

L'identification génétique : bilan d'activité du service de médecine légale du CHU de Sfax

**A. AYADI¹, S. BARDAA¹, A. KAMMOUN², Z. KHEMAKHEM¹,
H. MAKNI², Z. HAMMAMI¹, S. MAATOUG¹**

INTRODUCTION

L'identification génétique d'un individu repose sur l'établissement d'un lien entre cette personne et des informations de référence. Dans ce contexte, l'ADN permet d'exploiter des échantillons provenant de la personne elle-même (références personnelles) ou des parents proches de cette personne (références familiales).

L'identification génétique, par l'intermédiaire de repères appelés marqueurs microsatellites, permet d'obtenir la carte d'identité génétique d'un individu. Cette carte d'identité génétique est unique, universelle et infalsifiable.

Les applications des empreintes génétiques en médecine légale sont nombreuses.

Le développement de plus en plus constant de cette technique et l'étendue de ses applications en médecine légale nous ont incité à créer en 2004 au sein du service de médecine légale du CHU Habib Bourguiba de Sfax une unité de recherche scientifique intitulée « identification génétique ».

L'objectif de cet article est de présenter cette unité, d'évaluer son bilan d'activité au terme de quatre années et de dégager les éventuelles insuffisances.

1. PRÉSENTATION DE L'UNITÉ DE RECHERCHE

L'unité de recherche « identification génétique », a été créée en 2004. Elle est financée par le Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de La Technologie Tunisien. Cette unité est dirigée conjointement par le service de médecine légale et le service d'immunologie et de biologie moléculaire.

Au service de médecine légale, s'effectuent en collaboration avec les autorités judiciaires, les prélèvements sur les lieux et à partir de cadavres. Ces prélèvements sont conditionnés et acheminés au service d'immunologie et de biologie moléculaire où s'effectuent l'extraction, le génotypage et l'interprétation des résultats.

1. Service de médecine légale CHU H. Bourguiba Sfax-Tunisie.

2. Service d'immunologie et de biologie moléculaire CHU H. Chaker Sfax-Tunisie.

Prélèvement	Volume	Conservation + recommandations
Sang prélevé sur vivant	5 à 10 ml sur tube (EDTA)	<ul style="list-style-type: none"> Réfrigération +4°C Tampon de lyse + centrifuger → -20°C
Sang prélevé sur cadavre	5 à 10 ml sur tube sec (sans anti-coagulant)	<ul style="list-style-type: none"> Sang cardiaque ou périphérique Réfrigération à +4°C Tampon de lyse + centrifuger → -20°C
Tissus mous ou durs	Cube de 1cm ³ Flacon plastique	<ul style="list-style-type: none"> Pas de formol Congélation -20°C
Prélèvement vaginal ou anal	3 échantillons (sites multiples)	<ul style="list-style-type: none"> Garder au sec Réfrigération à -20°C
Tâches de sang, de sperme...	Le plus vaste possible 0,5 -1 cm ³ Imbibition avec du sérum physiologique	<ul style="list-style-type: none"> Garder au sec Congélation -20°C Ne pas laver
Cheveux ou poils	Poils (+bulbe)	<ul style="list-style-type: none"> Garder au sec Congélation à -20°C
Ongles	Coupés à ras Emporter les saletés sous unguéales	<ul style="list-style-type: none"> Garder au sec Congélation à -20°C
Ecouvillonnage buccal	Bien frotter la muqueuse buccale Écouvillon	<ul style="list-style-type: none"> Garder au sec Congélation à -20°C

Tableau 1 : Techniques et conditions de prélèvement.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les principaux prélèvements que nous avons réalisés sont le sang, le sperme, les fragments d'os ou de cartilage, de cheveux, d'ongle et voire même des traces de salives (tableau n° 1).

L'ADN a été extrait à partir du prélèvement le jour même sinon conservé à -20°C.

L'extraction d'ADN à partir du sang a été réalisée par la technique des sels.

Nous avons utilisé le Kit DNA IQTM system pour l'extraction d'ADN à partir des tâches de sang et à partir des ongles ainsi que les tissus, selon le protocole décrit par Proméga. La technique d'extraction d'ADN diffère donc selon le type de prélèvement (Tableau n° 2).

Prélèvement	Technique d'extraction d'ADN
Tâche de sang	<ul style="list-style-type: none"> DNA IQTM (Proméga)
Sang prélevé sur EDTA Sang à partir de cadavres	<ul style="list-style-type: none"> Phénol chloroforme DNA IQTM (Proméga)
Sérum	<ul style="list-style-type: none"> DNA IQTM
Ecouvillon buccal	<ul style="list-style-type: none"> DNA IQTM

Tableau 2 : Techniques d'extraction d'ADN en fonction du type de prélèvement.

Les profils génétiques obtenus à partir des ongles ont été comparés par rapport à ceux des victimes et des suspects.

3. BILAN D'ACTIVITÉ

3.1. Natures des affaires

Les applications des empreintes génétiques en médecine légale sont nombreuses en particulier en criminalistique et pour les recherches de paternité.

En criminalistique, il importe d'identifier, de façon certaine, l'auteur d'un crime, d'une agression sexuelle à partir des traces biologiques laissées sur les lieux des faits.

Le tableau suivant représente la nature des affaires traitées au sein de notre unité de recherche sur une période de 4 ans.

3.2. Évolution du nombre d'affaires

Le tableau suivant représente l'évolution de l'activité de notre unité de recherche en fonction des années.

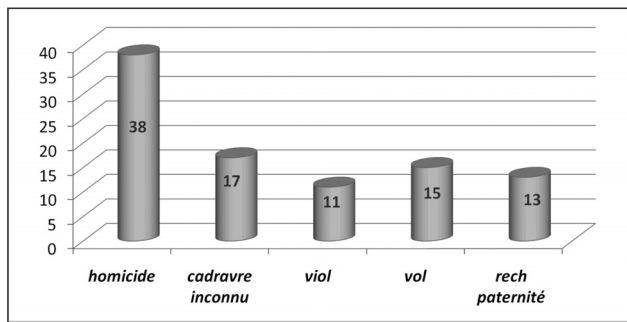


Figure 1 : Natures des affaires traitées (2005-2008)

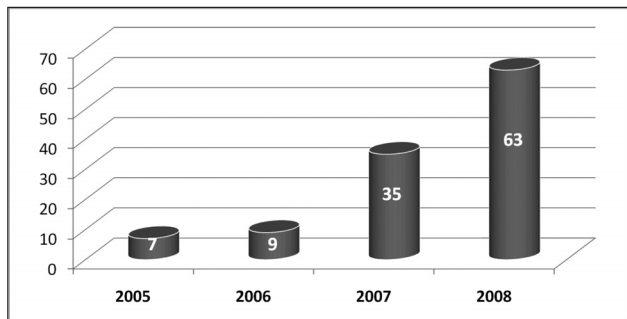


Figure 2 : Répartition des affaires en fonction des années

3.3. Présentation des résultats

Affaire n° 1 : cas de meurtre

Il s'agit d'un cas de meurtre d'un jeune homme qui a été retrouvé assassiné par arme blanche. L'arme utilisée n'a pas été retrouvée. Les empreintes digitales relevées sur les lieux ont été reconnues par le service de police scientifique. L'accusé a nié toute relation avec ce crime.

Lors de l'autopsie médico-légale, il a été retrouvé à l'examen externe des blessures multiples par arme blanche dans différentes régions du corps et des traces de morsure au niveau des membres.

Il a été procédé alors à un écouvillonnage au niveau des traces de morsure (à la recherche de la salive), à un prélèvement anal (à la recherche de spermatozoïdes), à un prélèvement des ongles (à la recherche de cellules épithéliales de l'agresseur) et à un prélèvement de sang de la victime.

Pour l'accusé, un prélèvement sanguin a été fait. L'étude des empreintes génétiques dans les différents échantillons a permis de confirmer l'identité du profil



Photo 1 : Traces de morsure multiples au niveau des membres supérieurs

génétique de l'accusé avec le matériel génétique analysé à partir des ongles de la victime et de la salive contenue dans les traces de morsures (figures 3, 4).

Ainsi, devant cette preuve, l'accusé ré-interpelé, a fini par avouer.

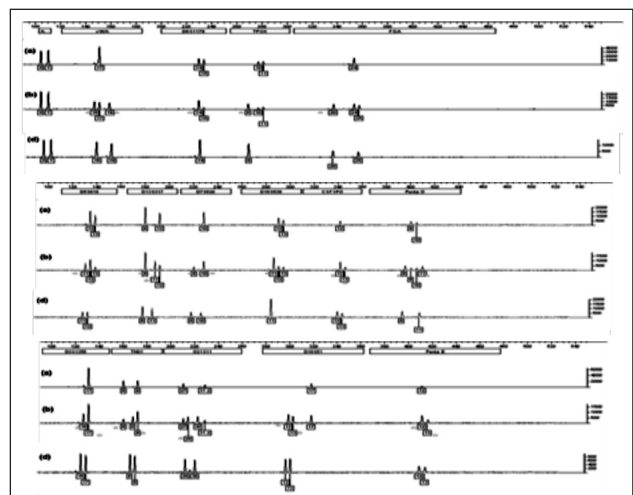


Figure 3 : Analyse de la trace de morsure ; (a) victime, (b) morsure, (d) suspect

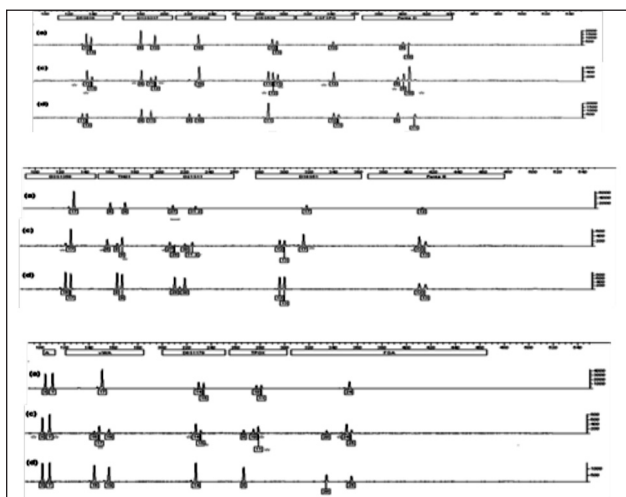


Figure 4 : Analyse des ongles ;
(a)victime, (c) ongle, (d) suspect

Affaire n° 2 : prélèvement sur les lieux d'un crime

Dans cette affaire, une famille composée de quatre personnes a été agressée la nuit par des inconnus. Il en a résulté la mort du père et de la mère et des blessures graves d'un fils. La jeune fille a pu s'évader.

Il nous a été déposé alors les corps des deux adultes assassinés par arme blanche.

L'examen externe des corps a montré de multiples plaies pénétrantes par arme blanche sans autres lésions de défenses notables. Par contre, nous avons notés plusieurs écorchures et griffures en coups d'ongle chez le garçon qui a survécu à cet attentat.

Nous nous sommes alors déplacés sur les lieux où nous avons effectués de multiples prélèvements de taches de sang (25 taches). Il a été procédé à une ana-

lyse comparative du matériel génétique extrait de ces taches avec celui provenant du sang de trois victimes et deux suspects.

Cette analyse a permis de confirmer la culpabilité des deux suspects dans ce crime qui, confrontés à ces résultats, ont avoué (figure 5).

Affaire n°3 : identification de l'auteur d'un viol

Dans cette affaire, une aide ménagère a été violée par un inconnu. Au dépôt de plainte, la victime a décrit quelques caractéristiques physiologiques de l'agresseur. Ceci a permis d'arrêter 40 suspects.

Un prélèvement vaginal a été effectué au sein du service de médecine légale. Les sous vêtements de la victime ont été saisis et adressés directement au laboratoire.

Le matériel génétique extrait a été comparé avec celui provenant de l'écouvillonnage buccal des 40 suspects. Ceci a permis d'identifier l'auteur de ce crime qui a reconnu les faits qui lui ont été reprochés.

4. DISCUSSION

Cette nouvelle technique d'identification « les empreintes génétiques » occupe de plus en plus une place prépondérante en médecine légale. Cependant, elle rencontre quelques difficultés pratiques [1,4].

La première difficulté pour les biologistes est celle du type même et de la qualité du produit qui leur est demandé d'analyser [3].

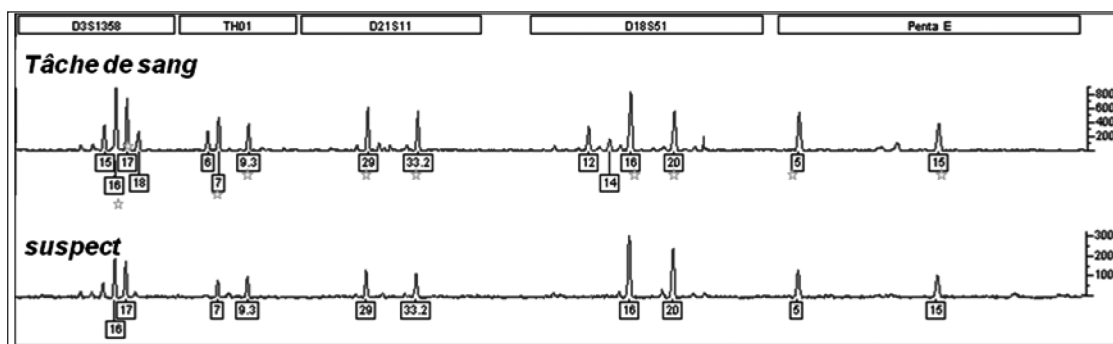


Figure 5 : Étude comparative de l'analyse de la tache de sang prélevée sur les lieux avec le sang du suspect

Le sang est le liquide biologique le plus facilement et le plus fréquemment étudié. L'ADN est extrait des globules blancs. A fin de pouvoir répéter les analyses, il convient de prélever environ 5 millilitres de sang pour un adulte ; pour les enfants, cette quantité peut être réduite à 0.5 millilitre. Le sang est recueilli sur des tubes contenant l'EDTA comme anticoagulant. D'autres substances anticoagulantes peuvent être utilisées (fluorure de sodium) [2].

Une fois prélevé, le sang peut être conservé à +4°C (au réfrigérateur) si l'extraction est réalisée dans les deux ou trois jours suivants. Le transport doit être effectué également à cette température. Si le délai est supérieur à 72 jours, l'échantillon doit être congelé à -20°C ou -80°C. Il doit être transporté au laboratoire sur de la carboglace dans un emballage isotherme.

En cas d'agression sexuelle, les prélèvements doivent comprendre un prélèvement de sang sur tube EDTA pour détermination de l'ADN de la victime, des écouvillonnages vaginaux, rectaux ou buccaux (minimum 8 écouvillons), ainsi que le recueil de toute les taches suspectes sur le corps ou les vêtements [5].

Les écouvillons doivent être séchés à température ambiante avant d'être introduits dans leur tube d'origine. Dans le cas contraire, il convient de les congeler à -20°C et de les acheminer à cette température au laboratoire. Ces mêmes précautions doivent être envisagées en cas d'écouvillonnage buccal [2].

Concernant les prélèvements sur les corps en décomposition, l'idéal est de prélever un fragment de 10 cm de la diaphyse fémorale. Le découpage s'effectue à l'aide d'une scie ayant été stérilisée afin d'éviter toute contamination exogène. La diaphyse est ensuite nettoyée à la rugine à fin de ne laisser substituer aucun tissu musculaire. Elle est ensuite placée dans un flacon stérile. A coté de ce prélèvement, il est utile de prélever aussi des dents mono radiculaires saines. Pour les autres tissus, la stabilité de l'ADN est relativement bonne dans les muscles myocardiques et squelettiques ainsi que dans les ganglions lymphatiques. En revanche, l'altération de cette molécule est rapide dans le sang, la rate et le foie. L'ADN extrait du tissu cérébral présente aussi une bonne qualité même après un délai de 30 jours [2,5].

Les prélèvements effectués dans le cadre de la recherche de filiation sont variables en fonction de l'âge de l'interruption de la grossesse. Après interruption de celle-ci, les tissus embryonnaires ou fœtaux sont rapidement congelés à -20°C sans aucun additifs

et sans agent de conservation, et acheminés à cette température au laboratoire [2].

Les profils ADN déterminés peuvent ainsi servir à déterminer la paternité génétique d'un homme. En effet, chaque fragment d'ADN présent chez l'enfant, provient essentiellement du père biologique et de la mère biologique, et le plus souvent ces fragments se présentent en deux longueurs différentes. Si deux fragments d'ADN, parmi 15 à 17 examinés, ne se retrouvent pas chez le père biologique présumé de l'enfant, la paternité de celui-ci sera exclue.

A cotés des difficultés techniques liées au prélèvement et à la conservation des échantillons biologiques, il est important de signaler les deux grands ennemis de l'ADN qui sont la contamination et la dégradation.

La contamination peut se réaliser à chaque étape du prélèvement ou de l'analyse de l'ADN. C'est ainsi, que la plus grande prudence s'impose lors de la pénétration dans la scène du crime ou sur les lieux des faits, tout comme lors des diverses étapes de la détermination de l'empreinte génétique. La dégradation de l'ADN se produit lorsque l'on ne prend pas garde au stockage valable des pièces à conviction biologiques.

Précisons enfin que la fragmentation de l'ADN permet l'obtention des caractéristiques des parties de la molécule (locus ou loci) à l'aide des sondes moléculaires. Chaque locus contient uniquement deux allèles et ne peut donc révéler que deux réponses possibles.

L'utilisation de divers systèmes permet l'identification de la personne en matière génétique, ainsi que les probabilités d'identification, sachant que par exemple, l'allèle marqué se trouve dans 15% de la population [5].

C'est ainsi que l'interprétation des résultats doit prendre en compte, les limites de méthode d'analyse (électrophorèse, transfert d'ADN) et les polymorphismes étudiés au sein de la population. Pour chaque locus, il est nécessaire de déterminer le nombre d'allèles et leur fréquence de survenue dans le groupe d'individus concernés.

Lorsque le profil d'un suspect correspond à celui de l'échantillon à analyser, l'étape suivante de l'interprétation consiste à calculer la probabilité de survenue de ce génotype dans la population. L'approche statistique doit compenser les limites de la technologie, les biais possibles d'étude de population et les difficultés de rapporter un profil génétique à un suspect [2,5].

5. CONCLUSION

La technique des empreintes génétiques a rendu actuellement possible d'identifier un agresseur à partir de traces biologiques laissées sur les lieux ou sur le corps de la victime. Cette méthode est largement utilisée en matière d'investigation criminelle dans le monde. En Tunisie, notre unité de recherche nous a permis de maîtriser les techniques d'extraction, d'amplification, d'analyse de profils génétiques. Nos résultats ont été acceptés par les autorités judiciaires et ont servi des clefs dans de nombreuses affaires. Nous envisageons, dans l'avenir, d'améliorer et de développer plusieurs paramètres techniques pour obtenir des résultats plus rapides et plus valides espérant proposer cette méthode comme une méthode de routine dans ce domaine de l'identification. ■

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CAMPANA J.-P., *Principes de médecine légale*. Paris. Editions Arnette, 2003.
- [2] LUDES B., MANGIN P. *Les empreintes génétiques en médecine légale*. Collection Génie génétique G2. Paris. Editions Technique et documentation – Lavoisier, 1992.
- [3] MIRAS A, MALI M, MALICIER D., *L'identification en médecine légale*. Lyon. Editions Alexandre Lacassagne, 1991.
- [4] MARTIN J.-C., *Investigation de scène de crime. Fixation de l'état des lieux et traitement de traces d'objet*. Collection Sciences Forensiques. 2^e édition. Lausanne. Editions Presses polytechniques et universitaires romandes, 2004.
- [5] BEAUTHIER J.-P., *Traité de médecine légale*. Bruxelles. Editions De Boeck Université, 2008.