



# REVUE TUNISIENNE DE BIOLOGIE CLINIQUE

المجلة التونسية للبيولوجيا السريرية

Volume 19, Numéro 1, Janvier - Février - Mars - Avril 2012

## SOMMAIRE

### *Editorial*

M.C. Ben Rayana

### *Revue générale*

✓ *Rôle du biologiste dans l'exploration des hyperlymphocytoses*

I. Ghariani, N. Braham Jmili

✓ *Ostéoporose : Aspects clinique, biologique et thérapeutique*

H. Chahed, S. Ferchichi, N. Saad, A. Miled

### *Articles originaux*

✓ *Etude de cinq microsatellites dans une population porteuse de l'allèle  $\beta^S$*

A. Mejri, H. Siala, F. Ouali, R. Belhadj, A. Bibi, T. Messaoud

✓ *Les nitrates dans les eaux des nappes phréatiques du nord Tunisien*

A. Nasraoui, M.A. Majdoub, M. Hamdaoui, A. Hedhili

### • *Pratique quotidienne*

✓ *L'effet du tabagisme sur les paramètres spermatiques des hommes infertiles en Tunisie*

G. Merdassi, S. Fourati, A. Louati, H. Ellouni, B. Zouari, M. Ferchiou, F. Zhioua, A. Zhioua

### *Activités de la Société et nouvelles professionnelles*

Date / Lieu	Thème	Coordinateurs
10 Février 2012 / Tunis	Le Spermogramme	<i>H. Ben Aribia / G. Merdassi</i>
11 Février 2012 / Tunis	Le Spermogramme	<i>H. Ben Aribia / G. Merdassi</i>
8 Mars 2012 / Tunis	Les tests rapides en Bactériologie	<i>C. Fendri / F. Ben Hassine</i>
24 Mars 2012 / Kerkennah	Le Spermogramme	<i>H. Ben Aribia / G. Merdassi</i>
5, 6, & 7 Avril 2012 / Hammamet	Atelier Qualitologie : mise en place d'un système documentaire	<i>A. Ben Amor / MC. Ben Rayana</i>
24, 25 & 26 Mai 2012 / Hammamet	JNBC'2012	STBC
23 Juin 2012 / Tabarka	Les Hémoglobinopathies	<i>T. Messaoud / S. Hmida</i>
7 Septembre 2012 / Gafsa	Atelier Hémostase	<i>B. Nciri / T. Messaoud</i>
21 Septembre 2012 / Gabes	Le Contrôle de qualité interne en biochimie	<i>MC. Ben Rayana</i>
5 Octobre 2012 / Tunis	Les Leucémies aigues	<i>N.H. Toumi / S. Hmida</i>
2 Novembre 2012 / Tunis	Les Aspergilloses	<i>E. Chaker / H. Ben Aribia</i>
Novembre 2012 / Sfax	23 <sup>ème</sup> Journée de Biologie de Sfax	<i>F. Messadi / W. Khrouf / H. Masmoudi</i>
7 Décembre 2012 / Tunis	Exploration de la thyroïde	<i>A. Kadhi / MC. Ben Rayana</i>
11 Janvier 2013 / Monastir	Identification des parasites fécaux	<i>M. Gorcii / N. Nabli</i>

Adresse : Résidence Tunis Carthage - Appartement C10  
Borj Baccouche - 2027 Ariana - Tunisie

Secrétariat STBC  
Tél/Fax. : (+216) 71 709 647  
contact@stbc.org.tn



# REVUE TUNISIENNE DE BIOLOGIE CLINIQUE

المجلة التونسية للبيولوجيا السريرية

ORGANE DE LA SOCIÉTÉ TUNISIENNE  
DE BIOLOGIE CLINIQUE

## Comité de Direction :

S. Hmida  
F. Ben Hassine  
T. Messaoud  
F. Messaadi  
M.H. Ben Aribia  
G. Merdassi

## Comité de Rédaction :

Rédacteur en chef :

MC. Ben Rayana

Attachés à la rédaction :

S. Besbes  
L. Slim Saidi  
N. Ben Romdhane  
A. Elkadhi  
N. Nabli

## Comité de lecture :

A. Amor, A. Ayadi, H. Babba,  
R. Barbouch, F. Barguelli,  
E. Belhassen, S. Ben Ammar,  
M.A. Ben Amor, K. Ben Romdhane,  
Y. Brahem, E. Chaker, W. Douki,  
M. Elloumi, M. Feki, S. Feki,  
C. Fendri, N. Fnina, I. Ghedira,  
Y. Gorgi, N. Gritli, M. Hassine,  
A. Hedhili, S. Hmida, M. Jeddi,  
N. Kaabachi, M. Kortas, C. Mazigh,  
T. Messaoud, R. Mrad, M.F. Najjar,  
B. Nsiri, A. Slim, L. Slim, Z. Tabka,  
A. Trabelsi

## Consultants étrangers :

V. Blatton (Belgique),  
L. Chabraoui (Maroc), J-L. Dhondt  
(France), M. Ferrari (Italie),  
J.C. Forrest (Canada), M. Germanos  
(Liban), P. Gillery (France),  
J. Hickes (USA), A. Legrand  
(France), JF. Lesesve (France),  
M. Muller (Autriche),  
P. Mura (France)

Adresse : RTBC/STBC

Résidence Tunis Carthage - Appartement C10

Borj Baccouche - 2027 - Ariana Tunisie

Tél/Fax : (+216) 71 709 647

E-mail : contact@stbc.org.tn

chiheb.rayana@rns.tn

## SOMMAIRE

Pages

- **Editorial** .....3  
*M.C. Ben Rayana*
- **Revue générale** .....5
  - ✓ **Rôle du biologiste dans l'exploration des hyperlymphocytoses**  
*I. Ghariani, N. Braham Jmili*
  - ✓ **Ostéoporose : Aspects clinique, biologique et thérapeutique**  
*H. Chahed, S. Ferchichi, N. Saad, A. Miled*
- **Articles originaux** .....25
  - ✓ **Etude de cinq microsatellites dans une population porteuse de l'allèle  $\beta^S$**   
*A. Mejri, H. Siala, F. Ouali, R. Belhadj, A. Bibi, T. Messaoud*
  - ✓ **Les nitrates dans les eaux des nappes phréatiques du nord Tunisien**  
*A. Nasraoui, M.A. Majdoub, M. Hamdaoui, A. Hedhili*
- **Pratique quotidienne**.....41
  - ✓ **L'effet du tabagisme sur les paramètres spermatiques des hommes infertiles en Tunisie**  
*G. Merdassi, S. Fourati, A. Louati, H. Ellouni, B. Zouari, M. Ferchiou, F. Zhioua, A. Zhioua*
- **Activités de la Société et nouvelles professionnelles**.....45

M.C. BEN RAYANA

**La RTBC : une nouvelle étape doit être entamée.**

La présente réflexion concernant la Revue Tunisienne de Biologie Clinique répond au souhait de l'actuel bureau de la STBC et du Comité de Rédaction, d'informer les lecteurs et les biologistes du programme à venir afin d'améliorer la prestation de notre revue, et de les associer directement ou indirectement aux actions envisagées.

Une réunion ouverte du comité de rédaction s'est tenue en marge des JNBC 2011 (le 06 octobre 2011), où les biologistes participants ont débattu du présent de la RTBC avec ses difficultés, et de son avenir en émettant un certain nombre de recommandations dont s'inspire en partie la présente réflexion.

Il est important de rappeler que la RTBC est née en 1991 sous l'appellation «biologie clinique» faisant suite au bulletin de la STBC (1990) et permettant ainsi à la revue d'être structurée avec les rubriques retrouvées habituellement dans les publications scientifiques. En l'an 2000 elle s'est dotée d'un comité de rédaction et d'un comité de lecture afin de donner plus de rigueur à la gestion des manuscrits et œuvrer à une diffusion plus large de la revue. Elle prend à ce moment son nom et sa forme actuels.

A ce jour 24 numéros ont été publiés avec plus de 140 articles publiés. Il est à noter que malgré le maintien de la rigueur au niveau du circuit de publication et le souci permanent de préserver la qualité scientifique des articles publiés, certaines difficultés éditoriales sont relevées et gagnent à être surmontées.

Tout d'abord, le manque de matière, lui-même lié au fait que les biologistes préfèrent publier dans des revues indexées ou assurant une meilleure visibilité que la RTBC.

La lenteur du «circuit» d'un article due au retard de réponse de certains lecteurs, mais aussi à l'utilisation du courrier «papier» classique. Depuis 2011, l'utilisation du courrier électronique a amélioré sensiblement la célérité du «circuit».

Enfin, la non indexation et surtout la non visibilité de la revue sur internet commencent à menacer sa diffusion et même sa survie à moyen terme.

Pour parer à ces insuffisances, un certain nombre d'actions sont à entreprendre :

Assurer la parution régulière de trois numéros par an en plus du supplément des JNBC, à travers une campagne de sollicitation et un partenariat avec d'autres revues (une convention dans ce sens est en

Rédacteur en chef de la  
RTBC

cours de ratification avec les «annales de biologie clinique»).

Inviter les jurys des concours nationaux à mieux considérer la RTBC, mais aussi les autres revues nationales à comité de rédaction, en leur donnant la même cotation que les revues étrangères non indexées.

D'autre part, il nous semble prioritaire de doter la RTBC d'un site internet propre permettant une gestion en ligne du «circuit» des manuscrits et une amélioration de la visibilité de la revue.

Quant à l'indexation, qui reste un objectif primordial, elle passe par la concrétisation des améliorations citées mais aussi nécessite la contribution de tous les biologistes par la soumission des manuscrits, mais également par la citation des articles parus dans la RTBC dans leurs manuscrits soumis à d'autres revues internationales, ce qui permettra de doter la RTBC d'un «impact factor» aussi minime soit-il.

Le comité de rédaction de la RTBC, soutenu par le bureau de la STBC est déterminé à œuvrer pour apporter les améliorations nécessaires afin de faire de la RTBC une revue nationale indexée répondant aux attentes des biologistes.

Il incombe aux biologistes, jeunes et moins jeunes, de soutenir cette œuvre.

## Rôle du biologiste dans l'exploration des hyperlymphocytoses

I. GHARIANI,  
N. BRAHAM JMILI

**Résumé :** Une hyperlymphocytose sanguine est définie par un taux de lymphocytes supérieur à 4000/mm<sup>3</sup> chez l'adulte et 8000/mm<sup>3</sup> chez l'enfant. Cette hyperlymphocytose peut être due à des étiologies diverses, en effet elle peut être soit réactionnelle (secondaire à une infection) soit maligne (révèle un syndrome lymphoprolifératif chronique). La découverte de cette hyperlymphocytose est possible à la suite de la réalisation d'un hémogramme prescrit devant l'existence de polyadénopathies ou de signes cliniques d'insuffisance médullaire voire en situation pré-opératoire ou à l'occasion d'un examen systématique. L'analyse morphologique lymphocytaire est fondamentale dans la démarche diagnostique des hyperlymphocytoses, elle permet d'orienter le diagnostic, indique les investigations complémentaires utiles et surtout, elle est nécessaire à l'interprétation de l'immunophénotypage et autres analyses. L'immonophénotypage par cytométrie en flux est un élément fondamental du diagnostic de l'hyperlymphocytose. Il permet de confirmer la présence d'un syndrome lymphoprolifératif chronique et de le classer avec précision.

**Mots clés :** hyperlymphocytose, réactionnelle, syndrome lymphoprolifératif chronique, hémogramme, immunophénotypage, cytométrie en flux.

### Role of laboratory in exploring lymphocytosis

Blood lymphocytosis is defined by a rate greater than 4000 cells / mm<sup>3</sup> in adults and 8,000 / mm<sup>3</sup> in children. This lymphocytosis maybe due to diverse causes : reactive (secondary to infection) or malignant (chronic lymphoproliferative disorder). Lymphocytosis is revealed by blood analysis prescribed at the existence of adenopathies, clinical signs of bone marrow failure, in preoperatively situations or during a systematic review. Morphological analysis of lymphocytes is fundamental in the diagnosis of hyperlymphocytosis, it provides guidance on diagnosis, indicates the further useful investigations and above all, it is necessary for the interpretation of immunophenotyping and other tests. The immonophénotyping by flow cytometry is necessary to the diagnosis of lymphocytosis. It confirms the presence of a chronic lymphoproliferative disease and to classify it accurately.

**Keywords :** Reactive lymphocytosis, chronic lymphoproliferative disease, hemogram, immunophenotyping, flow cytometry.

Laboratoire d' Hématologie  
CHU Farhat Hached - Sousse

## Introduction

Le plus souvent de découverte fortuite, le diagnostic d'une hyperlymphocytose reste du domaine du laboratoire. Une hyperlymphocytose est définie par une anomalie quantitative de la lignée lymphocytaire (lymphocytes  $> 4000/\text{mm}^3$  chez l'adulte,  $> 8000/\text{mm}^3$  chez l'enfant). Ces hyperlymphocytoses peuvent être bénignes ou malignes. Qu'elles soient réactionnelles ou malignes, le biologiste intervient en premier lieu pour les qualifier et orienter le clinicien [1,2].

Les deux examens fondamentaux mis en œuvre sont l'hémogramme avec analyse du frottis de sang et l'immunophénotypage par cytométrie de flux (CMF).

Dans les cas difficiles, seront demandés un caryotype et/ou une analyse par hybridation in situ fluorescente (FISH) ; le myélogramme n'a sa place que dans quelques cas particuliers. Dans tous les cas, il faut se confronter à l'histologie (moelle osseuse, rate, ganglion) et s'informer du contexte clinique (état général, rate, ganglion), de l'ethnie du patient, de son statut virologique et des autres données biologiques (Figure 1) [3]. L'objectif de cette revue de la littérature est de définir la meilleure conduite à tenir devant une hyperlymphocytose sanguine.

## Exploration des hyperlymphocytoses

En face d'une hyperlymphocytose, le plus important est d'exclure une monclonalité qui signe généralement un processus lymphoprolifératif tumoral, c'est-à-dire l'expansion d'une population de cellules identiques (clone) qui prolifèrent anormalement à partir d'une cellule originelle. Toute la stratégie diagnostique doit être orientée pour exclure cette possibilité. Les deux examens fondamentaux sont l'hémogramme avec analyse du frottis de sang et l'immunophénotypage lymphocytaire [1].

### 1- L'hémogramme

L'hémogramme ou Numération Formule Sanguine, étudie les cellules du sang. L'hémogramme est presque toujours fait sur des échantillons de sang veineux, qui est prélevé directement dans des tubes spéciaux contenant un anticoagulant : L'éthylène-Diamine-Tétra-Acétique (EDTA). Cet examen comporte deux études [4] :

**Etude quantitative** : Elle repose sur le comptage des différents éléments figurés du sang. Le taux des lymphocytes varie selon l'âge (Tableau I).

La sensibilité des automates pour détecter des anomalies est assez bonne, mais ils peuvent être mis en défaut lorsque les cellules diffèrent peu des lymphocytes normaux ou quand les cellules atypiques sont peu nombreuses. En outre, ils manquent de spécificité. En cas d'alarme de l'automate, il convient d'étudier le frottis sanguin.

**Etude qualitative** : elle est au centre du diagnostic.

L'étalement du sang doit être réalisé à moins de 6 heures après le prélèvement, sur lames dégraissées, à bords rodés et coloré au May-Grünwald-Giemsa. Ceci permet d'orienter le diagnostic, d'indiquer les investigations complémentaires utiles et surtout de procurer un contexte morphologique nécessaire à l'interprétation de l'immunophénotypage et d'autres analyses. L'étude du frottis sanguin permet de renseigner sur la taille lymphocytaire, la coloration et la taille du cytoplasme lymphocytaire, l'existence de granulations cytoplasmiques, le rapport nucléo-cytoplasmique, la régularité de la membrane cytoplasmique, la structure de la chromatine et l'existence ou non de nucléoles.

### **Morphologie des lymphocytes sur frottis sanguin :**

Les lymphocytes d'aspect normal sont de deux types [5] :

- Le petit lymphocyte (Figure 2)

La cellule mesure 6 à 9  $\mu\text{m}$  de diamètre. Le noyau est arrondi ou légèrement ovalaire, parfois réniforme, très dense, violet foncé, composé de masse chromatinienne sombre. Le cytoplasme très réduit souvent peu visible parfois réduit à un mince filet bleu.

- Le grand lymphocyte (Figure 3)

C'est une cellule qui mesure 9 à 15  $\mu\text{m}$  de diamètre. Le noyau est central ou légèrement excentré, les masses chromatiniennes sont disposées en blocs compacts de couleur violet foncé entrecoupés de zones claires. Le cytoplasme est plus étendu que celui des petits lymphocytes, il entoure complètement le noyau, il est clair ou légèrement basophile.

Au cours de l'examen du frottis sanguin, la population lymphocytaire peut présenter des anomalies. L'aspect polymorphe correspond le plus souvent au syndrome





Tableau I : Variation du taux des lymphocytes en fonction de l'âge [3].

	Nouveau-né (cordon)	1 AN	4 ANS	10 ANS	Adulte
<b>Globules blancs (10<sup>9</sup>/L)</b>	18 +/-8	10,5 +/-4,5	10 +/-5	9,0 +/-4,5	7,0 +/-3,0
<b>Valeurs Absolues (10<sup>9</sup>/L)</b>	2 à 11	4 à 10.5	2 à 8	1.5 à 6.5	1 à 4

mononucléosique ; et on parle de lymphocytes atypiques, alors que l'aspect monomorphe traduit un syndrome lymphoprolifératif [3].

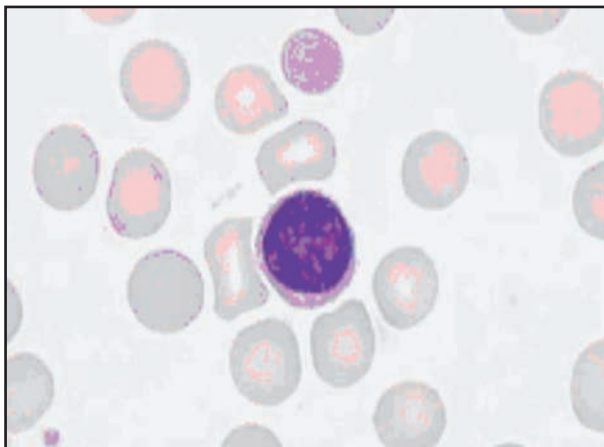


Figure 2 : Aspect du petit lymphocyte sur frottis de sang.

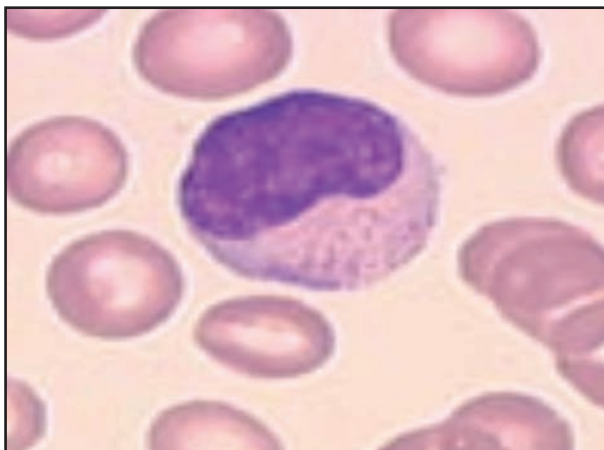


Figure 3 : Aspect du grand lymphocyte sur frottis de sang.

## 2- L'Immunophénotypage lymphocytaire

La morphologie sur frottis sanguin ne permet pas de distinguer les différentes sous-populations lymphocytaires : Le lymphocyte B et T (support de l'immunité humorale et cellulaire respectivement) et le lymphocyte NK (Natural Killer). En plus, le frottis ne permet pas en partie de préciser exactement la nature de la prolifération au cours des syndromes lymphoprolifératifs, d'où le recours à l'immunophénotypage [3].

Le principe de l'immunophénotypage est basé sur une réaction Antigène-Anticorps. En effet, le but est d'utiliser un Anticorps (Ac) marqué pour rechercher un constituant antigénique (Ag) déterminé dans une préparation. La lecture est effectuée à l'aide d'un cytomètre en flux. Pour la cytométrie en flux (CMF), les cellules doivent impérativement être en suspension monocellulaire [6,7].

A l'état normal la lignée lymphocytaire de type T est majoritaire (75%) [8].

- Les marqueurs présents sur tous les lymphocytes T sont [9] : Le récepteur T pour l'Ag (TCR) qui est associé au complexe moléculaire CD3 sur la membrane du lymphocyte T, Le CD2, le CD5 et le CD7. Les marqueurs des sous-populations sont :

- Le CD4 : marqueur des lymphocytes T auxiliaires.

- Le CD8 : marqueur des lymphocytes T cytotoxiques.

Les marqueurs d'activation des lymphocytes sont : le CD25, le CD69, le ligand du CD40 et les molécules du CMH-II.

- Les marqueurs présents sur tous les lymphocytes B sont [9] : Le CD79 (CD79a, CD79b), les CD19, CD20, CD21, CD22, CD40, CD32, le récepteur pour l'Ag (BCR) et les molécules CMH-II. Une sous-population

minoritaire de lymphocytes B exprime la molécule CD5, présent sur tous les Lymphocytes T. Ces cellules B CD5 + produisent des auto-anticorps naturels. Les lymphocytes B activés expriment les molécules CD25, CD38 et le CD23.

- Les lymphocytes NK sont CD3-, CD16+, CD56 + qui n'expriment pas de récepteurs spécifiques de l'Antigène [9].

## Les Hyperlymphocytoses

### 1- Définition

Une hyperlymphocytose sanguine est définie par un taux de lymphocytes supérieur à 4000/mm<sup>3</sup> chez l'adulte et 8000/mm<sup>3</sup> chez l'enfant.

On distingue deux types d'hyperlymphocytose :

- Les *hyperlymphocytoses bénignes* : Le syndrome mononucléosique.
- Les *hyperlymphocytoses malignes* : Les syndromes Lymphoprolifératifs chroniques

### 2- Etiologies

#### 2-1- Le Syndrome mononucléosique (SMN)

De nombreuses étiologies sont retrouvées, les plus fréquentes sont infectieuses, en particulier la mononucléose infectieuse (MNI). C'est une maladie virale, de transmission essentiellement orale, exceptionnellement sanguine, représente 85% du SMN et qui est très fréquente chez l'enfant. Ce syndrome correspond à la primo-infection par le virus Epstein-Barr virus [10].

La clinique comporte [10] :

- Une phase d'incubation : asymptomatique généralement longue de l'ordre de quatre à six semaines.
- Une phase d'invasion : correspond au début à un syndrome pseudogrippal (une fièvre constante, asthénie, myalgie, courbatures).

Les signes de découverte sont :

- Une angine le plus souvent érythémateuse.
- Des polyadénopathies à prédominance cervicale, bilatérale.
- Une splénomégalie modérée est retrouvée dans les deux tiers des cas.

Sur le plan biologique l'hémogramme montre :

- Une hyperleucocytose modérée (10 à 20.10<sup>9</sup>/L).
- Une hyperlymphocytose : 30 à 90% des globules blancs.
- Le taux d'hémoglobine est le plus souvent normal, parfois on note une anémie hémolytique à auto-anticorps.
- Le taux des plaquettes est normal ou modérément diminué (100.10<sup>9</sup>/L) dans la moitié des cas.

L'examen du frottis sanguin montre le polymorphisme des lymphocytes qui est le signe du SMN : les cellules mononuclées sont de taille inégale, à noyau jeune mais rarement nucléolé et surtout à cytoplasme abondant et bleu. L'hyperbasophilie est prédominante à la périphérie

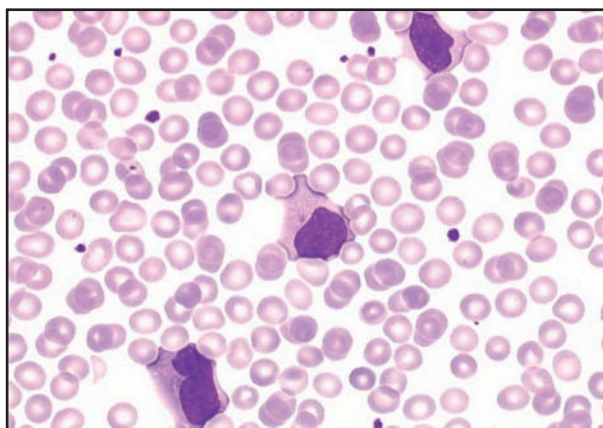


Figure 4 : Cellules mononuclées sur un frottis sanguin au cours d'un syndrome mononucléosique (11).

au contact des globules rouges (Figure 4) [8].

Les examens sérologiques permettent de confirmer l'infection par le virus d'EBV. Différents tests peuvent être utilisés [10] :

- MNI-test : Réaction d'agglutination utilisant des anticorps anti-hématies de cheval sensibilisées par des anticorps polyclonaux anti EBV.
- Réaction de Paul-Bunnell-Davidson : RPBBD.
- Mise en évidence des anticorps anti-EBV : Par méthode immunoenzymatique.

La MNI est une maladie bénigne, la guérison est spontanée avec une immunité excellente, l'asthénie est souvent prolongée mais des complications de type surinfection peuvent se voir.

Le traitement n'est pas spécifique, mais plutôt symptomatique, il est réduit au repos pendant la période fébrile.

D'autres étiologies peuvent être responsable du SMN (la toxoplasmose, l'infection à cytomégalovirus, la primo infection par le VIH, la rubéole, la rougeole, l'oreillon, l'hépatite A et B, la brucellose, la rickettsiose, la syphilis, le paludisme...) [9,10].

**2-2- La coqueluche :** C'est une maladie infectieuse due à un bacille : *Bordetella pertussis*. Elle est devenue très rare dans les pays où la vaccination est courante. La maladie demeure plus fréquente dans les pays en développement, où elle est encore parfois mortelle. La coqueluche se transmet d'un individu à l'autre (toux, éternuements), souvent par petites épidémies [3].

La clinique comporte :

- *Une phase d'incubation* : silencieuse et elle dure environ une semaine
- *Une phase d'état* : caractérisée par l'apparition d'un écoulement nasale, une fièvre et une toux. Quelques jours plus tard, la toux peut prendre un aspect caractéristique, couramment appelé «chant de coq», souvent suivie d'une pause respiratoire avec cyanose et d'une reprise inspiratoire bruyante.

Sur le plan biologique l'hémogramme montre :

- Une hyperleucocytose
  - Une hyperlymphocytose pouvant atteindre  $50000/\text{mm}^3$
- L'examen du frottis sanguin montre la présence de lymphocytes ayant un aspect mature normal avec parfois la présence de cellules à noyau encoché [3].

Le traitement repose sur la prise d'antibiotique, et de calmants de la toux. L'hospitalisation doit être systématique chez les nourrissons de moins de 6 mois et les enfants chez qui on a observé une cyanose [3].

**2-3- Les syndromes lymphoprolifératifs chroniques (SLPC) :** Ils sont classés selon la lignée lymphoïde en SLPC de type T et SLPC de type B. Les SLPC de type T représentent 5% et sont de diagnostic difficile. La démarche diagnostique des SLPC associe l'examen cytomorphologique et immunophénotypique des lymphocytes par CMF. Dans une première étape, il est important de distinguer entre la leucémie lymphoïde chronique (LLC) et les autres SLPC [12] :

- **La leucémie lymphoïde chronique (LLC) :**

La LLC est une maladie clonale lymphoproliférative au

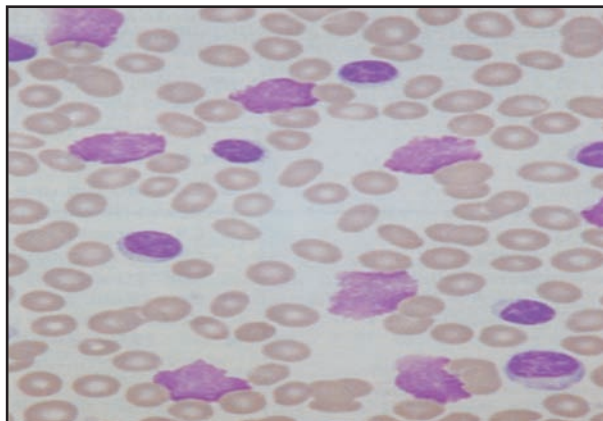
cours de laquelle les lymphocytes matures s'accumulent dans le sang, la moelle osseuse et souvent dans les nœuds lymphatiques et la rate. Cette maladie touche les patients âgés, elle constitue la leucémie la plus courante dans les pays occidentaux [13].

On distingue deux formes [8,13] :

- *Forme asymptomatique* : L'état général est souvent conservé.
- *Forme symptomatique* : L'examen clinique décèle le plus souvent des adénopathies superficielles cervicales, fermes et indolores, non compressives avec une splénomégalie, une altération de l'état générale avec asthénie, amaigrissement et des sueurs nocturnes.

Le diagnostic biologique repose sur [14-16] :

- **L'hémogramme** : Montre généralement une hyperleucocytose ( $20$  à  $50.10^9/\text{L}$ ) due à une hyperlymphocytose  $> 5000/\text{mm}^3$ . Cette hyperlymphocytose est monomorphe.
- **L'examen du frottis sanguin** : Les cellules ont l'aspect de lymphocytes matures normaux, mais sont souvent légèrement plus grandes et peuvent avoir tendance à éclater au cours de la réalisation des frottis sanguins conduisant à la formation des ombres de Gümprrecht (Figure 5).



**Figure 5 : Cellules de la Leucémie Lymphoïde Chronique sur frottis sanguin (16).**

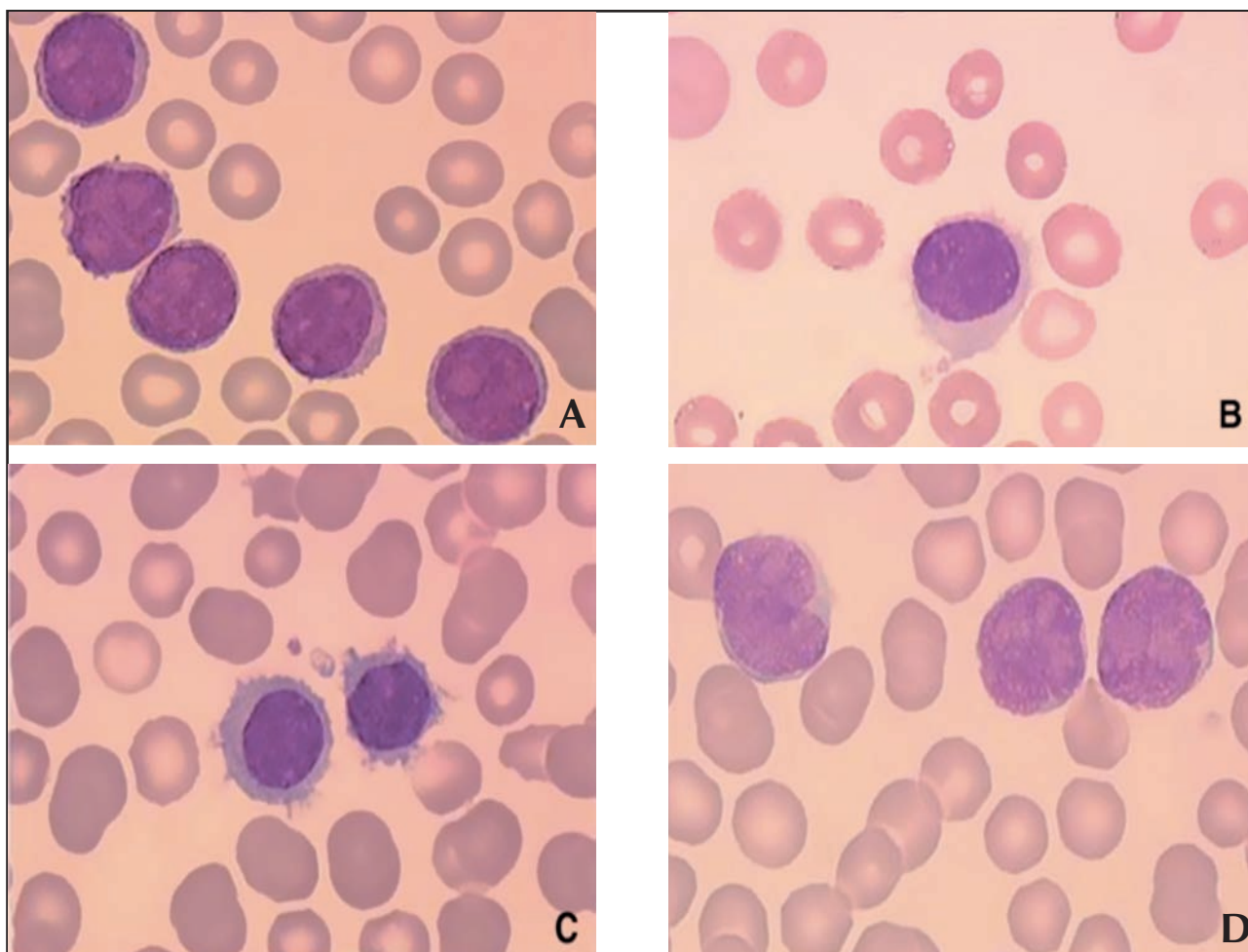
- **L'Immunophénotypage** : Les cellules leucémiques portent les marqueurs caractéristiques de la lignée B en particulier le CD 19 et le CD20, ce dernier est faiblement exprimé par rapport aux cellules B normales. Le caractère monotypique de la prolifération est révélé par

l'expression d'une seule chaîne d'immunoglobuline Kappa ou Lambda. Une autre caractéristique est la présence d'un déterminant T : le CD5. Les cellules lymphoïdes expriment aussi le marqueur d'activation ; le CD23. En revanche, le FMC7 et le CD79b sont peu ou pas exprimés. Une fois la monotypie (ou monoclonalité) est définie, on s'intéresse au profil immunologique de cette population monotypique en établissant le score de Matutes qui correspond à un profil immunologique de marqueurs permettant d'affirmer ou d'exclure une LLC quand on a une monotypie B [14]. Les patients peuvent se présenter à un stade précoce et rester par conséquent dans un état stationnaire puis

progresser ou se présenter avec une maladie au stade ultime. Selon les résultats de l'hémogramme et les signes cliniques, la LLC est classée en stades. Ces stades informent sur le traitement à choisir et le pronostic de la maladie [14].

**- Les autres SLPC de type B :**

Ils sont nombreux, mais les plus fréquents sont : la leucémie prolymphocytaire B (LPL), la leucémie à tricholeucocytes (HCL), le lymphome splénique à lymphocytes Villeux (SLVL), le lymphome des cellules du manteau (LCM) (Figure 6). Ces SLPC sont classés selon leurs caractéristiques cytologiques et phénotypiques (Tableau II, et III) [15,16].



**Figure 6 : (A) Leucémie prolymphocytaire, (B) Leucémie à tricholeucocytes, (C) Lymphome splénique à lymphocytes villeux, (D) Lymphome du manteau (16).**



**Tableau II : Les caractéristiques cytologiques des syndromes lymphoprolifératifs chroniques de type B autres que la leucémie lymphoïde chronique [16].**

	Taille de la cellule	Noyau	Cytoplasme
<b>LPL</b>	Grande taille	Noyau à chromatine condensée contenant un nucléole volumineux et unique.	Cytoplasme abondant.
<b>HCL</b>	Grande taille	Noyau souvent excentré, ovale ou arrondi, parfois réniforme, la chromatine nucléaire a un aspect finement dispersé, le nucléole peu ou pas visible de petite taille.	Cytoplasme chevelu étendu, faiblement et irrégulièrement basophile.
<b>SLVL</b>	Petite taille ou moyenne	Noyau arrondi avec chromatine dense.	Le cytoplasme est de basophilie modéré avec présence de villosités polaires caractéristiques.
<b>LCM</b>	Petite taille ou moyenne	Noyau clivé plus ou moins irrégulier avec chromatine dispersé et un nucléole de petite taille bien visible.	Cytoplasme faiblement basophile et peu étendu.

(**LPL**) : Leucémie polymphocytaire, (**HCL**) : Leucémie à tricholeucocytes (**SLVL**) : Lymphome splénique à lymphocytes villeux, (**LCM**) : Lymphome du manteau.

**Tableau III : Les caractéristiques phénotypiques des principaux syndromes lymphoprolifératifs chroniques de type B autres que la leucémie lymphoïde chronique [16].**

AC	Intensité des IgG de surface	CD19	CD22	CD23	FMC7	CD5	CD10	CD25	CD11c	CD103	CD79b
<b>SLP</b>											
LPL	forte	+	+	-	+	+/-	+/-	-	-	-	+
HCL	forte	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+
SLVL	moyenne	+	+	+/-	+	+/-	-	-	+	-	+
LCM	forte	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+

+ : positive dans la majorité des cas.

+ / - : positive dans la minorité des cas.

- : négative dans la majorité des cas.

(**LPL**) : Leucémie polymphocytaire, (**HCL**) : Leucémie à tricholeucocytes (**SLVL**) : Lymphome splénique à lymphocytes villeux, (**LCM**) : Lymphome du manteau

### Conclusion

Les hyperlymphocytoses constituent une entité très hétérogène. Elles peuvent être soit bénignes traduisant dans ce cas une simple manifestation réactionnelle, soit maligne traduisant le développement d'un syndrome lymphoprolifératif. La distinction entre ces formes nécessite la mise en œuvre d'une démarche diagnostique bien stratifiée afin de permettre une meilleure prise en charge des patients.

### Bibliographie

- 1- Van Den Neste E, Scheiff JM, Michaux L. Approche diagnostique des hyperlymphocytoses. *Louvain Med* 2002 ; 121 : 66-72.
- 2- Lainey E, Boirie M, Fenneteau O. Hémogramme en pédiatrie : variations physiologiques. *Hématologie* 2009 ; 416 : 49-59.
- 3- Carole E. Rôle du biologiste devant une hyperlymphocytose. *Hématologie* 2009 ; 412 : 14-15.
- 4- Imbert M, Jouault H. Les difficultés de validation d'un hémogramme sur automate : indication du recours à des techniques manuelles. *Rev Fran Lab* 2005 ; 371 : 25-32.
- 5- Imbert M. Difficultés de détection et d'interprétation de cellules anormales circulantes. *Rev Fran Lab* 2008 ; 406 : 73-78.
- 6- Dréou B, Fardel O, Fauchet R. La cytométrie en flux : Intérêt dans le diagnostic phénotypique et le suivi des hémopathies malignes. *Ann biol clin* 2002 ; 60 : 663-672.
- 7- Philippe M, Philippe V. Cytométrie et oncologie : approche technique, intérêt, limites et perspectives. *Bull cancer* 2001 ; 8 : 15-22.
- 8- Badoual C, Vingert B, Agueznay N, Adotevi O, Haicheur N, Molina T, Bruneval P, Fridman W, Tartour E. Phénotypes et fonctions des lymphocytes T. *Ann Pathol* 2005 ; 25 : 211-219.
- 9- Horschowski N. Organes lymphoïdes. In Sébahoun G. *Hématologie clinique et biologique*. Paris, Arnette, 2000 : 249-263.
- 10- Choquet S. *Hématologie*. Paris : Ellipses, 2002 : 327.
- 11- [http:// www. Leucémie-espoire.org/Syndrome mononucléosique](http://www.Leucémie-espoire.org/Syndrome_mononucléosique).
- 12- Salaum V, Troussard X. La cytométrie en flux (CMF) dans les syndromes lymphoprolifératifs Chroniques de l'adulte. *Ann Biol Clin* 2001 ; 20 : 30-39.
- 13- Hoffbrand V, Mehta B. *Hématologie*. Paris : Boeck, 2003 : 208.
- 14- Merle-Béral H. Leucémie Lymphoïde Chronique : Biologie et Pronostic. *Rev Franc Lab* 2006 ; 379 : 37-43.
- 15- Troussard X, Cornet E. Leucémie à tricholeucocytes. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2009 ; 24 : 254-260.
- 16- Troussard X. Hémopathies Lymphoïdes d'origine B. *Rev Franc Lab* 2006 ; 379 : 14-22.

## Ostéoporose : Aspects clinique, biologique et thérapeutique

H. CHAHED,  
S. FERCHICHI,  
N. SAAD,  
A. MILED

**Résumé :** L'ostéoporose est une affection généralisée du squelette, caractérisée par une baisse de la masse osseuse et une altération de la microarchitecture du tissu osseux responsable d'une augmentation de la fragilité de l'os, et par conséquent du risque de la fracture. C'est un problème de santé publique en constante augmentation et qui est en relation avec le vieillissement de la population.

Le diagnostic est basé sur la mesure de la densité osseuse (DMO), cette technique est fondée sur l'atténuation d'un faisceau de photon par du tissu osseux. Selon l'OMS, l'ostéoporose est définie par une  $DMO \leq -2,25$  T score.

Malheureusement, la biologie ne participe pas au diagnostic de l'ostéoporose, en revanche, elle peut aider le clinicien à chercher ou éliminer une cause d'ostéoporose secondaire, aider dans sa décision thérapeutique et évaluer l'efficacité d'un traitement grâce aux marqueurs biologiques du remodelage osseux. En effet, il ya des marqueurs de l'ostéof ormation, représentés par l'ostéocalcine, les peptides d'extension du procollagène et la phosphatase alcaline osseuse, et les marqueurs de la résorption osseuse représentés par la calciurie, l'hydroxyprolinurie, la pyridinoline, la désoxypyridinoline et les télopeptides.

L'ostéoporose reste une pathologie sous-diagnostiquée mais gérable par des mesures préventives (exercice physique, prévention des chutes, apport nutritionnel vitamino-calcique, lutte contre le tabagisme et l'alcoolisme) et curatives (traitement hormonal substitutif, bisphosphonates, ranélate de strontium, tériparatide et raloxifène).

**Mots clés :** ostéoporose, fragilité osseuse, DMO, ostéof ormation, résorption osseuse, traitement

## Osteoporosis : clinical, biological and therapeutic aspects

**Summary :** Osteoporosis is a systemic disease characterized by low bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue, resulting in an increased risk of fracture.

It is a current worldwide socioeconomic problem with an increasing severity and frequency, due to the progressive aging of the world's population.

Diagnosis is based on measurement of bone mineral density (BMD) and The World Health Organization (WHO) has defined osteoporosis as a bone density 2.5 SD below the mean for young adult women.

Unfortunately, biology does not contribute to the diagnosis of osteoporosis; because blood tests are only useful to establish or to rule out secondary causes of osteoporosis.

Current biological markers of bone turnover have proven useful in improving fracture risk assessment and monitoring treatment efficacy in osteoporosis. The most sensitive markers include serum osteocalcin, bone specific alkaline

Laboratoire de Biochimie, CHU  
Farhat Hached-Sousse, Tunisie

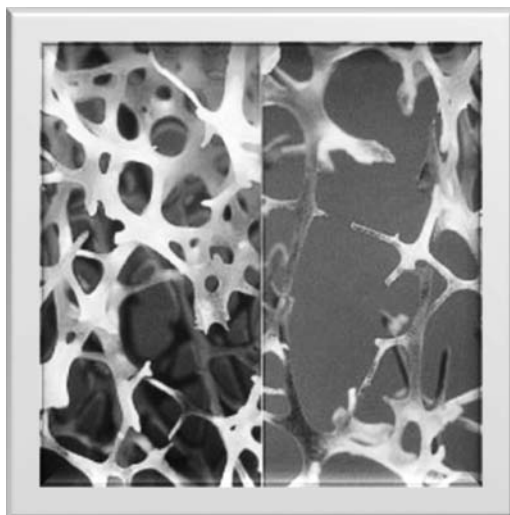
phosphatase, the N-terminal propeptide of type I collagen for bone formation, and the crosslinked C- (CTX) and N- (NTX) telopeptides of type I collagen for bone resorption.

Osteoporosis is under-diagnosed disease, but we can reduce the risk of fracture through preventative measures (exercise, fall prevention, nutritional intake of vitamin D and calcium, Smoking cessation and moderate alcohol intake) and curative measures (Hormone replacement therapie, bisphosphonates, strontium ranelate, raloxifene and teriparatide).

**Key words :** Osteoporosis, low bone mass, BMD, bone formation, bone resorption, therapy

## Introduction

L'ostéoporose est une maladie systémique du squelette caractérisée par une masse osseuse faible et une détérioration microarchitecturale, d'où résulte une augmentation de la fragilité osseuse et de la susceptibilité aux fractures (Figure 1) [1].



(a) Os normal (b) os poreux

**Figure 1 : Différence architecturale entre un os normal (a) et un os poreux (b)**  
([www.iofbonehealth.com](http://www.iofbonehealth.com))

En 1994, un groupe d'experts, a été réunis sous l'égide de l'organisation mondiale de la santé (OMS) et a définit l'ostéoporose en se basant sur la mesure de la densité minérale osseuse (DMO) par la technique de référence : la densitométrie par absorption biphotonique aux rayons-X [2]; ainsi, l'expression en T-score correspondant au

nombre d'écart-type par rapport à la DMO moyenne obtenue dans une population d'adultes de 20-25 ans du même sexe et de la même origine ethnique est utilisée. Par conséquent, l'ostéoporose est définie par une DMO  $\leq -2,5$  T-score c'est-à-dire 2,5 écart type au dessous de la moyenne des adultes jeunes (Tableau 1).

## Epidémiologie

L'épidémiologie de l'ostéoporose repose sur son expression clinique la plus évidente : La fracture.

Les fractures se repartissent essentiellement sur 3 sites osseux : l'extrémité supérieure du fémur : 19% ; les vertèbres (fracture ou tassement) :19% et le poignet : 14% [3]. C'est une maladie qui touche plus de 75 millions de personnes aux états unis, en Europe et au japon et qui provoque plus de 8,9 millions de fracture chaque année dans le monde [4].

En Tunisie, la prévalence de l'ostéoporose densitométrique post ménopausique est estimée à 23,4% et celle des fractures ostéoporotiques à 16,2% [5].

## Différentes classes d'ostéoporoses

On distingue les ostéoporoses primitives et les ostéoporoses secondaires qui répondent à des étiologies endocriniennes, métaboliques et toxiques [6].

- *Ostéoporoses primitives*

- 1 : Ostéoporose post-ménopausique ou type 1
- 2 : Ostéoporose sénile ou de type 2
- 3 : Ostéoporose juvénile



**Tableau 1 : Définition densitométrique de l'ostéoporose selon l'OMS [2]**

Normal	DMO > -1T-score
<b>Ostéopénie</b>	DMO entre -1 et -2,5 T-score
<b>Ostéoporose</b>	DMO ≤ -2,5 T-score
<b>Ostéoporose sévère ou compliquée</b>	Ostéoporose avec une ou plusieurs fractures ostéoporotiques

*- Ostéoporoses secondaires*

L'ostéoporose secondaire représente l'ensemble des patients qui ont une ostéoporose non liée à l'âge et/ou à la ménopause.

On distingue plusieurs groupes d'ostéoporoses secondaires, qui répondent à des étiologies iatrogènes, endocriniennes, métaboliques (Tableau 2) [7].

**Facteurs de risque**

L'ostéoporose répond à différents facteurs de risque qui peuvent être modifiés par certains aspects du mode de vie. D'autres, en revanche, sont non modifiables comme l'hérédité, les maladies ou la prise médicamenteuse. En dehors de l'âge et du sexe féminin ; les principaux

facteurs de risque de l'ostéoporose sont résumés dans le tableau 3 [8].

L'identification des sujets à risque de fracture repose sur une évaluation multifactorielle qui comprend la mesure de la DMO et l'évaluation de facteurs de risque cliniques associés au risque de fracture. Le rôle de ces différents facteurs de risque est différent suivant l'âge. L'outil FRAX® est proposé par l'OMS depuis février 2008 pour la quantification du risque de fracture (www.sheffield.ac.uk/FRAX). Le résultat est une probabilité à dix ans de fracture [9].

**Remodelage osseux**

Le remodelage osseux est un processus physiologique

**Tableau 2 : Causes des ostéoporoses secondaires [7]**

Maladies inflammatoires	Maladies endocriniennes	Maladies métaboliques	Maladies neuromusculaire	Autres pathologies Chroniques	Causes nutritionnelles	Causes Iatrogènes
Maladies inflammatoires du tube digestif	hypogonadisme	glycogénose	Maladie de Duchenne	mucoviscidose	Anorexie mentale	Glucocorticoïdes
Arthrites juvéniles Idiopathiques	Syndrome de Turner	galactosémie	IMC bas	Néphropathie Chronique	Maladie cœliaque Et autres syndromes de malabsorption	Anticonvulsivants
Connectivites	Hyperparathyroïdie Dysthroïdie Déficit en GH Syndrome de Cushing Hypopituitarisme Diabète de type I	Maladie de Gaucher homocystinurie		Asthme Transplantation D'organes		Radiothérapie Immobilisations prolongées

Tableau 3 : Facteurs de risque de l'ostéoporose [8]

Génétique	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Race (blanche et jaune &gt; noire)</li> <li>* Antécédent familial de fracture ostéoporotique</li> <li>* Petite taille et petit poids</li> <li>* Faible index de masse corporelle</li> </ul>
Gonadiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Puberté tardive (&gt; 15 ans)</li> <li>* Anorexie mentale</li> <li>* Ménopause précoce ou chirurgicales</li> <li>* Absence de contraception orale ; grossesses multiples ; allaitement</li> </ul>
Environnement	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Intoxication tabagique</li> <li>* Faible exposition solaire</li> </ul>
Nutritionnels	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Intoxication alcoolique</li> <li>* Apport calcique faible</li> <li>* Carence en vitamine D</li> <li>* Malnutrition</li> <li>* Nutrition parentérale</li> <li>* Apport protidiques, phosphatés ou sodés élevés (entraînant une hyper calciurie)</li> </ul>
Activité physique	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Vie sédentaire</li> <li>* Immobilisation prolongée</li> </ul>
Médicaments	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Corticoïdes (y compris les corticoïdes inhalés)</li> <li>* Hormones thyroïdiennes</li> <li>* Agonistes de la GNRH</li> <li>* Héparine</li> <li>* Chimiothérapie anticancéreuse</li> <li>* Lithium</li> </ul>

qui permet le renouvellement du tissu osseux grâce à la résorption de l'os ancien et à son remplacement par une quantité équivalente de matrice osseuse secondairement minéralisée (formation) [10]. Il accomplit trois principales fonctions ; Il permet tout d'abord à l'organisme de réguler l'équilibre minéral (homéostasie du calcium et du phosphore). Il constitue ensuite un mécanisme d'adaptation du squelette à son environnement mécanique, réduisant ainsi le risque de fracture. C'est enfin un cycle de renouvellement tissulaire et de réparation des dommages osseux (Figure 2).

#### - Cellules osseuses participant au remodelage osseux

Les cellules osseuses trouvent leur origine dans la moelle, qui produit deux grands groupes de cellules souches [11] :

- Les cellules souches de la lignée hématopoïétique, dont la lignée monocyte-macrophage à l'origine des ostéoclastes.
- Les cellules souches mésenchymateuses ou stromales qui sont à l'origine de la lignée ostéoformatrice (ostéoblastes et chondroblastes).

#### ► *Ostéoclaste*

C'est une cellule géante (100µm) multinuclée, d'origine hématopoïétique, responsable de la résorption osseuse. Certains récepteurs de surface sont caractéristiques de l'ostéoclaste, comme le récepteur de la calcitonine (CTR). Les Ostéoclastes expriment fortement deux intégrines,  $\alpha\nu\beta3$ , et  $\alpha2\beta1$ , qui interagissent avec les protéines matricielles exprimant le motif tripeptidique RGD

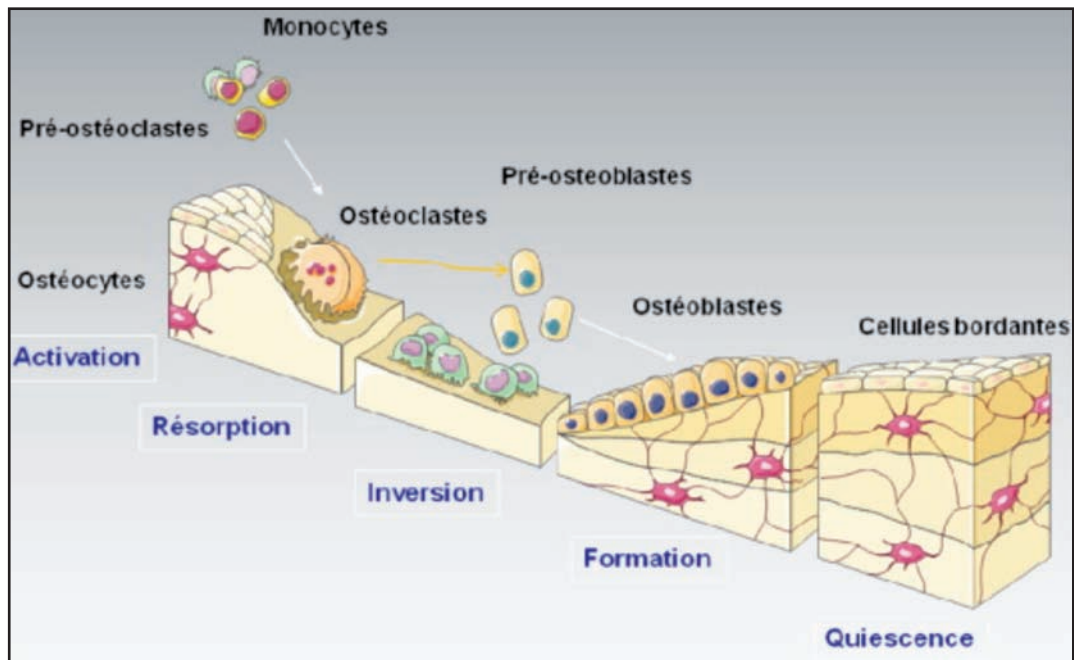


Figure 2 : Cycle du remodelage osseux [10]

(Arg-Gly-Asp). Le contenu enzymatique de l'ostéoclaste est constitué principalement d'hydrolases acides, comme la phosphatase acide tartrate résistante (TRAP), de cystine-protéinases dont la cathepsine K et de métalloprotéases, en particulier la MMP-9. L'anhydrase carbonique de type II est également caractéristique de l'ostéoclaste, permettant la production de protons  $H^+$  [10].

► **Ostéoblastes**

Les ostéoblastes matures sont des cellules cuboïdales, mononuclées, de 20  $\mu m$  de diamètre, alignées et attachées sur la matrice osseuse, et caractérisées par une activité phosphatase alcaline importante. Leur fonction principale est de synthétiser la matrice (ou tissu ostéoïde) et de participer à sa minéralisation.

Au fur et à mesure que la matrice est synthétisée et minéralisée, les ostéoblastes deviennent moins actifs et s'aplatissent. Certains ostéoblastes s'incorporent à l'ostéoïde et deviennent des ostéocytes (cellules étoilées possédant de très nombreux prolongements cytoplasmiques), d'autres deviennent des cellules bordantes (lining cells), alors que les autres meurent par apoptose [12].

► **Unité fonctionnelle du remodelage osseux**

Le remodelage osseux est le résultat de l'activité de multiples unités cellulaires qui constitue l'unité multicellulaire de base (BMU : basal multicellular unit), au sein desquelles agissent de manière séquentielle et couplée dans le temps et l'espace les ostéoclastes qui résorbent l'os ancien, puis les ostéoblastes qui apposent une nouvelle matrice ostéoïde qui se minéralisera.

► **Etapes du remodelage osseux**

La durée de cycle du remodelage est d'environ 3 à 6 mois et on distingue 5 phases [13-15] :

• **Phase d'activation**

Dans une unité BMU, le remodelage commence par une activation des cellules bordantes qui recouvrent une surface osseuse inactive. Ces cellules, tout en se rétractant, dégradent la couche collagénique sous-jacente et attirent par chimiotactisme les préostéoclastes sur la zone osseuse ainsi exposée ; au cours de cette phase d'activation, la différenciation et la prolifération se font par des contacts cellule à cellule et sous l'influence du macrophage colony stimulating factor (M-CSF) et de RANK-L (ligand du récepteur activateur de NF- $\kappa$ b).

Les facteurs ostéorésorbants sont la parathormone, la vitamine D, les prostaglandines, le tumor necrosis factor (TNF) alpha et l'interleukine 1 (IL-1).

• **Phase de résorption**

Les préostéoclastes attirés, fusionnent pour devenir des ostéoclastes actifs et adhérents à la surface osseuse ; ils seront responsables de résorption du minéral osseux et de la matrice organique.

• **Phase d'inversion**

Elle correspond au remplacement des ostéoclastes par des cellules mononuclées de type macrophagique, qui seraient responsables de la préparation au comblement de la lacune, avec notamment le dépôt de la ligne cémentante au fond de celle-ci ; en outre, les facteurs de croissance et les cytokines libérés favorisent la sécrétion de l'ostéoprotégerine (OPG) par les ostéoblastes ce qui empêche la liaison de RANK-L à son récepteur RANK. Le RANK-L exerce également un rétrocontrôle négatif sur son expression et stimule la synthèse d'OPG. Ainsi, la voie d'ostéoblastogenèse devient prépondérante : parallèlement à la mort par apoptose des ostéoclastes, les précurseurs ostéoblastiques sont activés et les ostéoblastes se différencient.

• **Phase de formation**

Elle correspond au recrutement des ostéoblastes dans

cette lacune qu'ils comblent en apposant une nouvelle matrice organique, le tissu ostéoïde, qui sera ensuite minéralisé. Au cours de cette phase, la vitamine D, les hormones sexuelles, les facteurs de croissance libérés dans la matrice extracellulaire (MEC) stimulent la synthèse de la matrice organique. L'IL-1 et le TNF sont des facteurs inhibant la production de MEC. La minéralisation se fait dans un second temps par les cristaux d'hydroxyapatite en régulant les concentrations locales en calcium et en phosphate par action de la phosphatase alcaline. L'ostéocalcine et la vitamine D favorisent également la minéralisation du tissu ostéoïde.

• **Phase de quiescence**

Cette étape correspond à une accumulation de minéral dans la matrice indépendamment des cellules osseuses, avec un rôle fondamental dans la résistance mécanique des os.

## Diagnostic

La recherche d'une ostéoporose est prioritaire dans les situations suivantes :

- \* chez la femme avant 50 ans, recevant une corticothérapie, souffrant d'une anorexie mentale, d'une intoxication, dans les suites d'une transplantation d'organe, et/ou dans le suivi d'une endocrinopathie.

**Tableau 4 : Marqueurs biochimiques du remodelage osseux [23]**

Formation	Résorption
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Plasma/Sérum :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>Ostéocalcine</b></li> <li>➤ <b>Phosphatase alcaline</b> totale et osseuse (PAO)</li> <li>➤ <b>Propeptide C et N-terminaux du collagène de type 1 (PICP et PINP)</b></li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Plasma/sérum</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>TélopeptideN(NTX) et C (CTX)-terminaux du collagène de type 1</b></li> </ul> </li> <li>• <b>Urine</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>Pyridinoline (PYD) et désoxypyridinoline (DPD) libres et totales</b></li> <li>➤ <b>Télopeptides N (NTX) et C-terminaux (CTX) du collagène de type 1</b></li> <li>➤ <b>Peptide Hélicoïdal de la chaîne alpha 1 du collagène de type 1 : ICTP</b></li> <li>➤ <b>Calciurie</b></li> <li>➤ <b>Hydroxyprolinurie</b></li> </ul> </li> </ul>

\* chez la femme entre 50 et 75 ans, en cas de polyarthrite rhumatoïde, de corticothérapie, et/ou d'intoxication alcoolique.

\* chez la femme après 75 ans, souvent carencée en calcium et en vitamine D, traitée par les glucocorticoïdes (maladie de Horton, pseudopolyarthrite rhumatoïde) et/ou atteinte d'une maladie générale grave (insuffisance rénale chronique, insuffisance respiratoire chronique, maladie neurologique).

\* chez l'homme avant 75 ans recevant une corticothérapie prolongée, souffrant d'une intoxication alcoolique et tabagique, d'un hypogonadisme, et/ou d'une maladie digestive chronique.

\* chez l'homme après 75 ans quand une corticothérapie est instituée, en cas de maladie générale grave d'hypogonadisme, de carence en calcium et en vitamine D, et/ou de troubles neurologiques [16].

### ► *Examen clinique*

L'interrogatoire précise les antécédents personnels et familiaux, recherche l'existence de facteurs de risque pour une ostéoporose primitive ou secondaire, et analyse les conditions de survenue de la fracture, les caractéristiques des douleurs et l'existence de signes généraux ou viscéraux.

L'examen clinique, toujours complet, vérifie l'absence de pathologies tumorales, recherche l'existence de signes en faveur d'une ostéoporose secondaire (endocrinopathie, éthyliste chronique, maladie génétique,...), et précise le retentissement fonctionnel de la fracture.

Il précisera également l'âge de la ménopause, la consommation d'alcool ou de tabac, la prise de corticoïdes ou de traitements à base d'hormones thyroïdiennes. L'interrogatoire évaluera aussi la ration calcique alimentaire ainsi qu'une perte de la taille, et/ou la présence des déformations du rachis [17].

### ► *Bilan radiologique*

Les radiographies standard n'ont pas d'indication pour le diagnostic positif de l'ostéoporose non fracturaire. Ces radiographies doivent être réalisées en cas de suspicion de fracture vertébrale récente ou ancienne et en particulier dans les circonstances suivantes : douleur vertébrale aiguë, et/ou diminution inexplicée de la taille ou modification

de la courbure rachidienne d'apparition récente. Les radiographies les plus utiles sont celles du bassin de face et de la colonne vertébrale lombaire, dorsale et de la charnière dorsolombaire (siège fréquent des tassements), de face et de profil, et en position couchée [18].

### ► *Examen densitométrique*

La mesure de la densité minérale osseuse par l'ostéodensitométrie constitue actuellement l'approche la plus précise pour le diagnostic de l'ostéoporose «Gold standard». L'absorptiométrie biphotonique à rayons-X : DXA est la plus utilisée. Peu irradiante, reproductible, rapide, elle permet de mesurer la densité osseuse sur les sites habituels des fractures ; rachis, extrémité supérieure du fémur surtout et éventuellement l'avant-bras [19-20].

### ► *Diagnostic biologique*

Si la biologie ne participe pas au diagnostic d'ostéoporose, elle peut en revanche aider le clinicien à :

- \* Rechercher / éliminer une cause d'ostéoporose secondaire,
- \* Prendre une décision thérapeutique dans certaines situations,
- \* Suivre l'efficacité (mais aussi évaluer l'observance) d'un traitement.

### • **Bilan systématique à faire devant toute ostéoporose**

Ce bilan aura pour but :

- \* D'éliminer un processus tumoral ou infiltratif et en particulier un myélome en réalisant un hémogramme complet, une vitesse de sédimentation (VS), l'électrophorèse des protéines et la protéinurie de 24 heures.
- \* D'éliminer une anomalie du métabolisme phosphocalcique en déterminant la calcémie, la phosphorémie et la calciurie de 24 heures). En outre, afin d'éviter les fausses hyper-ou hypocalcémies, il est fortement conseillé d'effectuer une correction de la calcémie par la protidémie ou mieux par l'albuminémie. Il est également conseillé d'ajouter la mesure de la créatinine urinaire (pour documenter la validité du recueil des urines de 24 heures) et du sodium urinaire (une hypernatrurie peut expliquer une hypercalciurie).
- \* De documenter les fonctions rénale et hépatique en mesurant respectivement la créatinine et les phosphatases alcalines. Une élévation de l'activité des phosphatases alcalines.

tases alcalines permettra également de suspecter une ostéomalacie [21].

• **Bilan à effectuer qu'en présence de symptômes ou de signes évocateurs**

\* Recherche d'une hyperthyroïdie en dosant la TSH chez les patientes ayant des signes cliniques évocateurs, mais aussi chez celles recevant une thérapie substitutive par les hormones thyroïdiennes et chez les femmes âgées (>70 ans) même asymptomatiques.

\* Recherche d'un hypercorticisme (cortisolurie de 24 heures)

\* Recherche de la maladie cœliaque (Ac-anti-endomysium)

\* Recherche d'un hypogonadisme (testostérone, LH, FSH) et d'une hémochromatose (ferritine) dans les ostéoporoses masculines.

• **Marqueurs biologiques actuels du remodelage osseux**

Plusieurs études suggèrent que la fragilité osseuse peut en partie être reflétée de manière indépendante de la DMO, en mesurant l'activité de remodelage osseux par l'intermédiaire de marqueurs biologiques sériques ou urinaires [22-24].

Ces marqueurs osseux sont traditionnellement classés en marqueurs de la formation ou en marqueurs de la résorption (Tableau 4) car ils représentent plus spécifiquement l'une ou l'autre des deux activités cellulaires osseuses; et constituent un composant de la matrice osseuse ou une activité spécifiques des ostéoblastes ou ostéoclastes [23].

En outre, ces marqueurs osseux ont aussi montré leur intérêt dans le suivi thérapeutique notamment pour prédire l'efficacité clinique des traitements antirésorptifs (estrogènes, SERM (modulateurs spécifiques des récepteurs œstrogéniques) et bisphosphonates), et des traitements ostéoformateurs et notamment la parathormone (PTH).

Dans l'ostéoporose, les marqueurs biologiques de l'ostéof ormation actuellement les plus sensibles sont : l'ostéocalcine, la phosphatase alcaline osseuse (PAO) et le propeptide N-terminal du procollagène de type I (PINP).

Pour la résorption osseuse, les produits de dégradation du collagène de type I comme la désoxypyridinoline (DPD) et les télopeptides associés (Télopeptides N du collagène de type I (CTX), Télopeptides C du collagène de type I (NTX), et peptide hélicoïdal de la chaîne alpha 1 du colla-

gène de type I (ICTP)). En effet, CTX et NTX sont libérées directement par la cathepsine K, l'enzyme essentielle de dégradation ostéoclastique de la matrice osseuse alors que l'ICTP résulte de l'activité d'une autre classe d'enzymes, les métalloprotéases matricielles (MMP).

Le CTX et le NTX urinaires sont des marqueurs sensibles dans l'ostéoporose post ménopausique et pour le suivi des traitements par bisphosphonates. Une diminution de l'ordre de 30 à 50% du remodelage osseux biologique traduit une bonne compliance et une absorption satisfaisante du traitement [25].

• **Nouveaux marqueurs biologiques du métabolisme osseux**

D'autres marqueurs biologiques plus récemment développés pourraient aussi être utiles à l'évaluation du métabolisme osseux, bien que les données cliniques restent aujourd'hui encore limitées (tableau 5) [24].

## Traitement

Les traitements anti-ostéoporotiques freinent la résorption osseuse, stimulent la formation osseuse ou peuvent avoir une action mixte. Surtout, ils diminuent le risque de fracture vertébrale d'environ 40% à 70% (en fonction des médicaments et de la gravité de l'ostéoporose) et le risque de fracture périphérique de 30% à 40% [26-30].

• **Inhibition de la résorption** : Le traitement hormonal de la ménopause (THM) est indiqué s'il existe des troubles invalidantes chez les femmes entre 50 et 60 ans. En l'absence de ces troubles, le THM peut être prescrit en cas d'intolérance ou inefficacité des autres traitements [26]. Les bisphosphonates, alendronate et risédronate, freinent le remodelage osseux, augmentent la densité osseuse et diminuent l'incidence des fractures vertébrales, non vertébrales et les fractures de l'extrémité supérieure du fémur [27]. Le raloxifène appartenant à la classe des SERM est le composé le plus commercialisé et qui est le plus spécifiquement réservé à la prévention de l'ostéoporose chez les femmes ménopausées et il est efficace pour réduire le risque de fracture vertébrale chez les patientes ostéopéniques et ostéoporotiques avec ou sans fracture vertébrale [28].



**Tableau 5 : les nouveaux marqueurs biologiques du métabolisme osseux [24]**

protéines non collagéniques de la matrice osseuse	Enzymes ostéoclastiques	Régulateurs de la différenciation/activité Ostéoclastique/ostéoblastique	Modifications post - traductionnelles du collagène osseux
Fragments urinaires de l'ostéocalcine	Isoenzyme 5b de la phosphatase acide résistante à l'acide tartrique (TRAP 5b)	OPG/RANK-L (ostéoblastes)	Formes isomères des C-télopeptides du collagènes de type 1 ( $\alpha/\beta$ CTX)
Sialoprotéine osseuse	Cathepsine K	Molécules de la voie de signalisation Wnt (DKK-1, FRPs)	Produits glyqués de Maillard (pentosidine, Vesperlysine....)

- Stimulation de l'ostéoformation en reconstituant un os de qualité. C'est dans cette voie que s'orientent de nouveaux composés comme le tériparatide, fragment recombinant 1-34 de la PTH. Il augmente le remodelage osseux au bénéfice de la formation osseuse et induit une augmentation de DMO et une diminution de l'indice des fractures vertébrales, non vertébrales. Il est réservé aux formes sévères [26,29].

- Action mixte : Le ranélate de strontium, à visée également ostéoformatrice, a cependant un effet dissocié, il inhibe certes la résorption osseuse, mais de plus il stimule la formation osseuse correspondant à un concept dit «contournement» du cycle du remodelage osseux [30].

Par ailleurs, compte tenu du développement des connaissances dans la physiologie osseuse, de nouvelles perspectives ont émergé dans le traitement de l'ostéoporose (anticorps antiscélératine, anti Dkk1, les calcilytiques) [10].

En cas de risque fracturaire, une stratégie préventive est appliquée chez une femme à risque et sans contre indication particulière, sous la forme de plusieurs séquences thérapeutiques hiérarchisées dans le temps. Le choix du traitement serait alors chaque fois que possible le plus adapté à l'âge, à la situation clinique et à la nature et l'importance du risque osseux. Dans l'idéal cette stratégie serait fondée en première intention et en début de ménopause sur le THM, puis ultérieurement, autour de

la soixantaine, sur le raloxifène, de manière à réserver les bisphosphonates ou le ranélate de strontium à un âge où la prévention de la fracture du col du fémur devient plus importante, c'est à dire globalement au-delà de l'âge de 70 [26,31].

En outre, la décision thérapeutique nécessite une évaluation strictement individuelle du risque fracturaire à partir de la densité osseuse et des facteurs de risque de fracture.

## Prévention

La prévention de l'ostéoporose comprend essentiellement des mesures hygiéno-diététiques visant, dans les deux premières décennies de la vie, à obtenir la constitution d'une masse osseuse aussi importante que possible, puis, à lutter contre les facteurs de risque de pertes osseuses modifiables. Lorsqu'il existe une pathologie causale, le traitement de celle-ci viendra compléter les mesures hygiéno-diététiques.

S'il est impossible de modifier certains facteurs de risque d'ostéoporose : l'âge, le sexe féminin et la génétique (antécédents familiaux d'ostéoporose), il est possible d'agir sur beaucoup d'autres ; ainsi, il est recommandé de pratiquer une activité physique (sports non portés comme la course à pied et la marche rapide qui permettent d'augmenter la densité osseuse) ; d'assurer un apport vitamino-calcique suffisant, de lutter contre

l'alcoolisme et le tabagisme et enfin de maintenir un poids et un indice de masse corporelle normaux [32].

## Conclusion

L'ostéoporose est une affection ayant des conséquences sociales et économiques lourdes, elle constitue un problème de santé publique vu le nombre de fractures handicapantes qu'elle entraîne. L'ostéoporose peut et doit être diagnostiquée précocement avant la survenue des fractures vertébrales ou non vertébrales par l'utilisation optimale de facteurs pronostiques indépendants.

Sa prévention primaire et son dépistage doivent être une préoccupation quotidienne du médecin généraliste, en première ligne dans l'information et la prise en charge des patients, notamment âgés, en participant à la prévention des facteurs de risque majeurs comme la carence vitamino-calcique, la prévention des chutes ou la sensibilisation au traitement hormonal substitutif, en l'absence de contre-indication.

## Bibliographie

1. NIH consensus development panel on osteoporosis Prevention, diagnosis, and therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy JAMA, 285 (2001), pp. 785-95.
2. World Health Organization (WHO). Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis : report of a WHO study group. WHO Technical Report Series no 843. WHO, Genève, Suisse, 1994; 1-29.
3. CURRAN D, MARAVIC M, KIEFER PH, TOCHERON V, FARDELLONE P. Epidémiologie des fractures liées à l'ostéoporose en France. Rev Rhum 2010 ; 6 : 579-85.
4. FARDELLONE P. Comment évaluer le risque fracturaire en 2008. Rev Rhum 2008;75;931-4.
5. ZROUR H S, JGUIRIM M, GUEZGUEZ M, MNIF H, YOUNES M, BEJIA I, TOUZI M, ABID A, ESSABEH H, BERGUAOUI N. Le score FRAX, ou en est - il en Tunisie ? Tun Med 2011 ; 89(02) : 136-41.
6. LAFAGE PROUST MH, BOUDIGNON B, THIERY T. Ostéoporose cortico-induite ; données physiopathologiques et thérapeutiques récentes. Rev Rhum 2003 ; 70 : 217-27.
7. ORCEL PH. Prise en charge de l'ostéoporose cortisonique. Press Med 2006 ; 35 : 1571-7.
8. AUDRAN M, INSALACOP, LEGRAND E. ostéoporoses secondaires ; définition et conduite diagnostique. Rev Rhum 2001; 68 : 669-77.
9. KANIS J.A, JOHNNELL O., ODEN A. et al. FRAX® and the assessment of fracture probability in men and women from the UK Osteoporosis. Osteoporosis Int 2008 ; 19 : 385-397
10. ROUX S. Nouvelles cibles thérapeutiques. Rev Rhum 2010 ; 77 : 257-63.
11. MATSUO K, IRIE N. Osteoblast - osteoclast communication. Arch Biochem biophys 2008 ; 473 : 201-09.
12. THOMAS T, MARTIN A, LAFAGE - PROUST MH. Physiologie du tissu osseux. EMC (Elsevier masson SAS, paris), appareil locomoteur 2008 ; 14-002-B10.
13. PARFITT AM. Targeted and non targeted bone remodeling : relationship to basic multicellular unit origination and progression. Bone 2002; 30: 5-7.
14. DELALANDE D, JUNG C, LABEDAN I et al. les ostéoporoses juvéniles. Arch Ped 2008 ; 15 : 420-30.
15. BOIVIN GY, CHAVASSIEUX PM, SANTORA AC, YATES J, MEUNIER PJ. Alendronate increases bone strength by increasing the mean degree of mineralization of bone tissue in osteoporotic women. Bone 2000; 27: 684-94.
16. SOUBERBIELLE JC. Exploration biologique des pathologies osseuses et en particulier des ostéoporoses osseuses. IBS 2003 ; 18 : 92-7.
17. ROUX C, FARDELLONE P, LESPESSAILLES E, COTTE FE, MERCIER F, GOUDIN AF. Prévalence des facteurs de risque référant pour l'indication d'une densitométrie osseuse chez les femmes ménopausées : L'étude INSTANT. Rev Rhum 2008 ; 75 : 1243-48.
18. BOUSSON V, ROUX C. l'ostéoporose et le radiologue. Jour Radio 2008 : 89(1)1256-57.
19. DREUX C, DELMAS PD. Les méthodes de mesure de la densité minérale osseuse (DMO) et des marqueurs du remodelage osseux dans le dépistage de l'ostéoporose. Bull Acad Nat Med 2001 ; 185(8) : 1561-80.



20. AMAMRA N, BERR C, CLAVEL-CHAPELON F, et al. Estimation du nombre de femme française à risque d'ostéoporose susceptible de bénéficier d'une ostéodensitométrie. *Rev Rhum* 2004 ; 71(9) : 790-800
21. VAN DE BERG B, LECOUVET F, SIMONI P, OMOUMI P, MALGHEM J. Ostéomalacie en 2009. *Jour Radio* 2009 ; 90, (10) : 1188
22. DELMAS PD, EASTELL R, GARNERO P, SEIBEL MJ et al. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporosis Int* 2000 ; 11(S6) : 2-17.
23. GARNERO P, BIANCHI F, CARLIER ME et al. Les marqueurs biologiques du remodelage osseux : variations pré-analytiques et recommandations pour leur utilisation. *Ana Bio Clin* 2000 ; 58 : 683-704.
24. GARNERO P. Nouveaux marqueurs biologiques du remodelage osseux dans l'ostéoporose. *Med nucl* 2009 ; 33 : 17-27.
25. RAVN P, THOMPSON DE, ROSS PD, CHRISTIANSEN C. Biochemical markers for prediction of 4-year response in bone mass during bisphosphonate treatment for prevention of postmenopausal osteoporosis. *Bone* 2003; 33 (1): 150-8.
26. BRIOTA K, CORTET B, THOMAS T, et al. Actualisation 2012 des recommandations françaises du traitement médicamenteux de l'ostéoporose post-ménopausique. *Rev Rhum* 2012 ; 79 : 257-63
27. COORADO A, SANTORO N, CANTATORE FP. Effets extra-osseux des bisphosphonates. *Rev Rhum* 2007 ; 74 : 35-42.
28. LEGRAND E, HOPPE E, CHAPPARD D, AUDRAN M. Les SERMs dans le traitement de l'ostéoporose : état des lieux et perspectives. *Gyn obst Fer* 2006 ; 34 : 423-28.
29. DEBIAIS F, DURAND G. Le téraparatide. *Rev Rhum* 2006 ; 73 (8) : 838-45.
30. MEUNIER JP. Le ranélate de stontium. *Rev Rhum* 2006 ; 73 : 834-37.
31. TRIMOLLIERS F, POUILLES JM, RIBOT C. proposition d'une stratégie de prévention du risque fracturaire en début de ménopause. *Gyn obst Fer* 2009 ; 37 : 50-56.
32. BERDAH J. intérêt d'une bonne hygiène dans la prévention de l'ostéoporose : rôle du gynécologue. *Gyn obst Fer* 2007 ; 35 : 785-90.

## Etude de cinq microsatellites dans une population porteuse de l'allèle $\beta^s$

A. MEJRI,  
H. SIALA,  
F. OUALI,  
R. BELHADJ,  
A. BIBI,  
T. MESSAOUD

**Résumé :** Les microsatellites sont les marqueurs moléculaires les plus employés dans les études de la diversité génétique grâce à leur grand leur polymorphisme. Par ailleurs, la drépanocytose, constitue, de par sa fréquence et sa sévérité clinique un problème de santé publique en Tunisie. Au cours de ce travail, nous nous sommes proposés d'étudier, par la technique d'électrophorèse capillaire sur analyseur automatique (ABI Prism310), 5 marqueurs microsatellites : D14S261, D14S72, D14S990, D14S68, D18S1147 chez des porteurs homozygotes et hétérozygotes de l'allèle  $\beta^s$  (prélèvements collectés à l'occasion d'un diagnostic prénatal).

La comparaison des fréquences alléliques de ces 5 marqueurs, entre 18 porteurs de l'allèle  $\beta^s$  et 19 sujets témoins a révélé d'une part l'absence de l'allèle (113pb) du marqueur D14S68 chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ . Deux hypothèses sont à même d'expliquer cette absence : la première est que cet allèle est associé à une forme létale quand il est concomitant à l'allèle  $\beta^s$  et la seconde est que l'origine des drépanocytaires tunisiens est différente de celle de la population témoin. La comparaison a aussi révélé l'association de l'allèle  $\beta^s$  à un allèle du marqueur D14S261 (192pb) ce qui a permis d'évoquer deux éventualités : soit qu'il existe une association ancestrale entre cet allèle et l'allèle  $\beta^s$  et/ou qu'il est associé à un caractère qui avantagerait les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ . Ce travail devra être complété par l'étude des gènes entourant les marqueurs identifiés.

**Mots-clés :** Microsatellites - drépanocytose - Fréquence allélique -  $\beta^s$

## Study of five microsatellites in $B^s$ carriers

**Abstract :** Microsatellites are the most used molecular markers in genetic diversity studies because of their high polymorphism. Furthermore, Sickle cell anemia, constitutes by their frequency and clinical severity, a public health problem in large parts of the world and particularly in Tunisia. In this work, we have implemented the study, by ABI Prism 310 genetic analyser, of five STRs : D14S261, D14S72, D14S990, D14S68 and D18S1147. STR analysis has been used to compare allele frequencies of the five's STR between the 18  $\beta^s$  carriers and 19 control subjects. The comparison showed, firstly, the lack of an allele of the marker D14S68 in the  $\beta^s$  trait carriers, which could be explained by the association of this allele with a lethal form or by a different origin of Tunisian sickle cell carriers. Secondly it has been revealed the association between the  $\beta^s$  allele and an allele of marker D14S261. This suggests two possibilities : an association between this allele and ancestral allele  $\beta^s$  and/ or an association of this allele with a character that would benefit  $\beta^s$  allele carriers. This work has to be completed by the study of the genes surrounding the identified markers.

**Keywords :** Microsatellites - Sickle cell anemia - allele frequency -  $\beta^s$

Laboratoire de biochimie Clinique  
Hôpital d'Enfants de Tunis

### Introduction

La drépanocytose ou anémie falciforme est une maladie monogénique du globule rouge due à une mutation ponctuelle (GAG → GTG) dont la conséquence est une substitution de l'Acide glutamique par la Valine en position 6 de la chaîne  $\beta$ -globine (1).

Cette anomalie qualitative est une des premières maladies monogéniques dont le mécanisme moléculaire a été caractérisé. Le globule rouge drépanocytaire, contient au lieu de l'hémoglobine A (HbA) normale, une hémoglobine anormale appelée HbS de structure différente, de mobilité électrophorétique plus lente que l'HbA et d'affinité à l'O<sub>2</sub> plus élevée. En cas d'hypoxie, les chaînes  $\beta^s$  polymérisent entre elles en formant une structure rigide donnant la forme en faucille au globule rouge (2).

Les syndromes drépanocytaires majeurs (SDM) constituent un groupe d'anémies hémolytiques chroniques congénitales dues à la présence de l'hémoglobine anormale (HbS) soit à l'état homozygote (SS) ou en association avec une autre hémoglobinopathie (hémoglobinose C, ou une  $\beta$ -thalassémie).

La drépanocytose est une hémoglobinopathie fréquente dans les populations originaires d'Afrique tropicale (Afrique, Antilles, Amérique) et à un moindre degré dans celles du bassin méditerranéen, du Moyen-Orient et de l'Inde (3). Bien que la mutation soit identique chez les populations touchées, l'affection n'y présente pas la même gravité clinique. En fait, l'expression de l'anémie falciforme diffère sensiblement selon les ethnies (4).

En Tunisie, la répartition géographique de la drépanocytose n'est pas homogène à travers le pays. D'après des enquêtes systématiques réalisées, la fréquence de l'allèle  $\beta^s$  dans la population est de 1,89% (5), avec une large prévalence dans le Nord-Ouest du pays, elle atteint 16% des porteurs de drépanocytose, à Néfza (5).

Les microsatellites, répétitions courtes en tandem (Short Tandem Repeat : STR), sont de puissants marqueurs pour les études de la diversité humaine. On pense que leurs variations sont sélectivement neutres à l'exception de celles étroitement liées ou situées dans un locus soumis à la sélection (6).

La variation des allèles est dite adaptative à des environnements différents (7). Ainsi un allèle court peut être adapté à un environnement, alors que l'allèle long est adapté à un milieu différent. La variation de la population permettrait d'assurer la survie du groupe dans différentes situations.

Les STR ont été à la base des cartes génétiques les plus importantes de l'homme et sont couramment utilisés dans la cartographie des gènes responsable de maladies (8-11). Plus récemment, ils ont été utilisés dans la construction d'arbres évolutifs (12) et dans l'identification médico-légale (13,14). Le but de ce travail est de comparer la fréquence de la distribution allélique d'une population de porteur de l'allèle  $\beta^s$  à une population témoin à la recherche d'une association entre l'allèle  $\beta^s$  et l'allèle d'un des marqueurs microsatellites.

### Matériel et méthodes

#### Sujets étudiés

Le présent travail a été mené sur 37 sujets, repartis en deux groupes :

- dix-neuf sujets sains (non porteurs d'hémoglobinopathies) qui nous ont permis de mettre au point la technique d'étude et ont servi de groupe témoin
- dix-huit porteurs de l'allèle  $\beta^s$ , collectés dans une étude de la contamination par les cellules maternelle (CCM) lors de diagnostic prénatal (DPN), repartis en 3 sujets drépanocytaires homozygotes et 15 sujets drépanocytaires hétérozygotes.

Le consentement a été obtenu de la part des différents sujets adultes et de la part de leurs familles pour les enfants.

Cinq à 10 ml de sang périphérique total ont été prélevés sur anticoagulant pour le groupe témoin en vue d'une extraction d'ADN (EDTA\K3 0,11 M). Pour les DPN les liquides amniotiques ont été prélevés, dans les services de gynécologie, entre 14 et 16 semaines d'aménorrhée.

#### Méthodes

L'ADN des témoins a été extrait par la méthode standard au phénol chloroforme (15). Les liquides amniotiques ont subi au préalable une lyse cellulaire.

Les microsatellites sont utilisés dans notre laboratoire pour détecter la contamination par les cellules maternelle (CCM) lors de diagnostic prénatal (DPN) des hémoglobinopathies. Au cours des diagnostics prénataux, nous avons utilisé un grand nombre de microsatellites, et nous avons choisi pour ce travail les cinq les plus informatifs : (D14S261, D14S72, D14S990, D14S68, et D18S1147). Les STR ont été amplifiés par des amorces fluorescentes à l'aide d'un Master Mix® (Promega, Madison, WI) puis analysés par électrophorèse capillaire sur ABI prism 310 (Applied Biosystems, Warrington, Lancashire, UK). Les séquences des amorces utilisées pour l'amplification des STR sont :

**D14S261 :** Forward (hex) 5'-GGCAGTATGACCCAGTTACAGAT-3';  
Reverse 5'-ATTTTGAAGCCCCAGGAA-3'.

**D14S72 :** Forward (fam) 5'-CAGGAATAATGATCAAGCAGAAAAA-3';  
Reverse 5'-TTTGCAATCTATGAGTCTGCAATGA-3'.

**D14S990 :** Forward (fam) 5'-TCTGTCCCCAGGGTCTCTCCA-3';  
Reverse 5'-TGGGTGTTGGGACTGTTGGC-3'.

**D14S68 :** Forward (tet) 5'-TGCCTCAGCCCAACCTCAG-3';  
Reverse 5'-TGGTTCAGGGATAGTTGGTGGGT-3'.

**D18S1147 :** Forward (hex) 5'-GTTGGCCTTAGCACAATG-3';  
Reverse 5'-AGGACTGGGACATGGCTCT-3'.

Pour l'analyse statistique, chaque marqueur a été repris dans un tableau. Les colonnes correspondent aux différents allèles identifiés du marqueur (noté selon la taille de fragment amplifié) chez les sujets, et les lignes correspondent aux différents sujets. Les sujets ont été divisés en deux groupes témoins (noté 1) et porteurs de l'allèle  $\beta^s$  (noté 2). Le groupe des porteurs de l'allèle  $\beta^s$  est divisé en deux types : homozygotes (noté 1) et hétérozygotes (noté 2) ; Les sujets de chaque sous type sont numérotés de 1 à 19 pour les témoins, de 1 à 3 pour les drépanocytaires homozygotes et de 1 à 15 pour les

drépanocytaires hétérozygotes. Pour chaque allèle, la présence est notée 1 et l'absence est notée 2.

Le tableau 1 concernant le D14S261, est un exemple type de ces cinq tableaux élaborés pour chaque STR.

L'analyse par SPSS (version 11.5) a porté sur la comparaison de la distribution de chacun de ces allèles entre les témoins et les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ . Le seuil de significativité est 0,05.

## Résultats

Les allèles sont désignés par la taille du fragment amplifié

- Chez les témoins

Le marqueur **D14S261 (PV)** se présente sous 8 formes alléliques chez 19 témoins avec 7 homozygotes et 12 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 192pb, (Figure 1).

Le marqueur **D14S72 (PVI)** se présente sous 9 formes alléliques chez 19 témoins avec 8 homozygotes et 11 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 228pb, (Figure 2),

Le marqueur **D14S990 (PVII)** se présente sous 15 formes alléliques chez 19 témoins, avec 2 homozygotes et 17 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 80pb, (Figure 3).

Le marqueur **D14S68 (PVIII)** se présente sous 8 formes alléliques chez 19 témoins, avec 7 homozygotes et 12 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 113pb, (Figure 4).

Le marqueur **D18S1147 (PXIII)**, se présente sous 15 formes alléliques chez 19 témoins, avec 4 homozygotes et 15 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 112pb, suivi par celui de 102pb et 104pb, (Figure 5).

**Tableau 1a : Les données brutes analysées par SPSS. Répartition des groupes**

Groupes	Types	Sous types	allèles
Groupe 1 = Témoins	Normaux = 1	Numéros d'individu	Présence de l'allèle = 1
Groupe 2 = porteurs de l'allèle $\beta^s$	Homozygotes SS = 1 Hétérozyte AS = 2		Absence de l'allèle = 2

Tableau 1b : Les données brutes analysées par SPSS. Exemple du marqueur D14S261

Groupes	Types	Sous types	168	170	186	188	190	192	194	196	198
1	1	1	1	2	2	2	1	2	2	2	2
1	1	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2
1	1	3	2	2	2	2	2	1	2	2	1
1	1	4	2	2	2	2	2	2	1	1	2
1	1	5	2	2	2	2	2	1	2	2	1
1	1	6	2	2	2	2	2	1	1	2	2
1	1	7	2	2	2	2	1	1	2	2	2
1	1	8	2	2	2	2	2	1	2	2	2
1	1	9	2	2	2	2	2	1	2	2	2
1	1	10	2	1	2	2	2	2	2	2	1
1	1	11	2	2	2	1	2	2	1	2	2
1	1	12	2	2	2	2	2	2	1	2	2
1	1	13	2	2	2	2	2	2	1	2	2
1	1	14	2	2	2	2	2	1	2	2	2
1	1	15	2	2	2	2	2	2	1	2	2
1	1	16	2	2	2	2	2	1	2	2	1
1	1	17	2	2	2	2	2	1	1	2	2
1	1	18	2	2	2	2	2	1	2	2	1
1	1	19	2	2	2	2	2	1	2	2	2
2	1	1	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	1	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2
2	1	3	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2
2	2	3	1	2	2	2	2	2	1	2	2
2	2	4	2	2	2	2	2	1	2	2	1
2	2	5	2	2	2	2	1	2	2	2	1
2	2	6	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	7	1	2	2	2	2	2	1	2	2
2	2	8	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	9	2	2	2	1	2	1	2	2	2
2	2	10	2	2	2	2	2	1	2	1	2
2	2	11	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	12	1	2	2	2	2	2	1	2	2
2	2	13	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	14	2	2	2	2	2	2	2	2	2
2	2	15	2	2	2	2	1	2	2	1	2

**Tableau 2 : Allèles signalés par la taille de fragments amplifiés des 5 marqueurs microsatellites étudiés chez le groupe de témoins**

	Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S261 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S72 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S990 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S68 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D18S1147 en pb	
<b>Témoïn 1</b>	168	190	218	236	72	74	115	115	102	104
<b>Témoïn 2</b>	168	190	240	240	80	98	113	113	102	108
<b>Témoïn 3</b>	192	198	238	240	74	80	117	117	110	116
<b>Témoïn 4</b>	194	196	206	238	80	82	107	121	104	120
<b>Témoïn 5</b>	192	198	228	228	82	84	111	113	96	122
<b>Témoïn 6</b>	192	194	226	228	96	96	107	111	90	100
<b>Témoïn 7</b>	190	192	226	226	84	86	117	119	122	122
<b>Témoïn 8</b>	192	192	226	238	66	70	115	115	100	116
<b>Témoïn 9</b>	192	192	206	228	78	80	117	117	114	118
<b>Témoïn 10</b>	170	198	226	228	88	90	107	119	112	118
<b>Témoïn 11</b>	188	194	238	240	86	88	101	113	118	124
<b>Témoïn 12</b>	194	194	230	230	80	82	115	115	102	104
<b>Témoïn 13</b>	194	194	228	228	76	80	113	115	106	120
<b>Témoïn 14</b>	192	192	226	226	84	86	113	113	112	112
<b>Témoïn 15</b>	194	194	228	230	70	82	113	115	102	112
<b>Témoïn 16</b>	192	198	236	244	62	62	117	119	104	104
<b>Témoïn 17</b>	192	194	228	240	66	80	113	115	102	116
<b>Témoïn 18</b>	192	198	228	228	80	86	107	115	108	118
<b>Témoïn 19</b>	192	192	228	228	80	86	111	117	112	112

• Chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$

L'analyse du marqueur **D14S261 (PV)** chez 17 porteurs de l'allèle  $\beta^s$ , a mis en évidence 2 homozygotes et 15 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 7 formes alléliques dont l'allèle le plus fréquent est celui de 192pb suivi par celui de 168pb. (Figure 1).

L'analyse du marqueur **D14S72 (PVI)**, chez 17 porteurs de l'allèle  $\beta^s$ , a mis en évidence 3 homozygotes et 15 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 10 formes alléliques dont l'allèle le plus fréquent est celui de 228pb, (Figure 2).

L'analyse du marqueur **D14S990 (PVII)**, chez 13 porteurs

Tableau 3 : Allèles signalés par la taille de fragments amplifiés des 5 marqueurs microsatellites étudiés chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$

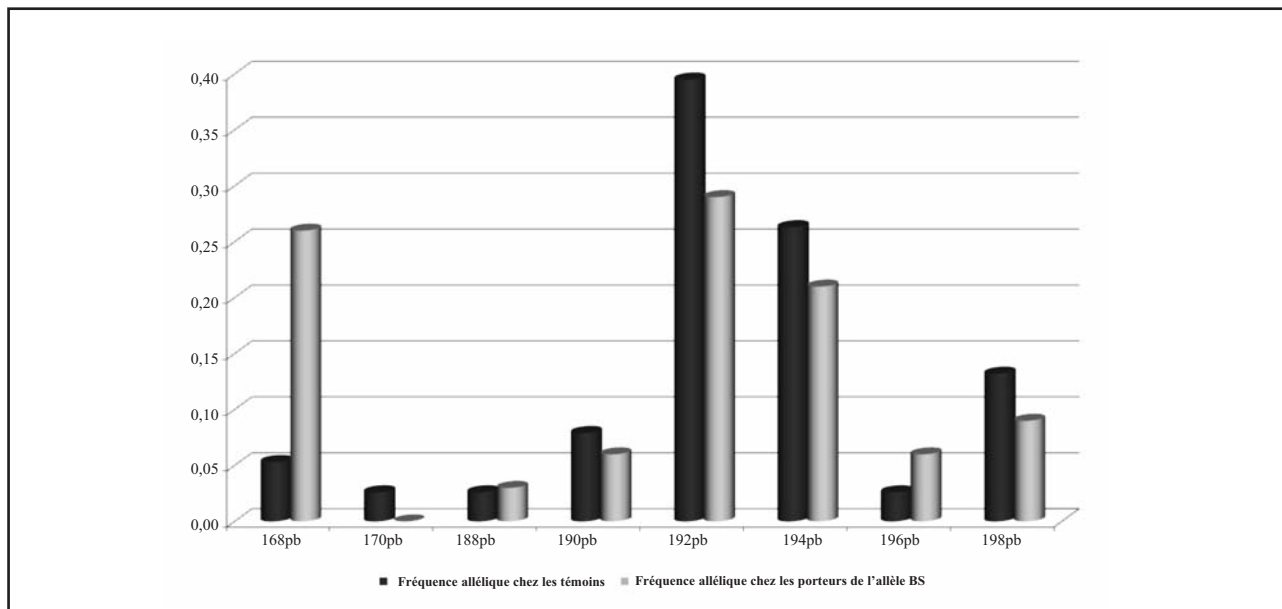
	Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S261 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S72 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S990 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S68 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D18S1147 en pb	
Sujet 1	192	192	218	226	80	80	119	121	98	106
Sujet 2	168	192	228	228	76	92	107	119	104	118
Sujet 3	168	192	218	228	–	–	107	119	106	118
Sujet 4	168	192	218	228	–	–	107	119	98	104
Sujet 5	194	194	238	238	80	86	111	115	108	110
Sujet 6	168	194	228	230	74	80	111	117	102	102
Sujet 7	168	194	230	238	74	80	111	117	102	108
Sujet 8	168	194	228	238	80	86	111	115	102	110
Sujet 9	168	194	232	238	58	60	105	117	102	118
Sujet 10	198	192	240	240	74	74	105	105	102	102
Sujet 11	168	194	–	–	74	58	–	–	102	102
Sujet 12	192	198	198	226	68	78	93	93	84	116
Sujet 13	188	192	224	236	84	88	115	119	116	116
Sujet 14	168	192	224	226	78	88	93	115	116	82
Sujet 15	–	–	226	236	68	84	93	119	82	116
Sujet 16	190	198	228	238	–	–	–	–	118	120
Sujet 17	192	196	226	228	–	–	–	–	104	108
Sujet 18	190	196	226	228	–	–	–	–	108	120

de l'allèle  $\beta^s$ , a mis en évidence 2 homozygotes et 11 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 13 formes alléliques dont les allèles les plus fréquents sont celui de 80pb et celui de 74pb, (Figure 3).

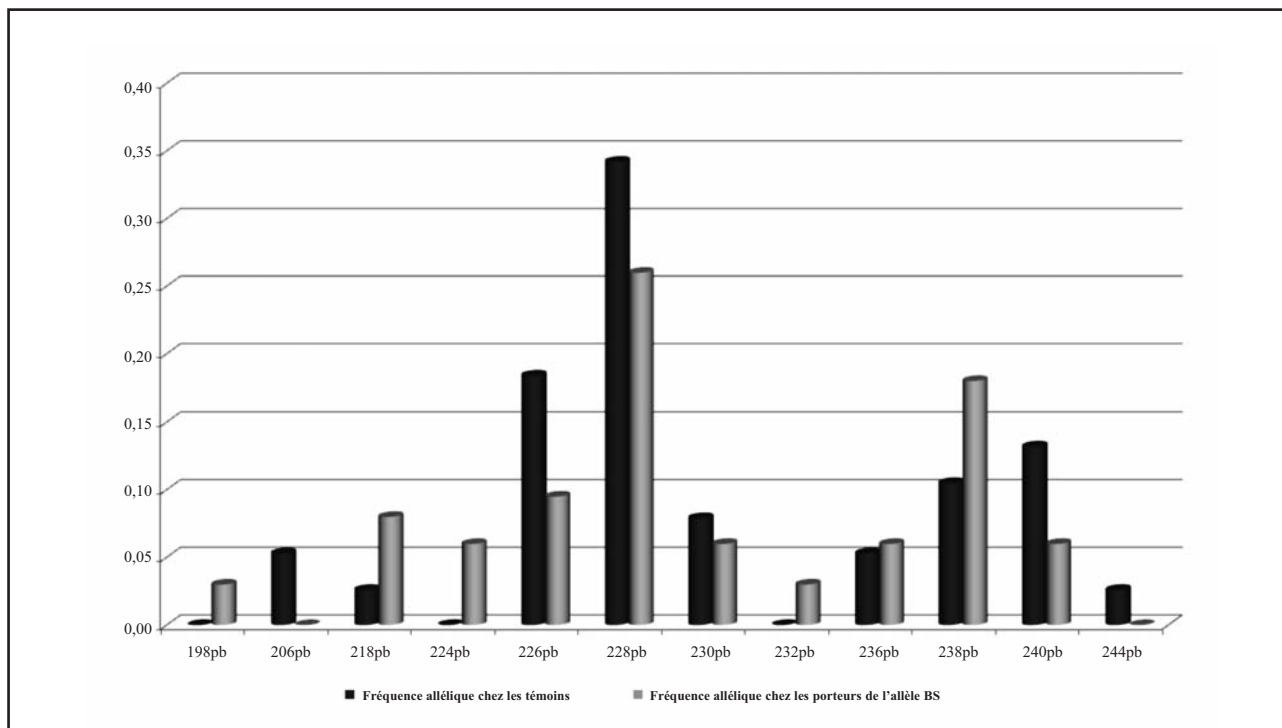
L'analyse du marqueur **D14S68 (PVIII)** chez 14 porteurs de l'allèle  $\beta^s$ , a mis en évidence 2 homozygotes

et 14 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 8 formes alléliques dont l'allèle le plus fréquent est celui de 119pb, (Figure 4).

L'analyse du marqueur **D18S1147 (PXIII)** chez 18 porteurs de l'allèle  $\beta^s$ , a mis en évidence 4 homozygotes et 14 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 11



**Figure 1 : Répartition des allèles du marqueur D14S261, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle  $\beta^S$ , selon leur fréquence allélique**



**Figure 2 : Répartition des allèles du marqueur D14S72, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle  $\beta^S$ , selon leur fréquence allélique**



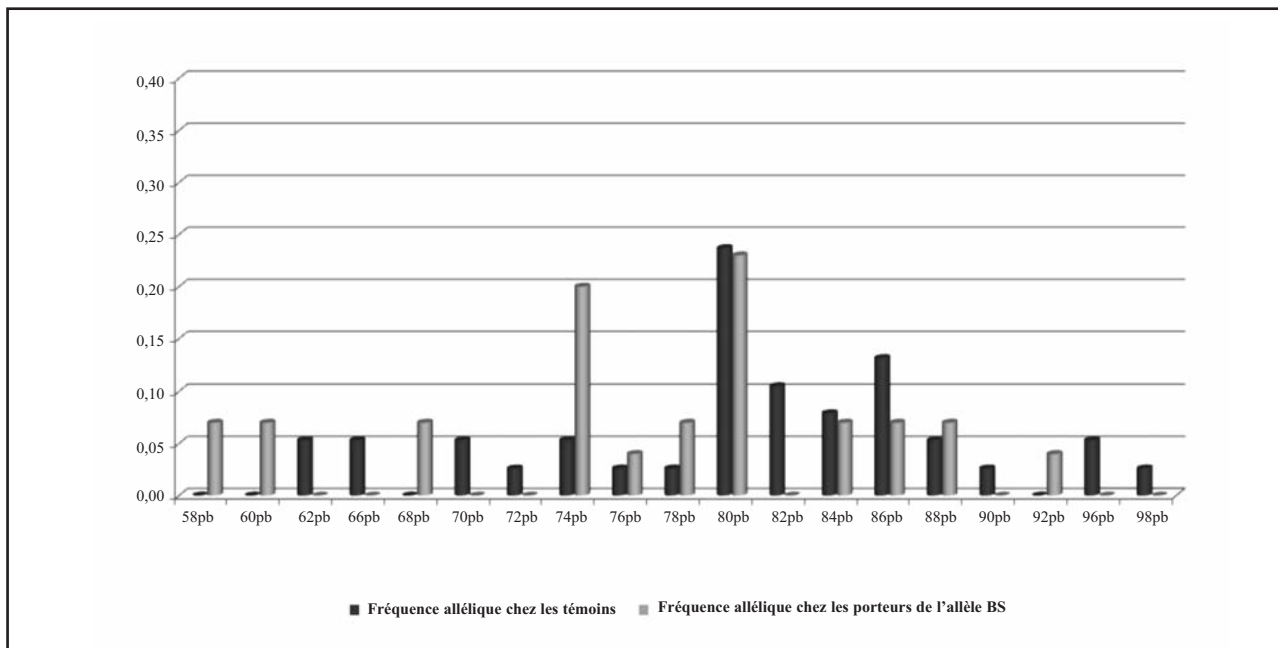


Figure 3 : Répartition des allèles du marqueur D14S990, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ , selon leur fréquence allélique

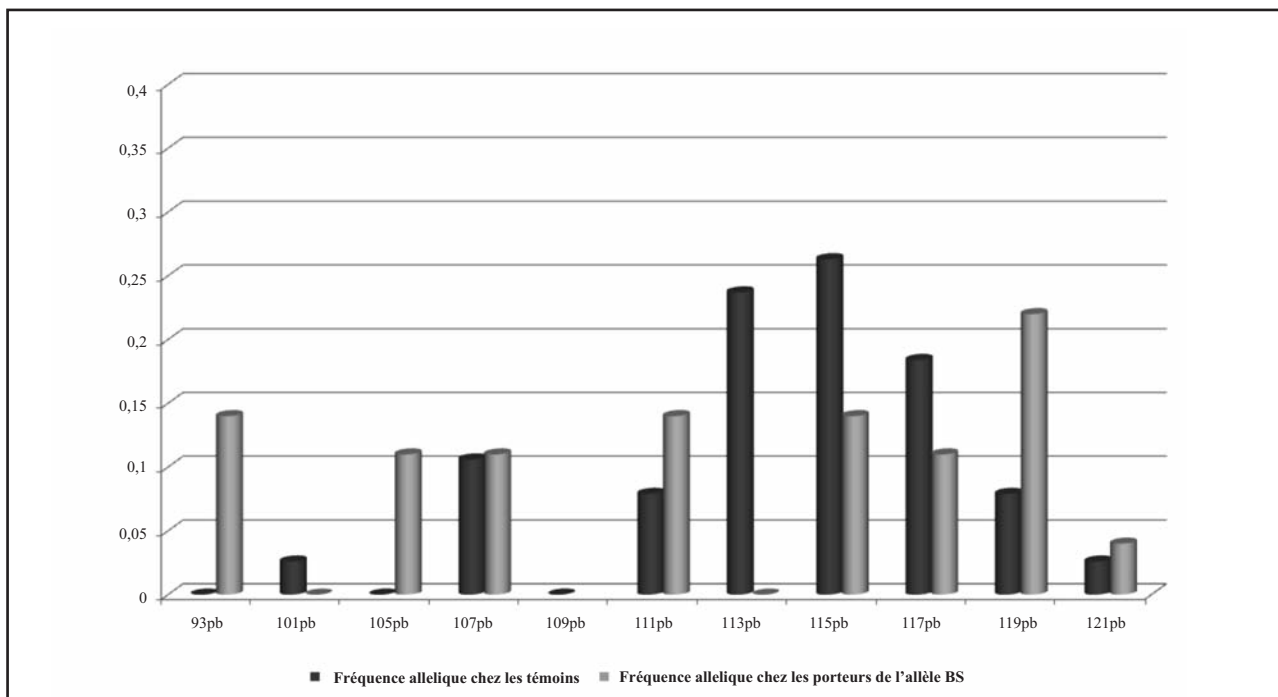


Figure 4 : Répartition des allèles du marqueur D14S68, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ , selon leur fréquence allélique

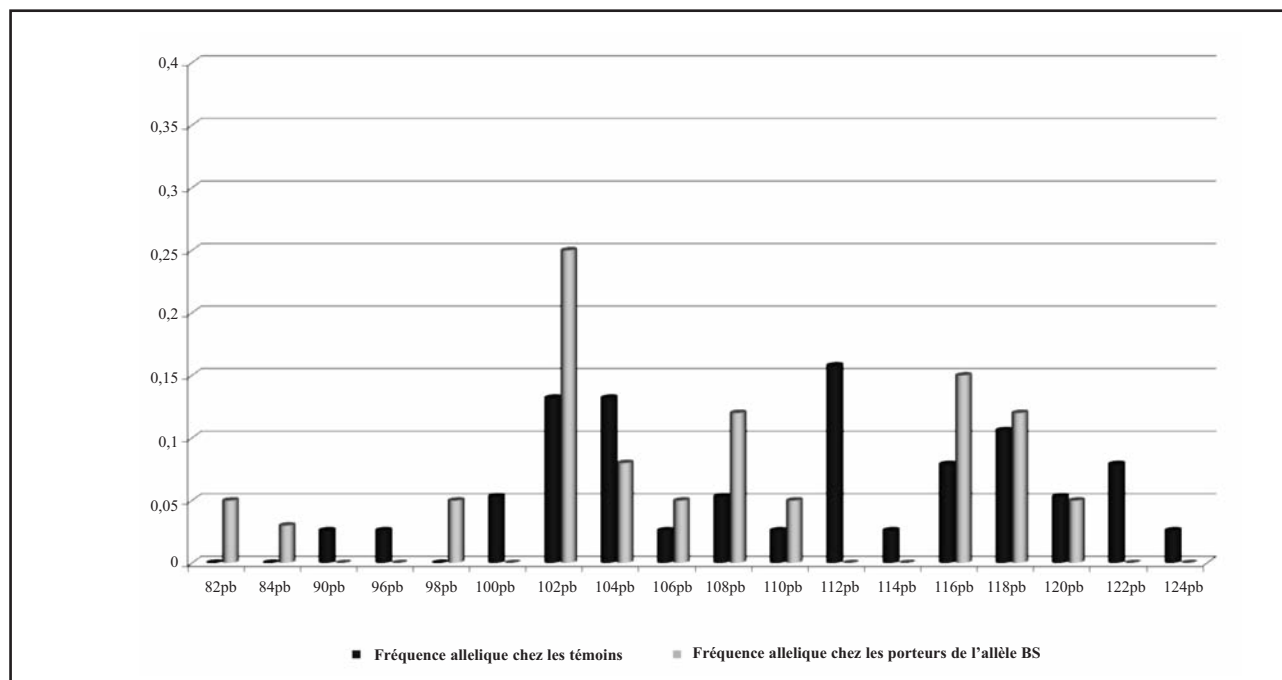


Figure 5 : Répartition des allèles du marqueur D18S1147, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ , selon leur fréquence allélique

formes alléliques dont l'allèle le plus fréquent est celui de 102pb, (Figure 5).

## Discussion

### • Analyse des microsatellites dans la population de témoins tunisiens

La comparaison entre les taux d'hétérozygotie observés et les taux d'hétérozygotie attendus (Tableau 4) a montré un écart significatif pour 2 des 5 marqueurs microsatellites étudiés chez le groupe témoin. Ces écarts

pourraient être expliqués par les facteurs influençant l'Equilibre de Hardy Weinberg (HWE) tels que :

- Des degrés élevés de consanguinité dans la population tunisienne, typiques des traditions de la société arabo-musulmane (16).
- L'effet fondateur pour ces marqueurs de par la position géographique de la Tunisie, terre d'émigration et d'asile, et le mixage de la population.

Le fait que sur les 5 microsatellites étudiés seuls 2 n'étaient pas en équilibre pourrait amener à s'interroger

Tableau 4 : Le taux d'hétérozygotie de chaque marqueur dans la population témoin tunisienne

	Nombre d'allèles	taux d'hétérozygotie observé (Hu)	taux d'hétérozygotie attendue (Hexp)	$\chi^2$ Calculé	Z Calculé
D14S261	8	0,63	0,74	0,665	1,093
D14S72	9	0,57	0,80	17,241	2,506
D14S990	15	0,89	0,89	0,086	0,000
D14S68	8	0,63	0,81	2,856	2,000
D18S1147	15	0,78	0,90	1,497	1,743

Z Calculé  $\geq 2$  : différence significative

sur la validité des résultats mais ce type de situation a déjà été rapporté dans une étude de 103 microsatellites dans une population d'un village du Sud Tunisien ou 3 marqueurs (D2S159, D4S2983, D5S408) étaient en écart par rapport HWE, cela pourrait être expliqué par la dérive au hasard dans la population tunisiennes, et/ou un taux élevé d'endogamie (17).

De même, une étude similaire concernant la population balinaise, a relevé une différence significative par rapport à HWE pour 28 des 53 microsatellites étudiés, ce nombre élevé de marqueur en écart au HWE était justifié par le statut d'isolat de l'île de Bali (18).

Par ailleurs, un écart non significatif des taux d'hétérozygoties observés par rapport aux taux d'hétérozygoties attendues pour 3 des 5 marqueurs microsatellites a été relevé. D'une part, ces taux d'hétérozygoties pourraient être pris comme base pour l'évaluation de la diversité génétique de notre population, et d'autre part les microsatellites les plus polymorphes seraient utiles dans les recherches médico-légales, dans les tests de recherche d'une contamination par cellules maternelles, dans le cas d'un diagnostic prénatal.

Ainsi, selon les résultats obtenus, les marqueurs les plus polymorphes présentant le taux d'hétérozygotie le plus élevé sont **D14S261**, **D14S990** et **D18S1147**. Ils seraient les plus informatifs pour l'analyse de la MCC «maternel cell contamination» au cours du diagnostic prénatal.

• Répartition des microsatellites chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$

La comparaison des fréquences alléliques, des marqueurs D14S72, D14S990 et D18S1147, entre les témoins et les porteurs d'HbS moyennant le test exact de Student corrigé par le test de Fisher, n'a pas montré de différence significative entre les témoins et les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ . Toutefois, la comparaison des fréquences alléliques des marqueurs D14S261 et D14S68, moyennant le test exact de Student corrigé par le test de Fisher (effectif réduit), a montré une différence significative de la fréquence de l'allèle 168pb du marqueur D14S261 (test de Student  $P = 0,005$ ) entre les témoins et les porteurs d'HbS. Ce même test était significatif entre les témoins et les drépanocytaires homozygotes (Propositus) pour le

même allèle de 168pb ( $P = 0,006$ ). Par ailleurs une autre différence significative de la fréquence de l'allèle 113pb (test de Student  $P = 0,008$ ) du marqueur D14S68 entre les témoins et les porteurs d'HbS, a été signalée.

L'allèle 113 du marqueur microsatellite D14S68 est absent chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ ; sa présence concomitante avec l'allèle  $\beta^s$ , pourrait être à l'origine d'une forme létale ce qui est peu probable. L'hypothèse la plus plausible est que cet allèle n'a pas la même origine que les drépanocytaires tunisiens, une population quasi uniforme. En effet, une étude antérieure a montré que 94% des drépanocytaires homozygotes répondaient à l'haplotype Bénin (19), ces chiffres sont de 100% dans la région Kebilli (20).

L'allèle 168 du marqueur microsatellite D14S261 montre une association avec l'allèle  $\beta^s$ . Cette association pourrait être expliquée :

- Soit par le fait qu'il s'agit d'une association ancestrale : ainsi en arrivant en Tunisie les premiers porteurs de l'allèle  $\beta^s$  portaient aussi l'allèle correspondant au fragment amplifié de taille 168pb du D14S261. Ceci est en accord avec l'origine quasi unique de l'allèle drépanocytairien en Tunisie (19, 20).

- Soit que l'allèle 168 du D14S261 soit associé à un caractère qui avantagerait les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ .

Ce phénomène nous rappelle celui des porteurs du trait drépanocytairien qui sont en partie protégés contre les formes létales du paludisme à *P. falciparum* (21). Le rôle sélectif du Plasmodium a été évoqué, procurant un avantage de survie aux hétérozygotes AS par rapport aux individus sains non porteurs de l'allèle  $\beta^s$ . Ce phénomène de polymorphisme équilibré a été formalisé en 1964 (22). Des observations ultérieures ont montré une sélection analogue pour d'autres hémoglobinopathies, telles que l'HbC ou l'HbE,  $\alpha$ - ou  $\beta$ -thalassémies, des enzymopathies et des mutations des protéines du squelette. Les mécanismes en cause sont encore imparfaitement connus (23) et l'allèle correspondant au fragment amplifié de taille 168pb du D14S261, pourrait y être impliqué.

## Conclusion

Les 5 marqueurs microsatellites étudiés chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$  et chez les témoins n'ont pas mis en

évidence les mêmes allèles.

La comparaison entre la répartition des allèles des microsatellites selon les fréquences alléliques entre la population témoin et la population des porteurs d'HbS a révélé d'une part l'absence de l'allèle 113 du marqueur D14S68 chez les porteurs de l'allèle  $\beta^s$ , et d'autre part une association de l'allèle 168 du marqueur microsatellite D14S261 à l'allèle  $\beta^s$ .

Une étude similaire sur une plus grande cohorte conforterait nos hypothèses et devrait être complétée par l'exploration des gènes entourant le marqueur microsatellite révélé par le présent travail à la recherche de SNP au niveau des gènes associés à la présence ou l'absence des allèles  $\beta^s$ .

## Références

- Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC. Sickle cell anemia : a molecular disease. *Science*, 1949, 110, 543-548.
- Labie D, Elion J. Bases moléculaires et physiopathologie des maladies de l'hémoglobine. Elsevier SAS, 2005; 1-14
- Weatherall DJ & Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders : an increasing global health problem. *Bulletin of the World Health Organization*, 2001; 79: 704-712.
- Galactéros F, Girot R. Prise en charge des syndromes thalassémiques majeurs. *Maladies héréditaires du globule rouge*. Doin. Paris. 1984; 8 : 165-178.
- Fatoum S. Les hémoglobinopathies en Tunisie. *Revue actualisée des données épidémiologiques et moléculaires*. Tunisie Médicale, 2006 ; 84: 687-696.
- Slatkin M. Hitchhiking and associative overdominance at a microsatellite locus. *Mol Biol Evol*, 1995; 12: 473-480.
- Moxon E R, Wills C. DNA microsatellites : agents of evolution ? *Scient Am*, 1999; 72-77.
- Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet*. 1989; 44, 388-396.
- Buetow KH, Weber JL, Judwigsen S, Scherpbier-Heddema T, Duyk GM, Sheffield VC, Murray JC. Integrated genome-wide maps constructed using the CEPH reference panel. *Nat Genet*, 1994; 6:391-393
- Gyapay G, Morissette J, Vignal A, Dib C, Fizames C, Millasseau P, Marc S, Bernardi G, Lathrop M, Weissenbach J. The 1993-94 Genethon human genetic linkage map. *Nat. Genet*. 1994; 7, 246-339.
- Matisse TC, Perlin M, Chakravarti A. Automated construction of genetic linkage maps using an expert system (MultiMap) : a human genome linkage map. *Nat. Genet*. 1994 ; 6, 384-390.
- Bowcock A M, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*. 1994 ; 368, 455-457.
- Fregeau C J, Fourney R M. DNA typing with fluorescently tagged short tandem repeats: a sensitive and accurate approach to human identification. *Biotechniques*. 1993; 15, 100-119.
- Gill P, Ivanov PL, Kimpton C, Piercy R, Benson N, Tully G, Evett I, Hagelberg E, Sullivan K. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nat. Genet*. 1994 ; 6, 130-135.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. 1989; 2<sup>nd</sup> Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Riou S, el Younsi C, Chaabouni H. Consanguinity in the population of northern Tunisia. *Tunis Med*. 1989; 67: 167-72.
- Maalej A, Makni H, Ayadi F, Bellassoued M, Jouida M, Jouida J, Bouguacha N, Abid M, Ayadi H. A full genome screening in a large tunisian family affected with thyroid autoimmune disorders. *Genes. Immun*. 2001; 2, 71-75.
- Morell R, Liang Y, Asher JH, Jr, Weber JL, Hinnant JT, Winata S, Arhya IN, Friedman TB. Analysis of short tandem repeat (STR) allele frequency distributions in a Balinese population. *Hum. Mol. Genet*. 1995; 4, 85-91.
- Abbes S, Fattoum S, Vidaud M, Goossens M, Rosa J. Sickle cell anemia in the Tunisian population : haplotyping and Hb F expression. *Hemoglobin*. 1991; 15, 1-9.
- Frikha M, Fakhfakh F, Mseddi S, Gargour J, Ghali L, Labiadh L, Harrabi M, Souissi T, Ayadi H. Hemoglobin beta S haplotype in the Kebili region (southern Tunisia). *Transfus Clin Biol*. 1998; 5: 166-72.
- Nagel RL, Labie D. La résistance innée au paludisme due aux anomalies de l'hémoglobine. *Hématologie*. 2002; 8: 405-413.
- Allison AC. Polymorphism and natural selection in human populations. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1964; 24 : 137-49.
- Labie D. Il y a des thalassémies qui quittent les gènes globines. *Hématologie*. 2002. Septembre - Octobre ; 8 (5).

## Les nitrates dans les eaux des nappes phréatiques du nord tunisien

A. NASRAOUI<sup>1</sup>,  
M. A. MAJDOUB<sup>2</sup>,  
M. HAMDAR<sup>1</sup>,  
A. HEDHIL<sup>3</sup>.

**Résumé :** Les nitrates ont été évalués dans les eaux des nappes phréatiques du nord de la Tunisie au cours des années 2003, 2004, 2006, 2007 et 2008. Les résultats obtenus montrent que toutes les nappes sont contaminées par les nitrates. Des teneurs élevées dépassant souvent 100 mg/l et allant jusqu'à plus de 300 mg/l ont été déterminées dans les eaux de la plupart des nappes étudiées. Les nappes les plus contaminées par les nitrates sont celles des régions de Bizerte, Nabeul, Ben Arous et Ariana, régions à activités agricoles et industrielles importantes et à forte urbanisation. L'évolution des nitrates au cours des dernières années révèle des teneurs instables dues probablement à des contaminations saisonnières et accidentelles. Les teneurs élevées en nitrates constatées sont vraisemblablement le résultat d'une part de la pollution de l'environnement par les déchets et les rejets industriels et domestiques d'autre part de l'utilisation abondante en agriculture d'engrais azotés et de fertilisants naturels. Des mesures préventives doivent être prises afin de diminuer la teneur en nitrates des eaux souterraines et de protéger ces eaux de toute contamination.

**Mots clés :** nitrates, eaux souterraines, pollution

## Nitrates in the under-ground sheets waters of the north of Tunisia

**Abstract :** Nitrates were evaluated in under-ground sheets waters of the north of Tunisia during the years 2003, 2004, 2006, 2007 and 2008. The results obtained showed that all sheets are contaminated by nitrates. High concentrations beyond often 100 mg/l and reaching more than 300 mg/l were determined in the water of most sheets studied. The sheets that are more contaminated, are located in Bizerte, Nabeul, Ben Arous and Ariana areas which are known by a high urbanization and important industrial and agricultural activities. The evolution of nitrates during last years showed unstable levels caused probably by seasonal and accidental contaminations. The high nitrates contents established are probably the result of environment pollution by industrial and municipal wastes and by excessive use in agriculture of chemical and natural fertilizers. Preventive measures must be led in order to decrease the nitrates levels in under-ground waters and to protect it from pollution.

**Key words :** nitrates, under-ground waters, pollution

<sup>1</sup> Ecole Supérieure des Sciences et Techniques de la Santé de Tunis.

<sup>2</sup> Direction Générale des Ressources en eaux - Tunis.

<sup>3</sup> Centre d'Aide Médicale Urgente et de Réanimation - Tunis.

## Introduction

La pollution de l'eau est un problème toujours d'actualité. Plusieurs substances et composés chimiques

sont en effet susceptibles de contaminer l'eau, parmi ces composés les nitrates occupent une grande place. L'intérêt porté aux nitrates réside dans les risques sanitaires qu'ils peuvent causer (1,2). En fait, ce ne sont

pas les nitrates qui sont responsables de ces risques mais leur produits de transformation. Les nitrites, obtenus par réduction généralement bactérienne des nitrates sont très réactifs et toxiques (3,4). Ils sont responsables notamment de la méthémoglobinémie chez le nourrisson (5,6). Les nitrosamines, composés résultant de la combinaison des nitrates avec des amines secondaires et tertiaires semblent responsables de la genèse de certaines formes de cancers tels que les cancers gastriques, des reins, du pancréas, du rectum ou du colon (7, 8, 9, 10).

La contamination de l'eau par les nitrates est due essentiellement à diverses activités humaines essentiellement industrielles et urbaines avec libération de déchets industriels et de rejets domestiques, sources importantes de nitrates dans le milieu environnant (4,11). Elle est due aussi à des activités agricoles conduisant à l'utilisation excessive d'engrais azotés et de fertilisants naturels (11). Les eaux les plus exposées à des contaminations par les nitrates sont les eaux de surface (barrages, lacs, oueds) du fait de leur contact direct avec les polluants en question (12, 13). Les eaux souterraines peuvent être également contaminées. Les nitrates sont en effet capable de traverser le sol par un phénomène d'écoulement et de pénétration naturelle et passent dans les nappes phréatiques et profondes (1, 14, 15). En absence de contamination, les eaux souterraines ne contiennent pratiquement pas de nitrates : quantité inférieure à 1mg/l (13, 16).

Nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'évaluation de la teneur en nitrates des eaux des nappes phréatiques du nord de la Tunisie durant les années : 2003, 2004, 2006, 2007 et 2008. L'étude a porté sur les

eaux de toutes les nappes phréatiques des gouvernorats de Bizerte, Nabeul, Zaghouan, Ben Arous et Ariana. Le but de notre étude est d'évaluer d'une part les teneurs en nitrates de ces eaux et d'autre part l'évolution de ces teneurs afin de rechercher les causes d'éventuelles pollutions nitriques.

## Matériels et méthodes

Le travail a été réalisé au laboratoire de la Direction Générale des Ressources en eaux. Les échantillons d'eau à analyser provenaient des nappes phréatiques des gouvernorats de Bizerte, Nabeul, Zaghouan, Ben Arous et Ariana. Les prélèvements d'eau ont été effectués sur des puits ou sources situés sur les nappes. Toutes les précautions ont été prises pour avoir des échantillons représentatifs des nappes étudiées et non contaminés (utilisation de récipients chimiquement propres). Le dosage des nitrates a été effectué en double pour chaque échantillon. Il a été réalisé par spectrophotométrie à 420 nm selon la méthode au salicylate de sodium.

## Résultats

L'analyse des eaux des nappes phréatiques du gouvernorat de Bizerte révèle des teneurs élevées en nitrates surtout en 2003 et 2004 pour les différentes nappes étudiées (tableau I). Ces teneurs sont supérieures à 200 mg/l pour les nappes Ras Jebel et Genniche et atteignent 293 mg/l dans l'eau de la nappe de Ousja Gar Elmelh. Les taux élevés de nitrates constatés en 2003 et 2004 diminuent en 2006, 2007 et 2008 pour les eaux des différentes

**Tableau I : Evolution des nitrates dans les nappes phréatiques du gouvernorat de Bizerte.**

Nappes	2003	2004	2006	2007	2008
Ras Jebel	219,29	123,24	150,84	179,5	124,23
Genniche	260,51	228,13	79,86	176,67	113,23
Ousja Gar Elmelh	147,96	293,92	59,53	99	70,59
Mateur Ras Ain	60,46	116,71	75,65	66,55	92,19

*Les résultats sont exprimés en mg/l*

nappes mais restent élevés surtout pour la nappe Ras Jebel : 150 mg/l en 2006, 180 mg/l en 2007 et 124 mg/l en 2008. Pour l'eau de la nappe de Genniche, la quantité de nitrates est également élevée : 176 mg/l en 2007 et 113 mg/l en 2008. Les eaux des nappes phréatiques du gouvernorat de Nabeul présentent également des teneurs élevées en nitrates durant les années étudiées à l'exception de l'année 2005 qui a enregistré une baisse significative pour les cinq nappes du gouvernorat (tableau II). Les taux de nitrates les plus élevés sont déterminés en 2003 dans les nappes : Plaine Haouaria et Takelsa, en 2004 et 2007 dans les nappes : Plaine Haouaria, Côte Orientale, Grombalia et Plaine Nabeul Hammamet avec des teneurs allant jusqu'à 160 mg/l. En 2008, la quantité de nitrates la plus élevée est déterminée dans l'eau de la nappe Plaine Nabeul Hammamet (145 mg/l). Les nappes phréatiques du gouvernorat de Zaghouan ont des teneurs en nitrates inférieures à 60 mg/l

en 2003 et 2004 (tableau III). A partir de 2006, Les eaux des quatre nappes étudiées ont enregistré une hausse dans leur teneurs en nitrates. Les taux les plus élevés sont déterminés en 2007 dans la nappe Sminja (100 mg/l) et en 2008 dans la nappe Oued rmal (95 mg/l). La seule nappe phréatique du gouvernorat de Ben Arous (nappe Mornag) a une eau riche en nitrates (tableau IV). Les quantités de nitrates les plus élevées sont obtenues au cours des années 2004 et 2006 avec respectivement 120 mg/l et 140 mg/l et surtout en 2003 (240 mg/l). La nappe phréatique du gouvernorat d'Ariana (Madjerda Pliquoternaire) a une eau dont la teneur en nitrates est très élevée en 2003 : 313 mg/l (tableau V). Ce taux diminue en 2004 pour atteindre 130 mg/l. Cette diminution devient plus importante en 2007 (58 mg/l). En 2008, la quantité de nitrates déterminée dans la nappe est de 78 mg/l.

**Tableau II : Evolution des nitrates dans les nappes phréatiques du gouvernorat de Nabeul.**

Nappes	2003	2004	2006	2007	2008
Plaine Haouaria	113,27	130,63	63,97	114,11	54,47
Côte Orientale	78,35	108,02	44	139,62	97,11
Grombalia	97,75	140,15	59,09	117,97	94,52
Plaine Nabeul Hammamet	75,63	161,05	79,2	155,44	145,1
Takelsa	179,21	117,51	9,92	0	0

*Les résultats sont exprimés en mg/l*

**Tableau III : Evolution des nitrates dans les nappes phréatiques du gouvernorat de Zaghouan.**

Nappes	2003	2004	2006	2007	2008
Nadour	16,89	6,87	34,23	23,56	6,89
Elfahs	58,53	54,59	64,49	75,68	73,35
Sminja	49,40	40,42	61,80	100,04	76,28
Oued rmal	41,68	54,84	62,9	65,59	95,27

*Les résultats sont exprimés en mg/l*



**Tableau IV : Evolution des nitrates dans la nappe phréatique du gouvernorat de Ben Arous.**

Nappe	2003	2004	2006	2007	2008
Mornage	240	120,33	140,85	70,42	79,33

*Les résultats sont exprimés en mg/l*

**Tableau V : Evolution des nitrates dans la nappe phréatique du gouvernorat d'Ariana.**

Nappe	2003	2004	2006	2007	2008
Madjerda Plioquaternaire	313,51	130,08	79,89	58,55	68,74

*Les résultats sont exprimés en mg/l*

## Discussion

Les résultats obtenus révèlent que toutes les eaux des nappes phréatiques du nord de la Tunisie contiennent des nitrates souvent en grandes quantités. Les teneurs les plus importantes sont déterminées dans les nappes des gouvernorats de Bizerte, Ben Arous et Ariana avec des taux dépassant souvent 100 mg/l et allant jusqu'à plus de 300 mg/l. Parmi les eaux analysées, celles des nappes phréatiques du gouvernorat de Zaghouan sont les moins contaminées par les nitrates avec des quantités variant de 40 à 60 mg/l et ne dépassant pas les 100 mg/l.

L'analyse de l'évolution des nitrates indique que la plupart des nappes étudiées ont été contaminées par les nitrates à un moment ou à un autre au cours des dernières années. Les quantités déterminées ne sont pas stables. Elles varient d'une année à une autre. Des contaminations saisonnières et probablement accidentelles pourraient expliquer ces fluctuations.

Les causes de contamination par les nitrates des eaux des nappes phréatiques du nord de la Tunisie pourraient résulter des activités pratiquées dans ces régions. Les gouvernorats de Bizerte, Nabeul, Ben Arous et Ariana sont en effet connus par des activités industrielles importantes et une forte urbanisation conduisant probablement à la pollution de l'environnement par les

déchets industriels et les rejets domestiques, sources importantes de nitrates dans le sol et dans les eaux de surfaces et souterraines (17, 18). Les mêmes gouvernorats ont des activités agricoles importantes impliquant l'utilisation souvent excessive de fertilisants naturels tel que le fumier et de fertilisants chimiques comme les nitrates d'ammonium dans les cultures maraîchères et les grandes cultures (19, 20) ce qui pourraient expliquer les fortes teneurs en nitrates déterminées dans les eaux des nappes phréatiques de ces régions. Contrairement aux gouvernorats cités, le gouvernorat de Zaghouan a moins d'activités agricoles et surtout industrielles, explication possible des teneurs en nitrates relativement peu élevées obtenues dans les nappes phréatiques de cette région.

Il ressort de ce travail que la plupart des eaux des nappes phréatiques du nord de la Tunisie contiennent des quantités de nitrates parfois alarmantes dues probablement à de mauvaises pratiques agricoles et industrielles. Des mesures préventives doivent être prises afin de diminuer les pollutions d'origine industrielle et urbaine et de limiter l'utilisation des engrais azotés en agriculture principales sources de contamination par les nitrates du sol et des eaux. Une surveillance régulière et continue de la qualité des eaux souterraines est également nécessaire.



### Références bibliographiques

1. Mensinga TT, Speijers GJA, Meulenbelt J. Health Implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicol Rev* 2003; 22 : 41-51.
2. Vittozzi L. Toxicology of nitrates and nitrites. *Food Add. and Cont.* 1992; 9: 579-585.
3. Grosse Y, Baan R, Straif K, Secretan B, El Ghissassi F, Cogliano V. Carcinogenicity of nitrate nitrite and cyanobacterial peptide toxins. *The Lancet Oncology* 2006; 7;8 : 628-629.
4. Walker R. Nitrates, nitrites and N-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food. Add. and Cont* 1990 ; 7: 717-768.
5. L'hirondel J. Les méthémoglobinémies du nourrisson. Données nouvelles. *Cah Nutr Diet* 1993 ; XXVIII ; 1: 35-40.
6. Avery AA. Infantile methemoglobinemia reexamining the role of drinking water nitrate. *Environ Health Perspect* 1999; 107 : 583-586.
7. Hemandes-Ramires RU, Galvan-Portillo MH, Ward MH, Agudo A, Gonzales CA, Onate-Ocana LF, Herrera-Goepfert R, Palma-Coca O, Lopez-Carillo L. Dietary intake of polyphenols, nitrate and nitrite and gastric cancer risk in Mexico city. *Int J cancer* 2009;15;125: 1424-1430.
8. Coss A, Cantor KP, Reif JS, Lynch CF, Ward MH. Pancreatic cancer and drinking water and dietary sources of nitrate and nitrite. *Am J Epidemiol* 2004;159 ; 7: 693-701.
9. De Ross AL, Ward MH, Lynch CF, Cantor KP. Nitrate in public water supplies and the risk of colon and rectum cancers. *Epidemiology* 2003; 14;6 : 640-649.
10. Ward MH, Rusiecki JA, Lynch CF, Cantor KP. Nitrate in public water supplies and the risk of renal cell carcinoma. *Cancer Causes Control* 2007; 18; 10 : 1141-1151.
11. L'hirondel J. Les nitrates et l'homme, toxiques, inoffensifs ou bénéfiques ? Les éditions de l'Institut scientifique et technique de l'environnement, France. 2004 ; 256 p.
12. Soberka R, Sciazko D, Tyrakowska-Bielec U. Les risques sanitaires des nitrates et leur origine dans l'eau de boisson. *Ind. Alim. Agr* 1995; Déc : 923-927.
13. Fritsch P. Actualisation des connaissances sur les nitrates, nitrites et nitrosamines dans l'alimentation. *Sci. Alim* 1985. hors série V : 275- 292.
14. Jakszyn P, Agudo A, Berenguer A, Ibanez R, Amiano P, Pera G. Intake and food sources of nitrite and N-nitrosodimethylamine in Spain. *Public Health Nutrition* 2006; 9; 6 : 785-791.
15. Causeret J. Nitrates, nitrites, nitrosamines : Apports alimentaires et santé. *Ann. Fals. Exp. Chim* 1984 ; 826 : 133-151.
16. Saint Blanquat G. Répartition des nitrates et des nitrites dans l'alimentation. Conséquences toxicologiques. *Inf. Diét* 1988; 4: 31-36.
17. Saint Blanquat G. Nitrates, nitrites, nitrosamines, évolution technologique et santé publique. En deux siècle de progrès pour l'agriculture et l'alimentation. Académie de l'agriculture de France. 1990 ; chap 33 : 347-355.
18. L'hirondel J. Les nitrates et l'homme, le mythe de leur toxicité. Les éditions de l'Institut scientifique et technique de l'environnement, France. 1996; 142p.
19. Pardo-Marin O, Yusa-Pelechia V, Villalba-Martin P, Perez-Dasi JA. Monitoring programme on nitrates in vegetable based baby foods marketed in the region of valencia, Spain: levels and estimated daily intake. *Food Addit and contam* 2010; 27: 478-486.
20. Chung SY, Kim JS, Hong MK, , Lee JO, Kim CM. Survey of nitrate and nitrite contents of vegetables grown in Korea. *Food Addit Contam* 2003; 20;6 : 621-628.

## L'effet du tabagisme sur les paramètres spermatiques des hommes infertiles en Tunisie

G. MERDASSI<sup>1</sup>,  
S. FOURATI<sup>1</sup>,  
A. LOUATI<sup>1</sup>,  
H. ELLOUNI<sup>1</sup>,  
B. ZOUARI<sup>2</sup>,  
M. FERCHIOU<sup>1</sup>,  
F. ZHIOUA<sup>1</sup>,  
A. ZHIOUA<sup>1</sup>

### Résumé

**Objectif :** Les différentes études menées sur les répercussions du tabac sur la fertilité masculine depuis plusieurs années mettent en évidence une diminution de la qualité du sperme chez les fumeurs. Notre étude consiste à évaluer l'impact du tabac sur les caractéristiques spermatiques avec les principales anomalies rencontrées dans notre série de patients

**Patients et méthodes :** Il s'agit d'une analyse rétrospective portant sur l'impact du tabac sur les paramètres du spermogramme et spermocytogramme.

Deux groupes de patients ont été étudiés : groupe A (n = 159) avec des patients tabagiques et groupe B (n = 85) avec des patients non tabagiques. 244 dossiers comportant une analyse complète du sperme chez des couples consultant pour la première fois pour une prise en charge de stérilité ont été retenus

**Résultats :** nos résultats montrent une diminution statistiquement significative de la concentration, mobilité et formes typiques chez le groupe tabagique en comparaison avec le groupe non tabagique.

Par ailleurs, la vitalité est aussi diminuée chez le groupe tabagique mais sans signification statistique.

**Conclusion :** Cette étude souligne le réel danger du tabac pour la fertilité masculine. Même si le lien significatif entre le tabagisme et l'hypofertilité n'est pas tout à fait souligné, une sensibilisation des patients est primordiale avant la prise en charge en Assistance médicale à la procréation.

**Mots clés :** tabac, sperme, fertilité

## The effect of cigarette smoking on Semen parameters in Tunisian infertile men

### Abstract

**Objective :** Various studies on the impact of smoking on male fertility for several years show a decline in semen quality among smokers. The aim of our study is to assess the impact of smoking on semen quality.

**Patients and methods :** This is a retrospective analysis on the impact of smoking on semen parameters and spermatozoa morphology. Two groups of patients were studied : Group A (n = 159) of smoking patients and group B (n = 85) of non smoking patients.

244 sperm analysis were selected in couples consulting for the first time in our IVF center.

**Results :** Our results show a statistically significant decrease in the

<sup>1</sup> Unité de Procréation Médicalement Assistée. Service de gynécologie obstétrique.  
Hôpital Aziza Othmana. Tunis

<sup>2</sup> Département de statistique.  
Faculté de médecine de Tunis

concentration, mobility and typical forms in the smoking group compared with the non smoking group.

Moreover, the vitality is also reduced in the smoking group but not statistically significant.

**Conclusion :** This study highlights the real danger of smoking male fertility. Although the significant association between smoking and sub fertility is not quite out.

A patient education is essential before treatment in medically assisted procreation

**Keys words :** Tobacco, sperm, fertility

## Introduction

Le tabac est un phénomène de société, de plus en plus d'hommes fument dès le jeune âge. Selon l'OMS (1), environ un tiers de la population de plus de 15 ans fume. Plusieurs études ont mis en évidence les effets délétères de la fumée de cigarette chez l'homme et spécialement sur la fertilité [2]. En effet, il existe un passage de la barrière hémato-testiculaire de certaines substances contenues dans la fumée de cigarette. La présence de tels composés dans le liquide séminal des fumeurs entraîne une altération des paramètres spermio- logiques et de la qualité nucléaire des spermatozoïdes, compromettant de ce fait les chances de grossesse.

Au-delà de cette diminution de la fertilité masculine, le tabagisme a également des répercussions sur la descendance de ces fumeurs : embryons de qualité médiocre, développement de certains cancers dans la prime enfance [3,4]

Afin d'étudier l'effet du tabac sur la fertilité masculine nous avons entrepris une étude rétrospective dans le centre d'Assistance Médicale à la Procréation de l'Hôpital Aziza Othmana. Le but de notre étude est d'évaluer l'impact du tabac sur les caractéristiques spermatisques et de recenser les principales anomalies rencontrées dans notre série.

## Matériel et méthodes

### 1- Matériel

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée au centre de

Procréation Médicalement Assistée l'hôpital Aziza Othmana réalisé sur une période de 2 années (Décembre 2007-Décembre 2009).

Nous avons retenu uniquement 244 dossiers comportant une analyse complète du sperme chez des couples consultant pour la première fois pour une prise en charge de stérilité.

Ont été exclus de l'étude, les patients ayant des antécédents chirurgicaux ou les cas de traumatismes testiculaires, ainsi que les patients ayant reçu des traitements antibiotiques, anti-inflammatoires ou vitaminiques avant la réalisation du spermogramme.

Les 244 spermogrammes retenus sans sélection d'indication comprennent 159 sujets tabagiques (groupe A) avec un tabagisme  $\geq 10$  paquet/an dans 83% des cas, et 85 sujets non fumeurs (groupe B).

Au total les procédures de l'analyse du sperme ont été réalisées conformément aux recommandations de l'OMS de 1999.

Cette classification se base sur une analyse de la numération de spermatozoïdes / ml (VN :  $\geq 20$  10<sup>6</sup>/ml), la mobilité progressive (a+b) (VN :  $\geq 50\%$ ), la vitalité qui recense les spermatozoïdes vivants (VN :  $\geq 60\%$ ) et la morphologie spermatique qui énumère les spermatozoïdes typiques (VN :  $\geq 30\%$  avec la classification de David modifiée).

### 2- Etude du sperme

L'analyse de sperme a été récupérée sur les comptes rendus de spermogramme-spermocytogramme et les différents paramètres microscopiques ont été notés

- La numération

- Les cellules rondes
- Les agglutinats
- La vitalité
- La mobilité en 4 catégories

a : rapides progressifs

b : lents ou faiblement progressifs

c : mobiles mais non progressifs

d : immobiles

• L'analyse morphologique des spermatozoïdes selon la classification de David modifiée après une coloration de shorr selon les normes de l'OMS (1999)

### 3- analyses Statistiques

Tous les résultats ont été comparés entre les 2 groupes par l'intermédiaire du logiciel EPI-INFO (test de  $\chi^2$ ) avec  $p < 0,005$  comme seuil de signification.

## Résultats

### 1. Analyse de la population

Dans l'ensemble les hommes consultant pour infertilité fument en majorité (65.16% vs 34.84%).

L'âge moyen de nos patients était de 38 ans (moyenne +/- écart type), avec des extrêmes allant de 25 à 65 ans. Par ailleurs, nous n'avons pas noté de pics de fréquence particulier. Les 2 groupes étaient homogènes pour la durée de stérilité ainsi que pour le délai d'abstinence.

### 2. Effet du tabagisme sur le sperme

A l'examen du sperme, le volume de l'éjaculat ainsi que la numération de cellules rondes étaient comparables dans les 2 groupes.

Il existe une augmentation, qui reste statistiquement non significative, du pourcentage des spermogrammes normaux dans le groupe B en comparaison avec le groupe A (50,94% vs 36,36%). Cette augmentation est statistiquement non significatif pour la vitalité spermatique aussi dans le groupe B versus le groupe A. (tableau 1).

Une augmentation statistiquement significative était notée pour la concentration moyenne en spermatozoïdes, la mobilité moyenne (a + b) ainsi que la moyenne des formes typiques dans le groupe B en comparaison avec le groupe A (tableau 1).

## Discussion

Le tabac est un véritable fléau mondial qui est en nette progression en particulier chez les jeunes. Tous les pays du monde sont concernés (50 à 60% chez les adultes de sexe masculin) [1]

En l'an 2000, le tabagisme a été à l'origine de 4 200 000 décès dans le monde, dont la moitié est survenue dans les pays en voie de développement [3]

Le tabac a aussi un effet délétère sur la fertilité masculine. En effet plusieurs particules toxiques étaient identifiées

**Tableau 1: Résultats des paramètres spermatiques chez les 2 groupes de patients étudiés.**

	Groupe A (n = 110)	Groupe B (n = 53)	Valeurs normales OMS 1999
Concentration (10 <sup>6</sup> /ml)	24,9 ± 8,2	52, 39* ± 18,5	20
Mobilité (a+b)%	22,2 ± 11	39,4* ± 15,1	50
Immobilité %	68 ± 21,2	42,6 ± 12,1	-
Concentration de cellules rondes (10 <sup>6</sup> /ml)	0.5	0.3	2
Vitalité %	42,5 ± 15,3	52,6 ± 16,6	60
Agglutinats	0	0	-
Formes typiques %	18,7 ± 7,8	54,6* ± 19,2	30

\*:  $p < 0,005$

comme ayant un retentissement sur la spermatogénèse, les plus importantes sont : la nicotine et le benzopyrène..

Les résultats de notre étude montrent une altération des paramètres spermatiques les plus importants (concentration, mobilité et formes typiques) chez le groupe de tabagiques en comparaison avec le groupe témoins.

En effet, il existe une diminution statistiquement significatives de la concentration des spermatozoïdes chez le groupe tabagique (52,39M/ml vs 24,9M/ml). Nos résultats sont accord avec l'étude Stillman et al qui rapportent une diminution d'environ 22% chez les fumeurs vs non fumeurs [4]

Une méta-analyse réalisée en 1994 sur ce même paramètre, prenant en compte la quantité de tabac consommé, a montré une diminution non significative de 13 à 17% chez le groupe fumeurs en comparaison avec le groupe non fumeurs [5].

La Mobilité progressive des spermatozoïdes est statistiquement diminuée chez les fumeurs, ce résultat a été confirmé par la littérature. En effet, plusieurs études rapportent une altération du mouvement des spermatozoïdes chez les fumeurs qui serait due à l'effet des hydrocarbures et des aldéhydes qui sont responsables d'une inhibition du mouvement flagellaire [6]

Ces résultats ont été confirmés aussi par la série de Gandini et al qui ont montré que la diminution de la mobilité était due à la nicotine et son métabolite [7].

Nos résultats confirment aussi l'effet délétère du tabac sur la morphologie spermatiques, vu la diminution significative des spermatozoïdes morphologiquement normaux dans les prélèvements du groupe fumeur. Dans le même sens, Merino et al ont rapporté une corrélation négative entre la consommation de tabac et le pourcentage de spermatozoïdes de morphologie normale [8,9].

Rubes et al ont montré aussi une augmentation nette des spermatozoïdes microcéphales chez les patients tabagiques [10].

Différentes autres études ont souligné l'existence d'une relation de dose-effet entre le degré de tératospermie et la quantité de tabac consommé [11].

## Conclusion

L'infertilité masculine occupe une place de plus en plus importante dans les étiologies de stérilité du couple.

Les résultats de notre étude viennent enrichir les données de la littérature concernant l'effet délétère du tabac sur la spermatogénèse dans un échantillon de la population tunisienne. Ces résultats voient leur importance dans le conseil et la prise en charge des couples infertiles en Tunisie. En effet, l'arrêt du tabac doit être le premier traitement proposé dans le cadre de la prise en charge de l'infertilité masculine.

## Références bibliographiques

1. World Health Organization. Tobacco on health. A global status report. Geneva (Switzerland) : WHO, 1997.
2. Guilbert P et al. Baromètre santé. France. BEH 2005. 21-22. p 97-8.
3. Hill C et al. Tabagisme et mortalité : aspects épidémiologiques. BEH 2003 ; 22-23 : p 98-100.
4. Stillman RJ. Smoking and reproduction. Fertil Steril. 1986 ; 46 : p545-66.
5. Vine MF et al. Cigarette smoking and sperm density : a meta-analysis. Fertil Steril ; 1994 ; 61 : 35-43.
6. Wong WY, Thomas C, Merkus H, Zielhuis GA, Doesburg W, Steegers-Theunissen R. Cigarette smoking and the risk of male factor subfertility : minor association between cotinine in seminal plasma and semen morphology. Fertil Steril. 2000; 74 : p 930-5.
7. Gandini L. The in vitro effects of nicotine and cotinine on sperm mobility. Human Reprod. 1997 ; 12 : p 727-33.
8. Zavos A et al. Effects of seminal plasma from cigarette smokers on sperm viability and longevity. Fertil Steril. 1998 ; 3 : p 425-9.
9. Merino G. Effects of cigarette smoking on semen characteristics of a population in Mexico. Arch Androl. 1998; 41: p 11.
10. Rubes J et al. Smoking cigarettes is associated with increased disomy in teenage men. Fertil Steril. 1998;70 : p 715-23.
11. Wentz AC. Cigarette smoking and infertility. Fertil Contracept. 1986 ; 46 : p 365-7.

## *Activités de la STBC*

Aussitôt élu au cours des JNBC 2011, le bureau actuel de la STBC s'est attelé à la tâche pour préparer les JNBC et le programme scientifique de l'année 2012.

Un sondage a été réalisé auprès des confrères biologistes afin de guider le choix du bureau et du comité scientifique quant à la programmation des activités.

Deux lignes directrices ont été retenues : décentraliser les activités envisagées en allant plus dans les régions, et diriger autant que possible les activités vers les jeunes biologistes.

C'est ainsi qu'entre le mois de novembre 2011 et mai 2012 pas moins de neuf journées et ateliers ont été réalisés :

02 décembre 2011 : journée mondiale sur le SIDA, Faculté de Pharmacie Monastir

09 décembre 2011 : atelier pratique sur la cytologie sanguine. En raison de la demande une deuxième session a eu lieu le 16 décembre 2011.

10 et 11 février 2012 : atelier pratique sur le spermogramme, siège de la STBC. Le même atelier pratique a été réalisé le 24 Mars 2012 à Kerkennah, à l'intention des biologistes de la région de Sfax.

08 mars 2012 : journée sur les tests rapides en microbiologie et en virologie, Tunis.

Du 04 au 06 avril 2012 : séminaire atelier qualité sur la gestion du système documentaire, Hammamet.

13 avril 2012 : journée destinée aux Techniciens Supérieurs, Mahdia.

De même, une délégation de cinq membres du bureau de la STBC a participé au congrès arabe de biologie clinique qui a eu lieu à Marrakech (Maroc) du 02 au 05 mai 2012. La délégation a participé notamment à l'assemblée générale de la Fédération Arabe de Biologie Clinique (FABC) au cours de laquelle a eu lieu l'élection du nouveau bureau de la FABC dont la composition est la suivante :

- 1) Pr Layachi CHABRAOUI (Maroc) : **Président**
- 2) Dr Imed ITANI (Liban) : **Ancien président**
- 3) Pr Mohamed CHAARAOUI (Egypte) : **Président d'honneur**
- 4) Dr Kamil Hassan (Soudan) : **Secrétaire général**
- 5) Dr Wadie KHROUF (Tunisie) : **Trésorier**
- 6) Dr Oussama NAJJAR (Palestine) : **Membre**
- 7) Dr Hechmi OULD ROUIS (Algérie) : **Membre**
- 8) Dr Aboud AYED (Libye) : **Membre**
- 9) Dr Salwa AMMARIN (Jordanie) : **Membre**
- 10) Dr Mohamed TINAOUI (Syrie) : **Membre**
- 11) Dr Molhem Ali HABOURI (Yemen) : **Membre**

La délégation a également participé à la réunion de la Fédération internationale Francophone de Biologie Clinique et de Médecine de Laboratoire (FIFBCML)

**Les JNBC 2013 se tiendront  
les 9, 10 et 11 Mai 2013 à Hammamet  
pour plus d'informations s'adresser au site  
[www.stbc.org](http://www.stbc.org)**



## *Agenda des manifestations scientifiques*

**The 30<sup>th</sup> World Congress of Biomedical Laboratory Science, Berlin, Germany,**  
18-22 August 2012  
[www.ifbls-dvta2012.com](http://www.ifbls-dvta2012.com)

**11<sup>ème</sup> Symposium International sur la Réaction de Maillard**  
16 - 20 septembre 2012  
[www.maillard-nancy.fr](http://www.maillard-nancy.fr)

**Symposium Vitamin B12 à Nancy**  
20 - 22 Septembre 2012  
[www.sfbc.asso.fr](http://www.sfbc.asso.fr)

**6<sup>th</sup> Santorini Conference Biologie Prospective - Systems Biology and Personalized Health - Science and Translation**  
2012 - Sep 30-Oct 2 ; Santorini, Grèce  
[www.santorini2012.org](http://www.santorini2012.org)

**4<sup>ème</sup> Congrès de Biologie Clinique au Liban et 2<sup>ème</sup> Congrès de la Fédération Internationale Francophone de Biologie Clinique et Médecine de Laboratoire**  
2012 - Oct 4-6 ; Beirut, Liban  
[www.sdbliban.org](http://www.sdbliban.org)

**Congrès EFCC-UEMS : la médecine de laboratoire à l'interface clinique ; Dubrovnik**  
10-13 oct 2012  
[www.dubrovnik2012.com](http://www.dubrovnik2012.com)

• **EUROMEDLAB - Milano 2013**  
**20<sup>th</sup> IFCC-EFCC European Congress of Clinical chemistry and Laboratory Medicine**  
19-23 May 2013 - Milano, Italy  
[info@milan2013.org](mailto:info@milan2013.org) / [www.milan2013.org](http://www.milan2013.org)

**5<sup>ème</sup> symposium international sur les éléments trace à Avignon**  
22 - 24 mai 2013  
[www.festem.eu](http://www.festem.eu)

**APCCB 2013 - 13th Congress of the Asia-Pacific Federation for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine**  
2013 - Oct 6-9; Bali, Indonesia  
[www.apfcbcongress2013.org](http://www.apfcbcongress2013.org)

**COLABIOCLI 2013 - XXI Congreso Latinoamericano de Bioquímica Clínica**  
2013 - Oct 29-Nov 1; Lima, Perou  
[www.ifcc.org](http://www.ifcc.org)

• **APCCB 2013 - 13<sup>th</sup> Asian Pacific Congress of Clinical Biochemistry - November 17-20 2013 - Bali - Indonesia**

• **IFCC WorldLab Istanbul 2014**  
22-26 June 2014  
Istanbul, Turkey  
Istanbul Congress Center  
[info@istanbul2014.org](mailto:info@istanbul2014.org) / [www.istanbul2014.org](http://www.istanbul2014.org)



# instructions aux auteurs

La Revue Tunisienne de Biologie Clinique (RTBC) est publiée par la Société Tunisienne de Biologie Clinique. Les sujets publiés se rapportent à tous les aspects de la Biologie Clinique de toutes disciplines et tout mode d'exercice. La revue publie des articles originaux, des revues générales, des notes de pratique quotidienne ou de formation continue, des revues de presse ou de livres et des lettres à la rédaction. Toutes les publications se font en français, en anglais ou en arabe et doivent être obligatoirement accompagnées d'un résumé en anglais (Les lettres à la rédaction, les revues de presse ou de livres ainsi que les notes, ne requièrent pas de résumé).

Les manuscrits soumis à la revue ne doivent pas avoir fait l'objet de publication antérieure (en dehors des thèses, mémoires, ou abstracts). Les manuscrits sont soumis à aux moins deux lecteurs anonymes sélectionnés par le comité de rédaction.

Si des corrections sont demandées aux auteurs, la version corrigée doit être soumise de nouveau à la rédaction dans un délai ne dépassant pas 2 mois. Elle doit être accompagnée d'une version sur disquette informatique (logiciel word).

Une fois accepté, le manuscrit ne peut être publié dans une autre revue sans l'autorisation préalable de la RTBC.

## Recommandations générales

### • Soumission des manuscrits

Les manuscrits sont adressés en 3 exemplaires (y compris les illustrations) au rédacteur en chef, à l'adresse suivante :

*Revue Tunisienne de Biologie Clinique*

*Résidence Tunis Carthage - Appartement C10 Borj Baccouche*

*2027 - Ariana Tunisie*

*Tél/Fax : (+216) 71 709 647*

*E-mail : contact@stbc.org.tn - chiheb.rayana@rns.tn*

Les manuscrits doivent être accompagnés d'une lettre précisant la rubrique à laquelle les auteurs désirent voir apparaître leur manuscrit et les engageant quant à la non soumission à une autre revue. Cette lettre doit porter la signature de tous les auteurs.

### • Préparation des manuscrits

Les manuscrits doivent être rédigés en interligne 1,5, taille des caractères : 12, sur du papier format A4, en recto uniquement.

Laisser une marge de 2,5 cm des 4 côtés de la page.

Mettre les références, les tableaux et les figures sur des pages séparées du texte. Toutes les pages doivent être numérotées, en commençant par la page de titre. Les différentes sections du manuscrit doivent répondre aux recommandations suivantes :

#### page de titre comportant

- le titre de la publication, reflétant son contenu (2 lignes maximum)
- les noms et prénoms des auteurs, ainsi que les adresses professionnelles des équipes (lorsqu'il existe plus d'un laboratoire d'origine, indiquer en "exposant" après chaque nom, le numéro du laboratoire correspondant).
- une adresse de correspondance avec N° de téléphone. Fax et E-mail.

#### résumé et mots clés

- Le résumé consiste en un paragraphe unique comportant moins de 200 mots.
- Aucune abréviation ni référence ne doivent apparaître dans le résumé.
- Le résumé est suivi d'une série d'au maximum six mots clés.

#### remerciements

Les remerciements éventuels sont placés à la fin du texte, avec un caractère différent.

#### références (1)

Les références sont numérotées par ordre d'apparition dans le texte et présentées selon le modèle suivant :

- **Pour les articles de revues** : Noms des auteurs suivis des initiales des prénoms. Titre de l'article dans la langue d'origine. Nom abrégé

de la revue année ; volume : première et dernière page de l'article.

*Exemple* : Boscato LM, Stuart MC. Incidence specificity of interference in two-site immunoassays. Clin Chem 1986 ; 32 : 1491-5.

(1) : *International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. N Engl J Med 1991 ; 324 : 424-8.*

- **Pour les articles de livres** : Noms des auteurs de l'article suivis des initiales des prénoms. Titre de l'article dans la langue d'origine.

In : noms et initiales des auteurs de l'ouvrage. Titre du livre. Ville, éditeur, année de publication : première et dernière page de l'article.

*Exemple* : Kohn RR. Aging and age related disease : Normal processes. In : Johnson HA. Relation Between Normal Aging and Disease. New York, Raven Press, 1985: 1-44.

- **Pour un livre** : Noms des auteurs suivis des initiales des prénoms. Titre du livre. ville, éditeur, année de l'édition : nombre de pages ou les pages exactes à consulter (la 1<sup>ère</sup> et la dernière).

*Exemple* : Forbes GB. Human body composition. New York : Springer Verlag, 1987 : 27.

#### tableaux et figures

Ils sont présentés sur des pages séparées du texte et numérotés respectivement en chiffres romains et arabes.

Ils sont accompagnés de titres et de légendes suffisamment clairs et explicites.

#### abréviations

Tout sigle ou abréviation nécessaire doit être explicité à sa première apparition dans le texte.

## Rubriques

### • Editorial

Habituellement écrit à la demande du Comité de Rédaction, sur une question «d'actualité», par un auteur qui fait autorité sur le sujet. Il doit être court, de l'ordre de cinq pages dactylographiées et comporter moins de 10 références bibliographiques.

### • Revues générales

Elles ont pour objet de présenter une mise au point des connaissances et de souligner les acquisitions récentes.

Les revues générales sont normalement publiées sur invitation du comité de rédaction. Toutefois, des suggestions au rédacteur en chef peuvent être avancées.

Les recommandations de la rédaction sont identiques à celles concernant les articles originaux.

### • Articles originaux

Ils ont pour objet de présenter un travail original se rapportant à la résolution de problèmes en pathologie humaine et où la biologie tient une place prépondérante.

Le nombre de pages est limité à 15, illustrations, références et résumé compris.

Ils doivent comporter les sections suivantes dans l'ordre : titre, résumé, mots clés, introduction, matériel et méthodes, résultats, discussion, remerciements (éventuellement), références, tableaux et figures.

### • Lettres à la rédaction

Cette rubrique permet aux lecteurs de réagir à propos d'un article paru dans la RTBC, d'une nouveauté ou d'un événement en biologie clinique. La lettre doit être concise (moins de 750 mots, références comprises). Une figure ou un tableau peut y être inclus.

### • Notes de pratique quotidienne

Il s'agit d'un espace réservé à des articles courts consacrés à l'exercice quotidien de la biologie (évaluation technique et réactovigilance, cas cliniques, valeur sémiologique des analyses, organisation et gestion des laboratoires,...). Ces articles doivent comporter moins de 1500 mots, 2 tableaux ou figures au maximum, et moins de 15 références.

C & R : SAS : 71 564 622 -71 560 890 - Fax : 71 567 730  
E-mail : samira.sas@planet.tn - mestiri.sas@planet.tn