrate value was lower than Dakar's nitrate concentration (Table 1). PM_{>2.5} nitrate value was lower than those reported in Japan (1.0 µg/m³ / 10.6 %, Khan et al., 2010). However, nitrate value observed in this work indicated an anthropogenic contribution. Ionic species had been often associated with inorganic chemicals.

Otherwise, concentrations were almost two fold higher in $PM_{2.5}$ than in $PM_{>2.5}$ with total metals of $10.78 \mu\text{g}/\text{m}^3$ found in $PM_{2.5}$ versus $5.68 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in $PM_{>2.5}$ (Table 2). Among main elements (Al, Fe, Mg, Mn, Na, Ti, Zn) found in particles, Al and Fe represent the highest concentrations in the two types of samples. Medium studied elements Ba, Cr, Cu, Pb and Sr showed concentrations ranged from 0.01 to $0.04 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in $PM_{2.5}$ and from 0.005 to $0.02 \mu\text{g}/\text{m}^3$ for $PM_{>2.5}$. Concentrations of other elements were relatively low (0.0005 - $0.001 \mu\text{g}/\text{m}^3$) in each samples. Both PM samples under study presented similar repartition of elements as considering their percentage.

Table 2

Inorganic elements of air pollution particulate matter collected.

Metal and trace	$PM_{2.5}$		$PM_{>2.5}$	
	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	%	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	%
Al	4.491	41.7	2.261	39.8
Ba	0.04	0.4	0.022	0.4
Ce	0.006	0.1	0.003	0.1
Co	0.001	0.0	0.0005	0.0
Cr	0.011	0.1	0.005	0.1
Cu	0.029	0.3	0.007	0.1
Fe	3.705	34.4	2.009	35.4
La	0.002	0.0	0.001	0.0
Li	0.001	0.0	0.001	0.0
Mg	0.756	7.0	0.402	7.1
Mn	0.068	0.6	0.034	0.6
Na	1.341	12.4	0.774	13.6
Ni	0.002	0.0	0.001	0.0
Pb	0.022	0.2	0.011	0.2
Rb	0.002	0.0	0.001	0.0
Sn	0.001	0.0	0.0005	0.0
Sr	0.026	0.2	0.013	0.2
Ti	0.128	1.2	0.059	1.0
V	0.003	0.0	0.002	0.0
Zn	0.145	1.3	0.071	1.3
Total	10.78		5.68	

In literature, inorganic elements were usually associated with natural environment (e.g. Na, Mg, Ca, Ti) and anthropogenic origin (e.g. Fe, Al, Mn, Ba, Cr, Zn, Pb, Cu) (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012). Moreover, Cr, As, Ni, Pb, Zn, Cu, V and Cd are carcinogenic, Cd and As are potentially mutagenic, Pb and Hg are foetal toxic (Cheng, 2003; He et al., 2001). The main sources of atmospheric heavy metals are natural emissions, fuel combustion (traffic) and industrial metallurgical processes (Cheung et al., 2011; Fang et al., 2010). Vehicle emission can be another crucial source of urban atmospheric heavy metals (Duan and Tan, 2013). Inorganic elements in Cotonou were high during collection period. Highest concentration of Fe and Al were often terrigenous source in African countries. Dieme et al. (2012), Kouassi et al. (2010) and Weinstein et al. (2010) had shown similar results in Abidjan, Dakar and Conakry, respectively. According to regulatory standards set by the European Parliament and the Council of the European Union, (2008), lead levels in the two types of studied particles were remarkably low but higher than those detected by Dieme et al. (2012). Other results around the world were presented in Table 3.

Table 3

Concentration of about heavy metals ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in the ambient air of urban areas in different countries around the world.

City/Country		Pb	Zn	Ni	Cu	Cd	As	Cr	V	Reference
Present study Cotonou (Benin)	PM _{2.5}	2x10 ⁻²	0.1	2x10 ⁻³	2x10 ⁻²	-	-	1x10 ⁻²	3x10 ⁻³	
	PM _{>2.5}	1x10 ⁻²	7x10 ⁻²	1x10 ⁻³	7x10 ⁻³	-	-	5x10 ⁻³	2x10 ⁻³	
Dakar (Senegal)	PM _{2.5}	7x10 ⁻³	2x10 ⁻²	1x10 ⁻³	5x10 ⁻³	-	-	2x10 ⁻³	2x10 ⁻³	Dieme et al. (2012)
Dunkerque (France)	PM _{2.5}	3x10 ⁻³	1x10 ⁻²	1x10 ⁻³	8x10 ⁻³	-	2.10 ⁻⁴	3.10 ⁻³	1.10 ⁻²	Dergham et al. (2012)
Conakry (Guinea)	PM _{2.5}	3.10 ⁻²	6.10 ⁻²	8.10 ⁻³	0.1	-	-	2.10 ⁻²	1.10 ⁻²	Weinstein et al. (2010)
	PM ₁₀	4.10 ⁻²	3.10 ⁻²	1.10 ⁻²	1.10 ⁻²	-	-	0.1	2.10 ⁻²	
Punta Sabbioni (Italy)	PM ₁₀	2.10 ⁻²	5.10 ⁻²	3.10 ⁻³	9.10 ⁻³	-	2.10 ⁻³	5.10 ⁻³	4.10 ⁻³	Contini et al. (2012)
Baoshan (China)	PM _{2.5}	0.1	0.4	2.10 ⁻²	2.10 ⁻²	3.10 ⁻³	-	3.10 ⁻²	-	Wang et al. (2013)
	PM ₁₀	0.1	0.5	3.10 ⁻²	4.10 ⁻²	3.10 ⁻³	-	5.10 ⁻²	-	
Navarra (Spain)	PM _{2.5}	2x10 ⁻³	1.10 ⁻²	1.10 ⁻³	1.10 ⁻²	-	1.10 ⁻⁴	2.10 ⁻³	-	Aldabe et al. (2011)
	PM ₁₀	3.10 ⁻³	2.10 ⁻²	2.10 ⁻³	2.10 ⁻²	-	2.10 ⁻⁴	2.10 ⁻³	-	
Agra (India)	PM _{2.5}	1.1	0.9	0.3	0.2	-	-	0.6	-	Kulshrestha et al. (2009)
	PM ₁₀	1.1	0.5	0.2	4.10 ⁻²	-	-	0.3	-	
Florida (USA)	PM _{2.5}	5.10 ⁻³	1.10 ⁻²	1.10 ⁻³	2.10 ⁻³	-	2.10 ⁻³	-	2.10 ⁻³	Olson et al. (2008)
Athens (Greece)	PM _{2.5}	1.10 ⁻²	-	2.10 ⁻³	-	-	-	-	-	Vasilakos et al. (2007)
Hong Kong (China)	PM _{2.5}	1.10 ⁻²	0.1	4.10 ⁻³	5.10 ⁻³	-	4.10 ⁻³	1.10 ⁻³	1.10 ⁻²	Hagler et al. (2007)
Beijing (China)		0.1	0.2	2.10 ⁻²	6.10 ⁻²	5.10 ⁻²	1.10 ⁻²	4.10 ⁻²	2.10 ⁻²	Duan and Tan (2013)
Limit values		0.5	-	2.10 ⁻²	-	5.10 ⁻³	6.10 ⁻³	2.10 ⁻⁴	1	WHO (2000)
		0.5	-	2.10 ⁻²	-	5.10 ⁻³	6.10 ⁻³	-	-	EEA (2012)

(-) not available

Metal concentrations of PM_{2.5} fraction are twice higher than those of PM_{>2.5}. Lee et al. (2013) had shown similar observation. This was likely assigned that heavy metals are more easily accumulated in PM_{2.5} than in PM_{>2.5}. Moreover, both PM samples presented similar repartition of elements considering the percentages. This suggests that both PM were from same source. On the other hand, Benin adopted unleaded gasoline, so the main sources of heavy metals of two particles in sampling site were probably under traffic and/or cement industry influence.

3.3. Element composition

Organic carbon was the highest rate of elements in the two analyzed aerosols (Table 4). Total carbon was found to 22.97 % in PM_{2.5} versus 14.09 % for PM_{>2.5}. Percentage of hydrogen were higher than nitrogen and sulphur in the two samples.

In Eastern Spain, organic carbon (OC) + elemental carbon (EC) were higher than those found in this study. These percentages were 32 % and 22 % for PM_{2.5} and PM₁₀, respectively (Rodríguez et al., 2004). In Yokohama (Japan), OC + EC can reach 28 % and 16 % in PM_{2.5} and PM₁₀, respectively (Khan et al., 2010). The ratio of (OC + EC) PM_{2.5} / (OC + EC) PM₁₀ were similar in Spain, Japan and Benin. Results of study conducted by Aldabe et al. (2011) in Spain were contrary to those in present work, OC + EC concentrations were rather abundant in PM₁₀ than PM_{2.5}. In accordance with Rodríguez et al. (2004), OC + EC associated with phosphate and ozone should be under bio-mass burning influence. Then, it suggests that the highest lead, nitrate, OC + EC, nickel indicate vehicle exhaust origin. In the present study, phosphate was practically absent and lead, nitrate, OC + EC, nickel were relatively high. Thus, the

two PM could mainly come from vehicle exhaust. Moreover, both PM presented similar repartition of elements as compared to the total carbon. This confirms the same source of PM found in metal analysis. The uppermost concentrations of organic carbon were often linked with organic compounds.

Table 4

Element composition of two aerosols collected.

Element	Percentage					
	PM _{2.5}			PM _{>2.5}		
Total C	22.97 ± 0.11	E/TC	14.09 ± 0.02	E/TC		
Organic C	21.21 ± 0.10	92.3	12.81 ± 0.02	90.9		
Nitrogen	0.94 ± 0.04	4.1	0.85 ± 0.01	6.0		
Hydrogen	3.04 ± 0.01	13.2	1.81 ± 0.01	12.8		
Sulphur	1.16 ± 0.00	5.1	0.96 ± 0.01	6.8		

E/TC = Percentage of element/total carbon

3.4. Organic compounds and halogenated aromatic polycyclic

In this study, volatile organic compounds (VOCs) detected in analysed samples were benzene and its derivatives. VOCs concentrations were more concentrated (seven times) in PM_{2.5} (8.9 ng/m³) than in PM_{>2.5} (1.2 ng/m³) (Table 5). However, these concentrations were lower in PM_{2.5} than those reported by Dieme et al. (2012) and Dergham et al. (2012) in Dakar urban site (37.4 ng/m³) and Dunkerque (51.3 ng/m³), respectively. The toluene/benzene (T/B) ratio found in PM_{2.5} samplings was 3.9 and 1.4 in PM_{>2.5}. According to the literature, the T/B ratio ranged from 1.5 to 4.0 in urban areas indicated traffic emissions (Buczynska et al., 2009; Liu et al., 2009; Miller et al., 2012, 2010).

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) concentrations were far more concentrated in PM_{2.5} than in PM_{>2.5}. Reche et al. (2012) and Li et al. (2013) have found a similar result in Barcelona (Italy) and Beijing (China), respectively. Total PAHs levels in this work were lower than those found in Europe (van Drooge and Ballesta, 2009), in Germany (Pietrogrande et al., 2011), in France (Dergham et al., 2012). However, our PAHs concentrations were higher than those reported by Pindado et al. (2009) (in Spain). Quantity of benzo[a]pyrene, leader of PAHs classified carcinogenic B2 pollutants by EPA was smaller in PM_{>2.5} and greater in PM_{2.5} than those of recent studies performed in Spain (Callén et al., 2011; Reche et al., 2012). Generally speaking, most of the PAHs have anthropogenic origins (vehicle exhaust, residential heating and power plants) and usually distinguished by their emission sources using diagnostic ratios (Dvorská et al., 2011; Ladji et al., 2009; Li et al., 2013; Tobiszewski and Namieśnik, 2012). According to PAHs ratios in table 6, the two types of PM presented same ratio. BaP/(BaP + Chr), Flu/(Flu + Pyr), BaP/BghiP, BaA/(BaA + Chr) and \sum COMB/ \sum PAHs were 0.5, 0.3, 0.6, 0.4 and 0.9 respectively and this indicated that PAHs adsorbed on PM can come from gasoline, diesel emissions, incomplete combustion, vehicle emission and mainly traffic emissions.

Traffic emissions usually produced some long chain *n*-alkanes having. Concentrations of these compounds were higher in PM_{2.5} than in PM_{>2.5} (Fig. 5). However, PM_{>2.5} were more concentrated in heavy paraffins (C₂₉ to C₃₆) except C₃₃.

Table 5
Organic compounds in the two air pollution PM samples.

	Concentration (ng/m ³)		
	PM _{2.5}	PM _{>2.5}	
VOCs			
Benzene	0.46	0.05	
Toluene	1.81	0.07	
Ethylbenzene	0.83	0.10	
o-Xylene	3.47	0.07	
1,2,3-Trimethylbenzene	1.17	0.71	
Trimethylbenzene	0.52	< LQ	
Tetramethylbenzene	0.35	0.20	
Pentamethylbenzene	0.29	< LQ	
Total	8.90	1.2	
PAHs			
Naphtalene	Nap	0.01	0.01
Acenaphthylene	Ace	< LQ	0.004
Phenanthrene	Phe	0.02	0.01
Fluoranthene	Flu	0.11	0.03
Pyrene	Pyr	0.28	0.06
Benzo[a]Anthracene	BaA	0.19	< LQ
Chrysene	Chr	0.26	0.01
Benzo[b]Fluoranthene	BbF	< LQ	0.02
Benzo[k]Fluoranthene	BkF	0.30	< LQ
Benzo[a]Pyrene	BaP	0.24	0.01
Dibenzo[a,h]Anthracene	DahA	0.21	< LQ
Indeno[1.2.3-c.d]Pyrene	Ind	< LQ	0.07
Benzo[g,h,i]Perylene	BghiP	0.37	< LQ
Total		1.99	0.22

< LQ = Under limit of quantification ; VOCs = Volatile Organic Compounds,
PAHs = Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

Table 6
Characteristic ratios of PAHs used for source identification.

PAH ratio	Value range	Origin	Reference
$\sum\text{COMB}/\sum\text{PAHs}$	~ 1	Combustion	Ravindra et al. (2008)
BaP/BghiP	< 0.6	Non-traffic emissions	Katsoyiannis et al. (2007)
	> 0.6	Traffic emissions	
BaP/(BaP + Chr)	0.5	Diesel emissions	Cazier et al. (2011)
	> 0.5	Gasoline emissions	
BaA/(BaA + Chr)	0.2-0.35	Coal combustion	Akyüz and Çabuk (2010)
	> 0.35	Vehicle emissions	
Flu/(Flu + Pyr)	> 0.5	Diesel emissions	Ravindra et al. (2006)
	< 0.5	Gasoline emissions	

$\sum\text{PAHs}$ = sum of total non-alkylated PAHs

$\sum\text{COMB} = \sum \text{BaP, Chr, Flu, Pyr, BaA, Ind, BkF, BbF, and BghiP}$

In this work, total paraffins were 16.8 ng/m^3 and 10.6 ng/m^3 for $PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$, respectively. For $PM_{2.5}$, paraffin concentration were higher than those found at Dakar (Senegal, Dieme et al., 2012), Augsburg (Germany, Pietrogrande et al., 2011) and Chapineri'a (Spain, Pindado et al., 2009). These values can reach concentrations fifty times higher in Beijing city (Chine, Li et al., 2013). Indeed, C_{13} - C_{19} indicated microbiota and diesel origin. On the other side, C_{20} - C_{37} were attributed to fossil fuel rubbish and plant waxes (Cazier et al., 2011; Fu et al., 2009; Pietrogrande et al., 2011). In accordance with Kotianová et al. (2008), *n*-alkanes up to C_{20} and until C_{25} taken source in gasoline powered vehicles and heavy duty diesel trucks, respectively. Further, C_{29} - C_{33} alkanes have origin from tobacco (Pietrogrande et al., 2011). From the foregoing, this study showed that PM analyzed were mainly resulting from gasoline and diesel emissions, thus traffic emissions. These observations confirm results obtained in PAHs study.

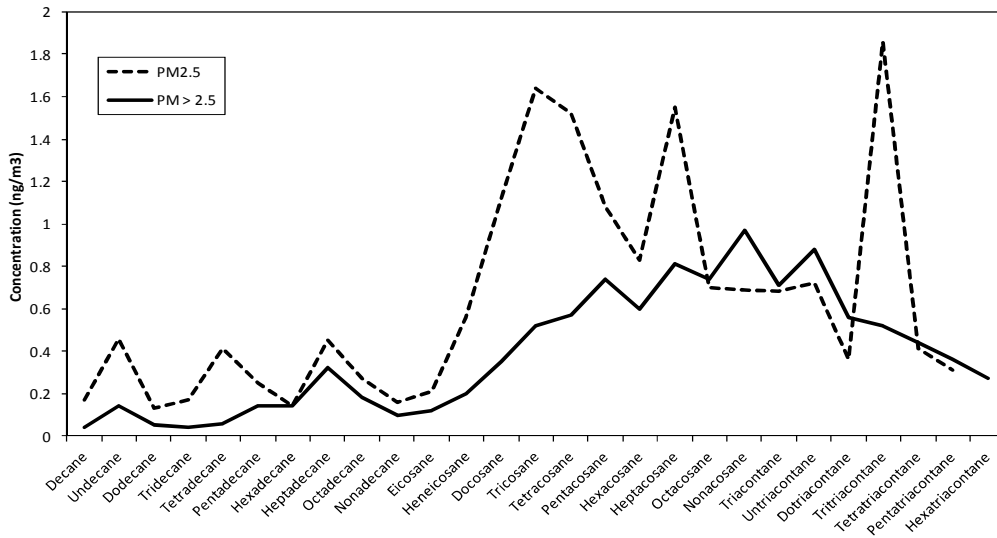


Fig. 5. Paraffins concentrations in the two air particulate matter.

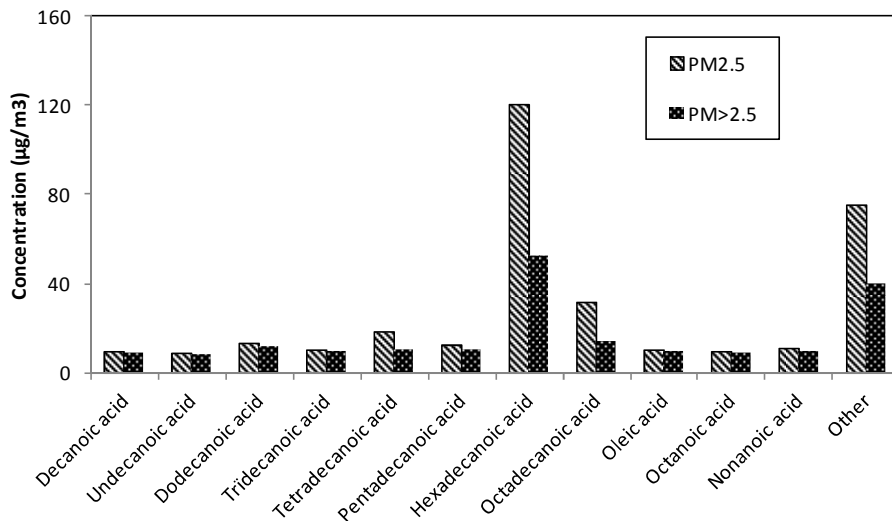


Fig. 6. Carboxylic acids with a long aliphatic tail of two air pollution particulate matter.

Otherwise, saturated fatty acids indicate the presence of agricultural activity. Therefore, Fig. 6 reported significant saturated carboxylic acids in studied PM samples. Mainly hexadecanoic (palmitic) acid (C₁₆) and octadecanoic (stearic) acid (C₁₈) were most abundant. Similar remark was published by Li et al. (2013). Concentrations were 120.45 µg/m³ and 31.89 µg/m³ in PM_{2.5} for C₁₆ and C₁₈, respectively. PM_{>2.5} was twice smaller in C₁₆ (52.83 µg/m³) and C₁₈ (13.94 µg/m³) than PM_{2.5}. Total fatty acids were 330.76 µg/m³ for PM_{2.5} and 196.31 µg/m³ for PM_{>2.5}.

According to Oliveira et al. (2007), fatty acids with even-numbered carbons of less than 20 carbons were considered to be derived in part from microbial activities and cooking meat. Ratio of oleic acid / stearic acid is a tool of aerosol aging identification (Li et al., 2013). Rogge et al. (2006) suggested that when ratio of stearic acid / palmitic acid < 0.25, it is wood smoke and foliar vegetation combustion, between 0.25 and 0.5 = car and diesel truck emissions and ranged from 0.5 to 1.0 = road dust. In the present work, stearic acid / palmitic acid ratio were 0.26 in the two analyzed PM. Oleic acid / stearic acid ratio were 0.32 and 0.7 in PM_{2.5} and PM_{>2.5}, respectively. Li et al. (2013) reported in Beijing city a similar result in PM_{2.5} according to collection period. In light of these results, fatty acids concentrations indicated mostly vehicle emissions and reinforced conclusions of previous analyses.

5. Conclusion

From all of the foregoing, physicochemical characterization of air pollution particulate matters PM_{2.5} and PM_{>2.5} collected in Cotonou revealed identical granulometry profile and specific surface areas between particles samples. This suggests that particle PM_{>2.5} sample contain within it a part of agglomerated fine particles. However, concentrations of different inorganic and organic compounds were each time most high in PM_{2.5} than in PM_{>2.5}. Identification tools of source were used to detect pollutants origin. Inorganic elements, PAHs, paraffins and fatty acids levels studies indicated clearly that both PM came from natural and/or anthropogenic emission sources particularly vehicle exhaust influence and traffic emissions. These compounds have adverse health effects, and it is necessary to complete research with toxicological studies in order to establish monitoring plan of air quality in African countries.

Acknowledgments

The Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV), EA4492, participates in the Institut de Recherches en ENvironnement Industriel (IRENI), which is financed by the Communauté Urbaine de Dunkerque, the Région Nord-Pas de Calais, the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, the CNRS and European Regional Development Fund (ERDF). This study benefited from grants from the Service de Coopération et d'Action Culturelle de l'Ambassade de France in Benin. We would like to thank Denis Marin who had done the map of the study area.

References

- Akyüz, M., Çabuk, H., 2010. Gas-particle partitioning and seasonal variation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere of Zonguldak, Turkey. *Sci. Total Environ.* 408, 5550–5558.
- Aldabe, J., Elustondo, D., Santamaría, C., Lasheras, E., Pandolfi, M., Alastuey, A., Querol, X., Santamaría, J.M., 2011. Chemical characterisation and source apportionment of PM_{2.5} and PM₁₀ at rural, urban and traffic sites in Navarra (North of Spain). *Atmospheric Res.* 102, 191–205.
- Avogbe, P.H., Ayi-Fanou, L., Autrup, H., Loft, S., Fayomi, B., Sanni, A., Vinzents, P., Møller, P., 2005. Ultrafine particulate matter and high-level benzene urban air pollution in relation to oxidative DNA damage. *Carcinogenesis* 26, 613–620.
- Avogbe, P.H., Ayi-Fanou, L., Cachon, B., Chabi, N., Debende, A., Dewaele, D., Aissi, F., Cazier, F., Sanni, A., 2011. Hematological changes among Beninese motor-bike taxi drivers exposed to benzene by urban air pollution. *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* 5, 464–472.
- Ayi Fanou, L., Mobio, T.A., Creppy, E.E., Fayomi, B., Fustoni, S., Møller, P., Kyrtopoulos, S., Georgiades, P., Loft, S., Sanni, A., Skov, H., Øvrebø, S., Autrup, H., 2006. Survey of air pollution in Cotonou, Benin—air monitoring and biomarkers. *Sci. Total Environ.* 358, 85–96.
- Bachmann, J., 2007. Will the circle be unbroken: a history of the U.S. National Ambient Air Quality Standards. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 1995 57, 652–697.
- Baneschi, I., Dallai, L., Giuzzi, G., Guidi, M., Krotz, L., 2013. A method for the definition of the carbon oxidation number in the gases dissolved in waters and the redox variations using an elemental

- analyser (FlashEA 1112). Preliminary data from a stratified lake. *J. Geochem. Explor.* 124, 14–21.
- Baulig, A., Singh, S., Marchand, A., Schins, R., Barouki, R., Garlatti, M., Marano, F., Baeza-Squiban, A., 2009. Role of Paris $PM_{2.5}$ components in the pro-inflammatory response induced in airway epithelial cells. *Toxicology* 261, 126–135.
- Billet, S., Garçon, G., Dagher, Z., Verdin, A., Ledoux, F., Cazier, F., Courcot, D., Aboukais, A., Shirali, P., 2007. Ambient particulate matter ($PM_{2.5}$): Physicochemical characterization and metabolic activation of the organic fraction in human lung epithelial cells (A549). *Environ. Res.* 105, 212–223.
- Buczynska, A.J., Krata, A., Stranger, M., Locateli Godoi, A.F., Kontozova-Deutsch, V., Bencs, L., Naveau, I., Roekens, E., Van Grieken, R., 2009. Atmospheric BTEX-concentrations in an area with intensive street traffic. *Atmos. Environ.* 43, 311–318.
- Cachon, B., Ayi-Fanou, L., Cazier, F., Genevray, P., Adéoti, K., Dewaele, D., Debende, A., Aissi, F., Sanni, A., 2013. Analysis of Gasoline Used by Motorbike-Taxi Drivers in Cotonou. *Environ. Pollut.* 2.
- Callén, M.S., de la Cruz, M.T., López, J.M., Mastral, A.M., 2011. PAH in airborne particulate matter.: Carcinogenic character of PM_{10} samples and assessment of the energy generation impact. *Fuel Process. Technol.* 92, 176–182.
- Cao, J., Xu, H., Xu, Q., Chen, B., Kan, H., 2012. Fine Particulate Matter Constituents and Cardiopulmonary Mortality in a Heavily Polluted Chinese City. *Environ. Health Perspect.* 120, 373–378.
- Caplain, I., Cazier, F., Nouali, H., Mercier, A., Déchaux, J.-C., Nollet, V., Joumard, R., André, J.-M., Vidon, R., 2006. Emissions of unregulated pollutants from European gasoline and diesel passenger cars. *Atmos. Environ.* 40, 5954–5966.
- Cazier, F., Dewaele, D., Delbende, A., Nouali, H., Garçon, G., Verdin, A., Courcot, D., Bouhsina, S., Shirali, P., 2011. Sampling analysis and characterization of particles in the atmosphere of rural, urban and industrial areas. *Procedia Environ. Sci.* 4, 218–227.
- Cheng, S., 2003. Heavy metal pollution in China: Origin, pattern and control. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 10, 192–198.
- Cheung, K., Daher, N., Kam, W., Shafer, M.M., Ning, Z., Schauer, J.J., Sioutas, C., 2011. Spatial and temporal variation of chemical composition and mass closure of ambient coarse particulate matter ($PM_{10-2.5}$) in the Los Angeles area. *Atmos. Environ.* 45, 2651–2662.
- Contini, D., Belosi, F., Gambaro, A., Cesari, D., Stortini, A.M., Bove, M.C., 2012. Comparison of PM_{10} concentrations and metal content in three different sites of the Venice Lagoon: An analysis of possible aerosol sources. *J. Environ. Sci.* 24, 1954–1965.
- Delfino, R.J., Gillen, D.L., Tjoa, T., Staimer, N., Polidori, A., Arhami, M., Sioutas, C., Longhurst, J., 2011. Electrocardiographic ST-Segment Depression and Exposure to Traffic-Related Aerosols in Elderly Subjects with Coronary Artery Disease. *Environ. Health Perspect.* 119, 196–202.
- Département de l'environnement, des transports, de l'énergie et de la communication (DETEC), 2011. Office fédéral de l'environnement (OFEV) - Poussières fines (PM_{10}) <http://www.bafu.admin.ch/luft/00585/10761/index.html?lang=fr> (accessed 6.27.13).
- Dergham, M., Lepers, C., Verdin, A., Billet, S., Cazier, F., Courcot, D., Shirali, P., Garçon, G., 2012. Prooxidant and Proinflammatory Potency of Air Pollution Particulate Matter ($PM_{2.5-0.3}$) Produced in Rural, Urban, or Industrial Surroundings in Human Bronchial Epithelial Cells (BEAS-2B). *Chem. Res. Toxicol.* 25, 904–919.
- Dieme, D., Cabral-Ndior, M., Garçon, G., Verdin, A., Billet, S., Cazier, F., Courcot, D., Diouf, A., Shirali, P., 2012. Relationship between physicochemical characterization and toxicity of fine particulate matter ($PM_{2.5}$) collected in Dakar city (Senegal). *Environ. Res.* 113, 1–13.
- Dionisio, K.L., Rooney, M.S., Arku, R.E., Friedman, A.B., Hughes, A.F., Vallarino, J., Agyei-Mensah, S., Spengler, J.D., Ezzati, M., 2010. Within-Neighborhood Patterns and Sources of Particle

- Pollution: Mobile Monitoring and Geographic Information System Analysis in Four Communities in Accra, Ghana. *Environ. Health Perspect.* 118, 607–613.
- Diouf, A., Garçon, G., Diop, Y., Ndiaye, B., Thiaw, C., Fall, M., Kane-Barry, O., Ba, D., Haguenoer, J.M., Shirali, P., 2006. Environmental lead exposure and its relationship to traffic density among Senegalese children: a cross-sectional study. *Hum. Exp. Toxicol.* 25, 637–644.
- Duan, J., Tan, J., 2013. Atmospheric heavy metals and Arsenic in China: Situation, sources and control policies. *Atmos. Environ.* 74, 93–101.
- Dvorská, A., Lammel, G., Klánová, J., 2011. Use of diagnostic ratios for studying source apportionment and reactivity of ambient polycyclic aromatic hydrocarbons over Central Europe. *Atmos. Environ.* 45, 420–427.
- Eksperiandova, L.P., Fedorov, O.I., Stepanenko, N.A., 2011. Estimation of metrological characteristics of the element analyzer EuroVector EA-3000 and its potential in the single-reactor CHNS mode. *Microchem. J.* 99, 235–238.
- European Environment Agency, 2012. EEA - Air quality in Europe — 2012 report <http://www.eea.europa.eu/publications/air-quality-in-europe-2012/at.../file> (accessed 4.28.13).
- European Parliament and the Council of the European Union, 2008. Directive 2008/50/EC of the European Parliament and of the Council of 21 May 2008 on ambient air quality and cleaner air for Europe <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:152:0001:0044:FR:PDF>
- Fang, G.-C., Huang, Y.-L., Huang, J.-H., 2010. Study of atmospheric metallic elements pollution in Asia during 2000–2007. *J. Hazard. Mater.* 180, 115–121.
- Fu, P.Q., Kawamura, K., Pavuluri, C.M., Swaminathan, T., 2009. Molecular characterization of urban organic aerosol in tropical India: contributions of biomass/biofuel burning, plastic burning, and fossil fuel combustion. *Atmospheric Chem. Phys. Discuss.* 9, 21669–21716.
- Hagler, G.S.W., Bergin, M.H., Salmon, L.G., Yu, J.Z., Wan, E.C.H., Zheng, M., Zeng, L.M., Kiang, C.S., Zhang, Y.H., Schauer, J.J., 2007. Local and regional anthropogenic influence on PM_{2.5} elements in Hong Kong. *Atmos. Environ.* 41, 5994–6004.
- He, K., Yang, F., Ma, Y., Zhang, Q., Yao, X., Chan, C.K., Cadle, S., Chan, T., Mulawa, P., 2001. The characteristics of PM_{2.5} in Beijing, China. *Atmos. Environ.* 35, 4959–4970.
- Katsoyiannis, A., Terzi, E., Cai, Q.-Y., 2007. On the use of PAH molecular diagnostic ratios in sewage sludge for the understanding of the PAH sources. Is this use appropriate? *Chemosphere* 69, 1337–1339.
- Kelly, F.J., Fussell, J.C., 2012. Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter. *Atmos. Environ.* 60, 504–526.
- Kèlomé, N.C., Lévêque, J., Andreux, F., Milloux, M.-J., Oyédé, L.-M., 2006. C₄ plant isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) evidence for urban CO₂ pollution in the city of Cotonou, Benin (West Africa). *Sci. Total Environ.* 366, 439–447.
- Khan, M.F., Shirasuna, Y., Hirano, K., Masunaga, S., 2010. Characterization of PM_{2.5}, PM_{2.5–10} and PM_{>10} in ambient air, Yokohama, Japan. *Atmospheric Res.* 96, 159–172.
- Kinney, P.L., Gichuru, M.G., Volavka-Close, N., Ngo, N., Ndiba, P.K., Law, A., Gachanja, A., Gaita, S.M., Chillrud, S.N., Sclar, E., 2011. Traffic impacts on PM_{2.5} air quality in Nairobi, Kenya. *Environ. Sci. Policy* 14, 369–378.
- Kocbach, A., Li, Y., Yttri, K.E., Cassee, F.R., Schwarze, P.E., Namork, E., 2006. Physicochemical characterisation of combustion particles from vehicle exhaust and residential wood smoke. Part. *Fibre Toxicol.* 3, 1.
- Kotianová, P., Puxbaum, H., Bauer, H., Caseiro, A., Marr, I.L., Čík, G., 2008. Temporal patterns of n-alkanes at traffic exposed and suburban sites in Vienna. *Atmos. Environ.* 42, 2993–3005.
- Kouassi, K.S., Billet, S., Garçon, G., Verdin, A., Diouf, A., Cazier, F., Djaman, J., Courcot, D., Shirali, P., 2010. Oxidative damage induced in A549 cells by physically and chemically characterized air particulate matter (PM_{2.5}) collected in Abidjan, Côte d'Ivoire. *J. Appl. Toxicol.* 30, 310–320.

- Kulshrestha, A., Satsangi, P.G., Masih, J., Taneja, A., 2009. Metal concentration of $PM_{2.5}$ and PM_{10} particles and seasonal variations in urban and rural environment of Agra, India. *Sci. Total Environ.* 407, 6196–6204.
- Ladji, R., Yassaa, N., Balducci, C., Cecinato, A., Meklati, B.Y., 2009. Distribution of the solvent-extractable organic compounds in fine (PM_1) and coarse (PM_{1-10}) particles in urban, industrial and forest atmospheres of Northern Algeria. *Sci. Total Environ.* 408, 415–424.
- Lee, P.-K., Youm, S.-J., Jo, H.Y., 2013. Heavy metal concentrations and contamination levels from Asian dust and identification of sources: A case-study. *Chemosphere* 91, 1018–1025.
- Li, X., Wang, Yuesi, Guo, X., Wang, Yingfeng, 2013. Seasonal variation and source apportionment of organic and inorganic compounds in $PM_{2.5}$ and PM_{10} particulates in Beijing, China. *J. Environ. Sci.* 25, 741–750.
- Liu, J., Mu, Y., Zhang, Y., Zhang, Z., Wang, X., Liu, Y., Sun, Z., 2009. Atmospheric levels of BTEX compounds during the 2008 Olympic Games in the urban area of Beijing. *Sci. Total Environ.* 408, 109–116.
- Miller, L., Lemke, L.D., Xu, X., Molaroni, S.M., You, H., Wheeler, A.J., Booza, J., Grgicak-Mannion, A., Krajenta, R., Graniero, P., Krouse, H., Lamerato, L., Raymond, D., Reiners Jr., J., Weglicki, L., 2010. Intra-urban correlation and spatial variability of air toxics across an international airshed in Detroit, Michigan (USA) and Windsor, Ontario (Canada). *Atmos. Environ.* 44, 1162–1174.
- Miller, L., Xu, X., Grgicak-Mannion, A., Brook, J., Wheeler, A., 2012. Multi-season, multi-year concentrations and correlations amongst the BTEX group of VOCs in an urbanized industrial city. *Atmos. Environ.* 61, 305–315.
- Oh, S.M., Kim, H.R., Park, Y.J., Lee, S.Y., Chung, K.H., 2011. Organic extracts of urban air pollution particulate matter ($PM_{2.5}$)-induced genotoxicity and oxidative stress in human lung bronchial epithelial cells (BEAS-2B cells). *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 723, 142–151.
- Okuda, T., 2013. Measurement of the specific surface area and particle size distribution of atmospheric aerosol reference materials. *Atmos. Environ.*
- Oliveira, C., Pio, C., Alves, C., Evtugina, M., Santos, P., Gonçalves, V., Nunes, T., Silvestre, A.J.D., Palmgren, F., Wählén, P., Harrad, S., 2007. Seasonal distribution of polar organic compounds in the urban atmosphere of two large cities from the North and South of Europe. *Atmos. Environ.* 41, 5555–5570.
- Olson, D.A., Turlington, J., Duvall, R.M., McDow, S.R., Stevens, C.D., Williams, R., 2008. Indoor and outdoor concentrations of organic and inorganic molecular markers: Source apportionment of $PM_{2.5}$ using low-volume samples. *Atmos. Environ.* 42, 1742–1751.
- Osornio-Vargas, A.R., Serrano, J., Rojas-Bracho, L., Miranda, J., García-Cuellar, C., Reyna, M.A., Flores, G., Zuk, M., Quintero, M., Vázquez, I., Sánchez-Pérez, Y., López, T., Rosas, I., 2011. In vitro biological effects of airborne $PM_{2.5}$ and PM_{10} from a semi-desert city on the Mexico–US border. *Chemosphere* 83, 618–626.
- Pacenti, M., Lofrumento, C., Dugheri, S., Zoppi, A., Borsi, I., Speranza, A., Boccalon, P., Arcangeli, G., Antonucci, A., Castellucci, E., Cupelli, V., 2009. Physicochemical characterization of exhaust particulates from gasoline and diesel engines by solid-phase micro extraction sampling and combined raman microspectroscopic/fast gas-cromotography mass spectrometry analysis. *Eur. J. Inflamm.* 7, 25–37.
- Peacock, J.L., Anderson, H.R., Bremner, S.A., Marston, L., Seemungal, T.A., Strachan, D.P., Wedzicha, J.A., 2011. Outdoor air pollution and respiratory health in patients with COPD. *Thorax* 66, 591–596.
- Perrone, M.G., Gualtieri, M., Ferrero, L., Porto, C.L., Udisti, R., Bolzacchini, E., Camatini, M., 2010. Seasonal variations in chemical composition and in vitro biological effects of fine PM from Milan. *Chemosphere* 78, 1368–1377.

- Pietrogrande, M.C., Abbaszade, G., Schnelle-Kreis, J., Bacco, D., Mercuriali, M., Zimmermann, R., 2011. Seasonal variation and source estimation of organic compounds in urban aerosol of Augsburg, Germany. *Environ. Pollut.* 159, 1861–1868.
- Pillai, P.S., Suresh Babu, S., Krishna Moorthy, K., 2002. A study of PM, PM₁₀ and PM_{2.5} concentration at a tropical coastal station. *Atmospheric Res.* 61, 149–167.
- Pindado, O., Pérez, R.M., García, S., Sánchez, M., Galán, P., Fernández, M., 2009. Characterization and sources assignment of PM_{2.5} organic aerosol in a rural area of Spain. *Atmos. Environ.* 43, 2796–2803.
- Pope, C.A., 3rd, Burnett, R.T., Krewski, D., Jerrett, M., Shi, Y., Calle, E.E., Thun, M.J., 2009. Cardiovascular mortality and exposure to airborne fine particulate matter and cigarette smoke: shape of the exposure-response relationship. *Circulation* 120, 941–948.
- Raaschou-Nielsen, O., Andersen, Z.J., Hvidberg, M., Jensen, S.S., Ketzel, M., Sørensen, M., Loft, S., Overvad, K., Tjønneland, A., 2011. Lung Cancer Incidence and Long-Term Exposure to Air Pollution from Traffic. *Environ. Health Perspect.* 119, 860–865.
- Ravindra, K., Bencs, L., Wauters, E., de Hoog, J., Deutsch, F., Roekens, E., Bleux, N., Berghmans, P., Van Grieken, R., 2006. Seasonal and site-specific variation in vapour and aerosol phase PAHs over Flanders (Belgium) and their relation with anthropogenic activities. *Atmos. Environ.* 40, 771–785.
- Ravindra, K., Sokhi, R., Van Grieken, R., 2008. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmos. Environ.* 42, 2895–2921.
- Reche, C., Moreno, T., Amato, F., Viana, M., van Drooge, B.L., Chuang, H.-C., Bérubé, K., Jones, T., Alastuey, A., Querol, X., 2012. A multidisciplinary approach to characterise exposure risk and toxicological effects of PM₁₀ and PM_{2.5} samples in urban environments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 78, 327–335.
- Rodríguez, S., Querol, X., Alastuey, A., Viana, M.-M., Alarcón, M., Mantilla, E., Ruiz, C., 2004. Comparative PM₁₀–PM_{2.5} source contribution study at rural, urban and industrial sites during PM episodes in Eastern Spain. *Sci. Total Environ.* 328, 95–113.
- Rogge, W.F., Medeiros, P.M., Simoneit, B.R.T., 2006. Organic marker compounds for surface soil and fugitive dust from open lot dairies and cattle feedlots. *Atmos. Environ.* 40, 27–49.
- Senlin, L., Zhenkun, Y., Xiaohui, C., Minghong, W., Guoying, S., Jiamo, F., Paul, D., 2008. The relationship between physicochemical characterization and the potential toxicity of fine particulates (PM_{2.5}) in Shanghai atmosphere. *Atmos. Environ.* 42, 7205–7214.
- Sillanpää, M., Hillamo, R., Saarikoski, S., Frey, A., Pennanen, A., Makkonen, U., Spolnik, Z., Van Grieken, R., Braniš, M., Brunekreef, B., Chalbot, M.-C., Kuhlbusch, T., Sunyer, J., Kerminen, V.-M., Kulmala, M., Salonen, R.O., 2006. Chemical composition and mass closure of particulate matter at six urban sites in Europe. *Atmos. Environ.* 40, Supplement 2, 212–223.
- Tobiszewski, M., Namieśnik, J., 2012. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environ. Pollut.* 162, 110–119.
- Van Drooge, B.L., Ballesta, P.P., 2009. Seasonal and Daily Source Apportionment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Concentrations in PM₁₀ in a Semirural European Area. *Environ. Sci. Technol.* 43, 7310–7316.
- Vasilakos, C., Pateraki, S., Veros, D., Maggos, T., Michopoulos, J., Saraga, D., Helmis, C.G., 2007. Temporal determination of heavy metals in PM_{2.5} aerosols in a suburban site of Athens, Greece. *J. Atmospheric Chem.* 57, 1–17.
- Wang, J., Hu, Z., Chen, Y., Chen, Z., Xu, S., 2013. Contamination characteristics and possible sources of PM₁₀ and PM_{2.5} in different functional areas of Shanghai, China. *Atmos. Environ.* 68, 221–229.
- Weinstein, J.P., Hedges, S.R., Kimbrough, S., 2010. Characterization and aerosol mass balance of PM_{2.5} and PM₁₀ collected in Conakry, Guinea during the 2004 Harmattan period. *Chemosphere* 78, 980–988.

- World Health Organization, 2000. Air Quality Guidelines for Europe, World Health Organization Regional Office for Europe, Copenhagen
http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/74732/E71922.pdf (accessed 4.28.13).
- World Health Organization, 2006. World Health Organization, Public Health and Environment, PHE - WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide - Global update 2005 http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_SDE_PHE_OEH_06.02_fre.pdf (accessed 4.27.13).
- Yoshida, T., Yoshioka, Y., Fujimura, M., Kayamuro, H., Yamashita, K., Higashisaka, K., Nakanishi, R., Morishita, Y., Nabeshi, H., Yamashita, T., Muroi, M., Tanamoto, K., Nagano, K., Abe, Y., Kamada, H., Kawai, Y., Mayumi, T., Itoh, N., Yoshikawa, T., Tsunoda, S., Tsutsumi, Y., 2010. Urban Aerosols Induce Pro-inflammatory Cytokine Production in Macrophages and Cause Airway Inflammation *in Vivo*. *Biol. Pharm. Bull.* 33, 780–783.
- Zhu, R., Chen, Y., Wu, S., Deng, F., Liu, Y., Yao, W., 2013. The Relationship between Particulate Matter (PM_{10}) and Hospitalizations and Mortality Of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Meta-Analysis. *Copd J. Chronic Obstr. Pulm. Dis.* 10, 307–315.

Chapitre 5

*Réponses biologiques des cellules pulmonaires
exposées aux particules*

Synthèse de la publication 3

Les particules atmosphériques correspondent à un mélange complexe notamment au regard de la diversité des composés chimiques qu'elles renferment. Leurs propriétés sont souvent conditionnées par leurs sources d'émission, qui peuvent être, comme nous l'avons déjà évoqué, naturelles ou anthropiques. L'appareil respiratoire constitue logiquement la principale voie d'exposition de l'être humain à ces particules atmosphériques, qui sont, selon de nombreuses études épidémiologiques, à l'origine de nombreuses pathologies cardio-respiratoires parmi lesquelles l'asthme ou le cancer broncho-pulmonaire.

Au regard du taux anormalement élevé de particules en suspension dans l'air de la ville de Cotonou, et de la prédominance de particules de petite taille, caractéristique leur permettant de pénétrer profondément dans l'appareil respiratoire afin d'y exercer leur toxicité, qui est de plus exacerbée par le cocktail de composés chimiques adsorbés à leur surface, il nous est apparu important d'évaluer leur potentiel toxique au travers d'une étude *in vitro* menée sur des cellules épithéliales bronchiques humaine d'origine normale (BEAS-2B) qui sera présentée dans le présent chapitre.

1. Cytotoxicité globale

Après exposition des cellules aux particules, des augmentations significatives de la LDH extracellulaire ont été observées après 48 et/ou 72 h d'exposition à des concentrations supérieures à 3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de $\text{PM}_{2.5}$ et $\text{PM}_{>2.5}$. L'activité de la DHm révèle quant à elle des diminutions significatives lorsque les cellules sont exposées aux $\text{PM}_{2.5}$ à des concentrations $> 12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, $> 24 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ et $> 48 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ respectivement pendant 72 h, 48 h et 24 h d'incubation. Ces diminutions étaient également constatées chez les cellules exposées aux $\text{PM}_{>2.5}$ lorsque les concentrations excédaient 24 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ pendant 72 h et 48 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ pendant 24 et

48 h d'exposition. De même, les résultats de l'incorporation de la BrdU à l'ADN n'ont été significatifs (diminution) qu'après exposition des cellules à des concentrations supérieures à 24 µg/cm² et ce quel que soit le type de particules et la durée d'exposition.

2. Expression génique et activation métabolique des xénobiotiques

Les résultats sur les enzymes impliquées dans la métabolisation des xénobiotiques ont montré une expression significative des gènes codant pour le CYP1B1 et la NQO1 dans les cellules BEAS-2B exposées aux échantillons de particules fines et plus grossières. La réponse dose-dépendante du gène CYP1B1 n'a été observée qu'après 48 h d'exposition aux PM_{2.5} et après 24 h et 48 h d'exposition aux PM_{>2.5}. En ce qui concerne l'induction de l'expression génique de la NQO1, la réponse dose-dépendante était marquée après 72 h d'exposition aux particules fines et après 24 h dans les cellules exposées aux particules plus grossières. L'expression du gène AhR était également induite de façon significative chez les cellules exposées pendant 48 h à 3 µg/cm² et 72 h à 12 µg/cm² aux PM_{2.5}, et pendant 48 et 72 h à 3 µg/cm² aux PM_{>2.5}. Par contre, le gène de l'ARNT n'était exprimé significativement qu'après 48 h d'exposition à 3 µg/cm² aux PM_{2.5} et à 3 et 12 µg/cm² chez les cellules exposées aux PM_{>2.5}. Pour ces deux gènes, la relation dose-dépendante n'a été observée qu'après 48 h chez les cellules exposées aux particules grossières à 12 µg/cm². Par ailleurs, il faut noter que le gène de l'AhRR n'était exprimé de manière significative uniquement après 24 h d'exposition. Il est à noter que les gènes codant pour les CYP1A1 et CYP2E1 n'ont pas été détectés et ce quelles que soient les conditions d'exposition (données non présentées).

3. Réponses oxydatives des cellules exposées aux particules

Les deux échantillons de particules ont induit un déséquilibre du statut en glutathion, ainsi que des augmentations significatives des concentrations de la SOD et de MDA dans les cellules BEAS-2B après 24, 48 et 72 h d'exposition. Concernant le ratio GSSG/GSH, une réponse dose-dépendante significative n'a été observée que chez les cellules exposées pendant 72 h aux PM_{2.5} à la concentration 12 µg/cm².

Cette relation a été également constatée au niveau de la SOD et du MDA, mais uniquement après 72 h d'exposition aux PM_{2.5} et PM_{>2.5}.

4. Réponses inflammatoires des cellules exposées aux particules

Il faut souligner que l'expression génique de TNF- α n'a pas été détectée dans les cellules BEAS-2B exposées aux particules alors que des inductions significatives par les PM de l'expression de gènes des cytokines inflammatoires IL-1 β , IL-6 et IL-8 ont été observées suite à l'exposition aux PM (après 24 et 48 h de l'exposition et seulement IL-8 après 72 h). Des réponses dose-dépendantes significatives ont été observées pour la transcription du gène IL-1 β seulement chez les cellules exposées pendant 48 et 72 h aux PM_{2.5} à la concentration 12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Cette relation dose-dépendante a été significative pour l'IL-6 et l'IL-8 dans les BEAS-2B exposées aux deux types de particules à 12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ après 24 et 48 h. De plus, l'effet de la durée d'exposition (relation temps-dépendante) sur la transcription des gènes inflammatoires était également statistiquement significatif, en particulier pour les plus fortes concentrations de PM (12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

Concernant la sécrétion protéique d'IL-6 et IL-8, des augmentations importantes ont été observées dans les surnageants de culture lorsque les cellules BEAS-2B étaient exposées aux deux types de particules. Cependant, peu de productions significatives d'IL-1 β et TNF- α ont été constatées et ce quelles que soient les conditions d'exposition. Néanmoins, on retrouve chez les cellules exposées aux deux PM des réponses dose-dépendantes et temps-dépendantes très significatives pour la sécrétion d'IL-6 et IL-8.

D'autres médiateurs impliqués dans les processus inflammatoires tels que les métabolites de l'acide arachidonique ont également été étudiés. Les résultats ont montré que les concentrations en leucotriènes (LTB₄, LTC₄, et LTE₄), en prostaglandine PGE₂ et en thromboxane TXB₂ n'ont pas connu de modification après exposition des cellules aux deux échantillons de particules. Une légère

modification a cependant été observée chez les cellules exposées pendant 72 h à la concentration 12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de $\text{PM}_{>2.5}$.

Dans cette étude, de nombreuses corrélations entre les différents paramètres étudiés ont pu être mises en évidence, mais nous avons choisi de ne présenter que les corrélations les plus fortes ($r \geq 0,8$, $p < 0,01$) existant entre les différents paramètres étudiés. Pour éviter une répétition inutile, ces corrélations ont été présentées dans la publication ci-après.

5. Publication 3: Proinflammatory effects and oxidative stress within human bronchial epithelial cells exposed to atmospheric particulate matter (PM_{2.5} and PM_{>2.5}) collected from Cotonou, Benin
Environmental Pollution, 2014

Proinflammatory effects and oxidative stress within human bronchial epithelial cells exposed to atmospheric particulate matter (PM_{2.5} and PM_{>2.5}) collected from Cotonou, Benin

Boris Fresnel Cachon^{a,b,c}, Stéphane Firmin^{b,d}, Anthony Verdin^b, Lucie Ayi-Fanou^c, Sylvain Billet^{a,b}, Fabrice Cazier^{a,e}, Perrine J. Martin^{a,b}, Faustin Aissi^a, Dominique Courcot^{a,b}, Ambaliou Sanni^c & Pirouz Shirali^{a,b}

^a Université Lille Nord de France, Lille, France

^b Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV) EA 4492, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 2, Université du Littoral Côte d'Opale, 189A Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

^c Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 04 BP 0320 Cotonou, Bénin

^d UPSP-EGEAL, Institut Polytechnique LaSalle Beauvais, 60026 Beauvais Cedex, France

^e Centre Commun de Mesures, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 1, Université du Littoral Côte d'Opale, 145 Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

Corresponding author: Anthony VERDIN

Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV) EA 4492, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 2, Université du Littoral Côte d'Opale, 189A Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

Tel: +33 3 28237611

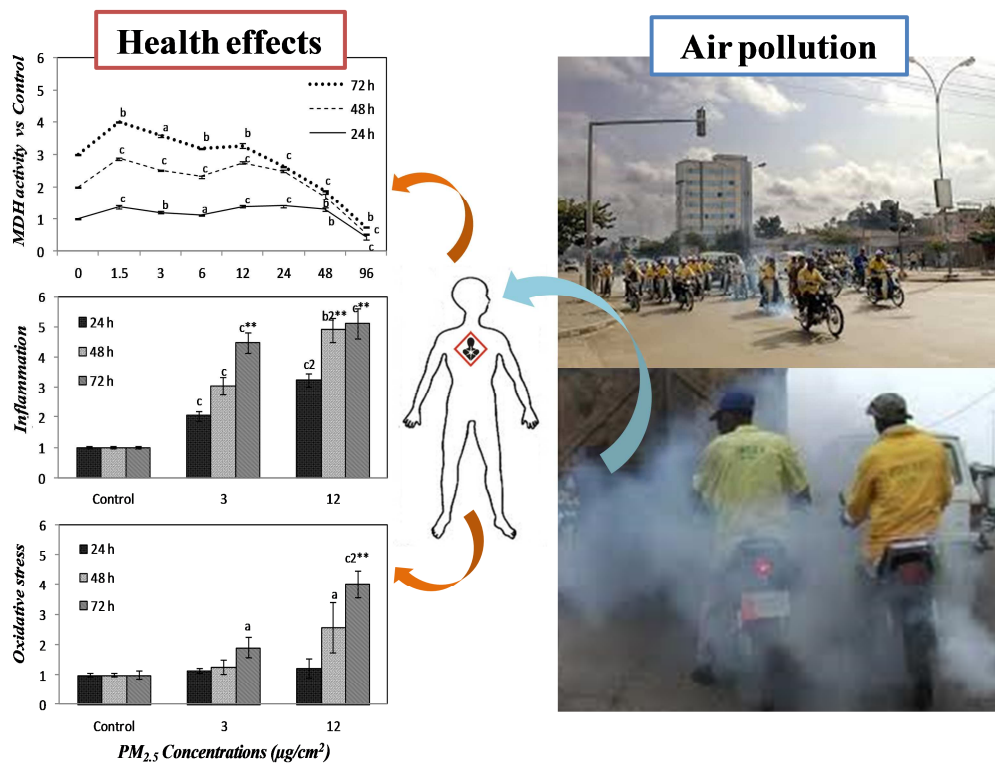
E-mail address: verdin@univ-littoral.fr

Abstract

After particulate matter (PM) collection in Cotonou (Benin), a complete physicochemical characterization of PM_{2.5} and PM_{>2.5} was led. Then, their adverse health effects were evaluated by using *in vitro* culture of human lung cells. BEAS-2B (bronchial epithelial cells) were intoxicated during short-term exposure at increasing PM concentrations (1.5-96 µg/cm²) to determine global cytotoxicity. Hence, cells were exposed to 3 and 12 µg/cm² to investigate the potential biological imbalance generated by PM toxicity. Our findings showed the ability of both PM to induce oxidative stress and to cause inflammatory cytokines/chemokines gene expression and secretion. Furthermore, PM were able to induce gene expression of enzymes involved in the xenobiotic metabolism pathway. Strong correlations between gene expression of metabolizing enzymes, proinflammatory responses and cell cycle alteration were found, as well as between proinflammatory responses and cell viability. Stress oxidant parameters were highly correlated with expression and protein secretion of inflammatory mediators.

Keywords: Benin, cytotoxicity, inflammatory response, oxidative stress, particulate matter

Graphical abstract



1. Introduction

Numerous epidemiological studies have already established the link between ambient air particulate matter (PM) exposure and appearance of diseases such as lung cancer, cardiopulmonary mortality and morbidity (Kelly and Fussell, 2012; Khan et al., 2010; Merbitz et al., 2012; Pope et al., 2011; Raaschou-Nielsen et al., 2011; Sun et al., 2012; Turner et al., 2011). Airborne particulate matters, especially fine particles (with aerodynamic diameter less than 2.5 μm), are able to adsorb more toxic pollutants such as volatile organic compounds (VOCs), heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), biological components, carbonaceous materials, etc. (Longhin et al., 2013; Osornio-Vargas et al., 2011; Perrone et al., 2010). They were described as having the capacity to penetrate deeply into the human respiratory system (Badyda et al., 2013; Chuang et al., 2013; Wang et al., 2013) and to reach the lung alveoli (Boublil et al., 2013; Li et al., 2013), the air-blood gas exchanges head. Studies of exposure to these particles suggested that compounds adsorbed on PM have the ability to alter cell permeability by inducing production of reactive oxygen species. They also induce cell mediated responses (e.g. chemokine and cytokine secretion) in the lung airway as a result of oxidative stress in cells, causing DNA damage and cell death (Dergham et al., 2012; Gualtieri et al., 2011; Okuda, 2013; Reche et al., 2012). Coarse particles (with an aerodynamic diameter higher than 2.5 μm) are also well-known for their cytotoxic and proinflammatory properties (Camatini et al., 2012; Gualtieri et al., 2010; Longhin et al., 2013). It was suggested that compounds adsorbed on PM can play an important role in the appearance of mutations, cancer and allergic reactions. These effects conduct to reduce respiratory function, particularly

in people with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma (Boublil et al., 2013; Gualtieri et al., 2010; Michael et al., 2013). Several toxicological studies have already been conducted in order to evaluate the particulate matters effects and to have a better understanding of the underlying biological mechanisms (Boublil et al., 2013; Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Sun et al., 2012), but relatively few data are available at the moment.

Accordingly, monitoring tools designed to focus on high impact of air particulate matter were implemented particularly in developed countries. This helps to promulgate PM regulation which plays an active role in strengthening the protection of public health by decreasing the high concentration of air pollution by particulate matter. On the contrary, in most developing countries, few measures are taken to limit the growing PM concentration in atmosphere and limited data are available concerning adverse health effects assessment of airborne particulate matter in these countries (Adohinzin et al., 2011; Diouf et al., 2006; Kouassi et al., 2010). Recent toxicological studies conducted in Sub-Saharan Africa countries, more precisely in Dakar (Senegal, Dieme et al., 2012), Abidjan (Côte d'Ivoire, Kouassi et al., 2010) have pointed out the heterogeneity of PM composition. In these works, these African particles were shown as having the capacity to cause adverse health effects (Dieme et al., 2012; Kouassi et al., 2010). Cotonou, the economic capital of Benin, was recently described as having poor air quality (Cachon et al., 2013). The air pollution of this city is due to a widespread utilization of motorbikes and old second-hand cars using poor quality fuel coming illegally from Nigeria (Avogbe et al., 2005, 2011; Ayi Fanou et al., 2006; Cachon et al., 2013). Moreover, Ayi-Fanou et al. (2011) showed a relationship between high level of air pollution in Cotonou and DNA adducts formation within the city residents, while Avogbe et al. (2011) reported an impact of urban air pollution on hematological system among the motorbike-taxi drivers of Cotonou.

Thereafter, it appears important to investigate the toxic potential of Cotonou airborne particulate matter in order to contribute to a better understanding of the underlying biological mechanisms for PM-induced lung diseases in Sub-Saharan Africa countries. In this study, fine particles (i.e. PM_{2.5}) and fraction of particles with aerodynamic diameters above 2.5µm (PM_{>2.5}) were sampled in Cotonou, in a site representative of high traffic condition. Main objectives of our work were to determine possible adverse effects of these particles on human bronchial epithelial cells (i.e. BEAS-2B) by the global cytotoxicity responses through the alteration of cell permeability, cellular viability and cell proliferation. Afterward, to better understand the effects of PM-adsorbed compounds, the expression level of several genes involved in polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and/or volatile organic compounds (VOCs)-metabolism (e.g. cytochrome P450 CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1, NADPH quinone oxido-reductase-1 (NQO1), Aryl hydrocarbon receptor (AhR), Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT), Aryl hydrocarbon receptor repressor (AhRR)) were studied in BEAS-2B exposed to each particle type. Then, to investigate PM-induced oxidative stress, superoxide dismutase (SOD), glutathione status alteration (i.e., glutathione disulfide/reduced glutathione) and malondialdehyde (MDA) production were evaluated. On the other side, particular attention has been paid to the inflammatory mediators (i.e. tumor necrosis factor alpha, TNF-α; interleukin 1 beta, IL-1β; interleukin 6, IL-6; interleukin 8, IL-8) by the gene expression and the protein cytokine secretion measurement as well as other proinflammatory mediators derived from arachidonic metabolism such as prostaglandin, PGE₂; thromboxane, TXB₂; and leukotrienes, LTB₄, LTC₄, LTE₄ analysis.

2. Experimental analysis

2.1. Laboratory reagents

LONZA Sales Ltd (Switzerland) provided cell culture growth medium (BEBM, CC-3170). Cell Proliferation Reagent (WST-1), Cytotoxicity Detection Kit (LDH) and Cell Proliferation ELISA (BrdU) were purchased from Roche Diagnostics (Neuilly-sur-Seine, France). CellBIND[®] surface plastic flasks were from ThermoFisher Scientific (Illkirch, France). TaqMan[®] Gene Expression Cells-to-CT[™] kits and

TaqMan® Gene Expression Assays were from Life Technologies (St Aubin, France). EIA Kits were from Cayman Chemical (Interchim, Montluçon, France), Quantikine® ELISA Kits and Superoxide Dismutase Assay Kit were from R&D Systems Europe, Ltd. (Abingdon, UK). All other chemicals were from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).

2.2. Methods

2.2.1. Particulate matter sampling

PM_{2.5} and PM_{>2.5} samples were collected in Cotonou, Benin (Fig. 1), exactly at St Michel (6°22'2.3"N/2°25'46.4"E), the district which record a dense traffic and where the roofs of the houses are covered of soot. Particles were obtained using high volume cascade impaction air samplers (Staplex 235, New-York, USA), as collection method already described by Billet et al. (2007). Briefly, impactor's plates were mounted without any filter and backup filter in order to maintain a constant aspiration flow rate (i.e., 80 m³/h). The impactor system consists in 6 impaction plates collecting particles from 7.2 µm to 0.33 µm. In our study, we chose to partition the sampling into two PM size: particles ranging from 2.5 µm to 0.33 µm named PM_{2.5} and particles ranging from 7.2 µm to 2.5 µm named PM_{>2.5}.



Fig. 1. Location map of the study area. Sampling was carried out at the very core of Cotonou, Benin.

Samplings were done on continuous collection from November 16, 2010 until December 08, 2010. Two identical impacting systems were used alternatively, protected of the possible rains and changed every three days. Sampling pumps were placed to approximately 50 meters of the crossroad and about 1.5 m above the ground. After PM sampling, impactor plates were dried under a laminar flow bench. Then, PM were removed from plates and divided into two size fractions, particles with

aerodynamic diameters below 2.5 μm (fine particles $\text{PM}_{2.5}$) and particles with aerodynamic diameters above 2.5 μm (coarse particles $\text{PM}_{>2.5}$). The two types of particles were immediately stored at -20 °C in cleaned vials.

2.2.2. Human cell line and culture conditions

The cell line used for this work was BEAS-2B, originally derived from normal bronchial epithelial human cells obtained from autopsy of noncancerous individuals. BEAS-2B cell line transfected with hybrid virus (adenovirus 12-SV40) was obtained from European Collection of Cell Cultures (ECACC, Wiltshire, UK - reference 95102433).

BEAS-2B cells were cultured in CellBIND[®] surface plastic flasks containing Bronchial Epithelial cell Basal Medium (BEBM). BEBM was previously supplemented with 0.1% (v/v) human recombinant epidermal growth factor, 0.1% (v/v) insulin, 0.1% (v/v) hydrocortisone, 0.1% (v/v) triiodothyronine, 0.1% (v/v) retinoic acid, 0.1% (v/v) epinephrine, 0.1% (v/v) transferrin, 0.1% (v/v) gentamicin sulfate amphotericin-B, and 0.4% (v/v) bovine pituitary extract (BEGM[™] Bronchial Epithelial cell Growth Medium BulletKit), as published by Dieme et al. (2012). Flasks were placed in a humidified atmosphere containing 5% CO_2 at 37 °C. Cells were subcultured when the flasks were 80% confluence, by using 0.25% trypsin/0.53 mM versene solution containing 0.5% (w/v) polyvinylpyrrolidone (Sigma-Aldrich). Medium was refreshed every 2-3 days, and cells were subcultured weekly (1 500-3 000 cells/ cm^2). BEAS-2B cells derived from the same initial cell culture were used for all parameters studied.

2.2.3. Cell exposure and cytotoxicity study

BEAS-2B cells were seeded in 96 well CellBIND[®] surface microplates at a density of 10 000 cells/well/200 μL BEGM, 5 000 cells/well/200 μL BEGM and 2 500 cells/well/200 μL BEGM for 24 h, 48 h and 72 h of exposure, respectively. BEAS-2B cells were then cultured at 37 °C in a 5% CO_2 humidified atmosphere. Cells were exposed to particulate matter $\text{PM}_{2.5}$ and $\text{PM}_{>2.5}$ with increasing concentrations ranging from 1.5 to 96 $\mu\text{g PM}/\text{cm}^2$. Microplates contained 8 replicates of each concentration of PM solution containing 1 % v/v fungizone and previously sonicated during 10 min, 8 replicates of positive controls (i.e. 1 % v/v Triton X-100 in final volume), and 16 replicates of negative controls (i.e. wells containing only nonexposed cells in BEGM). These positive and negative controls correspond to 100 % cell mortality and 100 % cell viability, respectively.

After each exposure time (i.e. 24, 48 or 72 h), the cytotoxicity in BEAS-2B cells was evaluated as published by Billet et al. (2007). Cell-free culture supernatants (100 μL) were transferred to another 96 well microplates (Nunc) in order to study extracellular (i.e. released in the culture medium) lactate dehydrogenase (LDH) activity by Cytotoxicity Detection Kit (LDH). The microplates containing the remaining supernatant with adherent cells were used to quantify mitochondrial dehydrogenase (MDH) activity in cells by using the Cell Proliferation Reagent (WST-1). Finally, for cell proliferation determination, BrdU labeling solution was added simultaneously to PM-intoxicated solution in specific "BrdU test" microplates 24h (20 $\mu\text{L}/\text{well}$), 48 h (40 $\mu\text{L}/\text{well}$) and 72h (60 $\mu\text{L}/\text{well}$). This allows us to study cell proliferation study by quantifying 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) incorporation in cells using the Cell Proliferation ELISA BrdU kit.

2.2.4. Cells sampling for xenobiotic metabolizing enzymes and inflammatory cytokines gene expression study

Cell exposure

BEAS-2B cells were seeded in 6 wells CellBIND[®] surface microplates at a density of 250 000 cells/well/1.5 mL BEGM, 125 000 cells/well/1.5 mL BEGM and 62 500 cells/well/1.5 mL BEGM for 24 h, 48 h and 72 h of exposure, respectively. Cells were exposed to each PM samples at two concentrations

3 and 12 µg PM/cm². PM solutions were prepared with 1 % v/v fungizone in final volume of well, and then sonicated during 10 min before addition to exposed wells.

Cells sampling

After each exposure time (i.e. 24, 48 or 72 h), culture supernatants were entirely removed and adherent cells were washed twice with 2 mL of cold phosphate-buffered saline (PBS, 0.01 M - pH 7.2). Then, microplates were quickly frozen at -80 °C until further study of gene expression of PAHs and/or VOCs metabolizing enzymes (i.e. CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1, NQO1, AhR, ARNT and AhRR) and gene expression of inflammatory mediators (i.e. TNF-α, IL-1β, IL-6, and IL-8).

Gene expression profiles

TaqMan[®] Gene Expression Cells-to-CT[™] kit was used to study gene expression profiles of inflammatory cytokines and xenobiotic metabolizing enzymes. The used TaqMan[®] Gene Expression assays were Hs00153120_m1 (CYP1A1), Hs00164383_m1 (CYP1B1), Hs00559368_m1 (CYP2E1), Hs00168547_m1 (NQO1), Hs00169233_m1 (AhR), Hs 01121918_m1 (ARNT), Hs01005075_m1 (AhRR), Hs99999043_m1 (TNF-α), Hs00174097_m1 (IL-1β), Hs00174131_m1 (IL-6) and Hs00174103_m1 (IL-8) provided by Life Technologies (St Aubin, France). Real time quantitative polymerase chain reactions (qPCR) were performed using a 7500 Fast Real-Time PCR System with the Sequence Detection 7500 Software v2.0.3 (Applied Biosystems). In a real time PCR assay, a positive reaction is detected by accumulation of a fluorescent signal. The threshold cycle (Ct) reflects the cycle number for which the generated fluorescence within a reaction crosses the threshold. (i.e. exceeds background level). Thereby, Ct levels are inversely proportional to the amount of target nucleic acid (e.g. mRNA) in the sample (i.e. the lower the Ct level the greater the initial amount of target nucleic acid in the sample). For each sample, the relative quantitation (RQ) in gene expression was first time calculated normalizing with endogenous ribosomal 18s RNA (i.e. Hs99999901_s1) used as the housekeeping gene. This corresponds to the normalization relative to the initial amount of target nucleic acid in the sample ($\Delta Ct = Ct_{(\text{target gene})} - Ct_{(18s \text{ RNA})}$). Then, the difference between targets mRNA levels in exposed cells and in nonexposed cells ($\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{(\text{exposed cells})} - \Delta Ct_{(\text{nonexposed cells})}$) is used to calculate the RQ = $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

2.2.5. Culture supernatants and cells sampling for inflammatory protein expression and oxidative damage study

Cell exposure

BEAS-2B cells were seeded in 150 cm² CellBIND[®] surface flasks (Corning) at a density of 4 000 000 cells/flask/30 mL BEGM, 2 000 000 cells/flask/30 mL BEGM and 1 000 000 cells/flask/30 mL BEGM for 24 h, 48 h and 72 h of exposure, respectively in a humidified atmosphere containing 5% CO₂ at 37 °C. Cells in flask were exposed to each PM samples at two concentrations 3 and 12 µg PM/cm². PM solutions were prepared with 1 % v/v fungizone in final volume of flask, and then were sonicated during 10 min before exposure.

Culture supernatants and cells sampling

After each time of exposure (i.e. 24, 48, or 72 h), aliquots of cell-free culture supernatants were collected and quickly frozen at -80 °C until further analysis of TNF-α, IL-1β, IL-6 and IL-8 protein expression and total protein contents. Remaining supernatants of flask were removed and cells were collected and centrifuged at 200 g, 4 °C during 10 min. Then, cell pellets were washed twice with 4 mL of cold PBS (0.01 M; pH 7.2) and dispatched into microtube according to the different parameters under study. Tubes containing cell suspensions were centrifuged as previously described. Thereafter, cell-free supernatants were removed and cell pellets were stayed for a few seconds in liquid nitrogen, and then

immediately stored at -80 °C until further study of other inflammatory mediators derived from arachidonic acid (LTB₄, LTC₄, LTE₄, PGE₂ and TXB₂), oxidative damage and total protein contents.

Preparation of cytosolic extracts from cells

Cell pellets (~ 5 000 000) were sonicated with cold Tris-HCl (100 mM, pH 7.5, EDTA 1 mM) and centrifuged at 10 000 g during 15 min, 4 °C. Supernatants were removed and stored at -80 °C, and used shortly after to study superoxide dismutase activity by using Superoxide Dismutase Assay Kit (R&D Systems Europe, Ltd. Abingdon, UK).

Inflammatory cytokines secretion

Cell-free culture supernatants were used according to the manufacturer method in order to determine TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-8 concentrations by using Quantikine[®] ELISA Kits provided by R&D Systems Europe, Ltd. Concentrations were based on protein amount within each sample. Hence, total protein contents in cell-free culture supernatants were determined as published by Smith et al. (1985) using the bicinchoninic acid (BCA) Protein Assay kit from Sigma-Aldrich. Briefly, 25 μ L of supernatants or standard (bovine serum albumin, BSA) were added to microplate wells and then 200 μ L of reaction buffer 2 % (copper II sulfate/bicinchoninic acid, v/v). Microplates were read at 562 nm after an incubation of 30 min at 37 °C.

Sample preparation and solid phase extraction for arachidonic acid metabolites study

Cell-free culture supernatants were purified by using solid phase extraction (SPE) method with vacuum manifold, and standard columns PolyClean[™] HXC supplied by Interchim (Montluçon, France). Sorbent columns are mixed polymer (hydrophilic / hydrophobic) and in polypropylene (100 mg/1 mL) with 60 μ m as particle diameter of polyethylene frits. Briefly, cell-free culture supernatants were previously added to 5 μ L of Butylated Hydroxytoluene BHT 1 % (w/v in methanol) in order to prevent lipid peroxidation. Thereafter, cell-free culture supernatants were acidified with 250 μ L of cold HCl (1 M) for protein denaturation and centrifuged at 1 900 g. Supernatants were removed and purified by polyclean columns (conditioning: 100 % MeOH 5 mL / 100 % ultrapure water 5 mL, pH 3.0). After loading 10.5 mL of supernatants, columns were rinsed to remove all impurity with washing solvent (H₂O pH 3.0/MeOH, 95/5, v/v: 10 mL) and dried 2 min to eliminate water. Before elution, 5 μ L of BHT 1 % were added and columns were eluted by cold elution solvent (ethyl acetate/methanol, 95/5, v/v, 750 μ L). This last step was repeated four times. After evaporation to dryness under a nitrogen flow, organic extracts were reconstituted in 250 μ L of EIA buffer provided by the manufacturer (EIA Kit, Cayman Chemical, Interchim, Montluçon, France) and directly stored at -80 °C until further study of inflammatory mediators derived from arachidonic acid (LTB₄, LTC₄, LTE₄, PGE₂, and TXB₂). All arachidonic acid metabolites were studied by using enzyme immunoassay EIA kits from Cayman Chemical (Interchim, Montluçon, France).

Lipid peroxidation study

Formation of malondialdehyde (MDA) during lipid peroxidation of poly-unsaturated fatty acids (e.g. arachidonic acid) was determined by using high-performance liquid chromatography (HPLC, Kromasil 100 Å C-18 column, 150 x 4.6 mm, 5 μ m) from Shimadzu (Kyoto, Japan) equipped with UV Model SPD-M20A detector (Shimadzu USA Manufacturing Inc., Canby, USA). Briefly, 100 μ L of cell suspension (cell pellet in 200 μ L PBS x 1, phosphate buffered saline, pH 7.2) were added on 1 mL HCl 0.1 N in polypropylene tubes. After mixing, 3 mL of ethyl acetate were added and the mixture was stirred during 5 min. Then, tubes were centrifuged at 900 g for 10 min at 4 °C and organic phase was collected. The step was repeated twice and extracts were combined. After evaporation to dryness under nitrogen flow, organic extracts were reconstituted in 100 μ L of methanol. Extracts were added to thiobarbituric acid solution 0.6 % (TBA, w/v in ultrapure water), and heated to 100 °C for 30 min. After cooling, 50 μ L

were injected to HPLC. LC conditions were 60 % methanol (v/v in KH₂PO₄ 0.06 M, pH 6.8) as mobile phase, 0.5 mL/min as flow rate, ambient temperature, wavelength 532 nm, retention time was about 3 min. The concentrations were calculated using LC Solution Version 1.23 software.

Glutathione status study

Ratio of glutathione disulfide (GSSG)/reduced glutathione (GSH) was determined in PM exposed cell by using HPLC/PCD (Post-Column Derivatization) analytical method. Column was Synergi Hydro-RP 80 Å (150 x 4.6 mm, 4 µm). Summary, 400 µL HCl 0.1 N were mixed with cell pellets and sonicated for 10 min, and then centrifuged at 15 000 g for 10 min at 4 °C. Supernatants were removed and instantly analyzed by HPLC. LC/PCD conditions were 0.01 % EDTA (v/v in KH₂PO₄ 0.01M, pH 3.6) as mobile phase, 1 mL/min as flow rate, ambient temperature, emission wavelength 420 nm, excitation wavelength 350 nm, o-phthalaldehyde 0.15 % (OPA, w/v in mobile phase, pH 13.7, 0.5 mL/min). Retention times were 4.4 min and 9 min for GSH and GSSG standards, respectively. Injection volumes for GSH standard were 2 µL and 100 µL for GSSG standard. 2µL and 100 µL of supernatant samples were injected for GSH and GSSG determination, respectively. LC Solution Version 1.23 was used to determine their concentrations.

2.2.6. Statistical analysis

Data from cells exposed to PM_{2.5} and PM_{>2.5} (24, 48, and 72 h) were compared to those from nonexposed cells. Data were expressed as means and standard deviations. Parameters were analyzed by using Mann-Whitney U test and significance levels were also observed for exposure time-dependence and dose-dependence within each parameter. Correlation analysis was performed between all biological markers under study. In this work, Person's r was considered as significant when $r \geq 0.8$, thus $R^2 = 0.64$. This explains the strong bond between the different parameters. A level of $P < 0.05$ was considered as statistically significant. All analyses were conducted using SPSS version 17.0 for Windows software.

3. Results

3.1. Concentrations and compositions of air particulate matter samples

Physicochemical characteristics of PM collected in Cotonou were separately published (Cachon et al., submitted). The Table 1 summarizes the main results obtained on physicochemical characterization of the two PM. Briefly, during the sampling period, the St Michel district (sampling site) has recorded SSW winds as dominant wind direction. Total masses of PM samples collected were 2.3 g and 1.2 g for PM_{2.5} and PM_{>2.5}, respectively. As described above, the cut-off of the last stage is 0.33µm, so only particles ranging from 0.33 to 2.5µm on the one side (PM_{2.5}), and particles with aerodynamic diameter higher than 2.5µm on the other side (PM_{>2.5}), are collected. During collection period, average concentrations of particulate matter in air were 180.9 µg/m³ for PM_{2.5} and 94.5 µg/m³ for PM_{>2.5}. Specific surface areas were 10.7 m²/g for PM_{2.5} and 12.7 m²/g for PM_{>2.5}. Concentrations of different inorganic and organic compounds (e.g. Al, Fe, Mn, lead, sulfate, nitrate, organic carbon, VOCs, PAHs, fatty acids) were higher in PM_{2.5} than in PM_{>2.5}. Identification tools (diagnostic ratio of VOCs, PAHs and fatty acids) for source determination indicated that pollutants adsorbed on PM were mainly from anthropogenic emission sources, and particularly from traffic emissions.

3.2. Study of PM cytotoxicity in BEAS-2B cells

After BEAS-2B cell exposure to increasing concentrations of PM_{2.5} and PM_{>2.5} during 24, 48 and 72h, extracellular LDH activity, MDH activity and BrdU incorporation into cell DNA were determined. Figure 2A and 2B showed that extracellular LDH activity in cell-free culture supernatants was significantly enhanced versus nonexposed cells after 48 and/or 72 h of exposure to PM_{2.5} and PM_{>2.5} for concentrations higher than 3 µg/cm². Contrariwise, for 24h exposed cells and for both particles, this increase of extracellular LDH activity was significant only for PM concentrations higher than 48 µg/cm².

Table 1

Various compounds investigated on both particulate matters.

Element	PM _{2.5}		PM _{>2.5}	
	ng/m ³	%	ng/m ³	%
Al	4 491	41.7	2 261	39.8
Fe	3 705	34.4	2 009	35.4
Mg	756	7.0	402	7.1
Mn	68	0.6	34	0.6
Na	1 341	12.4	774	13.6
Pb	22	0.2	11	0.2
Zn	145	1.3	71	1.3
Total	1 078		568	
SO ₄ ²⁻		21.5		16.6
NO ₃ ⁻		13.0		5.8
Total C		22.97		14.09
OC/TC		92.3		90.9
VOCs				
Benzene	0.46		0.05	
Toluene	1.81		0.07	
Ethylbenzene	0.83		0.10	
o-Xylene	3.47		0.07	
Other	2.33		0.91	
Total	8.90		1.2	
PAHs				
Fluoranthene	0.11		0.03	
Pyrene	0.28		0.06	
Chrysene	0.26		0.01	
Benzo[a]Pyrene	0.24		0.01	
Other	1.10		0.11	
Total	1.99		0.22	
Paraffins				
Tricosane	1.64		0.52	
Tetracosane	1.52		0.57	
Heptacosane	1.55		0.81	
Tritriacontane	1.86		0.52	
Other	10.28		8.15	
Total	16.85		10.57	
Fatty acids				
Hexadecanoic acid		36.4		26.9
Octadecanoic acid		9.6		7.1
Oleic acid		3.1		5.0
Tetradecanoic acid		5.4		5.5

VOCs = Volatile Organic Compounds, PAHs = Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, OC/TC = percentage of organic carbon/total carbon.

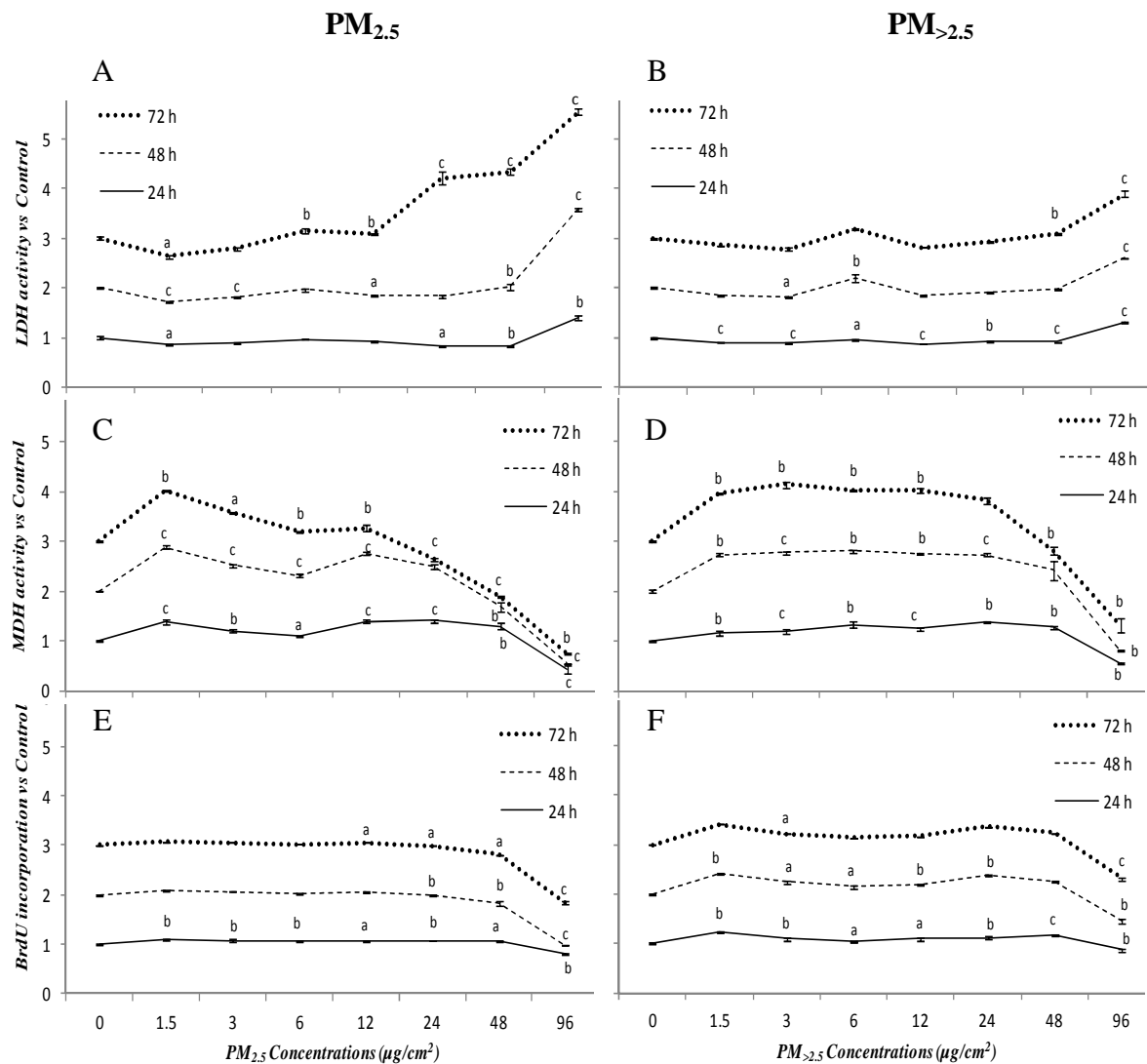


Fig. 2. Global cytotoxicity in BEAS-2B cells after exposure to increasing concentrations of PM during 24, 48 and 72 h.

Extracellular lactate dehydrogenase (LDH) activity induced by $PM_{2.5}$ (A) and $PM_{>2.5}$ (B) exposure. Mitochondrial dehydrogenase (MDH) induced by $PM_{2.5}$ (C) and $PM_{>2.5}$ (D) exposure. 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) incorporation induced by $PM_{2.5}$ (E) and $PM_{>2.5}$ (F) exposure. Results are expressed by mean \pm standard error on all raw data (nonexposed cells, $n = 16$; exposed cells, $n = 8$ for each PM concentration). Mann-Whitney U test versus nonexposed cells; a = $p < 0.05$; b = $p < 0.01$; c = $p < 0.001$.

N.B.: Control absolute values (LDH: 24h = 0.58 absorbance unit, 48h = 0.50 absorbance unit, 72h = 0.55 absorbance unit; MDH: 24h = 0.46 absorbance unit, 48h = 0.42 absorbance unit, 72h = 0.53 absorbance unit; BrdU: 24h = 1.97 absorbance units, 48h = 2.05 absorbance units, 72h = 2.04 absorbance units).

Concerning MDH activity of PM_{2.5} exposed cells, significant declines were observed at concentrations > 12 µg/cm², > 24 µg/cm² and > 48 µg/cm² for 72 h, 48 h and 24 h of exposure duration respectively (Fig. 2C). On the other side, for PM_{>2.5} exposed cells, these significant decreases were noted at concentrations > 24 µg/cm² for 72 h and > 48 µg/cm² for 24 and 48 h of exposure duration (Fig. 2D). Finally, BrdU incorporation was significantly dropped after exposure to PM_{2.5} and PM_{>2.5} at concentrations higher than 24 µg/cm² whatever the exposure duration (Fig. 2E, 2F).

3.3. Gene expression of xenobiotic metabolizing enzymes

Table 2 showed that CYP1B1 and NQO1 genes were significantly induced in BEAS-2B cells exposed to each PM samples during 24, 48 and 72 h versus nonexposed cells.

Table 2

BEAS-2B gene expression of xenobiotic metabolizing enzymes after PM_{2.5} and PM_{>2.5} exposure.

		Metabolic activation			
		Concentrations	24 h	48 h	72 h
<i>CYP1B1</i>	Control	0 µg/cm ²	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.09
	PM _{2.5}	3 µg/cm ²	8.24 ± 1.25^b	2.21 ± 0.13^b	5.13 ± 1.64^a
		12 µg/cm ²	6.01 ± 0.41^b	3.09 ± 0.22^{b1}	6.46 ± 1.10^b
	PM _{>2.5}	3 µg/cm ²	5.14 ± 0.93^b	1.94 ± 0.20^b	6.65 ± 2.05^b
		12 µg/cm ²	8.82 ± 0.70^{b1}	3.64 ± 0.34^{b2}	7.12 ± 1.85^b
	<i>NQO1</i>	Control	0 µg/cm ²	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.06
PM _{2.5}		3 µg/cm ²	1.23 ± 0.11	1.18 ± 0.07	1.72 ± 0.27^a
		12 µg/cm ²	2.26 ± 0.35^b	1.04 ± 0.13	3.03 ± 0.36^{c1}
PM _{>2.5}		3 µg/cm ²	1.39 ± 0.04^b	1.22 ± 0.17	2.26 ± 0.55^a
		12 µg/cm ²	2.06 ± 0.17^{b1}	1.25 ± 0.05^b	3.43 ± 0.79^c
<i>AhR</i>		Control	0 µg/cm ²	1.00 ± 0.09	1.00 ± 0.04
	PM _{2.5}	3 µg/cm ²	0.88 ± 0.26	5.84 ± 0.48^b	2.21 ± 0.64
		12 µg/cm ²	0.75 ± 0.14	3.13 ± 1.19	1.91 ± 0.39^a
	PM _{>2.5}	3 µg/cm ²	1.58 ± 0.33	0.54 ± 0.03^b	4.25 ± 1.39^a
		12 µg/cm ²	1.41 ± 0.20	3.10 ± 1.41²	2.10 ± 0.65
	<i>ARNT</i>	Control	0 µg/cm ²	1.00 ± 0.05	1.00 ± 0.06
PM _{2.5}		3 µg/cm ²	0.80 ± 0.21	1.38 ± 0.05^b	0.63 ± 0.14
		12 µg/cm ²	0.75 ± 0.15	1.06 ± 0.19	0.85 ± 0.19
PM _{>2.5}		3 µg/cm ²	1.25 ± 0.27	0.80 ± 0.05^a	1.55 ± 0.52
		12 µg/cm ²	1.03 ± 0.15	1.39 ± 0.10^{b2}	0.79 ± 0.13
<i>AhRR</i>		Control	0 µg/cm ²	1.00 ± 0.18	n.d.
	PM _{2.5}	3 µg/cm ²	2.32 ± 0.23^b	n.d.	n.d.
		12 µg/cm ²	2.69 ± 0.34^a	n.d.	n.d.
	PM _{>2.5}	3 µg/cm ²	2.27 ± 0.09^b	n.d.	n.d.
		12 µg/cm ²	2.57 ± 0.24^b	n.d.	n.d.

PM = particulate matter; Control = nonexposed cells; CYP1B1 = cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1; NQO1 = NADPH quinone oxydo-reductase 1; AhR = Aryl hydrocarbon receptor; ARNT = Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator; AhRR = Aryl hydrocarbon receptor repressor. All values are normalized relative quantitation (RQ). Mean ± standard error on all data (nonexposed cells, n = 12; exposed cells, n = 8 for each PM concentration). Mann-Whitney U test versus nonexposed cells; a = p < 0.05; b = 2 = p < 0.01; c = p < 0.001. A letter (a, b, c) indicates a significant difference between exposed and nonexposed cells. A figure (2) indicates a significant dose-dependent response (12 vs 3 µg/cm²); n.d. = not detected.

Concerning CYP1B1 gene, significant dose-dependences were found after 48 h exposure to PM_{2.5} and after 24 h and 48 h exposure to PM_{>2.5}. Regarding NQO1 induction, significant dose-dependences were marked at 72 h after PM_{2.5} exposure and after 24 h in cells exposed to PM_{>2.5}. AhR gene expression was also significantly induced for cells exposed during 48 h to 3 µg/cm² PM_{2.5} and 72 h to 12 µg/cm² PM_{2.5}, and during 48 and 72 h to 3 µg/cm² PM_{>2.5} while ARNT gene expression was only significantly induced in BEAS-2B cells exposed during 48h to 3 µg/cm² PM_{2.5} and 3 and 12 µg/cm² PM_{>2.5}. For these two genes, dose-dependent expression was only found for cells exposed during 48 h to 12 µg/cm² PM_{>2.5}. Furthermore, it should be noticed that AhRR gene was expressed and significantly induced after exposure to both PM during 24 h but unfound for longer exposure duration while CYP1A1 and CYP2E1 genes were not detected independently of the treatment and the exposure duration (data not shown).

3.4. Gene expression and protein secretion of inflammatory cytokines

It is important to note that TNF-α gene was not detected in BEAS-2B exposed to each PM (data not shown). Conversely, both PM samples were found to significantly induce gene expression of other inflammatory cytokines (i.e. IL-1β, IL-6, and IL-8 after 24 and 48 h of exposure and only IL-8 after 72 h) (Table 3).

Table 3
Inflammatory cytokines gene expression.

		Inflammatory cytokines			
		Concentrations	24 h	48 h	72 h
<i>IL-1β</i>	Control	0 µg/cm ²	1.00 ± 0.18	1.00 ± 0.10	n.d.
	PM _{2.5}	3 µg/cm ²	1.70 ± 0.21	1.17 ± 0.16	n.d.
		12 µg/cm ²	3.06 ± 0.19^{a1}	2.70 ± 0.18^{b1}	n.d.
	PM _{>2.5}	3 µg/cm ²	3.88 ± 0.41^a	1.14 ± 0.48[*]	n.d.
		12 µg/cm ²	4.74 ± 1.10^b	2.03 ± 0.20^b	n.d.
	<i>IL-6</i>	Control	0 µg/cm ²	1.00 ± 0.07	1.00 ± 0.07
PM _{2.5}		3 µg/cm ²	0.91 ± 0.13	1.12 ± 0.13	n.d.
		12 µg/cm ²	1.44 ± 0.03^{b2}	2.44 ± 0.13^{b2**}	n.d.
PM _{>2.5}		3 µg/cm ²	1.19 ± 0.22	1.49 ± 0.17^a	n.d.
		12 µg/cm ²	2.24 ± 0.18^{b1}	2.55 ± 0.17^{b1}	n.d.
<i>IL-8</i>		Control	0 µg/cm ²	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.05
	PM _{2.5}	3 µg/cm ²	1.11 ± 0.11	1.32 ± 0.12^a	3.07 ± 0.29^{b**}
		12 µg/cm ²	2.76 ± 0.04^{b2}	1.53 ± 0.28	6.52 ± 0.43^{b2**}
	PM _{>2.5}	3 µg/cm ²	1.69 ± 0.38^a	1.86 ± 0.31^a	2.84 ± 0.26^b
		12 µg/cm ²	3.61 ± 0.16^{b2}	4.63 ± 0.20^{b2*}	6.59 ± 0.70^{b2**}

PM = particulate matter; Control = nonexposed cells; IL-1β = Interleukin 1-β; IL-6 = Interleukin 6; IL-8 = Interleukin 8. All values are normalized relative quantitation (RQ). Mean ± standard error on all data (nonexposed cells, n = 12; exposed cells, n = 8 for each PM concentration). Mann-Whitney U test versus nonexposed cells; a = 1 = * = p < 0.05; b = 2 = ** = p < 0.01; c = p < 0.001. A letter (a, b, c) indicates a significant difference between exposed and nonexposed cells. A figure (1, 2) indicates a significant dose-dependent response (12 vs 3 µg/cm²) while an asterisk (*, **) indicates a significant time-dependent response (48 and 72h vs 24h); n.d. = not detected.

Concerning IL-1 β gene transcription, only 12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ PM_{2.5} induced a significant dose-dependent response in cells after 48 and 72 h exposure. With regard to IL-6 and IL-8 mRNA, significant dose-dependent responses were found in BEAS-2B exposed to only 12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ of both PM types after 24 and 48h (except after 48 h of exposure to PM_{2.5} for IL-8) and after 72 h for IL-8 only. Effect of exposure duration (time-dependent response) on gene transcription was also statistically significant, especially for the highest concentrations of PM (i.e. 12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). With regard to IL-6 and IL-8 protein secretions, significant increases were observed in the cell-free culture supernatants of BEAS-2B cells exposed to the two PM samples (Fig. 3), except for IL-6 in cells exposed to 12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ PM_{>2.5} during 72 h (Fig. 3F). Figure 3 reported only few significant changes in the IL-1 β and TNF- α protein secretion in BEAS-2B cells whatever the treatment and the exposure duration. Furthermore, highly significant PM dose-dependent and time-dependent responses were found for IL-6 and IL-8 protein secretions in BEAS-2B cells exposed to both PM.

3.5. Oxidative stress

The two PM samples were shown to cause an imbalance in the glutathione status (ratio of glutathione disulfide GSSG/reduced glutathione GSH, Fig. 4A, 4B) as well as significant increases in SOD concentrations (Fig. 4C, 4D) and MDA levels (Fig. 4E, 4F) within BEAS-2B cells for all exposure time (i.e. 24, 48 and 72h). Moreover, considering the glutathione status, significant dose-dependent response was revealed for cells exposed during 72 h to 12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ PM_{2.5}. Concerning SOD concentrations and MDA levels, significant dose-dependences were found for only 72 h of exposure to PM_{2.5} and PM_{>2.5}.

3.6. Inflammatory mediators of arachidonic acid

Table 4 presents the studied compounds known as mediators involved in the arachidonic acid-mediated inflammatory pathway. Results showed that leukotrienes (LTB₄, LTC₄, and LTE₄), prostaglandin (PGE₂) and thromboxane (TXB₂) concentrations were not modified by the two PM samples (except slight modifications generally exhibited for higher concentrations and longer exposition time to PM_{>2.5}).

3.7. Estimating (Pearson's *r*) correlations between parameters under study

In this work, correlations existing between all studied parameters were investigated using Person's *r* test. Table 5 bring out the highest correlations, considering more than 50 % loss of one of variables when the second is fixed (i.e. $r \geq 0.8$, $p < 0.01$).

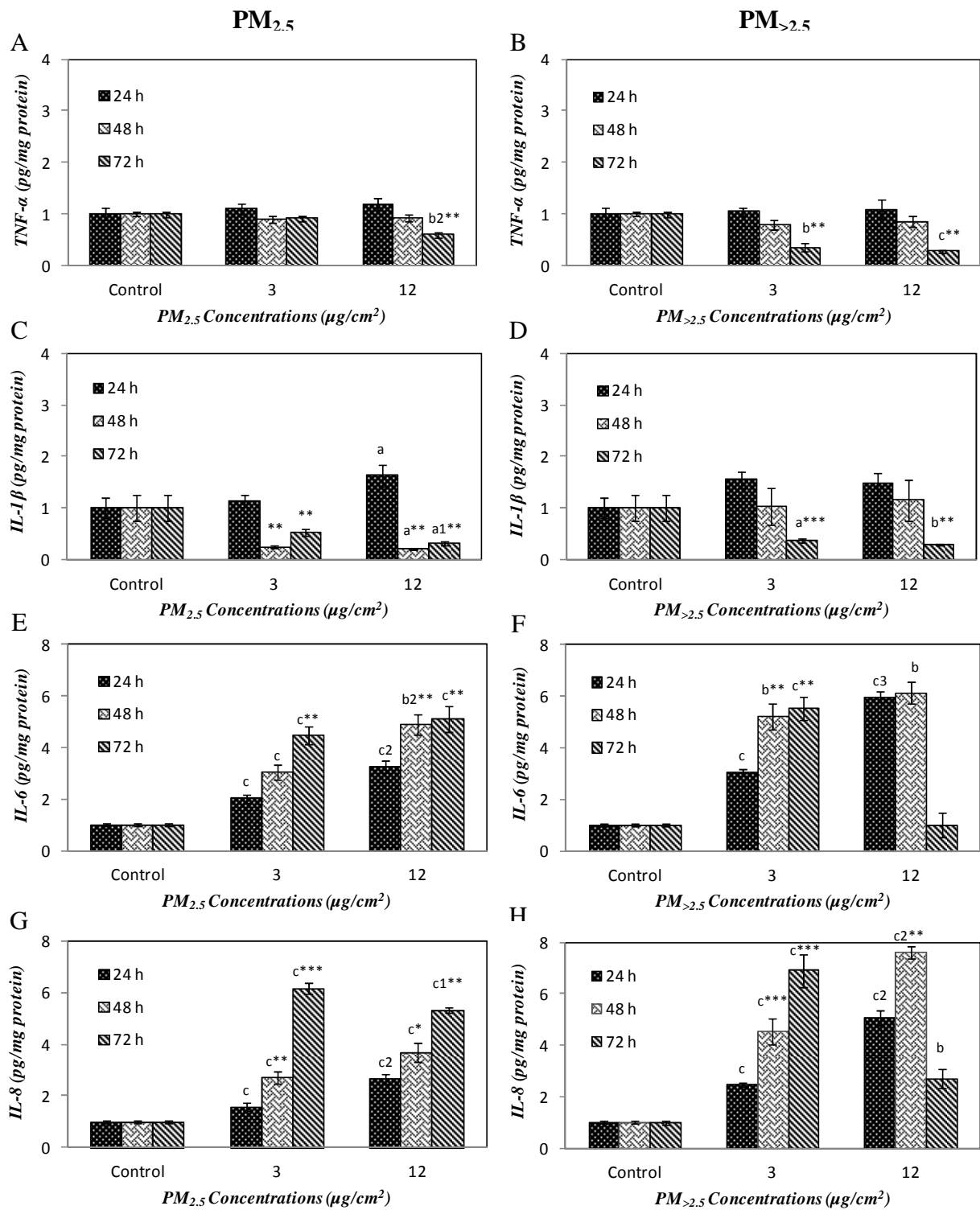


Fig. 3. Protein secretion of inflammatory cytokines in BEAS-2B cell-free culture supernatants after exposure to increasing concentrations of PM during 24, 48 and 72 h.

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) concentrations in cells exposed to PM_{2.5} (A) and PM_{>2.5} (B). Interleukin 1-bêta (IL-1 β) concentrations in cells exposed to PM_{2.5} (C) and PM_{>2.5} (D). Interleukin 6 (IL-6) concentrations in cells exposed to PM_{2.5} (E) and PM_{>2.5} (F). Interleukin 8 (IL-8) concentrations in cells exposed to PM_{2.5} (G) and PM_{>2.5} (H). Results are expressed by mean \pm standard error on all raw data (Control = nonexposed cells, n = 15; exposed cells, n = 10 for each PM concentration). Mann-Whitney U test versus nonexposed cells; a = 1 = * = p < 0.05; b = 2 = ** = p < 0.01; c = 3 = *** = p < 0.001. A letter (a, b, c) indicates a significant difference between exposed and nonexposed cells. A figure (1, 2, 3) indicates a significant dose-dependent response (12 vs 3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) while an asterisk (*, **, ***) indicates a significant time-dependent response (48 and 72h vs 24h).

N.B.: Control absolute values (TNF- α : 24h = 3.02 pg/mg proteins, 48h = 3.26 pg/mg proteins, 72h = 3.45 pg/mg proteins; IL-1 β : 24h = 2.65 pg/mg proteins, 48h = 2.45 pg/mg proteins, 72h = 1.31 pg/mg proteins; IL-6: 24h = 658.50 pg/mg proteins, 48h = 677.67 pg/mg proteins, 72h = 654.93 pg/mg proteins; IL-8: 24h = 541.28 pg/mg proteins, 48h = 632.90 pg/mg proteins, 72h = 477.05 pg/mg proteins)

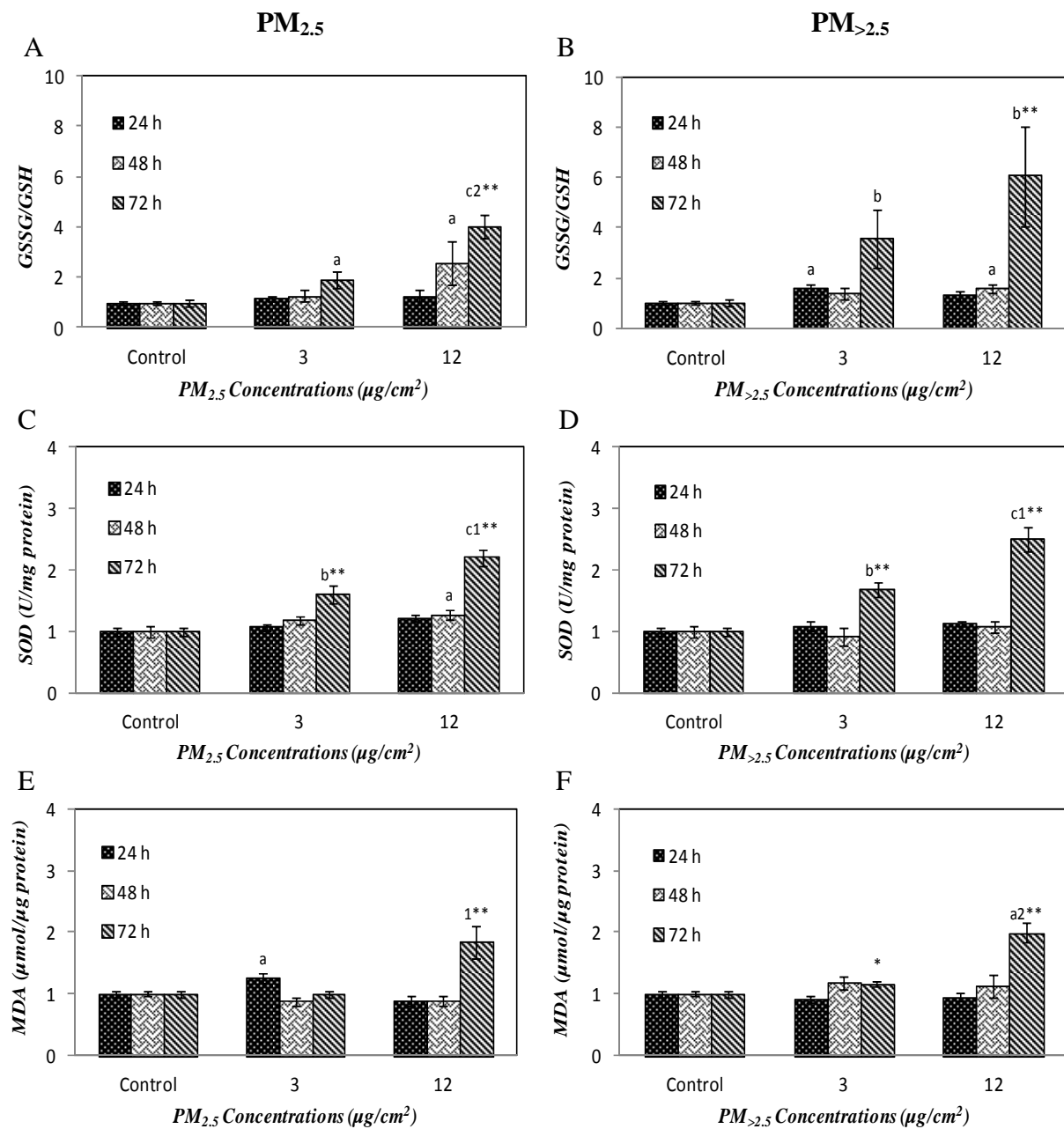


Fig. 4. Oxidative stress biomarkers in BEAS-2B cells after exposure to increasing concentrations of PM during 24, 48 and 72 h.

Glutathione status (ratio of glutathione disulfide GSSG/reduced glutathione GSH) in cells exposed to PM_{2.5} (A) and PM_{>2.5} (B). Superoxide dismutase (SOD) concentrations in cells exposed to PM_{2.5} (C) and PM_{>2.5} (D). Malondialdehyde (MDA) levels in cells exposed to PM_{2.5} (E) and PM_{>2.5} (F). Results are expressed by mean ± standard error on all raw data (Control = nonexposed cells, n = 15; exposed cells, n = 10 for each PM concentration). Mann-Whitney U test versus nonexposed cells; a = 1 = * = p < 0.05; b = 2 = ** = p < 0.01; c = p < 0.001. A letter (a, b, c) indicates a significant difference between exposed and nonexposed cells. A figure (1, 2) indicates a significant

dose-dependent response (12 vs 3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) while an asterisk (*, **) indicates a significant time-dependent response (48 and 72h vs 24h).

N.B.: Control absolute values (Glutathione status: 24h = 0.004, 48h = 0.004, 72h = 0.005; SOD: 24h = 1.85 Unit/mg proteins, 48h = 2.06 Unit/mg proteins, 72h = 1.06 Unit/mg proteins; MDA: 24h = 0.39 $\mu\text{mol}/\mu\text{g}$ proteins, 48h = 0.47 $\mu\text{mol}/\mu\text{g}$ proteins, 72h = 0.50 $\mu\text{mol}/\mu\text{g}$ proteins).

Table 4

Inflammatory mediators of arachidonic acid induced by $\text{PM}_{2.5}$ and $\text{PM}_{>2.5}$.

		Arachidonic acid inflammatory mediators			
		Concentrations	24 h	48 h	72 h
<i>LTB4</i>	Control	0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.00 \pm 0.03	1.00 \pm 0.08	1.00 \pm 0.06
	$\text{PM}_{2.5}$	3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.08 \pm 0.03	1.14 \pm 0.09	1.37 \pm 0.09^a
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.18 \pm 0.05^a	1.13 \pm 0.08	1.18 \pm 0.00
	$\text{PM}_{>2.5}$	3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.13 \pm 0.10^a	0.95 \pm 0.09	0.95 \pm 0.08^c
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.24 \pm 0.08	1.08 \pm 0.09	0.48 \pm 0.03^{c2}
	<i>LTC4</i>	Control	0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.00 \pm 0.29	1.00 \pm 0.19
$\text{PM}_{2.5}$		3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	2.19 \pm 0.45	3.78 \pm 1.12^a	1.60 \pm 0.26^a
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	3.10 \pm 1.32	6.42 \pm 2.45	3.64 \pm 1.19^a
$\text{PM}_{>2.5}$		3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	0.51 \pm 0.05	1.51 \pm 0.36	1.10 \pm 0.31
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	3.34 \pm 0.94^{a1}	2.39 \pm 0.52^a	1.41 \pm 0.38³
<i>LTE4</i>		Control	0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.00 \pm 0.14	1.00 \pm 0.11
	$\text{PM}_{2.5}$	3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.00 \pm 0.18	2.52 \pm 1.05	1.68 \pm 0.38
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.06 \pm 0.17	1.17 \pm 0.15	2.32 \pm 0.47^b
	$\text{PM}_{>2.5}$	3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	0.78 \pm 0.21	1.35 \pm 0.17	2.00 \pm 0.37^a
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	2.83 \pm 0.75	1.75 \pm 0.24^a	1.11 \pm 0.13¹
	<i>PGE2</i>	Control	0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.00 \pm 0.07	1.00 \pm 0.04
$\text{PM}_{2.5}$		3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.02 \pm 0.09	1.04 \pm 0.09	0.98 \pm 0.07
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.20 \pm 0.16	1.10 \pm 0.07	0.90 \pm 0.11
$\text{PM}_{>2.5}$		3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.07 \pm 0.10	0.99 \pm 0.06	0.78 \pm 0.06^a
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.33 \pm 0.27	1.05 \pm 0.10	0.76 \pm 0.03^a
<i>TXB2</i>		Control	0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.00 \pm 0.07	1.00 \pm 0.05
	$\text{PM}_{2.5}$	3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	0.97 \pm 0.07	0.96 \pm 0.08	0.92 \pm 0.07
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.11 \pm 0.13	1.03 \pm 0.07	0.98 \pm 0.10
	$\text{PM}_{>2.5}$	3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.12 \pm 0.10	1.04 \pm 0.08	1.00 \pm 0.10
		12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1.12 \pm 0.08	1.00 \pm 0.06	0.84 \pm 0.06

PM = particulate matter; Control = nonexposed cells; *LTB4* = leukotriene B4; *LTC4* = leukotriene C4; *LTE4* = leukotriene E4; *PGE2* = prostaglandin E2; *TXB2* = thromboxane B2. Mean \pm standard error on all raw data and normalized (nonexposed cells, n = 15; exposed cells, n = 10 for each PM concentration). Mann-Whitney U test versus nonexposed cells; a = 1 = p < 0.05; b = 2 = p < 0.01; c = 3 = p < 0.001. A letter (a, b, c) indicates a significant difference between exposed and nonexposed cells. A figure (1, 2, 3) indicates a significant dose-dependent response (12 vs 3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

N.B.: Control absolute values (*LTB4*: 24h = 23.87 pg/mg proteins, 48h = 31.24 pg/mg proteins, 72h = 26.77 pg/mg proteins ; *LTC4*: 24h = 8.41 pg/mg proteins , 48h = 4.24 pg/mg proteins, 72h = 3.07 pg/mg proteins ; *LTE4*: 24h = 9.55 pg/mg proteins , 48h = 6.37 pg/mg proteins, 72h = 4.07 pg/mg proteins ; *PGE2*: 24h = 6.53 pg/mg proteins , 48h = 5.93 pg/mg proteins, 72h = 5.81 pg/mg proteins ; *TXB2*: 24h = 15.72 pg/mg proteins , 48h = 15.55 pg/mg proteins, 72h = 15.64 pg/mg proteins).

Table 5

Correlations between studied parameters.

	IL-8	IL-6	<i>IL-8g</i>	<i>IL-6g</i>	<i>IL-1g</i>	AhR	ARNT	AhRR	NQO1	LTC4	SOD	PGE2	TXB2	CYP1B1	MDH	BrdU
LDH															-0.94	-0.95
MDH	<i>0.84</i>	<i>0.87</i>												<i>0.87</i>		0.87
														0.84		
BrdU			0.89	<i>0.90</i>	<i>0.91</i>											<i>-0.88</i>
CYP1B1	<i>0.89</i>	<i>0.88</i>	<i>0.81</i>	<i>0.84</i>	<i>0.94</i>	<i>0.83</i>					<i>0.83</i>					
IL-6	<i>0.99</i>										0.92		<i>0.85</i>			
	0.97															
<i>IL-8g</i>	<i>0.82</i>	<i>0.83</i>		<i>0.88</i>	<i>0.90</i>				<i>0.86</i>							
				0.83												
IL-1g				0.85				<i>0.92</i>								
AhR							<i>0.95</i>									
							0.94									
TNF- α			<i>-0.80</i>			-0.81						0.81		<i>-0.86</i>		
LTE4										<i>0.91</i>						
GSSG/GSH											0.89					

“r” in bold correspond to PM_{2.5} correlations and in italic to PM_{>2.5} correlations. LDH = Lactate dehydrogenase; MDH = mitochondrial dehydrogenase; BrdU = 5-bromo-2'-deoxyuridine; IL-8 = Interleukin 8 protein secretion; IL-6 = Interleukin 6 protein secretion; IL-8g = Interleukin 8 gene expression; IL-6g = Interleukin 6 gene expression; IL-1g = Interleukin 1- β gene expression; TNF- α = Tumor necrosis factor-alpha; LTB4 = leukotriene B4; LTC4 = leukotriene C4; LTE4 = leukotriene E4; PGE2 = prostaglandin E2; TXB2 = thromboxane B2; CYP1B1 = cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1; NQO1 = NADPH quinone oxydo-reductase 1; AhR = Aryl hydrocarbon receptor; ARNT = Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator; AhRR = Aryl hydrocarbon receptor repressor; SOD = Superoxide dismutase; GSSG/GSH = ratio of glutathione disulfide GSSG/reduced glutathione GSH.

4. Discussion

Adverse health effects, especially lung diseases, were often associated to air pollution particulate matter (PM). Several epidemiological studies have clearly established this bond in developed countries as well as in developing countries (Kelly and Fussell, 2012; Merbitz et al., 2012; Raaschou-Nielsen et al., 2011). Several recent works have shown the influence of size, composition and/or specific emission sources of particles on biological effects generated by the PM (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Oh et al., 2011; Peacock et al., 2011) and numerous studies tried to explore the unknown underlying mechanisms from PM-induced adverse health effects (Abbas et al., 2013; Billet et al., 2007; Garçon et al., 2006; Sun et al., 2012). In developed countries, public and political authorities display a real will to monitor and to fight particulate matter pollution in order to protect human health. Contrariwise, in developing countries, and particularly in Sub-Saharan Africa, little attention is paid to air pollution problems, and it is now important to take into account the PM monitoring and their impact assessment on human health.

Hence, in this study, the collection of particulate matter was conducted in 2010 from November 16 to December 08 in Cotonou, Benin's urban city where the traffic is remarkably dense. Two types of particles were sampled: PM_{2.5} (particulate matter smaller than 2.5 µm in diameter) and PM_{>2.5} (particulate matter higher than 2.5 µm in diameter). These particles were found at very high concentrations as compared to the guidelines of the World Health Organization (WHO, 2006). PM_{2.5} concentration was more than seven times the 24 h average concentration promulgated by the WHO (181 versus 25 µg/m³) while PM_{>2.5} concentration was nearly twice the WHO 24 h average concentration (94 versus 50 µg/m³). Recent studies performed in West Africa have shown that PM concentrations were smaller than those described in this study but also above limit regulations (Dieme et al., 2012; Dionisio et al., 2010; Kouassi et al., 2010; Weinstein et al., 2010). In European cities, such as Dunkerque (France), Duisburg (Germany) and Helsinki (Finland), air pollution particulate matters were assessed and respect the PM standards established (Dergham et al., 2012; Sillanpää et al., 2006). Results described in this study also revealed that Cotonou's ambient air was highly concentrated in fine particles (two to four times higher than PM_{>2.5}). PM_{2.5} and PM_{>2.5} were found to have similar physicochemical properties as their granulometric profile and their high specific surface areas, parameters well known to be related with the adsorption level of chemical compounds on particles. The physicochemical analysis of the two PM samples let appear a similar chemical composition. Both particles contain anthropogenic elements such as transition and alkaline-earth metals (e.g. Al, Fe, Mn, Na, Mg, Zn, Pb, etc.) (Cachon et al., submitted). Other compounds as PAHs, VOCs, paraffins, organic carbon, sulfate, nitrate and fatty acids were also found in variable quantities (Table 1). Recent researches have shown the influence of metals and PAHs of particulate matter in cytotoxicity, oxidative damage and proinflammatory production within lung epithelial cells (Lu et al., 2011; Michael et al., 2013; Osornio-Vargas et al., 2011).

As previously presented, PM concentrations encountered in Cotonou's atmosphere are not in accordance with the WHO regulations (i.e. two to seven fold higher). So it appears now crucial to pay great attention on the capacity of Cotonou PM to induce deleterious biological responses on human health. For that purpose, human bronchial epithelial BEAS-2B cells, usually employed *in vitro* to study proinflammatory and oxidative stress mediators (Akhtar et al., 2011; Brook et al., 2010; Rückerl et al., 2011), were exposed to each PM type as described above. Results of global cytotoxicity have shown significant increases in extracellular LDH activity ($p < 0.001$), significant drops in MDH activity ($p < 0.001$) and falls in BrdU incorporation into BEAS-2B cell DNA ($p < 0.001$), indicating that PM_{2.5} and PM_{>2.5} samples were able to cause a loss of membrane integrity and/or permeability, alteration of mitochondrial metabolism, necrosis, mitotic arrest and/or induction of apoptosis. Moreover, strength correlations between these three parameters were found (Table 5). Gualtieri et al. (2010) have recently described similar responses with winter PM₁₀ inducing significant necrotic effects and winter PM_{2.5} reducing cell viability in BEAS-2B cultures. Indeed, organic compounds adsorbed on PM, such as PAHs,

were often associated to cytotoxic and genotoxic responses (Høgsberg et al., 2013; Ramos de Rainho et al., 2013). It has already been evidenced that BEAS-2B cells are capable to bioactivate PAHs as benzo[a]pyrene through CYP1A1 enzymes (Dergham et al., 2012; Tsuji and Walle, 2006). Furthermore, gene expression of CYP1A1, a phase I enzyme of the xenobiotic metabolizing pathway, is known to be induced by PAHs adsorbed on PM (Dergham et al., 2012; Val et al., 2011), and the protein activity is usually evaluated by the determination of EROD (ethoxyresorufin-O-deethylase) activity (Cavanagh et al., 2009). In our work, no CYP1A1 gene expression neither EROD activity was detected whatever the PM samples. This could be due to the presence of PAHs at relatively low dose on PM and, conversely, by the presence of copper at high concentrations, metal known to inhibit CYP1A1 enzyme activity (Ghosh et al., 2001). Otherwise, in accordance with other works, CYP2E1 gene expression was also unfound (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012). However, significant increases in CYP1B1 and NQO1 gene expression were found for PM_{>2.5} and PM_{2.5} exposed cells, with slight dose dependent responses. This induction of CYP1B1 gene expression could also generate DNA adducts production (Tsay et al., 2013). Recent studies revealed a significant up-regulation of genes involved in the metabolism of AhR ligands induced by PM_{2.5} (Gualtieri et al., 2011). In fact, ARNT (AhR nuclear translocator and DNA binding partner of AhR) translocates AhR-PAHs complexes to the xenobiotic reactive element promoter in the nucleus and activates triggering transcription of cytochrome P450 gene. It has been reported as the central element in the regulation of cytochrome metabolizing enzymes. It also regulate PAH-induced gene expression, AhR repressor (AhRR), CYP1A1 and CYP1B1 genes by AhR-ARNT complex (Gualtieri et al., 2011; Øvrevik et al., 2010). In our study, according to the results described above, significant induction of CYP1B1 and AhRR gene expression was found for the two types of PM. These genes are associated with significant expression of AhR and ARNT genes. Øvrevik et al. (2010) suggested that AhR dimerized with RelB transcription factor (nuclear factor NF-κB family member) or other unknown proteins rather than dimerization with ARNT by PAHs-induced in BEAS-2B cells. In contrast, our study showed the strength binding existing firstly between AhR and ARNT ($r = 0.95$, $p < 0.01$) and secondly between CYP1B1 and AhR ($r = 0.83$, $p < 0.01$) (Table 5). Reduced expressions of AhR/ARNT-regulated genes in BEAS-2B cells exposed to PM were confirmed by findings of Gualtieri et al., (2011).

Moreover, other researchers have shown the important role of AhR in the regulation of several cytokine and chemokine gene expression (Haarmann-Stemann et al., 2009). A rise of cytokines and chemokines released is a crucial key for inflammatory responses. Several toxicological studies have revealed the relationship between highest concentrations of cytokines/chemokines in lung cells and particulate matters (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Happo et al., 2013; Michael et al., 2013; Shang et al., 2013). In addition, a direct correlation between up regulation of cytokine secretion and high concentrations of metal (e.g. Cu, Fe, As and Zn), inorganic ions (e.g. sulfate) and total carbon adsorbed on PM (urban traffic) was already established (Akhtar et al., 2011; Perrone et al., 2010). For example, in response to external aggression involved in neutrophils recruitment, IL-8 is a major proinflammatory mediator that protect against pathogens. Other studies exhibited the ability of PM₁₀ to induce higher proinflammatory responses (Camatini et al., 2012; Duvall et al., 2008; Gerlofs-Nijland et al., 2007). Findings of Gualtieri et al. (2010) confirmed this notion since only PM₁₀ and not PM_{2.5} induced increased IL-8 release in BEAS-2B cells. In our work, a significant induction in IL-8 gene expression and secretion was found in BEAS-2B cells, not only after PM_{>2.5} exposure, but also with PM_{2.5}. Furthermore, IL-6, IL-1β and TNF-α secretion was usually associated to IL-8 through PM originating from anthropogenic sources (Boublil et al., 2013; Happo et al., 2013; Val et al., 2011). Osornio-Vargas et al. (2011) added that increase of cytokines secretion was not only due to PM compounds from anthropogenic sources, but also by co-existence with elements coming from the soil. Our results revealed a higher release of IL-6/IL-8 cytokines in BEAS-2B cells exposed to PM_{>2.5} than for those exposed to PM_{2.5}. Table 5 shows, on the one hand, a solid correlation between gene expression and secretion of all studied cytokines, and, on the other hand, between cytokines gene expression and secretion and CYP1B1 gene expression levels ($p <$

0.01). In their studies, Gualtieri et al. (2010) and Øvrevik et al. (2010) did not reveal any apparent correlation between cytokine/chemokine gene expression profiles and cell cycle alterations or cytotoxicity. The present study clearly demonstrated that decreasing cell viability was highly correlated with high secretion of all studied cytokines induced in BEAS-2B cells exposed to both PM (Table 5). Otherwise, IL-1 β was previously described as playing a critical role in the proinflammatory response (Rock et al., 2010). These inflammatory responses generated by PM provoke in the course of inflammation process enrichment of ROS that could cause DNA damage and genetic diseases (Schins and Knaapen, 2007).

Investigation of oxidative stress in exposed BEAS-2B cells was carried out by the detection of intracellular markers as GSSG/GSH ratio, MDA level and SOD activity. In the literature, it has been reported that oxidative stress is a primary effect of PM toxicity and generally correlated to ROS generated by PAHs and/or PM adsorbed compounds (organic compounds, metals or even carbonaceous core of particles) (Baulig et al., 2009; Longhin et al., 2013; Steenhof et al., 2011). Moreover NQO1, a metabolizing enzyme of the xenobiotic metabolizing pathway responsible for the quinones detoxification, is often associated to reactive oxygen species (ROS) production that activate antioxidant responsive element (Baulig et al., 2009; Øvrevik et al., 2010). In our case, PM_{>2.5} as well as PM_{2.5} were found to induce significant increase of glutathione status and SOD activity. This increasing oxidative effect was confirmed by the strong correlation not only between these two markers ($r = 0.89$, $p < 0.01$), but also between SOD activity and CYP1B1 expression ($r = 0.83$, $p < 0.01$). Other findings suggested that, in BEAS-2B cells, oxidative stress generated by H₂O₂ exposure often results in cytotoxicity rather than by stimulating cytokine/chemokine responses (Øvrevik et al., 2008). While Øvrevik et al. (2010) did not report any correlation between oxidative damage and cytokine/chemokine responses, our data (Table 5) showed a solid correlation between SOD activity and IL-6 cytokine secretion ($r = 0.92$, $p < 0.01$).

According to these findings, chemotactic mediators like leukotrienes (LTB₄, LTC₄, and LTE₄), and inflammatory mediators as thromboxane TXB₂ and prostaglandin PGE₂ were found slightly increased in PM exposed-BEAS-2B cells but not significantly induced. However, Table 5 indicated firstly a strong correlation between LTC₄ and LTE₄ ($r = 0.91$, $p < 0.01$) which are from metabolism of LTA₄ by glutathione-S-transferase enzyme. Secondly, released PGE₂ was highly correlated to TNF- α ($r = 0.81$, $p < 0.01$), and finally TXB₂ was strongly associated to the reduced cell proliferation ($r = -0.88$, $p < 0.01$) and IL-6 secretion ($r = 0.85$, $p < 0.01$). This suggests that prostaglandins and thromboxanes may play a crucial role in inhibiting inflammation and cell cycle alterations.

In summary, physicochemical characterization of PM has shown an agglomeration of fine particles within PM_{>2.5}. Both PM collected are almost similar and could come mainly from vehicles emissions. These biological findings contribute to a better understanding of toxicological mechanisms. Our previous studies have already established that African fine and coarse PM contain various compounds (organic carbon, aromatic compounds and metals) from traffic and/or natural emissions sources. Present research shows the ability of both sizes of particles to induce oxidative stress, proinflammatory responses and cell cycle alterations. To conclude, these findings represent an essential tool for triggering the monitoring and implementation of adapted policy measures in developing countries. This will help to the protection of environment and human welfare against adverse air pollution effects.

Acknowledgments

The Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV), EA4492, participates in the Institut de Recherches en ENvironnement Industriel (IRENI), which is financed by the Communauté Urbaine de Dunkerque, the Région Nord-Pas de Calais, the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, the CNRS and European Regional Development Fund (ERDF). We wish to thank the Centre Commun de Mesures who carried out all chemical analysis. This study benefited from

grants from the Service de Coopération et d'Action Culturelle de l'Ambassade de France in Benin. We would like to thank Denis Marin who has done the map of the study area.

References

- Abbas, I., Garçon, G., Saint-Georges, F., Andre, V., Gosset, P., Billet, S., Goff, J.L., Verdin, A., Mulliez, P., Sichel, F., Shirali, P., 2013. Polycyclic aromatic hydrocarbons within airborne particulate matter (PM_{2.5}) produced DNA bulky stable adducts in a human lung cell coculture model. *J. Appl. Toxicol.* *JAT* 33, 109–119.
- Adohinzin, J.B.N., Xu, L., Du, J., Yang, F., 2011. Capacity strengthening for environmental assessment in Benin. *Environ. Monit. Assess.* 180, 269–282.
- Akhtar, U.S., Scott, J.A., Chu, A., Evans, G.J., 2011. In vivo and In vitro Assessment of Particulate Matter Toxicology, in: Zereini, F., Wiseman, C.L.S. (Eds.), *Urban Airborne Particulate Matter, Environmental Science and Engineering*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 427–449.
- Avogbe, P.H., Ayi-Fanou, L., Cachon, B., Chabi, N., Debende, A., Dewaele, D., Aissi, F., Cazier, F., Sanni, A., 2011. Hematological changes among Beninese motor-bike taxi drivers exposed to benzene by urban air pollution. *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* 5, 464–472.
- Ayi-Fanou, L., Avogbe, P.H., Fayomi, B., Keith, G., Hountondji, C., Creppy, E.E., Autrup, H., Rihn, B.H., Sanni, A., 2011. DNA-adducts in subjects exposed to urban air pollution by benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Cotonou, Benin. *Environ. Toxicol.* 26, 93–102.
- Ayi Fanou, L., Mobio, T.A., Creppy, E.E., Fayomi, B., Fustoni, S., Møller, P., Kyrtopoulos, S., Georgiades, P., Loft, S., Sanni, A., Skov, H., Øvrebø, S., Autrup, H., 2006. Survey of air pollution in Cotonou, Benin—air monitoring and biomarkers. *Sci. Total Environ.* 358, 85–96.
- Badyda, A.J., Dabrowiecki, P., Lubinski, W., Czechowski, P.O., Majewski, G., 2013. Exposure to traffic-related air pollutants as a risk of airway obstruction. *Adv. Exp. Med. Biol.* 755, 35–45.
- Baulig, A., Singh, S., Marchand, A., Schins, R., Barouki, R., Garlatti, M., Marano, F., Baeza-Squiban, A., 2009. Role of Paris PM_{2.5} components in the pro-inflammatory response induced in airway epithelial cells. *Toxicology* 261, 126–135.
- Billet, S., Garçon, G., Dagher, Z., Verdin, A., Ledoux, F., Cazier, F., Courcot, D., Aboukais, A., Shirali, P., 2007. Ambient particulate matter (PM_{2.5}): Physicochemical characterization and metabolic activation of the organic fraction in human lung epithelial cells (A549). *Environ. Res.* 105, 212–223.
- Boublil, L., Assémat, E., Borot, M.-C., Boland, S., Martinon, L., Sciare, J., Baeza-Squiban, A., 2013. Development of a repeated exposure protocol of human bronchial epithelium in vitro to study the long-term effects of atmospheric particles. *Toxicol. In Vitro* 27, 533–542.
- Brook, R.D., Rajagopalan, S., Pope, C.A., 3rd, Brook, J.R., Bhatnagar, A., Diez-Roux, A.V., Holguin, F., Hong, Y., Luepker, R.V., Mittleman, M.A., Peters, A., Siscovick, D., Smith, S.C., Jr, Whitsel, L., Kaufman, J.D., 2010. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 121, 2331–2378.
- Cachon, B., Ayi-Fanou, L., Cazier, F., Genevray, P., Adéoti, K., Dewaele, D., Debende, A., Aissi, F., Sanni, A., 2013. Analysis of Gasoline Used by Motorbike-Taxi Drivers in Cotonou. *Environ. Pollut.* 2.
- Camatini, M., Corvaja, V., Pezzolato, E., Mantecca, P., Gualtieri, M., 2012. PM₁₀-biogenic fraction drives the seasonal variation of proinflammatory response in A549 cells. *Environ. Toxicol.* 27, 63–73.
- Cavanagh, J.-A.E., Trought, K., Brown, L., Duggan, S., 2009. Exploratory investigation of the chemical characteristics and relative toxicity of ambient air particulates from two New Zealand cities. *Sci. Total Environ.* 407, 5007–5018.

- Chuang, H.-C., Bérubé, K., Lung, S.-C.C., Bai, K.-J., Jones, T., 2013. Investigation into the oxidative potential generated by the formation of particulate matter from incense combustion. *J. Hazard. Mater.* 244–245, 142–150.
- Dergham, M., Lepers, C., Verdin, A., Billet, S., Cazier, F., Courcot, D., Shirali, P., Garçon, G., 2012. Prooxidant and Proinflammatory Potency of Air Pollution Particulate Matter (PM_{2.5-0.3}) Produced in Rural, Urban, or Industrial Surroundings in Human Bronchial Epithelial Cells (BEAS-2B). *Chem. Res. Toxicol.* 25, 904–919.
- Dieme, D., Cabral-Ndior, M., Garçon, G., Verdin, A., Billet, S., Cazier, F., Courcot, D., Diouf, A., Shirali, P., 2012. Relationship between physicochemical characterization and toxicity of fine particulate matter (PM_{2.5}) collected in Dakar city (Senegal). *Environ. Res.* 113, 1–13.
- Dionisio, K.L., Rooney, M.S., Arku, R.E., Friedman, A.B., Hughes, A.F., Vallarino, J., Agyei-Mensah, S., Spengler, J.D., Ezzati, M., 2010. Within-Neighborhood Patterns and Sources of Particle Pollution: Mobile Monitoring and Geographic Information System Analysis in Four Communities in Accra, Ghana. *Environ. Health Perspect.* 118, 607–613.
- Diouf, A., Garçon, G., Diop, Y., Ndiaye, B., Thiaw, C., Fall, M., Kane-Barry, O., Ba, D., Haguenoer, J.M., Shirali, P., 2006. Environmental lead exposure and its relationship to traffic density among Senegalese children: a cross-sectional study. *Hum. Exp. Toxicol.* 25, 637–644.
- Duvall, R.M., Norris, G.A., Dailey, L.A., Burke, J.M., McGee, J.K., Gilmour, M.I., Gordon, T., Devlin, R.B., 2008. Source apportionment of particulate matter in the U.S. and associations with lung inflammatory markers. *Inhal. Toxicol.* 20, 671–683.
- Garçon, G., Dagher, Z., Zerimech, F., Ledoux, F., Courcot, D., Aboukais, A., Puskaric, E., Shirali, P., 2006. Dunkerque City air pollution particulate matter-induced cytotoxicity, oxidative stress and inflammation in human epithelial lung cells (L132) in culture. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* 20, 519–528.
- Gerlofs-Nijland, M.E., Dormans, J.A.M.A., Bloemen, H.J.T., Leseman, D.L.A.C., John, A., Boere, F., Kelly, F.J., Mudway, I.S., Jimenez, A.A., Donaldson, K., Guastadisegni, C., Janssen, N.A.H., Brunekreef, B., Sandström, T., van Bree, L., Cassee, F.R., 2007. Toxicity of coarse and fine particulate matter from sites with contrasting traffic profiles. *Inhal. Toxicol.* 19, 1055–1069.
- Ghosh, M.C., Ghosh, R., Ray, A.K., 2001. Impact of copper on biomonitoring enzyme ethoxyresorufin-o-deethylase in cultured catfish hepatocytes. *Environ. Res.* 86, 167–173.
- Gualtieri, M., Øvrevik, J., Holme, J.A., Perrone, M.G., Bolzacchini, E., Schwarze, P.E., Camatini, M., 2010. Differences in cytotoxicity versus pro-inflammatory potency of different PM fractions in human epithelial lung cells. *Toxicol. In Vitro* 24, 29–39.
- Gualtieri, M., Øvrevik, J., Møllerup, S., Asare, N., Longhin, E., Dahlman, H.-J., Camatini, M., Holme, J.A., 2011. Airborne urban particles (Milan winter-PM_{2.5}) cause mitotic arrest and cell death: Effects on DNA, mitochondria, AhR binding and spindle organization. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 713, 18–31.
- Haarmann-Stemann, T., Bothe, H., Abel, J., 2009. Growth factors, cytokines and their receptors as downstream targets of arylhydrocarbon receptor (AhR) signaling pathways. *Biochem. Pharmacol.* 77, 508–520.
- Happo, M.S., Uski, O., Jalava, P.I., Kelz, J., Brunner, T., Hakulinen, P., Mäki-Paakkanen, J., Kosma, V.-M., Jokiniemi, J., Obernberger, I., Hirvonen, M.-R., 2013. Pulmonary inflammation and tissue damage in the mouse lung after exposure to PM samples from biomass heating appliances of old and modern technologies. *Sci. Total Environ.* 443, 256–266.
- Høgsberg, T., Jacobsen, N.R., Clausen, P.A., Serup, J., 2013. Black tattoo inks induce reactive oxygen species production correlating with aggregation of pigment nanoparticles and product brand but not with the polycyclic aromatic hydrocarbon content. *Exp. Dermatol.* 22, 464–469.

- Kelly, F.J., Fussell, J.C., 2012. Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter. *Atmos. Environ.* 60, 504–526.
- Khan, M.F., Shirasuna, Y., Hirano, K., Masunaga, S., 2010. Characterization of PM_{2.5}, PM_{2.5–10} and PM_{>10} in ambient air, Yokohama, Japan. *Atmospheric Res.* 96, 159–172.
- Kouassi, K.S., Billet, S., Garçon, G., Verdin, A., Diouf, A., Cazier, F., Djaman, J., Courcot, D., Shirali, P., 2010. Oxidative damage induced in A549 cells by physically and chemically characterized air particulate matter (PM_{2.5}) collected in Abidjan, Côte d’Ivoire. *J. Appl. Toxicol.* 30, 310–320.
- Li, X., Wang, Yuesi, Guo, X., Wang, Yingfeng, 2013. Seasonal variation and source apportionment of organic and inorganic compounds in PM_{2.5} and PM₁₀ particulates in Beijing, China. *J. Environ. Sci.* 25, 741–750.
- Longhin, E., Pezzolato, E., Mantecca, P., Holme, J.A., Franzetti, A., Camatini, M., Gualtieri, M., 2013. Season linked responses to fine and quasi-ultrafine Milan PM in cultured cells. *Toxicol. In Vitro* 27, 551–559.
- Lu, S., Feng, M., Yao, Z., Jing, A., Yufang, Z., Wu, M., Sheng, G., Fu, J., Yonemochi, S., Zhang, J., Wang, Q., Donaldson, K., 2011. Physicochemical characterization and cytotoxicity of ambient coarse, fine, and ultrafine particulate matters in Shanghai atmosphere. *Atmos. Environ.* 45, 736–744.
- Merbitz, H., Buttstädt, M., Michael, S., Dott, W., Schneider, C., 2012. GIS-based identification of spatial variables enhancing heat and poor air quality in urban areas. *Appl. Geogr.* 33, 94–106.
- Michael, S., Montag, M., Dott, W., 2013. Pro-inflammatory effects and oxidative stress in lung macrophages and epithelial cells induced by ambient particulate matter. *Environ. Pollut.* 183, 19–29.
- Oh, S.M., Kim, H.R., Park, Y.J., Lee, S.Y., Chung, K.H., 2011. Organic extracts of urban air pollution particulate matter (PM_{2.5})-induced genotoxicity and oxidative stress in human lung bronchial epithelial cells (BEAS-2B cells). *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 723, 142–151.
- Okuda, T., 2013. Measurement of the specific surface area and particle size distribution of atmospheric aerosol reference materials. *Atmos. Environ.*
- Osornio-Vargas, A.R., Serrano, J., Rojas-Bracho, L., Miranda, J., García-Cuellar, C., Reyna, M.A., Flores, G., Zuk, M., Quintero, M., Vázquez, I., Sánchez-Pérez, Y., López, T., Rosas, I., 2011. In vitro biological effects of airborne PM_{2.5} and PM₁₀ from a semi-desert city on the Mexico–US border. *Chemosphere* 83, 618–626.
- Øvrevik, J., Arlt, V.M., Øya, E., Nagy, E., Møllerup, S., Phillips, D.H., Låg, M., Holme, J.A., 2010. Differential effects of nitro-PAHs and amino-PAHs on cytokine and chemokine responses in human bronchial epithelial BEAS-2B cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 242, 270–280.
- Øvrevik, J., Refsnes, M., Schwarze, P., Låg, M., 2008. The ability of oxidative stress to mimic quartz-induced chemokine responses is lung cell line-dependent. *Toxicol. Lett.* 181, 75–80.
- Peacock, J.L., Anderson, H.R., Bremner, S.A., Marston, L., Seemungal, T.A., Strachan, D.P., Wedzicha, J.A., 2011. Outdoor air pollution and respiratory health in patients with COPD. *Thorax* 66, 591–596.
- Perrone, M.G., Gualtieri, M., Ferrero, L., Porto, C.L., Udisti, R., Bolzacchini, E., Camatini, M., 2010. Seasonal variations in chemical composition and in vitro biological effects of fine PM from Milan. *Chemosphere* 78, 1368–1377.
- Pope, C.A., 3rd, Burnett, R.T., Turner, M.C., Cohen, A., Krewski, D., Jerrett, M., Gapstur, S.M., Thun, M.J., 2011. Lung cancer and cardiovascular disease mortality associated with ambient air pollution and cigarette smoke: shape of the exposure-response relationships. *Environ. Health Perspect.* 119, 1616–1621.

- Raaschou-Nielsen, O., Andersen, Z.J., Hvidberg, M., Jensen, S.S., Ketzel, M., Sørensen, M., Loft, S., Overvad, K., Tjønneland, A., 2011. Lung Cancer Incidence and Long-Term Exposure to Air Pollution from Traffic. *Environ. Health Perspect.* 119, 860–865.
- Ramos de Rainho, C., Correia, M., A. S., Figueiro, Luiz Mazzei, J., Alessandra Fortes Aiub, C., Felzenszwalb, I., 2013. Genotoxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Nitro-Derived in Respirable Airborne Particulate Matter Collected from Urban Areas of Rio de Janeiro (Brazil). *BioMed Res. Int.* 2013.
- Reche, C., Moreno, T., Amato, F., Viana, M., van Drooge, B.L., Chuang, H.-C., Bérubé, K., Jones, T., Alastuey, A., Querol, X., 2012. A multidisciplinary approach to characterise exposure risk and toxicological effects of PM₁₀ and PM_{2.5} samples in urban environments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 78, 327–335.
- Rock, K.L., Latz, E., Ontiveros, F., Kono, H., 2010. The sterile inflammatory response. *Annu. Rev. Immunol.* 28, 321–342.
- Rückerl, R., Schneider, A., Breitner, S., Cyrus, J., Peters, A., 2011. Health effects of particulate air pollution: A review of epidemiological evidence. *Inhal. Toxicol.* 23, 555–592.
- Schins, R.P.F., Knaapen, A.M., 2007. Genotoxicity of poorly soluble particles. *Inhal. Toxicol.* 19 Suppl 1, 189–198.
- Shang, Y., Fan, L., Feng, J., Lv, S., Wu, M., Li, B., Zang, Y.-S., 2013. Genotoxic and inflammatory effects of organic extracts from traffic-related particulate matter in human lung epithelial A549 cells: The role of quinones. *Toxicol. In Vitro* 27, 922–931.
- Sillanpää, M., Hillamo, R., Saarikoski, S., Frey, A., Pennanen, A., Makkonen, U., Spolnik, Z., Van Grieken, R., Braniš, M., Brunekreef, B., Chalbot, M.-C., Kuhlbusch, T., Sunyer, J., Kerminen, V.-M., Kulmala, M., Salonen, R.O., 2006. Chemical composition and mass closure of particulate matter at six urban sites in Europe. *Atmos. Environ.* 40, Supplement 2, 212–223.
- Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J., Klenk, D.C., 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150, 76–85.
- Steenhof, M., Gosens, I., Strak, M., Godri, K.J., Hoek, G., Cassee, F.R., Mudway, I.S., Kelly, F.J., Harrison, R.M., Lebret, E., Brunekreef, B., Janssen, N.A.H., Pieters, R.H.H., 2011. In vitro toxicity of particulate matter (PM) collected at different sites in the Netherlands is associated with PM composition, size fraction and oxidative potential--the RAPTES project. *Part. Fibre Toxicol.* 8, 26.
- Sun, H., Shamy, M., Kluz, T., Muñoz, A.B., Zhong, M., Laulicht, F., Alghamdi, M.A., Khoder, M.I., Chen, L.-C., Costa, M., 2012. Gene expression profiling and pathway analysis of human bronchial epithelial cells exposed to airborne particulate matter collected from Saudi Arabia. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 265, 147–157.
- Tsay, J.J., Tchou-Wong, K.-M., Greenberg, A.K., Pass, H., Rom, W.N., 2013. Aryl Hydrocarbon Receptor and Lung Cancer. *Anticancer Res.* 33, 1247–1256.
- Tsuji, P.A., Walle, T., 2006. Inhibition of benzo[a]pyrene-activating enzymes and DNA binding in human bronchial epithelial BEAS-2B cells by methoxylated flavonoids. *Carcinogenesis* 27, 1579–1585.
- Turner, M.C., Krewski, D., Pope, C.A., 3rd, Chen, Y., Gapstur, S.M., Thun, M.J., 2011. Long-term ambient fine particulate matter air pollution and lung cancer in a large cohort of never-smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184, 1374–1381.
- Val, S., Stéphanie, V., Martinon, L., Laurent, M., Cachier, H., Hélène, C., Yahyaoui, A., Abderrazak, Y., Marfaing, H., Hélène, M., Baeza-Squiban, A., Armelle, B.-S., 2011. Role of size and composition of traffic and agricultural aerosols in the molecular responses triggered in airway epithelial cells. *Inhal. Toxicol.* 23, 627–640.

- Wang, J., Hu, Z., Chen, Y., Chen, Z., Xu, S., 2013. Contamination characteristics and possible sources of PM₁₀ and PM_{2.5} in different functional areas of Shanghai, China. *Atmos. Environ.* 68, 221–229.
- Weinstein, J.P., Hedges, S.R., Kimbrough, S., 2010. Characterization and aerosol mass balance of PM_{2.5} and PM₁₀ collected in Conakry, Guinea during the 2004 Harmattan period. *Chemosphere* 78, 980–988.
- World Health Organization, 2006. World Health Organization, Public Health and Environment, PHE - WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide - Global update 2005 http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_SDE_PHE_OEH_06.02_fre.pdf (accessed 4.27.13).

Chapitre 6

*Pollution de l'air en Afrique Subsaharienne :
Étude comparative de la pollution
particulaire $PM_{2.5}$ – Cas du Bénin, de la Côte
d'Ivoire et du Sénégal*

Synthèse de la publication 4

Après avoir réalisé la caractérisation physicochimique de la pollution particulaire de la ville de Cotonou, ce dernier chapitre porte plus largement sur la question de pollution atmosphérique par les particules fines dans des capitales d'Afrique Subsaharienne. Ce travail s'achèvera donc sur une comparaison des données obtenues dans cette étude avec celles précédemment acquises dans d'autres études pionnières menées en Côte d'Ivoire et au Sénégal lors de thèses également réalisées au laboratoire.

Ce chapitre fera le point et un comparatif sur la pollution atmosphérique causée par les particules fines à Cotonou et dans deux autres grandes villes d'Afrique Subsaharienne proches du Bénin : Abidjan (Côte d'Ivoire) et Dakar (Sénégal).

1. Principales caractéristiques des villes

La croissance démographique devient de plus en plus importante dans les mégalo-poles africaines, en particulier à Abidjan, Cotonou et Dakar. Récemment (2008), des taux importants de mortalité imputable à la pollution de l'air ont été observés au [Sénégal \(World Health Organization, 2008\)](#). À Dakar, il a été établi que les sources majoritaires contribuant à la dégradation de la qualité de l'air étaient liées à l'utilisation de véhicules diesel vétustes (véhicules et cars-rapides) ainsi qu'aux activités lucratives mais non contrôlées liées à l'extraction du plomb ([Cabral et al., 2012a, 2012b](#); [Dieme et al., 2012](#)). À Cotonou, les principales activités favorisant la pollution atmosphérique étaient liées au phénomène des conducteurs de taxi-motos et à la vente illicite d'essence de mauvaise qualité ([Ayi Fanou et al., 2006](#); [Cachon et al., 2013](#)). À Abidjan, il a été avancé une contribution importante des vieux véhicules et de l'incinération des déchets ([Kouassi et al., 2010](#); [Ogunjobi et al., 2008](#)). La caractérisation physicochimique des PM_{2.5} apparaît

donc être un outil intéressant pour tracer les sources potentielles de pollution atmosphérique urbaine en Afrique.

2. Caractéristiques physicochimiques des PM_{2.5} dans les villes d'étude

L'analyse des données météorologiques locales de chaque ville ainsi que des rétrotrajectoires des masses d'air indiquaient des caractéristiques proches avec des vents dominants de secteurs SSO/SE, SSE/SO et SSO/NE respectivement pour Cotonou, Abidjan et Dakar. Des vents faibles ont été observés pendant les campagnes de prélèvement dans les trois villes avec une humidité relative élevée dans chaque cas et des températures avoisinant les 28 °C. Les concentrations de particules PM_{2.5} en suspension dans l'air étaient relativement élevées avec des niveaux proches de 180 µg/m³ pour Cotonou, 105 µg/m³ pour Abidjan et 75 µg/m³ pour Dakar.

Les distributions granulométriques ont révélé des proportions importantes et similaires de particules fines (< 2,5 µm) dans les trois villes. Aussi, un ratio similaire de surface spécifique/proportion de PM ≤ 2,5 µm a été observé.

Les concentrations en éléments majoritaires et ETM étaient élevées et proches au niveau des trois villes avec comme éléments majoritaires Al, Fe, Mg et Na. Les métaux de transition tels que Cr, Pb, Zn, Cu, Ti et Mn ont été également retrouvés à des concentrations relativement élevées.

En outre, les espèces ioniques les plus abondantes dans les PM_{2.5} de chaque ville étaient les sulfates, le calcium, les nitrates, le sodium et les ions chlorures. Les profils ioniques de SO₄²⁻ et Cl⁻ étaient similaires dans les trois villes.

Concernant les paraffines, les différents résultats des campagnes de prélèvement ont dans l'ensemble révélé une abondance des C20 à C30 dans l'air ambiant de ces villes. Cependant, une hétérogénéité en termes d'occurrence de paraffines a été observée entre les PM_{2.5} des trois pays. Ainsi, à Abidjan, les C16 et

C25 étaient majoritaires alors que des composés plus lourds (C33) prédominaient à Cotonou.

3. Identification des sources d'émission

Dans cette étude comparative, nous nous focaliserons sur les BTEX comme composés appartenant à la famille des COVs. Peu de données étant disponibles sur les COVs adsorbés aux PM_{2.5} à Abidjan, nous nous limiterons aux comparaisons entre Cotonou et Dakar. Néanmoins, les concentrations de benzène enregistrées à Abidjan étaient proches de celles retrouvées dans l'air à Cotonou et deux fois plus élevées que celles observées à Dakar. Cependant, Dakar a présenté un niveau élevé de xylène. La détermination des sources des COVs étant extrêmement difficile, nous avons utilisé un ensemble de quatre ratios entre les différents COVs. Le ratio B/T était similaire (0,3) dans les PM_{2.5} collectées à Cotonou et Dakar. Par contre, le ratio X/E a été retrouvé à un niveau remarquablement élevé à Dakar (11,1) et à Cotonou (4,2).

De même, les données sur les HAPs dans les PM_{2.5} étaient indisponibles à Abidjan. Nous allons donc tenir compte de celles obtenues dans les deux autres villes. Les concentrations en HAPs étaient relativement proches dans les particules fines collectées à Cotonou et à Dakar. Pour identifier leur source d'émission, un panel de ratios a été utilisé. Tous les ratios de HAP étaient presque identiques au niveau de ces deux villes, impliquant de manière générale des émissions de moteur diesel (*a fortiori* à Dakar), de combustion ainsi que des fonderies d'aluminium (Dakar). Ces différents ratios sont présentés dans la publication ci-après.

4. Publication 4: Urban PM_{2.5} air pollution in Sub-Saharan Africa: a comparative study between case of Benin, Côte d'Ivoire and Senegal

Soumis

Urban PM_{2.5} air pollution in Sub-Saharan Africa: a comparative study between case of Benin, Côte d'Ivoire and Senegal

Boris Fresnel Cachon^{1,2,3}, Anthony Verdin^{1,2}, Denis Dieme^{1,2,4}, Kouakou-Serge Kouassi^{1,2,5}, Fabrice Cazier^{1,6}, Sylvain Billet^{1,2}, Dominique Courcot^{1,2}, Amadou Diouf⁴, Joseph Djaman⁵, Ambaliou Sanni³ & Pirouz Shirali^{1,2}

¹ Université Lille Nord de France, Lille, France

² Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV) EA 4492, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 2, Université du Littoral-Côte d'Opale, 189A Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

³ Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 04 BP 0320 Cotonou, Bénin

⁴ Laboratoire de Toxicologie, Faculté de Médecine pharmacologie Odontologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Senegal

⁵ Biochemical Pharmacodynamics Laboratory, Biosciences Department, Cocody University PO Box 582, Abidjan 22, Côte d'Ivoire

⁶ Centre Commun de Mesures, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 1, Université du Littoral-Côte d'Opale, 145 Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

Correspondence: Anthony VERDIN

Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV) EA 4492, Maison de la Recherche en Environnement Industriel 2, Université du Littoral-Côte d'Opale, 189A Avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

E-mail : Verdin@univ-littoral.fr

Abstract

The aim of this study is to investigate the Sub-Saharan Africa air pollution in Côte d'Ivoire, Senegal, and Benin by studying fine particles PM_{2.5} and to bring out their physicochemical characteristics in order to have a better knowledge on the African air pollution. Though these countries don't share the same borders, their urban environments reveal similarities as regards higher concentrations of PM_{2.5}. Likewise, similar repartitions of trace elements were recorded in the three countries. The ratio of specific surface area to the proportion of 2.5 µm fraction was 0.1 in the three countries. This ratio could be used to investigate African urban air. Moreover, xylene/ethylbenzene ratio was very high (11.1 in Senegal and 4.2 in Benin). The ratio toluene/benzene was similar and indicated vehicle emission. All results indicated that its main cause is traffic emission. Others studies in African cities are necessary in order to exclude the possible industrial dust and soil influence.

Keywords: Air pollution, particulate matter, Sub-Saharan Africa, physicochemical characterization, diagnostic ratio

1. Introduction

Urban air pollution is estimated to have been the cause of the 1.3 million annual deaths worldwide and 82,000 annual deaths in Sub-Saharan Africa in 2008 (World Health Organization 2008). Also, the World Health Organisation (WHO) reported an increase of 16 % of the total number of deaths attributable to outdoor air pollution as compared to the year 2004. In 2008, according to the WHO, African countries such as Côte d'Ivoire, Senegal and Benin, recorded 3,669, 1,441 and 916 annual deaths, respectively, caused by urban air pollution. Moreover, children under 5 years old are the most vulnerable group due to the immaturity of their respiratory systems. They represent 8, 20, and 13 % of the total number of deaths per year in Côte d'Ivoire, Senegal and Benin, respectively. This African outdoor air pollution is due to the migration of rural population to urban areas in search of better economic conditions, employment or sheer survival (United Nations 2010). It is also explained by the unplanned and unsustainable development of transports especially increasing second-hand cars (First Interministerial Conference on Health and Environment in Africa 2008; Programme des Nations Unies pour l'Environnement 2013) and motorbikes (Avogbe et al. 2011; Cachon et al. 2013).

Accordingly, air pollution is becoming a major environmental and health concern in Sub-Saharan Africa. In recent decades, concerns have been raised and it indicated that VOCs, PM_{2.5} and their toxic components (heavy metals, Paraffin, PAHs, water soluble ions, etc.) were responsible for adverse health and environmental effects (Kelly and Fussell 2012; Merbitz et al. 2012; Sun et al. 2012; Badyda et al. 2013; Chuang et al. 2013; Wang et al. 2013)(Duan et al. 2008; Kelly and Fussell 2012; Merbitz et al. 2012; Sun et al. 2012; Badyda et al. 2013; Chuang et al. 2013; Wang et al. 2013). Urban air PM is mainly originated from incomplete fuel combustion of motors but they also depend on global characteristics of urban cities. For instance, Abidjan (Côte d'Ivoire) is characterized by 6.8 million inhabitants (in 2011), with high emission from buses and utility vehicles, oil refineries, gas flares, electrical power stations, biomass bush burning, biomass burning for cooking purposes, uncontrolled waste burning and blowing sand from the Sahara Desert (Ogunjobi et al. 2008; Kouassi et al. 2010). In Dakar (Senegal), the population is estimated to 3.2 million residents (in 2011). The majority of the population carry on their main activities in the center of Dakar and this brings about congestion and traffic jams. Dieme et al. (2012) reported that the city develops many industrial activities but it is filled with diesel buses which are the main mode of transport. Some activities by their nature, as those related to lead, cause a higher level of air pollution (Cabral et al. 2012a, 2012b). Dakar is often swept across by laden wind of desert. In Cotonou (Benin), the population is estimated to 1.2 million of residents. Throughout the city, it is easy to note an exposition to gasoline cans and bottles along the roadside and to observe above the different crossroads, a thick layer of smoke which wraps the population. The town is identified by the lack of public transport and the galloping increase of the widespread use of motorbikes, particularly the phenomenon of motorbike-taxi drivers commonly known as "Zemidjan", which is the main means of transport both faster and cheaper with door-to-door trips. The city had more than 94,000 motorbikes and more than 350,000 old second-hand cars (Kèlomé et al. 2006; Avogbe et al. 2011).

In addition, numerous epidemiological studies have shown the relationship between PM and harmful health effects (Raaschou-Nielsen et al. 2011; Kelly and Fussell 2012; Sun et al. 2012) and assess these adverse impact using chemical and physical characterization of PM (source, size, mass, surface area, organic composition, metals, etc.) (Camatini et al. 2012; Dergham et al. 2012; Boublil et al. 2013; Longhin et al. 2013). Airborne PM with aerodynamic dynameters below 2.5 µm (PM_{2.5}) are the most toxic particles (Senlin et al. 2008; Kouassi et al. 2010). In most of the developing countries, limited data are available about physicochemical characterization of urban particulate matter associated to adverse health effects assessment (Diouf et al. 2006; Kouassi et al. 2010; Adohinzin et al. 2011).

The aim of this study is to investigate Sub-Saharan Africa air pollution in three countries, Côte d'Ivoire, Senegal, and Benin by studying fines particles PM_{2.5} through their physical and chemical characteristics in order to have a better knowledge on the African urban air pollution.

2. Analytical procedures

2.1 Sample collection

Comparative sampling sites were Abidjan (5°20'16.94"N, 3°59'59.86"W; Côte d'Ivoire), Dakar (14°40'14"N, 17°26'17"W; Senegal), and Cotonou (6°22'2.3"N, 2°25'46.4"E; Benin) (Fig. 1). PM_{2.5} samplings were carried out on continuous collection in each country and were performed from December 12, 2007 to December 17, 2007 (Côte d'Ivoire), from July 2009 through September 2009 (Senegal), and from November 16, 2010 through December 08, 2010 (Benin). The trajectories of air mass were performed using the NOAA HYSPLIT model. This model is available on the Web (<http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT.php>). Concerning the wind speed average during the period collection, it was 3.5 m/s in Côte d'Ivoire, 3.4 m/s in Senegal, and 3.0 m/s in Benin. As collection method, particles samplings were collected with by using high volume cascade impaction air samplers (Staplex, New-York, USA) as described by Billet et al. (2007). The impactor's plates were mounted without any filter and backup filter to maintain a constant aspiration flow rate (i.e., 80 m³/h).

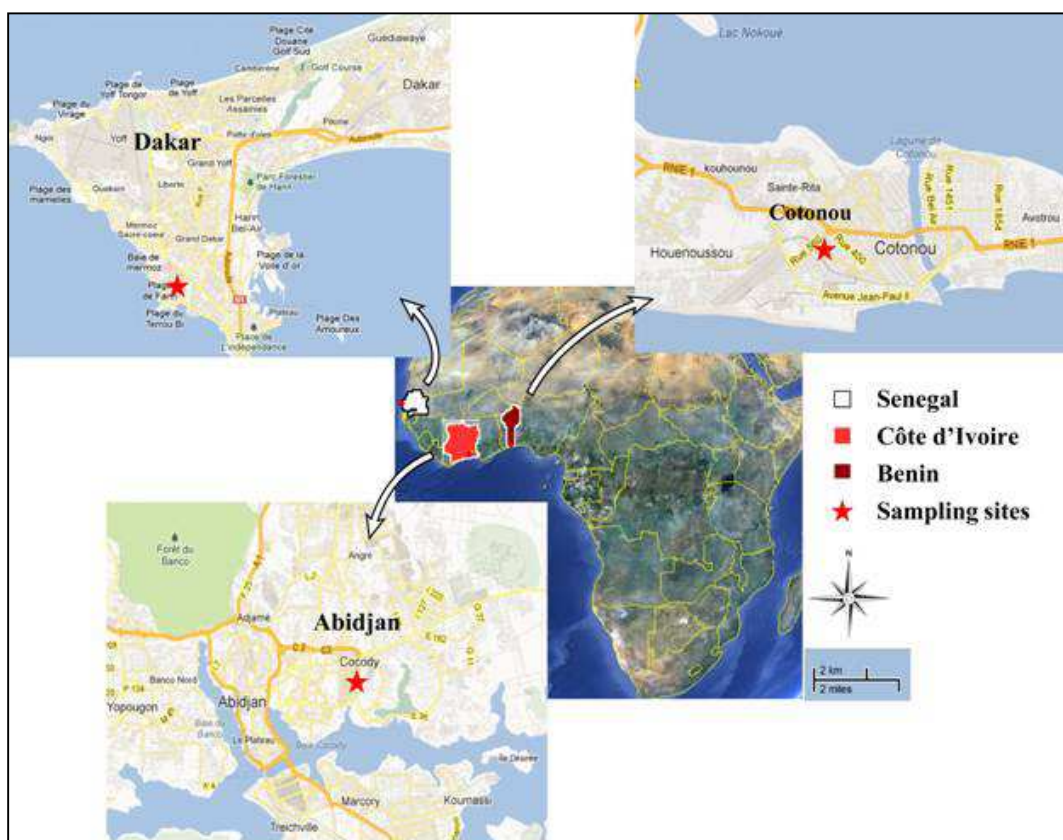


Fig. 1. Map of urban sampling sites of the three countries.

2.2 PM size distribution and specific surface area

Laser granulometry (Beckman Coulter LS13 320MW with Universal Liquid Module) has been used to study the PM size distribution. The laser granulometer measures particle size distribution over the range from 0.017 to 2,000 μm and based on polarization intensity differential scattering (PIDS). Duration of each measure was 1 min and limit of beam obscuration was 8 - 12 %. The power had been adjusted between -4 mV and +4 mV.

Specific surface area analysis was performed with Quantasorb[®] Surface Area Analyzer (Quantachrome Corporation, New York, U.S.A.) which is based on Brunauer Emmett Teller (BET) method. Particle samples placed in a small Pyrex U-shaped cell were outgassed at 200 °C and volumes of pure nitrogen gas adsorbed to their surface at -196 °C (liquid nitrogen temperature). Amount of nitrogen adsorbed at various partial pressures was used to calculate sample's surface area.

2.3 Trace elements and soluble chemical species

PM samples were digested with HNO₃ and HClO₄ (ratio 1:2, v/v) using microwave digestion (MARS 5 XPRESS, CEM Corporation). Thereafter, the solutions obtained were filtered by Whatman cellulose filters and analysed by ICP-MS (Varian 820 MS) as described by Cazier et al. (2011).

Soluble species were determined by ion chromatograph Dionex DX 100 coupled with Dionex ICS 900. Samples were previously extracted and filtered on cellulose acetate filter 0.45 μm and then 25 μL were injected in chromatograph. Soluble anions were determined by chemically suppressed ion chromatography (carbonate 1mM/bicarbonate 3.5 mM eluents and AG14A/AS14A columns, 1.2 mL/min, Dionex DX 100). Soluble cations were determined by chemically suppressed ion chromatography (methane sulfonic acid 20 mM eluents and CG12A/CS12A columns, 1 mL/min, Dionex ICS 900). Chromatographic data were analyzed by Chromeleon[®] software.

2.4 Organic compounds

Volatile organic compounds (VOCs) analysis were carried out as published by Caplain et al. (2006). At the beginning, samples have been trapped in glass tubes prior and desorbed by thermal desorption at 220-300 °C using GC/MS (Combi Injector/Desorber module - EM640 Brüker).

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and paraffins adsorbed on PM samples were extracted with dichloromethane by soxhlet after the thermal desorption. Extracts were concentrated under nitrogen flux and injected in a gas chromatograph (VARIAN 3800) coupled to a mass spectrometer (VARIAN 1200 TQ). The capillary column is a Factor four VF-5 ms (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm) and used helium as carrier gas. The total time for this analysis was 60 min ; 40 °C for 5 min, 5 °C/min up to 310 °C and 310 °C for 3 min. The parameter of mass detector was impact electronic ion current = 70eV and temperature of source 280 °C. The samples were analyzed between 40 and 350 mass unit. Compounds were identified by comparing retention times of chromatographic peaks from samples with those from standard mixtures and by comparing mass spectra with those contained in NIST and/or WILEY libraries.

3. Results and discussion

3.1 Comparative table of demographic characteristics

PM studies were conducted in urban area of Côte d'Ivoire, Senegal, and Benin. These countries have enjoyed a buoyant demographic growth for several years. Table 1 summarized demographic changes in the three countries under study. Impact of air pollution PM on the health of the population, particularly on children living in city, would be associated to the main conducted activities. It is important to underline that despite the relatively low population density in Senegal, the rate of children death was higher than those reported in Côte d'Ivoire and Benin. This difference is most likely due to the activity relating to the smelting of lead performed by some (Cabral et al. 2012a, 2012b) and high emission level of diesel old motors. In Benin, many women with small children sell gasoline in bulk along the roadside.

Table 1
Comparison of population characteristics of the three urban cities.

Cities/Countries	City population (2011) x 10 ⁶	Density x 10 ³ resid/km ²	Main town characteristics	Annual deaths (AUP - 2008)	Children deaths under 5 years % (AUP - 2008)
Cotonou (Benin)	1.2	15	Zemidjan phenomenon, gasoline carboys along roadside, old second-hand cars	916	13
Abidjan (Côte d'Ivoire)	6.8	16	Old buses and vehicles, bush and waste burning	3669	8
Dakar (Senegal)	3.2	5.8	Many diesel buses, congestion and traffic jams, lead activities	1441	20

AUP = attributable to urban air pollution; resid = residents.

Moreover, motorbike-taxi drivers generate a lot of exhaust gas in the air due to the poor maintenance of motors (Cachon et al. 2013). PM_{2.5} physicochemical characteristics are necessary to explain potential source of urban air pollution.

3.2 Samplings conditions and PM_{2.5} concentrations

This comparative study focuses on PM_{2.5} concentrations in ambient air and meteorological parameters that could influence their presence.

According to the NOAA Hysplit backward trajectories, the air masses originated from the sea and went through the three cities under study (Fig. 2). Overall, Table 2 reported a relatively low wind speed during the collection period on the three sites. Prevailing wind direction showed that wind was blowing from Atlantic Ocean during that period and thus, the wind was not under the influence of the Sahara Desert (northeast wind called Harmattan) (Weinstein et al. 2010).

Table 2
Meteorological conditions during the different collections in the three countries.

Cities/Countries	Period	Location site	Weather				PM concentrations (µg/m ³)
			Average temperature (°C)	Relative humidity (%)	Average wind speed (m/s)	Wind direction	
Cotonou (Benin)	Nov-Dec	6°22'2.3"N 2°25'46.4"E	31.4	72	3.0	SSW	180.9
Abidjan (Côte d'Ivoire)	Dec	5°20'16.94"N 3°59'59.86"W	28.0	n.a.	3.5	SSE	105.6
Dakar (Senegal)	Jul-Sep	14°40'14"N 17°26'17"W	28.0	82	3.4	SSW	75.1

N = North; S = South; W = West; E = East; Jul = July; Sep = September; Nov = November; Dec = December; n.a. = not available.

*Urban PM_{2.5} air pollution in Sub-Saharan Africa:
a comparative study between case of Benin, Côte d'Ivoire and Senegal*

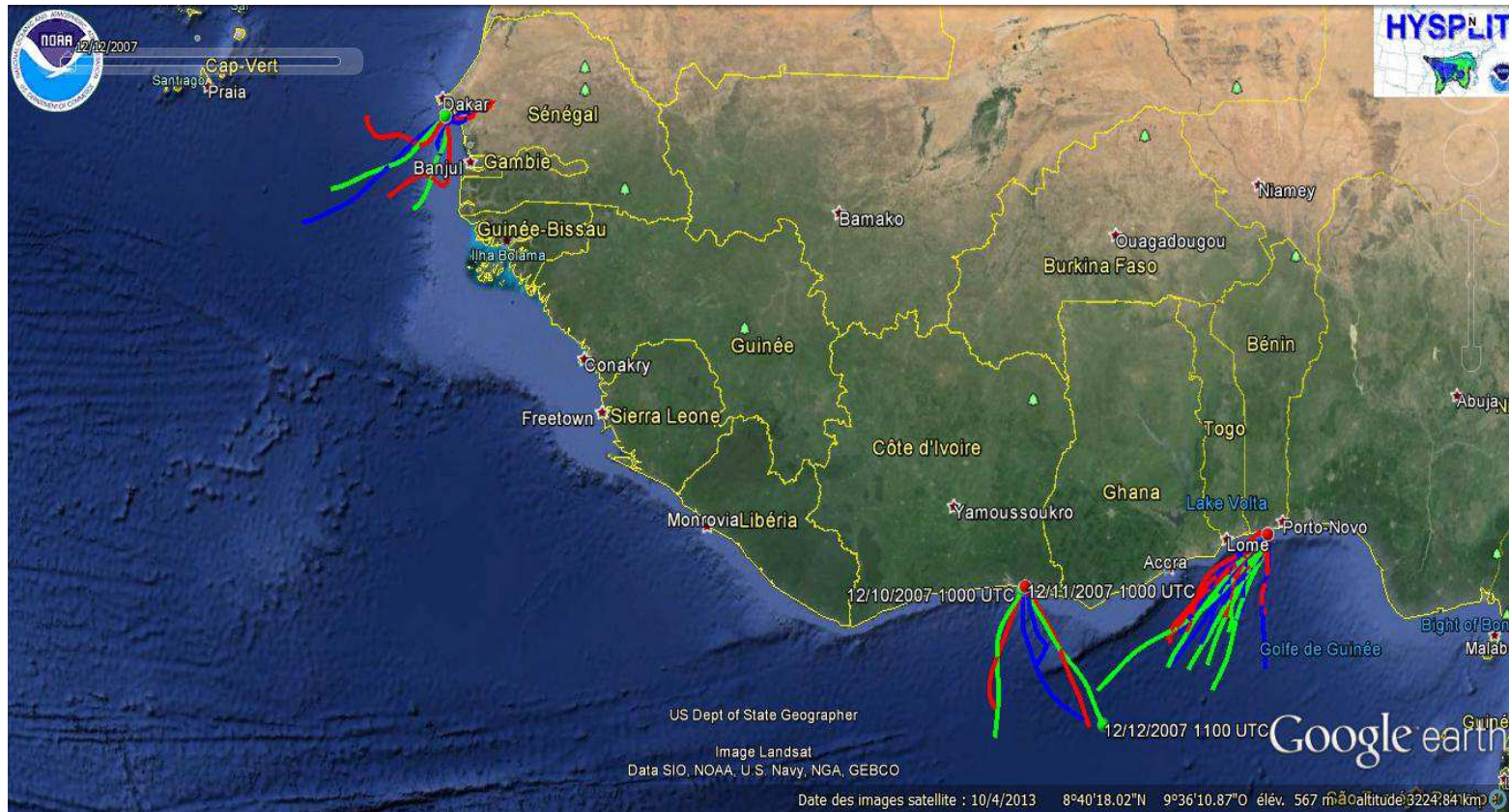


Fig. 2. Trajectories of air masses on sampling sites of the three countries.

This is rather a maritime trade wind (southwest wind or monsoon). The highly relative humidity confirmed the origin of dominant wind. Temperature was relatively stable over the considered period as compared to West African average temperature (28 °C). Weinstein et al. (2010) obtained in Guinea PM_{2.5} concentrations (177 µg/m³) near to those recorded in Benin; this value was found in harmattan period. It means that PM_{2.5} concentrations in Benin would come at a very high level under harmattan influence. It is important to note that all values of PM_{2.5} concentrations found in the three countries greatly exceed standards set by the World Health Organization (2006) (25 µg/m³ - 24h average concentration and 10 µg/m³ annual average). Physicochemical characteristics provide more understanding on high level of PM concentrations.

3.3 PM_{2.5} physical characteristics

Numerous studies established the correlation between particle characteristics and biological responses (Oh et al. 2011; Peacock et al. 2011; Dergham et al. 2012). Table 3 showed up PM size distribution and ability to adsorb chemical compounds on their surface.

According to Table 3, values of Cotonou, Abidjan, and Dakar indicated similar and significant proportions of PM_{2.5} fraction in ambient air. PM fraction ranged from 1 µm to 0.5 µm were the same in the studied countries considering the ratio of this fraction against PM number below 2.5 µm. Contrariwise, Dakar's particles were abundant in ultrafine particles as compared to the ratio found in Benin. Moreover, PM_{2.5} of the three cities presented the similar ratio of specific surface area/PM_{2.5} proportion. This suggests that surface area of particles is strongly associated to the proportion of 2.5 µm fraction. This ratio could be used to estimate one of the parameters by knowing the other one and to appreciate ability of PM to adsorb harmful compounds associated with adverse health effects. However, these findings need to be confirmed by future studies on West African particle samplings.

Table 3

PM size distribution and specific surface area in the three urban cities.

Cities/Countries	PM number (%)					surface area (m ² /g)	ratio
	≤ 2.5 µm	1- 0.5 µm	ratio	0.5 - 0.33 µm	ratio		
Cotonou (Benin)	97.5	55.2	0.6	24	0.2	10.7	0.1
Abidjan (Côte d'Ivoire)	88.3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	9	0.1
Dakar (Senegal)	94.7	61.4	0.6	35.5	0.4	12.7	0.1

The ratios have to be calculated in relation to PM number ≤ 2.5 µm; n.a. = not available

3.4 Inorganic elements and ionic chemical species

Trace elements had been usually correlated to natural environment (e.g. Na, Mg, Ca, Ti) and anthropogenic origin (e.g. Fe, Al, Mn, Ba, Cr, Zn, Pb, Cu) (Dergham et al. 2012; Dieme et al. 2012). In this comparative study, inorganic elements in urban air of Côte d'Ivoire, Senegal, and Benin are heterogeneous (Table 4).

Cities under study registered the greatest concentrations in Al, Fe, Mg, and Na and these values were similar. In African countries, there is red soil rich in iron which contains iron oxide (Fe₂O₃) and aluminium oxide (Al₂O₃) due to the strong presence of bauxite. Extraction activities with the processing of bauxite to final aluminium products can explain the high value of iron and aluminium in African ambient air. Moreover, urban PM_{2.5} of the three countries hold in transition metals and alkaline soil metals which are usually found in African ground (Alford et al. 2010). Among these trace elements there

are Cr, Pb, Zn, Cu, V and Cd that are carcinogenic (He et al. 2001; Cheng 2003). Many studies attributed the presence of atmospheric heavy metals to natural emissions, traffic emissions and industrial metallurgical processes (Fang et al. 2010; Cheung et al. 2011; Duan and Tan 2013). However, it is crucial to investigate West African soil in order to discount the possibility of soil pollution influence.

Table 4

Inorganic elements on PM_{2.5} air pollution in Abidjan, Dakar, and Cotonou.

Metals	Percentage (%)		
	Cotonou	Abidjan	Dakar
Al	41.7	32.8	36.0
Ba	0.4	n.a.	0.3
Ca	n.a.	19.2	2.5
Cr	0.1	0.8	0.0
Cu	0.3	0.1	0.1
Fe	34.4	29.4	39.1
K	n.a.	5.2	n.a.
Mg	7.0	3.9	8.4
Mn	0.6	0.4	0.3
Na	12.4	5.4	10.2
Pb	0.2	0.3	0.1
Sr	0.2	n.a.	0.3
Ti	1.2	2.1	2.2
Zn	1.3	0.2	0.3
Other	0.2	0.1	0.1

With regards to ionic species concentrations (Fig. 3), PM were abundant in calcium, nitrate, sulphate, sodium, and chloride ions. Sodium and chloride ions profiles are similar and likely due to the marine dust influence (Rodríguez et al. 2004; Cazier et al. 2011). Significant amounts of calcium could come from natural erosion and/or dust of cement industry. In Cotonou (Benin), cement industry is located at about 1 km of the sampling site. Furthermore, sulphate and nitrate are anthropogenic activities (Khan et al. 2010; Cazier et al. 2011; Dergham et al. 2012; Diédhiou et al. 2012; Dieme et al. 2012). High nitrate value observed in Abidjan (Côte d'Ivoire) indicated an anthropogenic contribution particularly animal and human waste (Oga Yei et al. 2007) but could come from traffic emission..

3.5 Paraffin profile in urban PM_{2.5} of West Africa

In this study, West African countries under study recorded heterogeneity of paraffins (Fig. 4). High level in C₁₆ and C₂₅ were found in urban PM_{2.5} of Abidjan and high C₃₃ in Cotonou. Overall, urban ambient air of studied countries was abundant in C₂₀-C₃₀. In the literature, paraffins ranged from C₁₃ to C₁₉ indicated microbiota and diesel influence and C₂₀-C₃₇ are attributed to fossil fuel rubbish and plant waxes (Fu et al. 2009; Cazier et al. 2011; Pietrogrande et al. 2011). Kotianová et al. (2008) reported that *n*-alkanes up to C₂₀ are attributed to gasoline powered vehicles and until C₂₅ are due to heavy duty diesel trucks. In short, in West Africa, paraffins could come from emissions of gasoline and/or diesel vehicles. Study of PAHs ratios provides also more information about possible urban sources.

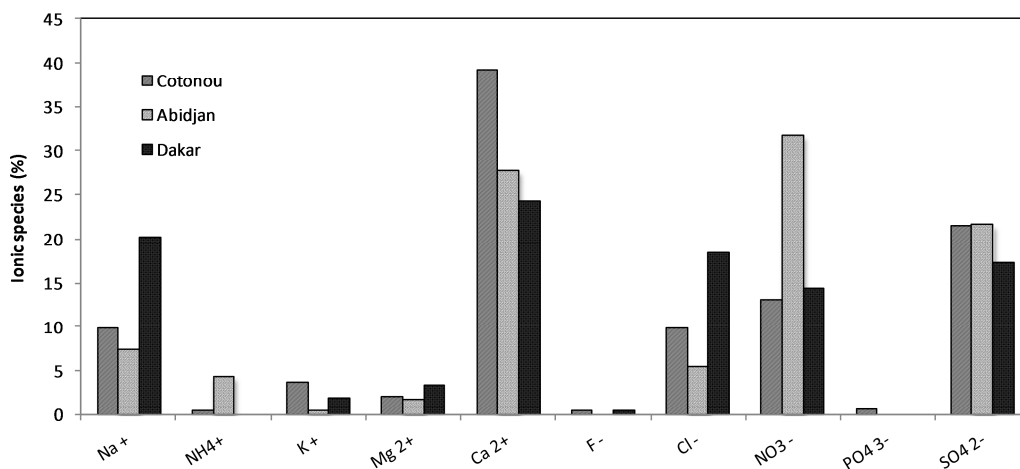


Fig. 3. Ionic species profile in PM_{2.5} of the three countries under study.

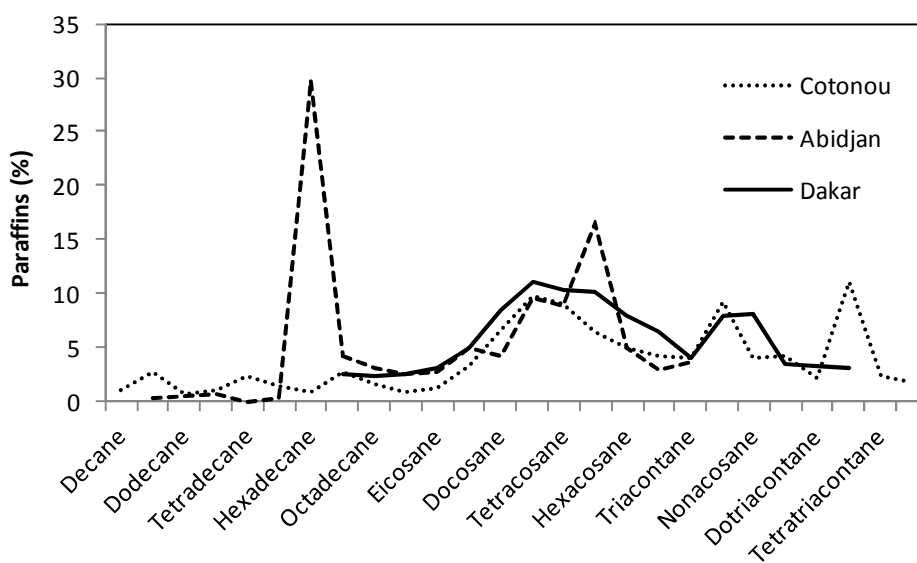


Fig. 4. Paraffins profile in air particulate matter of Abidjan, Dakar, and Cotonou.

3.6 VOCs and PAHs comparative study

In this work, we focus on BTEX of VOCs (Table 5). We had limited data in Abidjan. However, benzene value was similar in Abidjan and Cotonou, and twice higher than those found in Dakar. Contrariwise, Dakar recorded a rise of xylene level than Cotonou.

Table 5

Comparative study of VOCs and PAHs in PM_{2.5} urban air of the three countries and diagnostic ratios of source identification.

VOCs	Percentage (%)			
	Cotonou	Abidjan	Dakar	
Benzene	5.2	5.7	2.1	
Toluene	20.3	n.a.	6.7	
Ethylbenzene	9.3	4.1	4.8	
o-Xylene	39.0	n.a.	53.5	
Other	26.2	90.2	32.9	
VOCs Ratios				
T/B	3.9	n.a.	3.2	
B/T	0.3	n.a.	0.3	
X/E	4.2	n.a.	11.1	
E/B	1.8	0.7	2.3	
PAHs				
Naphtalene	Nap	0.5	n.a.	2.0
Phenanthrene	Phe	1.0	n.a.	4.1
Fluoranthene	Flu	5.5	n.a.	4.7
Pyrene	Pyr	14.1	n.a.	5.8
Benzo[a]Anthracene	BaA	9.5	n.a.	9.3
Chrysene	Chr	13.1	n.a.	7.8
Benzo[b]Fluoranthene	BbF	n.a.	n.a.	18.0
Benzo[k]Fluoranthene	BkF	15.1	n.a.	7.0
Benzo[a]Pyrene	BaP	12.1	n.a.	9.4
Dibenzo[a,h]Anthracene	DahA	10.6	n.a.	n.a.
Indeno[1.2.3-c.d]Pyrene	Ind	n.a.	n.a.	15.5
Benzo[g,h,i]Perylene	BghiP	18.6	n.a.	16.4
PAHs Ratios				
\sum COMB/ \sum PAHs		0.9	n.a.	0.9
BaP/BghiP		0.6	n.a.	0.6
BaP/(BaP + Chr)		0.5	n.a.	0.5
BaA/(BaA + Chr)		0.4	n.a.	0.5
BbF/BkF		n.a.	n.a.	2.6
Flu/(Flu + Pyr)		0.3	n.a.	0.4
Ind/(Ind + BghiP)		n.a.	n.a.	0.5

VOCs = Volatile Organic Compounds; PAHs = Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; \sum PAHs = sum of total non-alkylated PAHs; \sum COMB = \sum BaP, Chr, Flu, Pyr, BaA, Ind, BkF, BbF and BghiP; T/B = toluene/benzene; B/T = benzene/toluene; X/E = xylene/ethylbenzene; E/B = ethylbenzene/benzene; n.a. = not available

It is difficult to forecast the true influence of different emission sources. Some researchers have generally used diagnostic ratios of BTEX to identify the possible sources (Zhang et al. 2012; Lan and Minh 2013; Lan et al. 2013).

Toluene/benzene (T/B) ratio found in PM_{2.5} samplings was 3.9 and 3.2 in Benin and Senegal, respectively. According to the literature, T/B ratio ranged from 1.5 to 4.0 in urban areas indicated traffic emissions (Buczynska et al. 2009; Liu et al. 2009; Miller et al. 2010, 2012). Ethylbenzene/benzene (E/B) values in this study were 1.8 and 2.3 in Benin and Senegal, respectively. They were relatively higher than E/B ratio (1.2) found in Tokyo (Hoshi et al. 2008). Furthermore, xylene to ethylbenzene ratio (X/E) has been widely used an indicator for photochemical reactivity from OH-oxidation in the atmosphere. Recent studies showed that this ratio (o-X/E) was ranged from 0.2 to 0.9 worldwide (Lan and Binh 2012). In the present study, o-X/E ratio was remarkably higher in Benin (4.2) and Senegal (11.1). This suggests that ozone concentration is extremely high in African atmosphere. It is crucial to investigate the photochemical age of urban plume that can contain high level of ozone; this could come from industrial activities. This ratio of xylene to ethylbenzene could be a good tool to assess air quality in African countries. Moreover, benzene/toluene ratio (B/T) recorded was similar in PM_{2.5} in urban African cities under study. These values were near to those found by Wang et al. (2012) and they indicated vehicular exhaust origin (Zhang et al. 2012).

PAHs data in PM_{2.5} were unavailable in Côte d'Ivoire. So, at this level, comparative study considers the values just in Senegal and Benin. Several studies used PAHs ratios to identify their possible source (Ladji et al. 2009; Dvorská et al. 2011; Tobiszewski and Namieśnik 2012; Li et al. 2013). Percentages of PAHs were similar in Dakar and Cotonou, and present the same ratios. Flu/(Flu + Pyr) was 0.4 and 0.3 in Dakar and Cotonou, respectively. This indicated gasoline emissions (Ravindra et al. 2006). The ratio of BaP/(BaP + Chr) suggests that PAHs in urban African PM_{2.5} were from diesel emissions (Cazier et al. 2011). Further, BaA/(BaA + Chr), BaP/BghiP, and Σ COMB/ Σ PAHs reveal that PAHs of West African PM_{2.5} are attributed to combustion and traffic emissions (Katsoyiannis et al. 2007; Ravindra et al. 2008; Akyüz and Çabuk 2010). In Dakar, ratios of BbF/BkF and Ind/(Ind + BghiP) indicate aluminium smelter emissions (Callén et al. 2011) and diesel emissions (Ravindra et al. 2006), respectively.

4. Conclusion

In all, the purpose of this study is to compare the physicochemical characteristics of PM in urban air of Sub-Saharan countries. This work focuses particularly on three West African countries: Senegal, Côte d'Ivoire, and Benin. Though these countries don't share the same borders, their urban environments reveal similarities as regards high concentrations of particles. Higher concentrations of PM_{2.5} were recorded especially in Cotonou (Benin). The same distribution of PM and similar specific surface areas were found in these countries. Further, the ratio of specific surface area to the proportion of 2.5 μ m fraction could be used to investigate African urban air. Likewise, similar repartitions of trace elements were recorded in the three countries. These metals can come from African soil and it is crucial to investigate West African ground to clarify pollution source. Identification tools of pollution source as VOCs ratios and PAHs ratios were used to detect pollutants origin. The ratio toluene/benzene was similar in African countries under study and indicated vehicle emission. Concentrations of ozone could be high in West African ambient air. All results suggest mostly traffic emissions. However, other studies are necessary to exclude the possible industrial dust influence in African urban areas.

Acknowledgments

The Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV), EA4492, participates in the Institut de Recherches en ENvironnement Industriel (IRENI), which is financed by the Communauté Urbaine de Dunkerque, the Région Nord-Pas de Calais, the Ministère de l'Enseignement

Supérieur et de la Recherche, the CNRS and European Regional Development Fund (ERDF). The authors gratefully acknowledge the NOAA Air Resources Laboratory (ARL) for providing the HYSPLIT transport and dispersion model and/or READY website (<http://www.arl.noaa.gov/ready.php>) used in this work. We wish to thank the Centre Commun de Mesures who carried out all chemical analysis. This study benefited from grants from the Service de Coopération et d'Action Culturelle de l'Ambassade de France in Benin.

References

- Adohinzin JBN, Xu L, Du J, Yang F. Capacity strengthening for environmental assessment in Benin. *Environ Monit Assess* 2011;180(1-4):269–82.
- Akyüz M, Çabuk H. Gas–particle partitioning and seasonal variation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere of Zonguldak, Turkey. *Sci Total Environ* 2010;408(22):5550–8.
- Alford ÉR, Pilon-Smits EAH, Paschke MW. Metallophytes—a view from the rhizosphere. *Plant Soil* 2010;337(1-2):33–50.
- Avogbe PH, Ayi-Fanou L, Cachon B, Chabi N, Debende A, Dewaele D, et al. Hematological changes among Beninese motor-bike taxi drivers exposed to benzene by urban air pollution. *Afr J Environ Sci Technol* 2011;5(7):464–72.
- Badyda AJ, Dabrowiecki P, Lubinski W, Czechowski PO, Majewski G. Exposure to traffic-related air pollutants as a risk of airway obstruction. *Adv Exp Med Biol* 2013;755:35–45.
- Billet S, Garçon G, Dagher Z, Verdin A, Ledoux F, Cazier F, et al. Ambient particulate matter (PM_{2.5}): Physicochemical characterization and metabolic activation of the organic fraction in human lung epithelial cells (A549). *Environ Res* 2007;105(2):212–23.
- Boublil L, Assémat E, Borot M-C, Boland S, Martinon L, Sciare J, et al. Development of a repeated exposure protocol of human bronchial epithelium in vitro to study the long-term effects of atmospheric particles. *Toxicol In Vitro* 2013;27(2):533–42.
- Buczynska AJ, Krata A, Stranger M, Locateli Godoi AF, Kontozova-Deutsch V, Bencs L, et al. Atmospheric BTEX-concentrations in an area with intensive street traffic. *Atmos Environ* 2009;43(2):311–8.
- Cabral M, Dieme D, Touré A, Diop C, Jichi F, Cazier F, et al. 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 a;24(1):1–7.
- Cabral M, Dieme D, Verdin A, Garçon G, Fall M, Bouhsina S, et al. Low-level environmental exposure to lead and renal adverse effects: A cross-sectional study in the population of children bordering the Mbeubeuss landfill near Dakar, Senegal. *Hum Exp Toxicol* 2012 b;31(12):1280–91.
- Cachon B, Ayi-Fanou L, Cazier F, Genevray P, Adéoti K, Dewaele D, et al. Analysis of Gasoline Used by Motorbike-Taxi Drivers in Cotonou. *Environ Pollut* 2013;2(2).
- Callén MS, de la Cruz MT, López JM, Mastral AM. PAH in airborne particulate matter.: Carcinogenic character of PM₁₀ samples and assessment of the energy generation impact. *Fuel Process Technol* 2011;92(2):176–82.
- Camatini M, Corvaja V, Pezzolato E, Mantecca P, Gualtieri M. PM₁₀-biogenic fraction drives the seasonal variation of proinflammatory response in A549 cells. *Environ Toxicol* 2012;27(2):63–73.
- Caplain I, Cazier F, Nouali H, Mercier A, Déchaux J-C, Nollet V, et al. Emissions of unregulated pollutants from European gasoline and diesel passenger cars. *Atmos Environ* 2006;40(31):5954–66.
- Cazier F, Dewaele D, Delbende A, Nouali H, Garçon G, Verdin A, et al. Sampling analysis and characterization of particles in the atmosphere of rural, urban and industrial areas. *Procedia Environ Sci* 2011;4:218–27.

- Cheng S. Heavy metal pollution in China: Origin, pattern and control. *Environ Sci Pollut Res* 2003;10(3):192–8.
- Cheung K, Daher N, Kam W, Shafer MM, Ning Z, Schauer JJ, et al. Spatial and temporal variation of chemical composition and mass closure of ambient coarse particulate matter (PM_{10-2.5}) in the Los Angeles area. *Atmos Environ* 2011;45(16):2651–62.
- Chuang H-C, BéruBé K, Lung S-CC, Bai K-J, Jones T. Investigation into the oxidative potential generated by the formation of particulate matter from incense combustion. *J Hazard Mater* 2013;244–245:142–50.
- Dergham M, Lepers C, Verdin A, Billet S, Cazier F, Courcot D, et al. Prooxidant and Proinflammatory Potency of Air Pollution Particulate Matter (PM_{2.5-0.3}) Produced in Rural, Urban, or Industrial Surroundings in Human Bronchial Epithelial Cells (BEAS-2B). *Chem Res Toxicol* 2012;25(4):904–19.
- Diédhiou M, Cissé Faye S, Diouf OC, Faye S, Faye A, Re V, et al. Tracing groundwater nitrate sources in the Dakar suburban area: an isotopic multi-tracer approach. *Hydrol Process* 2012;26(5):760–70.
- Dieme D, Cabral-Ndior M, Garçon G, Verdin A, Billet S, Cazier F, et al. Relationship between physicochemical characterization and toxicity of fine particulate matter (PM_{2.5}) collected in Dakar city (Senegal). *Environ Res* 2012;113:1–13.
- Diouf A, Garçon G, Diop Y, Ndiaye B, Thiaw C, Fall M, et al. Environmental lead exposure and its relationship to traffic density among Senegalese children: a cross-sectional study. *Hum Exp Toxicol* 2006;25(11):637–44.
- Duan J, Tan J. Atmospheric heavy metals and Arsenic in China: Situation, sources and control policies. *Atmos Environ* 2013;74:93–101.
- Duan J, Tan J, Yang L, Wu S, Hao J. Concentration, sources and ozone formation potential of volatile organic compounds (VOCs) during ozone episode in Beijing. *Atmospheric Res* 2008;88(1):25–35.
- Dvorská A, Lammel G, Klánová J. Use of diagnostic ratios for studying source apportionment and reactivity of ambient polycyclic aromatic hydrocarbons over Central Europe. *Atmos Environ* 2011;45(2):420–7.
- Fang G-C, Huang Y-L, Huang J-H. Study of atmospheric metallic elements pollution in Asia during 2000–2007. *J Hazard Mater* 2010;180(1–3):115–21.
- First Interministerial Conference on Health and Environment in Africa. Health security through Healthy Environments. République Gabonaise, UNEP United Nations Environmental Programme, World Health Organization WHO Regional Office for Africa, Libreville, Gabon August 2008 Proceedings 2008. <http://www.afro.who.int/>
- Fu PQ, Kawamura K, Pavuluri CM, Swaminathan T. Molecular characterization of urban organic aerosol in tropical India: contributions of biomass/biofuel burning, plastic burning, and fossil fuel combustion. *Atmospheric Chem Phys Discuss* 2009;9(5):21669–716.
- He K, Yang F, Ma Y, Zhang Q, Yao X, Chan CK, et al. The characteristics of PM_{2.5} in Beijing, China. *Atmos Environ*. 2001 Oct;35(29):4959–70.
- Hoshi J, Amano S, Sasaki Y, Korenaga T. Investigation and estimation of emission sources of 54 volatile organic compounds in ambient air in Tokyo. *Atmos Environ* 2008;42(10):2383–93.
- Katsoyiannis A, Terzi E, Cai Q-Y. On the use of PAH molecular diagnostic ratios in sewage sludge for the understanding of the PAH sources. Is this use appropriate? *Chemosphere* 2007;69(8):1337–9.
- Kelly FJ, Fussell JC. Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter. *Atmos Environ* 2012;60:504–26.
- Kèlomé NC, Lévêque J, Andreux F, Milloux M-J, Oyédé L-M. C₄ plant isotopic composition (δ¹³C) evidence for urban CO₂ pollution in the city of Cotonou, Benin (West Africa). *Sci Total Environ* 2006;366(2–3):439–47.

- Khan MF, Shirasuna Y, Hirano K, Masunaga S. Characterization of PM_{2.5}, PM_{2.5-10} and PM_{>10} in ambient air, Yokohama, Japan. *Atmospheric Res* 2010;96(1):159–72.
- Kotianová P, Puxbaum H, Bauer H, Caseiro A, Marr IL, Čík G. Temporal patterns of n-alkanes at traffic exposed and suburban sites in Vienna. *Atmos Environ* 2008;42(13):2993–3005.
- Kouassi KS, Billet S, Garçon G, Verdin A, Diouf A, Cazier F, et al. Oxidative damage induced in A549 cells by physically and chemically characterized air particulate matter (PM_{2.5}) collected in Abidjan, Côte d'Ivoire. *J Appl Toxicol* 2010;30(4):310–20.
- Ladji R, Yassaa N, Balducci C, Cecinato A, Meklati BY. Distribution of the solvent-extractable organic compounds in fine (PM₁) and coarse (PM₁₋₁₀) particles in urban, industrial and forest atmospheres of Northern Algeria. *Sci Total Environ* 2009;408(2):415–24.
- Lan TTN, Binh NTT. Daily roadside BTEX concentrations in East Asia measured by the Lanwatsu, Radiello and Ultra I SKS passive samplers. *Sci Total Environ* 2012;441:248–57.
- Lan TTN, Liem NQ, Binh NTT. Personal exposure to benzene of selected population groups and impact of commuting modes in Ho Chi Minh, Vietnam. *Environ Pollut* 2013;175:56–63.
- Lan TTN, Minh PA. BTEX pollution caused by motorcycles in the megacity of HoChiMinh. *J Environ Sci* 2013;25(2):348–56.
- Li X, Wang Y, Guo X, Wang Y. Seasonal variation and source apportionment of organic and inorganic compounds in PM_{2.5} and PM₁₀ particulates in Beijing, China. *J Environ Sci* 2013;25(4):741–50.
- Liu J, Mu Y, Zhang Y, Zhang Z, Wang X, Liu Y, et al. Atmospheric levels of BTEX compounds during the 2008 Olympic Games in the urban area of Beijing. *Sci Total Environ* 2009;408(1):109–16.
- Longhin E, Pezzolato E, Mantecca P, Holme JA, Franzetti A, Camatini M, et al. Season linked responses to fine and quasi-ultrafine Milan PM in cultured cells. *Toxicol In Vitro* 2013;27(2):551–9.
- Merbitz H, Buttstädt M, Michael S, Dott W, Schneider C. GIS-based identification of spatial variables enhancing heat and poor air quality in urban areas. *Appl Geogr* 2012;33:94–106.
- Miller L, Lemke LD, Xu X, Molaroni SM, You H, Wheeler AJ, et al. Intra-urban correlation and spatial variability of air toxics across an international airshed in Detroit, Michigan (USA) and Windsor, Ontario (Canada). *Atmos Environ* 2010;44(9):1162–74.
- Miller L, Xu X, Grgicak-Mannion A, Brook J, Wheeler A. Multi-season, multi-year concentrations and correlations amongst the BTEX group of VOCs in an urbanized industrial city. *Atmos Environ* 2012;61:305–15.
- Oga Yei MS, Sacchi E, Zuppi GM. Origin and effects of nitrogen pollution in groundwater traced by δ¹⁵N–NO₃ and δ¹⁸O–NO₃: the case of Abidjan (Ivory Coast). *Int. Symp. on Advances in Isotope Hydrology and its role in Sustainable Water Resources Management, IAEA, Vienna* 2007;1:139–47.
- Ogunjobi KO, He Z, Simmer C. Spectral aerosol optical properties from AERONET Sun-photometric measurements over West Africa. *Atmospheric Res* 2008;88(2):89–107.
- Oh SM, Kim HR, Park YJ, Lee SY, Chung KH. Organic extracts of urban air pollution particulate matter (PM_{2.5})-induced genotoxicity and oxidative stress in human lung bronchial epithelial cells (BEAS-2B cells). *Mutat Res Toxicol Environ Mutagen* 2011;723(2):142–51.
- Peacock JL, Anderson HR, Bremner SA, Marston L, Seemungal TA, Strachan DP, et al. Outdoor air pollution and respiratory health in patients with COPD. *Thorax* 2011;66(7):591–6.
- Pietrogrande MC, Abbaszade G, Schnelle-Kreis J, Bacco D, Mercuriali M, Zimmermann R. Seasonal variation and source estimation of organic compounds in urban aerosol of Augsburg, Germany. *Environ Pollut* 2011;159(7):1861–8.
- Programme des Nations Unies pour l'Environnement. PNUE – 3ème Rapport de l'Avenir de l'Environnement en Afrique (AEO 3): Résumé à l'intention des décideurs 2013. http://www.unep.org/pdf/aeo3_Fr.pdf

- Raaschou-Nielsen O, Andersen ZJ, Hvidberg M, Jensen SS, Ketzel M, Sørensen M, et al. Lung Cancer Incidence and Long-Term Exposure to Air Pollution from Traffic. *Environ Health Perspect* 2011;119(6):860–5.
- Ravindra K, Bencs L, Wauters E, de Hoog J, Deutsch F, Roekens E, et al. Seasonal and site-specific variation in vapour and aerosol phase PAHs over Flanders (Belgium) and their relation with anthropogenic activities. *Atmos Environ* 2006;40(4):771–85.
- Ravindra K, Sokhi R, Van Grieken R. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmos Environ* 2008;42(13):2895–921.
- Rodríguez S, Querol X, Alastuey A, Viana M-M, Alarcón M, Mantilla E, et al. Comparative PM₁₀–PM_{2.5} source contribution study at rural, urban and industrial sites during PM episodes in Eastern Spain. *Sci Total Environ* 2004;328(1–3):95–113.
- Senlin L, Zhenkun Y, Xiaohui C, Minghong W, Guoying S, Jiamo F, et al. The relationship between physicochemical characterization and the potential toxicity of fine particulates (PM_{2.5}) in Shanghai atmosphere. *Atmos Environ* 2008;42(31):7205–14.
- Sun H, Shamy M, Kluz T, Muñoz AB, Zhong M, Laulicht F, et al. Gene expression profiling and pathway analysis of human bronchial epithelial cells exposed to airborne particulate matter collected from Saudi Arabia. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012;265(2):147–57.
- Tobiszewski M, Namieśnik J. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environ Pollut* 2012;162:110–9.
- United Nations. UN - Department of Economic and Social Affairs. *World Urbanization Prospects: The 2009 Revision*. United Nations, New York; 2010.
- Wang J, Hu Z, Chen Y, Chen Z, Xu S. Contamination characteristics and possible sources of PM₁₀ and PM_{2.5} in different functional areas of Shanghai, China. *Atmos Environ* 2013;68:221–9.
- Wang Y, Ren X, Ji D, Zhang J, Sun J, Wu F. Characterization of volatile organic compounds in the urban area of Beijing from 2000 to 2007. *J Environ Sci* 2012;24(1):95–101.
- Weinstein JP, Hedges SR, Kimbrough S. Characterization and aerosol mass balance of PM_{2.5} and PM₁₀ collected in Conakry, Guinea during the 2004 Harmattan period. *Chemosphere* 2010;78(8):980–8.
- World Health Organization. World Health Organization, Public Health and Environment, PHE - WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide - Global update 2005; 2006. http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_SDE_PHE_OEH_06.02_fre.pdf
- World Health Organization. World Health Organization, Public Health and Environment, PHE - WHO Burden of disease associated with urban outdoor air pollution for 2008; 2008. http://www.who.int/phe/health_topics/outdoorair/databases/burden_disease/en/index.html
- Zhang Y, Mu Y, Liu J, Mellouki A. Levels, sources and health risks of carbonyls and BTEX in the ambient air of Beijing, China. *J Environ Sci* 2012;24(1):124–30.

Synthèse générale

&

Perspectives

Synthèse générale

L'objectif principal de ce travail de recherche était d'étudier l'impact toxicologique de la pollution atmosphérique de la ville de Cotonou et plus particulièrement celui des particules fines ($PM_{2.5}$) et grossières ($PM_{>2.5}$) échantillonnées dans le quartier de St Michel. Dans l'optique final d'étudier les mécanismes d'action toxique de cette pollution, nous nous sommes intéressés en premier lieu aux facteurs affectant la qualité de l'air. Ainsi, dans un premier temps, la qualité de l'essence utilisée à Cotonou, soupçonnée d'être majoritairement issue d'un commerce illicite d'essence de mauvaise qualité en provenance du Nigéria, a retenu notre attention.

Dans la littérature, l'ETBE (Éther éthyle tertiobutyle), les aromatiques (en particulier le benzène et le toluène) et les paraffines sont couramment décrits comme étant des composés majeurs des essences. Les résultats de notre étude ont révélé que la composition chimique était similaire dans les échantillons d'essence collectés au niveau des stations officielles de Cotonou, du Nigéria ainsi que chez les vendeurs ambulants installés le long des voies de circulation. Nous avons remarqué une similitude entre nos échantillons et l'essence de référence SP 98 (France) concernant les composés aromatiques et les paraffines. Par contre, l'ETBE additif qui augmente l'indice d'octane, un élément essentiel de l'essence n'était présent qu'en faible teneur dans les échantillons du Bénin et du Nigéria. Sur treize échantillons d'essence, seuls trois de Cotonou présentaient des valeurs de 0,3 à 0,7 contre 14 pour l'essence de référence SP 98. À l'inverse, le taux de benzène retrouvé dans ces échantillons était parfois plus de quatre fois supérieur (à la norme internationale qui est de 1 % (Kolmetz and Gentry, 2007), et ceci même pour les essences des stations officielles (4,1 à 4,4 %). De la même manière, les ratios T/B (toluène/benzène) des échantillons étaient de l'ordre de 4 pour les stations ambulantes et de 3 dans les stations officielles de Cotonou et du Nigéria alors qu'ils étaient de 10 dans l'essence de référence SP 98. Dans la littérature le

ratio T/B est de l'ordre de 9 (INERIS, 2010) et peut atteindre 15 comme ce fut le cas en Italie (Adami et al., 2006). Les valeurs faibles de notre étude s'expliquaient par une forte concentration de benzène dans les essences. Ce dernier étant très volatil, nous avons cherché à déterminer sa concentration dans l'air ambiant à l'aide de badges GABIE épinglés sur la tenue des conducteurs de taxi-motos. Les résultats ont révélé sans surprise de fortes concentrations de benzène dans l'air. Ces concentrations élevées de benzène dans l'air ambiant étaient de plus bien corrélées avec celles enregistrées dans l'essence. L'ensemble des résultats sur les échantillons d'essence suggère que l'ETBE serait probablement remplacé par du benzène. Aussi, les manipulations excessives de transvasement sans aucune protection et surtout l'utilisation de l'essence par les véhicules pourraient occasionner une augmentation de la concentration du benzène dans l'air.

L'absence d'additif diminue la durée de vie de l'essence, influe sur la qualité de combustion et contribue à une mauvaise élimination des dépôts de résidus de combustion. La mauvaise qualité de l'essence engendre alors une surconsommation et participe au mauvais fonctionnement des moteurs. À cela s'ajoute le mauvais ou le manque d'entretien des moteurs à essence fréquemment observé chez les conducteurs de taxi-motos et la majeure partie de la population. Tout ceci occasionne la libération dans l'air de nombreux composés toxiques dont certains, adsorbés sur les particules, contribuent à l'accroissement de nombreuses pathologies. Une meilleure connaissance de ces composés nécessite une caractérisation physique et chimique des particules. Dans cette optique, nous avons donc entrepris un prélèvement de particules $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$ qui a été réalisé à St Michel, quartier situé en plein cœur de la ville de Cotonou.

Dans notre étude, les résultats sur les propriétés physiques des particules $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$ indique que la distribution granulométrique était proche dans les deux types de particules (chargés en particules fines : $\leq 2,5 \mu m$, 97,5 %), de même que la capacité d'adsorption de composés chimiques (surface spécifique : $11 m^2/g$ et $13 m^2/g$ respectivement pour $PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$). Cette similitude semble révéler une agglomération de particules fines dans la fraction plus grossière. De plus, ces

échantillons étaient tous deux retrouvés à des concentrations très élevées dans l'air. La concentration de particules en suspension dans l'air était environ sept fois supérieure à la norme admise par l'OMS pour les $PM_{2.5}$ ($25 \mu\text{g}/\text{m}^3$, concentration moyenne sur 24 h) et près de deux fois supérieure pour les $PM_{>2.5}$ ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$, concentration moyenne sur 24 h) ([World Health Organization, 2006](#)). La concentration élevée de $PM_{2.5}$ était toutefois en accord avec celles obtenues dans des études récentes réalisées dans d'autres villes de l'Afrique Sub-Saharienne où la même technique d'échantillonnage a été utilisée (Abidjan : [Kouassi et al., 2010](#), Dakar : [Dieme et al., 2012](#)).

Ces résultats ont prouvé, notamment à travers la surface spécifique, que les deux types de particules échantillonnées à Cotonou disposaient d'une grande capacité d'adsorption de composés chimiques. Ainsi, on retrouve une importante variété de composés comme les COVs, les HAPs, les paraffines et les acides gras. Le tableau 14 rappelle l'ensemble des caractéristiques physicochimiques des particules.

L'analyse des espèces ioniques a révélé que les sulfates, les nitrates et le calcium étaient les ions les plus abondants dans les deux types de PM. Les concentrations élevées de calcium pourraient être de source naturelle sans exclure une contribution possible de la cimenterie située à environ 1 km de notre site d'échantillonnage. Nos données étaient similaires à celles de [Cazier et al. \(2011\)](#) où des proportions relativement importantes de CaCO_3 ont été retrouvées dans les PM prélevées à Dunkerque et expliquées en partie par des émissions liées à l'activité sidérurgique (agglomération des minerais et désulfuration de la fonte). Les sulfates et les nitrates proviendraient des activités anthropiques comme l'ont révélé d'autres études ([Cazier et al., 2011](#); [Dergham et al., 2012](#); [Dieme et al., 2012](#); [Khan et al., 2010](#)), en précisant que ces espèces ioniques correspondent majoritairement à des ions secondaires qui résultent de phénomènes de conversion de NO_x et SO_2 dans l'atmosphère pour donner respectivement les ions nitrates et sulfates dans l'état particulaire. De plus, les concentrations de Na^+ et de Cl^- étaient similaires aussi bien dans les $PM_{2.5}$ que dans les $PM_{>2.5}$ indiquant une

origine marine (Cazier et al., 2011; Kouassi et al., 2010; Rodríguez et al., 2004). Ceci semble confirmé par les retrotrajectoires des masses d'air de la période de prélèvement qui ont montré que les vents dominants étaient sous influence océanique.

De même, nos résultats font apparaître des similitudes en ce qui concerne les éléments majoritaires et les ETM. Les deux échantillons de particules contiennent des éléments alcalins et alcalino-terreux et des métaux (Al, Ba, Fe, Cr, Cu, Mg, Mn, Na, Pb, Sr, Ti, Zn). Le fer et l'aluminium ont été d'ailleurs retrouvés en forte proportion. La présence de différents éléments comme Al, Ca, Fe, Ti, Mg pourraient présenter en partie une contribution terrigène (Dieme et al., 2012; Kouassi et al., 2010; Weinstein et al., 2010), mais certains métaux (Fe, Zn, Mn, Pb, Ni, Cr) présenteraient une origine anthropique dominée par les émissions liées au trafic important de la ville de Cotonou (échappement, usure des pièces mécaniques, des freins et des pneus). Les déchets de toute sorte déversés par endroits dans la ville, les eaux marines et surtout stagnantes, contenant sans doute des éléments minéraux et organiques dissouts ne sont peut être pas non plus à négliger quant à leur influence sur la composition des particules. Les concentrations atmosphériques en ETM montrent une contribution des $PM_{2.5}$ généralement deux fois supérieures à celles des $PM_{>2.5}$. Cette observation est en accord avec celle de Lee et al. (2013). Nous avons remarqué que ces particules présentaient les mêmes distributions en considérant les pourcentages des différents éléments. Cette constatation était retrouvée également concernant l'analyse élémentaire C, H, N et S où le pourcentage de chaque élément ramené au carbone total était quasiment identique dans les deux échantillons de PM. Ceci confirme l'hypothèse selon laquelle les particules fines et grossières proviendraient probablement des mêmes sources (naturelles et/ou anthropiques). Selon Rodríguez et al. (2004), différents éléments pourraient être associés aux gaz d'échappement des véhicules (NO_3^- , NH_4^+ , Pb, carbones organique et élémentaire, Cu, Cl et K), aux poussières de la route (Ca, Ti, Fe, P, Cr, V et Mn) et aux particules issues des usures de freins et des pneus (Cu, Zn et proportion faible de Cr).

Tableau 14 : Caractéristiques physicochimiques des deux types de particules

Métaux	PM _{2.5}		PM _{>2.5}		[C]	Aire spécifique
	ng/m ³	%	ng/m ³	%	µg/m ³	m ² /g
Al	4 491	41,7	2 261	39,8	PM_{2.5} 181	11
Ba	4	0,4	22	0,4	PM_{>2.5} 95	13
Fe	3 705	34,4	2 009	35,4	[C] = Concentration estimée dans l'air	
Cr	11	0,1	5	0,1		
Cu	29	0,3	7	0,1		
Mg	756	7,0	402	7,1		
Mn	68	0,6	34	0,6		
Na	1 341	12,4	774	13,6		
Pb	22	0,2	11	0,2		
Sr	26	0,2	13	0,2		
Ti	128	1,2	59	1,0		
Zn	145	1,3	71	1,3		
Total	1 078		568			
Ions/Carbone						
SO ₄ ²⁻	1 357	21,5	502	16,6		
NO ₃ ⁻	822	13,0	175	5,8		
Ca ²⁺	2 479	39,2	1 138	37,7		
K ⁺	225	3,6	111	3,7		
Carbone total		22,97		14,09		
OC/TC		92,3		90,9		
COVs						
Benzène	0,46	5,2	0,05	4,2		
Toluène	1,81	20,3	0,07	5,8		
Ethylbenzène	0,83	9,3	0,10	8,3		
o-Xylène	3,47	39,0	0,07	5,8		
Autres	2,33		0,91			
Total	8,90		1,2			
HAPs						
Fluoranthène	0,11	5,5	0,03	13,4		
Pyrène	0,28	14,1	0,06	26,8		
Chrysène	0,26	13,1	0,01	4,5		
Benzo[a]Pyrène	0,24	12,1	0,01	4,5		
Autres	1,10		0,11			
Total	1,99		0,22			
Paraffines						
Tricosane	1,64	9,7	0,52	3,1		
Tétracosane	1,52	9,0	0,57	3,4		
Pentacosane	1,08	6,4	0,74	4,4		
Hexacosane	0,83	4,9	0,6	3,6		
Heptacosane	1,55	9,2	0,81	4,8		
Tritriacontane	1,86	11,0	0,52	3,1		
Autres	10,28		8,15			
Total	16,85		10,57			
Acides gras	µg/m ³		µg/m ³			
Acide hexadécanoïque	120,45	36,4	52,83	26,9		
Acide octadécanoïque	31,89	9,6	13,94	7,1		
Acide oléique	10,35	3,1	9,72	5,0		
Acide tétradécanoïque	17,99	5,4	10,77	5,5		
Autres	150,05		109,05			
Total	330,7		196,3			

Par ailleurs, l'association de phosphates, de potassium, de carbones organique et élémentaire en fortes concentrations suggère généralement une influence de la combustion de biomasse (Rodríguez et al., 2004). Dans notre étude, les phosphates étaient quasiment absents des deux échantillons de PM (31 ng/m³ pour les PM_{2.5} ; non détectés dans les PM_{>2.5}). Celles des nitrates étaient 822 et 175 ng/m³ respectivement pour les PM_{2.5} et les PM_{>2.5}. Les carbones organique et élémentaire présentaient des taux de 23 % pour les PM_{2.5} et 14 % pour les PM_{>2.5}. Les concentrations de nickel (2 et 1 ng/m³ respectivement pour les PM_{2.5} et les PM_{>2.5}) et de plomb (22 et 11 ng/m³ respectivement pour les PM_{2.5} et les PM_{>2.5}) étaient relativement élevées. Les concentrations de potassium étaient de 225 ng/m³ pour les PM_{2.5} et 111 ng/m³ pour les PM_{>2.5} et pourraient provenir de la combustion de biomasse ou encore de sels marins, de source terrigène ou du trafic. Comme évoquée par Rodríguez et al. (2004), ceci renforce l'hypothèse que nos particules seraient majoritairement issues de source automobile (y compris les cyclomoteurs).

L'analyse des composés organiques adsorbés sur les particules a révélé que dans les PM_{2.5}, les concentrations en COVs, HAPs, acides gras étaient supérieures à celles enregistrées dans les PM_{>2.5}. Des résultats similaires concernant les HAPs ont été retrouvés à Barcelone (Reche et al., 2012) et à Pékin (Li et al., 2013). Cependant, on s'aperçoit que le profil qualitatif des composés organiques dans les deux PM était similaire, et ceci était d'autant plus remarquable au niveau des COVs. Il apparaît à nouveau que les deux types de particules seraient issus d'une même source. De plus, en observant les données sur les différents ratios de HAPs et COVs ainsi que les autres paramètres d'identification de source présentés dans le tableau 15, nous avons constaté qu'ils étaient similaires (surtout concernant les HAPs) et confirmaient ainsi la contribution des mêmes sources pour les deux échantillons de particules. Le tableau suivant résume quelques ratios couramment utilisés pour la détermination des sources d'émission. Nous pouvons alors conclure que les différents composés chimiques adsorbés sur les PM_{2.5} et PM_{>2.5} proviendraient principalement du trafic routier, à la fois des émissions de véhicules à essence ainsi que des moteurs diesel.

Ces particules, riches en éléments toxiques divers, sont susceptibles d'être inhalées puis retenues au niveau pulmonaire. L'exposition aux particules, notamment aux plus fines d'entre elles, a été associée à l'aggravation ou à l'apparition de différentes pathologies cardio-respiratoires telles que l'asthme, la broncho-pneumopathie chronique obstructive, ou encore les cancers broncho-pulmonaires (Oh et al., 2011; Peacock et al., 2011; Sun et al., 2012).

Selon l'OMS, la pollution de l'air serait responsable de près de 800 000 décès annuels, de 8 % des cancers broncho-pulmonaires, de 5 % des décès par maladies cardio-pulmonaires et de 180 000 décès par asthme chaque année (Organisation Mondiale de la Santé, 2011b).

Tableau 15 : Indicateurs de source des composés adsorbés sur les PM

Ratios HAPs	Valeurs	Sources	Référence	PM _{2.5}	PM _{>2.5}
				Valeurs d'étude	
Σ COMB/ Σ HAPs	~ 1	Combustion	Ravindra et al. (2008)	0,88	0,89
BaP/BghiP	> 0,6	Émissions liées au trafic	Katsoyiannis et al. (2007)	0,65	-
BaP/(BaP+Chr)	> 0,5	Émissions de moteurs à essence	Cazier et al. (2011)	0,48	0,50
BaA/(BaA+Chr)	> 0,35	Émissions de véhicules	Akyüz and Çabuk (2010)	0,42	-
Flu/(Flu+Pyr)	< 0,5	Émissions de moteurs à essence	Ravindra et al. (2006)	0,28	0,33
Ratios COVs					
T/B	1,5-4	Émissions du trafic routier	Miller et al. (2012)	3,93	1,40
Autres ratios					
Ste/Pal	0,25-0,5	Émissions de véhicules diesel	Rogge et al. (2006)	0,26	0,26
Paraffines					
→ C20		Émissions de véhicules à essence	Kotianová et al. (2008)	++	+
C20-C37		Résidus de carburants	Cazier et al. (2011)	+++	+++

Benzo[a]Pyrène = BaP, Benzo[g,h,i]Perylène = BghiP, Chrysène = Chr, Benzo[a]Anthracène = BaA, Fluoranthène = Flu, Pyrène = Pyr, Σ HAPs = Somme des HAPs non alkylés, T = Toluène, B = Benzène, Ste = Acide stéarique, OC = Carbone organique, EC = Carbone élémentaire, Pal = Acide palmitique, Σ COMB = Σ BaP, Chr, Flu, Pyr, BaA, Ind, BkF, BbF, et BghiP, COMB = Combustion.

Depuis plusieurs décennies, un grand nombre d'études épidémiologiques de tous types ont été menées afin d'explorer un éventuel lien entre l'exposition chronique à la pollution atmosphérique particulaire (PM_{2.5} et PM₁₀) et l'apparition de cancers broncho-pulmonaires. Malgré des résultats inconstants et une significativité parfois faible, les éléments étayant l'hypothèse d'une augmentation de risque de mortalité par cancer broncho-pulmonaire associée à l'exposition aux PM_{2.5} et PM₁₀ sont de plus en plus nombreux, renforçant la plausibilité d'un lien de causalité. Selon une étude très récente, l'augmentation de la concentration atmosphérique en PM_{2.5} de 5 µg/m³ entrainerait une augmentation des cancers pulmonaires de 18 % et en particulier des adénocarcinomes (55 %) (Raaschou-Nielsen et al., 2013). Une autre étude a conclu qu'une augmentation de 10 µg/m³ de particules PM_{2.5} augmenterait de 37 % la mortalité par cancer broncho-pulmonaire (Lepeule et al., 2012). De même, l'augmentation de la concentration atmosphérique en PM₁₀ de 7 µg/m³ augmenterait de 1,23 à 2,74 le risque de mortalité par cancer pulmonaire chez la femme (Heinrich et al., 2013). Ainsi, malgré la relation clairement établie par les études épidémiologiques entre l'exposition aux particules et l'apparition des pathologies pulmonaires et cardiovasculaires (Brook et al., 2010; Calo et al., 2009; Iii et al., 2011; Karakatsani et al., 2012; Puett et al., 2011; Tolbert, 2007), des incertitudes subsistent encore quant aux mécanismes physiopathologies sous-jacents impliqués dans la toxicité induite par les particules. La connaissance de ces mécanismes nécessite donc d'être approfondie. Les études toxicologiques ont joué un rôle important au cours des dernières années dans la compréhension des effets biologiques des particules atmosphériques. Ces études réalisées en conditions contrôlées *in vivo* ou *in vitro*, permettent d'établir une relation dose/réponse très difficile à mettre en évidence dans les études épidémiologiques. Elles visent également à déterminer des seuils au-dessous desquels les effets biologiques ne s'observeraient pas. Elles informent sur le rôle des composants spécifiques dans les réponses biologiques et permettent d'étudier les associations de polluants. Enfin, elles sont nécessaires pour comprendre les mécanismes d'action qui sont potentiellement responsables des réponses physiopathologiques chez les individus exposés. Les études toxicologiques présentent cependant des limites, dans la mesure où il n'est pas

possible de reconstituer en laboratoire la complexité de l'organisme humain. Cependant, elles restent un des maillons essentiels parmi les éléments permettant l'évaluation des risques.

Dans cette étude, les analyses toxicologiques ont été réalisées *in vitro* sur une lignée de cellules épithéliales bronchiques pulmonaires d'origine humaine (BEAS-2B). De récentes études ont démontré que les BEAS-2B sont capables d'activer les différents paramètres que nous avons choisi d'étudier (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Gualtieri et al., 2010; Oostingh et al., 2011). L'évaluation de la cytotoxicité globale a été réalisée à partir de trois tests colorimétriques complémentaires : l'activité de la LDH extracellulaire, l'activité de la DHm et l'incorporation de la BrdU à l'ADN. Nous avons constaté que l'activité de la LDH extracellulaire n'est significative ($p < 0,001$) qu'après 48 h et/ou 72 h d'exposition aux $PM_{2,5}$ et $PM_{>2,5}$ pour des concentrations supérieures à $3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Ceci traduit une perturbation tardive de l'intégrité ou de la perméabilité membranaire. En outre, l'activité de la DHm diminuait significativement ($p < 0,001$) dès 24 h d'incubation pour des concentrations de PM excédant $24 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Cette activité était plus accentuée lorsque les cellules étaient exposées aux $PM_{2,5}$ par rapport aux $PM_{>2,5}$. Par ailleurs, nous avons observé une baisse ($p < 0,001$) de l'incorporation de la BrdU à l'ADN dans les cellules exposées aux deux types de particules, et ceci à partir de 24 h d'incubation pour des concentrations supérieures à $24 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. De plus, de fortes corrélations ont été observées entre ces différents paramètres ($r = - 0,94$: LDH-DHm ; $r = - 0,95$: LDH-BrdU ; $r = 0,87$: DHm-BrdU, $p < 0,01$) (tableau 16). Ces différentes observations nous amènent à conclure que les deux types de particules collectées à Cotonou ont la capacité d'altérer le métabolisme mitochondrial des cellules pulmonaires, ainsi que la division et la survie des cellules. L'étude de la cytotoxicité nous a permis de déterminer deux concentrations qui encadrent la concentration inhibitrice à 10 % ($3 \mu\text{g}/\text{cm}^2 < CI_{10} < 12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) pour l'étude des mécanismes physiopathologiques.

Des études ont montré que les réactions cytotoxiques et génotoxiques dépendent principalement de la composition chimique des particules (Billet et al., 2007; Fuentes-Mattei et al., 2010; Høgsberg et al., 2013; Ramos de Rainho et al.,

2013). À titre d'exemple, il a été prouvé que les cellules BEAS-2B étaient capables de biotransformer les HAPs, dont le B(a)P, à travers l'expression du gène codant pour le CYP1A1, après une exposition aux particules (Dergham et al., 2012; Tsuji and Walle, 2006). Le CYP1A1 est une enzyme clé de la phase I de métabolisation des xénobiotiques, principalement les HAPs (Val et al., 2011). L'activité de cette enzyme est généralement déterminée par l'activité EROD (éthoxyrésorufine-O-dééthylase) (Cavanagh et al., 2009). Dans cette étude, le mélange complexe d'éléments organiques et inorganiques que renferment nos particules, rend difficiles les approches quantitatives de toxicité attribuables aux différentes fractions. Cependant, aucune expression génique du CYP1A1, ni activité EROD n'ont été détectées dans les cellules, et ce quel que soit le type de particules utilisées. Au regard des résultats de la caractérisation physicochimique, nous pouvons constater la faible concentration de HAPs et la proportion relativement élevée de cuivre, élément connu pour son action inhibitrice de l'activité enzymatique du CYP1A1 (Ghosh et al., 2001). Ces différentes constatations pourraient expliquer l'absence de l'expression du CYP1A1 et de l'activité EROD. De même, le CYP2E1, connu pour son implication dans la métabolisation des COVs, n'était pas exprimé dans nos cellules. Cette observation est en accord avec d'autres études menées sur les cellules BEAS-2B (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012). En revanche, des inductions significatives de l'expression des gènes CYP1B1 et NQO1, impliqués également dans le métabolisme des COVs, avec des relations dose/réponse significatives ont été observées lorsque les cellules étaient exposées aux PM_{2.5} et aux PM_{>2.5}.

D'autres gènes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques, notamment des régulateurs de l'expression des gènes, ont été étudiés. Rappelons que la régulation du CYP1A1 (enzyme métabolisant principalement le benzo(a)pyrène) est assurée par le répresseur AhRR (Aryl hydrocarbon receptor repressor) localisé dans le noyau, qui entre en compétition avec AhR (Aryl hydrocarbon receptor, partenaire d'hétérodimérisation de ARNT, Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator) pour « l'empêcher » de se fixer au « transporteur » ARNT (Lesca and Pineau, 2012).

Tableau 16 : Corrélation entre les différents paramètres étudiés

	<i>IL-8</i>	<i>IL-6</i>	<i>IL-8g</i>	<i>IL-6g</i>	<i>IL-1g</i>	AhR	ARNT	AhRR	NQO1	LTC4	SOD	PGE2	TXB2	CYP1B1	DHm	BrdU
LDH																
DHm	<i>0.84</i>	<i>0.87</i>												<i>0.87</i>	-0.94	-0.95
														0.84		0.87
BrdU			0.89	<i>0.90</i>	<i>0.91</i>								<i>-0.88</i>			
CYP1B1	<i>0.89</i>	<i>0.88</i>	<i>0.81</i>	<i>0.84</i>	<i>0.94</i>	<i>0.83</i>					<i>0.83</i>					
<i>IL-6</i>	<i>0.99</i>										0.92		<i>0.85</i>			
	0.97															
<i>IL-8g</i>	<i>0.82</i>	<i>0.83</i>		<i>0.88</i>	<i>0.90</i>				<i>0.86</i>							
				0.83												
<i>IL-1g</i>				0.85				<i>0.92</i>								
AhR							<i>0.95</i>									
							0.94									
TNF- α			<i>-0.80</i>			-0.81								0.81		<i>-0.86</i>
LTE4										<i>0.91</i>						
GSSG/GSH											0.89					

"r" en gras correspond aux corrélations entre les paramètres induits par les PM_{2.5} et en italique celles liées aux PM_{>2.5}. LDH = Lactate déshydrogénase extracellulaire; DHm = déshydrogénase mitochondriale; BrdU = 5-bromo-2'-désoxyuridine; IL-8 = Interleukine 8 sécrétion protéique; IL-6 = Interleukine 6 sécrétion protéique; IL-8g = Interleukine 8 expression génique; IL-6g = Interleukine 6 expression génique; IL-1g = Interleukine 1-bêta expression génique; TNF- α = Tumor necrosis factor-alpha; LTB4 = leucotriène B4; LTC4 = leucotriène C4; LTE4 = leucotriène E4; PGE2 = prostaglandine E2; TXB2 = thromboxane B2; CYP1B1 = cytochrome P450, famille 1, sous-famille B, polypeptide 1; NQO1 = NADPH quinone oxydo-réductase 1; AhR = Aryl hydrocarbon receptor; ARNT = Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator; AhRR = Aryl hydrocarbon receptor repressor; SOD = Superoxyde dismutase; GSSG/GSH = ratio glutathion disulfide GSSG/ glutathion réduit GSH.

Cette compétition est également observée entre les complexes AhR-ARNT et AhRR-ARNT pour la fixation aux sites XRE (Éléments de réponse aux xénobiotiques) pour l'activation transcriptionnelle des gènes cibles. Dans notre étude, aucune corrélation n'était observée entre AhR et AhRR. Ce résultat pourrait suggérer qu'aucune modulation d'expression génique n'a été induite par AhRR ou AhRR-ARNT. Nous pouvons alors déduire que la modulation par AhRR ne serait probablement activée qu'à partir d'une concentration significative de benzo(a)pyrène dans les particules (pouvant induire l'expression du CYP1A1). Par ailleurs, une étude récente *in vitro* avec les cellules BEAS-2B a suggéré que l'AhR dimérise avec RelB un facteur de transcription de la famille de NF- κ B plutôt que l'ARNT (Øvrevik et al., 2010). Dans notre étude nous avons plutôt remarqué une forte corrélation entre AhR et ARNT ($r = 0,95$; $p < 0,01$) (tableau 16). Ceci suggèrerait que l'AhR se serait déplacé dans le noyau pour s'associer à ARNT afin d'activer à partir des XRE, la transcription non pas du CYP1A1 mais du CYP1B1 (l'une des enzymes de métabolisation des HAPs) qui était fortement corrélé avec AhR ($r = 0,83$; $p < 0,01$). Au regard de ce qui précède, nous avons pu montrer au travers de l'expression génique de la NQO1, enzyme de détoxication de la phase II, du CYP1B1, de l'AhR et de l'ARNT, une induction par les PM_{2.5} et PM_{>2.5} des enzymes prenant part à l'activation métabolique de xénobiotiques au sein des cellules bronchiques BEAS-2B.

Les investigations sur l'induction d'un stress oxydatif dans les cellules BEAS-2B exposées aux particules nous ont permis, à travers des biomarqueurs intracellulaires (ratio GSSG/GSH, MDA, SOD), d'évaluer la production et l'impact des ERO qui affectent les cellules. Dans la littérature, il a été rapporté que le stress oxydatif est l'un des principaux révélateurs de l'impact de la toxicité des particules, généralement lié aux ERO générées par les HAPs et/ou d'autres composés adsorbés sur les PM (composés organiques, métaux, etc.) (Baulig et al., 2009; Longhin et al., 2013; Steenhof et al., 2011). En outre l'enzyme NQO1, impliquée dans la détoxication des quinones, est souvent associée à la production d'ERO qui active l'élément de réponse antioxydante (Baulig et al., 2009; Øvrevik et al., 2010). Nos résultats ont révélé que les PM_{2.5}, ainsi que les PM_{>2.5}, avaient induit une

augmentation similaire et significative du statut de glutathion (GSSG/GSH) et de l'activité de la SOD (superoxyde dismutase). L'augmentation de cet effet oxydatif était confirmée non seulement par la forte corrélation existant entre ces deux marqueurs ($r = 0,89$; $p < 0,01$), mais aussi entre l'activité de la SOD et l'expression du CYP1B1 ($r = 0,83$; $p < 0,01$) (tableau 16). De même, la réponse cellulaire en terme d'accumulation de MDA (malondialdéhyde) était similaire après exposition aux deux lots de particules et le seuil de significativité n'a été atteint qu'après 72 h d'exposition à la plus forte concentration ($12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Ceci traduirait une tardive peroxydation lipidique membranaire qui semblerait liée à la libération extracellulaire de la LDH comme précédemment montré. On pourrait donc penser à l'action des systèmes antioxydants dans la limitation des dommages oxydatifs observables. En effet, l'exposition des organismes aérobies aux espèces prooxydantes peut entraîner une activation des systèmes de défense antioxydants enzymatiques et non enzymatiques dans les cellules (Lonkar and Dedon, 2011; Sun et al., 2008; Ziech et al., 2011). L'absence d'augmentation significative de MDA pourrait aussi s'expliquer par le fait que la voie de peroxydation lipidique catalysée par la cyclooxygénase est défavorisée au profit de la voie de lipoxygénase ; celle-ci va aboutir à la formation des leucotriènes qui vont induire la production des cytokines inflammatoires.

D'autres études suggèrent que dans les cellules BEAS-2B, le stress oxydatif serait induit par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et se traduirait par des effets cytotoxiques et non par des effets inflammatoires (Øvrevik et al., 2008). Cet auteur a démontré en 2010 qu'aucune corrélation n'était observée entre les dommages oxydatifs et les sécrétions de cytokines inflammatoires (Øvrevik et al., 2010). Dans notre étude nous avons cependant constaté une forte corrélation entre l'activité de l'enzyme antioxydante qu'est la SOD et la sécrétion de la cytokine inflammatoire qu'est l'IL-6 ($r = 0,92$; $p < 0,01$) (tableau 16).

Plusieurs études toxicologiques ont associé l'exposition aux PM à la production significative des cytokines/chemokines inflammatoires dans les cellules pulmonaires (Dergham et al., 2012; Dieme et al., 2012; Kouassi et al., 2010;

Michael et al., 2013; Shang et al., 2013; Happo et al., 2013). De même, une corrélation a également été démontrée entre la modulation de la sécrétion des cytokines et des niveaux relativement élevés d'ETM (Cu, Fe, As et Zn), de sulfates et de carbone total présents dans les particules d'origine urbaine (trafic) (Akhtar et al., 2011; Perrone et al., 2010). Par exemple, en réponse à une agression extérieure, la cytokine IL-8 (important médiateur proinflammatoire) associée aux neutrophiles déclenche le système de protection contre les agents pathogènes. Les travaux de Gualtieri et al. (2010) indiquaient que l'induction de la sécrétion d'IL-8 était uniquement observable chez les cellules exposées aux PM₁₀; dans ses travaux, les PM_{2.5} n'avaient pas induit la production d'IL-8. Dans cette étude, une induction significative de l'expression du gène et de la sécrétion d'IL-8 était non seulement observable dans les cellules BEAS-2B exposées aux PM_{>2.5} mais aussi chez celles traitées aux PM_{2.5}.

Nos résultats révélaient une induction plus importante des cytokines IL-6 et IL-8 par les PM_{>2.5} par rapport aux PM_{2.5}. Le tableau de corrélation révélait également de fortes similitudes entre l'expression génique et la sécrétion protéique des cytokines étudiées. Des études récentes n'avaient pas révélé de corrélation entre l'induction des cytokines et la cytotoxicité ou les dommages affectant le cycle cellulaire (Gualtieri et al., 2010; Øvrevik et al., 2010). La présente étude a montré que la diminution de la viabilité cellulaire était concomitante à la sécrétion de cytokines proinflammatoires induites par les deux types de particules ($r = 0,84$: IL-8-DHm ; $r = 0,87$: IL-6-DHm, $p < 0,01$) (tableau 16). Dans la littérature, ces cytokines proinflammatoires font souvent appel à d'autres médiateurs de l'inflammation que sont les leucotriènes, issus de la voie de la lipoxigénase, et les prostaglandines et thromboxanes issues de celle de la cyclooxygénase. Dans cette étude, les leucotriènes LTB₄, LTC₄, et LTE₄ (médiateurs chimiotactiques), la thromboxane TXB₂ et la prostaglandine PGE₂ étaient très peu induits. Cependant, une forte corrélation était observée entre LTC₄ et LTE₄ ($r = 0,91$; $p < 0,01$) indiquant que la voie de la lipoxigénase dans la métabolisation de LTA₄ par l'enzyme glutathion-S-transférase était favorisée. Rappelons que le LTE₄ est un métabolite de LTC₄. Nos résultats laissent penser

qu'ils étaient normalement présents dans les cellules. De même, les données suggèrent que le TNF- α activerait probablement la voie de la cyclooxygénase et induirait la synthèse de PGE2 ($r = 0,81$; $p < 0,01$). Nos résultats indiquaient également une forte association entre la production de TXB2 et la diminution de la prolifération cellulaire ($r = - 0,88$; $p < 0,01$). De plus, l'induction de la sécrétion d'IL-6 pourrait activer la voie de la cyclooxygénase conduisant à la synthèse de TXB2 ($r = 0,85$; $p < 0,01$) (tableau 16). De ce qui précède, les prostaglandines et les thromboxanes joueraient probablement un rôle important dans le déclenchement du processus inflammatoire et dans les perturbations affectant le cycle cellulaire.

Nous avons pu montrer à travers l'étude des impacts toxicologiques que les deux types de particules pourraient déclencher l'activation métabolique des xénobiotiques adsorbés sur leur surface, engendrer des altérations membranaires, affecter le métabolisme énergétique des cellules, altérer la division cellulaire et la survie des cellules et également induire un stress oxydatif et des réponses proinflammatoires dans les cellules pulmonaires. Nous avons alors la preuve que les particules collectées à Cotonou, par le cocktail de polluants toxiques qu'elles contiennent, induisaient des mécanismes pouvant conduire à des pathologies respiratoires. L'action synergique de certains polluants pourrait être responsable des effets observés. D'autres éléments constituent des antagonistes à l'induction de dommages que peuvent engendrer les particules. Certains médiateurs peuvent ainsi inhiber ou limiter les effets toxiques des particules. Les mécanismes, sans doute complexes, impliqués dans la physiopathologie restent à élucider. Nous proposerons, en fin de ce chapitre les mécanismes possibles, responsables des signes pathologiques pulmonaires et qui peuvent perturber les fonctions physiologiques.

Enfin, nous nous sommes intéressés à une comparaison des caractéristiques que peuvent présenter les particules fines PM_{2.5} de Cotonou avec celles d'Abidjan (Côte d'Ivoire) et de Dakar (Sénégal). En effet, la même technique d'échantillonnage a été utilisée dans les études réalisées dans ces villes (Cotonou, Abidjan et Dakar). L'étude comparative révèle en premier lieu que pendant les

périodes respectives de prélèvement de $PM_{2.5}$ dans les trois villes (Cotonou, Abidjan et Dakar), les conditions météorologiques étaient similaires notamment concernant les vitesses de vent et les températures. Aussi, les masses d'air étaient sous influence marine dans les trois villes. À Cotonou, de fortes concentrations de $PM_{2.5}$ étaient enregistrées ($181 \mu\text{g}/\text{m}^3$), de même qu'à Abidjan ($106 \mu\text{g}/\text{m}^3$) et à Dakar ($75 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Il est important de noter que les concentrations en $PM_{2.5}$ détectées dans chacune de ces villes étaient largement supérieures à la norme de l'OMS qui est de $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (concentration moyenne en 24 h).

Les caractéristiques physiques faisaient apparaître une similitude entre les prélèvements particuliers ($PM_{2.5}$) effectués dans les trois villes. En effet, l'air ambiant de ces différentes villes était constitué majoritairement de particules fines ($\leq 2,5 \mu\text{m}$) indiquant ainsi une forte capacité d'adsorption de composés toxiques. Les différences d'aires spécifiques seraient probablement dues à des différences de proportions de suies, ou fraction carbonée qui est connue pour être la fraction qui contribue le plus à l'aire spécifique dans les $PM_{2.5}$.

La répartition des composés chimiques dans les $PM_{2.5}$ de chaque ville était également similaire (tableau 17). On retrouve majoritairement les éléments alcalino-terreux, alcalins, éléments métalliques, et les métaux de transition qui sont présents habituellement dans la terre africaine (Alford et al., 2010). Le fer et l'aluminium en fortes concentrations pourraient provenir de la terre rouge riche en bauxite. Il apparaît nécessaire d'effectuer une analyse approfondie des sols pour déterminer les éventuelles sources naturelles. La présence élevée de chlorure et de sodium dans les particules des trois villes pourrait être due à une influence marine (Cazier et al., 2011; Rodriguez et al., 2004; Wang and Shooter, 2001). À Abidjan, les concentrations élevées de nitrates proviendraient du processus de conversion de NO_x en NO_3^- mais pourraient également être d'origine automobile. À Cotonou, la proximité de la cimenterie du site d'échantillonnage pourrait expliquer les teneurs élevées en calcium. Les profils en paraffines révèlent que les particules fines des différentes villes contenaient des alcanes lourds (C20 à C30) indiquant des émissions de véhicules à moteur essence et/ou diesel.

L'étude comparative des composés organiques s'était focalisée sur les BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène, xylène) et les HAPs. Nous avons obtenu peu de données sur les PM_{2.5} d'Abidjan. Cependant, les données des deux autres villes présentaient une variété de composés dont la détermination des sources d'émission est parfois difficile (tableau 17). Nous avons donc utilisé un panel de ratios d'identification des sources (tableau 18). Les ratios de COVs et de HAPs déterminés dans les particules PM_{2.5} à Cotonou étaient similaires à ceux de Dakar. Ces ratios semblent indiquer que les différents composés organiques pourraient provenir essentiellement des émissions du trafic routier (Miller et al., 2012; Akyüz and Çabuk, 2010; Katsoyiannis et al., 2007; Ravindra et al., 2008, 2006).

Dans la littérature, à partir des études réalisées de par le monde, on retrouve le ratio X/E qui varie entre 0,2 et 0,9 (Lan and Binh, 2012). Ce ratio indique des réactions photochimiques qui se produisent dans l'air. Ces réactions sont fréquemment issues de panache d'émissions. Un ratio élevé de X/E s'explique par de fortes concentrations de xylène, beaucoup plus réactif que l'éthylbenzène (Miller et al., 2011; Ueda and Tomaz, 2011), et est souvent corrélé avec B/T qui est faible. En Afrique de l'Ouest, l'étude comparative révèle que le ratio X/E dans l'air était très élevé, de l'ordre de 4 à 11. Ceci suggère que des phénomènes photochimiques impliquant de fortes concentrations d'ozone se seraient peut-être produits dans l'air de chacune des villes. De même, les HAPs proviendraient également des émissions diesel (Cazier et al., 2011; Ravindra et al., 2006). À Dakar, les données indiquent que des fonderies d'aluminium rejetteraient probablement des HAPs dans l'air (Callén et al., 2011).

**Tableau 17 : Caractéristiques chimiques des PM_{2.5} des trois villes
(Cotonou, Abidjan et Dakar)**

Métaux	PM _{2.5}						
	Cotonou		Abidjan		Dakar		
	µg/m ³	%	µg/m ³	%	µg/m ³	%	
Al	4,49	41,7	4,80	32,8	2,79	36,0	
Ba	0,04	0,4	-	-	0,03	0,3	
Ca	-	-	2,81	19,2	0,19	2,5	
Cr	0,01	0,1	0,11	0,8	0,00	0,0	
Cu	0,03	0,3	0,02	0,1	0,01	0,1	
Fe	3,71	34,4	4,29	29,4	3,03	39,1	
K	-	-	0,77	5,2	-	-	
Mg	0,76	7,0	0,57	3,9	0,65	8,4	
Mn	0,07	0,6	0,05	0,4	0,03	0,3	
Na	1,34	12,4	0,80	5,4	0,79	10,2	
Pb	0,02	0,2	0,04	0,3	0,01	0,1	
Sr	0,03	0,2	-	-	0,03	0,3	
Ti	0,13	1,2	0,31	2,1	0,17	2,2	
Zn	0,15	1,3	0,03	0,2	0,02	0,3	
Autres	0,02	0,2	0,01	0,1	0,01	0,1	
Ions							
Na ⁺		9,8		7,4		20,2	
Cl ⁻		9,7		5,4		18,4	
Ca ²⁺		39,2		27,6		24,3	
K ⁺		3,6		0,4		1,9	
SO ₄ ²⁻		21,5		21,6		17,3	
NO ₃ ⁻		13,0		31,7		14,3	
Autres		3,1		5,9		3,5	
COVs							
Benzène	0,46	5,2	0,08	5,7	0,77	2,1	
Toluène	1,81	20,3		-	2,49	6,7	
Ethylbenzène	0,83	9,3	0,06	4,1	1,81	4,8	
o-Xylène	3,47	39,0		-	20,0	53,5	
Autres	2,33	26,2	1,30	90,2	12,31	32,9	
HAPs							
		ng/m ³				ng/m ³	
Fluoranthène	Flu	0,11	5,5	-	-	0,13	4,7
Pyrène	Pyr	0,28	14,1	-	-	0,16	5,8
Benzo[a]Anthracène	BaA	0,19	9,5	-	-	0,26	9,3
Chrysène	Chr	0,26	13,1	-	-	0,22	7,8
Benzo[b]Fluoranthène	BbF	-	-	-	-	0,51	18,0
Benzo[k]Fluoranthène	BkF	0,30	15,1	-	-	0,20	7,0
Benzo[a]Pyrène	BaP	0,24	12,1	-	-	0,26	9,4
Indeno[1,2,3-c,d]Pyrène	Ind	-	-	-	-	0,44	15,5
Benzo[g,h,i]Perylène	BghiP	0,37	18,6	-	-	0,46	16,4
Autres		0,24	12,1			0,17	6,1

Tableau 18 : Indicateurs de source des composés adsorbés sur les PM_{2.5} des trois villes (Cotonou, Abidjan et Dakar)

Ratios HAPs	Valeurs	Sources	Référence	Cotonou	Abidjan	Dakar
$\Sigma\text{COMB}/\Sigma\text{HAPs}$	~ 1	Combustion	Ravindra et al. (2008)	0,9	-	0,9
BaP/BghiP	> 0,6	Émissions liées au trafic	Katsoyiannis et al. (2007)	0,7	-	0,6
BaP/(BaP+Chr)	0,5	Émissions de moteurs diesel	Cazier et al. (2011)	0,5	-	0,5
BaA/(BaA+Chr)	> 0,35	Émissions de véhicules	Akyüz and Çabuk (2010)	0,4	-	0,5
Flu/(Flu+Pyr)	< 0,5	Émissions de moteurs à essence	Ravindra et al. (2006)	0,3	-	0,4
Ind/(Ind+BghiP)	0,35-0,7	Émissions de moteurs diesel	Ravindra et al. (2006)	-	-	0,5
BbF/BkF	2,5-2,9	Émissions des alumineries	Callén et al. (2011)	-	-	2,6
Ratios COVs						
T/B	1,5-4	Émissions du trafic routier	Miller et al. (2012)	3,9	-	3,2
B/T	0,4	Émissions de véhicules	Wang et al. (2012)	0,3	-	0,3
X/E	0,2-0,9	Réactions photochimiques (présence d'ozone)	Lan and Binh (2012)	4,2	-	11,1
Paraffines						
→ C20		Émissions de véhicules à essence	Kotianová et al. (2008)	++	-	-
C20-C37		Résidus de carburants	Cazier et al. (2011)	+++	+++	+++

Conclusion

Notre projet de recherche avait pour objectif d'étudier la toxicité pulmonaire et les mécanismes d'action possibles (figure 62)¹⁸ impliqués suite à une exposition aux matières particulaires fines et grosses collectées à Cotonou. Ce travail de recherche en toxicologie *in vitro*, l'un des premiers menés au Bénin, a consisté à réaliser dans un premier temps une caractérisation physicochimique des particules, notamment par la détermination de la granulométrie, de leur surface spécifique, de leur composition en éléments inorganiques (métaux et ions) et en composés organiques (COVs, paraffines et HAPs). ***Ce volet nous a permis de montrer que nos particules étaient constituées majoritairement de particules fines (97,5 %) et présentaient un ensemble hétérogène de composés inorganiques et organiques, avec des proportions similaires dans les particules fines PM_{2.5} et les grosses PM_{>2.5}. Les résultats ont montré que de nombreux composés des particules étaient essentiellement d'origine anthropique.***

Nous avons ensuite évalué les effets cytotoxiques à travers trois méthodes complémentaires (activité de la LDH extracellulaire, activité de la DHm, incorporation de la BrdU) sur un modèle de cellules épithéliales bronchiques humaines (BEAS-2B). ***Au travers de nos résultats, nous avons pu montrer la capacité de ces deux types de particules à provoquer des perturbations de la perméabilité membranaire, du métabolisme cellulaire ainsi qu'une altération de la division cellulaire.***

Compte tenu de la diversité des éléments organiques adsorbés à la surface des particules, nous avons déterminé leur implication dans l'activation métabolique conduisant à la formation de métabolites plus toxiques. ***Ainsi, l'expression génique significative des enzymes de métabolisation (CYP1B1, NQO1, AhR et ARNT) a montré la capacité de nos particules à induire une possible activation des HAPs durant le processus de détoxification.***

¹⁸ Figure réalisée à partir des données du tableau de corrélation

Par ailleurs, nous avons exploré les dommages oxydatifs et le processus inflammatoire que peuvent engendrer nos particules. **Les résultats nous ont permis de montrer la capacité de nos particules à déclencher les systèmes de défense antioxydants (SOD), créer un déséquilibre au niveau du ratio glutathion oxydé/glutathion réduit (GSSG/GSH) et une peroxydation des lipides membranaires (MDA) indiquant ainsi une induction du stress oxydatif. De même, elles ont la capacité d'activer la « machinerie » de défense proinflammatoire à travers l'induction des cytokines, des leucotriènes, des prostaglandines et des thromboxanes.**

Enfin, l'approche comparative entre les particules PM_{2.5} de l'Afrique de l'Ouest nous a permis de mettre en évidence des caractéristiques identiques indiquant une majorité de particules fines dans l'air ambiant contenant une variété de composés organiques et inorganiques semblables et provenant essentiellement des émissions du trafic routier.

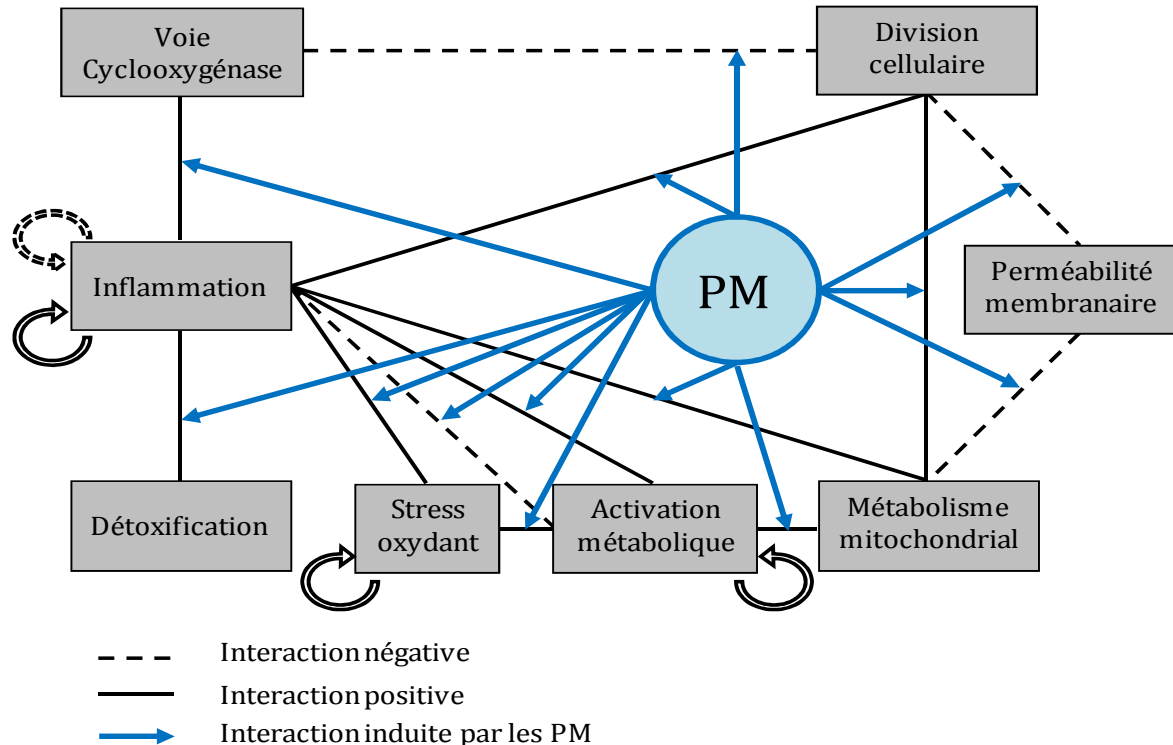


Figure 62 : Schéma simplifié des mécanismes possibles induits par les particules à partir des données du tableau de corrélation

Perspectives

Ce travail de thèse a montré que les particules dans l'air ambiant à Cotonou représenteraient un risque pour la santé humaine. Cependant, il présente quelques limites qui nous permettent de définir nos perspectives.

Au Bénin, il existe encore très peu d'industries. Néanmoins, nous avons pu remarquer qu'une possible proximité des industries en limite de zone urbaine pourrait expliquer les teneurs élevées en métaux. Il serait intéressant non seulement de réaliser des prélèvements au niveau des industries afin d'évaluer ou d'écarter les émissions d'origine industrielle, mais également dans les sols pour identifier les émissions de sources naturelles. Aussi, la période de la présente campagne de prélèvement était courte et nous n'avons pas pu comparer nos données à celles d'une zone rurale pouvant confirmer l'implication du trafic routier dans les émissions croissantes de particules atmosphériques. Il semblerait important de réaliser des prélèvements sur une longue période, peut être sur l'ensemble d'une année aussi bien en zone rurale qu'en zones urbaine et industrielle afin d'évaluer l'influence saisonnière dans les niveaux élevés de particules et de la contribution des émissions. Plusieurs campagnes combinées à des fractionnements des prélèvements s'avèrent donc nécessaires pour une meilleure représentativité des résultats surtout concernant la détermination des composés chimiques adsorbés sur les particules.

Cette thèse s'inscrit également dans une démarche d'identification des processus impliqués dans la toxicité des particules atmosphériques. Il est important de souligner que la présente étude est basée sur une approche toxicologique *in vitro*. Les résultats décrits dans ce travail ont pour but de soulever des hypothèses mécanistiques afin d'expliquer certains effets toxiques observés dans le cadre d'études épidémiologiques, hypothèses qui pourront par la suite être

testées, puis validées ou infirmées, par des études *in vivo*. Il serait alors intéressant d'investiguer l'approche *in vivo* afin d'évaluer l'impact des expositions prolongées sur des rats ou des souris à des émissions de polluants atmosphériques en explorant la régulation transcriptionnelle des cytochromes P450 impliqués dans la métabolisation des COVs et HAPs conduisant à des métabolites plus toxiques. Nous avons constaté que nos deux types de particules induisaient une expression faible de la prostaglandine PGE2 et de la thromboxane TXB2 qui sont des médiateurs fortement liés à la production de cytokines proinflammatoires. La voie de la cyclooxygénase semble nécessiter un approfondissement afin de préciser l'éventuel lien existant entre les défenses antioxydantes et les réactions inflammatoires.

La coopération bilatérale entre nos deux universités (Université d'Abomey-Calavi et Université du Littoral Côte d'Opale) nous a permis de réaliser l'ensemble des analyses physicochimiques et toxicologiques nécessitant des techniques analytiques de pointe et des réactifs très coûteux. Compte tenu des contraintes économiques et de la non-disponibilité d'appareillage adéquat dans notre université à Cotonou en particulier, et au Bénin en général, nous envisageons de rechercher des espèces végétales locales qui seraient sensibles à la pollution de l'air. Ceci nous permettrait de mettre en place une biosurveillance (à coût raisonnable) et de pouvoir sensibiliser la population et les responsables politiques aux impacts de la pollution atmosphérique et aux comportements à adopter pour une amélioration de la qualité de l'air à Cotonou.

Nous estimons enfin que ce travail pionnier, pourrait initier et contribuer à la mise en place d'une base de données sur la pollution atmosphérique et constituer une étape importante pour l'amélioration de la qualité de l'air en Afrique Sub-Saharienne en général et au Bénin en particulier.

Références

Bibliographiques

Abílio, V.C., Araujo, C.C.S., Bergamo, M., Calvente, P.R.V., D'Almeida, V., Ribeiro, R. de A., Frussa-Filho, R., 2003. Vitamin E attenuates reserpine-induced oral dyskinesia and striatal oxidized glutathione/reduced glutathione ratio (GSSG/GSH) enhancement in rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 27, 109–114.

Acquier, A.B., Mori Sequeiros García, M., Gorostizaga, A.B., Paz, C., Mendez, C.F., 2013. Reactive oxygen species mediate dopamine-induced signaling in renal proximal tubule cells. *FEBS Lett.* 587, 3254–3260.

Adami, G., Larese, F., Venier, M., Barbieri, P., Lo Coco, F., Reisenhofer, E., 2006. Penetration of benzene, toluene and xylenes contained in gasolines through human abdominal skin in vitro. *Toxicol. In Vitro* 20, 1321–1330.

ADEME, 1996. La pollution atmosphérique http://www.ademe.fr/midi-pyrenees/a_4_01.html (Consulté le 7.23.13).

ADEME, A. de l'Environnement et de la M. de l'Energie, 2012. Changement climatique-Chiffres clés <http://www2.ademe.fr/servlet/KBaseShow?sort=-1&cid=96&m=3&catid=12599> (Consulté le 8.6.13).

Adohinzin, J.B.N., Xu, L., Du, J., Yang, F., 2011. Capacity strengthening for environmental assessment in Benin. *Environ. Monit. Assess.* 180, 269–282.

Adon, M., Galy-Lacaux, C., Yoboué, V., Delon, C., Lacaux, J.P., Castera, P., Gardrat, E., Pienaar, J., Al Ourabi, H., Laouali, D., Diop, B., Sigha-Nkamdjou, L., Akpo, A., Tathy, J.P., Lavenu, F., Mougou, E., 2010. Long term measurements of sulfur dioxide, nitrogen dioxide, ammonia, nitric acid and ozone in Africa using passive samplers. *Atmos Chem Phys* 10, 7467–7487.

Afshari, A., Brok, J., Møller, A.M., Wetterslev, J., 2010. Aerosolized prostacyclin for acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS), in: *The Cochrane Collaboration*, Afshari, A. (Eds.), *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.

AFSSET, 2006. Pollution atmosphérique urbaine www.afsset.fr/upload/.../21_pollution_atmosphérique_urbaine.pdf

AFSSET, 2008. Valeurs guides de qualité d'air intérieur. Le benzène. Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail. Maisons-Alfort.

Ahmadi, G., 2004. Particle transport, deposition and removal. *Proc ME* 437, 1028–1040.

Akerman, M.E., Chan, W.C.W., Laakkonen, P., Bhatia, S.N., Ruoslahti, E., 2002. Nanocrystal targeting in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 12617–12621.

Akhtar, U.S., Scott, J.A., Chu, A., Evans, G.J., 2011. In vivo and In vitro Assessment of Particulate Matter Toxicology, in: Zereini, F., Wiseman, C.L.S. (Eds.), *Urban Airborne Particulate Matter*, Environmental Science and Engineering. Springer Berlin Heidelberg, pp. 427–449.

Akyüz, M., Çabuk, H., 2010. Gas-particle partitioning and seasonal variation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere of Zonguldak, Turkey. *Sci. Total Environ.* 408, 5550–5558.

Alford, É.R., Pilon-Smits, E.A.H., Paschke, M.W., 2010. Metallophytes—a view from the rhizosphere. *Plant Soil* 337, 33–50.

Ambrose, J.L., Reidmiller, D.R., Jaffe, D.A., 2011. Causes of high O₃ in the lower free troposphere over the Pacific Northwest as observed at the Mt. Bachelor Observatory. *Atmos. Environ.* 45, 5302–5315.

AMPASEL, ASCOPARG, COPARLY, 2010. Etude de traceurs de combustion de la biomasse dans l'air ambiant autour de trois chaufferies bois de la région Rhône-Alpes. Rhône-Alpes.

Araujo, J.A., 2011. Particulate air pollution, systemic oxidative stress, inflammation, and atherosclerosis. *Air Qual. Atmosphere Health* 4, 79–93.

ASPA, 2007. Les composés organiques industriels en Alsace. Caractérisation de mesures sur 9 sites industriels. Association

pour la Surveillance et l'Etude de la Pollution Atmosphérique en Alsace.

Assamoi, E.-M., 2011. Emissions anthropiques d'aérosols carbonés en Afrique en 2005 et en 2030 : élaboration d'inventaires et évaluation. Université Toulouse III - Paul Sabatier, Toulouse.

Auby, A., 2012. Modélisation à haute résolution du transport de polluants à longue distance. Université Paris VI - Pierre et Marie Curie, Île de France.

Avogbe, P.H., Ayi-Fanou, L., Autrup, H., Loft, S., Fayomi, B., Sanni, A., Vinzents, P., Møller, P., 2005. Ultrafine particulate matter and high-level benzene urban air pollution in relation to oxidative DNA damage. *Carcinogenesis* 26, 613–620.

Avogbe, P.H., Ayi-Fanou, L., Cachon, B., Chabi, N., Debende, A., Dewaele, D., Aissi, F., Cazier, F., Sanni, A., 2011. Hematological changes among Beninese motor-bike taxi drivers exposed to benzene by urban air pollution. *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* 5, 464–472.

Ayi-Fanou, L., Avogbe, P.H., Fayomi, B., Keith, G., Hountondji, C., Creppy, E.E., Autrup, H., Rihn, B.H., Sanni, A., 2011. DNA-adducts in subjects exposed to urban air pollution by benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Cotonou, Benin. *Environ. Toxicol.* 26, 93–102.

Ayi Fanou, L., Mobio, T.A., Creppy, E.E., Fayomi, B., Fustoni, S., Møller, P., Kyrtopoulos, S., Georgiades, P., Loft, S., Sanni, A., Skov, H., Øvrebø, S., Autrup, H., 2006. Survey of air pollution in Cotonou, Benin—air monitoring and biomarkers. *Sci. Total Environ.* 358, 85–96.

— B —

Baccarelli, A., Kaufman, J.D., 2011. Ambient Particulate Air Pollution, Environmental Tobacco Smoking, and Childhood Asthma: Interactions and Biological Mechanisms. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184, 1325–1327.

Badyda, A.J., Dabrowiecki, P., Lubinski, W., Czechowski, P.O., Majewski, G., 2013. Exposure to traffic-related air pollutants as a risk of airway obstruction. *Adv. Exp. Med. Biol.* 755, 35–45.

Bai, N., Tranfield, E.M., Kavanagh, T.J., Kaufman, J.D., Rosenfeld, M.E., van Eeden, S.F., 2012. Exposure to diesel exhaust upregulates COX-2 expression in ApoE knockout mice. *Inhal. Toxicol.* 24, 518–527.

Balashazy, I., Hofmann, W., Heistracher, T., 2003. Local particle deposition patterns may play a key role in the development of lung cancer. *J. Appl. Physiol.* Bethesda Md 1985 94, 1719–1725.

Banque Mondiale, 2007. Etude de la qualité de l'air à Cotonou - Rapport final - Clean Air Initiative in sub-Saharan African Cities, Ministère de l'Environnement et de la Protection de la Nature (MEPN).

Bauer, A.K., Faiola, B., Abernethy, D.J., Marchan, R., Pluta, L.J., Wong, V.A., Gonzalez, F.J., Butterworth, B.E., Borghoff, S.J., Everitt, J.I., Recio, L., 2003. Male mice deficient in microsomal epoxide hydrolase are not susceptible to benzene-induced toxicity. *Toxicol. Sci. Off. J. Soc. Toxicol.* 72, 201–209.

Baulig, A., Singh, S., Marchand, A., Schins, R., Barouki, R., Garlatti, M., Marano, F., Baeza-Squiban, A., 2009. Role of Paris PM2.5 components in the pro-inflammatory response induced in airway epithelial cells. *Toxicology* 261, 126–135.

Baulig, A., Sourdeval, M., Meyer, M., Marano, F., Baeza-Squiban, A., 2003. Biological effects of atmospheric particles on human bronchial epithelial cells. Comparison with diesel exhaust particles. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* 17, 567–573.

Becker, S., Dailey, L.A., Soukup, J.M., Grambow, S.C., Devlin, R.B., Huang, Y.-C.T., 2005. Seasonal variations in air pollution particle-induced inflammatory mediator release and oxidative stress. *Environ. Health Perspect.* 113, 1032–1038.

Beck-Speier, I., Kreyling, W.G., Maier, K.L., Dayal, N., Schladweiler, M.C., Mayer, P., Semmler-Behnke, M., Kodavanti, U.P., 2009. Soluble iron modulates iron oxide particle-induced inflammatory responses via prostaglandin E2 synthesis: In vitro and in vivo studies. *Part. Fibre Toxicol.* 6, 34.

Beja, M., 2012. There's less air pollution in NYC, but improvements needed: Report <http://www.amny.com/urbanite-1.812039/>

there-s-less-air-pollution-in-nyc-but-improvements-needed-report-1.3680073 (Consulté le 8.8.13).

Belkheiri, N., 2010. Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Université de Toulouse III - Paul Sabatier, Toulouse.

Bertini, R., Barcelos, L., Beccari, A., Cavaliere, B., Moriconi, A., Bizzarri, C., Di Benedetto, P., Di Giacinto, C., Gloaguen, I., Galliera, E., Corsi, M., Russo, R., Andrade, S., Cesta, M., Nano, G., Aramini, A., Cutrin, J., Locati, M., Allegretti, M., Teixeira, M., 2012. Receptor binding mode and pharmacological characterization of a potent and selective dual CXCR1/CXCR2 non-competitive allosteric inhibitor. *Br. J. Pharmacol.* 165, 436–454.

Bešlić, I., Šega, K., Čačković, M., Klaić, Z.B., Bajić, A., 2008. Relationship Between 4-Day Air Mass Back Trajectories and Metallic Components in PM10 and PM2.5 Particle Fractions in Zagreb Air, Croatia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 80, 270–273.

Bidar, G., Pruvot, C., Garçon, G., Verdin, A., Shirali, P., Douay, F., 2009. Seasonal and annual variations of metal uptake, bioaccumulation, and toxicity in *Trifolium repens* and *Lolium perenne* growing in a heavy metal-contaminated field. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, 42–53.

Billet, S., Garçon, G., Dagher, Z., Verdin, A., Ledoux, F., Cazier, F., Courcot, D., Aboukais, A., Shirali, P., 2007. Ambient particulate matter (PM2.5): Physicochemical characterization and metabolic activation of the organic fraction in human lung epithelial cells (A549). *Environ. Res.* 105, 212–223.

Bohand, X., Monpeurt, C., Bohand, S., Cazoulat, A., 2007. Déchets toxiques déversés à Abidjan (Côte-d'Ivoire) et conséquences sanitaires. *Médecine Trop.* 67, 620–624.

Bollati, V., Forni, A., 2009. Benzene and Leukemia, in: Schwab, M. (Ed.), *Encyclopedia of Cancer*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 329–331.

Bonnefont-Rousselot, D., Peynet, J., Beaudeau, J.-L., Théron, P., Legrand, A., Delattre, J., 2002. Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutr. Clin. Métabolisme* 16, 260–267.

Bortier, K., Dekelver, G., De Temmerman, L., Ceulemans, R., 2001. Stem injection of *Populus nigra* with EDU to study ozone effects under field conditions. *Environ. Pollut.* 111, 199–208.

Bossù, P., Grosso, E. del, Cesaroni, M.P., Maurizi, G., Balestro, N., Stoppacciaro, A., Giudice, E. del, Ruggiero, P., Boraschi, D., 2001. Balance between autocrine interleukin-1b and caspases defines life versus death of polymorphonuclear cells. *Eur. Cytokine Netw.* 12, 177–86.

Boublil, L., Assémat, E., Borot, M.-C., Boland, S., Martinon, L., Sciare, J., Baeza-Squiban, A., 2013. Development of a repeated exposure protocol of human bronchial epithelium in vitro to study the long-term effects of atmospheric particles. *Toxicol. In Vitro* 27, 533–542.

Bourbao, M., 2006. L'essence Kpayo <http://pedagogie84.pagesperso-orange.fr/kpayo.htm> (Consulté le 8.27.13).

Brockmann, P.E., Castro-Rodriguez, J.A., Holmgren, N.L., Cerda, J., María Contreras, A., Moya, A., Bertrand, P.J., 2012. Urinary leukotriene excretion profile in children with exercise-induced asthma compared with controls: A preliminary study. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)* 40, 181–186.

Brook, R.D., Rajagopalan, S., Pope, C.A., 3rd, Brook, J.R., Bhatnagar, A., Diez-Roux, A.V., Holguin, F., Hong, Y., Luepker, R.V., Mittleman, M.A., Peters, A., Siscovick, D., Smith, S.C., Jr, Whitsel, L., Kaufman, J.D., 2010. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 121, 2331–2378.

Brown, D.M., Stone, V., Findlay, P., MacNee, W., Donaldson, K., 2000. Increased inflammation and intracellular calcium caused by ultrafine carbon black is independent of transition metals or other soluble components. *Occup. Environ. Med.* 57, 685–691.

Buczynska, A.J., Krata, A., Stranger, M., Locatelli Godoi, A.F., Kontozova-Deutsch, V., Bencs, L., Naveau, I., Roekens, E., Van Grieken, R., 2009. Atmospheric BTEX-concentrations in an area with intensive street traffic. *Atmos. Environ.* 43, 311–318.

Cabral, M., Dieme, D., Touré, A., Diop, C., Jichi, F., Cazier, F., Fall, M., Diouf, A., 2012a. 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.* 24, 1–7.

Cabral, M., Dieme, D., Verdin, A., Garçon, G., Fall, M., Bouhsina, S., Dewaele, D., Cazier, F., Tall-Dia, A., Diouf, A., Shirali, P., 2012b. Low-level environmental exposure to lead and renal adverse effects: A cross-sectional study in the population of children bordering the Mbeubeuss landfill near Dakar, Senegal. *Hum. Exp. Toxicol.* 31, 1280–1291.

— C —

Cachon, B., Ayi-Fanou, L., Cazier, F., Genevray, P., Adéoti, K., Dewaele, D., Debende, A., Aissi, F., Sanni, A., 2013. Analysis of Gasoline Used by Motorbike-Taxi Drivers in Cotonou. *Environ. Pollut.* 2.

Cachon, F., Boris, 2009. Prévalence d'anticorps anti-métabolites du benzène chez les conducteurs de taxi-moto à Cotonou (Bénin). DEA Gestion de l'Environnement. Lomé, Togo.

Callén, M.S., de la Cruz, M.T., López, J.M., Mastral, A.M., 2011. PAH in airborne particulate matter.: Carcinogenic character of PM10 samples and assessment of the energy generation impact. *Fuel Process. Technol.* 92, 176–182.

Calo, W.A., Quintana, R., Catoni, I., Valle, Y., Álvarez, J.J., Colón, W.M., Delgado, M.S., Estrella, M., González, A.L., Kallis, M., Marrero, V.M., Meléndez, L., Miranda, A.I., Nieves, K., Osorio, L., Rodríguez, J.M., Torres, A., Suárez, E., Ortiz, A.P., 2009. Clinical conditions associated with environmental exposures: an epidemiologic study in two communities in Juana Diaz, Puerto Rico. *PR Health Sci. J.* 28.

Camatini, M., Corvaja, V., Pezzolato, E., Mantecca, P., Gualtieri, M., 2012. PM10-biogenic fraction drives the seasonal variation of proinflammatory response in A549 cells. *Environ. Toxicol.* 27, 63–73.

Carrier, P., Legros, R., Le Sidaner, A., Morel, A., Harry, P., Moesch, C., Sautereau, D., Ly, K.-H.,

Loustaud-Ratti, V., 2012. Intoxication par ingestion de plombs de pêche. *Rev. Médecine Interne* 33, 697–699.

Castell, J., 2009a. Biosurveillance de la qualité de l'air: Estimation visuelle des dégâts foliaires. AgroParisTech/INRA http://biosurveillance-air.info/index.php?option=com_content&view=article&id=14:estimationvisuelledegats&catid=2:la-surveillance-de-lozone-avec-le-tabac-qbel-w3q&Itemid=5

Castell, J., 2009b. Biosurveillance de la qualité de l'air: Biosurveillance de l'ozone avec le haricot. AgroParisTech/INRA http://biosurveillance-air.info/index.php?option=com_content&view=category&id=6&Itemid=12

Cavanagh, J.-A.E., Trought, K., Brown, L., Duggan, S., 2009. Exploratory investigation of the chemical characteristics and relative toxicity of ambient air particulates from two New Zealand cities. *Sci. Total Environ.* 407, 5007–5018.

Cazier, F., Dewaele, D., Delbende, A., Nouali, H., Garçon, G., Verdin, A., Courcot, D., Bouhsina, S., Shirali, P., 2011. Sampling analysis and characterization of particles in the atmosphere of rural, urban and industrial areas. *Procedia Environ. Sci.* 4, 218–227.

Chuang, H.-C., BéruBé, K., Lung, S.-C.C., Bai, K.-J., Jones, T., 2013. Investigation into the oxidative potential generated by the formation of particulate matter from incense combustion. *J. Hazard. Mater.* 244–245, 142–150.

CIRC, 2013. La pollution atmosphérique une des premières causes environnementales de décès par cancer, selon le CIRC - Centre international de Recherche sur le Cancer.

Comhair, S.A.A., Erzurum, S.C., 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 283, L246–255.

CoPath, 2011. La réaction inflammatoire. Les inflammations. Collège Français des Pathologistes.

Court, M., 2012. Pollution de l'air: la France mauvaise élève.

<http://www.lefigaro.fr/environnement/2012/03/28/01029-20120328ARTFIG00516-pollution-de-l-air-la-france-mauvaise-eleve.php>

(Consulté le 8.29.13).

Cozzi, E., Wingard, C.J., Cascio, W.E., Devlin, R.B., Miles, J.J., Bofferd, A.R., Lust, R.M., Van Scott, M.R., Henriksen, R.A., 2007. Effect of ambient particulate matter exposure on hemostasis. *Transl. Res.* 149, 324–332.

Curtius, J., 2006. Nucleation of atmospheric aerosol particles. *Comptes Rendus Phys.* 7, 1027–1045.

— D —

Dagher, Z., Garçon, G., Billet, S., Gosset, P., Ledoux, F., Courcot, D., Aboukais, A., Shirali, P., 2006. Activation of different pathways of apoptosis by air pollution particulate matter (PM_{2.5}) in human epithelial lung cells (L132) in culture. *Toxicology* 225, 12–24.

De La Torre-Roche, R.J., Lee, W.-Y., Campos-Díaz, S.I., 2009. Soil-borne polycyclic aromatic hydrocarbons in El Paso, Texas: Analysis of a potential problem in the United States/Mexico border region. *J. Hazard. Mater.* 163, 946–958.

De Paus, R.A., van Wengen, A., Schmidt, I., Visser, M., Verdegaal, E.M.E., van Dissel, J.T., van de Vosse, E., 2013. Inhibition of the type I immune responses of human monocytes by IFN- α and IFN- β . *Cytokine* 61, 645–655.

Debry, E., 2010. Modélisation des aérosols atmosphériques. Notes de cours Master SGE-AQA. Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (IRENIS).

Del Prete, A., Shao, W.-H., Mitola, S., Santoro, G., Sozzani, S., Haribabu, B., 2007. Regulation of dendritic cell migration and adaptive immune response by leukotriene B₄ receptors: a role for LTB₄ in up-regulation of CCR7 expression and function. *Blood* 109, 626–631.

Delfino, R.J., Gillen, D.L., Tjoa, T., Staimer, N., Polidori, A., Arhami, M., Sioutas, C., Longhurst, J., 2011. Electrocardiographic ST-Segment Depression and Exposure to Traffic-Related Aerosols in Elderly Subjects with

Coronary Artery Disease. *Environ. Health Perspect.* 119, 196–202.

Delhigo, 2012. Delhiites feel their environment has deteriorated <http://www.delhigo.com/2012/06/06/delhiites-feel-their-environment-has-deteriorated/> (Consulté le 8.8.13).

Delmas, R., Mégie, G., Peuch, V.-H., 2005. *Physique et chimie de l'atmosphère*. Berlin.

Deng, X., Zhang, F., Rui, W., Long, F., Wang, L., Feng, Z., Chen, D., Ding, W., 2013. PM_{2.5}-induced oxidative stress triggers autophagy in human lung epithelial A549 cells. *Toxicol. In Vitro* 27, 1762–1770.

Département de l'environnement, des transports, de l'énergie et de la communication (DETEC), 2011. Office fédéral de l'environnement (OFEV) - Poussières fines (PM₁₀)

<http://www.bafu.admin.ch/luft/00585/10761/index.html?lang=fr> (Consulté le 6.27.13).

Dergham, M., 2012. Evaluation de l'impact toxicologique de la pollution particulaire (PM_{2.5}) à Dunkerque : études sous influences industrielle, non industrielle et rurale. Université du Littoral Côte d'Opale de Dunkerque. 156 p.

Dergham, M., Lepers, C., Verdin, A., Billet, S., Cazier, F., Courcot, D., Shirali, P., Garçon, G., 2012. Prooxidant and Proinflammatory Potency of Air Pollution Particulate Matter (PM_{2.5-0.3}) Produced in Rural, Urban, or Industrial Surroundings in Human Bronchial Epithelial Cells (BEAS-2B). *Chem. Res. Toxicol.* 25, 904–919.

Dieme, D., Cabral-Ndior, M., Garçon, G., Verdin, A., Billet, S., Cazier, F., Courcot, D., Diouf, A., Shirali, P., 2012. Relationship between physicochemical characterization and toxicity of fine particulate matter (PM_{2.5}) collected in Dakar city (Senegal). *Environ. Res.* 113, 1–13.

Diouf, A., Garçon, G., Diop, Y., Ndiaye, B., Thiaw, C., Fall, M., Kane-Barry, O., Ba, D., Haguenoer, J.M., Shirali, P., 2006. Environmental lead exposure and its relationship to traffic density among Senegalese children: a cross-sectional study. *Hum. Exp. Toxicol.* 25, 637–644.

Doly, C., 2007. Biomarqueur en écotoxicologie: application à la surveillance de l'environnement marin. Master SGT.

Donaldson, K., Stone, V., Clouter, A., Renwick, L., MacNee, W., 2001. Ultrafine particles. *Occup. Environ. Med.* 58, 211–216.

Donaldson, K., Tran, L., Jimenez, L.A., Duffin, R., Newby, D.E., Mills, N., MacNee, W., Stone, V., 2005. Combustion-derived nanoparticles: A review of their toxicology following inhalation exposure. *Part. Fibre Toxicol.* 2, 10.

Draxler, R.R., Rolph, G.D., 2013. HYSPLIT (HYbrid Single-particle Lagrangian Integrated Trajectory) Model Access via NOAA ARL READY. NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD <http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT.php> (Consulté le 8.8.13).

Duan, J., Tan, J., Yang, L., Wu, S., Hao, J., 2008. Concentration, sources and ozone formation potential of volatile organic compounds (VOCs) during ozone episode in Beijing. *Atmospheric Res.* 88, 25–35.

Duvall, R.M., Norris, G.A., Dailey, L.A., Burke, J.M., McGee, J.K., Gilmour, M.I., Gordon, T., Devlin, R.B., 2008. Source apportionment of particulate matter in the U.S. and associations with lung inflammatory markers. *Inhal. Toxicol.* 20, 671–683.

— F —

Ercal, N., Gurer-Orhan, H., Aykin-Burns, N., 2001. Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Metal-induced Oxidative Damage. *Curr. Top. Med. Chem.* 1, 529–539.

Erdbrink, T., 2013. Tehran Is Choked by Annual Buildup of Air Pollution. *N. Y. Times*.

Eurasanté, 2005. Les biomarqueurs dans le développement du médicament. Les études Eurasanté.

European Environment Agency, 2012a. EEA - Air quality in Europe — 2012 report <http://www.eea.europa.eu/publications/air-quality-in-europe-2012/at.../file> (Consulté le 4.28.13).

European Environment Agency, 2012b. Particulate matter from natural sources and related reporting under the EU Air Quality Directive in 2008 and 2009, EEA Technical report No 10/2012.

European Environment Agency, 2013. Pollution atmosphérique <http://www.eea.europa.eu/fr/themes/air/intro> (Consulté le 10.10.13).
European Space Agency, 2007. NO2 pollution map as measured by Envisat http://spaceimages.esa.int/Images/2007/02/NO2_pollution_map_as_measured_by_Envisat (Consulté le 8.12.13).

European Space Agency, 2012. Europe clears the air http://www.esa.int/Our_Activities/Observing_the_Earth/Space_for_our_climate/Europe_clears_the_air (Consulté le 8.12.13).

Ezzati, M., Lopez, A.D., Rodgers, A., Vander Hoorn, S., Murray, C.J., 2002. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *The Lancet* 360, 1347–1360.

— F —

Fabricio, A.S.C., Tringali, G., Pozzoli, G., Melo, M.C., Vercesi, J.A., Souza, G.E.P., Navarra, P., 2006. Interleukin-1 mediates endothelin-1-induced fever and prostaglandin production in the preoptic area of rats. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 290, R1515–R1523.

Ferrer, L., Maherou, J., 2013. Santé et qualité de l'air extérieur: le rapport du Ministère <http://www.asef-asso.fr/mon-air-exterieur/nos-syntheses/1611-sante-et-qualite-de-l-air-exterieur-le-rapport-de-la-commission-des-comptes-et-de-l-economie-de-l-environnement> (Consulté le 10.13.13).

Flohé, L., 2013. The fairytale of the GSSG/GSH redox potential. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.* 1830, 3139–3142.

Forman, H.J., Fukuto, J.M., Miller, T., Zhang, H., Rinna, A., Levy, S., 2008. The chemistry of cell signaling by reactive oxygen and nitrogen species and 4-hydroxynonenal. *Arch. Biochem. Biophys.* 477, 183–195.

Forman, H.J., Torres, M., 2002. Reactive oxygen species and cell signaling: respiratory

burst in macrophage signaling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 166, S4–8.

Foucart, S., 2012. La pollution mondiale à l'ozone stagne depuis une décennie http://www.lemonde.fr/planete/article/2012/12/17/la-pollution-mondiale-a-l-ozone-stagne-depuis-une-decennie_1807468_3244.html (Consulté le 8.13.13).

Franck, U., Odeh, S., Wiedensohler, A., Wehner, B., Herbarth, O., 2011. The effect of particle size on cardiovascular disorders — The smaller the worse. *Sci. Total Environ.* 409, 4217–4221.

Fuentes-Mattei, E., Rivera, E., Gioda, A., Sanchez-Rivera, D., Roman-Velazquez, F.R., Jimenez-Velez, B.D., 2010. Use of human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) to study immunological markers resulting from exposure to PM(2.5) organic extract from Puerto Rico. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 243, 381–389.

Fujii, T., Hayashi, S., Hogg, J.C., Vincent, R., Van Eeden, S.F., 2001. Particulate matter induces cytokine expression in human bronchial epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 25, 265–271.



Garçon, G., Dagher, Z., Zerimech, F., Ledoux, F., Courcot, D., Aboukais, A., Puskaric, E., Shirali, P., 2006. Dunkerque City air pollution particulate matter-induced cytotoxicity, oxidative stress and inflammation in human epithelial lung cells (L132) in culture. *Toxicol. In Vitro* 20, 519–528.

Garric, A., 2012. La pollution de l'air tue plus de 2 millions de personnes par an en Asie http://www.lemonde.fr/planete/article/2012/12/18/la-pollution-de-l-air-tue-plus-de-2-millions-de-personnes-par-an-en-asie_1807995_3244.html (Consulté le 10.10.13).

Geiser, M., Rothen-Rutishauser, B., Kapp, N., Schurch, S., Kreyling, W., Schulz, H., Semmler, M., Hof, V.I., Heyder, J., Gehr, P., 2005. Ultrafine Particles Cross Cellular Membranes by Nonphagocytic Mechanisms in Lungs and in Cultured Cells. *Environ. Health Perspect.* 113, 1555–1560.

Gelfand, E.W., Dakhama, A., 2006. CD8+ T lymphocytes and leukotriene B4: novel interactions in the persistence and progression of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 117, 577–582.

Ghio, A.J., Devlin, R.B., 2001. Inflammatory lung injury after bronchial instillation of air pollution particles. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 164, 704–708.

Ghosh, M.C., Ghosh, R., Ray, A.K., 2001. Impact of copper on biomonitoring enzyme ethoxyresorufin-o-deethylase in cultured catfish hepatocytes. *Environ. Res.* 86, 167–173.

Gill, E.A., Curl, C.L., Adar, S.D., Allen, R.W., Auchincloss, A.H., O'Neill, M.S., Park, S.K., Van Hee, V.C., Diez Roux, A.V., Kaufman, J.D., 2011. Air Pollution and Cardiovascular Disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 53, 353–360.

Götschi, T., Hazenkamp-von Arx, M.E., Heinrich, J., Bono, R., Burney, P., Forsberg, B., Jarvis, D., Maldonado, J., Norbäck, D., Stern, W.B., Sunyer, J., Torén, K., Verlato, G., Villani, S., Künzli, N., 2005. Elemental composition and reflectance of ambient fine particles at 21 European locations. *Atmos. Environ.* 39, 5947–5958.

Grice, S., Stedman, J., Kent, A., Hobson, M., Norris, J., Abbott, J., Cooke, S., 2009. Recent trends and projections of primary NO₂ emissions in Europe. *Atmos. Environ.* 43, 2154–2167.

Gualtieri, M., Øvrevik, J., Holme, J.A., Perrone, M.G., Bolzacchini, E., Schwarze, P.E., Camatini, M., 2010. Differences in cytotoxicity versus pro-inflammatory potency of different PM fractions in human epithelial lung cells. *Toxicol. In Vitro* 24, 29–39.

Gualtieri, M., Øvrevik, J., Møllerup, S., Asare, N., Longhin, E., Dahlman, H.-J., Camatini, M., Holme, J.A., 2011. Airborne urban particles (Milan winter-PM_{2.5}) cause mitotic arrest and cell death: Effects on DNA, mitochondria, AhR binding and spindle organization. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 713, 18–31.

Guan, Z.-Z., Xiao, K.-Q., Zeng, X.-Y., Long, Y.-G., Cheng, Y.-H., Jiang, S.-F., Wang, Y.-N., 2000. Changed cellular membrane lipid composition and lipid peroxidation of kidney

in rats with chronic fluorosis. *Arch. Toxicol.* 74, 602–608.

Guéguen, Y., Mouzat, K., Ferrari, L., Tissandie, E., Lobaccaro, J.M.A., Batt, A.-M., Paquet, F., Voisin, P., Aigueperse, J., Gourmelon, P., Souidi, M., 2006. Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 64, 535–548.

Guo, L., Zhu, N., Guo, Z., Li, G., Chen, C., Sang, N., Yao, Q., 2012. Particulate matter (PM10) exposure induces endothelial dysfunction and inflammation in rat brain. *J. Hazard. Mater.* 213–214, 28–37.

— H —

Hallstrand, T.S., Henderson, W.R., Jr, 2009. Role of leukotrienes in exercise-induced bronchoconstriction. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 9, 18–25.

Happo, M., Markkanen, A., Markkanen, P., Jalava, P., Kuuspallo, K., Leskinen, A., Sippula, O., Lehtinen, K., Jokiniemi, J., Hirvonen, M.-R., 2013. Seasonal variation in the toxicological properties of size-segregated indoor and outdoor air particulate matter. *Toxicol. In Vitro* 27, 1550–1561.

Happo, M.S., Uski, O., Jalava, P.I., Kelz, J., Brunner, T., Hakulinen, P., Mäki-Paakkanen, J., Kosma, V.-M., Jokiniemi, J., Obernberger, I., Hirvonen, M.-R., 2013. Pulmonary inflammation and tissue damage in the mouse lung after exposure to PM samples from biomass heating appliances of old and modern technologies. *Sci. Total Environ.* 443, 256–266.

Hedges, J.C., Singer, C.A., Gerthoffer, W.T., 2000. Mitogen-Activated Protein Kinases Regulate Cytokine Gene Expression in Human Airway Myocytes. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 23, 86–94.

Heidemann, S.C., Chavez, V., Landers, C.J., Kucharzik, T., Prehn, J.L., Targan, S.R., 2010. TL1A Selectively Enhances IL-12/IL-18-Induced NK Cell Cytotoxicity against NK-Resistant Tumor Targets. *J. Clin. Immunol.* 30, 531–538.

Heinrich, J., Thiering, E., Rzehak, P., Krämer, U., Hochadel, M., Rauchfuss, K.M., Gehring, U.,

Wichmann, H.-E., 2013. Long-term exposure to NO₂ and PM₁₀ and all-cause and cause-specific mortality in a prospective cohort of women. *Occup. Environ. Med.* 70, 179–186.

Hervé-Bazin, B., 2007. Les nanoparticules: Un enjeu majeur pour la santé au travail? *EDP SCIENCES*.

Hoffmann, B., Moebus, S., Möhlenkamp, S., Stang, A., Lehmann, N., Dragano, N., Schmermund, A., Memmesheimer, M., Mann, K., Erbel, R., Jöckel, K.-H., 2007. Residential Exposure to Traffic Is Associated With Coronary Atherosclerosis. *Circulation* 116, 489–496.

Høgsberg, T., Jacobsen, N.R., Clausen, P.A., Serup, J., 2013. Black tattoo inks induce reactive oxygen species production correlating with aggregation of pigment nanoparticles and product brand but not with the polycyclic aromatic hydrocarbon content. *Exp. Dermatol.* 22, 464–469.

Hong, F., Yang, S., 2012. Ischemic preconditioning decreased leukotriene C4 formation by depressing leukotriene C4 synthase expression and activity during hepatic I/R injury in rats. *J. Surg. Res.* 178, 1015–1021.

Houston, M.C., 2007. The role of mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction. *Altern. Ther. Health Med.* 13, S128–133.

Hsu, C.-H., Hu, C.-M., Lu, K.-H., Yang, S.-F., Tsai, C.-H., Ko, C.-L., Sun, H.-L., Lue, K.-H., 2012. Effect of Selective Cysteinyl Leukotriene Receptor Antagonists on Airway Inflammation and Matrix Metalloproteinase Expression in a Mouse Asthma Model. *Pediatr. Neonatol.* 53, 235–244.

Huang, N.-H., Wang, Q., Xu, D.-Q., 2008. Immunological effect of PM_{2.5} on cytokine production in female Wistar rats. *Biomed. Environ. Sci.* BES 21, 63–68.

— I —

IARC, 1974. Benzene. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man, International Agency for Research on Cancer.

Iii, C.A.P., Brook, R.D., Burnett, R.T., Dockery, D.W., 2011. How is cardiovascular disease mortality risk affected by duration and intensity of fine particulate matter exposure? An integration of the epidemiologic evidence. *Air Qual. Atmosphere Health* 4, 5–14.

Ilacqua, V., Hänninen, O., Saarela, K., Katsouyanni, K., Künzli, N., Jantunen, M., 2007. Source apportionment of population representative samples of PM(2.5) in three European cities using structural equation modelling. *Sci. Total Environ.* 384, 77–92.

Imrich, A., Ning, Y., Lawrence, J., Coull, B., Gitin, E., Knutson, M., Kobzik, L., 2007. Alveolar macrophage cytokine response to air pollution particles: Oxidant mechanisms. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 218, 256–264.

INERIS, 2010. Impact local des stations-service sur les concentrations de benzène dans l'environnement (air intérieur et extérieur)–Etude exploratoire sur deux sites parisiens. Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques.

Ismail, N., Jambari, N.N., Zareen, S., Akhtar, M.N., Shaari, K., Zamri-Saad, M., Tham, C.L., Sulaiman, M.R., Lajis, N.H., Israf, D.A., 2012. A geranyl acetophenone targeting cysteinyl leukotriene synthesis prevents allergic airway inflammation in ovalbumin-sensitized mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 259, 257–262.

— J —

John, E., 2013. Séoul souffre de la pollution <http://coree.aujourdhuilemonde.com/seoul-souffre-de-la-pollution> (Consulté le 8.8.13).

Johnson, E.S., Langård, S., Lin, Y.-S., 2007. A critique of benzene exposure in the general population. *Sci. Total Environ.* 374, 183–198.

Jonson, J.E., Simpson, D., Fagerli, H., Solberg, S., 2006. Can we explain the trends in European ozone levels? *Atmos Chem Phys* 6, 51–66.

Jung, M.H., Kim, H.R., Park, Y.J., Park, D.S., Chung, K.H., Oh, S.M., 2012. Genotoxic effects and oxidative stress induced by organic extracts of particulate matter (PM10) collected from a subway tunnel in Seoul,

Korea. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 749, 39–47.

— K —

Kalinski, P., 2012. Regulation of immune responses by prostaglandin E2. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 188, 21–28.

Kand'ár, R., Záková, P., Lotková, H., Kucera, O., Cervinková, Z., 2007. Determination of reduced and oxidized glutathione in biological samples using liquid chromatography with fluorimetric detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 43, 1382–1387.

Karakatsani, A., Analitis, A., Perifanou, D., Ayres, J.G., Harrison, R.M., Kotronarou, A., Kavouras, I.G., Pekkanen, J., Hämeri, K., Kos, G.P., de Hartog, J.J., Hoek, G., Katsouyanni, K., 2012. Particulate matter air pollution and respiratory symptoms in individuals having either asthma or chronic obstructive pulmonary disease: a European multicentre panel study. *Environ. Health Glob. Access Sci. Source* 11, 75.

Karlt, A., 2013. La pollution de l'air tue plus de personnes dans le monde chaque année que le sida et le paludisme réunis <http://environnement-lanconnais.asso.fr/spip.php?article585> (Consulté le 8.5.13).

Katsoyiannis, A., Terzi, E., Cai, Q.-Y., 2007. On the use of PAH molecular diagnostic ratios in sewage sludge for the understanding of the PAH sources. Is this use appropriate? *Chemosphere* 69, 1337–1339.

Kelley, E.E., Khoo, N.K.H., Hundley, N.J., Malik, U.Z., Freeman, B.A., Tarpey, M.M., 2010. Hydrogen peroxide is the major oxidant product of xanthine oxidase. *Free Radic. Biol. Med.* 48, 493–498.

Kelly, A.J., Malik, S., Smith, L., Kavanagh, J., Thomas, J., 2009. Vaginal prostaglandin (PGE2 and PGF2a) for induction of labour at term, in: *The Cochrane Collaboration, Kelly, A.J. (Eds.), Cochrane Database of Systematic Reviews.* John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.

Kelly, F.J., 2003. Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. *Occup. Environ. Med.* 60, 612–616.

- Kelly, F.J., Fussell, J.C., 2012. Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter. *Atmos. Environ.* 60, 504–526.
- Kèlomé, N.C., Lévêque, J., Andreux, F., Milloux, M.-J., Oyédé, L.-M., 2006. C4 plant isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) evidence for urban CO2 pollution in the city of Cotonou, Benin (West Africa). *Sci. Total Environ.* 366, 439–447.
- Khan, M.F., Shirasuna, Y., Hirano, K., Masunaga, S., 2010. Characterization of PM2.5, PM2.5–10 and PM> 10 in ambient air, Yokohama, Japan. *Atmospheric Res.* 96, 159–172.
- Kim, N.D., Chou, R.C., Seung, E., Tager, A.M., Luster, A.D., 2006. A unique requirement for the leukotriene B4 receptor BLT1 for neutrophil recruitment in inflammatory arthritis. *J. Exp. Med.* 203, 829–835.
- Kimura, A., Kishimoto, T., 2010. IL-6: Regulator of Treg/Th17 balance. *Eur. J. Immunol.* 40, 1830–1835.
- Klumpp, A., Ansel, W., Klumpp, G., Breuer, J., Vergne, P., Sanz, M.J., Rasmussen, S., Ro-Poulsen, H., Ribas Artola, À., Peñuelas, J., He, S., Garrec, J.P., Calatayud, V., 2009. Airborne trace element pollution in 11 European cities assessed by exposure of standardised ryegrass cultures. *Atmos. Environ.* 43, 329–339.
- Klumpp, A., Ansel, W., Klumpp, G., Calatayud, V., Pierre Garrec, J., He, S., Peñuelas, J., Ribas, À., Ro-Poulsen, H., Rasmussen, S., Sanz, M.J., Vergne, P., 2006a. Ozone pollution and ozone biomonitors in European cities. Part I: Ozone concentrations and cumulative exposure indices at urban and suburban sites. *Atmos. Environ.* 40, 7963–7974.
- Klumpp, A., Ansel, W., Klumpp, G., Vergne, P., Sifakis, N., Sanz, M.J., Rasmussen, S., Ro-Poulsen, H., Ribas, À., Peñuelas, J., Kambezidis, H., He, S., Garrec, J.P., Calatayud, V., 2006b. Ozone pollution and ozone biomonitors in European cities Part II. Ozone-induced plant injury and its relationship with descriptors of ozone pollution. *Atmos. Environ.* 40, 7437–7448.
- Knuckles, T.L., Dreher, K.L., 2007. Fine oil combustion particle bioavailable constituents induce molecular profiles of oxidative stress, altered function, and cellular injury in cardiomyocytes. *J. Toxicol. Environ. Health A* 70, 1824–1837.
- Kojima, K., Murakami, M., Yoshimizu, C., Tayasu, I., Nagata, T., Furumai, H., 2011. Evaluation of surface runoff and road dust as sources of nitrogen using nitrate isotopic composition. *Chemosphere* 84, 1716–1722.
- Kolmetz, K., Gentry, J.C., 2007. Kolmetz, K., & Gentry, J. C. (2007). Guidelines for BTX Revamps, AIChE Spring Conference.
- Kontogiorgis, C., Hadjipavlou-Litina, D., 2010. Thromboxane synthase inhibitors and thromboxane A2 receptor antagonists: a quantitative structure activity relationships (QSARs) analysis. *Curr. Med. Chem.* 17, 3162–3214.
- Kotianová, P., Puxbaum, H., Bauer, H., Caseiro, A., Marr, I.L., Čík, G., 2008. Temporal patterns of n-alkanes at traffic exposed and suburban sites in Vienna. *Atmos. Environ.* 42, 2993–3005.
- Kouassi, K.S., Billet, S., Garçon, G., Verdin, A., Diouf, A., Cazier, F., Djaman, J., Courcot, D., Shirali, P., 2010. Oxidative damage induced in A549 cells by physically and chemically characterized air particulate matter (PM2.5) collected in Abidjan, Côte d'Ivoire. *J. Appl. Toxicol.* 30, 310–320.
- Kulshrestha, A., Satsangi, P.G., Masih, J., Taneja, A., 2009. Metal concentration of PM2.5 and PM10 particles and seasonal variations in urban and rural environment of Agra, India. *Sci. Total Environ.* 407, 6196–6204.
- Kuntz, E., Hoeller, U., Greatrix, B., Lankin, C., Seifert, N., Acharya, S., Riss, G., Buchwald-Hunziker, P., Hunziker, W., Goralczyk, R., Wertz, K., 2006. Beta-carotene and apocarotenals promote retinoid signaling in BEAS-2B human bronchioepithelial cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 455, 48–60.



La présidence, 2001. Décret N°2001-110 du 04 avril 2001 fixant les normes de qualité de l'air en république du Bénin.

- Ladji, R., Yassaa, N., Balducci, C., Cecinato, A., Meklati, B.Y., 2009. Distribution of the solvent-extractable organic compounds in fine (PM₁) and coarse (PM₁₋₁₀) particles in urban, industrial and forest atmospheres of Northern Algeria. *Sci. Total Environ.* 408, 415–424.
- Ladonne, A.-S., 2009. La pollution particulaire, nouvel enjeu sanitaire http://www.lexpress.fr/actualite/environnement/la-pollution-particulaire-nouvel-enjeu-sanitaire_778311.html (Consulté le 8.8.13).
- Lajoie, P., Dagenais, G., Ernst, P., Neukirch, F., 2003. Systèmes respiratoire et cardiovasculaire. In: *Environnement et santé publique - Fondements et pratiques*, pp. 713–745.
- Lam, B.K., 2003. Leukotriene C(4) synthase. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 69, 111–116.
- Lamy, P., 2004. Rapport d'étude. Nanomatériaux: Risques pour la santé et l'environnement. Centre de Recherche sur la Matière Divisée.
- Lan, Q., Zhang, L., Li, G., Vermeulen, R., Weinberg, R.S., Dosemeci, M., Rappaport, S.M., Shen, M., Alter, B.P., Wu, Y., Kopp, W., Waidyanatha, S., Rabkin, C., Guo, W., Chanock, S., Hayes, R.B., Linet, M., Kim, S., Yin, S., Rothman, N., Smith, M.T., 2004. Hematotoxicity in Workers Exposed to Low Levels of Benzene. *Science* 306, 1774–1776.
- Lan, T.T.N., Binh, N.T.T., 2012. Daily roadside BTEX concentrations in East Asia measured by the Lanwatsu, Radiello and Ultra I SKS passive samplers. *Sci. Total Environ.* 441, 248–257.
- Lechner, M., Lirk, P., Rieder, J., 2005. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in tumor biology: the two sides of the same coin. *Semin. Cancer Biol.* 15, 277–289.
- Lee, P.-K., Youm, S.-J., Jo, H.Y., 2013. Heavy metal concentrations and contamination levels from Asian dust and identification of sources: A case-study. *Chemosphere* 91, 1018–1025.
- Lefohn, A.S., Shadwick, D., Oltmans, S.J., 2008. Characterizing long-term changes in surface ozone levels in the United States (1980–2005). *Atmos. Environ.* 42, 8252–8262.
- Lefohn, A.S., Shadwick, D., Oltmans, S.J., 2010. Characterizing changes in surface ozone levels in metropolitan and rural areas in the United States for 1980–2008 and 1994–2008. *Atmos. Environ.* 44, 5199–5210.
- Lehmann, J., Retz, M., Sidhu, S.S., Suttman, H., Sell, M., Paulsen, F., Harder, J., Unteregger, G., Stöckle, M., 2006. Antitumor activity of the antimicrobial peptide magainin II against bladder cancer cell lines. *Eur. Urol.* 50, 141–147.
- Lepeule, J., Laden, F., Dockery, D., Schwartz, J., 2012. Chronic Exposure to Fine Particles and Mortality: An Extended Follow-up of the Harvard Six Cities Study from 1974 to 2009. *Environ. Health Perspect.* 120, 965–970.
- Les Echos, 2013. La pollution de l'air extérieur classée comme cancérigène par l'OMS <http://www.lesechos.fr/economie-politique/monde/actu/0203073680950-l-oms-classe-la-pollution-de-l-air-exterieur-comme-cancerigene-619304.php#Xtor=AD-6000> (Consulté le 10.23.13).
- Lesca, P., Pineau, T., 2012. Toxicité de la dioxine: rôle des protéines PAS. *médecine/sciences* 15, 1379.
- Li, N., Xia, T., Nel, A.E., 2008. The role of oxidative stress in ambient particulate matter-induced lung diseases and its implications in the toxicity of engineered nanoparticles. *Free Radic. Biol. Med.* 44, 1689–1699.
- Li, X., Wang, Yuesi, Guo, X., Wang, Yingfeng, 2013. Seasonal variation and source apportionment of organic and inorganic compounds in PM_{2.5} and PM₁₀ particulates in Beijing, China. *J. Environ. Sci.* 25, 741–750.
- Liu, J., Mu, Y., Zhang, Y., Zhang, Z., Wang, X., Liu, Y., Sun, Z., 2009. Atmospheric levels of BTEX compounds during the 2008 Olympic Games in the urban area of Beijing. *Sci. Total Environ.* 408, 109–116.
- Liu, W.-T., Hsieh, H.-C., Chen, S.-P., Chang, J.S., Lin, N.-H., Chang, C.-C., Wang, J.-L., 2012. Diagnosis of air quality through observation and modeling of volatile organic compounds

(VOCs) as pollution tracers. *Atmos. Environ.* 55, 56–63.

Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ Method. *Methods San Diego Calif* 25, 402–408.

Long, E.K., Hellberg, K., Foncea, R., Hertz, A.V., Suttles, J., Bernlohr, D.A., 2013. Fatty acids induce leukotriene C4 synthesis in macrophages in a fatty acid binding protein-dependent manner. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1831, 1199–1207.

Longhin, E., Pezzolato, E., Mantecchia, P., Holme, J.A., Franzetti, A., Camatini, M., Gualtieri, M., 2013. Season linked responses to fine and quasi-ultrafine Milan PM in cultured cells. *Toxicol. In Vitro* 27, 551–559.

Lonkar, P., Dedon, P.C., 2011. Reactive species and DNA damage in chronic inflammation: reconciling chemical mechanisms and biological fates. *Int. J. Cancer J. Int. Cancer* 128, 1999–2009.

— M —

Macchione, M., 2013. Effects of organic compounds adsorbed on air pollution particulate matter on estrogen receptors, aryl - hydrocarbon and P-450 in the airway epithelium in male and female mice.

Maluf, M., Perin, P.M., Foltran Januário, D.A.N., Nascimento Saldiva, P.H., 2009. In vitro fertilization, embryo development, and cell lineage segregation after pre- and/or postnatal exposure of female mice to ambient fine particulate matter. *Fertil. Steril.* 92, 1725–1735.

Mandhana, N., 2012. Indian City Overwhelmed by Air Pollution – New Delhi Journal. *N. Y. Times.*

Marano, F., Aubier, M., Brochard, P., Blay, F. de, Marthan, R., Nemery, B., Nemmar, A., Wallaert, B., 2004. Impacts des particules atmosphériques sur la santé: aspects toxicologiques. *Environ. Risques Santé* 3, 87–96.

Marie, C., Cavaillon, J.-M., 1997. Le rétrocontrôle négatif de l'inflammation: rôle

des cytokines antiinflammatoires. *Bull. Inst. Pasteur* 95, 41–54.

Marnet, 2013. Inflammation - Définition <http://sante-medecine.commentcamarche.net/faq/13531-inflammation-definition> (Consulté le 10.17.13).

Mayol, K., Cavalié, F., Davoust-Nataf, N., 2013. Les médiateurs de l'inflammation — <http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/immunité-et-vaccination/immunité-innée-barrières-naturelles-et-réaction-inflammatoire/les-médiateurs-de-l2019inflammation> (Consulté le 10.18.13).

Mazzei, F., D'Alessandro, A., Lucarelli, F., Nava, S., Prati, P., Valli, G., Vecchi, R., 2008. Characterization of particulate matter sources in an urban environment. *Sci. Total Environ.* 401, 81–89.

Mehrotra, A.K., Henderson, W.R., Jr, 2009. The role of leukotrienes in airway remodeling. *Curr. Mol. Med.* 9, 383–391.

Mehta, M., Chen, L.-C., Gordon, T., Rom, W., Tang, M., 2008. Particulate matter inhibits DNA repair and enhances mutagenesis. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 657, 116–121.

Merbitz, H., Buttstädt, M., Michael, S., Dott, W., Schneider, C., 2012. GIS-based identification of spatial variables enhancing heat and poor air quality in urban areas. *Appl. Geogr.* 33, 94–106.

Metzger, A., Verheggen, B., Dommen, J., Duplissy, J., Prevot, A.S.H., Weingartner, E., Riipinen, I., Kulmala, M., Spracklen, D.V., Carslaw, K.S., Baltensperger, U., 2010. Evidence for the role of organics in aerosol particle formation under atmospheric conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 6646–6651.

Michael, S., Montag, M., Dott, W., 2013. Pro-inflammatory effects and oxidative stress in lung macrophages and epithelial cells induced by ambient particulate matter. *Environ. Pollut.* 183, 19–29.

Michael, S., Montag, M., Dott, W., n.d. Pro-inflammatory effects and oxidative stress in lung macrophages and epithelial cells

induced by ambient particulate matter. *Environ. Pollut.*

Miller, L., Lemke, L.D., Xu, X., Molaroni, S.M., You, H., Wheeler, A.J., Booza, J., Grgicak-Mannion, A., Krajenta, R., Graniero, P., Krouse, H., Lamerato, L., Raymond, D., Reiners Jr., J., Weglicki, L., 2010. Intra-urban correlation and spatial variability of air toxics across an international airshed in Detroit, Michigan (USA) and Windsor, Ontario (Canada). *Atmos. Environ.* 44, 1162–1174.

Miller, L., Xu, X., Grgicak-Mannion, A., Brook, J., Wheeler, A., 2012. Multi-season, multi-year concentrations and correlations amongst the BTEX group of VOCs in an urbanized industrial city. *Atmos. Environ.* 61, 305–315.

Miller, L., Xu, X., Wheeler, A., Atari, D.O., Grgicak-Mannion, A., Luginaah, I., 2011. Spatial Variability and Application of Ratios between BTEX in Two Canadian Cities. *ScientificWorldJournal* 11, 2536–2549.

Mimura, J., Fujii-Kuriyama, Y., 2003. Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.* 1619, 263–268.

Moha_123, 2010a. LA BIOSURVEILLANCE c'est QUOI
<http://fr.scribd.com/doc/31049950/LA-BIOSURVEILLANCE-c%E2%80%99est-QUOI>
(Consulté le 10.8.13).

Moha_123, 2010b. Lichens Et Bio Surveillance 9
<http://fr.scribd.com/doc/30866302/Lichens-Et-Bio-Surveillance-9>
(Consulté le 10.8.13).

Monks, P.S., Granier, C., Fuzzi, S., Stohl, A., Williams, M.L., et al., 2009. Atmospheric composition change – global and regional air quality. *Atmos. Environ.* 43, 5268–5350.

Monteil, C., Mulder, P., Thuillez, C., 2004. Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique ? *Médecine Thérapeutique Cardiol.* 2, 78–85.

Montiel-Dávalos, A., Ibarra-Sánchez, M. de J., Ventura-Gallegos, J.L., Alfaro-Moreno, E., López-Marure, R., 2010. Oxidative stress and apoptosis are induced in human endothelial cells exposed to urban particulate matter. *Toxicol. In Vitro* 24, 135–141.

Moreno, T., Querol, X., Alastuey, A., Viana, M., Salvador, P., Sánchez de la Campa, A., Artiñano, B., de la Rosa, J., Gibbons, W., 2006. Variations in atmospheric PM trace metal content in Spanish towns: Illustrating the chemical complexity of the inorganic urban aerosol cocktail. *Atmos. Environ.* 40, 6791–6803.

Morin, J.-P., Fouquet, F., Monteil, C., Prieur, E.L., Vaz, E., Dionnet, F., 1999. Development of a new in vitro system for continuous in vitro exposure of lung tissue to complex atmospheres: Application to diesel exhaust toxicology. *Cell Biol. Toxicol.* 15, 143–152.

Morin, J.-P., Gouriou, F., Preterre, D., Bobbia, M., Delmas, V., 2009. Évaluation de l'exposition aux polluants atmosphériques des conducteurs de véhicules automobiles par la mise en œuvre de mesures dynamiques dans l'habitacle du véhicule. *Arch. Mal. Prof. Environ.* 70, 184–192.

Musah, S., DeJarnett, N., Hoyle, G.W., 2012. Tumor necrosis factor- α mediates interactions between macrophages and epithelial cells underlying proinflammatory gene expression induced by particulate matter. *Toxicology* 299, 125–132.

— N —

Nakayama Wong, L.S., Aung, H.H., Lamé, M.W., Wegesser, T.C., Wilson, D.W., 2011. Fine particulate matter from urban ambient and wildfire sources from California's San Joaquin Valley initiate differential inflammatory, oxidative stress, and xenobiotic responses in human bronchial epithelial cells. *Toxicol. In Vitro* 25, 1895–1905.

Ni, J., Miller, M., Stojanovic, A., Garbi, N., Cerwenka, A., 2012. Sustained effector function of IL-12/15/18-preactivated NK cells against established tumors. *J. Exp. Med.* 209, 2351–2365.

— O —

Oboki, K., Nakae, S., Matsumoto, K., Saito, H., 2011. IL-33 and Airway Inflammation. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 3, 81.

- Ogunjobi, K.O., He, Z., Simmer, C., 2008. Spectral aerosol optical properties from AERONET Sun-photometric measurements over West Africa. *Atmospheric Res.* 88, 89–107.
- Oh, S.M., Kim, H.R., Park, Y.J., Lee, S.Y., Chung, K.H., 2011. Organic extracts of urban air pollution particulate matter (PM_{2.5})-induced genotoxicity and oxidative stress in human lung bronchial epithelial cells (BEAS-2B cells). *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 723, 142–151.
- Ohnishi, H., Miyahara, N., Dakhama, A., Takeda, K., Mathis, S., Haribabu, B., Gelfand, E.W., 2008. Corticosteroids enhance CD8+ T cell-mediated airway hyperresponsiveness and allergic inflammation by upregulating leukotriene B₄ receptor 1. *J. Allergy Clin. Immunol.* 121, 864–871.e4.
- Ohyama, K., Ito, T., Kanisawa, M., 1999. The roles of diesel exhaust particle extracts and the promotive effects of NO₂ and/or SO₂ exposure on rat lung tumorigenesis. *Cancer Lett.* 139, 189–197.
- Okuda, T., 2013. Measurement of the specific surface area and particle size distribution of atmospheric aerosol reference materials. *Atmos. Environ.*
- Oliveira, César, Martins, N., Tavares, J., Pio, C., Cerqueira, M., Matos, M., Silva, H., Oliveira, Cristina, Camões, F., 2011. Size distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in a roadway tunnel in Lisbon, Portugal. *Chemosphere* 83, 1588–1596.
- Oostingh, G.J., Casals, E., Italiani, P., Colognato, R., Stritzinger, R., Ponti, J., Pfaller, T., Kohl, Y., Ooms, D., Favilli, F., Leppens, H., Lucchesi, D., Rossi, F., Nelissen, I., Thielecke, H., Puentes, V.F., Duschl, A., Boraschi, D., 2011. Problems and challenges in the development and validation of human cell-based assays to determine nanoparticle-induced immunomodulatory effects. Part. *Fibre Toxicol.* 8, 8.
- Organisation Mondiale de la Santé, 2011a. OMS | Relever le défi mondial de la pollution atmosphérique - Communiqué de presse http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2011/air_pollution_20110926/fr/ (Consulté le 8.14.13).
- Organisation Mondiale de la Santé, 2011b. OMS | Asthme <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs307/fr/> (Consulté le 10.13.13).
- Osornio-Vargas, A.R., Serrano, J., Rojas-Bracho, L., Miranda, J., García-Cuellar, C., Reyna, M.A., Flores, G., Zuk, M., Quintero, M., Vázquez, I., Sánchez-Pérez, Y., López, T., Rosas, I., 2011. In vitro biological effects of airborne PM_{2.5} and PM₁₀ from a semi-desert city on the Mexico-US border. *Chemosphere* 83, 618–626.
- Ou Yang, C.-F., Lin, N.-H., Sheu, G.-R., Lee, C.-T., Wang, J.-L., 2012. Seasonal and diurnal variations of ozone at a high-altitude mountain baseline station in East Asia. *Atmos. Environ.* 46, 279–288.
- Øvrevik, J., Arlt, V.M., Øya, E., Nagy, E., Møllerup, S., Phillips, D.H., Låg, M., Holme, J.A., 2010. Differential effects of nitro-PAHs and amino-PAHs on cytokine and chemokine responses in human bronchial epithelial BEAS-2B cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 242, 270–280.
- Øvrevik, J., Refsnes, M., Schwarze, P., Låg, M., 2008. The ability of oxidative stress to mimic quartz-induced chemokine responses is lung cell line-dependent. *Toxicol. Lett.* 181, 75–80.

— P —

Pakkanen, T.A., Loukkola, K., Korhonen, C.H., Aurela, M., Mäkelä, T., Hillamo, R.E., Aarnio, P., Koskentalo, T., Kousa, A., Maenhaut, W., 2001. Sources and chemical composition of atmospheric fine and coarse particles in the Helsinki area. *Atmos. Environ.* 35, 5381–5391.

Paramothayan, N.S., Lasserson, T.J., Wells, A., Walters, E.H., 2005. Prostacyclin for pulmonary hypertension in adults, in: *The Cochrane Collaboration, Paramothayan, N.S. (Eds.), Cochrane Database of Systematic Reviews.* John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.

Patel, A., Siegel, A., Zalcmán, S.S., 2010. Lack of aggression and anxiolytic-like behavior in TNF receptor (TNF-R1 and TNF-R2) deficient mice. *Brain. Behav. Immun.* 24, 1276–1280.

- Patel, H., Eo, S., Kwon, S., 2011. Effects of diesel particulate matters on inflammatory responses in static and dynamic culture of human alveolar epithelial cells. *Toxicol. Lett.* 200, 124–131.
- Peacock, J.L., Anderson, H.R., Bremner, S.A., Marston, L., Seemungal, T.A., Strachan, D.P., Wedzicha, J.A., 2011. Outdoor air pollution and respiratory health in patients with COPD. *Thorax* 66, 591–596.
- Perrin, E., 2010. Pollution : les États-Unis touchés par les émissions asiatiques http://www.maxisciences.com/pollution/pollution-les-tats-unis-touchees-par-les-emissions-asiatiques_art5439.html (Consulté le 8.20.13).
- Perrone, M.G., Gualtieri, M., Ferrero, L., Porto, C.L., Udisti, R., Bolzacchini, E., Camatini, M., 2010. Seasonal variations in chemical composition and in vitro biological effects of fine PM from Milan. *Chemosphere* 78, 1368–1377.
- Picot, A., 2003. Approche chimique de la toxicologie de la toxicochimie à la spéciation. Association Toxicologie CNAM.
- Pies, C., Hoffmann, B., Petrowsky, J., Yang, Y., Ternes, T.A., Hofmann, T., 2008. Characterization and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in river bank soils. *Chemosphere* 72, 1594–1601.
- Piletic, I.R., Offenberg, J.H., Olson, D.A., Jaoui, M., Krug, J., Lewandowski, M., Turlington, J.M., Kleindienst, T.E., 2013. Constraining carbonaceous aerosol sources in a receptor model by including 14C data with redox species, organic tracers, and elemental/organic carbon measurements. *Atmos. Environ.* 80, 216–225.
- Pio, C., Cerqueira, M., Harrison, R.M., Nunes, T., Mirante, F., Alves, C., Oliveira, C., Sanchez de la Campa, A., Artíñano, B., Matos, M., 2011. OC/EC ratio observations in Europe: Rethinking the approach for apportionment between primary and secondary organic carbon. *Atmos. Environ.* 45, 6121–6132.
- Plé, C., Chang, Y., Wallaert, B., Tscipoulos, A., 2013. Pollution environnementale et allergie : mécanismes immunologiques. *Rev. Pneumol. Clin.* 69, 18–25.
- Polak, D.J., 2011. The use of stem cells to repair the injured lung. *Br. Med. Bull.* 99, 189–197.
- Pope, C.A., 3rd, Burnett, R.T., Krewski, D., Jerrett, M., Shi, Y., Calle, E.E., Thun, M.J., 2009. Cardiovascular mortality and exposure to airborne fine particulate matter and cigarette smoke: shape of the exposure-response relationship. *Circulation* 120, 941–948.
- Pope, C.A., 3rd, Burnett, R.T., Turner, M.C., Cohen, A., Krewski, D., Jerrett, M., Gapstur, S.M., Thun, M.J., 2011. Lung cancer and cardiovascular disease mortality associated with ambient air pollution and cigarette smoke: shape of the exposure-response relationships. *Environ. Health Perspect.* 119, 1616–1621.
- Prabhulkar, S., Li, C.-Z., 2010. Assessment of oxidative DNA damage and repair at single cellular level via real-time monitoring of 8-OHdG biomarker. *Biosens. Bioelectron.* 26, 1743–1749.
- Prado, G.F., Zanetta, D.M.T., Arbex, M.A., Braga, A.L., Pereira, L.A.A., de Marchi, M.R.R., de Melo Loureiro, A.P., Marcourakis, T., Sugauara, L.E., Gattás, G.J.F., Gonçalves, F.T., Salge, J.M., Terra-Filho, M., de Paula Santos, U., 2012. Burnt sugarcane harvesting: Particulate matter exposure and the effects on lung function, oxidative stress, and urinary 1-hydroxypyrene. *Sci. Total Environ.* 437, 200–208.
- Programme des Nations Unies pour l'Environnement, 2013. PNUE – 3ème Rapport de l'Avenir de l'Environnement en Afrique (AEO 3): Résumé à l'intention des décideurs http://www.unep.org/pdf/aeo3_Fr.pdf
- Puett, R.C., Hart, J.E., Suh, H., Mittleman, M., Laden, F., 2011. Particulate Matter Exposures, Mortality, and Cardiovascular Disease in the Health Professionals Follow-up Study. *Environ. Health Perspect.* 119, 1130–1135.



Raaschou-Nielsen, O., Andersen, Z.J., Beelen, R., Samoli, E., Stafoggia, M., et al., 2013. Air pollution and lung cancer incidence in 17 European cohorts: prospective analyses from

the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE). *Lancet Oncol.* 14, 813–822.

Raaschou-Nielsen, O., Andersen, Z.J., Hvidberg, M., Jensen, S.S., Ketzel, M., Sørensen, M., Loft, S., Overvad, K., Tjønneland, A., 2011. Lung Cancer Incidence and Long-Term Exposure to Air Pollution from Traffic. *Environ. Health Perspect.* 119, 860–865.

Rabinovitch, N., 2012. Urinary leukotriene E4 as a Biomarker of Exposure, Susceptibility and Risk in Asthma. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 32, 433–445.

Rabinovitch, N., Silveira, L., Gelfand, E.W., Strand, M., 2011. The Response of Children with Asthma to Ambient Particulate Is Modified by Tobacco Smoke Exposure. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184, 1350–1357.

Rabinovitch, N., Strand, M., Gelfand, E.W., 2006. Particulate Levels Are Associated with Early Asthma Worsening in Children with Persistent Disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 173, 1098–1105.

Rajšić, S., Mijić, Z., Tasić, M., Radenković, M., Joksić, J., 2008. Evaluation of the levels and sources of trace elements in urban particulate matter. *Environ. Chem. Lett.* 6, 95–100.

Ramos de Rainho, C., Corrêa, M., A, S., rgio, Luiz Mazzei, J., Alessandra Fortes Aiub, C., Felzenszwalb, I., 2013. Genotoxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Nitro-Derived in Respirable Airborne Particulate Matter Collected from Urban Areas of Rio de Janeiro (Brazil). *BioMed Res. Int.* 2013.

Ravindra, K., Bencs, L., Wauters, E., de Hoog, J., Deutsch, F., Roekens, E., Bleux, N., Berghmans, P., Van Grieken, R., 2006. Seasonal and site-specific variation in vapour and aerosol phase PAHs over Flanders (Belgium) and their relation with anthropogenic activities. *Atmos. Environ.* 40, 771–785.

Ravindra, K., Sokhi, R., Van Grieken, R., 2008. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmos. Environ.* 42, 2895–2921.

Ray, P.D., Huang, B.-W., Tsuji, Y., 2012. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell. Signal.* 24, 981–990.

Reche, C., Moreno, T., Amato, F., Viana, M., van Drooge, B.L., Chuang, H.-C., Bérubé, K., Jones, T., Alastuey, A., Querol, X., 2012. A multidisciplinary approach to characterise exposure risk and toxicological effects of PM10 and PM2.5 samples in urban environments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 78, 327–335.

Ricaud, M., Witschger, O., 2012. Les nanomatériaux - Institut National de Recherche et de Sécurité, 2è ed. INRS.

Rinalducci, S., Murgiano, L., Zolla, L., 2008. Redox proteomics: basic principles and future perspectives for the detection of protein oxidation in plants. *J. Exp. Bot.* 59, 3781–3801.

Riva, D.R., Magalhães, C.B., Lopes, A.A., Lanças, T., Mauad, T., Malm, O., Valença, S.S., Saldiva, P.H., Faffe, D.S., Zin, W.A., 2011. Low dose of fine particulate matter (PM2.5) can induce acute oxidative stress, inflammation and pulmonary impairment in healthy mice. *Inhal. Toxicol.* 23, 257–267.

Rivière, V., 2012. Les villes les plus polluées du monde <http://www.linternaute.com/actualite/monde/classement-des-villes-selon-pollution-de-l-air/villes-les-plus-polluees-du-monde.shtml> (Consulté le 8.14.13).

Roche, N., Devillier, P., Aguilaniu, B., Escamilla, R., Wallaert, B., Burgel, P.-R., Berger, P., Brillet, P.-Y., Chambellan, A., Chanez, P., Chaouat, A., Louis, R., Mal, H., Marthan, R., Muir, J.-F., Pérez, T., Similowski, T., Aubier, M., 2011. BPCO et inflammation : mise au point d'un groupe d'experts. Comment traiter l'inflammation ? *Rev. Mal. Respir.* 28, 427–442.

Rodríguez, S., Querol, X., Alastuey, A., Viana, M.-M., Alarcón, M., Mantilla, E., Ruiz, C., 2004. Comparative PM10–PM2.5 source contribution study at rural, urban and industrial sites during PM episodes in Eastern Spain. *Sci. Total Environ.* 328, 95–113.

Rodríguez-Lagunas, M.J., Storniolo, C.E., Ferrer, R., Moreno, J.J., 2013. 5-Hydroxyeicosatetraenoic acid and leukotriene D4 increase intestinal epithelial paracellular permeability. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45, 1318–1326.

Rogge, W.F., Medeiros, P.M., Simoneit, B.R.T., 2006. Organic marker compounds for surface soil and fugitive dust from open lot dairies and cattle feedlots. *Atmos. Environ.* 40, 27–49.

Rossi, A.M., Guarnieri, C., Rovesti, S., Gobba, F., Ghittori, S., Vivoli, G., Barale, R., 1999. Genetic polymorphisms influence variability in benzene metabolism in humans. *Pharmacogenetics* 9, 445–451.

Rundell, K.W., Spiering, B.A., Baumann, J.M., Evans, T.M., 2005. Bronchoconstriction provoked by exercise in a high-particulate-matter environment is attenuated by montelukast. *Inhal. Toxicol.* 17, 99–105.

— S —

Saber, A.T., Jacobsen, N.R., Bornholdt, J., Kjaer, S.L., Dybdahl, M., Risom, L., Loft, S., Vogel, U., Wallin, H., 2006. Cytokine expression in mice exposed to diesel exhaust particles by inhalation. Role of tumor necrosis factor. *Part. Fibre Toxicol.* 3, 4.

Salvador, P., Artíñano, B., Viana, M., Alastuey, A., Querol, X., 2012. Evaluation of the changes in the Madrid metropolitan area influencing air quality: Analysis of 1999–2008 temporal trend of particulate matter. *Atmos. Environ.* 57, 175–185.

Santacatalina, M., Reche, C., Minguillón, M.C., Escrig, A., Sanfelix, V., Carratalá, A., Nicolás, J.F., Yubero, E., Crespo, J., Alastuey, A., Monfort, E., Miró, J.V., Querol, X., 2010. Impact of fugitive emissions in ambient PM levels and composition: A case study in Southeast Spain. *Sci. Total Environ.* 408, 4999–5009.

Satsangi, A., Pachauri, T., Singla, V., Lakhani, A., Kumari, K.M., 2012. Organic and elemental carbon aerosols at a suburban site. *Atmospheric Res.* 113, 13–21.

Schleicher, N.J., Norra, S., Chai, F., Chen, Y., Wang, S., Cen, K., Yu, Y., Stüben, D., 2011. Temporal variability of trace metal mobility

of urban particulate matter from Beijing – A contribution to health impact assessments of aerosols. *Atmos. Environ.* 45, 7248–7265.

Schutt, F., Bergmann, M., Holz, F.G., Kopitz, J., 2003. Proteins Modified by Malondialdehyde, 4-Hydroxynonenal, or Advanced Glycation End Products in Lipofuscin of Human Retinal Pigment Epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 44, 3663–3668.

Senft, A.P., Taylor, R.H., Lei, W., Campbell, S.A., Tipper, J.L., Martinez, M.J., Witt, T.L., Clay, C.C., Harrod, K.S., 2010. Respiratory Syncytial Virus Impairs Macrophage IFN- γ - and IFN- β -Stimulated Transcription by Distinct Mechanisms. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 42, 404–414.

Senlin, L., Zhenkun, Y., Xiaohui, C., Minghong, W., Guoying, S., Jiamo, F., Paul, D., 2008. The relationship between physicochemical characterization and the potential toxicity of fine particulates (PM_{2.5}) in Shanghai atmosphere. *Atmos. Environ.* 42, 7205–7214.

Servais, S., 2004. Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: Effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Université Claude Bernard - Lyon I.

Service de l'observation et des statistiques, 2013. Repères - Chiffres clés du climat - France et Monde - Edition 2013.

Shang, Y., Fan, L., Feng, J., Lv, S., Wu, M., Li, B., Zang, Y.-S., 2013a. Genotoxic and inflammatory effects of organic extracts from traffic-related particulate matter in human lung epithelial A549 cells: The role of quinones. *Toxicol. In Vitro* 27, 922–931.

Shang, Y., Zhu, T., Lenz, A.-G., Frankenberger, B., Tian, F., Chen, C., Stoeger, T., 2013b. Reduced in vitro toxicity of fine particulate matter collected during the 2008 summer Olympic Games in Beijing: The roles of chemical and biological components. *Toxicol. In Vitro* 27, 2084–2093.

Shi, T., Duffin, R., Borm, P.J.A., Li, H., Weishaupt, C., Schins, R.P.F., 2006. Hydroxyl-radical-dependent DNA damage by ambient particulate matter from contrasting sampling locations. *Environ. Res.* 101, 18–24.

- Shin, M.H., Moon, Y.J., Seo, J.-E., Lee, Y., Kim, K.H., Chung, J.H., 2008. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase, xanthine oxidase, and mitochondrial electron transport system mediate heat shock-induced MMP-1 and MMP-9 expression. *Free Radic. Biol. Med.* 44, 635–645.
- Sikder, H.A., Suthawaree, J., Kato, S., Kajii, Y., 2011. Surface ozone and carbon monoxide levels observed at Oki, Japan: Regional air pollution trends in East Asia. *J. Environ. Manage.* 92, 953–959.
- Singh, R., Winn, L.M., 2008. The effects of 1,4-benzoquinone on c-Myb and topoisomerase II in K-562 cells. *Mutat. Res.* 645, 33–38.
- Smith, K.A., Maizels, R.M., 2013. IL-6 controls susceptibility to helminth infection by impeding Th2 responsiveness and altering the regulatory T-cell phenotype in vivo. *Eur. J. Immunol.* n/a–n/a.
- Smith, S.J., van Aardenne, J., Klimont, Z., Andres, R.J., Volke, A., Delgado Arias, S., 2011. Anthropogenic sulfur dioxide emissions: 1850–2005. *Atmos Chem Phys* 11, 1101–1116.
- Snyder, R., 2004. Xenobiotic metabolism and the mechanism(s) of benzene toxicity. *Drug Metab. Rev.* 36, 531–547.
- Solomon, A., Dursun, D., Liu, Z., Xie, Y., Macri, A., Pflugfelder, S.C., 2001. Pro- and Anti-inflammatory Forms of Interleukin-1 in the Tear Fluid and Conjunctiva of Patients with Dry-Eye Disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42, 2283–2292.
- Steenhof, M., Gosens, I., Strak, M., Godri, K.J., Hoek, G., Cassee, F.R., Mudway, I.S., Kelly, F.J., Harrison, R.M., Lebret, E., Brunekreef, B., Janssen, N.A.H., Pieters, R.H.H., 2011. In vitro toxicity of particulate matter (PM) collected at different sites in the Netherlands is associated with PM composition, size fraction and oxidative potential--the RAPTES project. *Part. Fibre Toxicol.* 8, 26.
- Streets, D.G., Cauty, T., Carmichael, G.R., de Foy, B., Dickerson, R.R., Duncan, B.N., Edwards, D.P., Haynes, J.A., Henze, D.K., Houyoux, M.R., Jacob, D.J., Krotkov, N.A., Lamsal, L.N., Liu, Y., Lu, Z., Martin, R.V., Pfister, G.G., Pinder, R.W., Salawitch, R.J., Wecht, K.J., 2013. Emissions estimation from satellite retrievals: A review of current capability. *Atmos. Environ.* 77, 1011–1042.
- Streets, D.G., Zhang, Q., Wang, L., He, K., Hao, J., Wu, Y., Tang, Y., Carmichael, G.R., 2006. Revisiting China's CO emissions after the Transport and Chemical Evolution over the Pacific (TRACE-P) mission: Synthesis of inventories, atmospheric modeling, and observations. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 111, n/a–n/a.
- Su, T.T., 2006. Cellular responses to DNA damage: one signal, multiple choices. *Annu. Rev. Genet.* 40, 187–208.
- Sun, H., Shamy, M., Kluz, T., Muñoz, A.B., Zhong, M., Laulicht, F., Alghamdi, M.A., Khoder, M.I., Chen, L.-C., Costa, M., 2012. Gene expression profiling and pathway analysis of human bronchial epithelial cells exposed to airborne particulate matter collected from Saudi Arabia. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 265, 147–157.
- Sun, Y., Yin, Y., Zhang, J., Yu, H., Wang, X., Wu, J., Xue, Y., 2008. Hydroxyl radical generation and oxidative stress in *Carassius auratus* liver, exposed to pyrene. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71, 446–453.
- τ —
- Tang, S.-S., Wang, X.-Y., Hong, H., Long, Y., Li, Y.-Q., Xiang, G.-Q., Jiang, L.-Y., Zhang, H.-T., Liu, L.-P., Miao, M.-X., Hu, M., Zhang, T.-T., Hu, W., Ji, H., Ye, F.-Y., 2013. Leukotriene D4 induces cognitive impairment through enhancement of CysLT1R-mediated amyloid- β generation in mice. *Neuropharmacology* 65, 182–192.
- Tanimoto, H., 2009. Increase in springtime tropospheric ozone at a mountainous site in Japan for the period 1998–2006. *Atmos. Environ.* 43, 1358–1363.
- Tankari Dan-Badjo, A., 2007. Modalités de contamination du ray-grass par les éléments du groupe platine et les hydrocarbures aromatiques polycycliques à proximité des voies routières. Lorraine.
- Tholander, F., Roques, B.-P., Fournié-Zaluski, M.-C., Thunnissen, M.M.G.M., Haeggström, J.Z., 2010. Crystal structure of leukotriene A4 hydrolase in complex with kelatorphan,

implications for design of zinc metallopeptidase inhibitors. *FEBS Lett.* 584, 3446–3451.

Tie, X., Wu, D., Brasseur, G., 2009. Lung cancer mortality and exposure to atmospheric aerosol particles in Guangzhou, China. *Atmos. Environ.* 43, 2375–2377.

Tobiszewski, M., Namieśnik, J., 2012. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environ. Pollut.* 162, 110–119.

Tolbert, P.E., 2007. Invited Commentary: Heterogeneity of Particulate Matter Health Risks. *Am. J. Epidemiol.* 166, 889–891.

Tracey, D., Klareskog, L., Sasso, E.H., Salfeld, J.G., Tak, P.P., 2008. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacol. Ther.* 117, 244–279.

Trachootham, D., Lu, W., Ogasawara, M.A., Valle, N.R.-D., Huang, P., 2008. Redox Regulation of Cell Survival. *Antioxid. Redox Signal.* 10, 1343–1374.

Tractebel, 2000. Etude sur la qualité de l'air en milieu urbain : cas de Cotonou - Rapport final - Ministère de l'Environnement, de l'Habitat et de l'Urbanisme (MEHU).

Tsuji, P.A., Walle, T., 2006. Inhibition of benzo[a]pyrene-activating enzymes and DNA binding in human bronchial epithelial BEAS-2B cells by methoxylated flavonoids. *Carcinogenesis* 27, 1579–1585.

Tuma, D.J., 2002. Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury. *Free Radic. Biol. Med.* 32, 303–308.

Turner, M.C., Krewski, D., Pope, C.A., 3rd, Chen, Y., Gapstur, S.M., Thun, M.J., 2011. Long-term ambient fine particulate matter air pollution and lung cancer in a large cohort of never-smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184, 1374–1381.



Ueda, A.C., Tomaz, E., 2011. BTEX concentrations in the atmosphere of the metropolitan area of Campinas (São Paulo, Brazil). pp. 211–217.

United Nations, 2010. UN - Department of Economic and Social Affairs. World Urbanization Prospects: The 2009 Revision. United Nations, New York.

United Nations Statistics Division, 2013. Millennium Development Goals Indicators <http://mdgs.un.org/unsd/mdg/SeriesDetail.aspx?srid=749&crid=> (Consulté le 8.8.13).

Uppstad, H., Øvrebø, S., Haugen, A., Mollerup, S., 2010. Importance of CYP1A1 and CYP1B1 in bioactivation of benzo[a]pyrene in human lung cell lines. *Toxicol. Lett.* 192, 221–228.

Upton, J., 2013. Et la capitale mondiale de la pollution est... | Slate - Traduit par Bérengère Viennot <http://www.slate.fr/story/69635/capitale-mondiale-pollution> (Consulté le 8.5.13).

US EPA, 2011. National Ambient Air Quality Standards (NAAQS) | Air and Radiation | US EPA <http://www.epa.gov/air/criteria.html> (Consulté le 8.30.13).



Val, S., Stéphanie, V., Martinon, L., Laurent, M., Cachier, H., Hélène, C., Yahyaoui, A., Abderrazak, Y., Marfaing, H., Hélène, M., Baeza-Squiban, A., Armelle, B.-S., 2011. Role of size and composition of traffic and agricultural aerosols in the molecular responses triggered in airway epithelial cells. *Inhal. Toxicol.* 23, 627–640.

Valavanidis, A., Vlahoyianni, T., Fiotakis, K., 2005. Comparative study of the formation of oxidative damage marker 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) adduct from the nucleoside 2'-deoxyguanosine by transition metals and suspensions of particulate matter in relation to metal content and redox reactivity. *Free Radic. Res.* 39, 1071–1081.

Vallius, M., Janssen, N.A.H., Heinrich, J., Hoek, G., Ruuskanen, J., Cyrys, J., Van Grieken, R., de Hartog, J.J., Kreyling, W.G., Pekkanen, J., 2005. Sources and elemental composition of ambient PM2.5 in three European cities. *Sci. Total Environ.* 337, 147–162.

Van Donkelaar, A., Martin, R.V., Brauer, M., Kahn, R., Levy, R., Verduzco, C., Villeneuve, P.J., 2010. Global Estimates of Ambient Fine Particulate Matter Concentrations from

Satellite-Based Aerosol Optical Depth: Development and Application. *Environ. Health Perspect.* 118, 847–855.

Van Eeden, S.F., Tan, W.C., Suwa, T., Mukae, H., Terashima, T., Fujii, T., Qui, D., Vincent, R., Hogg, J.C., 2001. Cytokines involved in the systemic inflammatory response induced by exposure to particulate matter air pollutants (PM(10)). *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 164, 826–830.

Van Haluwyn, C., 2009. Biosurveillance végétale : de la recherche à la normalisation. *Environord.* Université de Lille 2 - APPA.

Vattanasit, U., Navasumrit, P., Khadka, M.B., Kanitwithayanun, J., Promvijit, J., Autrup, H., Ruchirawat, M., in Press. Oxidative DNA damage and inflammatory responses in cultured human cells and in humans exposed to traffic-related particles. *Int. J. Hyg. Environ. Health.*

Villeneuve, E., 2010. Des polluants venant d'Asie souillent l'ouest des Etats-Unis <http://www.bioaddict.fr/article/des-polluants-venant-d-asie-souillent-l-ouest-des-etats-unis-a582p1.html> (Consulté le 8.20.13).



Wan, J., Winn, L.M., 2007. Benzene's metabolites alter c-MYB activity via reactive oxygen species in HD3 cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 222, 180–189.

Wang, H., Shooter, D., 2001. Water soluble ions of atmospheric aerosols in three New Zealand cities: seasonal changes and sources. *Atmos. Environ.* 35, 6031–6040.

Wang, J., Hu, Z., Chen, Y., Chen, Z., Xu, S., 2013. Contamination characteristics and possible sources of PM10 and PM2.5 in different functional areas of Shanghai, China. *Atmos. Environ.* 68, 221–229.

Wang, Yungang, Hopke, P.K., Xia, X., Rattigan, O.V., Chalupa, D.C., Utell, M.J., 2012. Source apportionment of airborne particulate matter using inorganic and organic species as tracers. *Atmos. Environ.* 55, 525–532.

Wang, Yuesi, Ren, X., Ji, D., Zhang, J., Sun, J., Wu, F., 2012. Characterization of volatile

organic compounds in the urban area of Beijing from 2000 to 2007. *J. Environ. Sci.* 24, 95–101.

Weinstein, J.P., Hedges, S.R., Kimbrough, S., 2010. Characterization and aerosol mass balance of PM2.5 and PM10 collected in Conakry, Guinea during the 2004 Harmattan period. *Chemosphere* 78, 980–988.

Whitlock, J.P., 1999. Induction of Cytochrome P4501a1. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 39, 103–125.

Whysner, J., Reddy, M.V., Ross, P.M., Mohan, M., Lax, E.A., 2004. Genotoxicity of benzene and its metabolites. *Mutat. Res.* 566, 99–130.

Williams, K.M., Franzi, L.M., Last, J.A., 2013. Cell-specific oxidative stress and cytotoxicity after wildfire coarse particulate matter instillation into mouse lung. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 266, 48–55.

Winn, L.M., 2003. Homologous recombination initiated by benzene metabolites: a potential role of oxidative stress. *Toxicol. Sci. Off. J. Soc. Toxicol.* 72, 143–149.

World Health Organization, 2006. World Health Organization, Public Health and Environment, PHE - WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide - Global update 2005 http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_SDE_PHE_OEH_06.02_fre.pdf

World Health Organization, 2008. World Health Organization, Public Health and Environment, PHE - WHO Burden of disease associated with urban outdoor air pollution for 2008 http://www.who.int/phe/health_topics/outdoorair/databases/burden_disease/en/index.html (Consulté le 5.21.13).

World Health Organization, 2011a. WHO | Urban outdoor air pollution database <http://apps.who.int/gho/data/node.main.154?lang=en> (Consulté le 8.14.13).

World Health Organization, 2011b. Rapport 2011 sur le paludisme dans le monde http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/fr/ (Consulté le 10.10.13).

World Health Organization, 2011c. Principaux faits sur l'épidémie mondiale de VIH et progrès enregistrés en 2010 http://www.who.int/hiv/pub/progress_report2011/global_facts/fr/index.html (Consulté le 10.10.13).

— X —

Xiao, G.G., Wang, M., Li, N., Loo, J.A., Nel, A.E., 2003. Use of proteomics to demonstrate a hierarchical oxidative stress response to diesel exhaust particle chemicals in a macrophage cell line. *J. Biol. Chem.* 278, 50781–50790.

— Y —

Yoon, H.-S., Lee, K.-M., Lee, K.-H., Kim, S., Choi, K., Kang, D., 2012. Polycyclic aromatic hydrocarbon (1-OHPG and 2-naphthol) and oxidative stress (malondialdehyde) biomarkers in urine among Korean adults and children. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 215, 458–464.

Yoshida, T., Yoshioka, Y., Fujimura, M., Kayamuro, H., Yamashita, K., Higashisaka, K., Nakanishi, R., Morishita, Y., Nabeshi, H., Yamashita, T., Muroi, M., Tanamoto, K., Nagano, K., Abe, Y., Kamada, H., Kawai, Y., Mayumi, T., Itoh, N., Yoshikawa, T., Tsunoda, S., Tsutsumi, Y., 2010. Urban Aerosols Induce Pro-inflammatory Cytokine Production in Macrophages and Cause Airway Inflammation in Vivo. *Biol. Pharm. Bull.* 33, 780–783.

— Z —

Zeilhofer, H.U., 2005. The glycinergic control of spinal pain processing. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 62, 2027–2035.

Zhang, L., Rothman, N., Li, G., Guo, W., Yang, W., Hubbard, A.E., Hayes, R.B., Yin, S., Lu, W., Smith, M.T., 2007. Aberrations in chromosomes associated with lymphoma and therapy-related leukemia in benzene-exposed workers. *Environ. Mol. Mutagen.* 48, 467–474.

Zhang, Y., Mu, Y., Liu, J., Mellouki, A., 2012. Levels, sources and health risks of carbonyls and BTEX in the ambient air of Beijing, China. *J. Environ. Sci.* 24, 124–130.

Zhao, Y., Usatyuk, P.V., Gorshkova, I.A., He, D., Wang, T., Moreno-Vinasco, L., Geyh, A.S., Breyse, P.N., Samet, J.M., Spannhake, E.W., Garcia, J.G.N., Natarajan, V., 2009. Regulation of COX-2 Expression and IL-6 Release by Particulate Matter in Airway Epithelial Cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 40, 19–30.

Ziech, D., Franco, R., Pappa, A., Panayiotidis, M.I., 2011. Reactive Oxygen Species (ROS)—Induced genetic and epigenetic alterations in human carcinogenesis. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 711, 167–173.

7s7, 2010. Pollution record et air irrespirable à Moscou <http://www.7sur7.be/7s7/fr/2625/Planete/article/detail/1138393/2010/07/28/Pollution-record-et-air-irrespirable-a-Moscou.dhtml> (Consulté le 8.8.13).

Résumé

La pollution de l'environnement, et particulièrement la pollution atmosphérique et son possible impact sur la santé humaine, suscite un intérêt grandissant dans les pays en développement. Ce travail de thèse s'inscrit dans cette thématique et constitue une étude pionnière en Afrique, et au Bénin plus particulièrement.

Nos résultats ont montré que l'essence utilisée à Cotonou était de piètre qualité, caractérisée par l'absence d'additifs et par une forte concentration en benzène, et pouvait être à l'origine de la dégradation de la qualité de l'air de la ville. De même, l'analyse d'échantillons de particules ($PM_{2.5}$ et $PM_{>2.5}$) prélevés dans le quartier de St Michel à Cotonou, a mis en exergue un taux anormalement élevé de particules en suspension dans l'air. La caractérisation physicochimique de ces particules a montré la présence d'un cocktail de composés chimiques (ions, métaux, COVs, paraffines, HAPs, etc.), en proportions plus élevées dans les particules fines $PM_{2.5}$.

L'appareil respiratoire constituant la principale voie d'exposition de l'Homme à ces particules atmosphériques, leur potentiel toxique a été évalué au travers d'une étude *in vitro* menée sur des cellules épithéliales bronchiques humaines (BEAS-2B). Il a été ainsi démontré les propriétés cytotoxiques des deux échantillons de particules ainsi que leur capacité à induire l'expression génique des enzymes de métabolisation des composés organiques et à générer un stress oxydatif. Le déclenchement du processus inflammatoire *via* l'induction de l'expression génique et la sécrétion protéique de cytokines et l'apparition de modifications dans la voie de l'acide arachidonique (leucotriènes, prostaglandine, thromboxane) ont été notés.

Enfin, l'approche comparative des $PM_{2.5}$ prélevées au niveau de trois villes d'Afrique de l'Ouest a permis de mettre en évidence des caractéristiques proches au Bénin, en Côte d'Ivoire et au Sénégal et la contribution des émissions du trafic routier dans la pollution de l'air.

Mots-clés : Pollution atmosphérique ; $PM_{2.5}$; $PM_{>2.5}$; caractérisation physicochimique ; impact toxicologique ; Cotonou.

Abstract

Air pollution and its adverse health effects have shown a growing interest in developing countries. This study deals with this subject and is one of the first conducted in African countries, particularly in Benin.

Our results showed that the quality of gasoline used in Cotonou was poor, characterized by the absence of additive and a high concentration of benzene. Thus, it could be responsible for the degradation of the city air quality. Therefore, particulate matter samples ($PM_{2.5}$ and $PM_{>2.5}$) were collected in St Michel neighborhood at Cotonou and results showed very high levels of particles in the ambient air. Physicochemical characterization of these particles revealed a presence of various chemicals compounds (ions, metals, VOCs, paraffins, PAHs, etc.) in higher proportion in $PM_{2.5}$ than $PM_{>2.5}$.

The respiratory system, the main way of exposure to these airborne particles, was investigated through an *in vitro* study assessing the toxic potential of PM on human bronchial epithelial cells (BEAS-2B). It has been demonstrated that the two types of particles have cytotoxic properties and ability to induce gene expression of organic compounds metabolizing enzymes and to generate oxidative stress. These particles have triggered the inflammatory process through the induction of gene expression and protein secretion of cytokines, and changes in the arachidonic acid pathway (leukotrienes, prostaglandin, and thromboxane).

Finally, comparative approach for $PM_{2.5}$ sampled in three West African cities highlighted the closeness of particles characteristics in Benin, Côte d'Ivoire and Senegal, and a significant contribution of road traffic emissions in the air pollution.

Key-words: Atmospheric pollution ; $PM_{2.5}$; $PM_{>2.5}$; physicochemical characterization; toxicological effects; Cotonou.