



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
FÈS



Année 2017

Thèse N° 088/17

ÉTUDE MOLÉCULAIRE DE LA SURDITÉ DE PERCEPTION D'ORIGINE GÉNÉTIQUE (A PROPOS DE 50 CAS)

THÈSE
PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 15/05/2017

PAR
Mlle. KETTANI Soukaina
Née le 19 Octobre 1990 à Fès

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLÉS :

Surdité de perception - Origine génétique - Gène GJB2 - Connexine 26 - Mutation 35 DELG

JURY

M. HIDA MOUSTAPHA..... Professeur de Pédiatrie	PRÉSIDENT
M. OULDIM KARIM..... Professeur agrégé de Génétique	RAPPORTEUR
M. RIDAL MOHAMMED..... Professeur agrégé d'ORL	JUGES
Mme. ABOURAZZAK SANA..... Professeur agrégé de Pédiatrie	
Mme. BOUGUENOUCHE LAILA..... Professeur assistant de Génétique	MEMBRE ASSOCIÉ

PLAN

PLAN	1
I. Introduction	7
II. Généralités	9
A. Rappel anatomique et histologique de l'appareil auditif	9
1. Rappel anatomique de l'appareil auditif.....	9
a. L'oreille externe	11
b. L'oreille moyenne	12
c. L'oreille interne	16
d. Nerf auditif.....	19
2. Rappel histologique	19
B. Physiologie de l'audition	21
1. Physiologie de l'oreille externe et moyenne	21
2. Physiologie de l'oreille interne	21
3. Physiologie des centres auditifs	24
C. Démarche diagnostique de la surdité	24
1. Etude clinique	24
a. Circonstance de découverte	24
b. Interrogatoire	24
c. Examen physique	25
2. Explorations fonctionnelles de l'audition	26
a. Explorations fonctionnelles subjectives de l'audition chez l'enfant	26
b. Explorations fonctionnelles objectives des voies auditives	29
3. Diagnostic étiologique	32
III. La surdité neurosensorielle d'origine génétique	33
A. Modes de transmission	33
1. le mode autosomique récessive	33

2. le mode autosomique dominant	33
3. le mode de transmission liée à l'X	36
4. le mode de Transmission mitochondrial	37
B. Classification	37
1. Les surdités non syndromiques	37
2. Les surdités syndromiques	39
C. Prise en charge et conseil	41
1. L'appareillage auditif	41
2. La rééducation orthophonique	45
3. Quelques thérapies géniques.....	45
4. Conseil génétique	46
IV. La surdité liée aux mutations du gène GJB2	47
A. Gène codant	47
B. Protéine	49
1. Définition	49
2. Rôle	51
C. Physiopathologie	52
1. Mutations du gène de la connexine 26.....	52
2. Théories actuelles sur les mécanismes de surdité liée à la Connexine 26.....	54
3. Corrélations génotype-phénotype	55
V. Matériel et méthodes	57
A. Critères d'inclusion des patients	57
B. Prélèvements	57
C. Techniques de préparation et de purification des acides nucléiques .	57
1. Par sel	58
2. Par Kit	58

3. Dosage de L'ADN	58
D. Amplification des séquences nucléotidiques par PCR	59
1. Principe	59
2. Témoins de la réaction PCR	59
3. Contrôle des produits PCR	59
E. Séquençages d'ADN	60
F. Les outils bioinformatiques	62
VI. Fiche d'exploitation	63
VII. Résultats	66
A. Données épidémiologiques	66
B. Données cliniques	67
C. Résultats de l'étude moléculaire	67
VIII. Discussion	70
A. Analyse phénotypique	70
B. Implication du gène GJB2 dans la surdité non syndromique autosomique chez les patients étudiés	72
CONCLUSION	76
RESUMES	78
REFERENCES	82
ANNEXES	94

LISTE DES ABREVIATIONS

AD	: Autosomique dominant
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AR	: Autosomique récessif
ARN	: Acide ribonucléique
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
CCE	: Cellules ciliées externe
CCI	: Cellules ciliées internes
CMV	: Cytomégalovirus
Cx26	: Connexine 26
dB	: Décibel
ddNTP	: Didéoxynucléotides interrupteurs de chaîne
DFNA	: Deafness, autosomique dominant
DFNB	: Deafness, autosomique récessif
DFNX	: Deafness, liée à l'X.
dNTP	: Deoxynucleotid
EX	: Exon
Exo	: Exonucléase
FO	: Fond d'oeil
GJB2	: Gap junction beta-2 protein
GJB6	: Gap junction beta-6 protein
IC	: Implant cochléaire
K+	: Potassium
KID syndrome	: kératodermie- ichthyose-surdité
Mgcl2	: Chloride de magnesium

NaCl	: Chlorure de Sodium
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
OEA	: Otoémissions provoquées auditifs
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PEA	: Potentiels évoqués auditifs
ROS	: Reactiveoxygenspecies
SAP	: Phosphatase alcaline de crevette
SLC26A4	: Solute carrier family 26
tRNA	: Acide ribonucléique de transfert
UMGO	: Unité de génétique médicale et d oncogénétique
UV	: Ultraviolet

I. Introduction

La surdité constitue le déficit sensoriel le plus fréquent. Elle affecte environ 1 enfant sur 1000 et sa prévalence augmente avec l'âge [1]. Actuellement, l'origine génétique est incriminée dans 60-80 % des cas [2].

10 % des surdités génétiques sont syndromiques c'est-à-dire associées à d'autres signes et 90 % sont isolées.

Le mode de transmission autosomique récessif est prédominant (près de 80 %), les formes autosomiques dominantes (20 %), liées à l'X (1 %) et mitochondriales (<1 %) ont également été décrites.

Les surdités génétiques sont, dans la grande majorité des cas, des maladies monogéniques et la déficience auditive est le plus souvent due à une atteinte cochléaire [3]. Elles sont des pathologies extrêmement hétérogènes, aussi bien sur le plan clinique que génétique. [4]

Les différentes formes de surdité non syndromiques ont, en général, été caractérisées par une analyse de liaison génétique dans de grandes familles, permettant de définir un locus. Le gène a souvent été identifié dans un second temps. Une codification internationale a été établie pour nommer chaque locus de surdité non syndromique. Par convention et à mesure de la découverte des loci, le code commence soit par DFNA (pour deafness, autosomique dominant) soit par DFNB (pour deafness, autosomique récessif), soit par DFNX (pour deafness, liée à l'X). On donne ensuite un numéro par ordre de découverte : DFNB1 à 98, DFNA1 à 64. [3]

Ainsi plus de 67 gènes incriminés dans les surdités non syndromiques ont été identifiés à ce jour en particulier le gène GJB2 localisé en 13q11, qui code pour la Connexine 26; protéine transmembranaire intervenant dans le transport intercellulaire au niveau de l'oreille interne. Ce gène est muté dans environ 10 % de

toutes les surdités de l'enfant et dans plus de 50 % des surdités récessives non syndromiques. [5]

Plus de 100 différentes mutations et de nombreux polymorphismes de GJB2 ont été décrits. La mutation, 35delG, représente 65 % des anomalies de ce gène dans les populations caucasiennes. D'autres mutations fréquentes existent dans d'autres ethnies. Le taux de porteurs hétérozygotes sains dans la population caucasienne est estimé entre 1 et 3 %.

Ces mutations sont responsables d'une surdité neurosensorielle de transmission autosomique récessive (DFNB1), d'une surdité neurosensorielle beaucoup plus rare de transmission autosomique dominante (DFNA3), et de différentes surdités associées à des signes cutanés : syndrome de Vohwinkel (surdité associée à une hyperkératose palmoplantaire), syndrome de KID,

L'objectif de ce travail est la mise au point de l'étude moléculaire du gène GJB2 au sein du service de génétique médicale et d'oncogénétique du CHU HASSAN II Fès afin de déterminer la prévalence et le spectre des mutations de ce gène et en particulier la mutation 35delG dans notre population, d'établir un phénotype clinique et de proposer un conseil génétique adéquat.

II. GENERALITES

La surdité est un état pathologique caractérisé par une perte partielle ou totale uni ou bilatérale du sens de l'ouïe. Deux grandes variétés de surdité doivent être distinguées :

- Les surdités de transmission qui sont dues soit à une pathologie de l'oreille externe, de l'oreille moyenne ou des deux.
- Les surdités de perception (ou de réception ou neurosensorielle) qui sont liées aux atteintes de l'oreille interne ou à celles des voies nerveuses.

Ces surdités de perception peuvent encore être classées en :

- Cochléaire ou endocochléaire lorsque l'affection siège au niveau du limaçon,
- Rétrocochléaire lorsque la lésion est située sur le premier neurone,
- Centrale lorsque le deuxième et les troisièmes neurones sont en cause.

Une troisième variété peut être représentée par les surdités mixtes correspondant à l'association des surdités de perception et de transmission où l'une peut prédominer sur l'autre. [6]

Notre étude porte sur les surdités de perception.

A. Rappel anatomique et histologique de l'appareil auditif

1. Rappel anatomique de l'appareil auditif

L'oreille est portée par l'os temporal et comprend deux parties de fonctions différentes :

L'appareil de l'audition qui est composé de :

- L'oreille externe : dotée de plusieurs fonctions : amplification et localisation spatiale de l'onde sonore, rôle de protection de l'oreille moyenne.
- L'oreille moyenne : chargée de recueillir et de transmettre l'onde sonore.
- La partie antérieure de l'oreille interne : la cochlée qui perçoit ces ondes.

L'appareil de l'équilibration qui est formée par la partie postérieure de l'oreille interne : le vestibule et les canaux semi-circulaires.

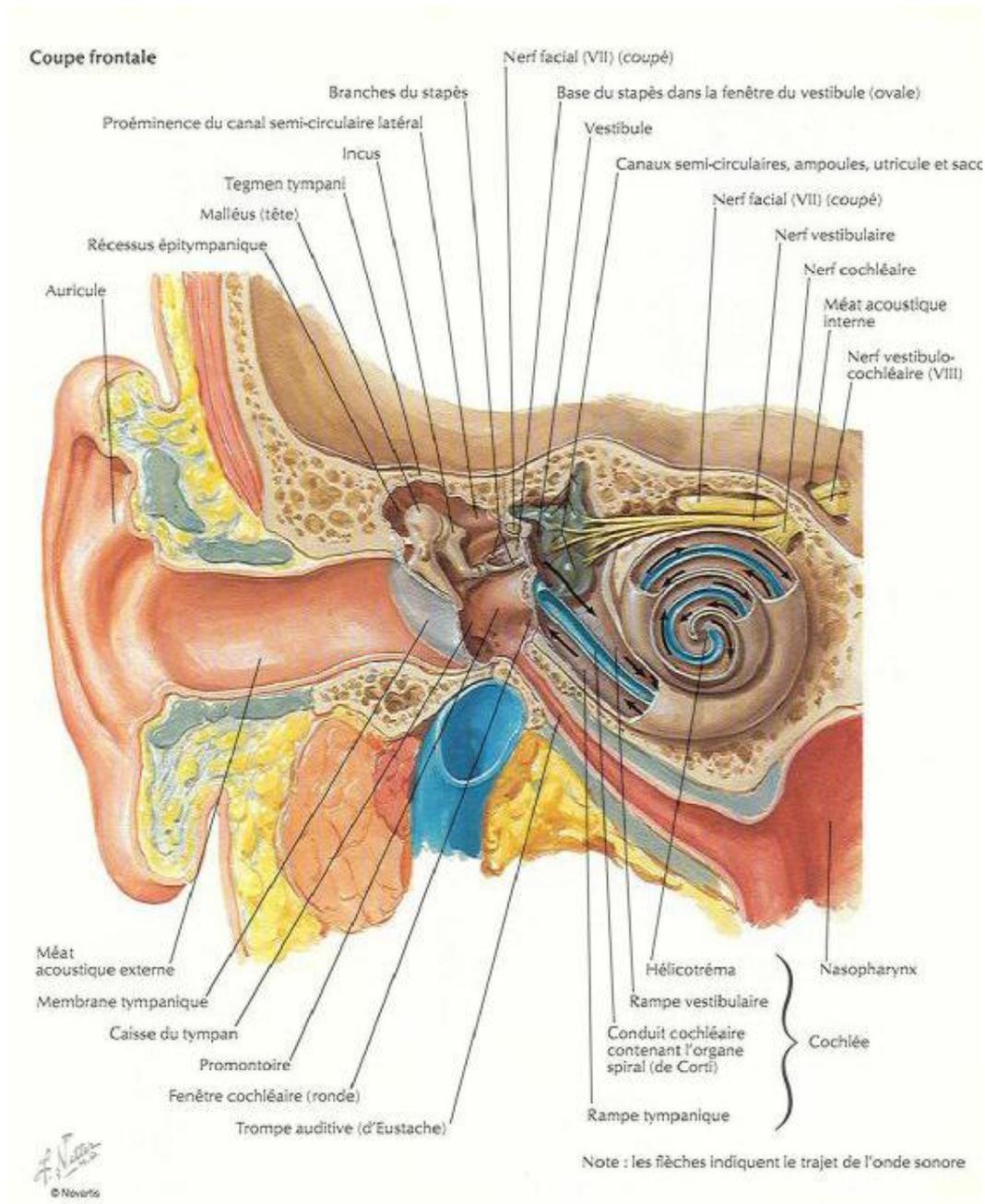


Figure n°1 : Schéma de l'oreille humaine [7]

a.L 'oreille externe :

C'est la partie la plus externe de l'appareil auditif. Elle dérive de la première poche branchiale ectoblastique, qui émet d'une part, un cordon en profondeur qui se creuse pour former le conduit auditif externe et la couche externe du tympan, d'autre part six bourgeons aux dépend des deux premiers arcs branchiaux, qui donnent le pavillon :

- Le pavillon : c'est une structure lamellaire armée de fibrocartilage qui lui donne sa fixité, sa rigidité, sa forme et son élasticité. De forme ovale à grosse extrémité supérieure, le pavillon présente à décrire deux faces : une externe tourmentée et une interne presque lisse.

Sur la face externe, on décrit en haut et en arrière un relief appelé hélix, et à la partie moyenne une excavation ou conque limitée par une petite saillie appelée anthélix, le tragus placé en avant de la conque, au-dessous de l'hélix et à la partie inférieure une formation de consistance molle appelée le lobule de l'oreille.

- Le conduit auditif externe : en forme d'un S italique, c'est un canal en partie cartilagineux, en partie osseux. Il a une longueur de vingt-cinq millimètres environ et cinq à dix millimètres de diamètre.

La partie fibro-cartilagineuse prolonge en dedans l'armature du pavillon et renferme de nombreuses glandes cérumineuses spécialisées dans la sécrétion de cérumen.

La portion osseuse représente à peu près les deux tiers internes du conduit auditif externe et est constituée par l'écaille de l'os temporal en haut, l'apophyse mastoïde en arrière et l'os tympanal en bas.

b. L'oreille moyenne :

Creusée presque entièrement dans l'os temporal, elle présente à décrire la membrane tympanique, la caisse du tympan et son contenu, la cavité mastoïdienne et la trompe d'Eustache.

Ø La membrane tympanique :

Elle constitue la grande partie de la paroi externe de la caisse ; c'est une membrane fibreuse, élastique, ovalaire, mince, mais résistante, de un centimètre de diamètre environ, en verre de montre, d'un aspect blanc-nacré, blanc grisâtre ou gris-pâle, insérée dans un cadre osseux appelé sulcus.

Elle est constituée de la pars flaccida ou membrane de Schrapnell située au-dessus des ligaments tympano-malléolaires et de la pars tensa, la plus vaste portion placée en dessous de ces ligaments. Elle est inclinée de 30-35° à la naissance et de 45°chez l'adulte sur le plan horizontal, concave sur sa face externe, convexe vers l'oreille moyenne.

Ø La caisse du tympan :

C'est une cavité aérienne interposée entre l'oreille externe et l'oreille interne.

Elle provient d'un prolongement de la première poche entoblastique, le canal tubo-tympanique, qui creuse progressivement (de la 10e semaine au 5e mois) le mésenchyme et englobe les osselets formés à partir du mésoblaste des premier et deuxième arcs branchiaux. Sur une coupe verticale on distingue trois régions :

- Au-dessus : l'attique renfermant les osselets,
- En regard : l'atrium
- En dessous : le récessus hypotympanique ou hypotympanum

Cette caisse présente à décrire six parois :

- Une paroi interne ou labyrinthique qui comporte essentiellement deux dépressions ou fenêtres. La première est la fenêtre ovale qui met la platine de l'étrier en relation directe avec les liquides labyrinthiques de l'oreille interne. Cette fenêtre s'ouvre dans la rampe vestibulaire. La deuxième fenêtre est appelée fenêtre ronde, fermée par une mince membrane, elle communique avec la rampe tympanique et est très mobilisable lors des mouvements des liquides labyrinthiques.
- Une paroi externe ou tympanique fermée au trois-cinquième par le tympan.
- Une paroi antérieure, occupée par l'orifice de la trompe d'Eustache.
- Une paroi postérieure, délimitée par le massif mastoïdien et divisée en
- deux portions : l'aditus ad antrum et le retrotypanum.
- Une paroi supérieure, servant de cloison entre la caisse du tympan et les méninges.
- Une paroi inférieure, séparant la caisse du tympan et la veine jugulaire externe.

La région supérieure de la caisse du tympan ou attique renferme un ensemble de trois osselets constituant la chaîne ossiculaire, elle est composée de dehors en dedans par :

- Le marteau ou malléus, le plus externe, antérieur et le plus long des osselets, est enchâssé dans la membrane tympanique ;
- L'enclume ou incus, le plus lourd des osselets, est la pièce intermédiaire ;
- L'étrier ou stapès, le plus léger des osselets est formé de deux branches et d'une platine. Il joue dans la fenêtre ovale. C'est l'élément mobile et le plus important de la chaîne ossiculaire.

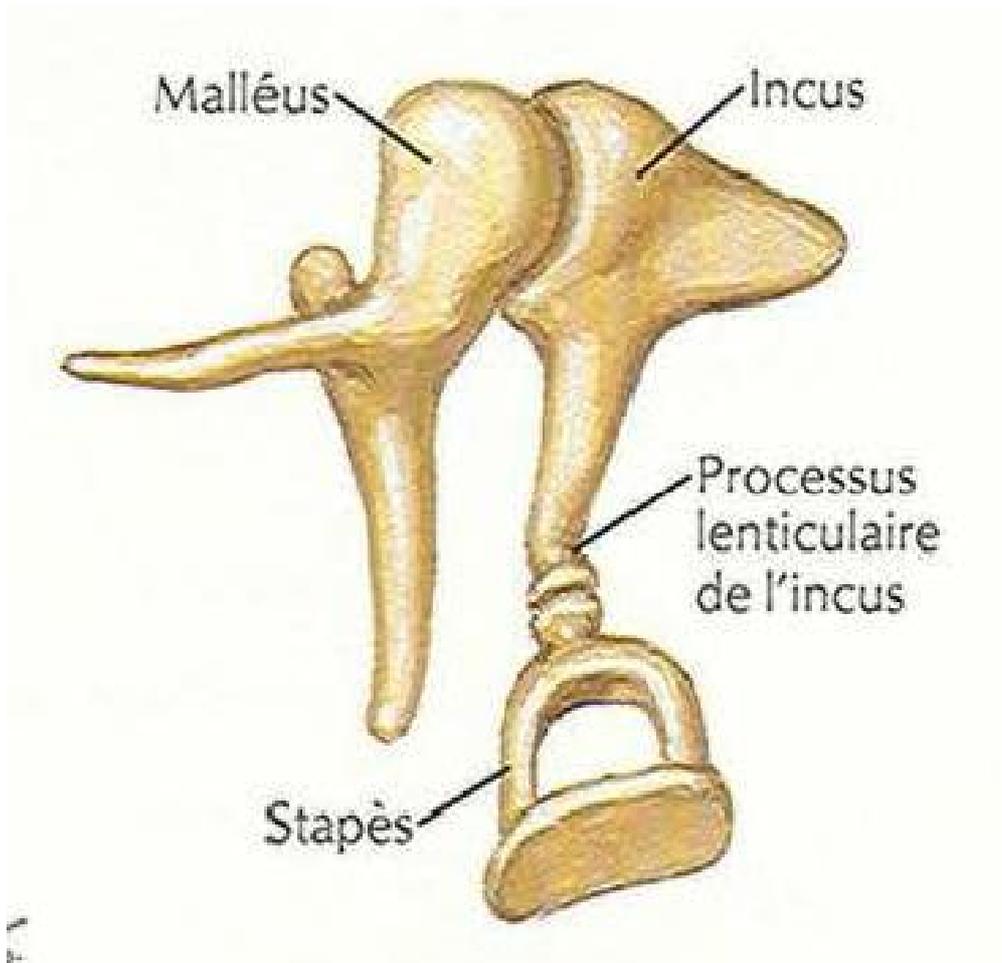


Figure 2 : Osselets articulés : vue médiale [7]

La région inférieure de la caisse du tympan ou atrium communique avec la trompe d'Eustache.

Ø La trompe d'Eustache :

Le tube auditif ou trompe d'Eustache est un conduit ostéocartilagineux qui relie la cavité tympanique au pharynx et assure la ventilation de l'oreille moyenne.

Il est large de quatre centimètres, et a la forme d'un cône aplati. Il est constitué de deux segments :

- Un segment osseux, le protympanum, inclus dans le temporal ;
- Un segment fibro-cartilagineux qui relie la caisse du tympan au rhinopharynx.

La trompe d'Eustache possède deux orifices :

- Un orifice postérieur ou tympanique qui s'ouvre dans la caisse du tympan
- Un orifice pharyngien qui communique avec la paroi latérale du cavum.

Celui-ci s'ouvre lors des mouvements de déglutition et de baillement.

Ø La mastoïde :

C'est un bloc osseux en forme de pyramide triangulaire situé derrière le conduit auditif externe. Il est creusé par de nombreuses cellules pneumatiques appelées cellules mastoïdiennes, dont la plus importante est l'ancre qui est reliée à la caisse du tympan par un conduit osseux appelé aditus ad antrum.

c. L'oreille interne :**Ø Labyrinthe osseux :**

Système de canaux tortueux creusés dans l'os qui comprend trois régions :

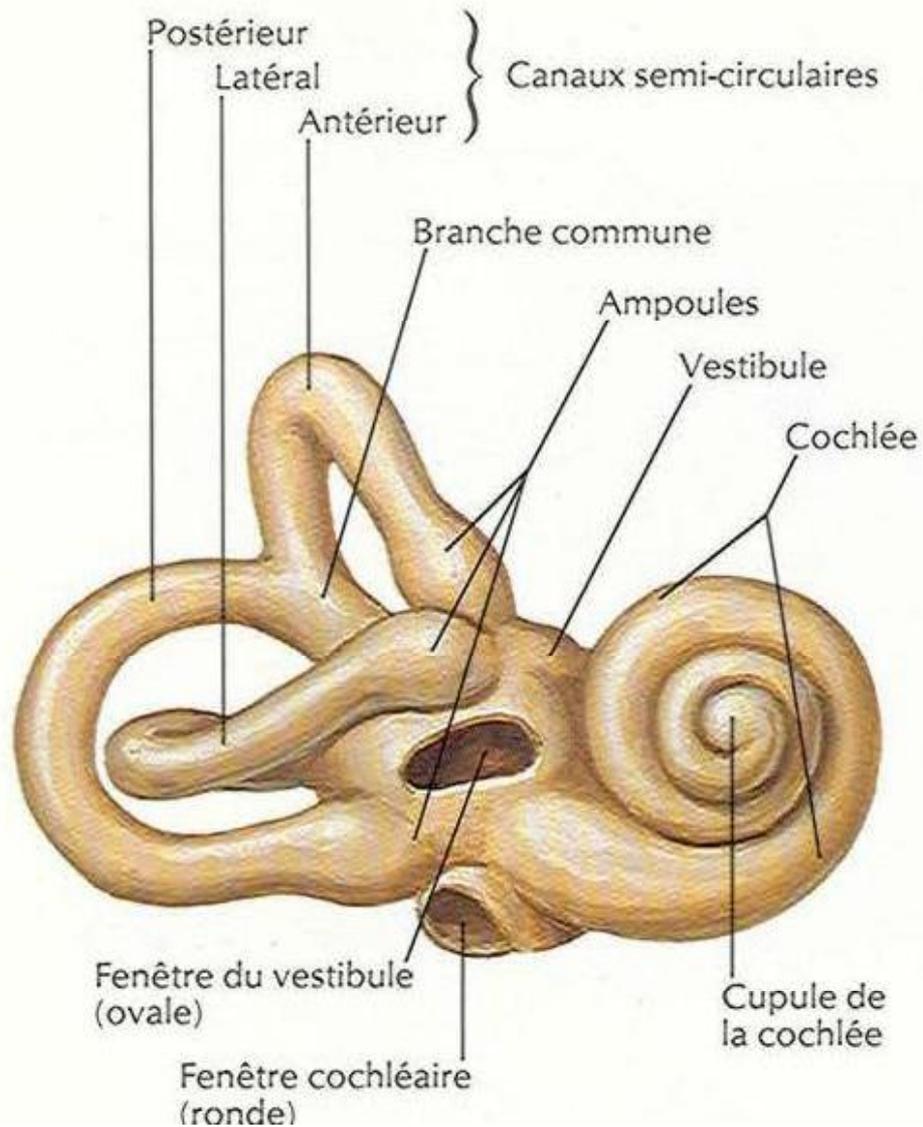


Figure 3 : Labyrinthe osseux droit (capsule otique), vue antérolatérale : après ablation de l'os environnant [7]

- Cochlée :

Cavité osseuse spiralée et conique en forme d'un petit escargot dont la spirale décrit deux tours et demi autour d'un pilier osseux appelé columelle.

- Vestibule :

Cavité ovoïde située au centre du labyrinthe osseux entre la cochlée en avant et les canaux semi-circulaires en arrière.

- Canaux semi-circulaires :

Au nombre de trois : antérieur, postérieur et extérieur, situés dans trois plans orthogonaux de l'espace, et s'ouvrent dans le vestibule, chaque canal présente une extrémité dilatée ou ampoule et une partie cylindrique

Ø **Labyrinthe membraneux** :

Moulé dans l'os osseux .Il est formé de conduits et de dilatations remplis d'endolymphe.

- La cavité cochléaire

Comprend trois parties :

ü Rampe vestibulaire : unie au vestibule et abouti à la fenêtre ovale.

ü Le conduit cochléaire membraneux : serpente au centre de la cochlée et se termine en cul de sac à son sommet. il abrite l'organe spiral (ou organe de corti), le récepteur de l'audition.

ü Rampe tympanique : qui se termine à la fenêtre ronde.

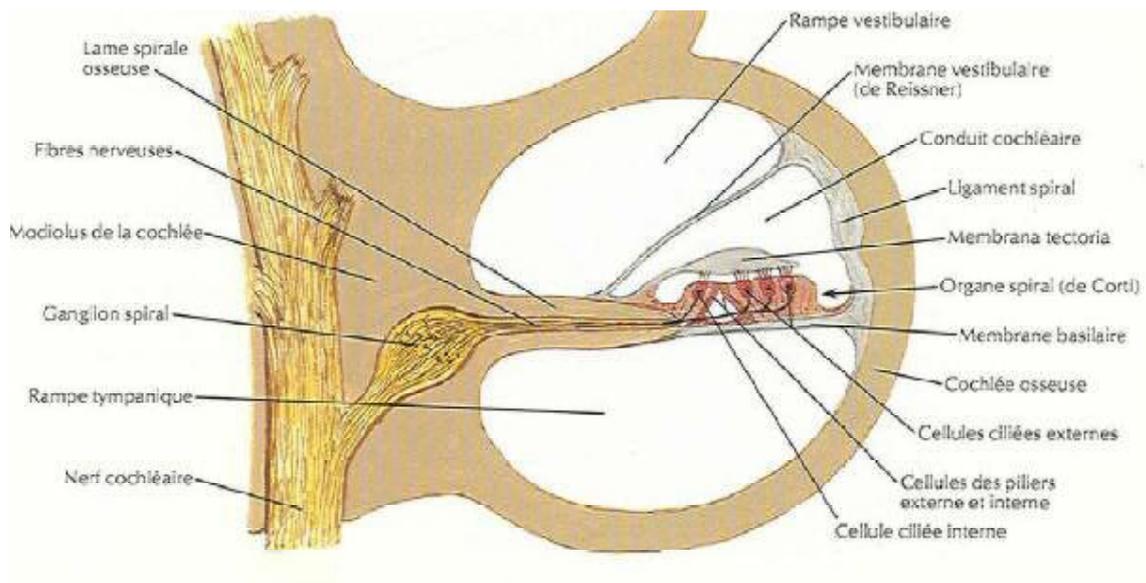


Figure 4 : Coupe à travers une spire de la cochlée [7]

- Le vestibule membraneux :

Contient deux sacs ovoïdes, l'utricule et le saccule, et trois canaux semi-circulaires situés dans trois plans perpendiculaires .L'utricule et le saccule sont réunis par le canal endolymphatique.

d. Nerf auditif :

De l'oreille interne naît le nerf de l'audition (7ème paire crânienne), qui conduit les impulsions électriques vers le lobe temporal .Le nerf auditif ou nerf cochléo-vestibulaire est constitué de deux contingents fibres cochléaires (véritable nerf auditif) fibres vestibulaires (de l'équilibration) [8,9]

2. Rappel histologique :

L'organe de Corti est l'élément sensoriel où sont situés les récepteurs de l'audition. Il s'enroule de la base à l'apex de la spirale cochléaire et repose sur la membrane basilaire entre deux sillons :

Le sillon spiral interne et le sillon spiral externe. Il est composé de cellules sensorielles ciliées, de fibres nerveuses, de cellules de soutien et de cellules annexes non sensorielles [10-11].

Les cellules sensorielles sont représentées par trois rangées de cellules ciliées externes et une seule rangée de cellules ciliées internes. Les stéréocils, principalement constitués d'actine, surmontent les cellules ciliées et sont disposés sur trois rangées. Ils sont reliés entre eux par de nombreux liens constitués par l'association de plusieurs cadhérines 23. [6,12] Les plus longs stéréocils des CCE sont ancrés dans une structure amorphe recouvrant l'organe de Corti : la membrane tectoriale. Cette dernière est composée de fibres de collagène et par des protéines telles que l'A et B tectorine et l'otogeline.

L'organe de Corti reçoit une double innervation à la fois afférente et efférente.

L'innervation afférente provient des neurones de type I et II du ganglion spiral, dont les axones projettent vers les noyaux cochléaires. L'innervation efférente provient de neurones appartenant à deux systèmes distincts dont les corps cellulaires se situent dans les noyaux du tronc cérébral. Le prolongement axonal de l'ensemble de ces neurones constitue le nerf cochléaire.

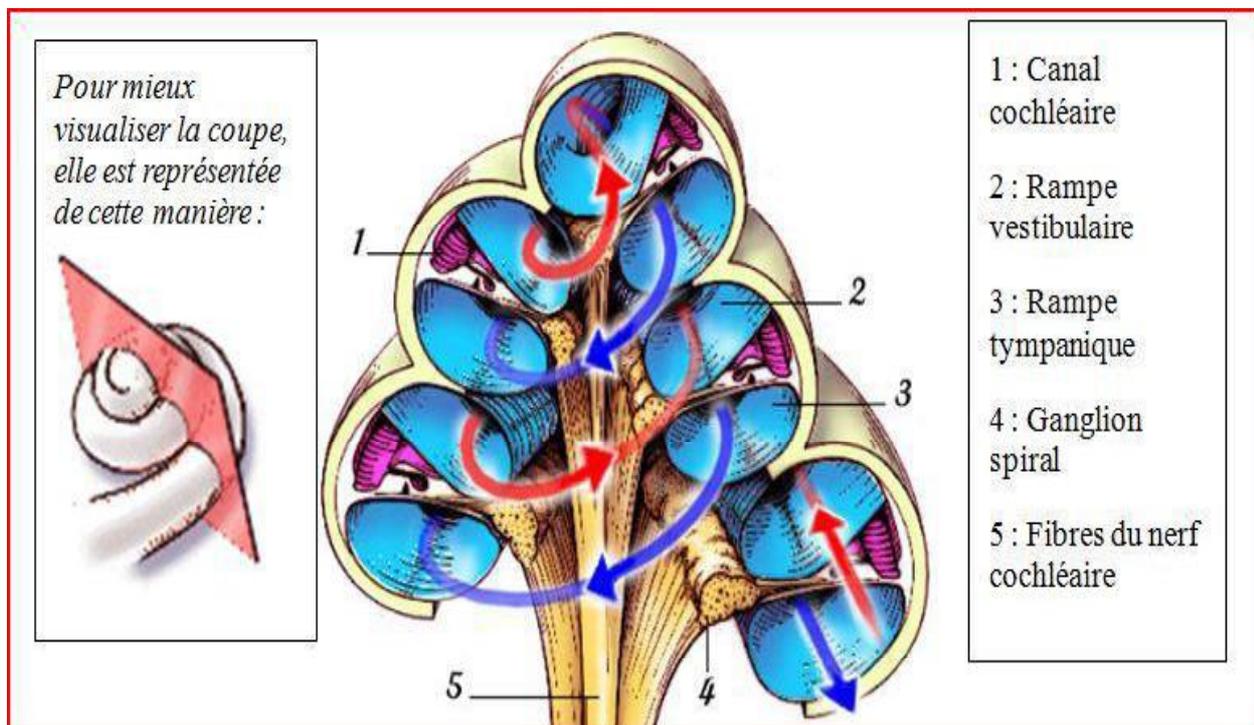


Figure n°5 : Coupe axiale passant par le canal cochléaire avec agrandissement de l'organe de Corti [5]

B. PHYSIOLOGIE DE L'AUDITION

La physiologie du système auditif comprend la physiologie de l'oreille externe, de l'oreille moyenne et de l'oreille interne ainsi que la physiologie du système auditif nerveux.

1. Physiologie de l'oreille externe et moyenne

L'oreille externe, surtout la membrane tympanique, a deux fonctions : protection de l'oreille moyenne et amplification du champ sonore [6].

L'oreille moyenne a pour fonction principale de transformer les vibrations sonores aériennes en variations de pressions dans les compartiments liquidiens de l'oreille interne.

Cette transformation est possible grâce aux déplacements de la membrane tympanique et de la chaîne ossiculaire, permettant une adaptation d'impédance entre les milieux extérieur (aérien) et le milieu intérieur ; cochléaire (liquidien) [6].

L'oreille moyenne, par l'intermédiaire des muscles de l'oreille moyenne (muscles tensor tympani et stapédien), exerce également une fonction de protection vis-à-vis de l'oreille interne [6].

2. Physiologie de l'oreille interne

L'oreille interne convertit, au niveau de la cochlée, une information mécanique (le son) en une énergie bioélectrique sous formes de potentiels d'action circulant dans les fibres du nerf auditif ou nerf cochléaire. Cette transduction repose sur les deux types cellulaires de l'organede Corti : les cellules ciliées externes et les cellules ciliées internes.

Les cellules ciliées externes ont une forme cylindrique et leur longueur croit de la base à l'apex de la cochlée. Elles possèdent des stéréocils disposés en W. Une

stimulation sonore provoque une déflexion des stéréocils entraînant une hyperpolarisation ou une dépolarisation cellulaire.

Les cellules ciliées internes, sont des cellules neurosensorielles. Leur corps cellulaire est piriforme, leurs stéréocils sont disposés en ligne. Lors d'une stimulation acoustique, une déflexion des stéréocils se produit entraînant ainsi un changement de la perméabilité cellulaire à l'origine d'une différence de potentiel. Ces cellules assurent à la fois la transduction de la vibration mécanique en signal électrique et le transfert de l'information par la libération de neurotransmetteur (glutamate) aux fibres du nerf auditif [13].

Le neurotransmetteur, ainsi libéré, active les récepteurs au niveau des fibres du nerf auditif.

Un message nerveux va être véhiculé par les neurones auditifs vers le système nerveux central.

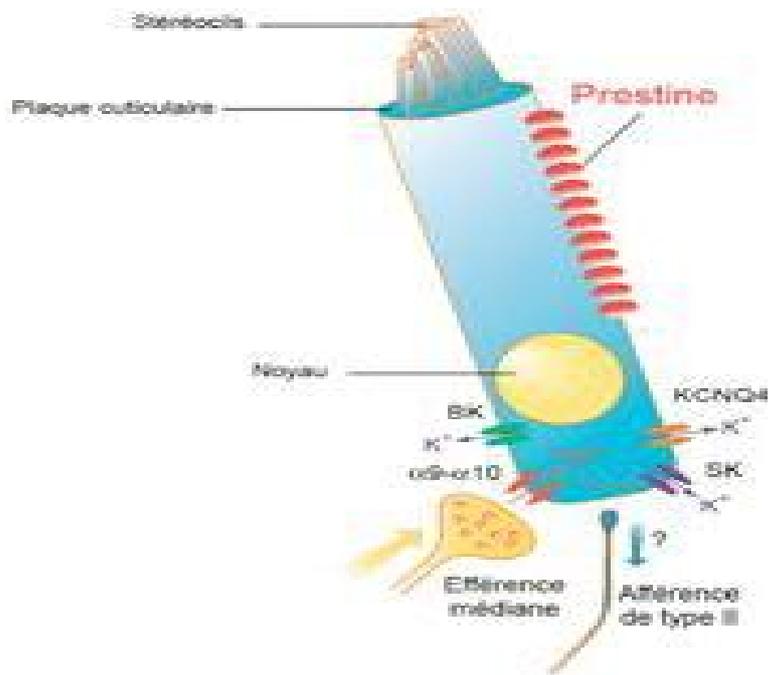


Figure6 : Représentation schématique d'une cellule ciliée externe [13]

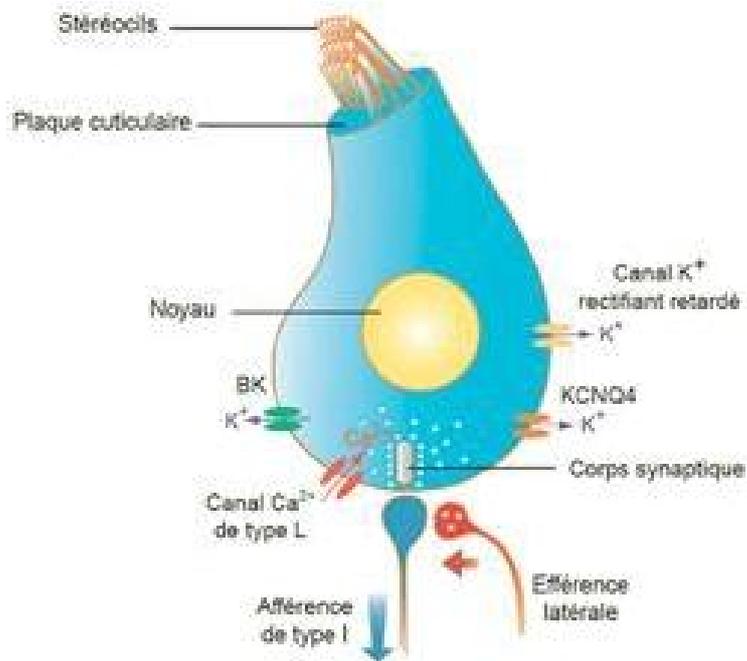


Figure 7 : Représentation schématique d'une cellule ciliée interne [13]

3. Physiologie des centres auditifs

Les messages auditifs sont véhiculés sous forme de potentiels d'action par le contingent des fibres afférentes du nerf cochléaire jusqu'au noyau cochléaire du tronc cérébral. L'information chemine de relais en relais jusqu'au cortex auditif [6].

C. Démarche diagnostic de la surdité

1. Etude clinique :

a. Circonstances de découverte:

C'est la surdité plus ou moins associée à des acouphènes, quelquefois des acouphènes isolés, un bilan soigneux doit être effectué.

b. Interrogatoire :

Cet examen commence toujours par l'interrogatoire en :

- Précisant l'identité, la profession, le mode de vie du sujet, antécédent familiaux et consanguinité ;
- Le mode d'apparition : brutal et peut se poser alors le problème d'une urgence, ou progressive ;
- Recherchant l'existence de symptômes associés : otalgie, hypoacousie, bourdonnements d'oreille, vertiges, otorrhée, paralysie faciale ;
- Précisant l'histoire ORL du malade, en particulier les antécédents d'otite, de sinusite, la prise de médicaments ototoxiques, les antécédents de méningite, traumatisme crânien ou sonore, les antécédents familiaux, notamment de pathologie rhino-sinusienne et de surdité.

L'interrogatoire qui est fondamentale permet encore de distinguer deux catégories de patients pour préciser davantage les caractères de la surdité :

Ceux qui entendent mal ;

- La gêne auditive n'apparaît que pour les sons ou les voix de faible intensité

- L'amplification améliore la situation et l'appareillage est facile.

Ceux qui comprennent mal : c'est l'intelligibilité

- Le sujet entend les sons, mais ne comprend pas leur sens ;
- L'amplification donne une distorsion de sons et l'appareillage risque d'être difficile [14].

c. Examen physique :

Ø L'otoscopie

Elle apporte souvent la clé du diagnostic en montrant : un bouchon de cérumen, un rétrécissement du conduit auditif ou une perforation tympanique ; en somme toute entrave à la transmission du son sur les premiers segments de l'oreille.

Ø L'étude de la voix haute et de la voix chuchotée

Il est demandé au sujet de répéter des chiffres prononcés à voix haute ou chuchotée. Chaque côté est étudié séparément en bouchant l'oreille controlatérale.

Le sujet normal entend la voix chuchotée à 4,5 m et la voix normale à 6 m de distance [15].

Si le sujet ne peut répéter la voix haute prononcée au ras du conduit, c'est une surdité profonde. Quand la voix haute est perçue au conduit mais pas la voix chuchotée, c'est une surdité sévère atteignant environ 60 dB de perte auditive.

Lorsque la voix chuchotée est perçue à 30cm au plus du pavillon, il s'agit d'une surdité atteignant 30 ou 40 dB de perte auditive en moyenne. [16]

Ø L'acoumétrie

Cet examen fait avec un diapason 256 ou 512 reste fondamental pour orienter la clinique et éviter de grossières erreurs audiométriques. On a recours essentiellement aux épreuves de Weber et de Rinne.

Lors des surdités de perception, le Weber est latéralisé dans l'oreille saine et le Rinne est positif (la conduction aérienne est meilleure que la conduction osseuse), alors que dans les troubles de transmission du son, le Weber est latéralisé du côté de l'oreille atteinte et le Rinne est négatif (la conduction osseuse supplante la conduction aérienne). [17]

2. Explorations fonctionnelles de l'audition

L'évaluation de la fonction auditive chez l'enfant relève d'une approche subjective et d'une approche objective.

a. Explorations fonctionnelles subjectives de l'audition chez l'enfant :

Les tests réalisés sont différents selon l'âge de l'enfant.

Ø De la naissance à 3 mois : test du babymètre :

Ce test, d'interprétation subjective, a perdu de son intérêt depuis l'apparition des otoémissions. Le babymètre permet l'émission dans un écouteur de bruit filtré dans la zone grave, inférieure à 500Hz, dans la zone des fréquences moyennes entre 1000 et 2000Hz et dans la zone des fréquences aiguës supérieures à 2500Hz [18, 19]. Le bruit est émis à une intensité variable de 35 à 100dB.

Les réactions de l'enfant sont observées en présence de stimuli auditifs. Il existe différents types de réponses :

- Réponses élémentaires : réflexe cochléo-musculaire, réflexe cochléo-palpébral
- Réactions posturales
- Des modifications de comportement (arrêt ou début des pleurs, arrêt ou reprise de la succion) [18, 19]

Les réactions motrices observées correspondent à la levée des yeux, froncement des sourcils ou encore arrêt ou reprise de la succion [18].

Les résultats :

- Le test est positif des deux côtés pour les différentes fréquences étudiées : il est considéré comme normal. Il s'agit d'un test de dépistage visant à éliminer une surdité bilatérale sévère ou profonde.
- Le test est positif d'un seul côté et/ou pour certaines fréquences : une surdité est suspectée. L'enfant sera revu systématiquement entre 3 et 6 mois.
- Le test est négatif : une surdité sévère ou profonde doit être suspectée. La poursuite des examens audiométriques s'imposent [19].

Ø De 3 à 12 mois : réflexe d'orientation-investigation.

Ce test est basé sur le réflexe d'orientation-investigation vers la source sonore. Il étudie les réponses de l'enfant à des stimulations sonores variées en intensité et en fréquence [19].

- De 3 à 6 mois : test de réaction vocale : les réactions de l'enfant sont étudiées en réponses à des bruits vocaux. , à 6 mois, la réponse normale se situe autour de 40 dB.
- Dès l'âge de 5 à 6 mois : stimulation par ossivibrateuren utilisant des sons réactogènes type alternance de deux fréquences (1000/1500 Hz, 3000-4000 Hz), il est souvent possible de faire accepter le vibreur et d'obtenir des réponses de bonne qualité.

Ø De 1 à 2 ans : le réflexe d'orientation conditionné

Le réflexe d'orientation conditionné (ROC) utilise le réflexe d'orientation vers la source sonore mais en conditionnant l'enfant par une récompense visuelle [8]. L'enfant est assis sur les genoux d'un adulte et est placé devant deux haut-parleurs à moins de un mètre. Dans un premier temps, la stimulation sonore (son de fréquence grave et d'intensité forte) est émise en même temps qu'apparaît une scène visuelle de façon à intéresser l'enfant. Dans un deuxième temps, le son est

envoyé isolément. Ce bruit précède la scène visuelle captivante. L'enfant oriente sa tête vers le bruit, puis la scène visuelle est envoyée (récompense). Ce test explore l'audition binaurale [19].

Les résultats :

- Une réponse positive, répétée pour le même stimulus, affirme la perception.
- Une réponse négative ne correspond à une absence de perception que si le conditionnement est bien établi. L'intensité au-dessous de laquelle l'enfant ne réagit pas, détermine le seuil en champ libre ce qui correspond à la meilleure oreille sans localiser le côté[19].

Ø De 2 à 4 ans : le conditionnement son-action

Le conditionnement son-action (Peep-Show) est utilisé. Les réponses de l'enfant doivent s'intégrer dans un jeu [20].Le conditionnement consiste à expliquer à l'enfant que dès qu'il entend un son, il devra appuyer sur un interrupteur pour déclencher l'apparition d'une scène

visuelle captivante (passage d'un train électrique, extrait d'un dessin animé, projection de diapositives) [19]. Ce test peut être réalisé avec un casque ; permettant l'étude de la conduction aérienne de chaque oreille, ou en champ libre si l'enfant n'accepte pas le port du casque. [19]

Ø A partir de 5ans : audiométrie tonale classique

A partir de 5 ans, l'audiométrie classique peut être réalisée.

Pour l'audiométrie tonale, les mêmes conditions techniques que pour les adultes peuvent être utilisées. Cependant pour rendre l'examen plus attractif, on peut proposer à l'enfant de réaliser un jeu (déplacer des billes, compléter un puzzle, encastrier des éléments de jeu de construction) lorsque le son est entendu [19]. Le seuil tonal doit être toujours vérifié par une audiométrie vocale [18, 19].

Pour l'audiométrie vocale, la plus grande coopération de l'enfant est nécessaire. Les résultats doivent être interprétés en fonction des possibilités d'expression orale de l'enfant. A partir de 2 ans, le test de désignation d'images et test de répétition de mots d'enfants peut être utilisés. Le matériel vocal utilisé peut être soit des listes fermées (mots attendus par l'enfant) ou des listes ouvertes (mots imprévus) [19].

b. Explorations fonctionnelles objectives des voies auditives :

Ces explorations ne nécessitent pas la participation active de l'enfant mais ce dernier doit être suffisamment calme pour en permettre la réalisation.

Ø Les otoémissions acoustiques :

Les otoémissions acoustiques (OEA) ont été découvertes en 1978 par Kemp. Elles représentent une quantité d'énergie émise par l'oreille interne (cellules ciliées externes) vers l'oreille moyenne, puis vers la chaîne ossiculaire jusqu'à la membrane tympanique. Cette énergie est traduite par le tympan en signal sonore [21].

Il existe divers types d'OEA : les OEA spontanées et les OEA provoquées (OEAp). Les premières sont émises spontanément par les cellules ciliées externes en dehors de toute stimulation sonore [21]. Les OEAp sont une réponse acoustique générée par les cellules ciliées externes cochléaires en réponse à une stimulation sonore. Cette stimulation acoustique est représentée par un « click » qui est un mélange de plusieurs sons différents d'une durée très brève [21]. Ce sont les OEAp qui sont proposées comme test de dépistage en période néonatale [21, 22, 23].

Il existe une forme très particulière d'OEAp, appelée les produits de distorsion acoustique (PDA). Les PDA sont des OEA provoquées par la stimulation élective de la cochlée par deux sons purs [22, 24]. Les PDA sont générés sur le même principe que les OEA, mais la réponse est plus spécifique car elle permet une exploration auditive plus précise au niveau fréquentiel [18].

Les PDA sont beaucoup moins employés dans le dépistage de la surdité chez le nouveau-né mais ont été proposés chez l'adulte comme moyen de dépistage des surdités liées au travail dans le bruit [25, 22]. Dans une étude prospective menée par Ruggieri-Marone et al., l'amplitude des PDA a été mesurée puis comparée chez des nouveau-nés traités par ototoxiques à différentes phases du traitement [26].

Ø Les Potentiels évoqués auditifs :

Il s'agit d'un test objectif. Les potentiels évoqués auditifs (PEA) du tronc cérébral correspondent à l'enregistrement de surface de l'activité électrique de la cochlée, de la branche cochléaire du nerf vestibulocochléaire et des premiers relais du tronc cérébral lors d'une stimulation sonore [27].

L'enregistrement des PEA dérivent du principe de l'électroencéphalogramme. Le principe est d'enregistrer par des électrodes de surface des potentiels électriques qui prennent naissance à différents niveaux du système nerveux en réponse à une stimulation acoustique [19].

Selon la chronologie d'apparition des réponses obtenues, il existe les potentiels précoces, semi-précoces et tardifs [19, 27].

Depuis les années 1980, les PEA du tronc cérébral ont été développés pour la recherche de lésions rétro-cochléaires et pour la recherche de seuils auditifs chez l'enfant [22]. Les PEA peuvent être enregistrés selon différentes méthodes : la méthode classique, la méthode selon un mode automatisé et la méthode par la dynamique temporelle du tronc cérébral [22].

Ø L'impédancemétrie

Elle comprend l'étude des réflexes stapédiens et la tympanométrie [18]. Il ne s'agit pas d'un véritable examen audiométrique mais il a une place importante dans le bilan auditif de l'enfant car il permet d'explorer l'oreille moyenne [25].

La tympanométrie, précédée d'un examen otoscopique, mesure les variations d'impédance de l'oreille moyenne lors de variations de pressions appliquées dans le méat acoustique externe [19]. Ce test permet de tester la pression aérienne de l'oreille moyenne, de la mécanique du tympan, de la chaîne des osselets et des cavités de l'oreille moyenne [19].

Le réflexe stapédien (ou réflexe acoustique) permet l'étude des réflexes des muscles de l'oreille moyenne. Ce réflexe met en jeu des voies nerveuses complexes [27]. La voie afférente est la racine cochléaire du nerf vestibulocochléaire et la voie efférente est le nerf facial. Les deux muscles présents dans l'oreille moyenne sont sollicités : le muscle stapédien (qui s'insère à la partie postérieure de la tête du stapes) et le muscle tensortympani (relié au malléus) [27]. Une stimulation acoustique intense (90 à 95 dB) provoque la contraction de ces muscles ce qui augmente la rigidité de l'ensemble de la chaîne ossiculaire [27]. La présence de réflexes stapédiens permet d'éliminer une surdité profonde bilatérale mais ne permet en aucun cas d'affirmer une audition normale [19]

3. Diagnostic étiologique :

Une fois le diagnostic de surdité est confirmé, on organise un bilan étiologique. Il n'existe pas de consensus officiel. Le bilan habituellement demandé chez l'enfant est le suivant [28] :

- Une consultation en ophtalmologie (bilan étiologique et recherche d'un deuxième déficit associé à compenser): Parmi les enfants vivant avec des surdités sévères et profondes, on retrouve près de 50 % d'anomalies ophtalmologiques. De plus, le fond d'œil est le seul moyen de mettre en évidence la rétinite pigmentaire du syndrome d'usher avant l'apparition de la déficience visuelle chez le grand enfant ou jeune adulte. L'examen ophtalmologique peut également retrouver des signes évocateurs de certaines causes extrinsèques [toxoplasmose notamment, rubéole, cytomégalovirus].

L'ECG (allongement de l'espace QT dans le syndrome de Jervell Lange Nielsen) et la recherche d'une hématurie par bandelette urinaire en cas de surdité évolutive (syndrome d'Alport) sont systématiques

- Sérologie CMV.
- Scanner des rochers : La tomодensitométrie des rochers a pour but de rechercher une malformation de l'oreille interne. L'existence d'une malformation permet d'affirmer le caractère congénital de l'atteinte dans les formes d'apparition secondaire Consultation génétique.
- La recherche de mutations de la connexine 26 est demandée systématiquement sauf en cas de surdité syndromique ou d'une étiologie confirmée. Un caryotype est effectué en cas de surdité syndromique ou d'anomalies morphogéniques associées.

III. LA SURDITE NEUROSENSORIELLE D'ORIGINE GENETIQUE

A. Modes de transmission :

Tous les modes de transmission sont retrouvés dans les surdités génétiques.

En effet, le mode de transmission autosomique récessif est le plus fréquent (près de 80%), mais sont également décrits le mode autosomique dominant (20%), la transmission liée à l'X et la transmission par le génome mitochondrial dans moins de 1% des cas. (Tableau n°1)

1. Le mode autosomique récessif (AR):

Dans ce mode de transmission, les deux allèles du gène doivent être mutés pour que le sujet soit sourd. Les deux parents porteurs d'une copie anormale (allèle) du gène en cause (porteurs hétérozygotes) sont normoentendants et, statistiquement, un quart des enfants (garçon ou fille) sont sourds, porteurs de mutations sur les deux allèles du gène (homozygotes). Le mode de transmission autosomique récessif est favorisé par la consanguinité. (Figure n°8)

On estime qu'environ trois quarts des surdités non syndromiques se transmettent sur le mode AR et ce mode est le deuxième en fréquence dans les surdités syndromiques.

2. Le mode autosomique dominant (AD):

Dans ce mode de transmission, les sujets ayant un seul allèle muté (hétérozygotes) sont sourds. (Figure n°9)

Dans les familles atteintes de surdité autosomique dominante, l'un des parents est sourd et porte sur un seul allèle du gène la mutation pathogène, mutation qu'il va transmettre à la moitié de ses enfants qui seront alors sourds. L'expressivité est très souvent variable dans ce mode de transmission, plusieurs sujets atteints dans la famille pouvant présenter des surdités de sévérité très différente. Lorsque la surdité syndromique, les signes associés au syndrome peuvent

être absents ou discrets chez certains sourds de la famille, chez qui la surdité paraît alors isolée et certains membres porteurs de l'anomalie génétique peuvent être entendants.

Tableau 1 : Résumé des modes de transmission de la surdité génétique [29]

Modes de transmission	Le sujet sourd	Les parents	Le risque de surdité dans la fratrie
Autosomique Récessif	Homozygote	Hétérozygotes sains ou sourds	25%
Autosomique dominant	Hétérozygote	Hétérozygotes et un des parents est sourd	50%
Lié à l'X	<ul style="list-style-type: none"> • Hétérozygote si masculin • Homozygote si féminin 	Mère hétérozygote conductrice et père hétérozygote sain	<ul style="list-style-type: none"> • 50% de frères atteints • 50% de sœurs conductrices
		Mère saine et père hétérozygote sourd	<ul style="list-style-type: none"> • 100% de fils sains • 100% de filles conductrices
Mitochondrial	Mutation Mitochondriale	Mère sourde et père sain ou sourd	100%

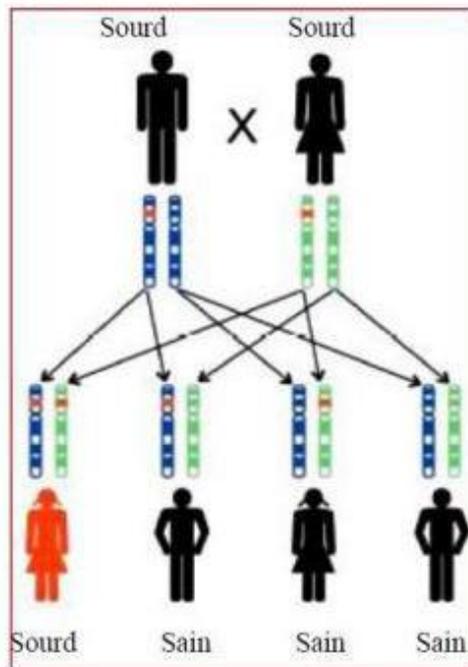


Figure 8 : Modèle de transmission d'une maladie Autosomique récessive monogénique .Union de deux sujets hétérozygotes [30]

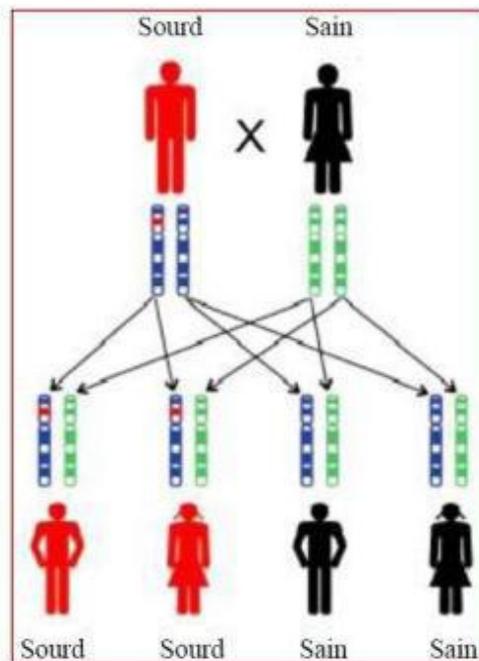


Figure : 9 Modèle de transmission d'une maladie Autosomique dominante monogénique. Union d'un sujet malade et d'un sujet sain[30]

3. Le mode de transmission lié à l'X : Figure 6

Le gène en cause est situé sur le chromosome X. Chez les garçons qui n'ont qu'un X, la maladie s'exprime et ils sont donc atteints de surdité, alors que les filles sont porteuses de la mutation mais entendant. Chez les femmes, lorsque l'X porteur de la mutation génétique est en général « compensé » par le deuxième X normal, la surdité est récessive liée à l'X. Rarement, comme dans le syndrome d'Alport, la surdité est dite dominante liée à l'X, et les femmes ne sont alors pas seulement en mesure de transmettre la surdité, elles en sont aussi atteintes, de façon moins sévère que les garçons.

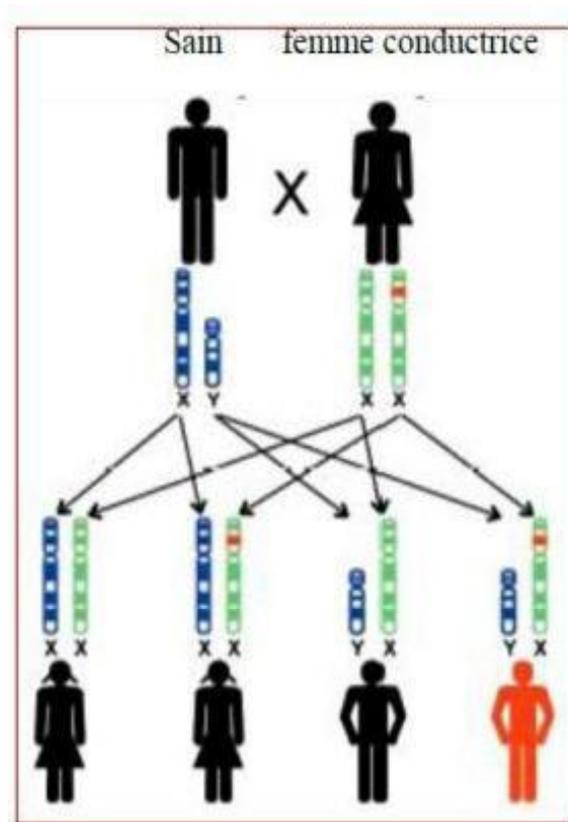


Figure10 : Modèle de transmission d'une maladie monogénique liée à l'X

Union d'un homme sain et d'une femme conductrice [31]

4. Le mode de transmission mitochondrial :

Le génome mitochondrial est un petit fragment d'acide désoxyribonucléique (ADN) situé hors du noyau de la cellule, dans la mitochondrie. Il est transmis uniquement par la mère. Lorsqu'un gène de surdité est situé sur l'ADN mitochondrial, l'arbre est caractéristique car hommes et femmes peuvent être sourds, mais seules les femmes pourront transmettre la surdité à leurs enfants qui sont en théorie tous sourds dans la fratrie.

B. Classification :

1. Les surdités non syndromiques :

Dans ces formes de surdité sans maladie ou malformation associée, on estime à près de 120 le nombre de gènes localisés sur les chromosomes humains. [32] Ces loci se répartissent de la façon suivante : DFNA1 à 64, DFNB1 à 95, DFNX1 à 5, DFNY.

Au sein de ces loci, 60 gènes sont identifiés, auxquels on peut ajouter sept mutations du génome mitochondrial [3]. Ces surdités sont classées selon leur mode de transmission. Les formes autosomiques récessives sont les plus fréquentes et la surdité est en général congénitale. Dans les formes dominantes, la surdité est le plus souvent progressive ou d'apparition retardée, au cours de l'enfance ou à l'âge adulte. [3]

a. Les formes autosomiques récessives ou DFNB :

Ce sont les formes les plus fréquentes. Elles représentent 80% des cas de surdité non syndromique. [33,34]. Actuellement, plus de 95 loci sont décrits (DFNB1 à 95) [32]

La DFNB1, liée à la mutation du gène de la Connexine 26 (CX26 ou GJB2), rend compte de près de 50% des surdités héréditaires ou familiales de l'enfant [32,36] et

40% des cas de surdités sporadiques en France [29,31]. Une mutation particulière 35delG est largement prédominante (70% des mutations détectées).

La surdité DFNB4, deuxième en fréquence (5 à 6 % des enfants sourds), est liée à une mutation du gène de la pendrine (SLC26A4). [37,38] Elle ressemble en tous points à celle du syndrome de Pendred dû au même gène mais reste isolée ; sans atteinte thyroïdienne.

L'imagerie des rochers est l'élément fondamental pour rattacher une surdité isolée à une anomalie du gène de la pendrine (malformation de l'oreille interne type dilatation de l'aqueduc du vestibule et/ou dilatation cochléovestibulaire).

b.Les formes autosomiques dominantes ou DFNA :

Elles représentent 12 à 15% des cas de surdité isolée. [33, 34,39] DFNA2 semble être une forme fréquente de surdité autosomique dominante. Il s'agit d'une surdité de perception débutant sur les fréquences aiguës, progressive, d'environ 1dB par an. [40]

c.Les formes liées à l'X ou DFN :

Elles représentent 1 à 3% des cas de surdité isolée. [33,34] la forme la plus fréquente (DFN3) est due à des mutations du gène POU3F4. Elles représenteraient 0,5% des surdités de l'enfant. [41] Il s'agit, chez un garçon, d'une surdité mixte, sévère à profonde, rapidement progressive, débutant dans l'enfance, associée à une dysfonction vestibulaire.

2. Les surdités syndromiques :

Les surdités syndromiques ne rendent compte que d'une faible proportion des surdités de l'enfant (10 à 15 % environ) et une part mal connue, probablement inférieure, des surdités de l'adulte. Environ 400 syndromes avec surdité ont été décrits [42,43], et plus d'une centaine de gènes sont identifiés à ce jour. Il est cependant important de connaître et de rechercher les principaux syndromes car la prise en charge et le bilan étiologique seront différents d'une surdité non syndromique.

Cependant, la surdité est le plus souvent patente et le reste des éléments cliniques du syndrome sont plus difficilement décelables ou surviennent plus tardivement. Par conséquent, certains enfants sont, à tort, initialement étiquetés comme atteints de surdité non syndromique.

En raison du très grand nombre de syndromes rares avec surdité, toute pathologie malformative chez l'enfant doit faire pratiquer un bilan auditif systématique. De plus, pour les surdités syndromiques comprenant une atteinte malformative cranio- faciale, la surdité est très souvent majorée par une otite chronique, et une surveillance otologique régulière s'impose.

Le Tableau 2 résume les sept surdités syndromiques les plus importantes et qui doivent être connues des différents spécialistes prenant en charge des surdités en raison de leur fréquence et/ou de leur gravité potentielle.

Tableau n°2 : Surdités syndromiques les plus fréquentes ou nécessitant une prise en charge spécifique AD : autosomique dominant, AR : autosomique récessif, ECG : électrocardiogramme, FO : fond d'œil [44]

Nom du syndrome	Mode de transmission	Gènes en cause	Principaux signes cliniques	Examens nécessaires
Waardenburg type I	AD (expressivité variable)	PAX3	Mèches blanche Yeux vairons ou très bleus Dépigmentation rétinienne au FO	FO
Waardenburg type II	AD(expressivitévariable)	MTIF SLUG		FO
Waardenburg type III	AD(expressivité variable)	PAX3	+/- malformations des extrémités Dystopie canthale	FO
Waardenburg type IV	AR	EDNRB EDN3 SOW10	+/- maladie de Hirschprung	FO
Branchio-oto-rénal	AD(expressivitévariable)	EYA1AUTRE G7NE SUR 1q3	Anomalies de l'oreille externe et/ou moyenne Fistules ou kystes branchiaux Malformations rénales	Echographie rénale
Stickler	AD(expressivité variable)	STL1 STL2 STL3	Fente palatine Association de Robin Anomalies squelettiques	Examen ophtalmologique
Usher	AR	MYOVIIA CDH23 PCDH15 USH1C SANS USH2A USH3	Rétinite pigmentaire progressive aboutissant à la cécité	Examen ophtalmologique + FO électrorétinogramme
Pendred	AR	PDS	Goitre Malformation de l'oreilleinterne	TDM des Rochers scintigraphie thyroïdienne avec test au perchlorate
Jervell et Lange-Nielsen	AR	KVLQT1 KCNE1	Malaises, mort subite	ECG
Alport	Dominant lié à l'X AR AR	COL4A3 COL4A4 COL4A5	Hématurie puis protéinurie => insuffisance rénale	Bandelettes urinaires

C. Prise en charge

Lorsque le diagnostic est posé, la prise en charge doit être pluridisciplinaire. 2 moyens importants vont permettre à l'enfant l'apprentissage des modes de communication : il s'agit de l'appareillage auditif et de la rééducation orthophonique. [45]

1. L'appareillage auditif :

Pour guider l'appareillage, aussi bien pour les prothèses auditives conventionnelles que pour l'implant cochléaire (dans le cas de surdité plus profonde), l'audioprothésiste procédera en premier lieu à des examens subjectifs après avoir vu avec le patient l'histoire de la maladie.

L'audioprothésiste aura donc un rôle rassurant en expliquant, non plus les signes ou les causes de la maladie, mais les solutions existantes. Il leur annoncera aussi que maintenant c'est lui qui prendra en charge la surdité de l'enfant et qui les orientera le plus possible vers des solutions et intervenants adaptés. Les parents repartent souvent du premier rendez-vous remotivé à affronter les épreuves que peut entraîner la surdité. au bout de quelques séances, l'enfant ou l'adulte sourd sera équipé d'appareils auditifs conventionnels ou implantables :

a. Les prothèses auditives :

Les prothèses auditives permettent de capter l'information sonore puis de l'amplifier de façon adaptée au déficit auditif de l'enfant [46]. Les réglages pour l'audioprothésiste seront différents qu'il s'agisse d'un enfant ou d'un adulte.

Les prothèses proposées sont systématiquement à embouts souples (moins traumatiques en cas de choc), en contours d'oreille, et en stéréophonie. Un suivi régulier est organisé avec un renouvellement des appareils tous les 4 ans minimum, sachant que chez les enfants, les prothèses peuvent être perdues, abîmées ou devenir inadaptées en fonction de l'évolution de leur surdité.

b. L'implant cochléaire :

L'implant cochléaire (IC) est une prothèse auditive implantable qui permet la transduction du signal acoustique en un signal électrique : rôle effectué normalement par les cellules ciliées internes. En cas de surdité ces cellules sont absentes ou en nombre insuffisant, l'IC va assurer cette transduction. L'IC se compose d'une partie externe (microphone qui capte les variations de pressions sonores) et d'une partie interne (les stimuli sont transférés de l'émetteur au récepteur puis sont véhiculés et délivrés aux électrodes situées dans la cochlée [46]).

La décision de poser un IC est prise en accord avec l'équipe d'implantation, la famille et le centre de rééducation.

✓ Les indications classiques d'implantation cochléaire sont les suivantes :
[47]

Ø Chez l'enfant :**Âge de l'implantation :**

- Chez les sourds perlinguaux, l'implantation doit être la plus précoce possible. Une implantation précoce donne des résultats sur la compréhension et la production du langage meilleurs et plus rapides qu'une implantation tardive.
- Au-delà de 5 ans, en cas de surdité congénitale profonde ou totale non évolutive, il n'y a d'indication (sauf cas particuliers) que si l'enfant a développé une appétence la communication orale. Si l'enfant est entré dans une communication orale, il peut bénéficier d'une implantation quel que soit son âge. Les adultes jeunes sourds congénitaux peuvent être implantés.

Indications audiométriques de l'implantation :

- Dans le cas d'une surdité profonde, l'implantation cochléaire est indiquée lorsque le gain prothétique ne permet pas le développement du langage.

- Dans le cas d'une surdité sévère, l'implantation cochléaire est indiquée lorsque la discrimination est inférieure ou égale à 50 % lors de la réalisation de tests d'audiométrie vocale adaptés à l'âge de l'enfant. Les tests doivent être pratiqués à 60 dB, en champ libre, avec des prothèses bien adaptées.
- En cas de fluctuations, une implantation cochléaire est indiquée lorsque les critères sus-cités sont atteints plusieurs fois par mois et/ou lorsque les fluctuations retentissent sur le langage de l'enfant.

Ø Chez l'adulte :

Age de l'implantation :

- Il n'y a pas de limite d'âge supérieure à l'implantation cochléaire chez l'adulte.
- Chez le sujet âgé, l'indication est posée après une évaluation psycho cognitive.
- Il n'y a en général pas d'indication de primo-implantation chez l'adulte ayant une surdité perlinguale.

Indications audiométriques de l'implantation :

- Discrimination inférieure ou égale à 50 % lors de la réalisation de tests d'audiométrie vocale avec la liste de Fournier (ou équivalent). Les tests doivent être pratiqués à 60 dB, en champ libre, avec des prothèses bien adaptées.
- En cas de fluctuations, une implantation cochléaire est indiquée si le retentissement sur la communication est majeur.

Ø Absence de contre-indication médicale (absence de pathologie de l'oreille moyenne) ou radiologique (anomalie radiologique de la cochlée)

✓ Une implantation bilatérale peut être indiquée :

Méningite bactérienne, fracture du rocher bilatérale et autres causes de surdité risquant de s'accompagner à court terme d'une ossification cochléaire bilatérale. Il faut intervenir avant que l'ossification soit trop avancée.

Ø Chez l'enfant :

- ü Surdité de perception bilatérale profonde, selon les modalités définies pour l'implantation unilatérale.
- ü Syndrome d'Usher (affection héréditaire autosomique récessive associant des atteintes oculaires et auditives).

Ø Chez l'adulte :

Porteur d'un implant cochléaire unilatéral : perte du bénéfice audioprothétique du côté opposé provoquant des conséquences socioprofessionnelles ou une perte d'autonomie chez une personne âgée.

Le rapport de l'Anaes de 1999 [48] a fait le point sur l'efficacité, la sécurité et les bénéfices potentiels des IC. Ces bénéfices peuvent aller de l'amélioration de l'audition des sons environnants à l'acquisition du langage parlé. Cependant, l'évaluation des résultats chez un enfant implanté est difficile car le bénéfice attendu est fonction des capacités de perception des sons, du temps de port de l'IC mais aussi de l'environnement familial (mode de communication).

Dans l'étude longitudinale de Robbins et al [49], 107 enfants de 12 à 36 mois ont été évalués sur leur niveau de langage. Les enfants atteints de surdité sévère implantés avant l'âge de 12 mois ont le même niveau de langage que les enfants indemnes de déficit auditif.

Néanmoins, des complications peuvent exister et ne doivent pas être méconnues lors d'une implantation cochléaire. Les plus fréquentes sont la migration ou l'extrusion du stimulateur ou du récepteur, la paralysie faciale et la méningite. Une population de 4265 enfants implantés entre 1997 et 2002 aux Etats-Unis a été revue, identifiant 29 cas de méningites. La moitié des

36 cas ont été attribués à l'utilisation d'un guide servant à positionner l'implant qui a été retiré du marché depuis [50].

2. La rééducation orthophonique

Au cours de cette prise en charge, l'orthophonie est indispensable.

Elle est mise en place après une évaluation des capacités de communication du nourrisson et permet un accompagnement parental dans la stimulation verbale et non verbale. La prise en charge orthophonique s'étale sur de nombreuses années. Elle est différente dans le cas des surdités congénitales pré-linguales ou des surdités acquises ou évolutives.

Lorsque les enfants sont sourds congénitaux, l'orthophonie a pour but de stimuler l'éveil auditif, de mettre en place des aides à la communication et de favoriser le langage oral. [46]

3. Quelques thérapies géniques

Il existe actuellement quelques avancées dues aux progrès scientifiques et qui pourront très bien s'appliquer au traitement de la connexine 26. Il existe un projet européen depuis 2005 qui permet de grandes études sur les surdités génétiques. Ce projet dit EuroHear représente au total pas moins de vingt-deux laboratoires soit deux cent cinquante scientifiques d'une dizaine de pays. Un regroupement d'experts pour décrypter à la fois la physiopathologie des surdités comme les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent le fonctionnement normal de la cochlée. Le programme s'affiche sous la forme d'un slogan : "Bringing the Genetic Basis of Deafness to Light" ("Mettre en lumière les bases génétiques de la surdité").

L'application thérapeutique a une place importante dans ce projet. Elle en est même l'objectif ultime et laisse la possibilité, à terme en fonction du succès de ce projet, de prévenir l'apparition de la presbyacousie.

4. Le conseil génétique

Un conseil génétique doit être proposé, à distance de l'annonce du diagnostic de surdité, à tout parent ayant un enfant sourd et tout adulte sourd. Il permet dans un grand nombre de cas d'affirmer l'origine génétique de la surdité, d'établir son mode de transmission et le risque de récurrence lors d'une prochaine grossesse, d'évaluer le pronostic évolutif du déficit auditif et de rechercher des anomalies cliniques associées.

Le généticien doit tout d'abord rechercher une étiologie extrinsèque (néonatale, infectieuse...) chez tous les membres atteints de la famille. Puis, un bilan à la recherche d'une pathologie associée évoquant une surdité syndromique doit être pratiquée.

Au terme de ce bilan, si le phénotype évoque l'atteinte spécifique d'un gène connu et accessible à l'analyse biologique, un diagnostic moléculaire est alors proposé en particulier l'étude du gène CX26 dans les surdités non-syndromiques congénitales.

La pratique d'un diagnostic moléculaire rend techniquement possible un diagnostic anténatal dans des familles où l'un des enfants est porteur d'une surdité et pour lequel une anomalie génétique a été dûment identifiée. Actuellement, aucun diagnostic anténatal de surdité isolée n'a été effectué en France. Le diagnostic prénatal pour une surdité isolée, qui ne peut actuellement déboucher que sur une interruption médicale de grossesse, peut soulever des problèmes éthiques. Si un diagnostic anténatal de surdité isolée devait se développer, il devrait être entouré d'une prise en charge par une équipe multidisciplinaire ayant une connaissance parfaite de ce handicap (audiophonologiste, généticien, clinicien, psychologue, audioprothésiste) afin que les parents aient accès à l'ensemble des connaissances en matière de surdité avant de prendre une décision. [51]

IV. LA SURDITE LIEE A DES MUTATIONS DU GENE GJB2

A. Gène codant :

Quatre gènes de connexine, exprimés dans l'oreille interne, peuvent être impliqués dans des surdités isolées ou syndromiques :

- GJB2 (connexine 26, en 13q11. q12)
- GJB6 (connexine 30, en 13q11. q12)
- GJB3 (connexine 32, en Xq13. 1)
- GJB1 (connexine 31, en 1p34)

Le gène GJB2 (MIM121011) (Gap Junction protein Beta 2, 26 kDa) codant pour la connexine 26 est un petit gène constitué de deux exons, le premier exon n'est pas transcrit, le deuxième constitue la partie codante du gène. (Figure 7)[52-53]

Le gène GJB2 est situé avec le gène GJB6 sur le locus DFNB1 qui est localisé sur le bras court du chromosome 13 (13q12. 11) (chr13 :19659609-19665037). Ce locus est le premier locus responsable de surdité neurosensorielle autosomique récessive à être identifié par Guilford et al en 1994 chez une famille tunisienne. GJB6 se trouve sur le même chromosome, en position télomérique (chr13 :19694102-19703067)

Près de 150 variations nucléotidiques de ce gène ont été rapportées incluant 25 polymorphismes.

Le caractère délétère de certains allèles est encore controversé tel que les mutations M34T, V37I et R127H.

La mutation 35delG secondaire à une délétion d'un nucléotide (guanine) en position 35 est la plus fréquente dans les pays occidentaux et méditerranéens. [6-53]

Elle entraîne un décalage du cadre de lecture et aboutit donc à l'apparition d'un codon stop prématuré au codon 13 et par conséquent à la formation d'une

protéine tronquée non fonctionnelle. D'autres mutations majoritaires sont retrouvées dans certaines populations : 167delT dans la population juive ashkénaze, 235delC au Japon, en Chine et en Corée ...

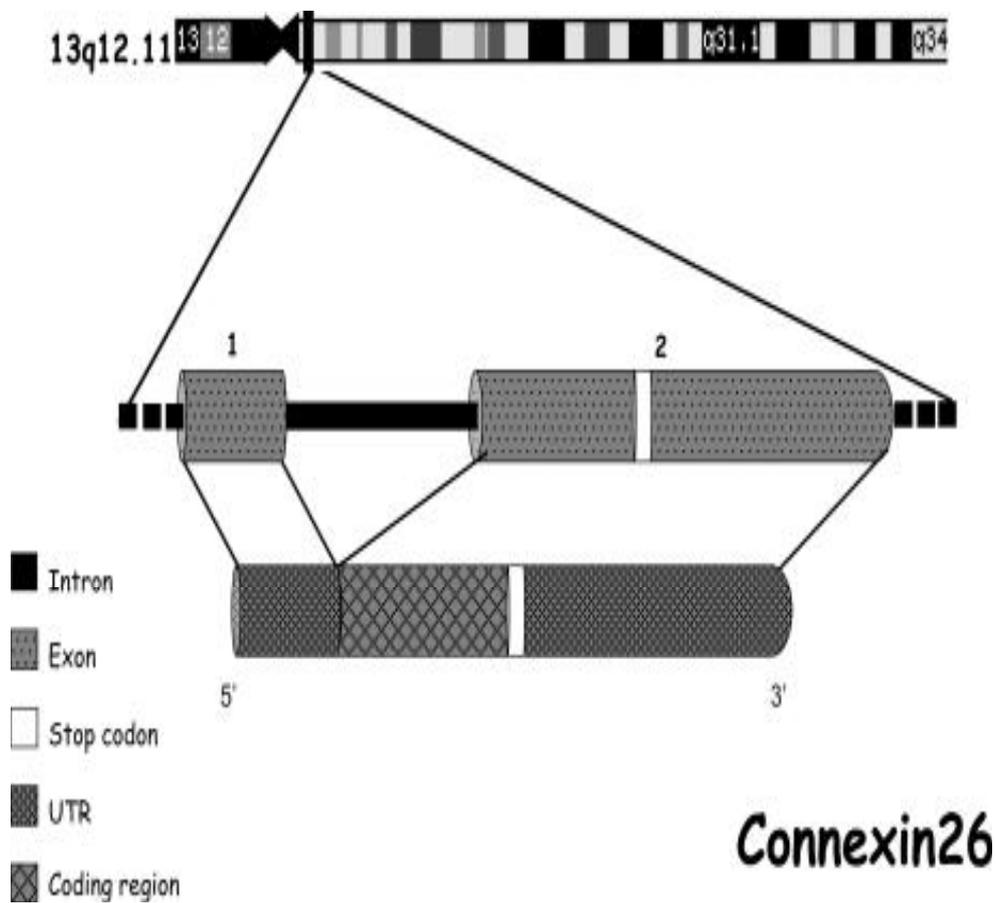


Figure 11 :GJB2 structure et localisation [53]

B. Protéine

1. Définition

Les connexines sont de petites protéines transmembranaires, impliquées dans la formation de jonctions communicantes (GAP junctions) entre cellules adjacentes, pour la majorité des cellules de l'organisme. (Figure n°8) La jonction communicante est formée de deux connexons, un par membrane. Chaque connexon est un hexamère formé de 6 connexines ménageant entre elles un canal hydrophile de 2 nm de diamètre. Les connexines possèdent quatre domaines transmembranaires (M1 à M4), dont le troisième, le plus hydrophile, constitue l'intérieur du canal. Les extrémités amino- et carboxy-terminales sont cytoplasmiques et les deux boucles extracellulaires sont responsables de l'interaction entre deux connexons. Les connexines diffèrent principalement par la longueur et la composition de leur extrémité carboxy-terminale. Quinze connexines différentes sont actuellement connues chez les mammifères. Elles sont désignées en fonction de leur poids moléculaire ; par exemple, la connexine 26 a un poids moléculaire de 26,000 daltons. [54-55]

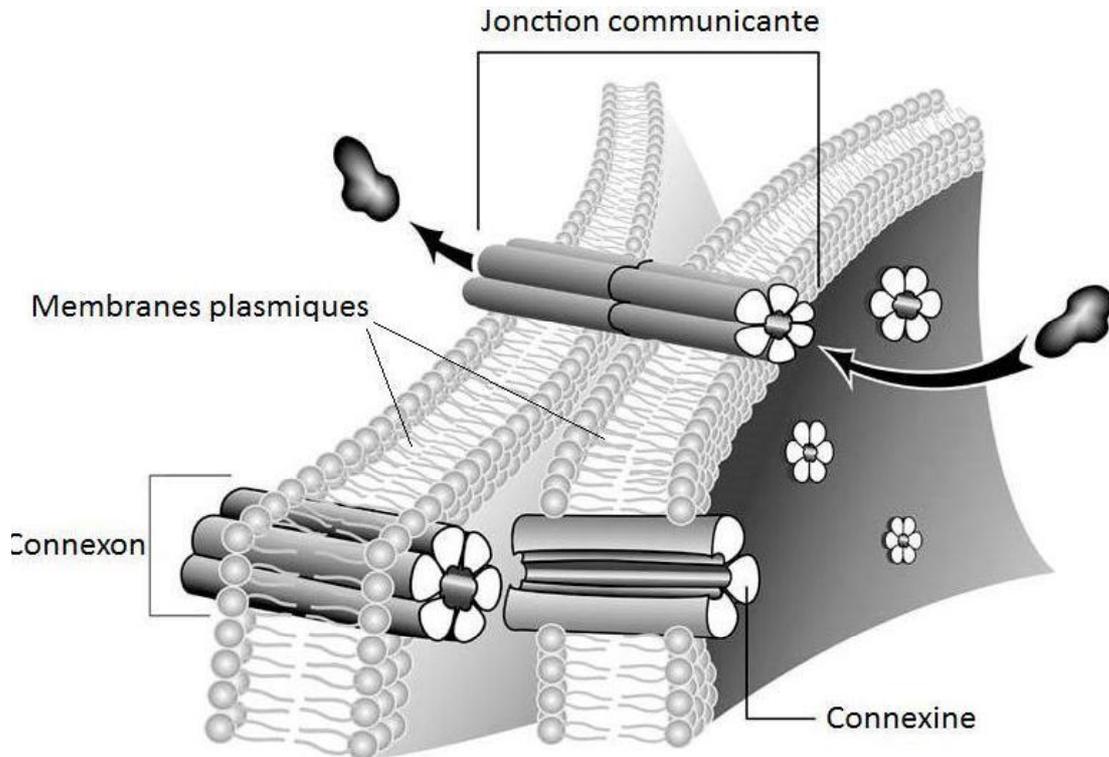


Figure 12 : Schéma d'une jonction communicante entre 2 cellules adjacentes [56]

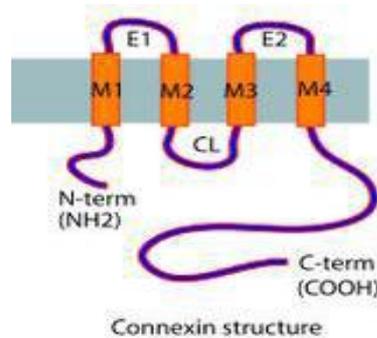


Figure n°13 : Schéma d'une jonction communicante entre 2 cellules adjacentes [57]

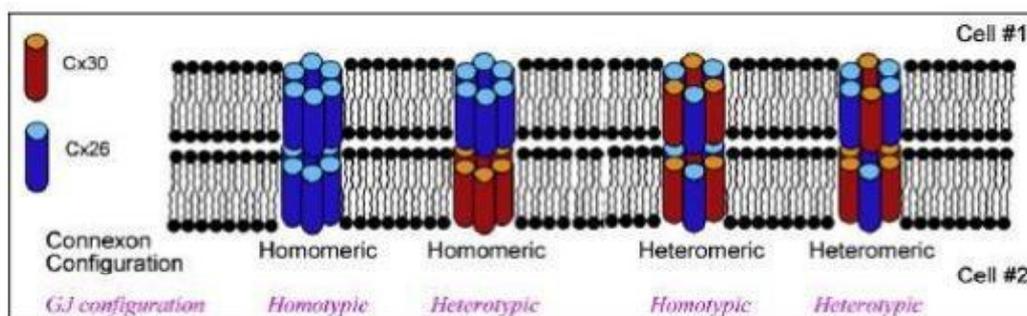


Figure 14 : Configuration moléculaire des Gap jonctions cochléaires formées par l'union des connexines 26 et 30 au niveau de la membrane cellulaire [54]

2. Rôle :

Durant le développement embryonnaire l'expression de la connexine 26 ainsi que la connexine 30 a été détectée dès 11 semaines de gestation. Le taux adulte est atteint à 20 semaines de gestation.

Des études d'immunomarquage sur des cochlées de souris ont montré que la connexine 26 est présente au niveau du limbe spiral, du ligament spiral, des cellules de soutien de l'organe de Corti, des cellules ciliées internes et externes et au niveau de la strie vasculaire ainsi que sur la plupart (> 85 %) des GAP jonctions de la cochlée. [58-59]. Il a été démontré par co-immunoprécipitation que la connexine 26 est présente seule ou associée à la connexine 30 sur une même GAP jonction.

Ces études laissent suggérer que la connexine 26 ainsi que la connexine 30 sont impliquées dans le recyclage du potassium (K⁺) en facilitant son transport rapide à travers le réseau des cellules de soutien vers la strie vasculaire, où il est activement attiré vers l'endolymphe. Une théorie plus récente, envisage une possible contribution du réseau de Gap jonctions cochléaire à l'homéostasie de l'épithélium sensoriel avasculaire de l'organe de Corti.

C. Physiopathologie

1. Mutations du gène de la connexine26 :(Figure 15)

a. Mutations empêchant la formation de Gap junctions :

Le cycle de vie de la connexine 26 comporte la synthèse de la protéine, son transport vers la membrane plasmique, son insertion membranaire et la formation de connexons puis sa dégradation. Ce type de mutations peut créer un dysfonctionnement ou une dégradation prématurée de la connexine avant son arrivée au niveau de la membrane cellulaire ou encore affecter les liaisons avec d'autres protéines intracellulaires. [60]

b. Mutations entraînant la formation de Gap junctions non fonctionnelles :

Le couplage ionique intercellulaire est affecté, à l'origine d'un dysfonctionnement de la jonction intercellulaire ou encore d'une anomalie d'alignement de deux connexons.

c. Mutations entraînant une perte spécifique dans le couplage biochimique intercellulaire :

Ce type de mutations modifie la perméabilité des Gap junctions pour certaines molécules. Chang et al. [61] a mis en évidence, chez des souris présentant ce type de mutations de la Cx30, une réduction dramatique du transport du glucose par les Gap junctions avec des taux élevés de radicaux libres dans les cellules de soutien de la cochlée.

Cette étude laisse suggérer l'hypothèse que le transport du glucose au niveau des Gap junctions pourrait également être perturbé en cas de mutation de la Cx26. Le glucose étant la source majeure d'énergie pour l'activité métabolique des cellules, un déficit chronique au niveau de l'organe de Corti où la microcirculation est généralement pauvre, peut avoir des effets néfastes sur la survie et les fonctions cellulaires. [60-62]

d. Mutations causant un gain de fonction : héli canal anormal s'ouvrant à l'état de repos :

Une mutation particulière de la Cx26 (G45E) est responsable d'un changement de charge de la chaîne d'acide aminé du neutre au négatif. Il est donc probable qu'elle affecte la fixation du Ca^{2+} aux héli canaux. Les essais de marquage par colorant montrent, qu'en présence de concentrations extra cellulaires normales en Ca^{2+} , survient une fuite à travers les canaux des Gap jonctions, ce qui crée une surcharge et finalement une mort cellulaire. Stong et al. [63] rapportent la survenue d'une apoptose puis d'une mort cellulaire dans les 24 h.

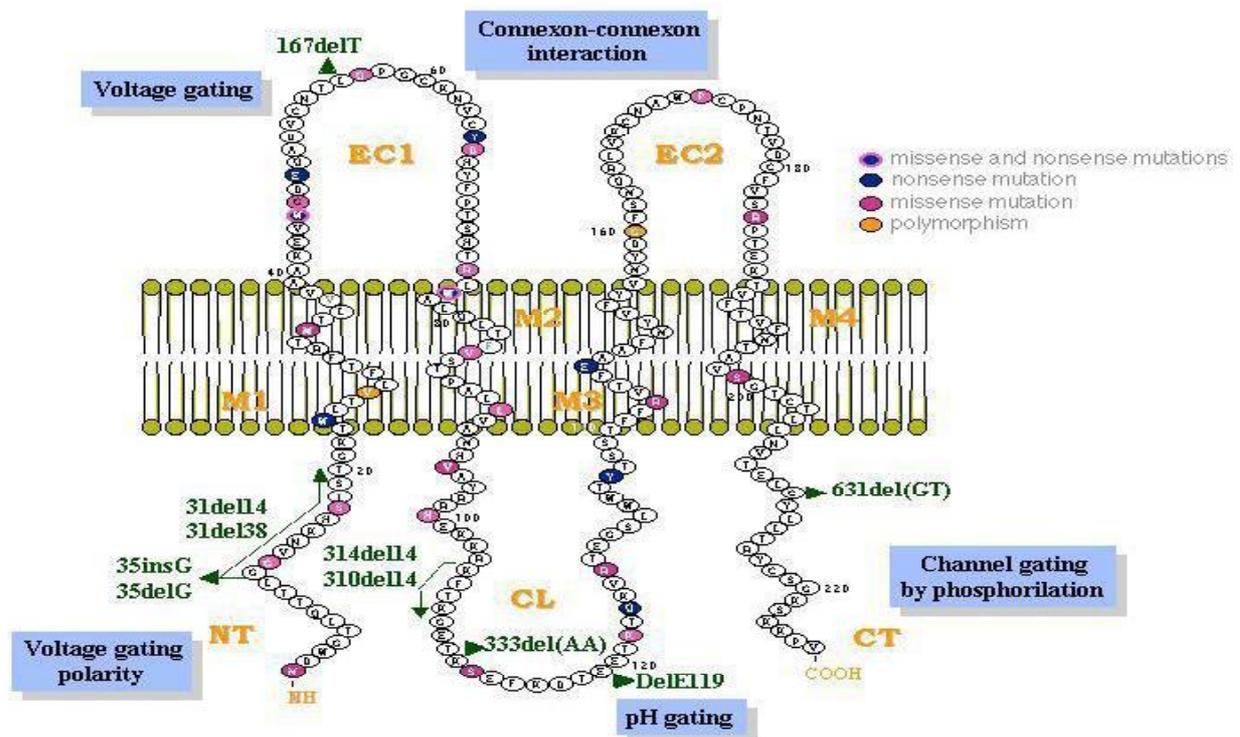


Figure 15 : Localisations des mutations de la connexine 26 rapportées dans la littérature et liées à la surdité [63]

2. Théories actuelles sur les mécanismes de surdités liées à la connexine 26

a. Perturbation du recyclage endo-cochléaire du K⁺ :

La notion d'implication des mutations des Gap junctions cochléaires dans le recyclage du K⁺ est remise en cause. En effet, de nouvelles données indiquent que le canal intercellulaire formé par les Gap junctions n'est pas significativement perturbé par l'absence de la Cx26 ou la Cx30 seules. Les données de l'immunomarquage obtenues à partir de modèles de cochlées de souris avec délétion totale ou partielle de la Cx26, confirment la présence de Gap junctions monomériques dans les cochlées de souris mutées. [64]

Les mutations de la connexine 26 qui affectent spécifiquement le couplage biochimique sont suffisantes pour être responsables de surdité chez l'homme. [65,66] Ceci indique que les anomalies du transfert des grosses molécules à travers les Gap junctions peuvent être à la base des mécanismes de surdité.

b. Rupture de la barrière endothéliale :

Il est bien connu que la perte du potentiel endolymphatique (+80mV) est directement responsable de surdité. Les cellules endothéliales endommagées tapissant les micros vaisseaux de la strie vasculaire pourraient engendrer une fuite avec surcharge du mécanisme générateur du potentiel endolymphatique. Pourtant, la connexine 26 n'est pas exprimée au niveau des cellules endothéliales de la strie vasculaire. La relation entre dysfonctionnement des Gap junctions et les dégâts sur la barrière endothéliale reste donc non encore expliquée.

Ainsi de nouvelles études doivent être réalisées pour tester la nouvelle théorie qui lie la surdité à une rupture de la barrière endothéliale au niveau de la strie vasculaire.

c. Déficit dans le transport facilité des métabolites à travers les Gap jonctions:

Des études récentes montrent que le glucose de la circulation sanguine, pourrait atteindre les cellules de soutien de la cochlée [61], les fibrocytes de la paroi latérale du canal cochléaire [67] et le limbe spiral [68] grâce aux Gap jonctions. Chang et al. [61] montrent qu'il existe un déficit chronique en glucose et non un blocage de la voie de recyclage du K⁺ chez les souris avec Cx30 non fonctionnelle. Ils ont également prouvé une réduction du transport du glucose à travers les Gap jonctions et l'augmentation de la production de ROS (reactiveoxygenspecies: générés par l'épuisement d'ATP en cas de déficit en glucose) au niveau des cellules de soutien.

En se basant sur ces résultats, Chang et al. [61] suggèrent que la surdité liée à des mutations responsables d'une perte de fonction des connexines, est due à une réduction de l'efficacité du transfert des métabolites énergétiques (ex. glucose) à 45 travers le réseau intercellulaire des Gap jonctions, particulièrement au niveau des régions de la cochlée où la circulation est pauvre (ex. organe de Corti). L'effet néfaste accumulé sur l'homéostasie cellulaire devient destructeur quand des quantités importantes de ROS sont produites, conduisant à une mort cellulaire et un dysfonctionnement cochléaire.

3. Corrélations génotype-phénotype clinique :

Le gène GJB2 est en cause d'une part dans la forme majoritaire de surdité de l'enfant, la surdité autosomique récessive DFNB1, et d'autre part dans une forme rare de surdité autosomique dominante, DFNA3 [69,70]. Des mutations particulières de ce gène rendent compte également de trois syndromes rares.

a. La surdité autosomique récessive DFNB1 :

Soixante mutations du gène GJB2 ont été décrites dans le monde. Au Maroc, comme dans les pays occidentaux et méditerranéens, une mutation prédomine

largement : 35delG. Elle est due à la délétion d'une base d'ADN, une guanine, en position 35 dans la partie codante du gène. Cette mutation entraîne un décalage du cadre de lecture et aboutit à la formation d'une protéine tronquée. La déficience auditive est congénitale et stable dans la majorité des cas (une évolutivité est observée dans moins de 20 % des cas, le plus souvent faible). Aucun épisode d'aggravation brutale de surdité n'a été décrit dans cette forme de surdité. La surdité est de tous degrés mais est le plus souvent sévère à profonde. Les courbes audiométriques sont dans la grande majorité des cas, plates (atteinte similaire de toutes les fréquences) ou descendantes (atteinte préférentielle des fréquences aiguës). La tomodynamométrie des rochers et les épreuves vestibulaires caloriques sont normales.

b. La surdité autosomique dominante DFNA3 :

L'implication du gène de la connexine 26 dans la forme de surdité DFNA3 a fait longtemps l'objet de controverses. Les caractéristiques de la surdité, transmise dans 46 tous les cas sur un mode autosomique dominant, sont très différentes en fonction des mutations : par exemple pour la mutation W44C, la surdité est prélinguale, bilatérale et symétrique, modérée à profonde et atteint toutes les fréquences alors que pour la mutation C202F, la surdité apparaît entre 10 et 20 ans atteint initialement les hautes fréquences et évolue lentement pour devenir légère à moyenne à 50 ans [71,72].

c. La surdité syndromique :

La surdité liée à la connexine 26 est le plus souvent isolée. Néanmoins, l'association à des signes cutanés a été décrite dans la littérature. Il s'agit de l'hyperkératose palmo plantaire associée à la mutation dominante G59A [55], la kératodermie mutilante ou syndrome de Vohwinkel associée à la mutation D66H [56] et enfin le KID syndrome (kératodermie- ichthyose-surdité [74].

V- MATERIEL ET METHODES

A. Critères d'inclusion des patients

Nous avons recensé 50 sujets présentant une surdité isolée durant une durée de 4 ans s'étalant de 2013 à 2016.

La majorité des patients ont bénéficié d'un interrogatoire détaillé, d'un examen ORL et général systématiques associés à une exploration fonctionnelle de l'audition ainsi qu'une consultation génétique.

On a exclue de l'étude les patients présentant une surdité syndromique ou de cause environnementale, telle un ictère néonatal, une méningite bactérienne, une prématurité ou encore une infection virale prénatale.

B. Prélèvement

Avant tout prélèvement, une fiche qui porte les renseignements, l'accord et le consentement de l'intéressé est obligatoire. On prélève deux tubes EDTA de sang, pour l'extraction d'ADN par kit ou par sel. Les tubes peuvent être conservés à +4°C ou -20°C pour utilisation ultérieure.

C. Techniques de préparation et de purification des acides nucléiques

L'extraction de l'ADN (acide désoxyribonucléique) est une technique qui isole de l'ADN à partir d'une cellule en quantité et en qualité suffisante pour permettre son analyse. Au niveau du laboratoire de Génétique médicale et d'oncogénétique, l'extraction se fait selon deux méthodes : soit par SEL ou par KIT commercialisé.

1. Par sel :

Le sang doit être initialement et vigoureusement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges. Le lysat est centrifugé et après élimination du surnageant, le culot cellulaire, contenant les leucocytes, est traité par une solution de lyse des Globules blancs (SLB) contenant la protéinase K. (enzyme qui digère les protéines cellulaires). Les protéines seront par la suite éliminées par l'intermédiaire d'une force ionique du NaCl (5 M) et la précipitation de l'ADN génomique est effectuée en utilisant une solution d'éthanol absolu à froid (-20 °C).

2. Par Kit :

Après digestion enzymatique et solubilisation des lipides dans une solution spécifique, l'ADN chargé négativement est mis en contact avec des billes magnétiques chargées positivement afin qu'il s'accroche à celles-ci. La solution est éliminée alors que les billes sont maintenues à l'aide d'un aimant. Une autre solution de composition différente est ensuite ajoutée aux billes afin de neutraliser leur charge. L'ADN est alors libéré dans cette seconde solution.

3. Dosage de l'ADN :

La concentration en ADN de l'échantillon est estimée par spectrophotométrie. En effet, les acides nucléiques présentent un pic d'absorption dans l'ultraviolet. Le maximum de cette absorption se situe à 260nm. L'interférence par des contaminants se reconnaît par calcul d'un « ratio ». Les protéines absorbant à 280 nm, le ratio A260/A280 est utilisé pour estimer la pureté de l'acide nucléique. L'ADN pur devrait avoir un ratio d'environ 1,8, tandis que l'ARN pur devrait avoir une valeur d'environ 2,0. L'absorption à 230 nm reflète la contamination de l'échantillon par des substances telles que les hydrates de carbone, les peptides, les phénols ou les composés aromatiques. Dans le cas d'échantillons purs, le ratio A260/A230 devrait être d'environ 2,2.

D. Amplification des séquences nucléotidiques par PCR

1. Principe :

La réaction PCR (Polymerase Chain Reaction) permet d'amplifier in vitro une région spécifique d'un acide nucléique donné afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier.

Pour se faire, une série de réactions permettant la réplication d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle. Ainsi, au cours de la réaction PCR, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle.

Pour avoir la réplication d'un ADN double brin, il faut agir en trois étapes :

1- Dénaturation de l'ADN pour obtenir des matrices simple brin :

2 -Hybridation des 56 amorces spécifiques

3- Réaliser la réaction de polymérisation du brin complémentaire par l'enzyme polymérase.

A la fin de chaque cycle, les produits sont sous forme d'ADN double brin.

2. Témoins de la réaction PCR :

Les témoins inclus pour chaque réaction PCR comprennent :

- Témoins positif qui a pour fonction de s'assurer des bonnes conditions de la PCR, ce témoin est représenté par l'ADN d'un sujet normal sain.
- Témoin négatif qui permet de s'assurer de l'absence de contamination, auquel il n'y a pas d'ADN.

3. Contrôle des produits PCR

Les produits PCR sont contrôlés sur gel d'agarose 2 % en présence d'un marqueur de taille, qui permet de vérifier la taille et la spécificité du produit amplifié.

E. Séquençages d'ADN

Notre objectif est d'appliquer le séquençage pour détecter les différentes mutations du gène GJB2. Avant de séquencer nos produits PCR, il faudra les purifier pour éliminer l'excès d'amorces, dNTP et d'ADN polymérase, pour cela il 3 réactions essentielles comme suit :

1. Purification par ExoSAP®

ExoSAP-IT est conçu pour une purification rapide et efficace des produits de PCR. Il comporte deux enzymes hydrolytiques, l'exonucléase I(Exo) qui dégrade les ADN simples brins et la phosphatase alcaline de crevette (SAP) qui hydrolyse les dNTPs libres, et en excès sans interférence avec les applications en aval. L'enzyme est active à 37°C et inactive à 80°C. Les fragments simples brins inférieurs à 100 pb sont ainsi dégradés.

2. Reaction de sequence par BigDye® Terminator v 3. 1 Cycle Sequencing :

Selon la réaction de Sanger qui repose sur l'incorporation alléatoire de didéoxynucléotides interrupteurs de chaîne (ddNTP) eux aussi présents dans le milieu réactionnel dont chacun est marqué par un fluorophore dont le spectre d'émission est spécifique. Une analyse spectrale va différencier les différents fluorochromes, associer la base correspondante et donc définir la séquence nucléotidique du brin d'ADN initial. Les fragments d'ADN synthétisés portent ce fluorophore terminal. On les appelle des terminateurs d'élongation ou "BigDyeTerminators" ou "Dye-labeledterminator".

3. Purification de la réaction de séquence avec le Kit BigDye-XTerminator :

Le kit BigDye® Xterminator™ permet la purification des produits de réaction de séquence en capturant les dyes non incorporés dans la réaction, les sels et autres molécules chargées qui pourraient interférer lors de la détection des bases par électrophorèse capillaire.

4. Détermination de la séquence :

La plaque est placée dans le séquenceur (figure 14) qui est un automate d'électrophorèse capillaire. Ce dernier lance un flux électrique d'ions à travers un capillaire, ce qui entraîne la migration des fragments d'ADN. Une fois arrivés au site de détection, les quatre fluorochromes des ddNTP terminaux seront excités. Suite à cette excitation, chaque fluorochrome émettra une lumière à une longueur d'onde différente qui sera détectée puis convertie en séquence par le logiciel d'analyse des séquences.

Les séquences d'ADN sont déterminées par séquençage automatique (séquenceur à 8 capillaires appliedbiosystem 3500 DX)

F. Les outils de bioinformatique

1. Logiciel BLAST (nucleotide BLAST)

Le logiciel blast permet de comparer une séquence nucléique dite requête à une banque de séquences nucléiques sur les 2 brins, c'est-à-dire la séquence étudiée (brin +) et son complémentaire inversé (brin -).

2. Logiciel NCBI (CCDS database)

Ce logiciel permet de localiser la mutation au niveau de la partie codante du gène étudié et éventuellement de connaître l'acide aminé touché par la mutation sur la séquence protéique correspondante.

3. Logiciel NCBI (CCDS variation viewer)

Dès qu'on arrive à localiser la mutation, ce logiciel nous permet d'évaluer l'impact clinique de celle-ci (pathogénique ou pas), son origine (germinale ou somatique), son positionnement sur le génome entier et si elle a déjà été rapportée par autres auteurs.

VI. FICHE D'EXPLOITATION

Patient	Sexe	Age	Sporadique/ Familiale	Consanguinité	PEA	Mutation 35 del G Du gène GJB2
1	M	4 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
2	M	4ans	Sporadique	Oui	CophoseBilatéraleProfonde	-
3	F	1an	Familiale	Non	Surdité bilatérale modérée	-
4	F	2ans	Familiale	Oui	CophoseBilatérale Profonde	+ Homozygote
5	M	5ans	Familiale	Non	Surdité bilatérale modérée	-
6	M	2ans	Sporadique	Non	CophoseBilatéraleProfonde	-
7	M	2ans	Familiale	Non	Cophose bilatérale profonde	-
8	M	5ans	Sporadique	Oui	CophoseBilatéraleProfonde	-
9	M	3ans	Familiale	Non	Cophose bilatérale profonde	-
10	F	2ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	+Homozygote
11	M	7ans	Familiale	Non	Cophosebiatérale profonde	-
12	M	1an	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	+ Homozygote
13	F	3ans	Familiale	Oui	Cophose bilatérale profonde	+ Homozygote
14	M	6ans	Sporadique	Oui	Surdité bilatéral sévère	-
15	F	4ans	Familiale	Oui	Surdité bilatérale modérée	+Homozygote
16	F	7ans	Familiale	Oui	Surdité bilatérale sévère	+Homozygote
17	M	2ans	Familiale	Oui	Surdité bilatérale modérée	-

18	F	3 ans	Familiale	Oui	Surdité bilatérale sévère	-
19	F	8 ans	Familiale	Oui	Cophose bilatérale profonde	-
20	F	7 ans	Sporadique	Oui	Cophose bilatérale profonde	+ Hétérozygote
21	M	2 ans	Familiale	Oui	Surdité bilatérale modérée	+ Homozygote
22	F	5 ans	Sporadique	Non	Surdité bilatérale modérée	-
23	F	6 ans	Familiale	Oui	Cophose bilatérale profonde	-
24	F	2 ans	Familiale	Oui	Cophose bilatérale profonde	-
25	M	5 ans	Familiale	Non	Cophose bilatérale profonde	-
26	F	11 ans	Familiale	Oui	Cophose bilatérale profonde	-
27	F	8 ans	Familiale	Oui	Cophose bilatérale profonde	-
28	M	4 ans	Familiale	Oui	Surdité bilatérale sévère	-
29	M	3 ans	Familiale	Non	Surdité bilatérale modérée	-
30	F	12 ans	Familiale	Non	Surdité bilatérale modérée	-
31	M	3 ans	Familiale	Oui	Cophose bilatérale profonde	-
32	F	5 ans	Sporadique	Oui	Cophose bilatérale profonde	-
33	F	9 ans	Familiale	Non	Surdité bilatérale modérée	-
34	M	15 ans	Familiale	Oui	Cophose bilatérale profonde	-
35	M	10 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
36	M	3 ans	Familiale	Non	Cophose bilatérale profonde	+ Homozygote
37	F	5 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
38	M	2 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
39	F	7 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-

40	M	6 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
41	M	3 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
42	M	2 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
43	M	5 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
44	F	9 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
45	F	1 an	Familiale	Non	Cophose bilatérale profonde	+ Homozygote
46	F	20 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
47	F	11 ans	Familiale	Non	Cophose bilatérale profonde	+ Homozygote
48	M	8 ans	Familiale	Non	Cophose bilatérale profonde	+ Homozygote
49	M	6 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-
50	F	6 ans	Sporadique	Non	Cophose bilatérale profonde	-

VII. RESULTAT

A. Données épidémiologiques :

Nous avons recensé 50 cas de surdité non syndromique dont 28 cas familiaux et 22 cas sporadiques. (Figure 16)

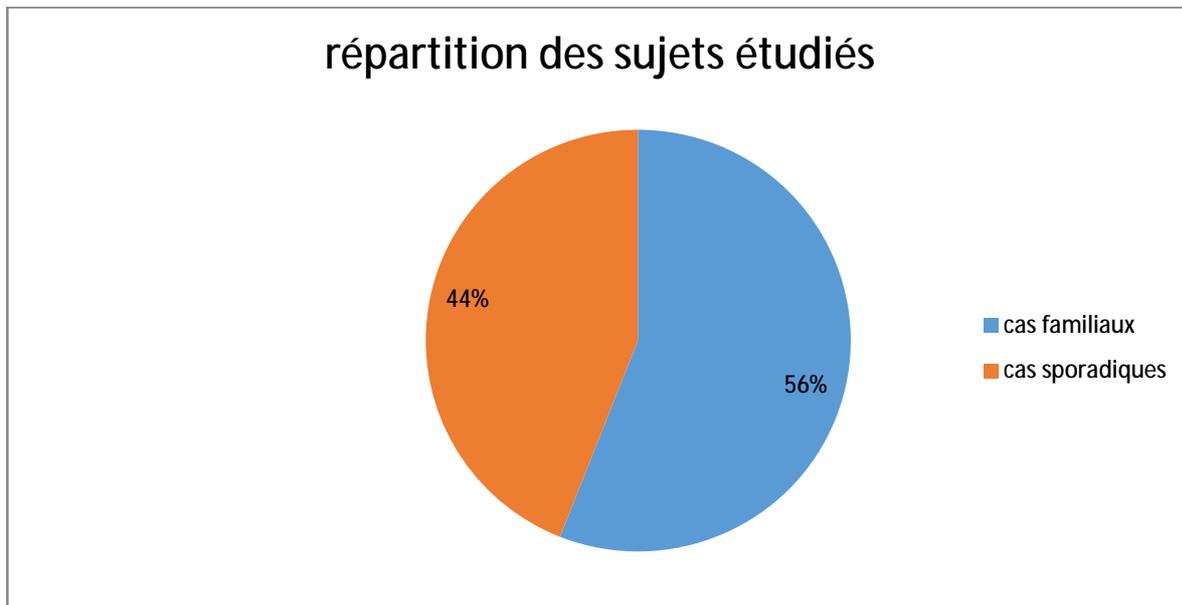


Figure 16 : Répartition des sujets inclus dans l'étude.

Le sexe ratio était de 1,08 en faveur des hommes.(Figure 17)

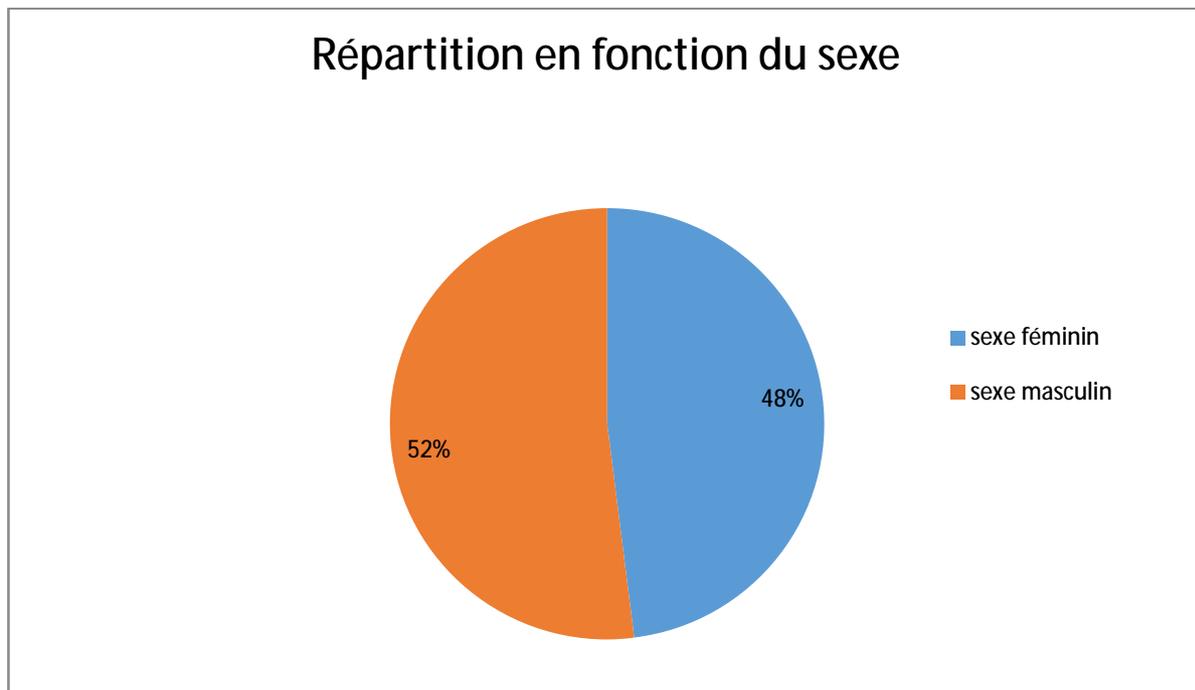


Figure 17 : Répartition des sujets inclus dans l'étude en fonction du sexe.

L'âge moyen des patients était de 6 ans avec des extrêmes d'âge allant de 1 à 20 ans

La notion de consanguinité a été retrouvée dans 40% des cas. Le nombre de sujets atteints par famille était très variable allant jusqu'à 5 sujets sourds par famille.

B. Données cliniques

Tous nos patients présentaient une surdité prélinguale bilatérale non évolutive, intéressant toutes les fréquences.

Le degré de surdité était variable. Il s'agissait le plus souvent d'une surdité profonde.

C. Résultats de l'étude moléculaire : Résultats du séquençage

☐☐☐Génotype et fréquence de la mutation 35delG :

Parmi les 28 cas de surdité familiale, 9 patients étaient porteurs de la mutation 35delG à l'état homozygote avec une fréquence de 32.14%.

Parmi les 22 cas de surdité sporadiques, 2 patients étaient porteurs de la mutation 35 delG a l'état homozygote avec une fréquence de 9.09%

Cette même mutation a été retrouvée à l'état hétérozygote chez 1 patients soit avec une fréquence de 4.54 %.

Tableau 4: Fréquence de la mutation 35delG dans la population étudiée.

Génotype	Cas familiaux n (%)	Cas sporadiques n (%)
Homozygote 35delG+/35delG+	9(32.14)	2 (9.09)
Hétérozygote 35delG+/35delG	0	1 (4.54)

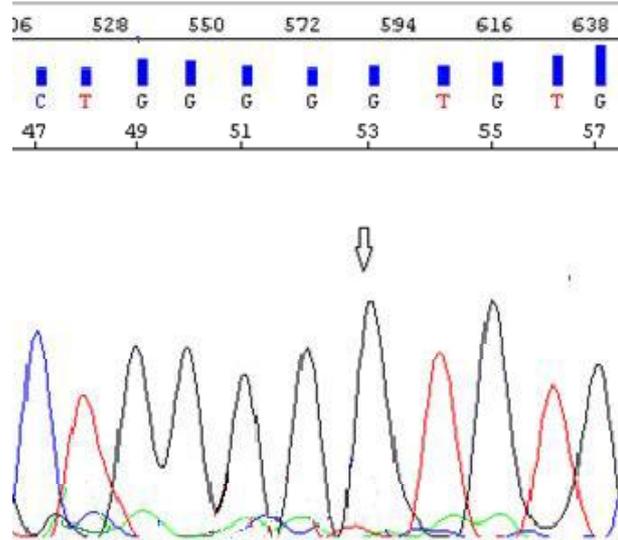


FIGURE 18 : Electrophérogramme de l'exon 2 du gène *GJB2* (mutation c. 35delG à l'état homozygote [76]

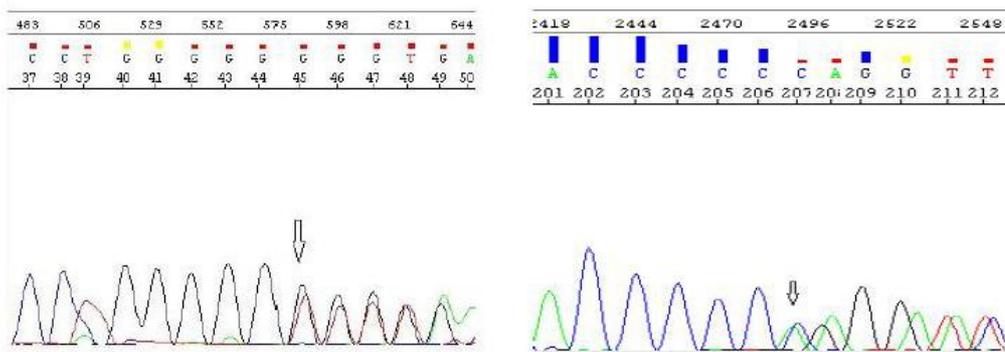


Figure 19 : Electrophérogramme de l'exon 2 du gène *GJB2* (mutation c. 35delG à l'état hétérozygote : séquences F et R). [76]

La fréquence des mutations de gène GJB2 dans la population étudiée était de 24 %. La mutation 35delG était la seule retrouvée.

Tableau 5: Génotypes retrouvés dans la population étudiée

Génotype	Nombre de patients	Pourcentage (%)
35 delG +/+	11	22%
35 delG +/-	1	2 %
Total	12	24 %
Mutation -/-	38	76 %

Chez 38 patients nous n'avons pas pu retrouver une mutation du gène GJB2. Aucune mutation n'a été retrouvée au niveau de l'exon 1.

VIII. DISCUSSION

La surdité, toutes origines confondues, touche 1,3 à 2,3 enfants sur 1000 dans les pays industrialisés. Sur une population française, des anomalies homozygotes de la connexine 26 ont été retrouvées dans 51 % des cas de surdités prélinguales récessives et dans 31 % des cas sporadiques. Cette proportion était de 55 % lorsque la surdité était profonde, de 48 % si l'atteinte était sévère, de 42 % si elle était de sévérité moyenne et de 14 % parmi les surdités prélinguales légères. La surdité est le déficit neurosensoriel le plus fréquent chez l'enfant. La prévalence des surdités bilatérales sévères et profondes est estimée entre 0,5 à deux enfants pour 1000 naissances [77]. Au Maroc on compte environ 640000 naissances par an ce qui correspondrait à 640 nouveau-nés qui naissent avec une surdité bilatérale sévère ou profonde par an sans énumérer les surdités acquises. Un autre enfant sur mille devient sourd profond avant l'âge adulte [77]. Ces chiffres démontrent bien que la surdité de l'enfant doit être considérée comme un problème de santé publique au Maroc.

Au Maroc, 34,8 % des surdités neurosensorielles de l'enfant sont d'origine génétique [78].

Le gène GJB2 étant le premier en cause de surdité d'origine génétique chez notre population [79,80].

A. Analyse phénotypique :

Nous avons essayé, à travers ce travail, de recruter un échantillon représentatif de la population marocaine qui soit diversifié de point de vue de l'origine géographique. Les études anthropogénétiques, ont démontré le caractère hétérogène de la population marocaine qui se présente comme un mélange de composante africaine, caucasoïde, asiatique et arabe. [75]

La population marocaine est également une population à haut degré de consanguinité, pour des raisons principalement culturelles, socio-économiques et linguistiques. En effet, nous avons soulevé la notion de consanguinité chez 40 % des sujets étudiés.

Ce haut degré de consanguinité est responsable de l'apparition plus fréquente de maladies génétiques à transmission récessive et concentre certaines caractéristiques génétiques y compris celles considérées comme défavorables. Ainsi certaines mutations se propagent mieux en raison d'un stock de gènes initialement plus faible.

La consanguinité et l'hétérogénéité sont deux caractéristiques essentielles qui font de notre population un bon modèle d'étude des maladies génétiques surtout celles à caractère récessif et favorisent l'apparition des isolats géographiques.

Les mutations du gène de la connexine 26 sont connues pour être responsables d'une surdité perlinguale légère à profonde non progressive [3,22]. C'est le cas de tous nos patients qui présentaient une surdité modérée à profonde pré linguale.

B. Implication du gène GJB2 dans la surdité d'origine génétique chez les patients étudiés

La mutation d'un gène occupant le locus DFNB1 est responsable de plus 50 % des surdités autosomiques récessives [80] le GJB2 codant la connexine 26. Cette dernière joue un rôle important dans la genèse du potentiel endocochléaire. La proportion de la mutation 35delG, par rapport à d'autres, du gène GJB2 prédomine largement dans les pays méditerranéens et représente 80 % des cas [78]. Une étude anthropologique a montré que la mutation 35delG serait originaire de l'ancienne Grèce, puis s'est propagée progressivement dans le pourtour méditerranéen. [81]

Néanmoins, le spectre et la fréquence des mutations de ce gène peuvent varier d'un pays à l'autre voire d'une région d'un même pays à l'autre.

Le tableau 6 montre que le pourcentage des patients avec surdité autosomique récessive non syndromique qui présentent une mutation bi allélique du gène GJB2, est très variable entre les différents pays. Il varie entre 0 % dans la population omani [82] et 45,6 % dans la population slovaque [83].

Cette grande variabilité pourrait être due à l'origine ethnique des populations étudiées, aux méthodes moléculaires utilisées pour le séquençage des mutations, aux critères de sélection des patients ou encore au nombre réduit de certaines études.

Tableau 6 : Proportions des surdités liées aux mutations bi alléliques du gène GJB2 dans différentes populations.

pays	Patients (n)	GJB2 (%)	35delG/35deG (%)	Références
France	88	39.8	28.4	[88]
Italie/Espagne	136	36.8	32.4	[89]
GRECE	210	33.3	30	[90]
LIBAN	48	33.3	31.3	[91]
TURKIE	60	31.1	20.4	[92]
CHINE	118	16.1	0	[93]
EGYPTE	111	14.4	9	[94]
REPUBLIQUE TCHEQUE	156	37.8	28.8	[95]
OMAN	51	0	0	[82]
SLOVAQUIE	90	45.6	40	[81]
CASABLANCA	81	40.12	35.8	[80]
CASABLANCA	116	-	24	[84]
CASABLANCA	25	48	48	[85]
FES	624	21,64	15,06	[87]
FES	60	25	25	[86]
FES	50	24	22	Notre série

Notre étude menée sur 50 sujets présentant une surdité congénitale isolée montre que la prévalence des mutations du gène GJB2 était de 24 %. Ces résultats sont proches de ceux retrouvés dans les pays du pourtour méditerranéen.

Ainsi, nos résultats confirment les résultats de la littérature [80,84], qui affirment le rôle majeur du gène GJB2 dans la surdité génétique au Maroc.

1. Place de la mutation 35delG dans la surdité liée au gène GJB2 :

Les résultats de notre étude affirment que la mutation 35delG est de loin la mutation la plus fréquente en cause de surdité au Maroc en outre c'est la seule mutation retrouvée dans notre étude. Cette haute fréquence pourrait refléter la présence d'un point mutationnel chaud (mutational hot spot) sur le gène GJB2 [96, 97, 98, 99,100].

Nous constatons à travers notre étude qu'un seul patient était porteur de la mutation 35delG à l'état hétérozygote, sans autre mutation sur la partie codante du gène GJB2. Ce qui laisse suggérer que le GJB2 n'est pas responsable de la surdité chez ce patient. Une analyse additionnelle du gène GJB6 doit être réalisée.

Ces résultats suggèrent l'implication d'autres facteurs génétiques ou environnementaux ayant un rôle dans la manifestation de la surdité chez ce patient.

Les bases génétiques de ces variations restent inconnues à ce jour. Des explications peuvent être proposées, telles des mutations sur des gènes codant pour d'autres connexines en relation ou en interaction avec les gènes GJB2 et/ou GJB6 sur la région promotrice au niveau de l'oreille interne [101,102], ou encore l'existence de gènes appelés "modifiants". [103]

En conséquent, ce patient et famille a besoin d'une étude moléculaire plus poussée afin d'identifier des mutations sur d'autres gènes ou loci sur le chromosome 13 ou ailleurs.

2. Autres mutations du gène GJB2 :

La mutation 35delG a longtemps été considérée comme la seule mutation du gène GJB2 identifiée chez les patients présentant une surdité non syndromique autosomique récessive au Maroc. [83,96]

D'autres mutations du gène GJB2, ont été identifiées dans d'autres études (tableau7)

Tableau 7 : Autres mutations du gène GJB2.

Mutation	Génotype	Référence
598G>A	G200R/V12G ; G200R/ G200R	[86, 87]
175G>C	G59R+/-	[86]
109G>A	V37I+/- ; del120E/V37I	[87]
139G>T	E47X	[87]
DelGAG358-360	del120E/V37I	[87]

CONCLUSION

A travers notre étude, nous confirmons l'implication incontestable et fréquente des mutations du gène GJB2 dans la surdité autosomique récessive non syndromique au Maroc, comme c'est le cas dans d'autres pays du pourtour méditerranéen.

Ainsi, ce type de surdité constitue un véritable problème de santé publique, vue sa grande fréquence au sein de la population marocaine.

La forte prévalence des mutations du gène GJB2 et surtout de la mutation 35delG peut être expliquée par :

-   La longue tradition de mariage consanguin (25-35 % selon les régions), responsable de la concentration de certaines caractéristiques génétiques et mutations, mais aussi l'apparition plus fréquente de maladies congénitales à transmission autosomique récessive.
-   La prévalence élevée des porteurs hétérozygotes dans la population marocaine

La recherche systématique de la mutation 35delG, chez un sujet atteint d'une surdité, est aujourd'hui un outil important pour la santé publique. Elle permet d'améliorer considérablement la qualité du conseil génétique sollicité par les parents et de répondre avec précision à de nombreuses questions sur le caractère héréditaire de la surdité, les risques pour les enfants à venir et l'évolution de la surdité. Un séquençage de toute la partie codante du gène GJB2 doit être entrepris en l'absence de cette mutation.

L'absence d'altérations génétiques dans notre population (76 %) suggère clairement l'implication d'autres gènes nécessitant une analyse génétique plus poussée.

Actuellement, les méthodes de séquençage à haut débit sont porteuses de grands espoirs en terme d'innovations médicales notamment dans le diagnostic moléculaire des surdités d'origine génétique. Un panel de 100 gènes possiblement impliqués dans les surdités syndromiques et non syndromiques pourrait être testé.

RESUMES

RESUME

Introduction : La surdité constitue le déficit sensoriel le plus fréquent, affectant environ 1 enfant sur 1000, elle peut être de transmission, de perception ou mixte, l'origine génétique est incriminée dans 60 à 80 % des cas. Le mode de transmission autosomique récessif est prédominant (pres de 80 %).

Plus de 67 gènes sont incriminés dans les surdités non syndromiques, l'un d'eux ; le gène GJB2 localisé en 13q1 code pour la Connexine 26, une protéine transmembranaire intervenant dans le transport intercellulaire au niveau de l'oreille interne. Ce gène est muté dans environ 10 % de toutes les surdités de l'enfant et dans plus de 50 % des surdités récessives non syndromiques.

But : L'objective de ce travail est de déterminer la prévalence et le spectre des mutations du gène GJB2 en particulier la mutation 35delG dans notre population, d'établir un phénotype clinique et de proposer un conseil génétique adéquat.

Matériel et Méthode : Etude intéressant 50 sujets présentant une surdité isolée suivis au service d'ORL sur une période de 4 ans (2013- 2016) et ayant bénéficié d'une consultation génétique ainsi qu'une étude moléculaire du gène GJB2 au sein du service de génétique médicale du CHU HASSAN II de Fès.

Résultats : Notre étude confirme l'implication incontestable et fréquente des mutations du gène GJB2 dans la surdité autosomique récessive non syndromique au Maroc, comme c'est le cas dans d'autres pays du pourtour méditerranéen.

Conclusion : les méthodes de séquençage à haut débit sont porteuses de grands espoirs en termes d'innovations médicales notamment dans le diagnostic moléculaire des surdités d'origine génétique.

ABSTRACT

Introduction : Deafness is the most common sensory deficit, affecting about 1 in 1000 children, it can be of transmission, perception or mixed, the genetic origin is incriminated in 60 to 80% of the cases. The autosomal recessive mode is predominant (nearly 80%). More than 67 genes are incriminated in non-syndromic deafness, one of them; The GJB2 gene located at 13q1 encodes Connexin 26, a transmembrane protein involved in intercellular transport at the inner ear. This gene is mutated in about 10% of all childhood deafness and in more than 50% of non-syndromic recessive deafness.

OBJECTIVE : The objective of this work is to determine the prevalence and spectrum of mutations of the GJB2 gene, in particular the 35delG mutation in our population, to establish a clinical phenotype and to propose adequate genetic counseling.

MATERIAL AND METHOD : Interesting 50 subjects with isolated deafness followed by ENT service over a period of 4 years (2013-2016) and benefiting from genetic counseling as well as a molecular study of the GJB2 gene within the department Medical genetics of the CHU HASSAN II of Fez.

Results: Our study confirms the undeniable and frequent involvement of GJB2 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness in Morocco, as is the case in other countries around the Mediterranean.

Conclusion : high-throughput sequencing methods have high hopes for medical innovations, particularly in the molecular diagnosis of genetic deafness.

مطنى:

المقدمة: الصمم هو العجز الحسي الأكثر شيوعاً، ويؤثر على حوالي 1 في 1000 طفل، يمكن أن يكون مشكلة في نقل أو الإحراك أو الأسماء، الأصل الوراثي تسبب في حوالي 60-80% من الحالات. وخصوصاً الجدي نذلة غير النذدة (مليقوب من 80%).

ويتسبب أكثر من 67 جينة في حالات الصمم الغير مرتبط بالجينات GJB2 تقع على 13q11 المسؤول عن نديع 26 connexin، وهو بروتين غشائي يشترك في نقل بالنيخا لايا في الأنسجة الداخلية تحدث طفرة هذالجينة في حوالي 10% من حالات الصمم الطفولي وفي أكثر من 50% من حالات الصمم نذية الغاليمت لازمة.

الهناهدف من هذالعمل هو ندي ندي الا نذل ومدي الطفوت في جينة GJB2، وخصوصاً طفرة 35delG في عدد السكك ينال شطط فية وتوع يثوراثية ليمية.

المواد والظريفات مستخدمت: دراسة 50 شخصاً من حالات الصمم المعزول والممتنا بعة في صلحة الأنف والأذن والحنجرة على مدى 4 سنوات (2013-2016) لاستفادة من الاستشلال لورااثي توكد ذلك دراسة جزئية لجينة GJB2 دا خل قسم لم لوراثة بالمستشفى الحسن الثاني بفيل.

النتائج: دراسة نتوكد التورط المتكرر التي لا يمكن نكله من الطفول الجينية في جينة GJB2 في حالات الصمم الوراثي الغير لازمة في المغرب، كما هو الحال التي بدل دل الأخرى فيم يلع نحاء دول البحر الأبيض المتوسط.

الخلاصة: طوقالتسلسلال نتاج بالفعالية تصع أمالابو عة على الا بتكل للطف بية، وخصوصاً في الشخصيل الجزئي للصمم الوراثي

REFERENCES

- [1] Vincent C. Les surdités génétiques. Archives de Pédiatrie (2003) ; 10S 1:150
- [2] Vincent C. Surdités génétiques : mise au point. La Revue de médecine interne 32S (2011) ; S2-S4
- [3] F. Denoyelle, S. Marlin. Surdités de perception d'origine génétique. EMC oto-rhino laryngologie 2 (2005) ; 343-364
- [4] Van Camp G, Smith R. Hereditary hearing loss homepage [Internet]. Available from: <http://hereditaryhearingloss.org>
- [5] Denoyelle F, Lina-Granade G, Plauchu H et al. Connexin 26 gene linked to a dominant deafness. Nature (1998); 393:319-20.
- [6] Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Leibovici M, Petit C. Otogelin: a glycoprotein specific to the acellular membranes of the inner ear. Proc Natl Acad Sci USA (1997) ; 94:14450-5.
- [7] Netter Frank H, Atlas d'anatomie humaine, Elsevier Masson 2002
- [8] Bouchet A, Cuilleret J. Anatomie topographique descriptive et fonctionnelle. Tome 1 : système nerveux central : la face, la tête et les organes des sens. 1997.
- [9]. Harada H. The vestibular organs. SEM Atlas of the inner ear. Amsterdam : Nishimura Kugler and Ghedini , 1988
- [10] Nouvian R, Malinvaud D, Van den Abbeele T et al. Physiologie de l'audition. Encycl Med Chir (Elsevier, Paris), Oto-rhino-laryngologie, 20-030-A-10, 2006 :15p.
- [11] Simon E, Perrot X, Mertens P. Functional anatomy of the cochlear nerve and the central auditory system. Neurochirurgie. (2009) ; Apr;55(2):120-6.
- [12] Delas B, Dehesdin D. Anatomie de l'oreille externe. Encycl Med Chir (Elsevier, Paris), Oto-rhinolaryngologie, 20-010-A-10, 2008 :10p.

- [13] Nouvian R, Malinvaud D, Van den Abbeele et al. Physiologie de l'audition. EncyclMédChir. Elsevier, Paris 2006 ; 20-030-A-10.14p.
- [14] LEGENT F., FLEURY P., NARCY P., BEAUVILLAIN C. ORL Pathologie cervico-faciale, Paris-Masson, 5e édition 1999.
- [15] FATTORUSSO V., RITTER O. Vademecum clinique. Du diagnostic au traitement. Masson, 18e édition 2006, 2047p.
- [16] SAUVAGE J.-P., BESSEDE J.-P. Révision accélérée en oto-rhino-laryngologie. Edition maloine, 1987, 208p.
- [17] SCHLEGEL C., LINDER T. Nouveaux développements dans le traitement de la surdité. Forum Med Suisse 2008 ; 8: 33-38.
- [18]. Loundon N. Comment réaliser une exploration de l'audition chez l'enfant. Ann OtolaryngoChirCervicofac 2007 ; 124 : 333-336.
- [19] Legent F, Bordure P, Calais C, Malard O. Audiologie pratique. Editions Masson, Paris 2002 :97-114.
- [20] Biacabe B, Mom T, Avan P, Bonfils P. Anatomie fonctionnelle des voies auditives. EncyclMédChir. Elsevier, Paris 1999 ; 20-022-A-10.7p.
- [21] Bonfils P, François M, Aidan D, Avan P. La surdité en période néonatale : les bases du dépistage. Arch Pédiatr 1995 ; 2 : 685-691.
- [22] Avan P, Bordure P, Bouccara D et al. Explorations auditives. In : Deguine O, Darouzet V. Electrophysiologie en ORL Paris. Société française d'ORL. 2008 : 17-106.
- [23] Moulin A, Ferber-Viart C, Berland M et al. Dépistage systématique de la surdité en maternité par otoémissions acoustiques provoquées : aspects pratiques et attitudes parentales. Arch Pédiatr 2001 ; 8 :929-936.
- [24] Mom T. Les otoémissions en pratique clinique et chirurgicale. Ann OtolaryngolChirCervicofac 2007 ; 124 : 80-89.

- [25] Institut national de la santé et de la recherche médicale. Déficits auditifs- Recherches émergentes et applications chez l'enfant. Paris : Inserm. Expertise collective ; 2006.
- [26] Ruggieri-Marone M, Schochat E. Etude des produits de distorsions acoustiques chez les nouveau-nés traités par ototoxiques. *RevLaryngolOtolRhinol* 2007 ; 1 : 41-46.
- [27] Avan P, Exploration fonctionnelle objective des voies auditives. Editions MédicalesInternationales, Cachan 1997.
- [28] Anson BJ, Donaldson JA. Surgical anatomy of the temporal bone. Philadelphia : WBSaunders ; 1981 (734p)
- [29] Melchionda s, Bicego M, Marciano E, Franze A, Morgutti M, Bortone G, Zelante L, Carella M, D'Andrea P. Functional characterization of novel CX26 (T55N) mutation associated to non-syndromic hearing loss. *BiochemBiophysRes Commun.* (2005) ; 337:799-805.
- [30] Legan PK, Rau A, Keen JN, Richardson GP. The mouse tectorins: modular matrix proteins of the inner ear homologous to components of the spermegg adhesion system. *J BiolChem* (1997) ; 272:8791-801.
- [31] Denoyelle F, Marlin S, Petit C, Garabedian EN. Hereditary sensorineural deafness. *Rev Prat* (2000) ; 15:146-9
- [32] M. Blanchard, B. Thierry, S. Marlin, F. Denoyelle. Aspects génétiques de la surdité. *Archives de pédiatrie* 19 (2012) 886-889
- [33] Petit C, Levilliers J, Hardelin JP. Molecular genetics of hearing loss. *Annu Rev Genet* (2001), 35:589-646
- [34] Denoyelle F, Marlin S, Petit C, Garabedian EN. Hereditary sensorineural deafness. *Rev Prat* (2000) ; 15:146-9

- [35] Van Camp G, Smith R. Hereditary hearing loss homepage [Internet]. Available from: <http://hereditaryhearingloss.org>.
- [36] Denoyelle F, Weil D, Maw MA et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 35delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet* (1997) Nov;6(12) : 2173-7
- [37] Albert S, Blons H, Jonard L, et al. SLC26A4 gene is frequently involved in nonsyndromic hearing impairment with enlarged vestibular aqueduct in Caucasian populations. *EJHG* (2006) ; 14(6) :773-9.
- [38] Jonard L, Niasme-Grare M, Bonnet C, et al. Screening of SLC26A4, FOXI1 and KCNJ10 genes in unilateral hearing impairment with ipsilateral enlarged vestibular aqueduct. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* (2010) ; 74(9) :1049-53.
- [39] A. Marcolla, P Bouchetembe, Y. Lerosey et al. Surdités d'origine génétique. *Annales d'otorhinolaryngologie et de chirurgie cervicofaciale* (2006). 123, 3,143-147
- [40] Stern RE, Lalwani AK. Audiologic evidence for further genetic heterogeneity at DFNA2. *Acta Otolaryngol* (2002) ; 122:730-5
- [41] OH N, Kupka S, Mirghmizadeh F et al. Clinical and molecular genetic analysis of monozygotic twins displaying stapes gusher syndrome (DFN3). *HNO* (2003) ; 51:629-33
- [42] Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM. Hereditary hearing loss and its syndromes. New York : Oxford University Press;(1995).
- [43] Walter E. Nance. The genetics of deafness. *Mental retardation and developmental disabilities. Research reviews* (2003) 9: 109-119.
- [44] Denoyelle F, Weil D, Maw MA et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 35delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet* (1997); Nov;6 (12): 2173-7

- [45] Vincent M, Estève-Fraysse MJ, Fraysse B. Diagnosis of perceptive deafness in adults. Rev Prat. (1990) Sep 1 ; 40(19) :1751-61.
- [46] Haute Autorité de Santé. Evaluation du dépistage néonatal systématique de la surdité permanente bilatérale. Janvier 2007. www.has-sante.fr/
- [47] La Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et technologies de santé (CNEDiMTS) de la HAS. Janvier 2012 www.has-sante.fr
- [48] Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé. Evaluation clinique et économique : dépistage néonatal de la surdité permanente par les otoémissions acoustiques. Paris :Anaes ; 1999.
- [49]. Robbins AM, Koch, Osberger MJ, Zimmerman-Phillips S et al. Effect of age at cochlear implantation on auditory skill development in infants and toddlers. Arch Otolaryngol head Neck Surg 2004 ; 130(5) :570-574.
- [50]. Reefhuis J, Honein MA, Whitney CG et al. Risk of bacterial meningitis in children with cochlear implants. N Engl J Med 2003 ; 349(5) :435-445.
- [51] Françoise DENOYELLE, Sandrine MARLIN, Patricia LEWIN, et al. Surdit PASTEUR CERBA LABORATOIRE avril 2000
- [52] Maeda S, Nakagawa S, Suga M, Yamashita E, Oshima A, Fujiyoshi Y, Tsukihara T. Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution. Nature. (2009) ; 458(7238) :597-602.
- [53] Martin PEM, Evans HW. Incorporation of connexins into plasma membranes and gap junctions. Cardiovasc Res. (2004) ; 62:378-387.
- [54] S. Abe, S. Usami, H. Shinkawa, P. M. Kelley, W. J. Kimberling. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese, J. Med. Genet. 37 (2000) ; 41-43.
- [55] Y. C. Wang, C. Y. Kung, M. C. Su et al. , Mutations of Cx26 gene (GJB2) for prelingual deafness in Taiwan, Eur. J. Hum. Genet. 10 (2002), 495-498.
- [56](Revue des sciences 10/10 Jean Zin)

- [57] (Connexon, Wikipedia)
- [58] Akiyama M, Sakai K, Arita K, Nomura Y, Ito K, Kodama K, McMillan JR, Kobayashi K, Sawamura D, Shimizu H. A novel GJB2 mutation p. Asn54His in a patient with palmoplantar keratoderma, sensorineural hearing loss and knuckle pads. *J Invest Dermatol.* (2007) ; 127:1540–1543.
- [59] Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL, Adams JC. Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Anal Embryol.* (1995) ; 191:101–118.
- [60] O Abidi, R Boulouiz, H Nahili et al. GJB2 (connexin 26) gene mutations in Moroccan patients with autosomal recessive non-syndromic hearing loss and carrier frequency of the common GJB2—35delG mutation. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*(2007) ; 71, 1239—1245
- [61] Chang, Q., Tang, W., Ahmad et al. Gap junction mediated intercellular metabolite transfer in the cochlea is compromised in connexin 30 null mice. (2008) *PLoS ONE* 3, e4088.
- [62] G. Minarik, E. Ferakova, A. Ficek, et al. *GJB2* gene mutations in Slovak hearing-impaired patients of Caucasian origin : spectrum, frequencies and SNP analysis, *Clin. Genet.* 68 (2005) ; 554-557.
- [63] Stong, B. C., Chang, Q., Ahmad, S. A novel mechanism for connexin 26 mutation linked deafness: cell death caused by leaky gap junction hemichannels. *Laryngoscope.* (2006), 116, 2205–2210.
- [64] Cohen-Salmon, M., Ott, T., Michel, V et al. Targeted ablation of connexin26 in the inner ear epithelial gap junction network causes hearing impairment and cell death. *Curr. Biol.* (2002) ; 12,1106–1111.

- [65] Beltramello, M., Piazza, V., Bukauskas, F. F et al. Impaired permeability to Ins(1,4,5)P3 in a mutant connexin underlies recessive hereditary deafness. *Nat. Cell. Biol.* (2005) ; 7, 63–69.
- [66] Zhang, Y., Tang, W., Ahmad S et al. Gap junction-mediated intercellular biochemical coupling in cochlear supporting cells is required for normal cochlear functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2005); 102, 15201–15206.
- [67] Tekin M, Arnos KS, Xia XJ, Oelrich MK, Liu XZ, Nance WE, Pandya A. W44C mutation in the connexin 26 gene associated with dominant non-syndromic deafness. *Clin Genet.* (2001) ; 59:269–273.
- [68] Akiyama M, Sakai K, Arita K, Nomura Y, Ito K, Kodama K, McMillan JR, Kobayashi K, Sawamura D, Shimizu H. A novel GJB2 mutation p. Asn54His in a patient with palmoplantar keratoderma, sensorineural hearing loss and knuckle pads. *J Invest Dermatol.* (2007) ; 127:1540–1543.
- [69] Parry G, et al. Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. *Nature* (1997) ; 387:80–3.
- [70] Green GE, Scott DA, McDonald JM, Woodworth GG, Sheffield VC, Smith RJH. Carrier rates in the midwestern United States for GJB2 mutations causing inherited deafness. *JAMA.* (1999) ; 281:2211–2216
- [71] Feldmann D, Denoyelle F, Loundon N et al. Clinical evidence of the nonpathogenic nature of the M34T variant in the connexin26 gene. *Eur J Hum Genet* (2004) ; 12:279–84.
- [72] Morlé L, Bozon M, Alloisio N et al. A novel C202F mutation in the connexin26 gene (GJB2) associated with autosomal dominant isolated hearing loss. *J Med Genet* (2000) ; 37:368–9.
- [73] Meşe G, Richard G, White TW. Gap junctions: basic structure and function. *J Invest Dermatol.* (2007) ; 127:2516–2524.

- [74] Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL, Adams JC. Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Anal Embryol.* (1995) ; 191:101–118.
- [75] Richard G, Rouan F, Willoughby CE, et al. Missense mutations in GJB2 encoding connexin-26 cause the ectodermal dysplasia keratitis- ichthyosisdeafness syndrome. *Am J Hum Genet* (2002) 70:1341–1348.
- [76] Morlé L, Bozon M, Alloisio N et al. A novel C202F mutation in the connexin26 gene (GJB2) associated with autosomal dominant isolated hearing loss. *J Med Genet* (2000) ; 37:368–9.
- [77] Santé en chiffre 2010. Direction de la Planification et des ressources financières, division de la planification et des études, Service des études et de l'information sanitaire. 2010. Ministère de la santé, Royaume du Maroc.
- [78] Ridal M, N Ouattassi, Z Taybi et al. Profil étiologique des surdités neurosensorielles sévères et profondes de l'enfant dans la région du centre nord du Maroc. *Pan African Journal of Medicine* 2014.
- [79] H Nahili, M Ridal, R Boulouiz et al. Absence of GJB3 and GJB6 mutations in Moroccan familial and sporadic patients with autosomal recessive nonsyndromic deafness. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* (2008); 72, 1633-1636.
- [80] O Abidi, R Boulouiz, H Nahili et al. GJB2 (connexin 26) gene mutations in Moroccan patients with autosomal recessive non-syndromic hearing loss and carrier frequency of the common GJB2—35delG mutation. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*(2007) ; 71, 1239—1245
- [81] Thomassin JM, Dessi P, Danvin JB et al. Anatomie de l'oreille moyenne. *Encycl Med Chir* (Elsevier, Paris), Oto-rhino-laryngologie, 20-015-A-10, 2008 :21p.
- [82] Parry G, et al. Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. *Nature* (1997) ; 387:80–3.

- [83] G. Minarik, E. Ferakova, A. Ficek, et al. *GJB2* gene mutations in Slovak hearing-impaired patients of Caucasian origin : spectrum, frequencies and SNP analysis, *Clin. Genet.* 68 (2005) ; 554-557.
- [84] B. Gazzaz, D. Weil, L. Rais et al. Autosomal recessive and sporadic deafness in Morocco: high frequency of the 35delG *GJB2* mutation and absence of the 342-kb *GJB6* variant, *Heart Res.* 210 (2005) ; 80-84.
- [85] Sefiani : I. Ratbi, S. Hajji, K. Ouldin et al The mutation 35delG of the gene of the connexin 26 is a frequent cause of autosomal-recessive non-syndromic hearing loss in Morocco .*Archives de pédiatrie* 14 (2007) 450-453
- [86] Bouguenouchlaila, Etude moléculaire de la surdité de perception d'origine génétique au chu Hassan II Fès (à propos de 60 cas). Mémoire pour l'obtention du diplôme de spécialité en médecine ; (2014)
- [87] Taybizainab, les surdités génétiques non syndromiques liées aux mutations du gène de la connexine 26 (à propos de 1010 cas) ; Mémoire pour l'obtention du diplôme de spécialité en médecine ; (2014)
- [88] F. Denoyelle, S. Marlin, D. Weil et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, *DFNB1*, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling, *Lancet* 353 (1999) 1298—1303.
- [89] X. Estivill, P. Fortina, S. Surrey, R. Rabionet et al. , Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness, *Lancet* 351 (1998) 394-398.
- [90] A. Pampanos, J. Economides, V. Iliadou, P. Neou, P. Leotsakos, N. Voyiatzis, et al., Prevalence of *GJB2* mutations in prelingual deafness in the Greek population, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*65 (2002) 101—108.
- [91] M. Mustapha, N. Salem, V. Delague et al., Autosomal recessive nonsyndromic hearing loss in the Lebanese population: prevalence of the 30delG mutation and report of two novel mutations in the connexin 26 (*GJB2*) gene, *J. Med. Genet.* 38 (2001) E36.

- [92] O. Uyguner, M. Emiroglu, A. Uzumcu et al., Frequencies of gap- and tightjunctionmutations in Turkish families with autosomal-recessive nonsyndromic hearing loss, *Clin. Genet.* 64 (2003) 65—69.
- [93] X.Z. Liu, X.J. Xia, X.M. Ke et al., The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population, *Hum. Genet.* 111 (2002) 394—397.
- [94] R.L. Snoeckx, D.M. Hassan, N.M. Kamal et al. Mutation analysis of the GJB2 (connexin 26) gene in Egypt, *Hum.Mutat.* 26 (2005) 60—61.
- [95] P. Seeman, M. Malikova, D. Raskova et al., Spectrum and frequencies of mutations in the GJB2 (Cx26) gene among 156 Czech patients with prelingual deafness, *Clin.Genet.* 66 (2004) 152—157.
- [96] Denoyelle F, Weil D, Maw MA et al. Prelingualdeafness : high prevalence of a 35delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet* (1997) ; Nov;6 (12): 2173-7
- [97] N. J. Lench, A. F. Markham, R. F. Mueller et al. , A Moroccan family with autosomal recessive sensorineural hearing loss caused by a mutation in the gap junction protein gene connexin 26 (GJB2), *J. Med. Genet.* 35 (1998) ; 151-152.
- [98] P. M. Kelley, D. J. Harris, B. C. Comer et al. , Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss, *Am. J. Hum. Genet.* 62 (1998); 792-799.
- [99] M. M. Carrasquillo, J. Zlotogora, S. Barges, A. Chakravarti, Two different connexin 26 mutations in an inbred kindred segregating non-syndromic recessive deafness: implications for genetic studies in isolated populations, *Hum. Mol. Genet.* 6 (1997) ; 2163-2172.

- [100] R. J. Morell, H. J. Kim, L. J. Hood, L. et al. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness, *N. Engl. J. Med.* 339 (1998) ; 1500-1505.
- [101] Liu, X. Z., Xia, X. J., Adams, J. et al. Mutations in GJA1 (Connexin 43) are associated with non syndromic autosomal recessive deafness. *Hum. Mol. Genet.* (2001) 10, 2945-2951.
- [102] Liu, X. Z., Xia, X. J., Xu, L. R et al. Mutations in connexin 31 underlie recessive as well as dominant non syndromic hearing loss. *Hum. Mol. Genet.* (2000) 9, 63-67.
- [103] Ruazidin, S., Castelein, C. M., Ahmed, Z. M. et al. Dominant modifier DFMN1 suppresses recessive deafness DFNB26. *Nat. Genet.* (2000) ; 26,431-434.

ANNEXES

ANNEXES 1***Fiches de consentement*****Banque d'ADN****Maladie de ...****Dossier Génétique :****Dossier clinique :****IP :****Nom, Prénom :****Date de naissance :****Consanguinité :****Origine père :****Origine mère :****Adresse :****Tel :****Médecin traitant :****Prélèvement sanguin (2 tubes EDTA de 5 ml)****Fait le****Propositus****Père****Mère****Autres****Réception au laboratoire par :****le :****Fait à Fès, le****Signature et cachet du médecin :**

ANNEXES 2

موافقة مريض بعد التوعية من اجل الدراسة في الجينات
لمرض

الاسم العائلي.....

إقرار المريض

أقرأ الموقع أدناه..... موافقتي الإرادية على المشاركة من
اجل دراسة الجينات لمرض

حرر في: بتاريخ.....

التوقيع:

إقرار الطبيب

أقر أنا الطبيب بأنني شرحت بالقدر الوافي للمريض طبيعة هذه
الدراسة والهدف منها وانه وافق بمحض إرادته.

حرر في: بتاريخ.....