

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم بيولوجيا الحيوان

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Immunologie Moléculaire et Cellulaire**

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Leucémies aiguës dans l'Est algérien : profil épidémiologique  
et limites des méthodes de diagnostic**

---

**Présenté et soutenu par :** BENLETRECHE Mahdi Rami  
DJERAFI Kawther Hidaya

**Le 23/09/2021**

**Jury d'évaluation :**

**Président :** ELOUAR Ibtissem- MC-A - Université des Frères Mentouri,  
Constantine 1.

**Encadreur :** HADDAD Souâd -MA-A - Université des Frères Mentouri,  
Constantine 1.

**Co-encadreur :** ZOUITENE Raouf -MA- faculté de médecine -Constantine 3.

**Examineur :** BENLETRECHE Moufida- MA-A- Université des Frères Mentouri,  
Constantine 1.

**Année universitaire  
2020 - 2021**

## **Résumé :**

Les leucémies aiguës sont des pathologies mettant en jeu le pronostic vital et nécessitent un bilan diagnostique rapide et précis pour sélectionner l'approche thérapeutique la plus appropriée. Notre objectif était d'étudier les caractéristiques épidémiologiques, cytologiques, immunophénotypiques et cytogénétiques des leucémies aiguës ainsi que les méthodes utilisées dans le diagnostic de ces hémopathies malignes en Algérie et leurs limites.

Nous avons mené une étude épidémiologique descriptive rétrospective sur 399 cas diagnostiqués entre 2016 et 2021 au service d'Hématologie du CHU de Constantine, une étude prospective cytologique et immunologique au service d'hémobiologie de l'Hôpital Militaire Régional de Constantine et une étude cytogénétique au Centre de Recherche en Biotechnologies de Constantine.

Les résultats de l'étude épidémiologique montrent que l'âge moyen de la population d'étude est de 35,75 ans +/- (21,47) avec une prédominance des LAM (61,17%) touchant beaucoup plus les adultes alors que les LAL sont fréquentes chez les enfants avec une prédominance masculine dans les deux types, les LAM les plus fréquentes sont les LAM myéloblastiques avec ou sans maturation (37,94%) et les LAM monoblastiques (34,38%), dans les LAL, la LAL-B (71,42%) est nettement plus fréquente que la LAL-T (28,57%). La répartition des signes cliniques a concerné 83 patients, ces derniers avaient une asthénie (87,95%), la fièvre (75,91%), l'anémie (91,56%), des hémorragies (48,19%) et des infiltrats tissulaires (33,74%). 60 patients ont fait des tests cytogénétiques, la majorité n'avait aucune anomalie (33,3%), l'altération chromosomique fréquente était la translocation t(15.17) (28,3%) avec des pronostics intermédiaire et défavorable respectivement. L'étude cytogénétique transversale a concerné seulement 4 malades, les résultats montrent une monosomie 7 chez un patient âgé de 19 ans, pour les autres malades les résultats restent à approuver. L'étude transversale immunologique a montré une discordance significative entre la cytologie et l'immunophénotypage pour les LAM contrairement aux LAL.

Ce cadre d'étude indique que l'immunophénotypage est indispensable pour une identification plus précise du type de LAM permettant un bon diagnostic et une meilleure prise en charge.

**Mots clefs :** LAM,LAL, cytologie, immunophénotypage, cytogénétique.

## **Abstract :**

Acute leukemias are life-threatening disorders and require a rapid and precise diagnostic workup to select the most appropriate treatment approach. Our objective was to study the epidemiological, cytological, immunophenotypic and cytogenetic characteristics of acute leukemias as well as the methods used in the diagnosis of these malignant hemopathies in Algeria and their limitations. We conducted a retrospective descriptive epidemiological study on 399 cases diagnosed between 2016 and 2021 at the Hematology department of the University Hospital of Constantine, a prospective cytological and immunological study at the hemobiology department of the Regional Military Hospital of Constantine and a cytogenetic study at Constantine's Biotechnology Research Center. The results of the epidemiological study show that the average age of the study population is 35.75 years  $\pm$ (21.47) with a predominance of AML (61.17%) affecting more the adults while ALL are frequent in children with a male predominance in both types, the most frequent AML are myeloblastic AML with or without maturation (37.94%) and monoblastic AML (34.38%), in ALL, ALL-B (71.42%) is significantly more frequent than ALL-T (28.57%). The distribution of clinical signs concerned 83 patients, the latter had asthenia (87.95%), fever (75.91%), anemia (91.56%), hemorrhages (48.19%) and infiltrates tissue (33.74%). 60 patients underwent cytogenetic tests, the majority had no abnormalities (33.3%), frequent chromosome alteration was t translocation (15.17) (28.3%) with intermediate and unfavorable prognosis respectively. The prospective cytogenetic study concerned only 4 patients, the results show the loss of a chromosome 7 in a 19-year-old patient, for the other patients the results remain to be approved. The prospective immunological study showed a significant discrepancy between cytology and immunophenotyping for AML as opposed to ALL. This study framework indicates that immunophenotyping is essential for a more precise identification of the type of AML allowing a good diagnosis and better management.

**Keywords:** AML, ALL, cytology, immunophenotyping, cytogenetics.

## ملخص

اللوكيميا الحادة هي اضطرابات تهدد الحياة وتتطلب إجراء تشخيصي سريع ودقيق لاختيار نهج العلاج الأنسب. كان هدفنا دراسة الخصائص الوبائية والخلوية والنمطية المناعية والخلوية لسرطان الدم الحاد وكذلك الطرق المستخدمة في تشخيص اعتلالات الدم الخبيثة في الجزائر ومحدوديتها. أجرينا دراسة وبائية وصفية بأثر رجعي على 399 حالة تم تشخيصها بين عامي 2016 و 2021 في قسم أمراض الدم في مستشفى جامعة قسنطينة ، دراسة خلوية ومناعية مستقبلية في قسم علم الأحياء الدموي بالمستشفى العسكري الإقليمي في قسنطينة ودراسة خلوية في قسنطينة مركز بحوث التكنولوجيا الحيوية. تظهر نتائج الدراسة الوبائية أن متوسط عمر مجتمع الدراسة هو 35.75 سنة مع غلبة (61.17%) AML (التي تؤثر على الكثير البالغين في حين أن ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (ALL) شائع في الأطفال الذين لديهم غلبة ذكور في كلا النوعين ، فإن AML الأكثر شيوعاً هو AML مع أو بدون نضج (37.94%) و AML أحادي الأرومات (34.38%) ، في ALL ALL-B (71.42%) (بشكل ملحوظ أكثر تواتراً من ALL-T (28.57%) . (توزعت الأعراض السريرية على 83 مريضاً ، كان الأخير مصاباً بالوهن (87.95%) ، الحمى (75.91%) ، فقر الدم (91.56%) ، النزيف (48.19%) ، تسلسل الأنسجة (33.74%) . خضع 60 مريضاً لاختبارات وراثية خلوية ، ولم يكن لدى الغالبية أي شذوذ (33.3%) ، وكان التغيير المتكرر للكروموسوم هو الانتقال (15.17) (28.3%) مع تشخيص وسيط وغير موات على التوالي. تناولت الدراسة الوراثة الخلوية المرتقبة 4 مرضى فقط ، وأظهرت النتائج فقدان الكروموسوم 7 في مريض يبلغ من العمر 19 عامًا ، وبالنسبة للمرضى الآخرين ، لا تزال النتائج لم تتم الموافقة عليها. الدراسة المناعية المرتقبة أظهرت تبايناً كبيراً بين علم الخلايا والتنميط المناعي لـ AML على عكس ALL. يشير إطار الدراسة هذا إلى أن التنميط المناعي ضروري لتحديد أكثر دقة لنوع AML مما يسمح بتشخيص جيد وإدارة أفضل.

الكلمات المفتاحية

LAL,AML, cytology, immunophenotyping, cytogenetics.

## Liste des abréviations

**APL** : leucémie promyélocytaire aiguë

**ATRA** : All-Trans Retinoic Acid

**CD**: cluster de différenciation

**CMF** : Cytométrie en flux

**CSH** : cellule souche hématopoïétique

**Cy** : Intracytoplasmique

**C $\mu$**  : Chaîne Mu Intracytoplasmique

**Del** : Délétion

**DFS** : disease free survival

**DML** : dysplasie multilignées

**EBV** : Epstein-Barr virus

**EDTA** : Acide éthylène diamine tétra acétique

**EGIL** : European Group of Immunological Leukemia

**ELN** : European leukemia net

**FAB** : French–American–British

**FISH** : fluorescence in situ hybridization

**FNS** : formule de numération sanguine

**GB**: Globules blancs

**Hb**: Hémoglobine

**HHV-6** : herpèsvirus humain 6

**HPN**: hémoglobinurie paroxystique nocturne

**HTLV** : Human T-Lymphotropic Virus

**Ig** : Immunoglobulines

**Inv** : Inversion

**LA** : Leucémie aiguë

**LAL** : Leucémie aiguë lymphoïde

**LAM** : Leucémie aiguë myéloïde

**LMC**: Leucémie myéloïde chronique

**MGG** : May-Grünwald-Giemsa

**ml** : Millilitre.

**MO** : moelle osseuse

**MPAL** : Mixed phenotype acute leukemia

**MPO** : myéloperoxydase

**MRD** : minimal residual disease

**NASDA** : Naphtol ASD acétate estérase

**NS** : Noir Soudan

**OMS** : Organisation mondiale de la Santé

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**Ph+** : Chromosome de Philadelphie positif

**PLQ**: Plaquettes

**PBS** : Phosphate Buffered Saline

**RC** : Rémission complète

**S** : Surface

**SMD** : syndrome myélodysplasique

**SMP** : syndrome myéloprolifératif

**SPM** : Splénomégalie

**t** : Translocation

**TdT** : Terminal deoxynucleotidyl transferase

**CIVD** : coagulation intravasculaire disséminée

**TCR** : T cell receptor

**DFS** : Disease free survival

**Banding RHG** : Reverse banding using Heat and Giemsa

# Table des matières

Introduction .....	2
Partie 1 : L'hématopoïèse .....	4
1.1 Définition .....	4
1.2 Régulation de l'hématopoïèse .....	4
1.3 Maturation des lignées .....	5
1.3.1 Maturation myéloïde .....	5
1.3.2 La maturation monocyttaire .....	5
1.3.3 La maturation érythroïde .....	6
1.3.4 La maturation mégacaryoblastique .....	6
1.1 Maturation lymphoïde .....	6
1.1.1 Maturation de la lignée B .....	6
1.1.2 Maturation de la lignée T .....	7
Partie 2 : les leucémies aiguës .....	9
2.3 Épidémiologie .....	10
Facteurs de risque .....	10
1.2 Facteurs génétiques .....	11
1.3 Facteurs acquis .....	11
1.4 Facteurs environnementaux .....	11
Physiopathologie .....	12
1.5 Mécanismes de leucémogénèse .....	12
Partie 3: Classification des leucémie aiguës .....	13
1.6 Classification FAB .....	13
1.7 Classification EGIL .....	15
Classification OMS .....	16
Facteurs pronostiques liés aux LA .....	17
1.8 Facteurs pronostiques liés aux LAL .....	19
1.9 L'aspects clinique .....	20
1.10 L'hémogramme .....	21
1.10.1 La cytologie : .....	21
1.10.2 La cytochimie .....	22
1.11 L'immunophénotypage .....	23

1.11.1	L'immunophénotypage des LAL.....	23
1.11.2	L'immunophénotypage des LAM.....	25
1.11.3	Leucémie aiguë de lignée ambiguë.....	25
1.12	La cytogénétique .....	25
Traitement des leucémies aiguës .....		26
1.13	Le traitement des LAM.....	27
1.14	Le traitement des LAL.....	27
1.15	Les différences dans le traitement des LA.....	28
1.15.1	La leucémie aiguë promyélocytaire LAM3.....	28
1.15.2	LAL L3 (lymphome de Burkitt) .....	28
1.15.3	LAL à (Ph+) .....	28

## PARTIE PRATIQUE

1.	Étude épidémiologique.....	31
1.1	Type, lieu et durée de l'étude.....	31
1.2	Critères d'inclusion .....	31
1.3	Critères d'exclusion.....	31
1.4	Données recueillies .....	31
2.	Étude cytologique et immunophénotypique .....	31
2.1	Type, lieu et durée de l'étude.....	32
2.2	Matériels et méthodes.....	32
2.2.1	Confection du frottis sanguin/médullaire.....	32
2.2.2	L'étude immunophénotypique .....	32
3.	Étude cytogénétique .....	36
3.1	Type, lieu et durée de l'étude.....	36
3.2	Critères d'inclusion .....	36
3.3	Matériels et méthodes.....	36
3.3.1	Prélèvement sanguin ou médullaire.....	36
3.3.2	Protocole .....	36
3.	Résultats de l'étude cytologique et immunophénotypique.....	53
CONCLUSION.....		65
Références .....		66

# **Introduction**

## **Introduction**

Les leucémies aiguës (LA) constituent un groupe hétérogène d'hémopathies malignes caractérisées par la prolifération clonale et incontrôlée de précurseurs hématopoïétiques bloqués dans leur différenciation au niveau de la moelle osseuse (MO) (1). avec passage dans le sang périphérique et secondairement dans d'autres tissus (ganglions, rate, foie,...) (2). Elles représentent 10 à 15 % des hémopathies malignes, ce sont des affections rares qui en dehors de quelques formes sont souvent de pronostic péjoratif (3).

Le caractère aiguë de cette leucémie est due à la vitesse accélérée de l'évolution des symptômes et à la dégénération rapide de l'état du malade ce qui mène à des complications importantes si le traitement est absent ou incorrecte ou administré tardivement.

On distingue deux grands types de leucémie aiguës selon la ligné touché (4) :

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) et les leucémies aiguës lymphoïdes (LAL) (2) .

Le diagnostic et la classification des LA reposent avant tout sur des critères cytologiques et immunophénotypiques des blastes de la moelle osseuse (5,6).

Les études s'intéressent de plus en plus à l'apport de l'immunophénotypage et de la cytogénétique dans le diagnostic et surtout le choix thérapeutique de cette pathologie.

En Algérie, ces méthodes spécifiques sont d'un côté couteux et non disponible dans les centres hospitaliers et de l'autre côté leurs avantages dans le diagnostic et le pronostic des leucémies aiguës sont encore méconnues.

Dans ce sens, ce travail a pour objectifs :

- Décrire les caractéristiques épidémiologiques, biologiques et cytogénétiques des LA dans notre région.
- Exposer la place de la cytologie dans la classification des LA et évaluer ses limites.
- Attirer l'attention des médecins sur l'intérêt de l'immunophénotypage afin de poser le bon diagnostic.

# **Rappels bibliographiques**

## **Partie 1 : L'hématopoïèse**

### **1.1 Définition**

L'hématopoïèse est l'ensemble des mécanismes impliqués dans la production des diverses cellules sanguines à partir de la cellule souche hématopoïétique (CSH) trouvée au niveau de la MO, le thymus et accessoirement au niveau des organes lymphoïdes secondaires qui inclut :

- l'auto-renouvellement des cellules souches de l'hématopoïèse.
- la différenciation vers l'une ou l'autre lignée cellulaire du sang **(7)**.

Classiquement l'hématopoïèse se représente en 4 compartiments quantitativement inégaux et de taille croissante : cellules souches, progéniteurs (ou cellules progénitrices) contenant des cellules déterminées pour une lignée, capables de proliférer en se différenciant sous l'effet de facteurs de croissance. Ces cellules vont perdre progressivement leur capacité d'auto renouvellement au fur et à mesure qu'elles se différencient. Les précurseurs et cellules matures qui sont les premières cellules morphologiquement reconnaissables au sein de chaque lignée. Ces cellules en voie de maturation subissent une différenciation structurale aboutissant à un type cellulaire unique et sont incapables de se diviser **(8)**.

Lors d'une division cellulaire, une CSH va soit s'auto renouveler, soit s'engager dans un processus de différenciation irréversible qui va donner les progéniteurs. Ces derniers, d'abord pluripotents, vont au cours des divisions successives continuer leur différenciation, devenir monopotents, puis donner des précurseurs hématopoïétiques qui finiront leur maturation en acquérant des molécules spécifiques et nécessaires à leur fonction de cellule mature (élément figuré du sang) dans la circulation sanguine. Chez l'adulte ce processus se déroule dans la MO **(9)**.

### **1.2 Régulation de l'hématopoïèse**

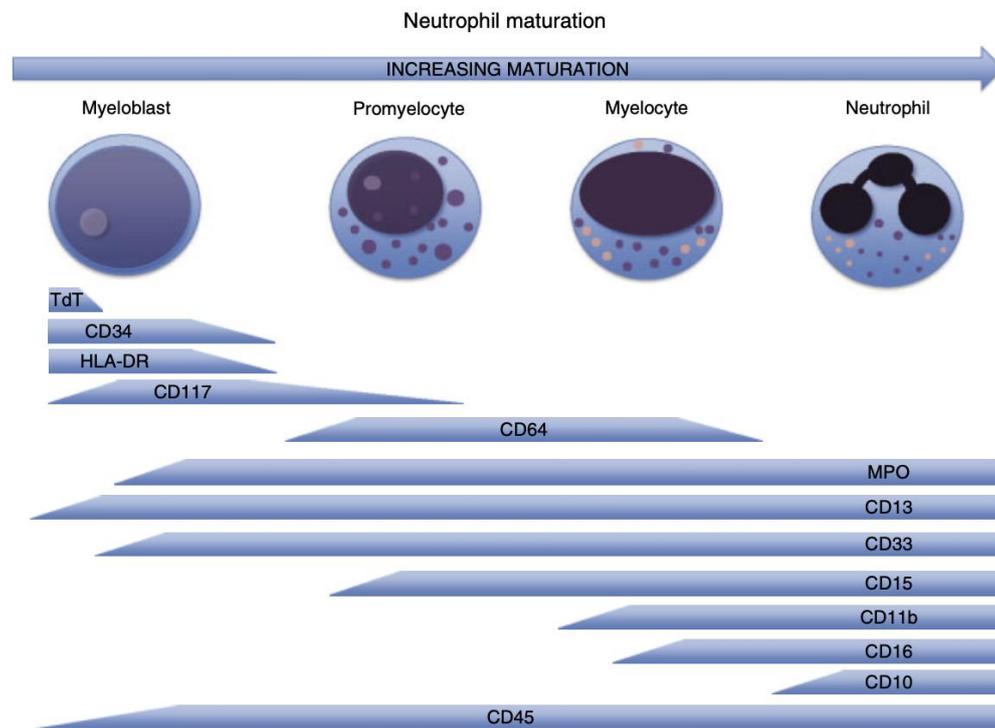
L'hématopoïèse est soumise à un contrôle et une régulation par :

- Le « microenvironnement » médullaire : qui va procurer aux cellules souches un micro environnement idéal pour assurer l'hématopoïèse **(8)**.
- Les facteurs de croissance médullaires : il existe trois types : les facteurs de promotion, Les facteurs multipotents et les facteurs restreints (ils vont agir sur les cellules souches engagées en favorisant leur maturation et différenciation) **(10)**.

## 1.3 Maturation des lignées

### 1.3.1 Maturation myéloïde

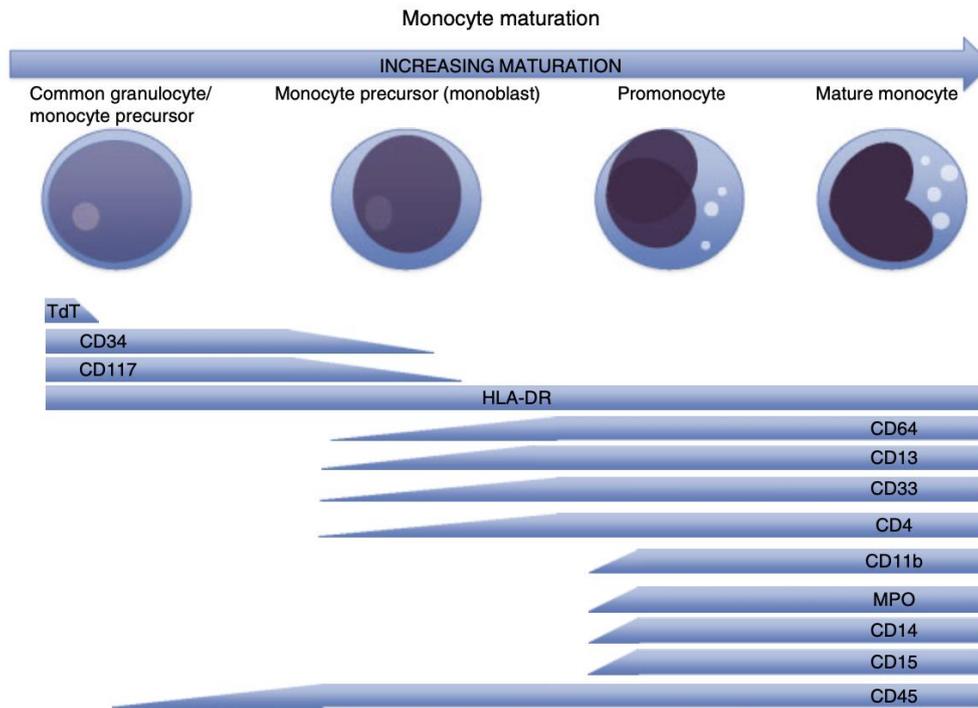
Les progéniteurs normaux tels que les lymphocytes, les monocytes et les granulocytes expriment toujours le CD34 qui diminuent rapidement au fur et à mesure de la différenciation, alors que le CD117 reste exprimé jusqu'au stade myélocyte. Durant la maturation granulaire des changements d'expression se produisent selon chaque stade, les CD13 et CD33 augmentent progressivement, au stade myélocyte-neutrophile on note l'apparition de quelques antigènes tardifs tels que le CD15 et le CD11b (**Figure 1**) (11).



**Figure 1** : les différents stades de maturation de la lignée granuleuse dans la MO (11).

### 1.3.2 La maturation monocytaire

La maturation monocytaire va suivre une évolution similaire à celle des granulocytes sauf le HLA-DR qui reste exprimé tout le long des étapes de maturation, au stade promonocytaire, ils acquièrent le CD4 et dans les derniers stades de maturation le CD64 et CD11c, à l'état mature on retrouve un phénotype CD4, CD64, CD14 et CD15 positif (**Figure 2**) (11).



**Figure 2 :** les différents stades de maturation monocyttaire normal dans la MO (11).

### 1.3.3 La maturation érythroïde

Les érythroblastes expriment le CD34, CD38, CD117 avec un CD45 faible ,ils perdent rapidement leurs marqueurs d'immaturité lors du passage vers le stade proérythroblaste en érythroblaste basophile en expriment le CD71 et le CD235a (11).

### 1.3.4 La maturation mégacaryoblastique

Les mégacaryoblastes et les érythroblastes ont le même phénotype (CD34, CD38, CD117 et un CD45 faible), au cours de la maturation ils vont perdre progressivement les marqueurs précurseurs et vont acquérir des marqueurs plus spécifiques à la lignée tels que le CD41, CD42 et le CD61 (11).

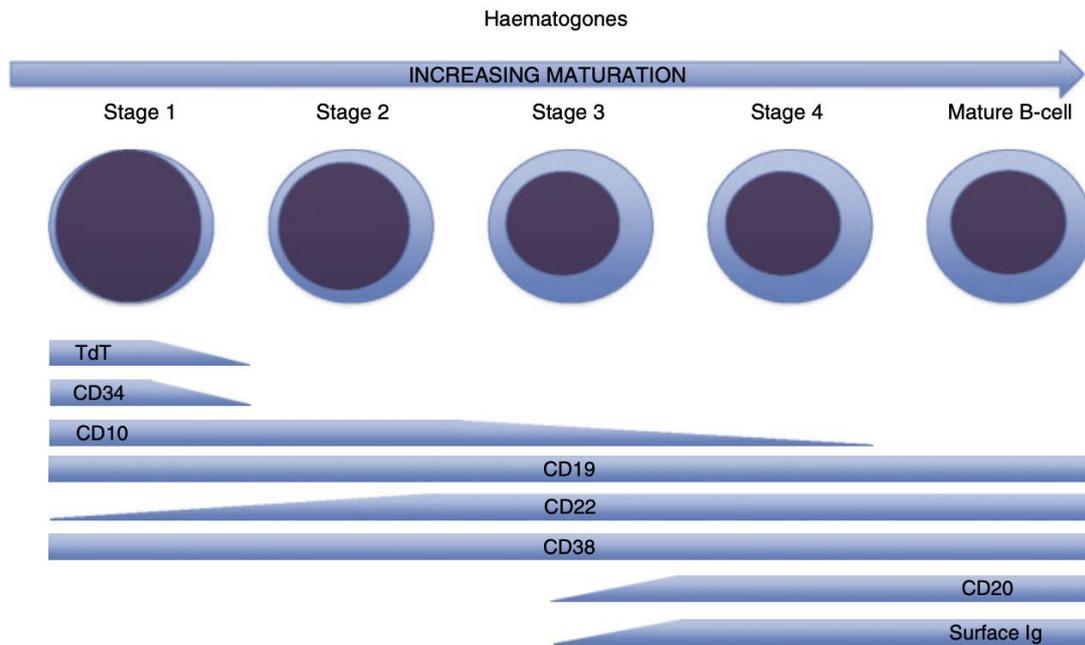
## 1.1 Maturation lymphoïde

Bien que la maturation des lymphocytes T et B se produise dans différents organes : les lymphocytes B dans la rate, les lymphocytes T dans le thymus. La différenciation des cellules lymphocytaires a lieu dans la MO (11).

### 1.1.1 Maturation de la lignée B

Les cellules précurseurs expriment CD34+, TdT+, CD10 brillant, CD19 faible, CD22 faible, CD79b+, CD20-, n'ont pas d'immunoglobulines de surface ou intracytoplasmiques. Les

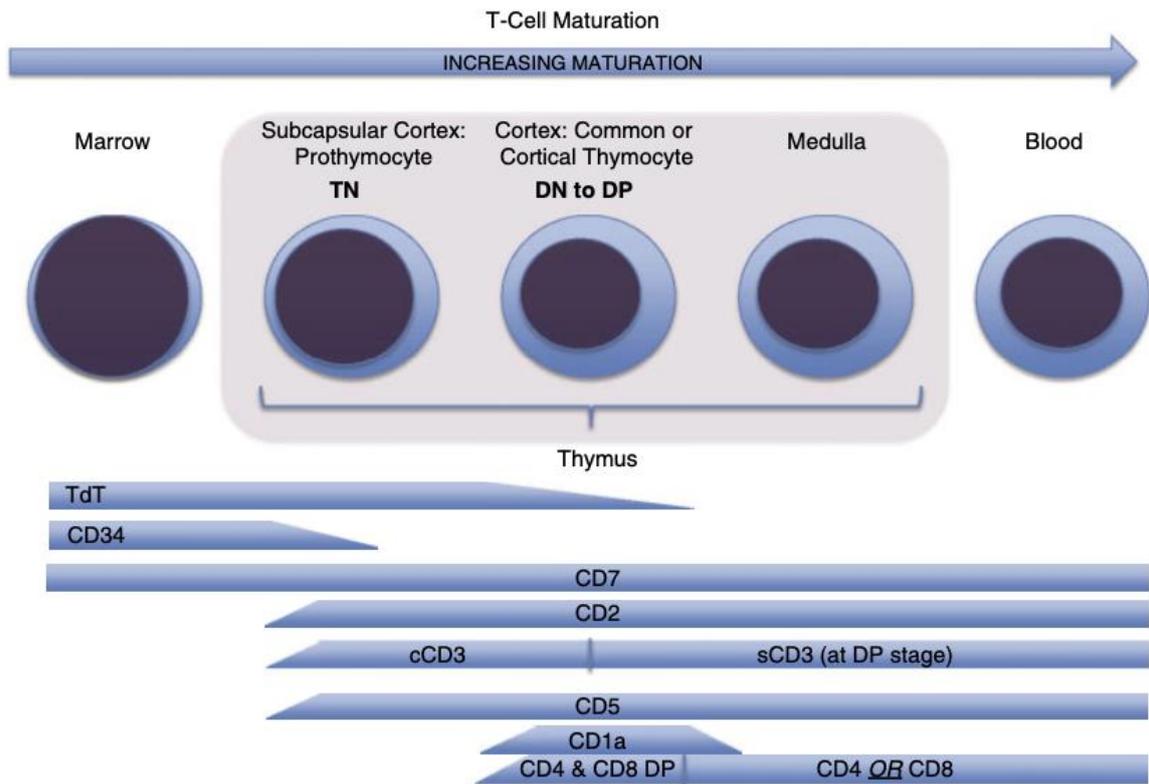
CD20 et le CD22 vont progressivement être exprimés jusqu'à devenir constants. Les lymphocytes B matures vont juste acquérir en plus des immunoglobulines intracytoplasmiques à chaîne lourde (IgM), avec la perte du CD10 et les autres marqueurs d'immaturité (**Figure 3**) (11).



**Figure 3** : les différents stades de maturation des cellules B dans la moelle osseuse (11).

### 1.1.2 Maturation de la lignée T

Le développement des lymphocytes T est initialement limité au thymus et certaines de ses étapes sont similaires avec celles des cellules B. Dans la moelle osseuse les lymphocytes sortent en exprimant les marqueurs d'immaturité CD34 et TdT et le CD7 et ils sont triples négatifs (CD3-/CD4-/CD8-), au stade cortical les thymocytes vont perdre le CD34 et le TdT et exprimer le CD1a et un cCD3 faible ils deviennent doubles positifs (CD4+/CD8+) avec un TCR en surface, arrivés au stade médullaire ils sont soit (CD4+/CD8-) ou (CD4-/CD8+) avec un TCR et un CD3 fort (**Figure 4**) (11).



**Figure 4** : les différents stades de maturation des cellules T normal dans la MO (11).

## Partie 2 : les leucémies aiguës

### 2.1 Définition des leucémies aiguës

Les leucémies aiguës (LA) sont une forme agressive de malignité hématologique, elles représentent un groupe de maladies complexes et hétérogènes, caractérisées par l'accumulation de blastes leucémiques dysfonctionnels et immatures bloqués à un stade précoce de différenciation au niveau de la moelle osseuse, qui peuvent passer dans la circulation sanguine et secondairement dans des tissus (ganglions, rate, foie,...etc) **(2,12)**.

Par définition, une LA correspond à un envahissement de la moelle osseuse par des cellules tumorales (blastes) supérieur à 20% **(13)**.

En fonction de l'origine du précurseur hématopoïétique atteint, les leucémies aiguës se divisent en deux grands types :

- Leucémies aiguës myéloïdes (LAM) : les cellules blastiques sont des myéloblastes, monoblastes, érythroblastes ou mégacaryoblastes.
- Leucémies aiguës lymphoïdes (LAL) : les cellules blastiques sont des lymphoblastes. **(14,15)**.

### 2.2 Historique

- Les premières descriptions de la "Leucémie" se produisirent simultanément mais indépendamment en France, en Allemagne et en Grande Bretagne vers 1850 par David Craigie et Alfred Donné **(16)**.
- En 1850 : Ernst Neumann christian a constaté que la moelle osseuse d'un patient décédé atteint de leucémie était anormale **(16)**.
- En 1900, Otto Naegeli a identifié les « myéloblastes » précurseurs des myélocytes qu'il a distingué des « lymphocytes » et a décrit la « leucémie myéloblastique » **(17)**.
- En 1990 : l'oncologue Brian Druker a découvert comment le gène BCR ABL déclenche la division des globules blancs **(18)**.
- Publication de la classification EGIL (Bene et al 1995 & Hayhoe FG 1988) ; qui est une classification immunologique basée sur l'immunophénotypage **(19)**.
- En 2001 l'OMS a proposé une classification qui incorpore des données génétiques et cliniques aux données morphologiques et immunophénotypiques déjà utilisées dans les

précédentes classifications (FAB) et (EGIL) à laquelle elle a ajouté des modifications en 2008 (20).

- En 2016, une révision de la classification OMS 2008 a été publiée ,elle intègre principalement les informations récentes concernant les nouvelles données moléculaires et génomiques qui sont apparues depuis 2008 (21).

### **2.3 Épidémiologie**

D'après les résultats des analyses statistiques du groupe Européen RARE CARE, la LA est une pathologie rare qui représente entre 10 et 15 % des hémopathies malignes, et 1 % de l'ensemble des cancers (3). Les LA sont le 18e cancer le plus fréquent chez l'homme et le 17e chez la femme (22).

La LAM touche toutes les tranches d'âge mais plus fréquemment les adultes, elle représente 75 à 80 % des leucémies aiguës de l'adulte dont l'incidence est en constante augmentation (23,24).

Dans les LAM de l'enfant, le pic d'incidence apparaît dans les premières années de vie puis diminue jusqu'à l'âge de 4 ans et l'incidence reste ensuite relativement constante jusqu'à l'âge adulte (25). ou elle augmente avec une médiane de survenue au diagnostic autour de 68 ans (24).

Chez les enfants, la LA est le cancer le plus fréquent représentant environ 30 % de tous les cancers pédiatriques. La LAM est moins fréquente chez les enfants et les adolescents que la LAL qui représente environ 18 % des leucémies infantiles (26, 27). et 20% des leucémies aiguës de l'adulte et s'observe plus fréquemment chez l'homme que chez la femme (28).

Selon la revue algérienne d'hématologie, les LA chez l'adulte sont dominées par les LAM dont l'incidence évaluée en 2010 était de 0,91/100.000 habitants avec un âge médian au diagnostic de 44 ans, celle des LAL était de 0,47/100.000 habitants avec un âge médian au diagnostic de 35 ans (29).

#### **Facteurs de risque**

Il est délicat de faire une corrélation directe entre une pathologie leucémique et des facteurs de risque spécifiques, cependant certains facteurs ont pu être identifiés et classés sous ces catégories :

## 1.2 Facteurs génétiques

- Déficiences congénitales avec anomalies chromosomiques (trisomie 21, Neurofibromatose)
- Instabilité chromosomique : Syndrome de Bloom et Maladie de Fanconi.
- Déficit immunitaire : Ataxie téléangiectasie, syndrome de Wiskott-Aldrich (30).
- Antécédents familiaux : des études ont montré qu'un jumeau a 100 % de risques de développer une LAL si son jumeau a été atteint d'une LAL durant la première année de sa vie puis ce risque diminue (25 % si la maladie survient entre 1 et 6 ans). Dépassé 6 ans, le risque de développer une LAL chez le jumeau est identique au risque de la population générale (31).

## 1.3 Facteurs acquis

- Antécédents d'hémopathies malignes : on cite les SMD, SMP, HPN, les syndromes myéloprolifératifs chroniques tels les LMC et la maladie de Vaquez qui se transforment en LA (30).
- Antécédents d'hémopathies non malignes : aplasie médullaire et maladie de Marchiafava-Micheli, ces pathologies ont un risque élevé d'évoluer vers une LAM (30).
- Agents infectieux : HTLV-1, EBV, le virus HHV6 (30,32).

## 1.4 Facteurs environnementaux

- Les cytotoxiques professionnels : insecticides, herbicides, étoposide et le benzène et ses dérivés (imprimerie, caoutchouc, pétrochimie, industrie de la chaussure, peintures). D'après des données expérimentales et épidémiologiques, il existe une relation dose-effet entre l'importance de l'exposition au benzène et l'incidence des leucémies, d'où la confirmation de son caractère leucémogène ) (33).
- les agents pharmacologiques : alkylants (cyclophosphamide, Chlorambucil, Melphalan...)
- Agents physiques : L'exposition aux radiations ionisantes (atomiques, accidentelles ou lors de la radiothérapie) et aux radiations non ionisantes (champs électromagnétiques) (25).
- Tabagisme : Environ 20 % des cas de LAM sont liés à la fumée du tabac, possiblement à cause du benzène que contient le tabac (34).

## **Physiopathologie**

La LA résulte de lésions génétiques dans les cellules progénitrices hématopoïétiques menant à un blocage dans la maturation de ces dernières et donc leur accumulation **(22)**.

La lignée du progéniteur, dans laquelle la lésion se produit, détermine le type de leucémie (lymphoïde contre myéloïde), ils peuvent être identifiés par le phénotype de marqueurs de surface cellulaire (par exemple, CD34, CD10, CD3, 117 et l'antigène leucocytaire humain DR [HLA-DR]) **(35)**.

### **1.5 Mécanismes de leucémogénèse**

La leucémogénèse est un ensemble de mécanismes responsables de la transformation des cellules normales en cellules leucémiques. Ce mécanisme est basé sur une série d'événements génétiques incluant des oncogènes ou des gènes suppresseurs de tumeurs conduisant au phénotype leucémique **(36, 37)**.

Les oncogènes sont des gènes qui peuvent induire des tumeurs. Ils existent dans le corps à l'état latent en tant que proto-oncogènes. Leur activation peut provenir de :

- Mutation d'un proto-oncogène.
- Mutation d'un anti-oncogène ou gène suppresseur de tumeurs.
- Juxtaposition d'une séquence activatrice virale après insertion de son matériel génétique .
- Une translocation chromosomique aboutissant à un gène de fusion capable de déclencher la prolifération mitotique des cellules **(38)**.

### **Autres évènements géniques**

Les mutations des récepteurs membranaires de facteurs de croissance (FLT3, CKIT.. etc.) induisent à une capacité de croissance excessive et illimitée des CSH ce qui provoque leur transformation leucémique, elles ne deviennent donc plus sensibles aux inhibiteurs de croissance physiologiques en conséquent l'hématopoïèse normale est inhibée ce qui induit l'insuffisance médullaire **(36)**.

## Partie 3: Classification des leucémie aigues

### 1. Types de Classification des LA

La classification des leucémies aiguës se base sur plusieurs entités regroupant la lignée, la cytologie, la cytochimie, l'immunophénotypage et la cytogénétique. Pour différencier les sous types de chaque LA, des systèmes de classification ont été mise en place :

- La classification FAB (French-American-British)
- La classification EGIL (European Group of Immunological Leukemia)
- La plus récente est la classification de L'OMS (Organisation Mondiale de la santé) **(39)**.

#### 1.6 Classification FAB

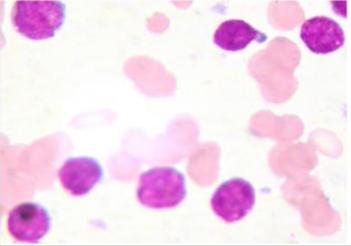
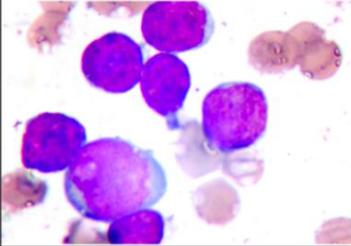
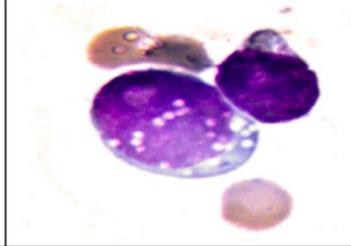
La première classification internationale des LA de l'adulte a été établie par un comité d'experts Franco-Américano-Britannique (classification FAB) et repose exclusivement sur des critères cytologiques et des études cytochimiques et cytoenzymatique, en particulier la myéloperoxydase MPO (ou Noir soudan B) et la coloration non spécifique d'estéras **(40)**, en utilisant le seuil de **30%** de cellule blastique de la MO **(41)**.

La classification FAB distinguait huit entités de LAM (LAM 0 à 7) et trois entités de LAL (L1 à L3) **(Tableaux I et II)** :

**Tableau I : Classification FAB des LAM (adapté de (39)) (auteur, année)**

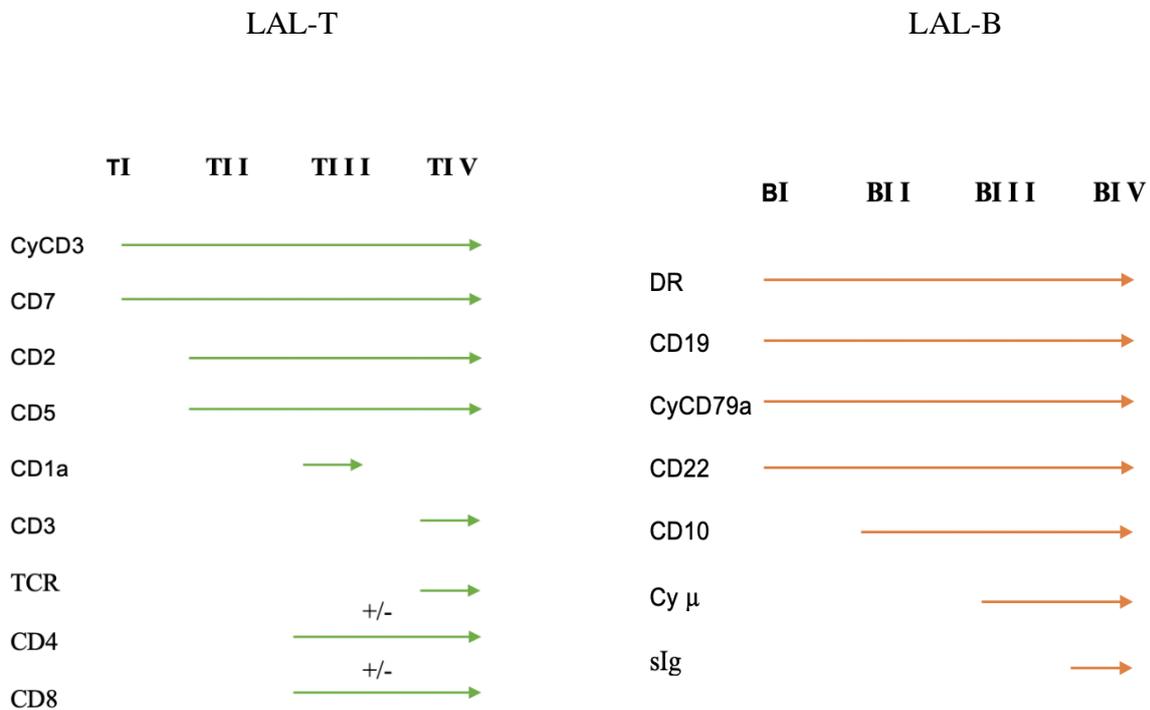
Type FAB	Nom commun	Caractéristiques cytologiques	MPO	Éstérase
LAM 0	LAM avec différenciation minimale	-Les blastes sont agranulaires - une morphologie très indifférenciée -ressemble a de petits lymphoblastes avec souvent un aspect de « miroir à main »	(-)	(-)
LAM 1	LAM sans maturation	Blastes d'aspect variable avec ou sans corps d'Auer, maturation granuleuse < 10 %	(+/-)	(-)
LAM 2	LAM avec maturation	Blastes granuleux et/ou avec corps d'Auer, maturation granuleuse > 10 %	(++)	(-)
LAM 3	LAM promyélocytaire	un cytoplasme souvent riche en granulations et donc une morphologie proche des promyélocytes, Il existe toutefois deux formes de LAM 3 : la forme classique LAM3-FAB qui a une présentation leucopénique ou normoleucocytaire et qui présente des blastes hypergranulaires ayant comme particularité de contenir de très nombreux corps d'Auer qui s'organisent en fagots dans le cytoplasme ; la forme variante LAM3v-FAB est à l'inverse souvent hyperleucocytaire avec des blastes pauvres ou dépourvus de granulations	(+++)	(-)
LAM 4	LAM myélomonocytaire	Blastes > 20 %, maturation granuleuse > 20 %, lignée monocytaire > 20 % ou monocytose sanguine > 5 G/L Les leucémies aiguës myélomonocytaires sont souvent hyperleucocytaires. Il existe une forme particulière de LAM 4 qui se caractérise par la présence d'éosinophiles morphologiquement anormaux dans la moelle (absent ou très rares dans le sang)	(+++)	(++)
LAM 5	LAM monoblastique	-LAM 5a peu différenciées dans laquelle il existe > 80 % de monoblastes parmi les cellules d'origine monocytaire et les leucémies aiguës monocytaires -LAM 5b avec différenciation dans laquelle la majorité des cellules sont des promonocytes ou des monocytes (<80% de monoblastes)	(+/-)	(+++)
LAM 6	LAM érythroblastique	Blastes myéloïdes > 20 % et lignée érythroblastique > 50 % avec deux types : -Leucémie érythroblastique pure (LAM6a) Erythroleucémie -leucémie érythroïde/myéloïde (LAM6b)	(+)	(-)
LAM 7	LAM megacaryocytaire	blastés ≥ 20% parmi lesquels >50% appartiennent à la lignée mégacaryocytaire. Les blastés sont peu différenciés et négatifs pour la myéloperoxydase, ils peuvent facilement être confondus avec des lymphoblastes	(-)	(-)

**Tableau II : Classification FAB des LAL (42).**

	<b>L1 LAL à structure homogène</b>	<b>L2 LAL à structure variée</b>	<b>L3 lymphome de burkitt</b>
<b>fréquence</b>	Entre 25% et 30% des cas chez les adultes et 85% des cas chez les enfants	Représente 70 % des cas chez les adultes et 14 % chez les enfants	Sous-type rare, représentant moins de 1% à 2% des cas
<b>morphologie</b>	Les blasts sont homogènes, le noyau est régulier, la chromatine est homogène, petit ou pas de nucléoles, cytoplasme maigre, et une basophilie légère à modérée	Noyau est irrégulière, la structure de la chromatine est hétérogène, grands nucléoles	Grandes explosions, nucléoles proéminents, structure de chromatine homogène pointillée, cytoplasme abondant, vacuolisation cytoplasmique abondante (type bulle) recouvrant le noyau
<b>figure</b>			

### 1.7 Classification EGIL

Le Groupe européen pour la classification immunologique des leucémies (EGIL) (19), à établi une classification des LAL basée uniquement sur l'immunophénotypage.



**Figure 5 : Classification EGIL des LAL (19).**

## Classification OMS

Les méthodes de cytogénétiques, de l'immunophénotypage et de la biologie moléculaire ont révélé l'existence d'anomalies récurrentes avec une valeur pronostique importante (43).

En 2001, l'OMS a fusionné toutes ces anomalies récurrentes dans une nouvelle classification, qui a été révisée à nouveau plus tard en 2008 et plus récemment en 2016 (Tableau III et IV).

**Tableau III** : Révision 2016 de la classification OMS des LAM (21).

<b>1-LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes</b>	LAM avec t(8;21) (q22;q22) ; RUNX1 - RUNX1T1
	LA promyélocytaire avec PML - RARA
	LAM avec inv(16) (p13.1q22) ou t(16;16) (p13.1q22) ; CBFB - MYH11
	LAM avec t(9;11) (p22;q23) ; MLLT3 - KMT2A (MLL)
	LAM avec t(6;9) (p23;q34) ; DEK - NUP214
	LAM avec inv(3) (q21q26.2) ou t(3;3) (q21;q26.2) ; GATA2, MECOM
	LAM (mégacaryoblastique) avec t(1;22) (p13;q13) ; RBM15 - MKL1
	LAM avec mutation NPM1
	LAM avec mutation bi allélique CEBPA
	Entités provisoires : - LAM avec BCR-ABL1 - LAM avec mutation RUNX1
	<b>2-LAM avec anomalies associées aux myélodysplasies</b>
Soit avec anomalie(s) cytogénétique(s) de syndrome myélodysplasique	
<b>3-Correspondent soit à une LAM-t soit à un SMD-t</b>	Correspondent soit à une LAM-t soit à un SMD-t
<b>4-LAM sans autre spécification par ailleurs (NOS)</b>	LA Myéloblastique avec différenciation minime
	LA Myéloblastique sans maturation
	LA Myéloblastique avec maturation
	LA myélomonocytaire
	LA monoblastique / monocytaire
	LA érythroïde pure « l'érythroleucémie » ( ancienne LAM6) disparaît en 2016.
	LA mégacaryoblastique
	LA Myéloblastique à composante basophile
	LA avec myélofibrose (panmyélose aiguë)
<b>5-Sacrome granulocytaire</b>	On classe ici uniquement les sarcomes myéloïdes de novo sans évidence de maladie médullaire.
<b>6-Proliférations myéloïdes associées à la trisomie 21 constitutionnelle</b>	Réaction leucémoïde transitoire
	LAM associée à la trisomie 21 constitutionnelle

**Tableau IV : Révision 2016 de la classification OMS des LAL (21).**

<b>1-Leucémies aiguës / lymphomes lymphoblastiques B (LAL-B)</b>	Leucémie aiguë /Lymphome lymphoblastique B sans autre spécification
	<p>Leucémie aiguë /Lymphome lymphoblastique avec anomalies cytogénétiques récurrentes :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Leucémie aiguë / lymphome lymphoblastique B avec t(9;22)(q34;q11.2) ; BCR-ABL1</li> <li>- Leucémie aiguë / lymphome lymphoblastique B avec t(v;11q23) ; MLL (maintenant KMT2A) réarrangé</li> <li>- Leucémie aiguë / lymphome lymphoblastique B avec t(12;21)(p13;q22) ; TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)</li> <li>- Leucémie aiguë / lymphome lymphoblastique B avec hyperdiploïdie</li> <li>- Leucémie aiguë / lymphome lymphoblastique B avec hypodiploïdie : (&lt;44 chromosomes)</li> <li>- Leucémie aiguë / lymphome lymphoblastique B avec t(5 ;14)(q31 ;q32) ; IL3-IGH</li> <li>- Leucémie aiguë / lymphome lymphoblastique B avec t(1 ;19)(q23 ;p13.3) ; TCF3 - PBX1</li> <li>- Entité provisoire : Leucémie aiguë / lymphome lymphoblastique B, BCR-ABL1 – like.</li> <li>- Entité provisoire : Leucémie aiguë / lymphome lymphoblastique B avec iAMP21</li> </ul>
<b>2-Leucémies aiguës / lymphomes lymphoblastiques T (LAL-T)</b>	<p>Une catégorie unique (et 2 entités provisoires), quels que soient l'immunophénotype et le caryotype.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Entité provisoire: LAL à précurseurs T précoces (early -T)</li> <li>- Entité provisoire : leucémie aiguë/lymphome lymphoblastique à cellules NK</li> </ul>

### **Facteurs pronostiques liés aux LA**

L'identification des facteurs pronostics des leucémies aiguës est primordiale et cela revient au fait que le pronostic détermine la voie et l'intensité du traitement.

### **Facteurs pronostiques liés à LAM**

- **L'âge** : L'âge au moment du diagnostic a la plus grande incidence sur la probabilité de rémission et sur la durée de survie. Les enfants des 15 premières années de leur vie, à l'exclusion de la période néonatale, ont le taux de rémission le plus élevé et la remise la plus longue sans rechute. Les patients âgés de plus de 60 ans n'ont que la moitié des chances d'un jeune et donc l'âge avancé est considéré comme un facteur péjoratif **(44)**.
- **L'existence de comorbidités (45)**.
- **L'hyperleucocytose** : ce facteur se répète dans plusieurs études comme étant un facteur de faible pronostic, un taux de  $>30 \times 10^9/L$
- **Les formes tumorales** sont de mauvais pronostics (30).
- **Présence de dysplasie multilignée (DML)** a été prise en compte dans la classification OMS (pronostic défavorable) **(46,47)**.

- **Les formes secondaires** : sont de mauvais pronostic et inclus les LAM-t (induite par les traitements), les transformations des syndromes myélodysplasiques et myéloprolifératifs (48).
- **Immunophénotypage** : le taux d'expression de certains marqueurs peut refléter le pronostic, exemples : faible niveau d'expression du TdT par CMF (<5%), haute expression de l'intégrine CD11b et haute expression de CD34 (49).
- **L'obtention ou l'absence d'une rémission complète (RC)** : après la première cure d'induction est un facteur pronostique important pour la survie sans maladie (DFS) et la survie globale du patient (50).
- **La cytogénétique et la biologie moléculaire**

C'est le facteur pronostique le plus important non seulement pour le choix de la voie thérapeutique mais aussi pour estimer la survie globale. Les anomalies cytogénétiques sont retrouvées dans 55% des LAM au diagnostic chez l'adulte. Après plusieurs études menées, un système de classement des anomalies a été établi et on distingue trois groupes : favorable, défavorable et intermédiaire (51). **Tableau V** .

**Tableau V** : Classification génétique pronostique des LAM selon les critères de l'ELN (52).

Facteur de pronostique	caractéristique
<b>Favorable</b>	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1
	inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22);CBFB-MYH11
	Caryotype normal et mutation NPM1 et absence de mutation FLT3-ITD
	Caryotype normal et mutation CEBPA
<b>intermediaire I*</b>	Caryotype normal et mutation NPM1 et mutation FLT3-ITD
	Caryotype normal et absence de mutation NPM1 et mutation FLT3-ITD
	Caryotype normal et absence de mutation NPM1 et absence de mutation FLT3-ITD
<b>intermediaire II*</b>	t(9;11)(p22;q23); MLL-MLLT3
	Toutes les autres anomalies non classées comme favorable ou défavorable
<b>défavorable</b>	inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21q26); RPN1-MECOM (EVI1)
	t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214 (CAN)
	t(v;11)(v;q23)/MLL réarrangé sauf t(9;11)(p22;q23)
	-5, del(5q); -7; anomalie 17p
	Caryotype complexe (≥ 3 anomalies)*
* en l'absence de l'une des translocations ou inversion récurrentes décrites dans la classification OMS : t(15;17), t(8;21), inv(16) ou t(16;16), t(9;11), t(v;11), t(6;9), inv(3) ou t(3;3).	

## 1.8 Facteurs pronostiques liés aux LAL

- **Age** : les nouveau-nés et les adolescents voir jeunes adultes (+15) atteints de LAL présentent un mauvais pronostic. Le meilleur pronostic est entre 2 et 10 ans (30) alors que les enfants âgés entre 10 et 15 ans présentent un pronostic intermédiaire (53).
- **sexe** : le sexe masculin a été identifié comme étant un facteur pronostic défavorable (54) beaucoup plus chez les enfants que chez les adultes (49).
- **Taux de leucocytes** (49) : ils sont de mauvais pronostic si pour :
  - LAL-B :  $>30$  ( $10^9/L$ )
  - LAL-T :  $>100$  ( $10^9/L$ )
- **Présence d'une maladie du système nerveux central** (49).
- **Immunophénotypage** : les stades pro-B (CD10-) et les pré-T sont de mauvais pronostic (49).
- **Réponse au traitement** : une durée prolongée pour atteindre une RC a été très tôt identifiée comme ayant un mauvais pronostic (55).
- **Maladie résiduelle minime** : détectée par cytométrie en flux (CMF), La maladie résiduelle minime ou minimal residual disease (MRD) est le nombre extrêmement bas de cellules cancéreuses (microscopiques et non détectables) qui subsistent après le traitement. La MRD peut provoquer une rechute du patient. La détermination de la MRD dans la LAL est donc d'une importance cruciale pour le pronostic et pour décider de la suite du traitement (56).
- **cytogénétique** : tout comme les LAM, les LAL présentent des anomalies chromosomiques classées selon leur pronostic (51). (annexe 1)

## Partie 4 : Diagnostic et prise en charge des LA

### 1.9 L'aspects clinique

En plus de la détérioration de l'état général qui est fréquente dans les LA, Les manifestations cliniques de la maladie peuvent être résumées en deux types de signes : des signes liés à une insuffisance médullaire et des signes liés à la prolifération tumorale (30).

Le **tableau VI** résume les différents signes et symptômes chez les patients atteints de leucémie aiguë.

**Tableau VI : Signes et symptômes chez les patients atteints de LA (57).**

<b>Signes et symptômes de l'infiltration de la moelle osseuse et de l'insuffisance médullaire</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Neutropénie : fièvre, infection localisée (p. ex., infection des voies respiratoires supérieures, pneumonie), septicémie</li><li>• Anémie : fatigue, pâleur, dyspnée à l'effort, tachycardie</li><li>• Thrombocytopénie : pétéchies, saignements muqueux, ecchymoses spontanées, ménorragie,</li><li>• hémorragie intracrânienne ou intraoculaire</li><li>• Douleurs osseuses (surtout chez les enfants)</li></ul>
<b>Infiltration leucémique des tissus extramédullaires</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• SNC : maux de tête, somnolence, confusion, déficits neurologiques focaux</li><li>• Atteinte testiculaire (plus fréquente chez les LAL)</li><li>• Hépatosplénomégalie (plus fréquente dans les LAL)</li><li>• Adénopathie (plus fréquente dans les LAL)</li><li>• Masse médiastinale (LAL-T)</li><li>• Hypertrophie de la gencive (plus fréquente dans LAM M4, M5)</li><li>• Cutis de leucémie</li><li>• Infiltration de tissus mous</li><li>• Arthralgies ou arthrite</li></ul>
<b>Symptômes dus à l'hyperleucocytose et à la leucostase</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• SNC : léthargie, somnolence, confusion, accident vasculaire cérébral ischémique</li><li>• Atteinte pulmonaire : infiltrats pulmonaires, insuffisance respiratoire</li><li>• Ischémie myocardique</li></ul>
<b>Symptômes constitutionnels</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Fièvre</li><li>• Sueurs nocturnes</li><li>• Perte de poids • Fatigue</li></ul>
<b>Anomalies de coagulation</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Coagulation intravasculaire disséminée</li></ul>
<b>Syndrome de lyse tumorale spontanée (rare avant le début du traitement)</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Hyperuricémie, insuffisance rénale</li><li>• Hyperkaliémie, hyperphosphatémie, hypocalcémie</li></ul>

## 1.10 L'hémogramme

Une leucémie aiguë va être suspectée en premier sur l'hémogramme devant l'observation de plusieurs cytopénies et/ou la mise en évidence de cellules blastiques (58). (tableau VII).

**Tableau VII** : Paramètres de l'FNS dans les LA (30, 39, 49)

Type	FNS
LAM	<ul style="list-style-type: none"><li>- l'anémie est constante, normochrome, normocytaire, non régénérative et souvent importante.</li><li>-la leucocytose varie entre des formes de leucopénie franche ou, au contraire des formes d'hyperleucocytose majeure montrant alors la présence de cellules blastique/tumorales circulantes.</li><li>-la neutropénie est fréquente avec un taux moins de <math>1 \times 10^9/L</math> pour la moitié des patients lors du diagnostic.</li><li>-la thrombopénie est présente dans 90% des cas parfois majeure, avec un taux de plaquettes moins de <math>50 \times 10^9/L</math> pour la moitié des patients lors du diagnostic (267 willams p1404) lié à une insuffisance de production ou à une consommation excessive.</li></ul>
LAL	<ul style="list-style-type: none"><li>-Anémie normochrome, normocytaire et non régénérative et d'intensité variable, le plus souvent profonde (Hb parfois <math>&lt; 7</math> g/dL), l'anémie est souvent absente si la maladie s'installe rapidement.</li><li>-la leucocytose est variable avec une prédominance de la forme hyperleucocytaire.</li><li>-une neutropénie fréquente parfois sévère (<math>&lt; 0.5</math> G/L).</li><li>-Les lymphocytes : taux normal ou diminué.</li><li>-Une hyperéosinophilie est possible au diagnostic d'une LAL.</li><li>-thrombopénie constante pouvant être majeure (<math>&lt; 10</math> G/L).</li></ul>

### 1.10.1 La cytologie :

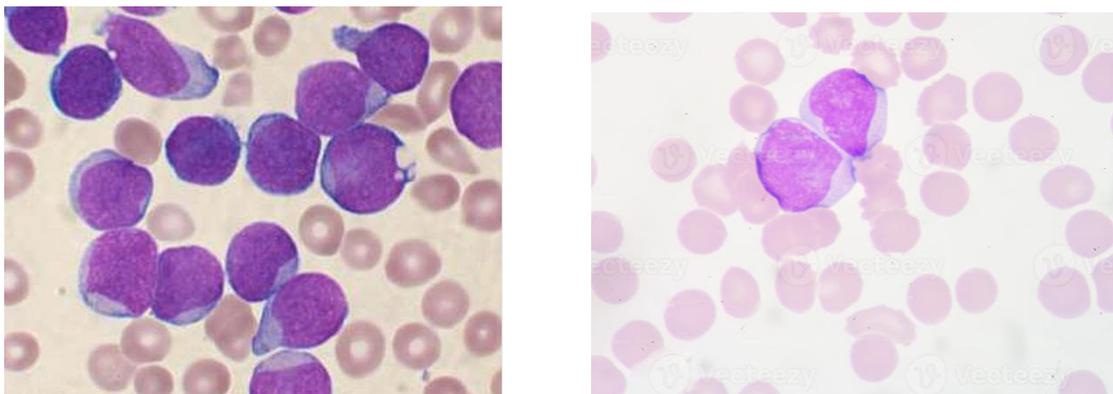
L'aspiration de la moelle (ponction médullaire) fait partie d'un bilan de routine pour les patients suspectés de LA, les frottis sont colorés à l'aide d'un colorant May-Grünwald-Giemsa ou Wright-Giemsa. L'évaluation microscopique des frottis de sang périphérique et MO reste la première étape critique dans le bilan diagnostique des patients suspectés de LA.

Une numération différentielle d'au moins 500 cellules sur MO est recommandée et un diagnostic de LAM est généralement basé sur la découverte morphologique de 20% de blastes myéloïdes. Les myéloblastes, les monoblastes et les mégacaryoblastes sont inclus dans le nombre de blastes, les érythroblastos ne sont pas comptés comme des blastes sauf dans les cas d'une leucémie érythroïde pure. En revanche, il n'y a pas de seuil strict pour le nombre de blastes dans la LAL et le diagnostic ne peut pas être posé seulement selon la morphologie (59).

Les mégacaryocytes sont en général absents ou très rares, en fonction de la thrombopénies. Leur présence nécessite la recherche d'éventuelles dysmégacaryopoïèse (60).

Les critères morphologique observés :

- LAL : blastes de petite ou moyenne taille et cytoplasme peu abondant.
- LAM: blastes contenant souvent quelques granulations et parfois un ou plusieurs bâtonnets rouges (azurophiles) appelés « corps d'Auer » (61).



**Figure 6** : coupe cytologique des lymphoblastes et des myéloblastes.

La lecture du frottis permet de distinguer certains types de LAM et c'est le principe de la classification FAB.

### 1.10.2 La cytochimie

Elle comprend la coloration cytochimique (au Noir Soudan) et cytoenzymatique (la myéloperoxydase-MPO/Estérase non spécifiques NASDA), ces réactions mettent en évidence une enzyme ou une substance chimique présente dans les blastes, distinguant ainsi l'origine myéloïde du lymphoïde et aussi l'origine granulocytaire du monocyttaire.

La détection de la MPO (par présence sur 3 % des blastes) indique une différenciation myéloïde, mais son absence n'exclut pas une lignée myéloïde car les myéloblastes et les

monoblastes précoces peuvent manquer de MPO. Les colorations **NS** montrent une activité cytoplasmique présente dans les monoblastes (généralement 80 % positifs) et les monocytes (généralement 20% positifs) **(61)**.

## **1.11 L'immunophénotypage**

Une des parties les plus importantes et obligatoire dans le diagnostic des leucémies aiguës est la cytométrie en flux multiparamétrique (CMF), Il existe des protocoles standardisés mis en place pour l'interprétation et l'analyse des CMF comme celle recommandée par LeukemiaNet **(62)**.

Un seuil de 20% pour les marqueurs de surface et un seuil de 10% pour les marqueurs intracellulaires sont nécessaires pour considérer une LA positive à ces marqueurs.il est aussi nécessaire de quantifier l'expression de plusieurs antigènes de surface et cytoplasmiques pour diagnostiquer des leucémies aigue à phénotype mixte (MPAL) et pour détecter les immunophénotypes aberrants permettant de mesurer la maladie résiduelle minimale (MRD) **(63)**.

La détermination par cytométrie en flux du nombre de blastes ne doit pas être utilisée comme substitut à l'évaluation morphologique **(64)**.

Les LA de lignée ambiguë, les LAL et aussi les leucémies megacaryoblastiques et peu différenciées ne peuvent être diagnostiquées que par une analyse immunologique **(21)**.

### **1.11.1 L'immunophénotypage des LAL**

L'immunophénotypage est le seul moyen qui vas permettre de confirmer le caractère lymphoïde ou éventuellement myéloïde dans le cas où les blastes ne présentent aucuns signes morphologiques de différenciation (granulations azurophiles, corps d'Auer, positivité de la myélopéroxydase), et donc de diagnostiquer une LAL et d'éliminer certaines LAM très peu différenciées (LAM 0) ou LAM plus rares (érythroïde, mégacaryocytaire) **(65)**.

Les LAL se divisent en LAL de la lignée B les plus fréquentes (75 & 80 %) et en LAL de la lignée T **(66)**.

Le CD45 est exprimé avec une intensité faible, ce qui permet de bien les séparer d'éventuels lymphocytes résiduels de même taille **(11)**.

La classification EGIL propose une stratification des phénotypes obtenus dans les LAL B (**Tableau VIII**) en fonction de la présence ou l'absence du CD10, de la chaîne mu intra cytoplasmique, des immunoglobulines (Ig) de surface (**19**).

**Tableau VIII** : Classification EGIL des LAL-B

EGIL	Autre	marqueurs communs	Autres marqueurs	Marqueurs myéloïdes
B I	Pro B	CD19 + CD79a +/- cyt/m CD22 +/-****(au moins deux des trois marqueurs) DR+	TdT* + CD10 - ClgM** - IgS*** -	CD15 +/- CD65 +/- BI My +
B II	Commune		TdT + CD10 + clgM - IgS -	CD13 et/ou CD33 BII My +
B III	Pré B		TdT + CD10 + clgM + IgS -	CD13 et/ou CD33 BIII My +
B IV	B mature		TdT - CD10 +/- clgM + IgS +	CD13 et/ou CD33 BIV My +

Certains phénotypes sont corrélés à des anomalies cytogénétiques et/ou moléculaires récurrentes ayant une incidence pronostique péjorative, ce qui demande dans ces cas la nécessité d'une intensification thérapeutique qui tiens compte de ces remaniements génomiques, et qui nécessite la détection de ces phénotypes particuliers importante, surtout dans les cas où le caryotype est normal, car elle justifie la réalisation d'une étude moléculaire orientée (**67**).

Pour le groupe EGIL, c'est l'expression cytoplasmique et/ou de surface du CD3 qui définit le type de LAL T (**Tableau IX**). Cependant, on ne retrouve pas comme dans les LAL B de relations entre phénotypes particuliers et anomalies cytogénétiques (**68**).

**Tableau IX** : Classification EGIL des LAL-T.

EGIL	Autre	marqueurs communs	Autres marqueurs
T I	Pro T	cCD3** + CD7 + TdT + DR-	Aucun
T II	Pré T		CD2 + CD5 +/- CD3-CD1-
T III	Cortical		CD2 + CD5 + CD4 +/- CD8 +/- CD1 + CD3-
T IV	T mature		T IVa : CD2+ CD5+ CD3+ TCRa/b+ CD4+ ou CD8+ TIVb : CD5+ CD3+ TCRc/d+ CD2- CD4- CD8-

### **1.11.2 L'immunophénotypage des LAM**

L'expression d'au moins deux marqueurs myéloïdes : anti-MPO, CD13, CD33, CD65 et CD117, est nécessaire par la classification EGIL pour l'attribution d'une leucémie à une lignée myéloïde. La mise en évidence de la population blastique est mise en évidence grâce à un cytomètre par l'analyse d'un histogramme SSC/CD45, qui va orienter le diagnostic en plus des données morphologiques et immunologiques (19).

Les LAM0, LAM6 et les LAM 7 sont difficiles à identifier par examen cytologique et ne peuvent être reconnues que par le phénotype après un immunophénotypage par CMF (21).

### **1.11.3 Leucémie aiguë de lignée ambiguë**

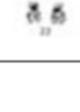
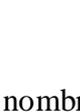
Si les cellules leucémiques expriment les antigènes de la lignée myéloïdes et de la lignée lymphoïde, la leucémie est dite biphénotypique et elle est dite biclonale si deux populations de blastes distinctes myéloïde et lymphoïde B ou T coexistent. Ces deux cas sont maintenant décrits comme des leucémies aiguës à phénotype mixte (MPAL) dans la classification la plus récente de l'OMS (21).

## **1.12 La cytogénétique**

Pour poser un diagnostic et assurer la meilleure prise en charge d'un patient atteint de leucémie aiguë, la cytogénétique est devenue un examen essentiel voir indispensable avant toute induction au traitement (69).

La cytogénétique est l'étude de la morphologie, structure, pathologie, fonction et le comportement des chromosomes (70). Cet examen est effectué pour rechercher et mettre en évidence les anomalies chromosomiques qui entrent dans l'attribution du type de leucémie d'une part et pour orienter les choix thérapeutiques d'une autre part (52). Il apporte donc une valeur diagnostique et pronostique.

La cytogénétique conventionnelle est l'étude des chromosomes. Son principe est de classer les 46 chromosomes en paires après avoir bloqué en métaphase des cellules dérivées de préparation directes ou de culture à court terme, leurs identification se fait grâce au "banding" car la largeur et l'ordre des bandes sont spécifiques pour chaque chromosome (71).

Group	Chromosomes	Characteristics	Example
A	1-3	Large metacentric chromosomes	
B	4-5	Large submetacentric chromosomes	
C	6-12 and X	Medium-sized submetacentric chromosomes	
G	13-15	Large acrocentric chromosomes	
E	16-18	Medium-sized acrocentric chromosomes	
F	19-20	Short metacentric chromosomes	
G	21-22 and Y	Short acrocentric chromosomes	

**Figure 7 : Types de chromosomes (71).**

La lecture du caryotype permet de détecter les anomalies chromosomiques de nombre et de structure qui sont souvent observés dans les LA. La présence de toute anomalie dans au moins deux cellules est nécessaire pour confirmer la clonalité (72).

Dans certains cas, la cytogénétique conventionnelle ne permet pas l'identification de certaines anomalies masqué ou difficile à détecter, d'autre méthodes comme la FISH où la biologie moléculaire (PCR) viennent compléter le caryotype (72).

### **Traitement des leucémies aigues**

Le choix du protocole thérapeutique des LA dépend du type de leucémie et des facteurs pronostics de chaque patient. La décision thérapeutique est prise en réunion de concertation pluridisciplinaire comportant des hématologues et des biologistes (73, 74).

### 1.13 Le traitement des LAM

C'est une thérapie standard "3+7" constituée de deux grandes phases thérapeutiques :

- La première phase « L'induction » consiste en l'obtention de la RC et la restauration de la fonction normale de la moelle.
- La rémission est définie comme l'élimination de la population de cellules leucémiques dans la moelle, jugée par la microscopie et la cryométrie de flux et la restitution de l'hématopoïèse de la moelle, ce qui entraîne une concentration normale ou presque normale de globules blancs, d'hémoglobine et de plaquettes dans le sang (49).
- La seconde phase : « La consolidation » : a pour objectif l'éradication de la maladie résiduelle et à prévenir la rechute de la maladie et peut comporter des stratégies tels une chimiothérapie cytotoxique, une transplantation des CSH ou une chimiothérapie de maintien à faible dose, selon l'état de performance du patient et les facteurs de risque (49).

### 1.14 Le traitement des LAL

Le traitement de ces leucémies se compose de trois phases standards : induction de rémission, intensification (consolidation) et continuation prolongée (maintien) (75).

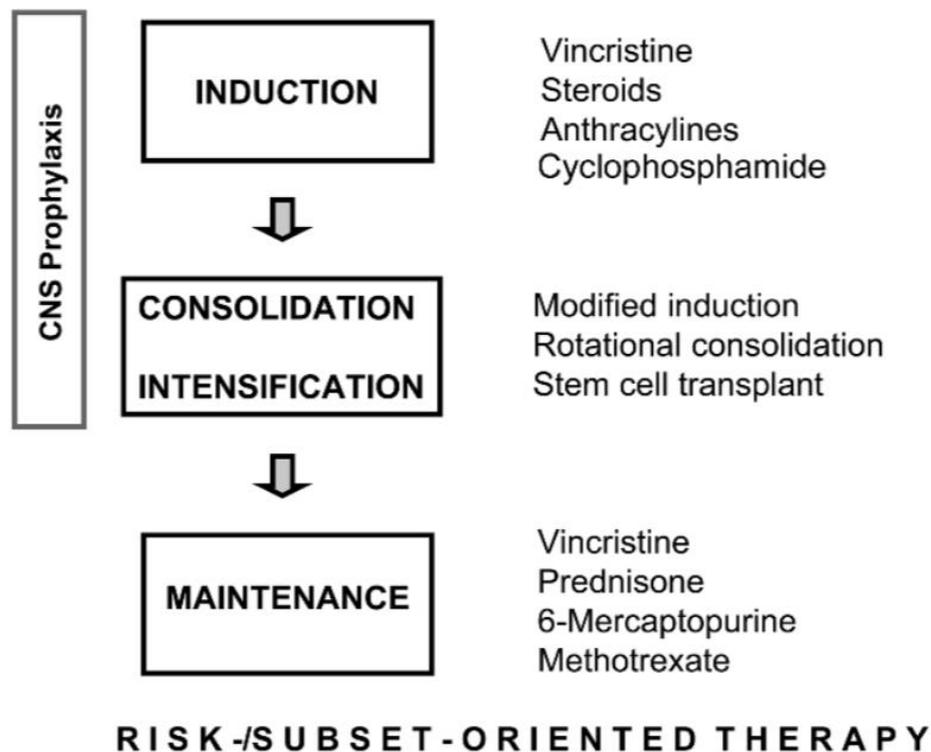


Figure 8 : phases du traitement des LAL (75).

## **1.15 Les différences dans le traitement des LA**

La prise en charge des patients leucémiques nécessite un diagnostic précis vis-à-vis du type de LA et du profil cytogénétique du patient.

### **1.15.1 La leucémie aiguë promyélocytaire LAM3**

Le traitement approprié de la leucémie promyélocytaire aiguë (APL) nécessite une confirmation génétique du diagnostic (confirmation de la t(15;17)) (57). Pour les patients atteints d'une LAM 3, la voie thérapeutique présente plusieurs modalités (40). Le traitement dans ce cas est considéré comme une urgence (76). du fait du risque important de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) avec activation aberrante de la fibrinolyse (39).

Ce type est le seul qui bénéficie d'un traitement ciblé ; l'acide tout-transrétinoïque (ATRA), qui induit la différenciation des blastes vers le stade de polynucléaires (76). L'ATRA est administré avec une chimiothérapie dans les 3 à 5 jours suivant le diagnostic et est maintenu jusqu'à ce que la rémission soit atteinte. Dans la plupart des cas, le traitement de consolidation consiste en deux ou trois cures d'ATRA associées à des anthracyclines. Ensuite, une chimiothérapie orale à faible dose et un traitement d'entretien ATRA seront effectués dans les deux ans qui suivent (39).

### **1.15.2 LAL L3 (lymphome de Burkitt)**

Les patients de la lignée B mature (appelée Burkitt's ou LAL L3) doivent bénéficier de l'application de régimes intensifs incorporant du cyclophosphamide fractionné, du méthotrexate à forte dose et de la cytarabine à forte dose administrés sur une période de quelques mois sans traitement d'entretien (77, 78). Des études récentes suggèrent que l'ajout de rituximab pourrait améliorer les résultats pour les adultes (79).

### **1.15.3 LAL à (Ph+)**

Le traitement de la LAL à chromosome Philadelphie positif comprend désormais généralement l'utilisation simultanée d'imatinib (80). et plus récemment de dasatinib (81). avec une suggestion préliminaire chez les enfants et les adultes que certains patients peuvent jouir d'une survie soutenue sans maladie sans avoir besoin de transplantation allogénique (82, 83).

# **PARTIE PRATIQUE**

## **1.Étude épidémiologique**

L'objectif de cette étude était de décrire les caractéristiques épidémiologiques et cliniques des patients atteints de leucémie aiguë dans la région de Constantine.

### **1.1 Type, lieu et durée de l'étude**

Il s'agit d'une étude épidémiologique descriptive rétrospective menée au service d'Hématologie du CHU de Constantine et au laboratoire d'Hémobiologie de l'Hôpital Militaire Régional de Constantine. L'étude a concerné 399 dossiers de malades atteints d'une LA et diagnostiqués aux services suscités entre 2016 et 2021. La période de cette étude est de 4 mois, du mois d'avril au mois de juillet 2021.

### **1.2 Critères d'inclusion**

- Dossiers des patients atteints d'une leucémie aiguë tout âge confondu.
- Dossiers comportant les résultats de l'immunophénotypage et/ou de la cytogénétique.

### **1.3 Critères d'exclusion**

- Dossiers inexploitable.

### **1.4 Données recueillis**

- Age
- Sexe
- Signes cliniques
- Type de LA
- FNS
- Myélogramme
- Résultats de CMF
- Résultats cytogénétiques

## **2.Etude cytologique et immunophénotypique**

L'objectif était d'évaluer les limites de la cytologie dans la classification des LA en l'absence d'une étude immunophénotypique et de déterminer la place de la CMF dans le diagnostic de certitude des LA.

## **2.1 Type, lieu et durée de l'étude**

Nous avons entrepris une étude transversale au laboratoire d'Hémobiologie de l'Hôpital Militaire Régional de Constantine sur une durée de 3 mois (du 13 juillet au 13 septembre 2021). L'étude a porté sur 37 patients dont on suspecte leur atteinte d'une LA.

## **2.2 Matériels et méthodes**

### **2.2.1 Confection du frottis sanguin/médullaire**

1. Des lames en verre (environ  $2 \times 5$  cm) sont identifiées.
2. Une pipette Pasteur est utilisée pour déposer une petite goutte de sang et un prélèvement médullaire est fait à 1 cm près du bord de la lame.
3. Le bord de l'étaleur est placé en contact avec la lame, puis glissé jusqu'à la goutte (l'étaleur est incliné à  $45^\circ$ )
4. La goutte est répartie sur le long du bord de l'étaleur
5. L'étaleur est poussé rapidement, régulièrement, et sans trop appuyer, tout en gardant la même inclinaison.
6. Progressivement l'étaleur est soulevé, en fin d'étalement. Le frottis doit s'arrêter à environ 1 ou 2 cm de l'autre extrémité de la lame.
7. Immédiatement le frottis est séché, par agitation à l'air.
8. La lame est trempée dans la solution fixatrice 5 fois pendant une seconde, puis égouttée abondamment sur le papier filtre
9. La lame est trempée dans le colorant (1) 5 fois de suite pendant une seconde puis on égouttée abondamment sur le papier filtre
10. La lame est trempée dans le colorant (2) 5 fois de suite pendant une seconde, bien égouttée sur papier filtre puis rincée à l'eau distillée en commençant par enlever l'excès de colorant sur le dos de la lame puis en laissant couler doucement l'eau distillée sur le frottis.
11. La lame est séchée à température ambiante
12. La lame est observée sous microscope

### **2.2.2 L'étude immunophénotypique**

#### **A. Marquage de surface**

Ce marquage permet de cibler des AcM sur des Ag de surface spécifiques pour identifier les différents types cellulaires ; pour y parvenir, il faut effectuer les étapes suivantes :

1. 50  $\mu$ l de sang est incubé avec 2,5  $\mu$ l de chaque marqueur de surface dans l'obscurité pendant 20 minutes.
2. 1 à 2 ml de tampon de lyse HYL est ajouté et il faut bien mélanger
3. Le mélange est incubé pendant 10 minutes dans l'obscurité (et vortexé après 5 minutes).
4. L'analyse est démarré avec le cytomètre en flux. (annexe II)



**Figure 9** : marqueurs de surface et intracytoplasmiques AcM



**Figure 10** : cytomètre a trois couleurs.

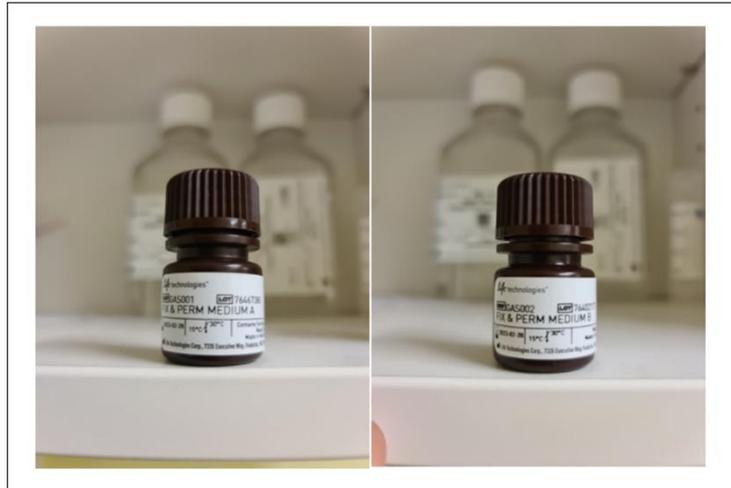
5. On enregistre les données de chaque tube par l'utilisation des paramètres d'acquisition suivants :
- Volume d'acquisition : 300 $\mu$ l ;
  - Débit d'échantillon : 100 $\mu$ l/min ;
  - Critère d'arrêt : 30.000 évènements total.

## **B. Marquage intracytoplasmique**

Ce marquage repose sur l'utilisation de solutions de fixation et de perméabilisation, qui maintiennent respectivement le marquage de surface et la production de pores qui facilitent la pénétration de l'anticorps dans sa cible intracytoplasmique, à l'aide de ces réactifs :

- **Kit de perméabilisation cellulaire FIX & PERM®**

Le kit de perméabilisation cellulaire FIX & PERM® se compose d'un réactif de fixation approprié (solution A) et d'un réactif de perméabilisation (solution B) pour l'analyse simultanée des antigènes intracellulaires et de surface dans la même population cellulaire et dans le même tube. Ce processus aide l'anticorps à pénétrer dans la structure intracellulaire sans modifier les propriétés lumineuses de la cellule (**figure 11**).



**Figure 11 : Kit de perméabilisation (A et B)**

▪ **Méthode**

1. 50  $\mu$ l de sang est incubé avec 2,5  $\mu$ l de chaque marqueur de surface dans l'obscurité pendant 20 minutes.
2. 50 $\mu$ l de la solution A sont ajoutés et l'échantillon est incubé dans l'obscurité pendant 15 minutes.
3. L'échantillon est lavé par 1.5 ml de PBS, est centrifugé pendant 5 minutes à 320g
4. Le surnageant est éliminé
5. Le culot est remis en suspension par l'ajout de 50  $\mu$ l de la solution B.
6. Directement le marqueur intracytoplasmique est ajouté et laissé incubé 20 min.
7. Un dernier lavage est réalisé par l'utilisation de 1.5ml de PBS, puis est centrifugé pendant 5 minutes à 320g.
8. Le surnageant est éliminé
9. Le culot est remis en suspension par l'ajout de 1 ml de la solution de focalisation "focusing fluid"
10. L'analyse a démarré avec le cytomètre en flux.
11. Les données de chaque tube sont enregistrées par l'utilisation des paramètres d'acquisition suivants :
  - Volume d'acquisition : 300 $\mu$ l ;
  - Débit d'échantillon : 100 $\mu$ l/min ;
  - Critère d'arrêt : 30.000 évènements total.

### **3. Étude cytogénétique**

Les objectifs de cette étude étaient l'apprentissage de la cytogénétique conventionnelle et l'étude des anomalies chromosomiques liées aux leucémies aiguës.

#### **3.1 Type, lieu et durée de l'étude**

Nous avons fait une étude transversale au Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBT) de Constantine sur une période de 5 mois (Avril à septembre 2021). L'étude a porté sur 8 patients atteints d'une leucémie aiguë.

#### **3.2 Critères d'inclusion**

-Patients n'ayant reçu aucun traitement au préalable du prélèvement sanguin ou de la ponction médullaire.

#### **3.3 Matériels et méthodes**

**3.3.1 Prélèvement sanguin ou médullaire** : le prélèvement doit être recueilli dans des conditions stériles par ponction veineuse (sang) dans un tube **héparine de lithium** (tube vert), ou par ponction médullaire dans un tube contenant un milieu de culture préparé préalablement au laboratoire de cytogénétique du CRBT.

##### **3.3.2 Protocole**

- **Mise en culture**

- Des tubes sont étiquetés en précisant le nom du patient, type de prélèvement (sang ou bien MO), et la durée de culture
- 4 ml de PB max sont mis dans chaque tube
- 13 gouttes de sang/moelle sont mises
- Le mélange est mis en incubation pendant 72h dans une étuve bactériologique

Note : pour l'étape de la mise en culture, Il faut travailler sous une hotte à flux laminaire pour éviter toute contamination.

- **Blocage en métaphase**

- 100 ul de colchicine sont ajoutés et laissés incuber dans l'étuve pendant 2h

- **Choc hypotonique**

- Les tubes sont centrifugés pendant 5 min à 1200 rpm
- Le surnageant est versé
- 2 ml de KCL est mis et vortexé
- Le mélange est complété avec 6 ml de KCL

- Le tout est homogénéisé et incubé pendant 35 min
- **Préfixation et fixation**
  - 2 ml de carnoy sont ajoutés
  - Les tubes sont centrifugés pendant 5 min à 1200
  - Le surnageant est versé
  - 6 ml de carnoy est ajouté
  - Le mélange est fixé à température ambiante pendant 20 min
  - Le mélange est centrifugé et le surnageant est versé (**x3**)
  - Le tout est laissé au congélateur (à -20°C) pour quelques jours avant l'étalement



Figure 12 : tubes d'échantillons de culture.

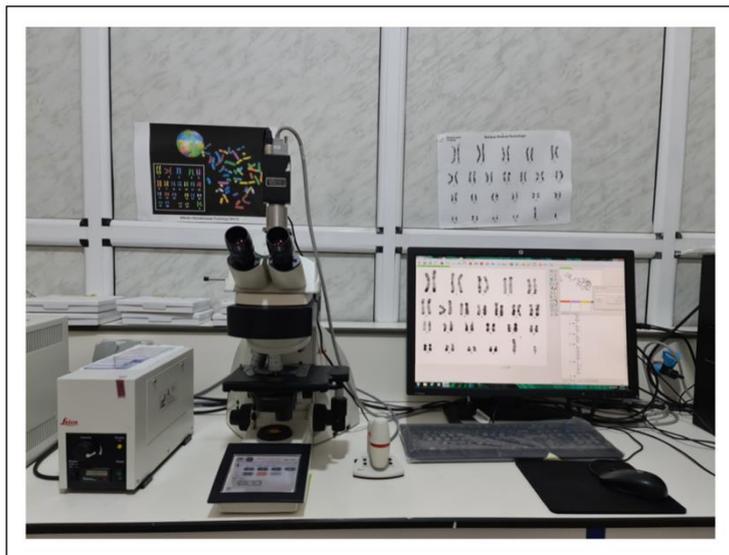
- **Étalement**
  - Une centrifugation est faite puis le surnageant est versé et du carnoy est remi, le but de cette étape est de se débarrasser de l'ancien carnoy et de le remplacer avec un nouveau
  - Les tubes sont étiquetés puis des lames dégraissées sont placées à plat sur une plaque à l'intérieur du bain marie
  - Deux à trois gouttes sont tombées sur la lame
  - La lame est rincé au carnoy
  - La lame est séchée au bain marie
  - Les lames sont vieilles dans une étuve à 37°C pour une dénaturation après 24h

- **Dénaturation et banding RHG**

- Le tampon est préparé (préparé préalablement et conservé au réfrigérateur “EARLE 10x”)
- Le tampon EARLE 1x est préchauffé à 87°C au bain marie
- Les lames sont réhydratées dans de l'eau distillée pendant 5 min
- Les lames sont mises dans le tampon EARLE pendant 52 min
- Les lames sont hydratées après leur sortie
- Ces dernières sont colorées au Giemsa 5%
- Elles sont observées.

- **Observation microscopique et confection du caryotype**

- On analyse avec le microscope **Leica DM6000 B (index)**
- Les chromosomes métaphasiques sont classés en utilisant le logiciel **CytoVision®**



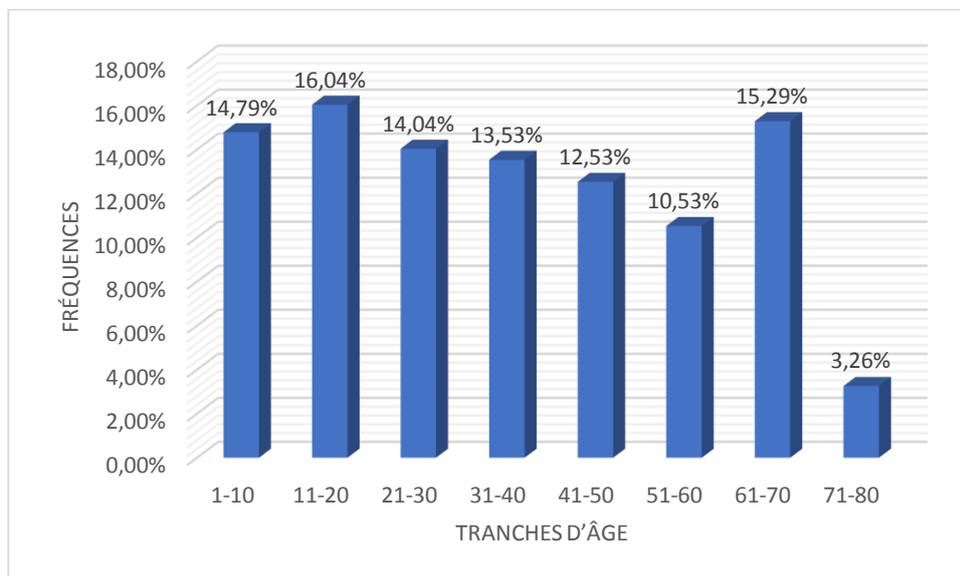
**Figure 13** : station de cytogénétique.

# **Résultats**

## **Et Discussion**

## 1- Résultats de l'étude épidémiologique

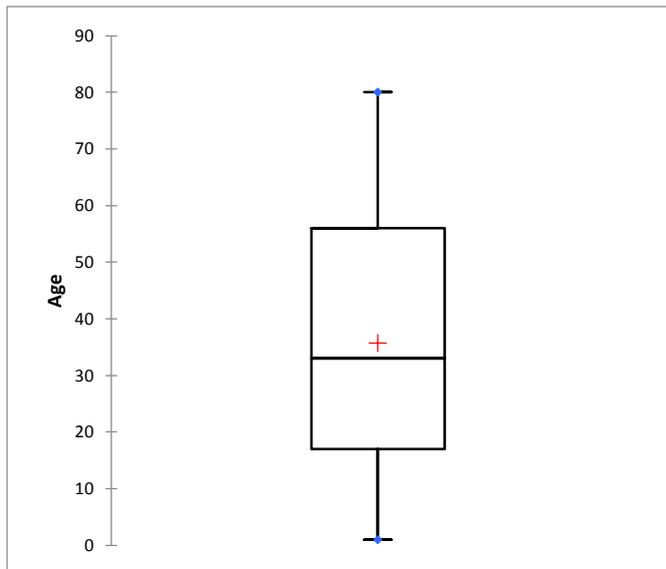
### ▪ Age des patients



**Figure 13 :** Répartition des patients par tranches d'âge.

Les patients ont été répartis par tranches d'âge d'un intervalle de 10 ans selon la règle de Sturge et Yule. Les résultats montrent que les tranches d'âge les plus touchées sont celles comprises entre [11-20 ans] et [61-70 ans] avec des fréquences de 16,04% et 15,29% respectivement. La tranche d'âge la moins touchée est celle de [71-80 ans] ans avec une fréquence de 3,26%. Nos résultats montrent une certaine similitude avec celle de **(Braham-Jmili et al. 2010)** faite en Tunisie. Par contre une étude faite par (Nirina et al. 2015) à l'hôpital de Madagascar, montre que la tranche d'âge la plus touchée est de [0 -15 ans ] ans alors que la moins touchée est celle de [46 a 55 ans] **(Nirina et al. 2015)**.

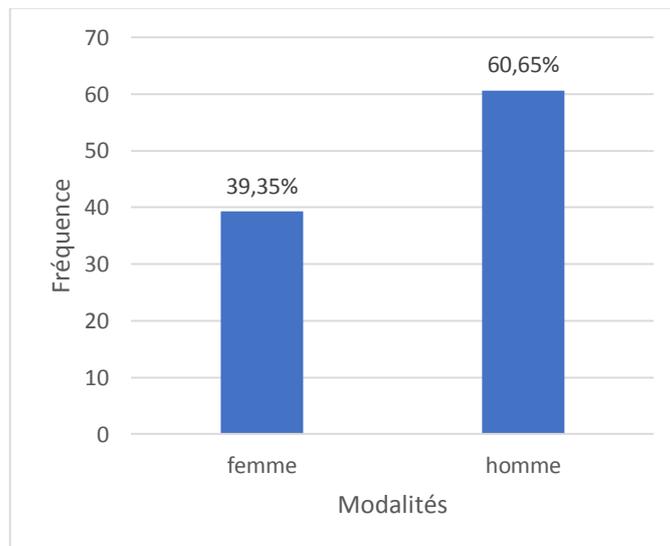
La population d'étude est âgée de 1 à 80 ans avec une moyenne d'âge 35,75ans avec un écart-type de 21.47 et une distribution assez équilibré ( Figure 15), ce qui concorde avec des résultats de **(Braham-Jmili et al. 2010)** et **(Nirina et al. 2015)** .



Statistique	Age
Nb. d'observations	399
Minimum	1,000
Maximum	80,000
1er Quartile	17,000
Médiane	33,000
3ème Quartile	56,000
Moyenne	35,747
Variance (n-1)	461,235
Ecart-type (n-1)	21,476

**Figure 15** : représentation en box plot des âges des malades.

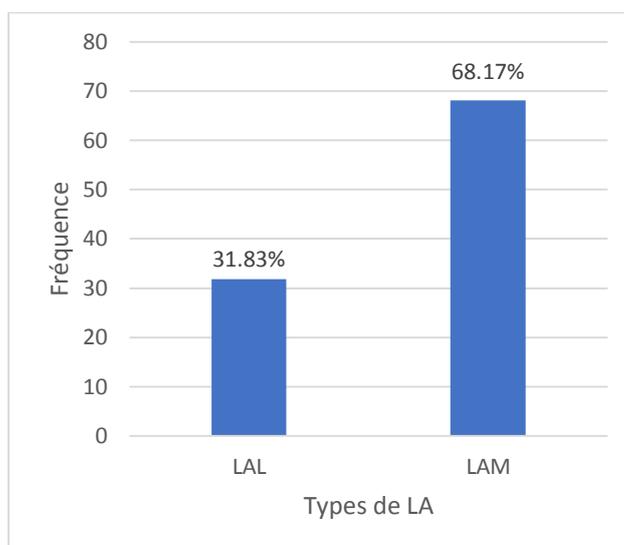
- **Sexe des patients**



**Figure 16** : Répartition des patients selon le sexe.

On note une nette prédominance masculine, avec un sexe ratio de 1,54 ce qui concorde avec les études faites en Tunisie et à Madagascar par (**Braham-Jmili et al. 2010**) et (**Nirina et al. 2015**).

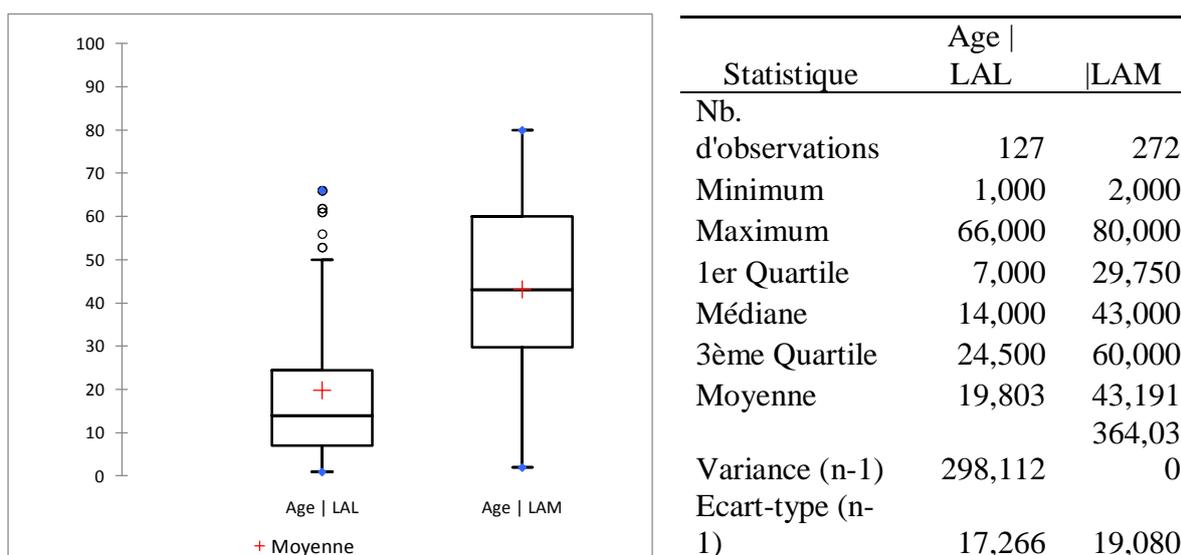
- **Types de LA**



**Figure 16 :** Répartition des malades selon le type de LAM.

On remarque que les LAM sont plus fréquentes représentant 68,17%, la fréquence des LAL est de 31,83%. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Casablanca faite par (Nafil et al. 2012).

- **L'âge des patients en fonction du type de LA**



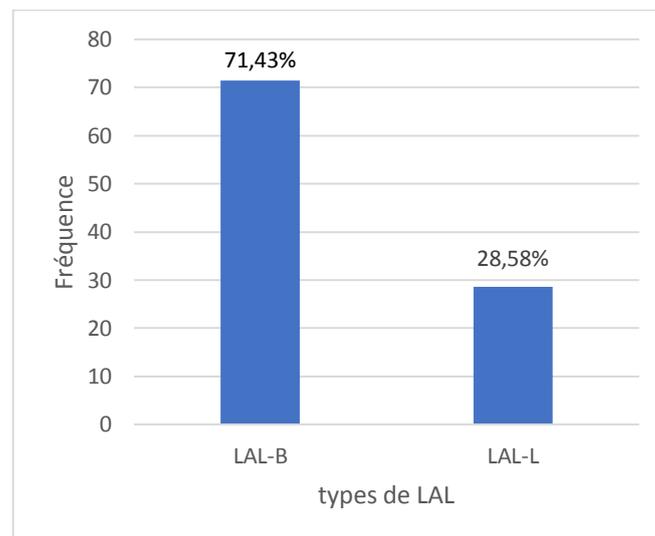
**Figure 17 :** Répartition en box plot des âges selon le type de LA

On note que plus de 75% des adultes sont touchés par une LAM alors que plus de 75% des enfants sont touchés par une LAL, ce qui concorde avec les études de (Belot et al. 2008),

(Nirina et al. 2015) et (Nafil et al. 2012). qui démontrent que les LAM sont plus fréquentes que les LAL et concernent beaucoup plus les adultes que les enfants par rapport au LAL.

### Paramètres cliniques des LAL chez les enfants

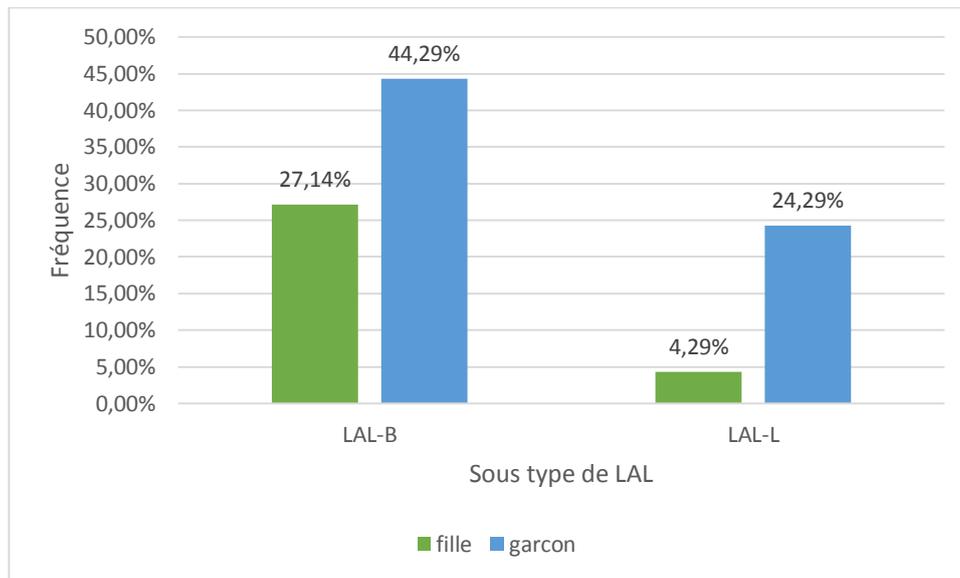
#### Distribution selon les sous-types de LAL



**Figure 19** : Répartition des enfants selon le sous-type de LAL.

On note que les LAL-B sont nettement majoritaires chez les enfants par rapport aux LAL-T, avec une fréquence respective de 71,43% et 28,57%. Ce qui concorde avec la littérature (Maynadié and Troussard 2015).

- **Sous type de LAL en fonction du sexe des enfants**

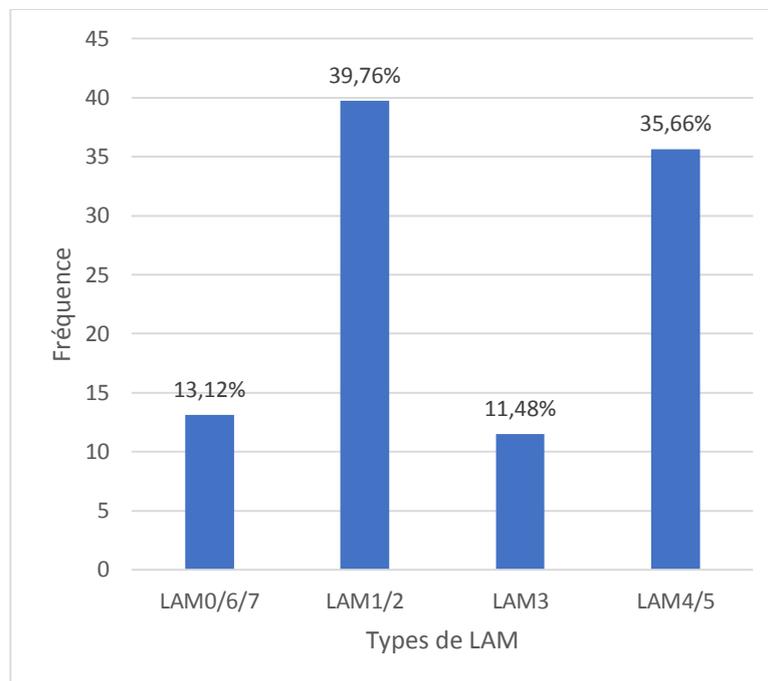


**Figure 19** : Répartition des sous types de LAL selon le sexe.

On remarque une prédominance masculine chez les enfants pour les deux sous types de LAL avec une fréquence de 44.29% pour les LAL-B et 24.29% pour les LAL-L, ce qui a été révélé par (KHATTAR 2014). Le sexe ratio M/F de la population d'étude est de 2,5, ce résultat est en désaccord ceux de (Nafil et al. 2012) où le sexe ratio M/F était plus élevée et estimé entre [1,05-1,2] .

## Paramètres cliniques des LAM chez les adultes

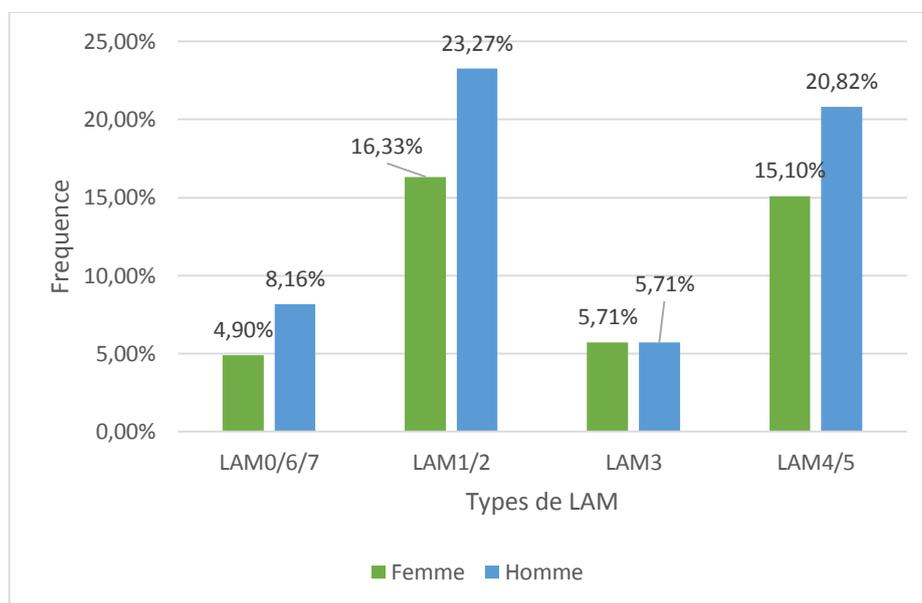
### Distribution selon les sous types de LAM



**Figure 20 :** Répartition des LAM selon le sous-type chez les adultes.

On remarque une prédominance des LAM1/2 et LAM4/5 avec des fréquences respectives 39,75% et 35,65%. Ces résultats rejoignent ceux obtenus à Madagascar par (Nirina et al. 2015) où les fréquences des LAM1 et LAM2 étaient similaires aux fréquences que nous avons obtenues. Dans l'étude de (Braham-Jmili et al. 2010) en Tunisie, les fréquences des LAM1, LAM2, LAM4 et LAM5 étaient plus élevées.

- **Distribution des sous-types de LAM selon le sexe**

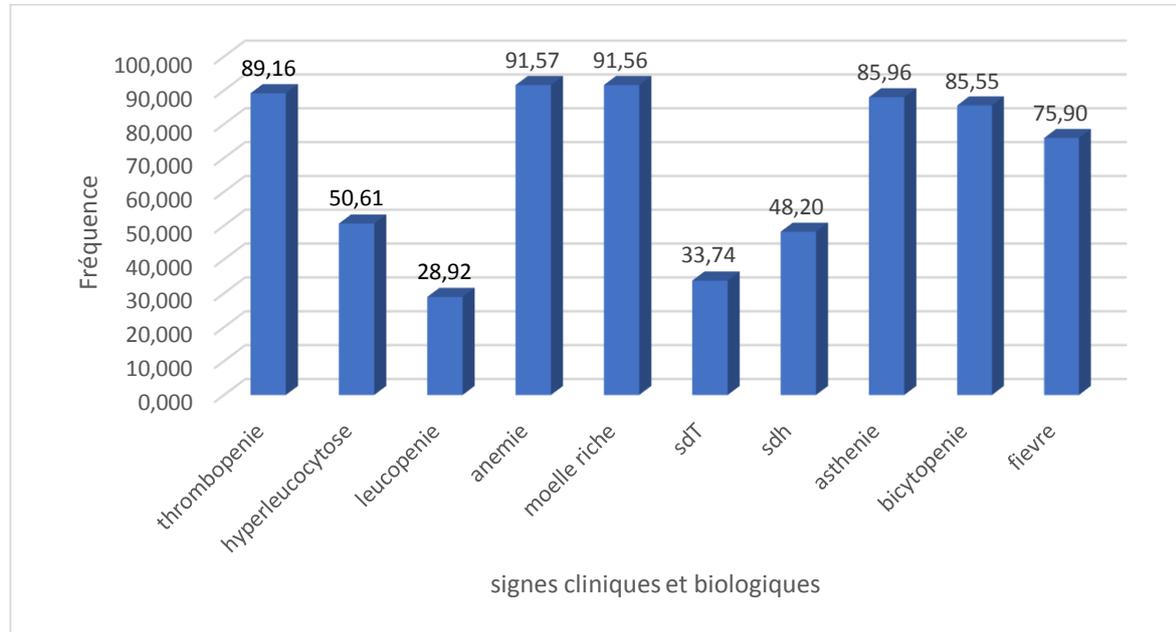


**Figure 22** : Répartition des sous types de LAM selon le sexe.

Les résultats montrent une prédominance masculine chez les adultes dans presque tous les sous- types de LAM, avec un sexe ratio M/F de 1,37. Relative à ce que montre la population générale.

## Répartition des patients selon les paramètres cliniques et biologiques des LAM

Cette répartition a concerné seulement 83 patients, qui avaient les signes cliniques dans leurs dossiers dont 48.19% sont des femmes et 51.81% sont des hommes.

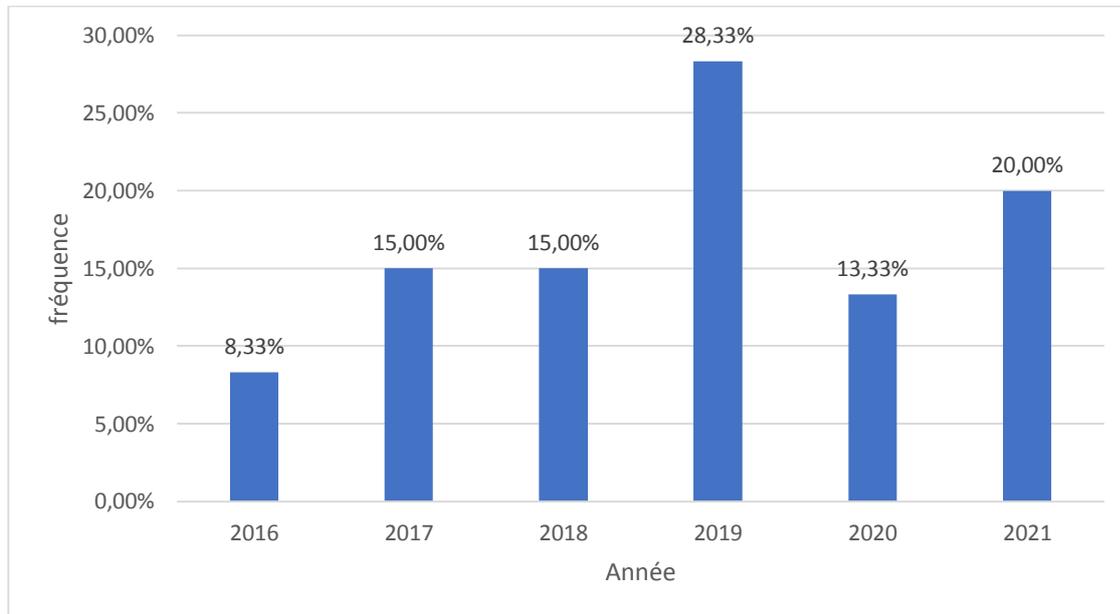


**Figure 23 :** Répartition des signes cliniques et biologiques des patients atteints de LAM.

Sur le plan biologique, l'anémie (91,57%) et la thrombopénie (89,16%) sont les plus fréquentes, suivies par l'hyperleucocytose (50,60%) et la leucopénie (28,92%). Sur le plan clinique, on note une fréquence élevée de l'asthénie (87,95%) et de la fièvre (75,91%), le syndrome tumoral (sdt) et l'hémorragique (sdh) sont enregistrés à des fréquences respectives (33,74%) et (48,19%), on note que (91,56%) des patients avaient une moelle riche. Ces résultats sont en accord avec la littérature du point que le tableau clinique des LAM est très variable où il peut aller d'une asthénie vers un tableau plus grave avec des insuffisances médullaires (anémies, hémorragies) et des infiltrats tissulaires (syndromes tumorales).

## 2. Résultats de l'étude cytogénétique

63 patients, ont fait des tests cytogénétiques à l'étranger entre 2016 et 2021, dont trois sont revenues avec un échec de culture. La fréquence de ces tests par année est la suivante :



**Figure 23** : fréquence des tests cytogénétiques effectués par année par les patients atteints de LAM.

La fréquence des tests cytogénétiques a augmenté de 2016 à 2021, ce qui indique que l'importance de ce test dans le diagnostic des LAM commence à être connue. La diminution de la fréquence de ce test en 2020 est sans doute due à la pandémie de COVID-19 qui a conduit à la suspension des vols internationaux..

Il est à noter que l'augmentation de la fréquence de ces tests au fil des dernières années n'est pas considérable, vu que ce test ne se fait pas en Algérie et qu'il coûte très cher lorsqu'il est fait à l'étranger ce qui limite le nombre de malades qui peuvent recourir à ce test.

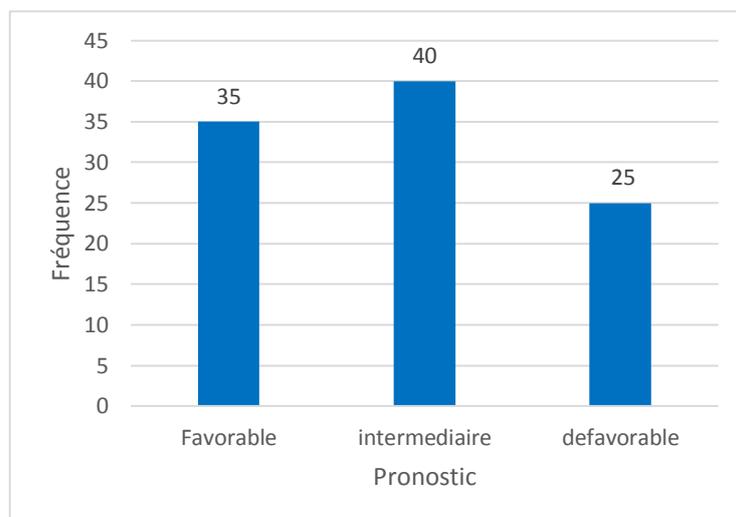
## Altérations chromosomiques enregistrées

**Tableau X** : fréquence des altérations chromosomiques chez les malades atteints de LAM

<b>Anomalies chromosomiques</b>	<b>Fréquence %</b>
<b>Aucune anomalie</b>	<b>33.3</b>
<b>t(15.17)</b>	<b>28.3</b>
<b>Caryotype pseudodiploïde</b>	<b>11.7</b>
<b>Trisomie 21</b>	<b>10</b>
<b>t (9;22)</b> <b>délétion du bras long ch5</b>	<b>5</b>
<b>caryotype hypodiploïde</b>	<b>3.3</b>
<b>caryotype hyperdiploïde</b>	
<b>monosomie ch7</b>	
<b>remaniement 16q22</b>	
<b>t(8;21)(q22;q22)</b>	
<b>remaniement du bras L ch7</b>	<b>1.7</b>
<b>remaniement du bras L ch16</b>	
<b>deletion du locus ABL1 en 9q34</b>	
<b>monosomie du chr 17</b>	
<b>inv péricentrique d'un chr 16</b>	
<b>inv(16)(p13.1q22)</b>	
<b>t(6;9)(p23;q34)</b>	
<b>remaniement du bras L d'un chr 3</b>	
<b>perte du gonosome Y</b>	
<b>perte d'un gonosome X</b>	
<b>trisomie du chr 8</b>	
<b>translocation t (1;19)</b> <b>del(9q34) ABL1</b>	

Les anomalies cytogénétiques détectées constituent l'un des facteurs pronostiques de cette pathologie. Les résultats montrent que la majorité des patients (33.3%) n'avaient aucune anomalie chromosomique, la translocation t(15,17%) (de bon pronostic) est l'aberration chromosomique la plus fréquente (28.3%) suivie par la pseudodiploïde (11.7%), la trisomie 21(10%) et la t(9,22) de mauvais pronostic qui représente (5%), d'autres anomalies moins fréquentes ont été enregistrées.

### Répartition des altérations chromosomiques enregistrées en fonction de leurs pronostics



**Figure 24 :** Répartition des malades selon le profil pronostique des altérations chromosomiques.

On remarque que 40% des altérations chromosomiques sont de pronostic intermédiaire, le caryotype dans ce cas est normal ou avec des anomalies ne faisant pas partie des autres classes de pronostic selon les critères de l'ELN. 35 % des altérations sont de pronostic favorable lié à la présence de la translocation t(15,17).

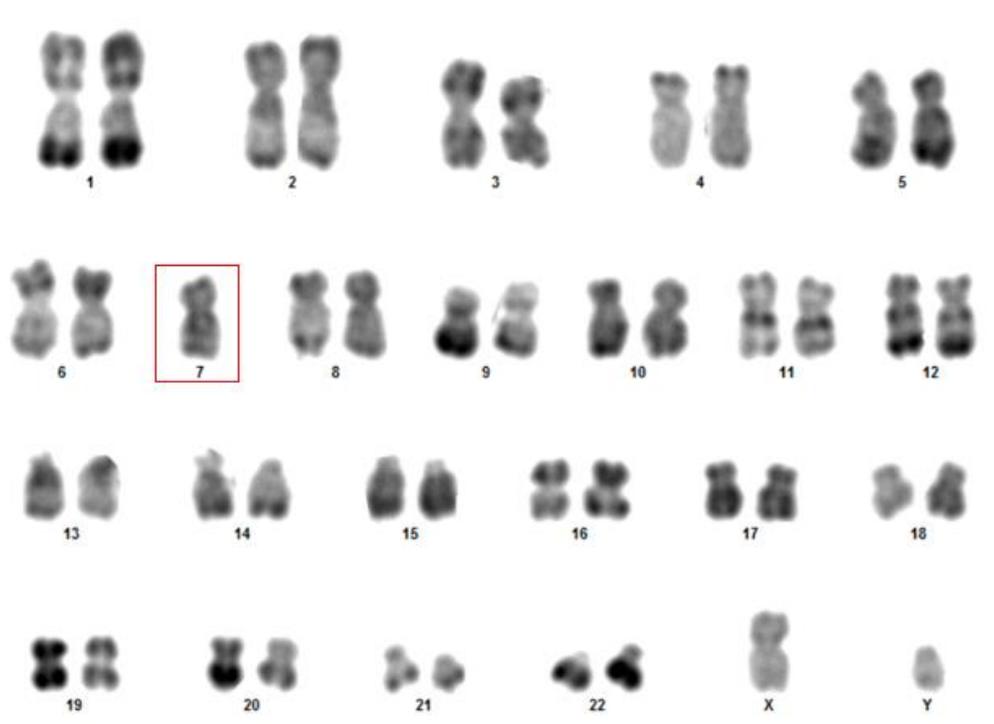
Il est à noter que l'examen cytogénétique n'est pas systématiquement demandé pour tous les patients suspectés (ou même pour déterminer tous les types de leucémies) ce qui ne permet pas de conclure le profil cytogénétique et pronostique de cette pathologie dans notre région.

L'étude cytogénétique prospective menée au CRBT a mis en évidence quelques anomalies cryptiques principalement de nombre. Seulement 4 caryotypes ont été réussis sur les 8 prélèvements obtenus à cause de l'échec de la culture cellulaire, 2 échantillons ont été contaminés, les deux autres sont des prélèvements médullaires, c'était une première tentative

pour le laboratoire pour faire des caryotypes à partir d'un prélèvement médullaire, par faute de temps, l'optimisation du protocole n'as pu être réalisée.

Les résultats montrent une monosomie 7 (Figure 25) chez un patient âgé de 19 ans atteint d'une LAM, cette anomalie est décrite dans la littérature est connue pour son pronostic défavorable, ce patient est décédé quelques semaines après son admission.

Les résultats des trois autres caryotypes étaient hétérogènes avec des anomalies atypiques qui ne sont citées dans la littérature, il reste à confirmer et vérifié leur originalité ultérieurement. On a tout de même pu remarquer un caryotype complexe constitué de 8 anomalies avec une hypo diploïdie assez importante (38 chromosomes) (Figure 26)



**Figure 25 : Caryotype montrant une monosomie 7**

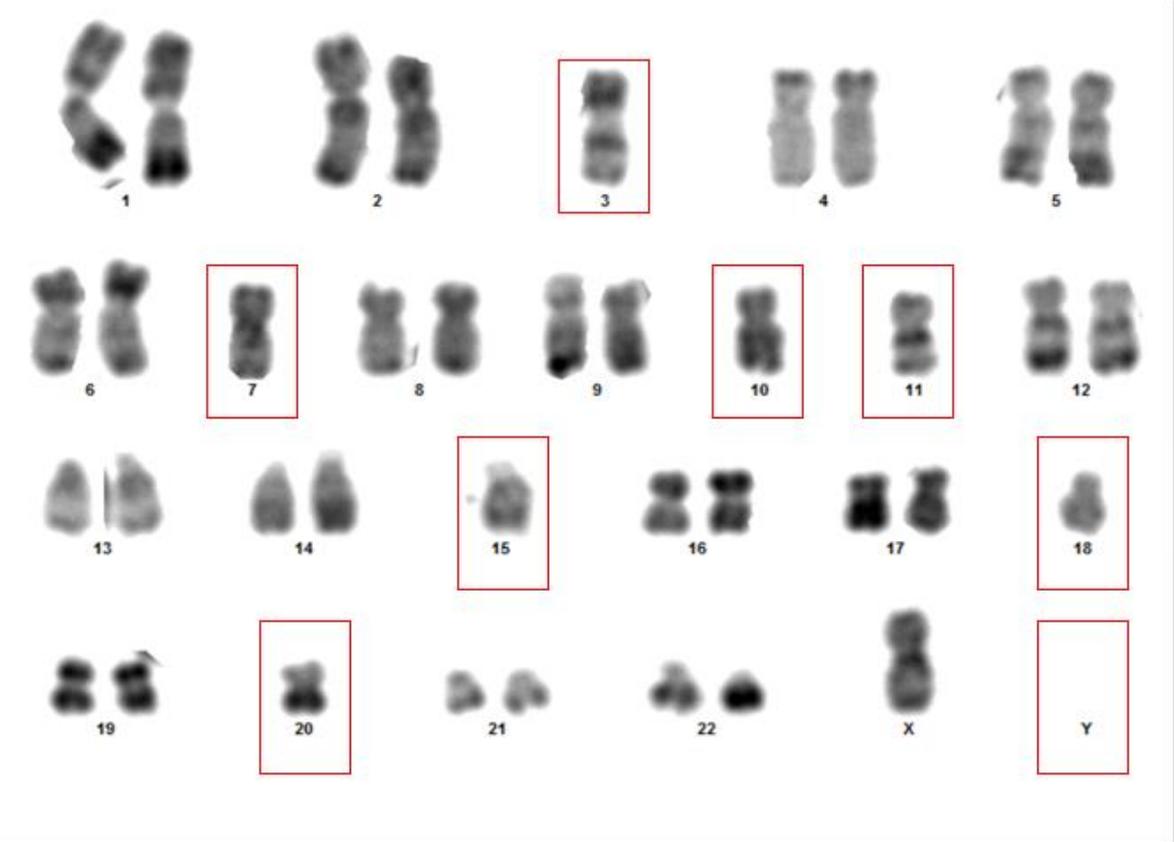


Figure 26 : caryotype complexe

### 3. Résultats de l'étude cytologique et immunophénotypique

Cette étude a concerné 37 patients atteints de LA , Chaque patient a fait l'objet d'une étude cytologique et immunophénotypique dont l'objectif était de faire une classification de ces LA sur le plan cytologique et immunophénotypique. Les résultats de cette étude montrent que 27 avaient une LAM alors que 13 malades avaient une LAL. Les sous-types obtenus sont les suivants :

- **LAM1**

Nombre de lames	Aspect cytologique	Type de LA selon la cytologie	Résultats de l'immunophénotypage	Type de LA après un examen de CMF
5	-aspect myéloblastique -aspect monocytoïde	<b>LAM1/2</b> Ou <b>LAM4/5</b>	CD45 faible avec un SSC intermédiaire, <b>Marqueurs positif</b> : MPO, CD117, HLA-DR, CD13 , et parfois le CD34 avec le CD7  <b>Marqueurs négatifs</b> : CD14, CD15, CD16, CD64, CD11c, CD11b.	<b>LAM1 Myéloblastique sans maturation</b>

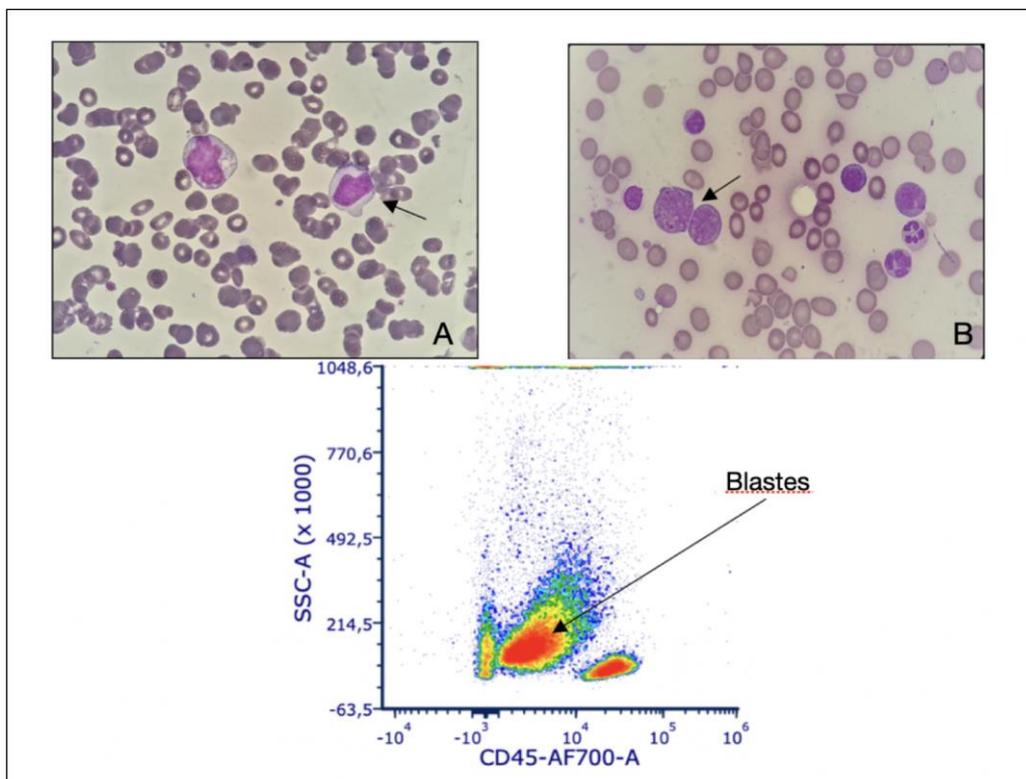
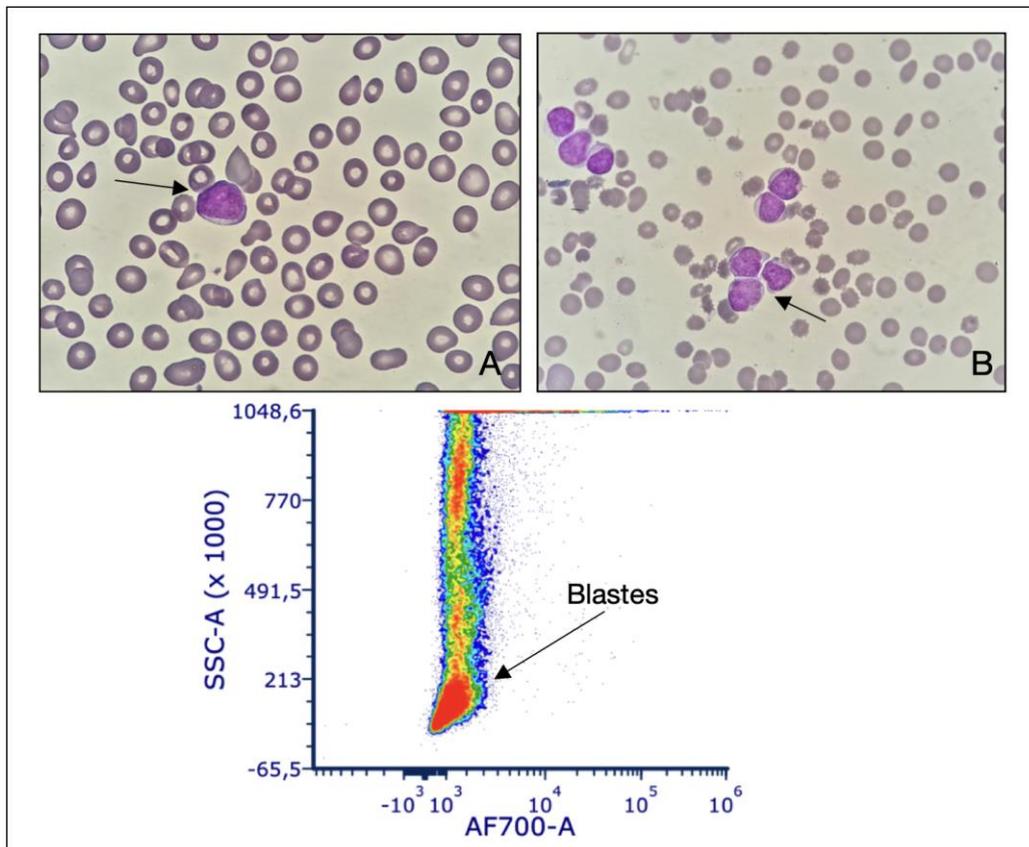


Figure 27 : LAM1 Myéloblastique sans maturation

Pour les LAM 1, On observe des myéloblastes qui définissent ce type (Figure 27.A) sauf pour quelques cas où il y avait des repliements cytoplasmiques qui caractérisent les types monocytoïdes (figure 27.B)

▪ **LAM 2**

Nombre de lames	Aspect cytologique	Type de LA selon la cytologie	Résultats de l'immunophénotypage	Type de LA après un examen de CMF
4	-aspect myeloblastique -aspect lymphoblastique -aspect monocytoïde	<b>LAL</b> Ou <b>LAM4/5</b>	CD45 faible avec un SSC intermédiaire. <b>Marqueurs positifs</b> : MPO, CD117, HLA-DR, et parfois le CD13 et CD33.  <b>Marqueurs négatifs</b> : CD16, CD14, CD15.	<b>LAM2</b> <b>Mésoblastique</b> <b>avec maturation</b>



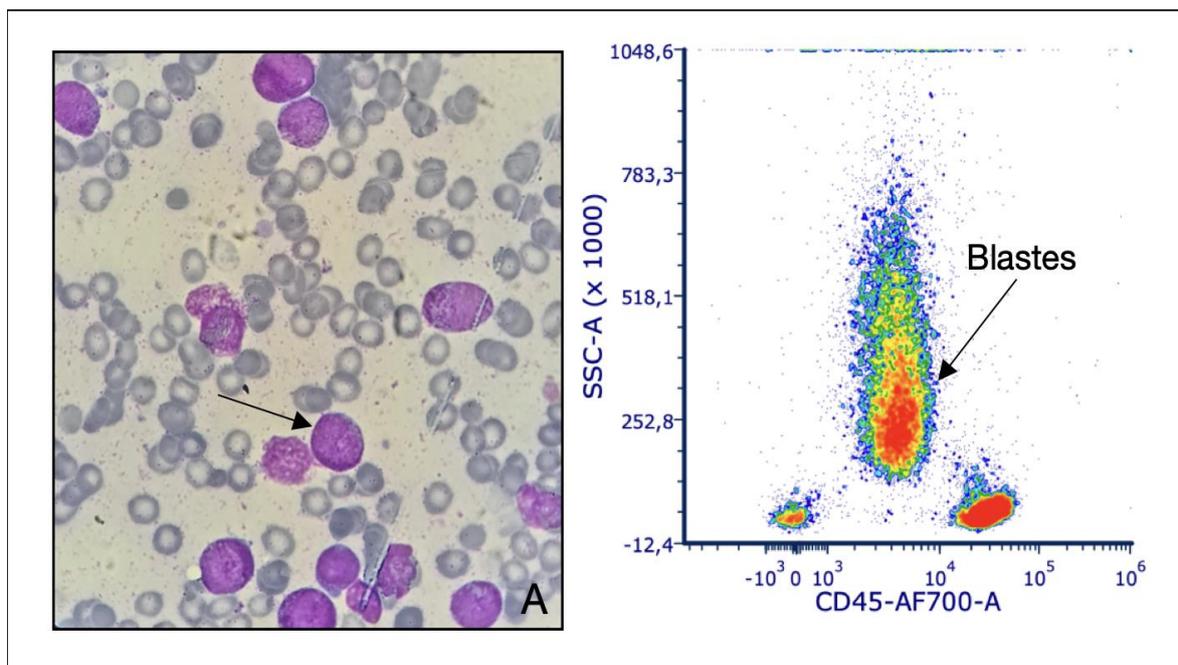
**Figure 28 : LAM2 Mésoblastique avec maturation**

Les LAM 2 sont les plus hétérogènes et difficiles à classer cytologiquement vu que plusieurs aspects blastiques ont été remarqués, la première catégorie de blastes correspond à la description classique de myéloblastes décrite dans la littérature, la deuxième et troisième

catégories présentent respectivement un aspect monocytoïde (figure 28.B) et lymphoblastique (figure 28A) ce qui n'est pas classiquement décrit pour ce type de LAM.

- **LAM 3**

Nombre de lames	Aspect cytotologique	Type de LA selon la cytologie	Résultats de l'immunophénotypage	Type de LA après un examen de CMF
2	Aspect promyéloblastique avec absence des corps d'auer	<b>LAM3</b>	CD45 faible avec un SSC très élevée. <b>Marqueurs positifs</b> : MPO, CD33, CD11c, CD64 (parfois de forte intensité)  <b>Marqueurs négatifs</b> : CD117, CD34, HLA-DR, CD14, CD15, CD11b.	<b>LAM3 Promyeloctaire</b>

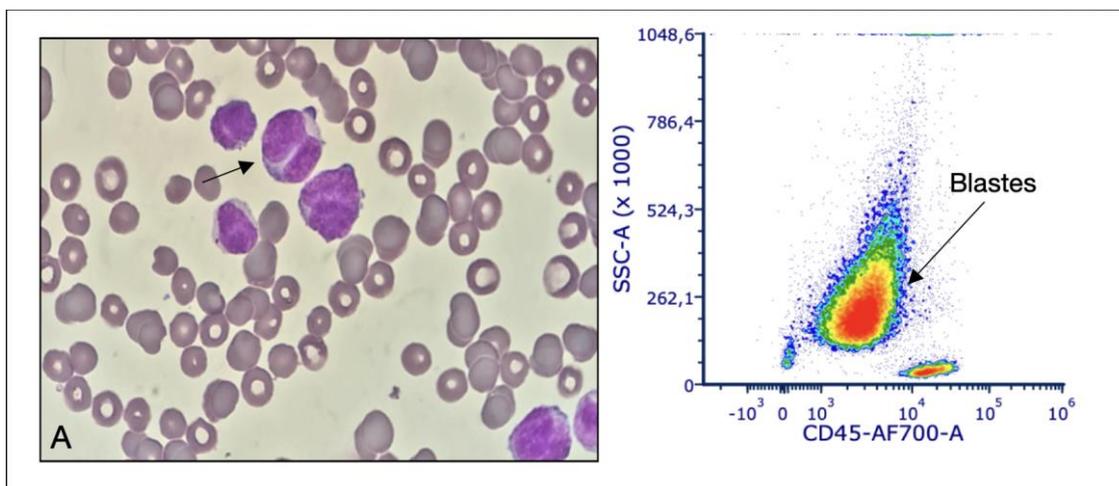


**Figure 30 : LAM3 Promyeloctaire**

Pour les LAM 3, on note une concordance avec la littérature vu qu'on observe clairement des promyéloblastes visibles sur la figure 30 à l'exception de l'absence des corps d'Auer qui caractérisent les LAM 3, il faut noter que le nombre de cas ayant une LAM3 était de deux, ce qui est trop réduit pour confirmer ce résultat.

- **LAM 3 variante**

Nombre de lames	Aspect cytologique	Type de LA selon la cytologie	Résultats de l'immunophénotypage	Type de LA après un examen de CMF
4	Aspect promyéloblastique avec noyau régulier bilobé en forme d'ailes de papillon	<b>LAL</b> Ou <b>LAM4/5</b>	CD45 faible avec un SSC intermédiaire. <b>Marqueurs positifs</b> : MPO, CD13, CD33 les trois avec une expression forte et homogène, le CD117 parfois absent.  <b>Marqueurs négatifs</b> : CD34, HLA-DR, CD11c, CD11b, CD15, CD14.	<b>LAM3 variante Promyeloctaire</b>



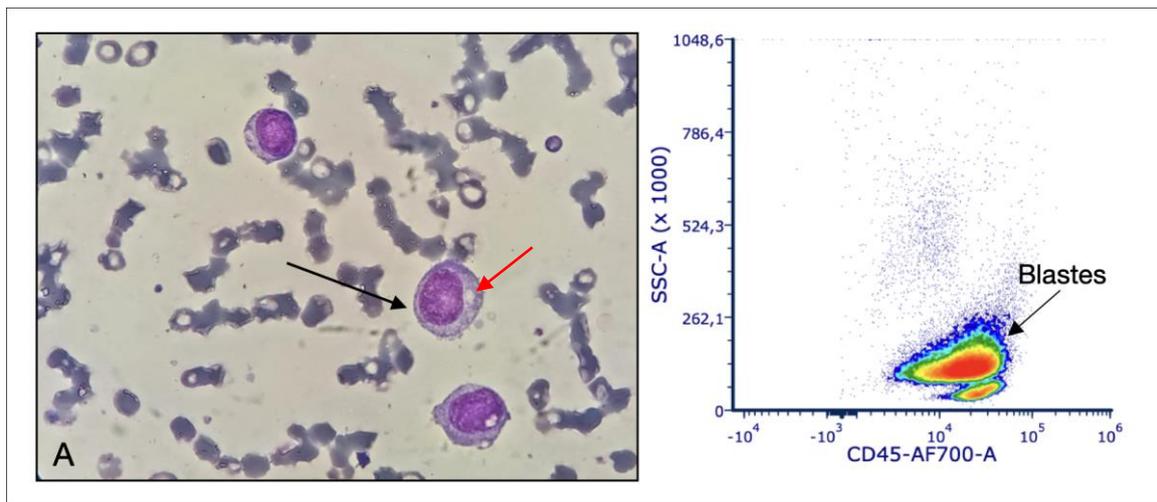
**Figure 30 : LAM3 variante promyeloctaire**

Les LAM3v étaient facilement identifiables et ne présentaient aucun aspect inhabituel.

La flèche dans la figure 30.A montre un promyéloblaste avec un noyau bilobé, cette caractéristique cytologique a été remarquée sur les lames de tous les patients atteints de la LAM3v.

- **LAM 4**

Nombre de lames	Aspect cytologique	Type de LA selon la cytologie	Résultats de l'immunophénotypage	Type de LA après un examen de CMF
5	-Aspect monoblastique	<b>LAM4/5</b>	CD45 faible avec un SSC intermédiaire. <b>Marqueurs positifs</b> : le CD13, CD33, CD64, CD11c, parfois le CD117, HLA-DR, CD4.  <b>Marqueurs négatifs</b> : CD34, CD14, CD15, CD16.	<b>LAM4 Monoblastique</b>

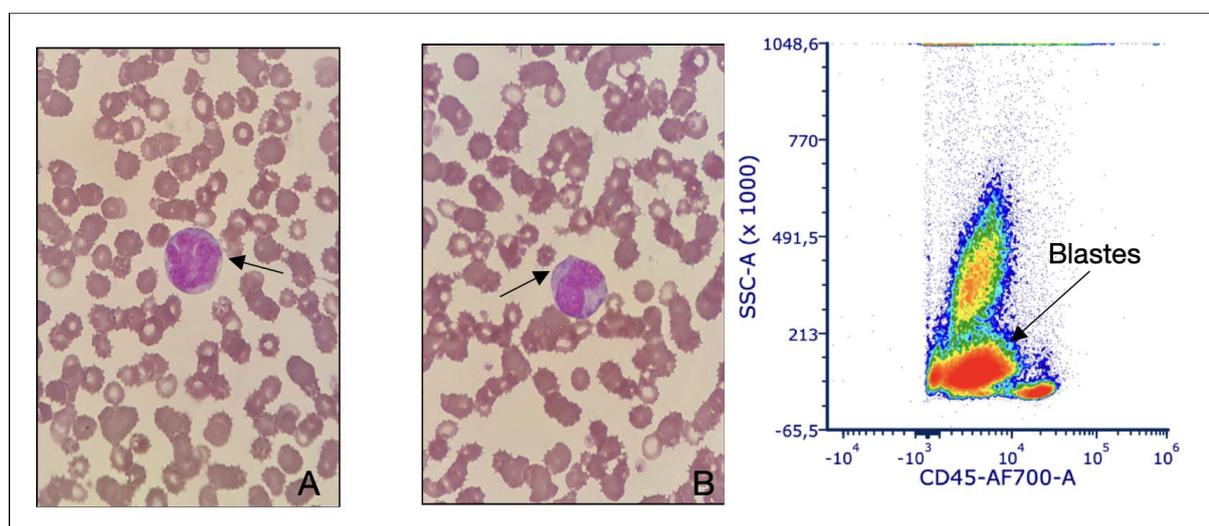


**Figure 31 : LAM4 Monoblastique**

Pour les LAM 4 la cytologie observée concorde avec les descriptions faites par la littérature où on observe des monoblastes (flèche noir) avec le noyau arrondi et la présence de vacuole qui caractérise ce type comme le montre la flèche rouge dans la figure 31.

- **LAM 7**

Nombre de lames	Aspect cytologique	Type de LA selon la cytologie	Résultats de l'immunophénotypage	Type de LA après un examen de CMF
3	-aspect lymphoblastique.	<b>LAL</b> Ou <b>LAM4/5</b>	Un CD45 faible avec un SSC intermédiaire.  <b>Marqueurs positifs :</b> MPO faible, CD42a, CD42b, CD41a, les CD117, HLA-DR, les CD33 et le CD36 sont parfois exprimé.  <b>Marqueurs négatifs :</b> : CD13, CD14, CD64	<b>LAM7</b> <b>Megacaryoblastique</b>

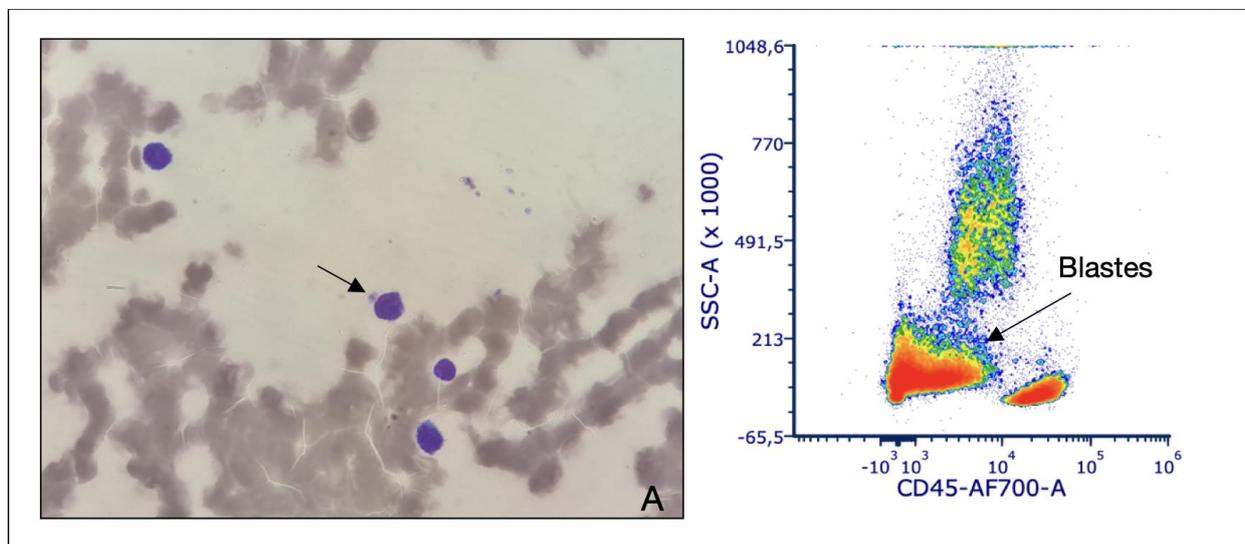


**Figure 32 : LAM7 Megacaryoblastique**

Les LAM 7 ont été difficiles à identifier vu la présence de 3 aspects : l'aspect classique des mégacaryoblastes avec des prolongements cytoplasmiques, l'aspect lymphoblastique et l'aspect myéloblastique, (ils appartiennent à la catégorie des LAM indifférenciés :M0,M6 et M7).

- **LA bi phénotypique**

Nombre de lames	Aspect cytologique	Type de LA selon la cytologie	Résultats de l'immunophénotypage	Type de LA après un examen de CMF
1	-aspect lymphoblastique.	<b>LAL</b>	Un CD45 faible avec un SSC intermédiaire. <b>Marqueurs positifs :</b> <b>-myéloïdes :</b> MPO/DR/34/33 <b>-lymphoïdes:</b> CD10, CD19, CD20, cyCD79a, cyCD22, cy $\mu$ , TdT. <b>Marqueurs négatifs :</b> CD117, CD34, CD14, CD64, CD15, CD16.	<b>LA byphenotipique Mixte B/Myéloïde</b>

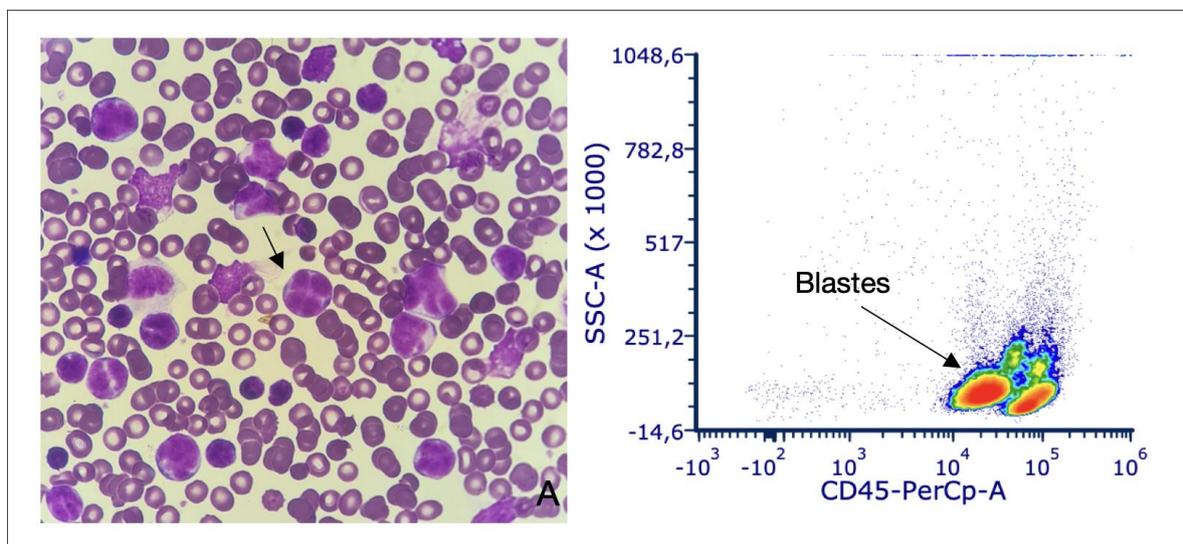


**Figure 33 : LA byphenotipique Mixte B/Myéloïde**

Pour la LA biphénotypique (B/My), un seul aspect lymphoblastique a été observé (figure 33), en général les aspects morphologiques des cellules blastiques dans les LA biphénotypique sont variables, l'allure lymphoblastique est retrouvé dans le 1/ 3 des cas (article de confrontation).

- **LAL-pré T**

Nombre de lames	Aspect cytologique	Type de LA selon la cytologie	Résultats de l'immunophénotypage	Type de LA après un examen de CMF
4	Aspect lymphoblastique.	<b>LAL</b>	CD45 faible avec un SSC intermédiaire. <b>Marqueurs positifs :</b> CD3, cyCD3, CD2, CD5, CD7, TdT, et le CD10 comme marqueur aberrant.  <b>Marqueurs négatifs :</b> HLA-DR, CD34, CD1a, CD4, CD8.	<b>LAL-Pré T</b>

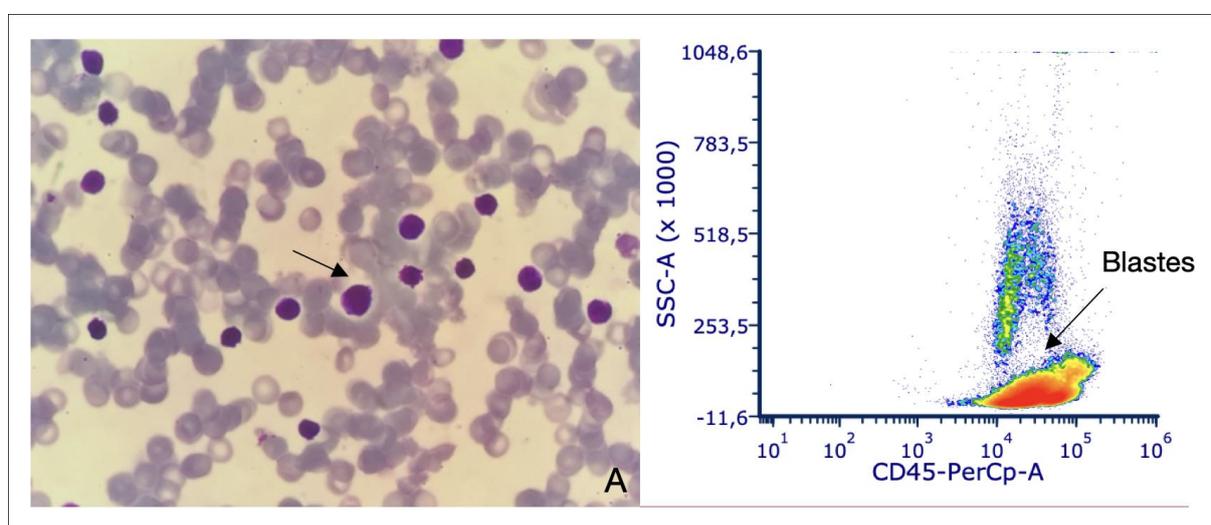


**Figure 34 : LAL-Pré T**

On note que les aspects retrouvés correspondent à ceux des lymphoblastes et ne montrent aucune discordance avec les données bibliographiques.

▪ **LAL-Pro B**

Nombre de lames	Aspect cytologique	Type de LA selon la cytologie	Résultats de l'immunophénotypage	Type de LA après un examen de CMF
3	Aspect lymphoblastique.	<b>LAL</b>	Un CD45 faibles SSC bas avec un CD19 positif. <b>Marqueurs positifs :</b> cyCD22, cyCD79a, HLA-DR.  <b>Marqueurs négatifs :</b> HLA-DR, CD34, CD1a, CD4, CD8.	<b>LAL-Pro B</b>

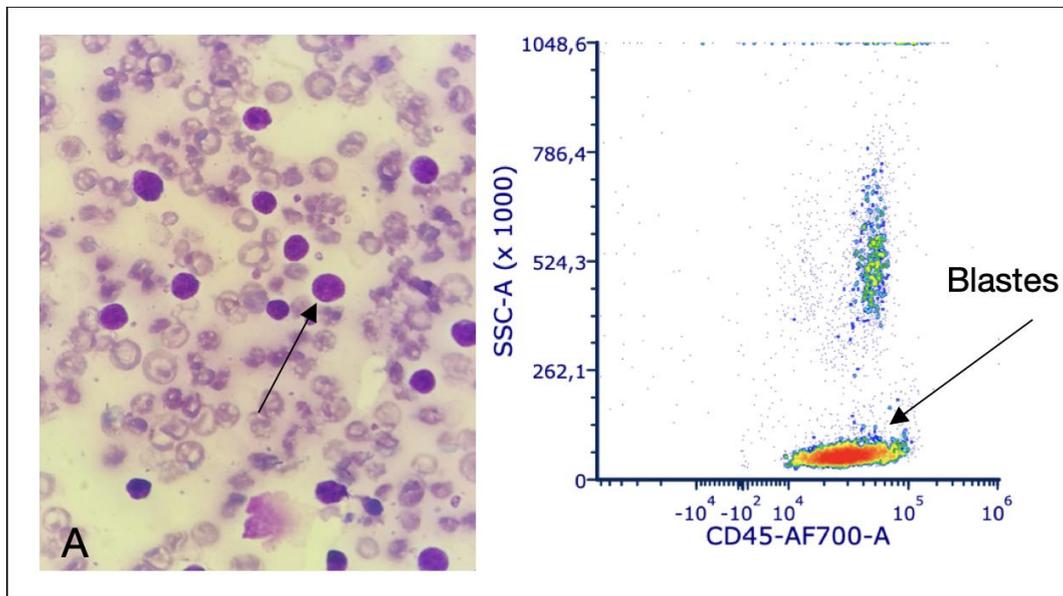


**Figure 35 : LAL-Pro B**

On observe clairement dans la (**figure 36**) des lymphoblastes et donc aucun aspect atypique n'as été enregistré.

- **LAL-B commune**

Nombre de lames	Aspect cytologique	Type de LA selon la cytologie	CMF	Type après CMF
6	Aspect lymphoblastique.	LAL	Un CD45 parfois faible avec un CD19 positif et parfois un CD45 négatifs avec un CD19 faible. <b>Marqueurs positifs :</b> cyCD22, cyCD79a, HLA-DR, TdT, CD10, parfois on trouve une co-expression CD10/CD20 et du CD34. <b>Marqueurs négatifs :</b> cyμ, CD20, Kappa, Lambda.	<b>LAL-B commune</b>



**Figure 36 : LAL-B commune**

On remarque également pour ce sous type un aspect lymphoblastique qui caractérise les LAL.

Pour confirmer la nécessité de procéder à la CMF afin d'établir une classification précise des LAM et après avoir eu la classification précédente des LAM sur 24 lames, une deuxième lecture a été effectuée en double aveugle par deux cytologistes différents, les descriptions faites par les deux cytologistes ont été comparées aux résultats obtenus par l'immunophénotypage.

Un cytologiste a 9 classifications correctes sur 24 avec un score de (37,5%), C'est-à-dire le type LAM observée cytologiquement est identique à celui obtenu par CMF. Le deuxième en occurrence a fait seulement 5 classifications correctes avec un score de (20,8%). Dans ces 24 cas c'est l'immunophénotypage qui a permis de déterminer le diagnostic.

**Tableau XI : les principales discordances cytologiques des LAM**

Types de LAM	Types de LAM confondus avec
LAM7	LAM1/2
LAM3	LAM1/2 ou LAL
LAM1/2	LAM4/5 ou LAL

On note que les types LAM qui ont été le plus fréquemment confondus sont les LAM1/2 et on remarque aussi que certaines LAM ont été observées en tant que LAL. Parmi les 24 cas de LAM, un cas a été classé comme LAL alors que la CMF a montré qu'il était LAM bi phénotypique.

Cette étude a montré que la cytologie ne permet pas de donner une classification précise des LAM, Nous avons enregistré que l'aspect monocytoïde (avec des repliements cytoplasmiques) est de plus en plus fréquent dans les LAM1/2 et même dans les LAL (résultat non présenté), nous avons aussi remarqué que la forme classique des LAM3 présente des aspects cytologiques plus atypiques que la forme variante (LAM3v), on suggère que cela est lié au fait que les caractéristiques cytologiques des LAM deviennent de plus en plus inhabituels et cela peut être dû au mode de vie, à l'environnement ou à l'acquisition de nouvelles propriétés.

L'immunophénotypage a été toujours considéré comme un examen complémentaire pour le diagnostic des LAM, néanmoins dans cette expérience seul l'immunophénotypage a permis d'établir un diagnostic final grâce à l'identification des antigènes cellulaires, d'une part la CMF permet de confirmer l'affiliation des blastes à la lignée myéloïde pour les cas confondus cytologiquement avec une LAL, et d'une autre part, elle permet d'exclure le diagnostic des formes monoblastiques dans les cas où la cytologie montre un aspect monocytoïde et cela par la négativité des marqueurs monocytaires. Pour les formes indifférenciées comme la LAM7, il est déjà connu que l'immunophénotypage est l'examen de référence.

## CONCLUSION

Les Leucémies Aiguës (LA) sont des hémopathies malignes complexes et hétérogènes caractérisées par l'accumulation de blastes dans la moelle osseuse, le sang et éventuellement dans d'autres organes. Deux types sont décrits : Leucémies aiguës myéloïdes (LAM) et les leucémies aiguës lymphoïdes (LAL).

Les résultats de l'étude épidémiologique montrent plusieurs similitudes avec la littérature : les LAM sont plus fréquentes chez les adultes avec une prédominance masculine alors que les LAL sont plus fréquentes chez les enfants avec une prédominance masculine également. En fonction du type de ces leucémies, nous avons noté une prédominance des LAL-B dans les LAL et une prédominance des LAM1/2 et LAM4/5 dans les LAM.

En premier lieu, l'hémogramme reste l'analyse primordiale dans cette pathologie. Le myélogramme permet la classification de la LA en LAM ou LAL. Le myélogramme, l'immunophénotypage et parfois le caryotype permettent d'établir une classification précise des LAM et des LAL.

Bien que notre étude immunophénotypage portant sur 37 malades atteints de LA ait ses limites quant à l'effectif assez faible, elle montre néanmoins que l'immunophénotypage est indispensable pour une bonne classification des LA et par conséquent la pose du bon diagnostic.

L'étude cytogénétique rétrospective montre que les altérations chromosomiques enregistrées ont un intérêt pronostique, des altérations atypiques ont été détectées par notre étude cytogénétique prospective.

Les avantages et l'importance de l'immunophénotypage dans le diagnostic des LA restent méconnues en Algérie. Une stratégie de sensibilisation doit être entreprise afin d'informer les hématologues de la nécessité de cet examen pour une meilleure maîtrise de ces pathologies et une meilleure prise en charge des patients.

## Références

1. Doumbia M, Uwingabiye, J., Bissan, A., Rachid, R., Benkirane, S., & Masrar, A. . . Aspects épidémiologiques, cliniques, cytologiques et immunophénotypiques des leucémies aiguës chez les enfants: expérience du laboratoire d'hématologie du Centre Hospitalier Universitaire IBN Sina. Pan African Medical Journal,. (2016).23(1).
2. Deschler B, Lübbert M. Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society. 2006;107(9):2099-107.
3. Maynadié M, Troussard X. Épidémiologie des leucémies aiguës. Revue francophone des laboratoires. 2015;2015(471):29-33.
4. Sandler DP, Ross JA, editors. Epidemiology of acute leukemia in children and adults. Seminars in oncology; 1997.
5. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2009;114(5):937-51.
6. Imbert M, Wagner-Ballon O. Place de la biologie moléculaire pour le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. Rev Fr Lab. 2015;471:29-33.
7. Adimy M, Bernard S, Clairambault J, Crauste F, Génieys S, Pujol-Menjouet L. Modélisation de la dynamique de l'hématopoïèse normale et pathologique. Hématologie. 2008;14(5):339-50.
8. Travlos GS. Normal structure, function, and histology of the bone marrow. Toxicol Pathol. 2006;34(5):548-65.
9. Guitart AV. Régulation du compartiment des progéniteurs hématopoïétiques par les faibles concentrations en oxygène: analyse de la survie, de la prolifération et de la différenciation du modèle FDCEP-Mix: Bordeaux 2; 2009.
10. Chaaba H, Piperno-Neumann S. Facteurs de croissance hématopoïétiques. Thérapeutique du cancer: Springer; 2011. p. 893-908.
11. Leach M, Drummond M, Doig A. Practical Flow Cytometry in Haematology Diagnosis. Hoboken. NJ: Wiley-Blackwell; 2013.
12. Wai So C. Leukemia. Humana Press. (2009). .
13. Weidner M-A. How to reduce the diagnosis delay of cancer in children and adolescents. Proposal of raising awareness ways

Comment raccourcir le délai diagnostique du cancer chez l'enfant et l'adolescent. Proposition de moyen de sensibilisation: Université de Lorraine; 2015.

14. Ribera J-M. Advances in acute lymphoblastic leukemia in adults. *Current opinion in oncology*. 2011;23(6):692-9.
15. Farnault L, Boudjarane J, Baccini V, Costello R. Leucémies aiguës lymphoblastiques de l'adulte. *EMC-Hématologie*. 2015;10(1):1-14.
16. Piller G. Leukaemia - a brief historical review from ancient times to 1950. *Br J Haematol*. 2001;112(2):282-92.
17. BOUDJELLOULI A, & BENAMIROUCHE, A. (2018). Etude descriptive des leucémie aigue secondaires au niveau de service d'hématologie du CHU de Tizi-Ouzou. Thèse de doctorat, UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI, disponible sur : Etude descriptive des leucémie aigue secondaires au niveau de service d'hématologie du CHU de Tizi-Ouzou .
18. JADIDI, S. (2020). SYSTEME D'AIDE A LA DECISION POUR CLASSIFICATION DES LEUCEMIES AIGUËS LYMPHOBLASTIQUES PAR RESEAUX DE NEURONES A CONVOLUTION (DEEP LEARNING). Memoire de master, UNIVERSITE MOHAMMED V de RABAT. Disponible sur : <http://hdl.handle.net/123456789/18346> .
19. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia*. 1995;9(10):1783-6.
20. Flandrin G. La nouvelle classification OMS des hémopathies malignes Hémopathies myéloïdes. La nouvelle classification OMS des hémopathies malignes Hémopathies myéloïdes. (2001); La nouvelle classification OMS des hémopathies malignes Hémopathies myéloïdes.:136-41.
21. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2016;127(20):2391-405.
22. Juliusson G, Hough R. *Leukemia. Prog Tumor Res*. 2016;43:87-100.
23. Belot A, Grosclaude P, Bossard N, Jouglà E, Benhamou E, Delafosse P, et al. Cancer incidence and mortality in France over the period 1980–2005. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*. 2008;56(3):159-75.

24. SALHANE H. Anomalies cytogénétiques dans les leucémies aiguës myéloïdes: données récentes. (Doctoral dissertation). (2013).
25. Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robison LL. Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer*. 1995;75(8):2186-95.
26. Linabery AM, Ross JA. Trends in childhood cancer incidence in the US (1992–2004). *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 2008;112(2):416-32.
27. Puumala SE, Ross JA, Aplenc R, Spector LG. Epidemiology of childhood acute myeloid leukemia. *Pediatric blood & cancer*. 2013;60(5):728-33.
28. Nirina MH, Rakotoarivelo, Z. L., Ntoezara, A., Rasolonjatovo, A. S., RakotoAlson, A. O., & Rasamindrakotroka, A. Épidémiologie et diagnostic des leucémies aiguës à l'hôpital Ravoahangy Andrianavalona Antananarivo Madagascar. *Cancer/African Journal of Cancer*. 2015;7(4):186-9.
29. Zouaoui.Z. Etude épidémiologique nationale des leucémies aiguës lymphoblastiques de l'adulte : travail coopératif du groupe algérien d'étude des LAL sur une période de 04 ans( jan2010- dec 2013 )  
Revue Algérienne d'Hématologie. 2016. ;N°12.
30. Sébahoun G. Hématologie clinique et biologique. . Wolters Kluwer France. (2005).
31. Micheli J. Leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant et accidents thrombotiques 2006.
32. Seror E, DeVillartay P, Leverger G, Lenoir G. Infection à HHV-6 et leucémie aiguë lymphoblastique chez un enfant. *Archives de pédiatrie*. 2008;15(1):37-40.
33. Rinsky RA. Benzene and leukemia: an epidemiologic risk assessment. *Environmental health perspectives*. 1989;82:189-91.
34. Lichtman MA. Cigarette smoking, cytogenetic abnormalities, and acute myelogenous leukemia. *Leukemia*. 2007;21(6):1137-40.
35. Béné M, Nebe T, Bettelheim P, Buldini B, Bumbea H, Kern W, et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia*. 2011;25(4):567-74.
36. Kelly, L. M., & Gilliland, D. G. (2002). Genetics of myeloid leukemias. *Annual review of genomics and human genetics*, 3(1), 179-198.

37. Passegué E, Jamieson CHM, Ailles LE, Weissman IL. Normal and leukemic hematopoiesis: Are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(suppl 1):11842.
38. Fröhling S, Döhner H. Chromosomal abnormalities in cancer. *N Engl J Med*. 2008;359(7):722-34.
39. Poleszczuk L. Apport de l'immunophénotypage par cytométrie en flux dans la classification morphologique des leucémies aiguës myéloïdes. (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier). (2015).
40. Huguet F, Récher C. Leucémies aiguës de l'adulte. *Hématologie*. 2011;17(3):203-24.
41. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med*. 1985;103(4):620-5.
42. Ladines-Castro W, Ibañez G, Luna-Pérez MA, Santoyo-Sánchez A, Collazo-Jaloma J, Mendoza-García E, et al. Morphology of leukaemias. *Revista Médica Del Hospital General De México*. 2015;79.
43. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol*. 1999;17(12):3835-49.
44. Lichtman MA, Rowe JM. The relationship of patient age to the pathobiology of the clonal myeloid diseases. *Semin Oncol*. 2004;31(2):185-97.
45. Brechemier D. Impact des comorbidités sur le pronostic des patients âgés de plus de 75 ans traités par azacitidine pour myélodysplasie de haut risque ou leucémie aiguë myéloblastique. (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier). (2014).
46. Gahn B, Haase D, Unterhalt M, Drescher M, Schoch C, Fonatsch C, et al. De novo AML with dysplastic hematopoiesis: cytogenetic and prognostic significance. *Leukemia*. 1996;10(6):946-51.
47. Wakui M, Kuriyama K, Miyazaki Y, Hata T, Taniwaki M, Ohtake S, et al. Diagnosis of acute myeloid leukemia according to the WHO classification in the Japan Adult Leukemia Study Group AML-97 protocol. *Int J Hematol*. 2008;87(2):144-51.
48. Hoyle CF, de Bastos M, Wheatley K, Sherrington PD, Fischer PJ, Rees JK, et al. AML associated with previous cytotoxic therapy, MDS or myeloproliferative disorders: results from the MRC's 9th AML trial. *Br J Haematol*. 1989;72(1):45-53.

49. Kaushansky K, Lichtman, M., Prchal, J., Levi, M., Burns, L., & Linch, D. C. . Williams Hematology, 10th Edition (10e éd.). . McGraw-Hill Education / Medical. (2021).
50. Wheatley K, Burnett AK, Goldstone AH, Gray RG, Hann IM, Harrison CJ, et al. A simple, robust, validated and highly predictive index for the determination of risk-directed therapy in acute myeloid leukaemia derived from the MRC AML 10 trial. United Kingdom Medical Research Council's Adult and Childhood Leukaemia Working Parties. *Br J Haematol.* 1999;107(1):69-79.
51. Mrózek K, Heerema NA, Bloomfield CD. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Rev.* 2004;18(2):115-36.
52. Luquet I. Place de la cytogénétique dans le diagnostic des leucémies aiguës myéloïdes. *Revue Francophone des Laboratoires.* 2015;2015(471):43-9.
53. Vora A. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Springer. (2018);Softcover reprint of the original 1st ed. 2017 éd.
54. Hardisty RM, Till MM, Peto J. Acute lymphoblastic leukaemia: four-year survivals old and new. *J Clin Pathol.* 1981;34(3):249-53.
55. Sallan SE, Cammita BM, Cassady JR, Nathan DG, Frei E, 3rd. Intermittent combination chemotherapy with adriamycin for childhood acute lymphoblastic leukemia: clinical results. *Blood.* 1978;51(3):425-33.
56. Bonjean B, Grollet L, Visentin E, Sigaux F, Cayuela JM. [Development of a new strategy for minimal residual disease monitoring in children with B-precursor acute lymphoblastic leukemia]. *Ann Biol Clin (Paris).* 2004;62(4):465-70.
57. Hiddemann W. Handbook of Acute Leukemia Adis. (2016);(1st ed. 2016 éd.).
58. Rose-Inman H, Kuehl D. Acute leukemia. *Hematology/Oncology Clinics.* 2017;31(6):1011-28.
59. Laosai J, Chamnongthai K. Classification of acute leukemia using medical-knowledge-based morphology and CD marker. *Biomedical Signal Processing and Control.* 2018;44:127-37.
60. Sébahoun G, & Troussard, X. . Cytologie et histologie médullaires normales. EMC Hématologie,. (2010);5, 1-8.
61. Turgeon ML. Clinical Hematology : Theory & Procedures, Enhanced Edition : Theory & Procedures. Jones & Bartlett Learning. (2020). Enhanced Edition (6e éd.).
62. Béné MC, Nebe T, Bettelheim P, Buldini B, Bumbea H, Kern W, et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia.* 2011;25(4):567-74.

63. Khan M, Siddiqi R, Naqvi K. An update on classification, genetics, and clinical approach to mixed phenotype acute leukemia (MPAL). *Annals of hematology*. 2018;97(6):945-53.
64. Van Lochem E, Van der Velden V, Wind H, Te Marvelde J, Westerdal N, Van Dongen J. Immunophenotypic differentiation patterns of normal hematopoiesis in human bone marrow: Reference patterns for age-related changes and disease-induced shifts. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*. 2004;60(1):1-13.
65. Kersey JH. Fifty years of studies of the biology and therapy of childhood leukemia. *Blood*. 1997;90(11):4243-51.
66. Hunger SP, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia in children. *New England Journal of Medicine*. 2015;373(16):1541-52.
67. Copelan EA, McGuire EA. The biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults. *Blood*. 1995;85(5):1151-68.
68. Uckun FM, Sensel MG, Sun L, Steinherz PG, Trigg ME, Heerema NA, et al. Biology and treatment of childhood T-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1998;91(3):735-46.
69. Dastugue N. [The interest of standard and molecular cytogenetics for diagnosis of acute leukemia]. *Pathol Biol (Paris)*. 2003;51(6):337-45.
70. Arsham MS, Barch MJ, Lawce HJ. *The AGT cytogenetics laboratory manual*: John Wiley & Sons; 2017.
71. Gorczyca W. *Cytogenetics, FISH and molecular testing in hematologic malignancies*: CRC Press; 2008.
72. Zneimer SM. *Cytogenetic Abnormalities: Chromosomal, FISH, and Microarray-Based Clinical Reporting and Interpretation of Result*: John Wiley & Sons; 2014.
73. FCR. H. Leucémies aiguës de l'adulte. *EMC - Traité de Médecine Akos*. juillet 2012;7.
74. J. R. Passweg Y. Chalandon TM, P. Beris. Les leucémies aiguës. *oncologie pour le praticien*. *Rev Med Suisse*. 2008; 4 : 1272-8.
75. Röllig C, & Ossenkoppele, G. J. . *Acute Myeloid Leukemia (Hematologic Malignancies)*. Springer. (2021); 1st ed. 2021 (éd).
76. Sanz MA, Grimwade, D., Tallman, M. S., Lowenberg, B., Fenaux, P., Estey, E. H., ... & Lo-Coco, F. . Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, . (2009).113(9), 1875-1891.

77. Lee EJ, Petroni GR, Schiffer CA, Freter CE, Johnson JL, Barcos M, et al. Brief-duration high-intensity chemotherapy for patients with small noncleaved-cell lymphoma or FAB L3 acute lymphocytic leukemia: results of cancer and leukemia group B study 9251. *J Clin Oncol.* 2001;19(20):4014-22.
78. Thomas DA, Cortes J, O'Brien S, Pierce S, Faderl S, Albitar M, et al. Hyper-CVAD program in Burkitt's-type adult acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 1999;17(8):2461-70.
79. Thomas DA, Faderl S, O'Brien S, Bueso-Ramos C, Cortes J, Garcia-Manero G, et al. Chemoimmunotherapy with hyper-CVAD plus rituximab for the treatment of adult Burkitt and Burkitt-type lymphoma or acute lymphoblastic leukemia. *Cancer.* 2006;106(7):1569-80.
80. de Labarthe A, Rousselot P, Huguet-Rigal F, Delabesse E, Witz F, Maury S, et al. Imatinib combined with induction or consolidation chemotherapy in patients with de novo Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: results of the GRAAPH-2003 study. *Blood.* 2007;109(4):1408-13.
81. Ottmann O, Dombret H, Martinelli G, Simonsson B, Guilhot F, Larson RA, et al. Dasatinib induces rapid hematologic and cytogenetic responses in adult patients with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia with resistance or intolerance to imatinib: interim results of a phase 2 study. *Blood.* 2007;110(7):2309-15.
82. Wassmann B, Pfeifer H, Goekbuget N, Beelen DW, Beck J, Stelljes M, et al. Alternating versus concurrent schedules of imatinib and chemotherapy as front-line therapy for Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL). *Blood.* 2006;108(5):1469-77.
83. Advani AS, & Lazarus, H. M. . . Adult Acute Lymphocytic Leukemia : Biology and Treatment (Contemporary Hematology) (Softcover reprint of the original 1st ed 2011 éd) Humana. (2016).
84. Braham-Jmili N, Sendi-Senana H, Khelif A, Saad A. Leucémies aiguës myéloïdes en Tunisie: caractéristiques épidémiologiques et cliniques et classification OMS. *Journal africain du cancer/African Journal of Cancer.* 2010;2(1):25-32.
85. Nirina MH, Rakotoarivelo Z, Ntoezara A, Rasolonjatovo A, RakotoAlson A, Rasamindrakotroka A. Épidémiologie et diagnostic des leucémies aiguës à l'hôpital Ravoahangy Andrianavalona Antananarivo Madagascar. *Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer.* 2015;7(4):186-9.
86. Nafil H, Tazi I, Faez S, Benchemsi N. Profil cytologique des leucémies aiguës à Casablanca. *Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer.* 2012;4(2):79-83.

87. KHATTAR M. Profil épidémiologique et cytologique des leucémies aiguës chez l'enfant: Etude rétrospective (Juin 2012-Mai 2014) effectuée au Laboratoire Central d'Hématologie IBN SINA Rabat 2014.

# **ANNEXE**

# Annexes I

## Pronostic des anomalies cytogénétique : LAM :

**Tableau I** : Classification cytogénétique pronostique des LAM selon les critères du MRC

Facteur de pronostique	Anomalies chromosomiques
<b>Favorable*</b>	t(15;17)(q24;q21); PML-RARA
	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1
	inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13q22); CBFB-MYH11
<b>intermediaire</b>	Toutes les entités non classées comme favorable ou défavorable
	t(9;11)(p22;q23); KMT2A-MLLT3 (MLL-AF9)
	t(11;19)(q23;p13)
<b>défavorable**</b>	anomalie 3q [sauf t(3;5)(q21~25;q31~35)]
	inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21q26); RPN1-MECOM (EV11)
	add(5q), del(5q), -5
	-7, add(7q)/del(7q)
	t(6;11)(q27;q23); KMT2A-MLLT4 (MLL-AF6)
	t(10;11)(p11~p13;q13~q23);KMT2A- MLLT10 (MLL-AF10)
	t(11q23)/MLL [sauf t(9;11)(p21~22;q23) et t(11;19)(q23;p13)]
	t(9;22)(q34;q11); BCR-ABL 1
	-17/anomalie 17p
Caryotype complexe (≥ 4 anomalies indépendantes)	
* Indépendamment de la présence d'anomalie cytogénétique additionnelle ;	
** Excluant tous les cas avec anomalies de risque favorable.	

**Tableau II:** valeur pronostique des anomalies cytogénétiques LAM pédiatriques

Facteur de pronostique	Anomalies chromosomiques
<b>Favorable*</b>	t(15;17)(q24;q21); PML-RARA
	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1
	inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13q22); CBFβ-MYH11
	t(1;11)(q21;q23);KMT2A-MLLT1(MLL-AF1Q)
<b>intermediaire</b>	Toutes les entités non classées comme favorable ou défavorable
<b>défavorable**</b>	inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21;q26) ;RPN1-MECOM (EVI1)
	del(5q), -5
	-7
	t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214 (CAN)
	t(10;11)(p11-p13;q13-q23);KMT2A- MLLT10 (MLL-AF10)
	t(4;11)(q21;q23); KMT2A-MLLT2 (MLL-AF4)
	t(6;11)(q27;q23); KMT2A-MLLT4 (MLL-AF6)
	t(10;11)(p12;q23); KMT2A-MLLT10 (MLL-AF10)
	t(5;11)(q35;p13); NUP98-NSD1
	t(7;12)(q36;p13); ETV6(TEL)-HLXB9(MNX1)
	t(9;22)(q34;q11); BCR-ABL1
Caryotype complexe (≥ 3 anomalies indépendantes)	
<p>* Indépendamment de la présence d'anomalie cytogénétique additionnelle ;  ** Excluant tous les cas avec translocations ou inversions récurrentes de la classification OMS.</p>	

**Tableau III : valeur pronostique des anomalies cytogénétiques dans les LAL**

Pronostic relatif actuel	Gènes, transcrits (ancien nom, localisation)	Groupe d'âge (fréquence)	Caractéristiques cliniques et biologiques
<b>Favorable</b> t(10;14)(q24;q11) et t(7;10)(q34;q24)	<i>TCR A/D (14q11)</i> ou <i>TCRB (7q34)</i> et <i>TLX1 (HOX11, 10q24)</i>	Enfant (7 %)/adulte (20 %)	LAL-T matures, association amp <i>ABL1</i>
<b>Intermédiaire</b> t(v;14q11) et t(7q34;v) en dehors de 10q24 ( <i>TLX1</i> ) et 8q24 ( <i>MYC</i> ) t(5;14)(q35;q32)**	<i>TCR A/D (14q11)</i> ou <i>TCRB (7q34)</i> avec un autre gène <i>TLX3 (HOX11L2,5q35)</i> et <i>BCL11B(14q32)</i>	Enfant (13 %)/adulte (15 %) Enfant (24 %)/adulte (13 %)	Association amp <i>ABL1</i>
del(1)(p32p32) Amplification (amp) <i>ABL1</i> **	<i>STIL (SIL)-TAL1 (1p32)</i> <i>NUP214(CAN)-ABL1(9q34)</i>	Enfant (30 %)/adulte (10 %) Enfant (8 %)/adulte (8 %)	Fréquence diminue avec l'âge Anomalie secondaire à <i>TLX1</i> ou <i>TLX3</i> ; sensibilité aux ITK
t(11;19)(q23;p13.3) et t(6;11)(q27;q23)	<i>KMT2A (MLL,11q23)-MLLT1 (ENL,19p13)</i> <i>KMT2A (MLL,11q23)-MLLT4 (AF6,6q27)</i>	Enfant (10 %)/adulte (3 %)	
<b>Défavorable</b> Caryotype complexe	Au moins 5 anomalies chromosomiques non caractérisées	Adulte (7 %)	
t(10;11)(p12;q14)	<i>PICALM(CALM,11q14)-MLLT10 (AF10, 10p12)</i>	Enfant (6 %)/adulte (10 %)	LAL-T immatures
t(5;14)(q35;q32)** avec amp <i>ABL1</i> **	<i>TLX3 (HOX11L2,5q35)</i> et <i>BCL11B(14q32)</i> avec <i>NUP214(CAN)-ABL1(9q34)</i>	Enfant (5 %)/adulte (3 %)	
Délétion 17p t(v;8q24)	<i>TP53(17p13)</i> Réarrangement <i>MYC (8q24)</i>	Adulte (3 %) Enfant (6 %)/adulte (6 %)	Anomalie secondaire Anomalie primaire ou secondaire ; trisomies 6 ou 7; mutations <i>PTEN</i>

## Annexes II

- **La cryométrie en flux**

### **1.Définition du cymomètre Attune NxT**

Le cytomètre en flux Attune NxT est un analyseur de cellules de paillasse compact qui peut être configuré avec jusqu'à 4 lasers séparés dans l'espace pour concevoir, il peut exécuter et analyser de manière flexible des panneaux multicolores jusqu'à 14 couleurs. Il aide beaucoup à réduire le temps de travail dans la préparation et le traitement des cellules, même pour les grandes cellules gênantes et les masses tissulaires dissociées.

Des taux de débit d'échantillonnage jusqu'à 10 fois plus rapides que les systèmes traditionnels sont réalisés par le système sans compromettre l'intégrité des données, même aux réglages les plus élevés de 1 000  $\mu\text{L}/\text{min}$  , il peut capter jusqu'à 65,000 événements par seconde avec d'autres fonctionnalités automatiser qui vont faciliter la tâche de l'utilisateur.

Il comporte une résolution de diffusion vers l'avant et latérale optimisée pour résoudre les lymphocytes, les monocytes et les granulocytes dans l'ensemble lysé avec un détecteur de fluorescence qui peut détecter jusqu'à 14 émissions fluorescentes .

Un laser d'excitation optimisée pour minimiser le bruit parasite de la ligne laser et les pertes par réflexion avec un profil laser plat 10 m x 50  $\mu\text{m}$  conçu pour un alignement robuste .



- Interface logicielle intuitive :

#### 4. Mise en marche du cymomètre :

##### - Procédure de démarrage:

- Vérifier les niveaux de liquide et de déchets :

1. La vérification des niveaux dans les recevoir a liquide .
2. Remplir les conteneurs de liquide de focalisation, de solution de lavage et de solution d'arrêt



- Lancer le logiciel et se connecter
- Exécuter la fonction de démarrage :

(dans l'onglet du ruban Instrument ou dans le panneau Collection.)

- **Suivi des performances :**

- 1. Le suivi des performances est un ensemble complet de procédures permettant de surveiller les performances du cytomètre au quotidien .



- Le processus de suivi des performances implique :

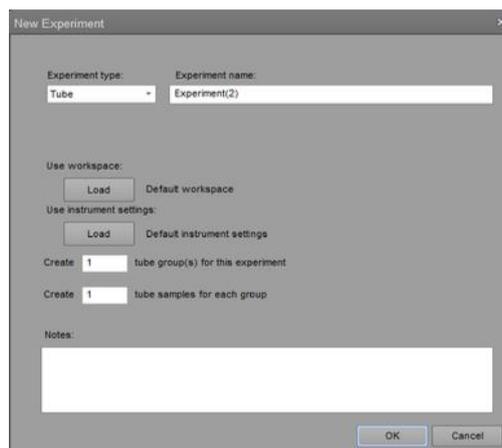
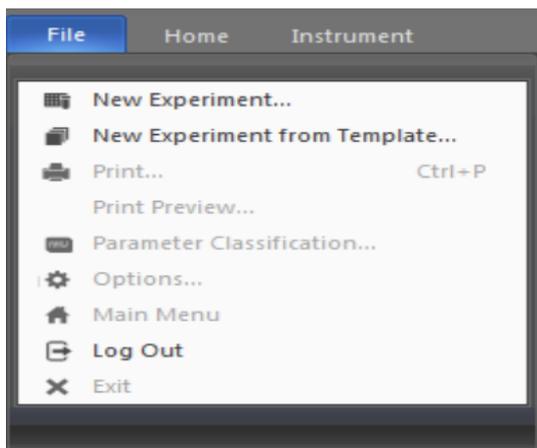
Établissement de l'état de référence initial du cytomètre en exécutant les billes de suivi des performances Attune™

- Exécuter le même ensemble de particules de billes de suivi des performances pour effectuer le test de performance
- Suivi des évolutions du coefficient de variation et des évolutions des tensions PMT
- Suivi de la linéarité du cytomètre
- Évaluation de l'efficacité quantique du détecteur (Q) et du fond optique (B).

**Lancement de l'expérimentation :**

**création d'une expérience :**

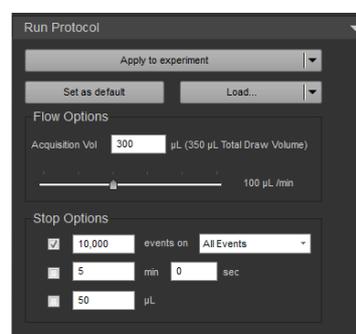
On clique sur File ensuite New Experiment, une autre fenêtre vas s'ouvrir pour pouvoir entrer les spécificités de l'expérience, comme le nombre de tube, le nom de l'expérience .



- **Paramétrer le cyrtomètre :**

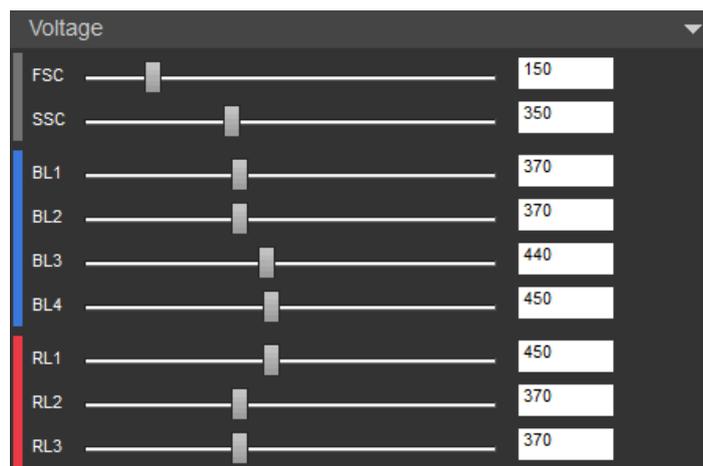
### Ajustement du débit :

Dans l'onglet Panneau de collection, on peut entrer le volume d'acquisition, pour définir le débit d'acquisition.



### Ajustement du voltage :

ajustez la tension FSC, SSC sur le panneau de commande pour placer la population sur l'échelle (histogramme) soit en ajustant le curseur soit en saisissant une valeur numérique spécifique ajustement du voltage. Ajustement du seuil :

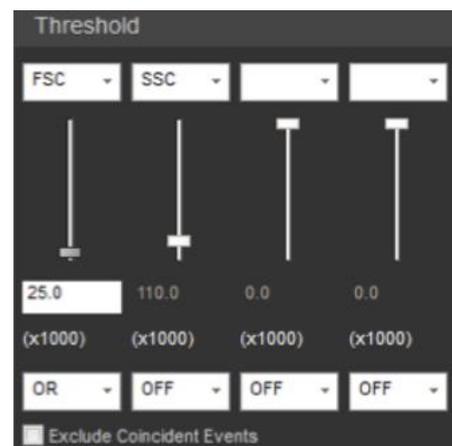


## Ajustement du seuil :

L'ajustement du seuil se fait aussi sur le panneau de commande de l'instrument pour supprimer les événements indésirables et l'arrière-plan.

D'autres réglages peuvent se faire comme :

l'ajustement de la grille de dispersion sur la population d'intérêt afin que les histogrammes de fluorescence reflètent la population pour laquelle vous optimisez vos tensions.



Et l'ajustement des canaux de fluorescence pour placer votre échantillon non étiqueté dans la zone appropriée de la parcelle (généralement autour de 103 pour le contrôle le non coloré).

## Compensation :

Les fluorophores émettent de la lumière sur une gamme de longueurs d'onde.

Bien que les filtres optiques limitent la gamme de fréquences mesurées par un détecteur donné, lorsque deux ou plusieurs fluorophores sont utilisés dans une expérience, il y a souvent un chevauchement entre les gammes de longueurs d'onde.

La compensation est la méthode mathématique utilisée pour corriger le chevauchement de l'émission d'un fluorophore dans le canal d'émission d'un autre fluorophore.

Le logiciel Attune™ NxT calcule automatiquement et rapidement les paramètres de compensation tout en vous guidant tout au long du processus.

## 5. Présentation des résultats :

Le cytomètre présente les résultats après acquisition sous forme :

- D'histogrammes
- d'histogrammes dot plot
- Density plot

## Annexes III

### . Réactifs utilisé dans la cytogénétique :

- PBmax
- colchicine 0.4 ug/ml (dans du PBS)
- kcl 5,6gr/l eau distillée
- Carnoy (3 volumes éthanol absolu+ 1v acide acétique glacial)
- solution EARLE:
- NaCl 68gr
- KCl 4gr
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  1,4gr
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2gr
- Glucose 10gr
- $\text{CaCl}_2$  2gr
- le tout dans 2litres d' $\text{H}_2\text{O}$
- giemsa 5% 5ml dans 95 Eau minérale

Année universitaire : 2020 - 2021	Présenté par : <b>BENLETRECHE Mehdi Rami et DJERAFI Kawther Hidaya</b>
<b>Leucémies aiguës dans l'Est algérien : profil épidémiologique et limites des méthodes de diagnostic</b>	
<b>Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Immunologie Moléculaire et Cellulaire</b>	
<p>Les leucémies aiguës sont des troubles mettant en jeu le pronostic vital et nécessitent un bilan diagnostique rapide et précis pour sélectionner l'approche thérapeutique la plus appropriée. Notre objectif était d'étudier les caractéristiques épidémiologiques, cytologiques, immunophénotypiques et cytogénétiques des leucémies aiguës ainsi que les méthodes utilisées dans le diagnostic de ces hémopathies malignes en Algérie et leurs limites.</p> <p>Nous avons mené une étude épidémiologique descriptive rétrospective sur 399 cas diagnostiqués entre 2016 et 2021 au service d'Hématologie du CHU de Constantine, une étude prospective cytologique et immunologique au service d'hémobiologie de l'Hôpital Militaire Régional de Constantine et une étude cytogénétique au Centre de Recherche en Biotechnologies de Constantine.</p> <p>Les résultats de l'étude épidémiologique montrent que l'âge moyen de la population d'étude est de 35,75 ans avec une prédominance des LAM ( 61,17%) touchant beaucoup plus les adultes alors que les LAL sont fréquentes chez les enfants avec une prédominance masculine dans les deux types, les LAM les plus fréquentes sont les LAM myéloblastiques avec ou sans maturation (37,94%) et les LAM monoblastiques (34,38%), dans les LAL, la LAL-B (71,42%) est nettement plus fréquente que la LAL-T(28,57%). La répartition des signes cliniques a concerné 83 malades, ces derniers avaient une asthénie (87,95%), la fièvre (75,91%), l'anémie (91,56%), des hémorragies (48,19%) et des infiltrats tissulaires (33,74%). 60 malades ont fait des tests cytogénétiques, la majorité n'avait aucune anomalie (33,3%), l'altération chromosomique fréquente était la translocation t(15.17) (28,3%) avec des pronostics intermédiaire et défavorable respectivement. L'étude cytogénétique prospective a concerné seulement 4 malades, les résultats montrent la perte d'un chromosome 7 chez un patient âgé de 19 ans, pour les autres malades les résultats restent à approuver. L'étude prospective immunologique a montré une discordance significative entre la cytologie et l'immunophénotypage pour les LAM contrairement aux LAL.</p> <p>Ce cadre d'étude indique que l'immunophénotypage est indispensable pour une identification plus précise du type de LAM permettant un bon diagnostic et une meilleure prise en charge.</p>	
<b>Mots-clefs :</b> LAM, cytologie, immunophénotypage, cytogénétique.	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université des Frères Mentouri, Constantine 1).	
<b>Président :</b> ELOUAR Ibtissem-MC-A- Université des Frères Mentouri, Constantine 1. <b>Rapporteur :</b> HADDAD Souâd -MA-A - Université des Frères Mentouri, Constantine 1. <b>Co-rapporteur :</b> ZOUITENE Raouf- MA-Faculté de médecine. Constantine 3. <b>Examineur :</b> BENLETRECHE Moufida-MA-A - Université des Frères Mentouri, Constantine 1.	