

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCES DE LA NATURE
ET DE LA VIE

Spécialité :
BIOSIGNALISATION CELLULAIRE ET MOLECULAIRE,
IMMUNOLOGIE

THEME

**RECHERCHE DE LA LEUCEMIE AIGUE CHEZ LES
ENFANTS AU NIVEAU DU SERVICE DE CYTOLOGIE**

Présenté par

M^{me}CHAREF Fella

Soutenue le 26 /12/2013

Devant le jury composé de :

M^{me} CHAKHMA A.	MAA	USDB	Présidente
M^{me}MAKHLOUF C.	MAB	USDB	Examinatrice
M^r BOUKRANSI H.	MAA	USDB	Examinateur
M^{me} SAADI L.	MCB	USDB	Promotrice

Promotion 2012-2013

LISTE DES ABREVIATIONS

Abreviation	Signification
ADN	Acide Desoxy-ribo Nucléique
AREB	Anémie Réfractaire avec Excès de Blastos
CD	cluster of differentiation
CHU	Centre hospitalo-universitaire
FAB	Classification Franco-américano-britannique
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétracétique
Gr	Grossissement
LA	leucémie aiguë
LAL	leucémie aiguë lymphoblastique
LAM	Leucémie Aiguë Myéloïde
MGG	May Grünwald et Giemsa
MPO	Myéloperoxydase
NFS	numération formule sanguine
OMS	Organisation Mondiale de la Santé

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....	3
I-1-GENERALITES SUR LES LEUCEMIES.....	3
I-1-1- Types de leucémies	
I-1-1-1- Leucémies aigües	
I-1-1-2- Leucémies chroniques	4
I-1-2-Facteurs de risques.....	5
I-1-3-Leucémogénèse.....	5
I-2-Explorations paracliniques des leucémies.....	6
I-2-1-Hémogramme.....	6
I-2-2-Myélogramme.....	6
I-2-3-Biopsie ostéomédullaire.....	7
I-2-4-Immunophénotypage.....	7
I-2-5-Cytogénétique.....	7
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	
II.1. MATERIEL.....	8
II.1.1 Matériel biologique	8
II.2. METHODES.....	8
II.2.1. prélèvement des échantillons	8
II.2.2. Détermination de la formule de numération sanguine.....	9
II.2.3.Myélogramme.....	9

II.2.4.Cytochimie.....	10
II.2.5. Analyse statistique.....	11
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1 RESULTATS	12
III.2. DISCUSSION.....	21
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	24
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	27
ANNEXES	
Annexe 1.....	33
Annexe 2.....	35
Annexe 3.....	37

INTRODUCTION

La leucémie aiguë est une pathologie maligne, plus fréquente chez les enfants et représente 30 à 35% des cas du cancer pédiatrique(Liesner et *al.*,1997 ;Kebriaei,2002). Cette hémopathie est caractérisée par une prolifération monoclonale intra-médullaire de cellules hématopoïétiques anormales dont le processus de maturation est bloqué au stade de blaste(Mauvieux *etal.*,2006 ;Kalifa,2008; Lacour et *al.*,2004 ;Hanahan et Weinberg,2000).Il en résulte une accumulation de ces blastes dans la moelle, dans le sang et éventuellement dans d'autres organes(Jean-Marie et *al.*,1997 ; Didier,2009).Par conséquent, l'installation d'un déficit de production des cellules matures, d'où l'anémie, d'une neutropénie et d'une thrombopénie(Haferlach et *al.*,2005 ; Lee et Pierre, 2013).

Le diagnostic et le pronostic de la leucémie reposent sur l'examen morphologique des cellules du sang et de la moelle osseuse au microscope photonique, la cytochimie, la présentation clinique, l'immunophénotypisation des blastes par cytométrie de flux, la cytogénétique et la recherche de Certains marqueurs moléculaires.(Sébahoun,2006 ; Atul etVictor,2003 ; Rouquette,2002)

Les travaux biologiques effectués sur les leucémies aiguës, notamment en génétique moléculaire, ont permis ces dernières années de faire d'importants progrès dans la compréhension de la leucémogénèse (Kalifa,2008) dont le traitement repose sur la poly chimiothérapie et la greffe de cellules souches hématopoïétiques(Fohrer-Sonntag et Lioure, 2012 ; Lee et Pierre, 2013).

Les travaux, menés au niveau de notre laboratoire, réalisés sur des enfants leucémiques suggèrent l'intérêt de la coloration cytochimique dans le diagnostic différentiel des leucémies aiguës afin de prescrire les moyennes thérapeutiques idéal le plutôt possible pour atteindre un pourcentage élevé de rémission complète et donc aboutit à la guérison. Pour acquérir notre objectif, le présent travail vise à rechercher les types de leucémies aiguës à travers l'étude des myélogrammes complétés par des examens cytochimiques.

Après une introduction, nous rapportons dans ce travail des rappels sur les leucémies synthétisés dans un premier chapitre. Nous exposons le matériel et les différentes techniques utilisées dans le deuxième chapitre. L'ensemble des résultats obtenus sont rapportés et discutés dans le troisième chapitre suivis par une conclusion et perspectives.

CHAPITRE I

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

L'objectif de notre étude est d'aider à préciser la lignée d'appartenance des blastes (lymphoïdes /myéloïdes) en montrant la présence ou l'absence d'activité enzymatique caractéristique par la coloration cytochimique. Cette étude est réalisée au niveau des laboratoires de cytologie et d'anatomopathologie de CHU-Hussein Dey-Alger sur une période étalée du mois de février au mois de juin 2013.

II.1 MATERIEL

II.1 .1Matériel biologique

Notre travail a porté sur 22 patients âgés entre 12mois et 16 ans atteints de leucémie aigüe. Ces cas sont recensés à partir d'un fichier informatisé du laboratoire de biologie médicale du CHU et de la base de données internes du laboratoire de cytologie comportant les myélogrammes pour lesquels un diagnostic de leucémie aiguë est porté. Chaque fiche standardisée rassemble des renseignements sur le diagnostic, les antécédents du malade et son devenir (annexe 3).

II.2. METHODES

II.2.1.prélèvement des échantillons

Après avoir rempli les fiches standard des patients, nous recueillons le sang artérioveineux prélevé dans des tubes contenant 10% de l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA), destiné à la détermination de la formule numérique sanguine (FNS). D'autre part nous récupérons le sang d'une ponction à l'os iliaque et nous réalisons un frottis afin d'établir le myélogramme.

II.2.2.Détermination de la formule de numération sanguine

Cette étape est réalisée au niveau du laboratoire de biologie médicale. Nous avons collecté les résultats qui déterminent les types d'anémies.

a- Principe

L'hémogramme est le premier examen biologique utilisé pour dépister, explorer et suivre la plupart des hémopathies. Il est réalisé à partir d'un échantillon de sang prélevé par ponction veineuse et recueilli dans un tube contenant un anticoagulant sec contenant 10% de l'acide éthylène diamine tétra-acétique. La détermination quantitative des éléments figurés du sang est réalisée par cytométrie en flux utilisé sur un automate d'hématologie de type sysmex-3000. La fraction du faisceau lumineux qui dévie ses éléments permet de les quantifier.

b- Quantification des éléments figurés

Le tube contenant du sang frais mélangé à l'EDTA est mis au dessous de l'aiguille d'absorption de façon qu'elle y soit plongée. L'opération d'absorption peut prendre quelques secondes. Cet examen permet aussi la détermination du nombre des réticulocytes et de blastes circulants.

c- Lecture

Le résultat est obtenu directement par l'automate précisant la quantification de chaque élément.

II.2.3.Myélogramme

Le myélogramme ou l'examen cytologique de la moelle osseuse est l'étude d'un frottis de cellules de la moelle obtenues par ponction de la crête iliaque à l'aide d'un trocart (un prélèvement par ponction dans un os). Cette ponction se déroule sous anesthésie locale par un médecin spécialiste.

Une petite quantité de moelle osseuse est aspirée dans une seringue (Trocard de Mallarmé) et elle est tout de suite envoyée au laboratoire d'analyse.

Nous récupérons le sang de la ponction, dans lequel se trouvent des amas de cellules de moelle. Nous les étalons sur des lames d'observation puis nous les colorons afin de pouvoir identifier au microscope les différentes cellules qui y figurent après coloration. Le but de la coloration est de visualiser les diverses composants cellulaires.

Dans notre étude nous avons appliqué deux types de coloration :

-May Grünwald et Giemsa (mélange éosine, bleu de méthylène et azur) : Les frottis de moelle préalablement séchés à l'air, sont recouverts de May Grünwald non dilué pendant trois minutes. Ce colorant est en même temps fixateur. Nous ajoutons de l'eau tamponnée (pH environ 7,2) sur les frottis sans verser le MayGrünwald et nous le laissons agir pendant une minute. Ensuite les lames sont égouttées puis elles sont recouvertes de Giemsa préparé à 10% pendant 15 minutes. Au bout de ce temps les lames sont lavées à l'eau puis séchées à l'air.

La lecture des frottis de moelle comporte un examen microscopique qui permet d'estimer la richesse globale en cellules et la richesse en mégacaryocytes en amas cellulaires anormaux et de cellules anormales de grande taille.

Pour chaque patient, trois lectures indépendantes des frottis de moelle sont assurées.

II.2.4.Cytochimie

Après la réalisation du myélogramme, il faut nécessairement recourir à des techniques de colorations spécialisées telle que la cytochimie ; qui consiste à colorer, grâce à leurs propriétés chimiques particulières des structures de la cellule spécifique d'une lignée. Cette coloration repose sur des réactions colorées visualisables au microscope optique.

Dans notre étude nous avons utilisé la réaction des myéloperoxydases (ou du noir soudan B) afin d'établir le diagnostic différentiel des leucémies aiguës (annexe 1). La réaction est positive lorsqu'il ya au moins 3% de cellules qui contiennent des granulations marron (la transformation d'un sel de benzidine en un composé brun) aux endroits où se trouve la peroxydase qui traduise la présence de la myéloperoxydase dans les granulations.

La cytochimie a permis de réaliser l'étude morphologique et de classer les leucémies aigues selon la classification FAB.

II.2.5. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de pourcentages.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS

Notre étude a inventorié 22 enfants atteints des leucémies aiguës diagnostiquées et confirmées par le myélogramme au CHU-Hussein Dey-Alger, dont l'âge y compris entre 12 mois et 16 ans.

III.1.1. Fréquences des leucémies aiguës chez les patients selon plusieurs paramètres

Les résultats de notre étude ont permis de constater que les leucémies aiguës (LA) représentent 20% des hémopathies malignes (80%) (Tableau de l'annexe 2 et figure 2.).

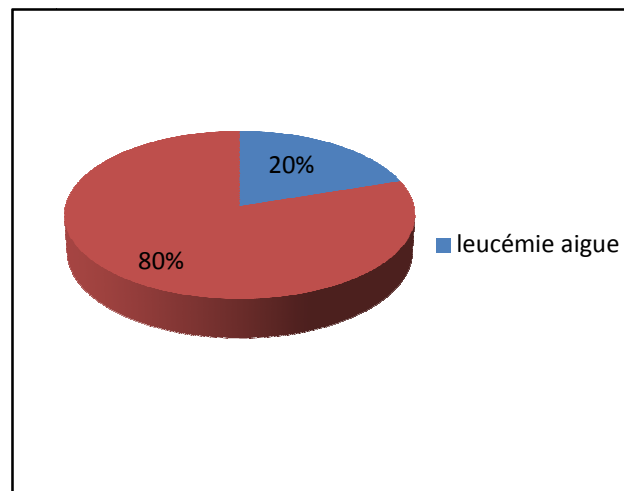


Figure 2 : Fréquence de la leucémie aiguë chez les patients étudiés.

D'après le type d'anémie, nous enregistrons 4% des cas leucémiques ont une anémie hypochrome microcytaire arégénérative ; tandis que 96% des cas présentent une anémie normochrome normocytaire arégénérative identifiant la présence de la leucémie aiguë.

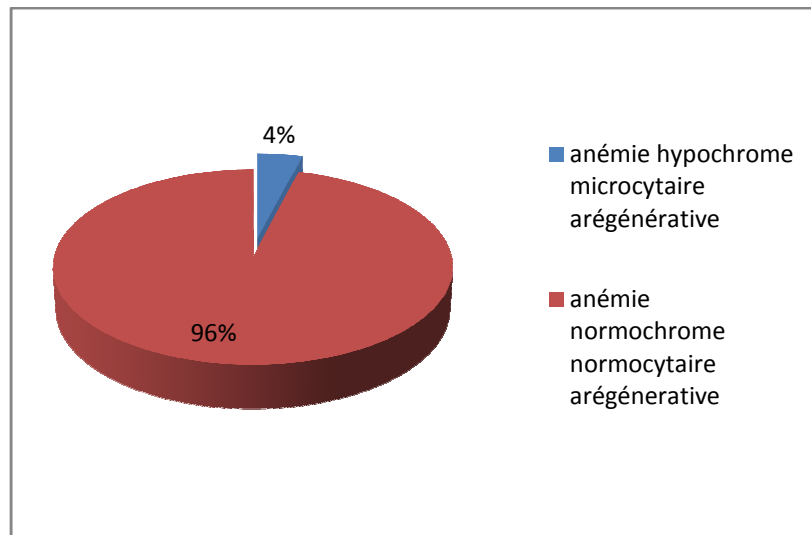


Figure 3 : Répartition des patients en fonction de type d'anémie.

La répartition des cas **selon leur sexe** donne les résultats présentés dans le tableau II de l'annexe 2 et figure 4. D'après ces résultats, nous notons une prédominance masculine pour la totalité des cas de LA. En effet, 13 patients sont des enfants de sexe masculin et 9 de sexe féminin soit respectivement 59% et 41% des cas, avec un sexe ratio(H/F) de 1,4.

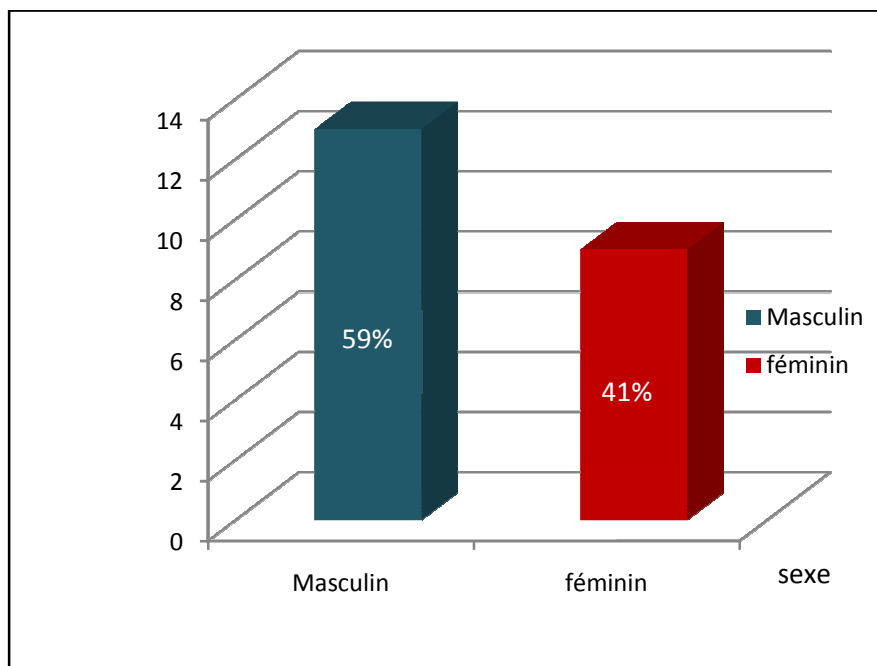


Figure 4 : Répartition des cas leucémique en fonction de sexe.

Dans notre série, l'âge a varié entre 12mois et 16 ans avec une moyenne de 6ans. La répartition des enfants leucémiques selon la tranche d'âge montre que :

- L'incidence la plus élevée s'observe entre 0 et 3 ans avec 9 cas observés soit 41%,
- suivie par la tranche d'âge comprise entre 4 et 7 ans avec 6cas soit 27%.

A partir de l'âge de 8 ans, l'incidence diminue selon une allure exponentielle comme suit :

- 4 patients avaient un âge compris entre 8et11 ans soit 18%.

- 2 patients avaient un âge compris entre 12et15 ans soit 9%.

- Cependant, il faut noter que la tranche d'âge la moins représentée est comprise entre 16 et 19 ans avec 1seul cas soit 5%(tableau III de l'annexe 2 et la figure 5).

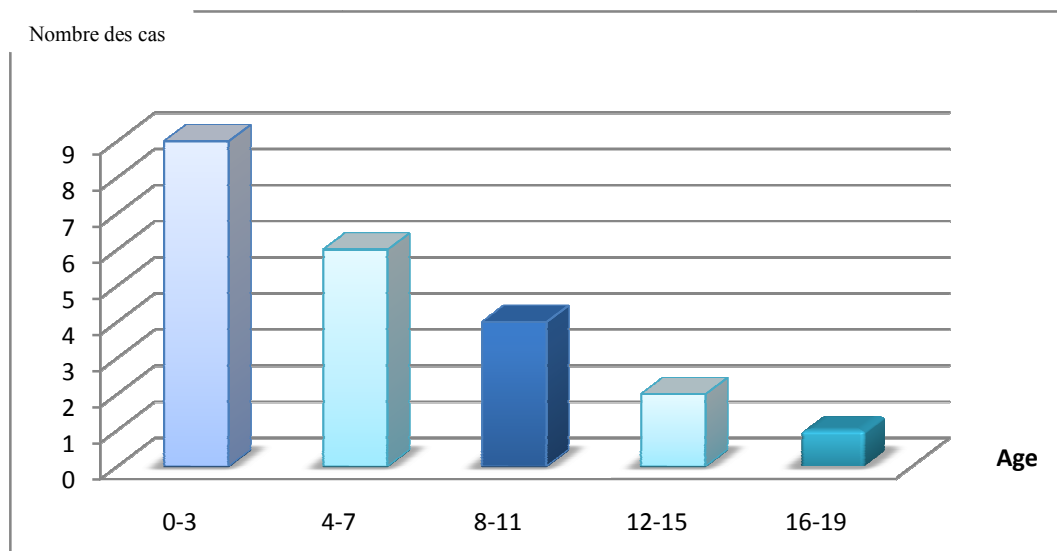


Figure 5 : Répartition des cas leucémiques en fonction de la tranche d'âge.

Notre série (Tableau IV de l'annexe 2 et la figure 6), montre que les cas de leucémies aiguës se répartissent **selon la lignée d'origine des blastes**. Nous notons 19 cas (86 %) de leucémie aiguë lymphoblastique qui est plus fréquente chez les enfants de moins de 16 ans par rapport à la leucémie aiguë myéloïde présentée par 3 cas (14%) seulement chez les enfants de plus de 15ans.

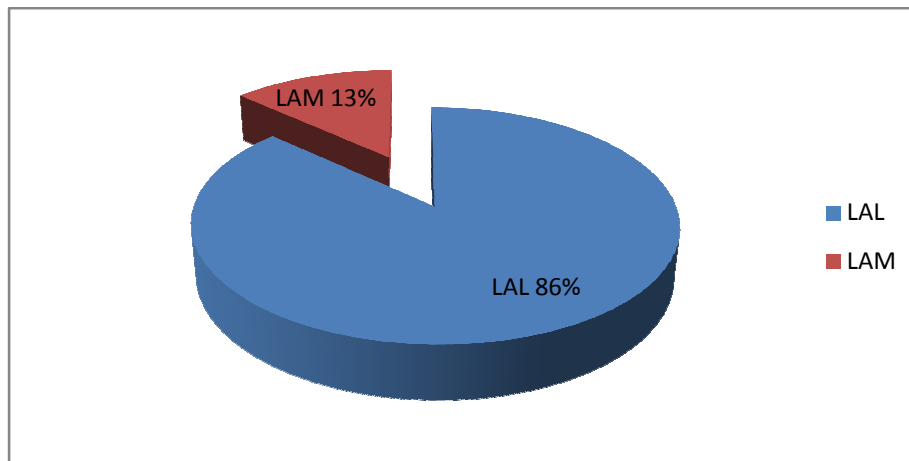


Figure 6 : Répartition des cas selon le type de leucémie aiguë.

LAL : leucémie aiguë lymphoblastique ; LAM : Leucémie aiguë myéloblastique

La distribution des LAL décrit un pic maximum vers l'âge de 2-3 ans, plus marqué chez les garçons que chez les filles .(tableau V de l'annexe 2 et la figure7).

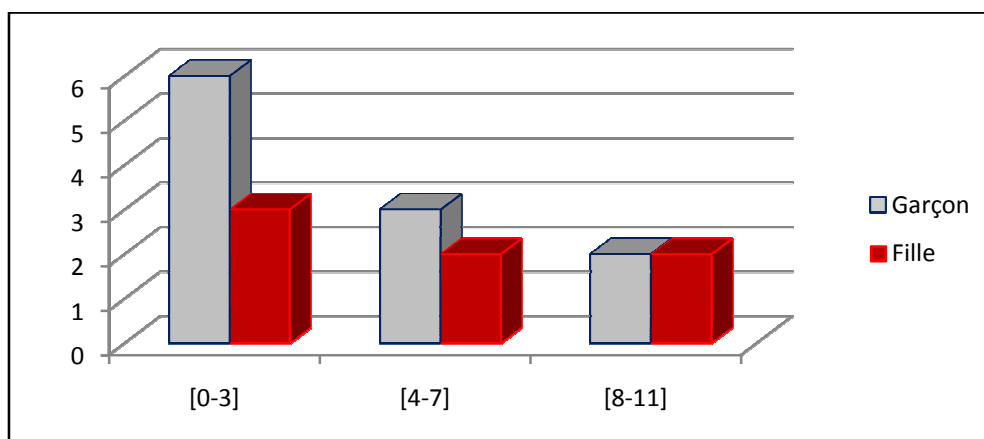


Figure 7 : Répartition des LAL chez les enfants leucémiques

Selon le myélogramme, les leucémies aiguës lymphoblastiques sont présentées par plusieurs formes dont la leucémie aiguë lymphoblastique classe I est la plus représentée avec 10 cas soit 45%, suivie par la leucémie aiguë lymphoblastique classe II avec 7 cas soit 32%, et la leucémie aiguë lymphoblastique classe III avec 2 cas soit 9%. Les leucémies aiguës myéloïdes 2 sont représentées par 2 cas soit 9%, suivies par les leucémies aiguës myéloïdes 1 avec un seul cas soit 5%(tableau VI de l'annexe 2 et la figure8).

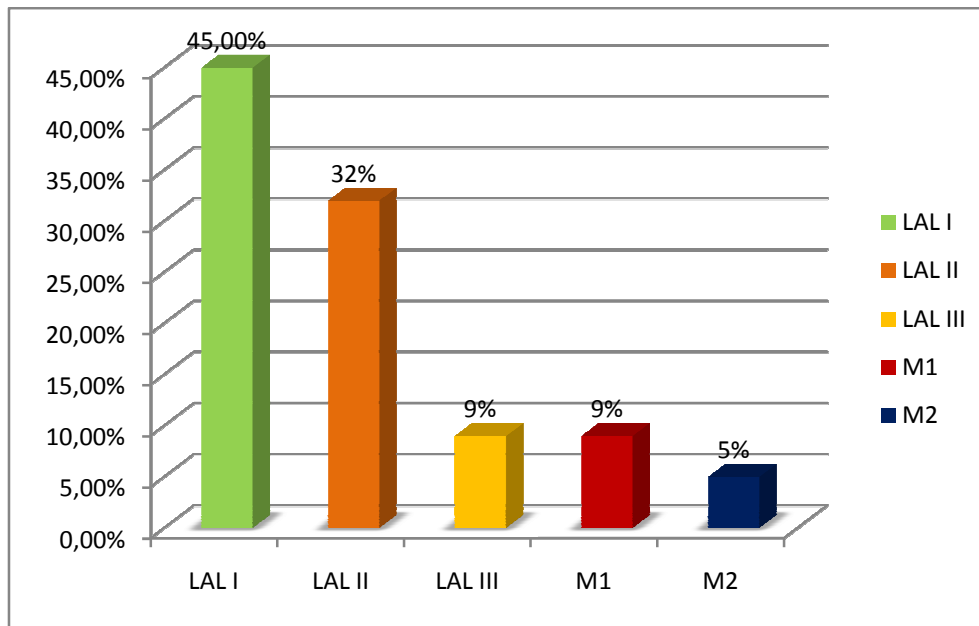
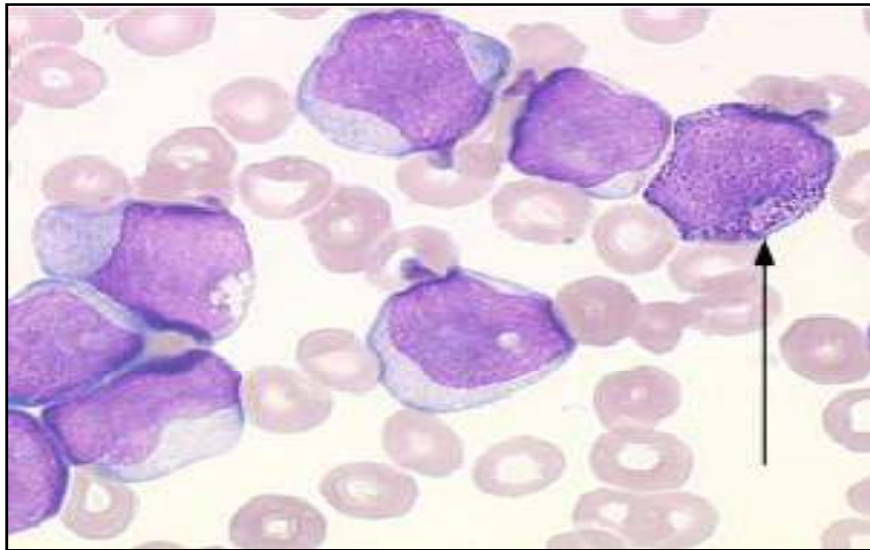


Figure 8: Répartition des patients en fonction des résultats du myélogramme.

III.1.2. Etude histopathologique

Le myélogramme, établi par ponction de la moelle, permet une étude cytologique de l'infiltration blastique et la classification morphologique de la leucémie. Pour ce faire la coloration de base est le May-Grundwald-Giemsa (MGG), avec l'aide de colorations cytochimiques (myéloperoxydases). La moelle ainsi étudiée permet la classification morphologique. Les caractéristiques du cytoplasme (couleur, présence ou non de grains, inclusions, vacuoles) permettent de définir le type cytologique de la leucémie aiguë.

III.1.2.1. Leucémie aiguë myéloblastique très peu différenciée

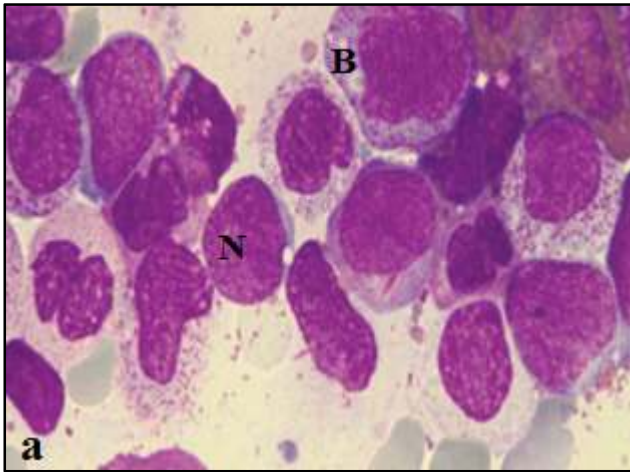


Flèche : Granulations

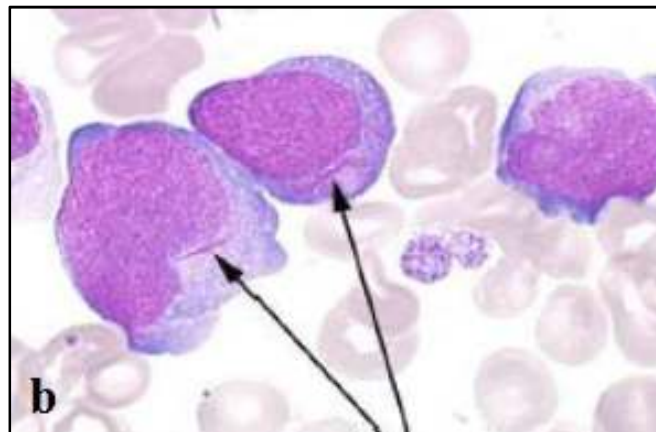
Figure 9 : Myélogramme d'un garçon de 14 ans. Coloration : myéloperoxidase / noir
Soudan B. Gr $\times 100$

Cet examen microscopique révèle une leucémie aiguë myéloblastique très peu différenciée ou de type 1 selon la classification FAB. Les blastes sont des cellules globuleuses avec une membrane périphérique bien marquée. Ces cellules sont basophiles. Leur cytoplasme réduit prend la couleur bleu. Le noyau est volumineux et un contour irrégulier. La plupart des blastes sont dépourvus de grains. Un seul blaste contient de très nombreuses granulations ; qui recouvrent totalement le noyau (figure 9) ce qui permet d'évoquer une leucémie aiguë myéloblastique.

III.1.2.2. Leucémie aiguë myéloblastique bien différenciée



H : Hématie ; N : Noyau.



Flèches : Corps d'Auer.

Figure 10 : Myélogramme d'une jeune fille âgée de 16 ans coloration : May-Grundwald-Giemsa. Gr×100

D'après la figure 10, nous notons la présence des blastes leucémiques, qui ont une taille variable, de grands noyaux avec de la chromatine fine et des nucléoles clairs. Le cytoplasme est mince et légèrement granulé. Il contient une inclusion spécifique, les corps d'Auer. Ce dernier a la forme d'un bâtonnet constitué d'un paracrystal de grains enzymatiques protéolytiques. Cet aspect confirme la présence d'une leucémie aiguë myéloïde légèrement différenciée type 2 selon la classification FAB.

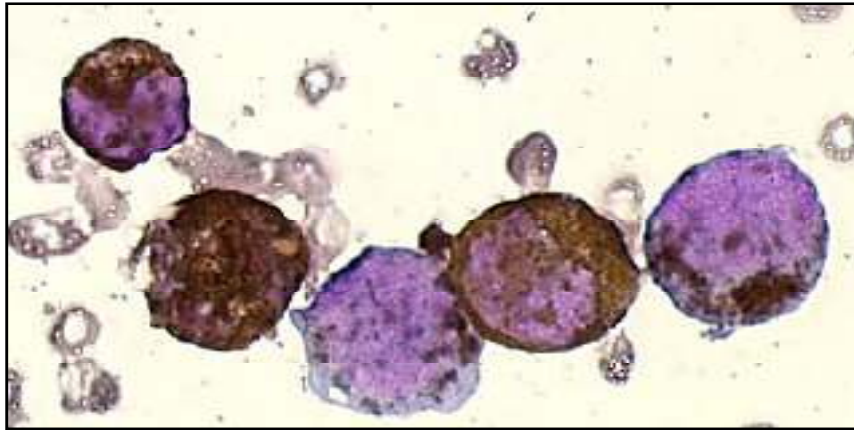
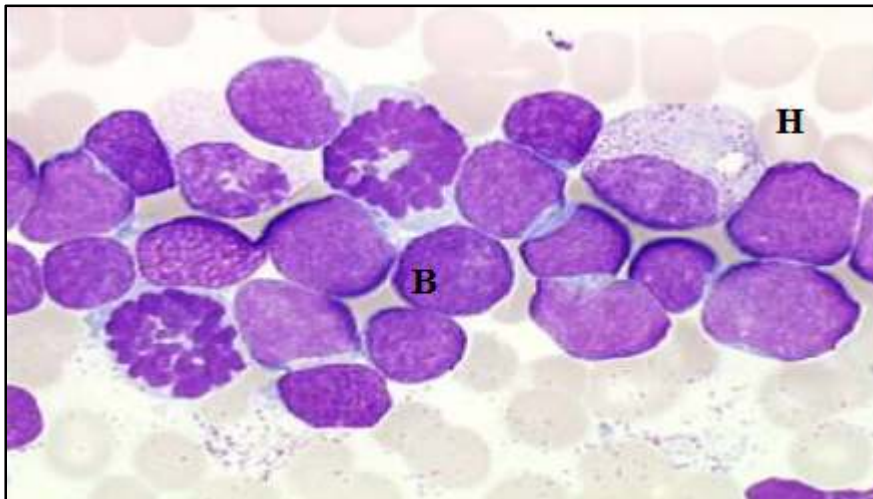


Figure11 : Myélogramme réalisé chez un patient âgé de 7 ans.
Coloration :myéloperoxydase. Gr×100

La réaction cytochimique (MPO) est nettement positive au cours d'une leucémie aiguë myéloblastique. La positivité apparaît sous la forme de grains brun-noir et de façon plutôt focale dans les cellules (figure 11). Le taux de blastes positifs pour la MPO est supérieur ou égal à 3 %.

III.1.2.3. Leucémie aiguë



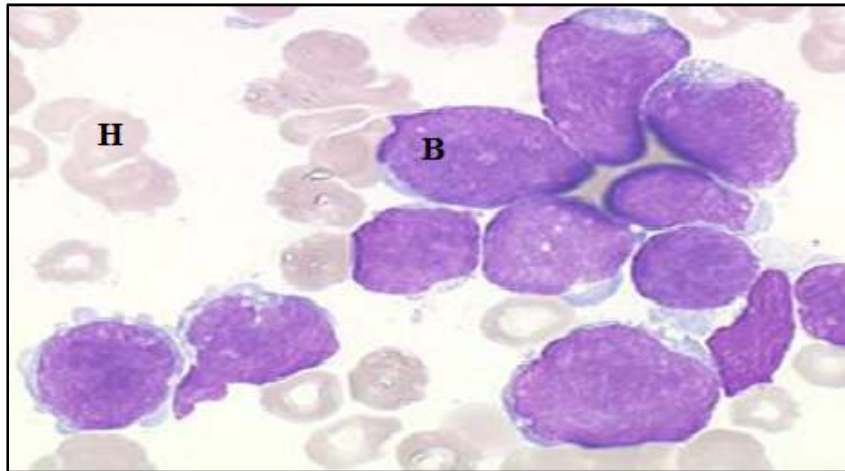
H : Hématie ; B : Blaste.

Figure12 : Myélogramme d'un petit garçon âgé de 02ans.

Coloration: May-Grundwald-Giemsa, myéloperoxydase. Gr×100

L'aspect (figure 12) correspond à celle de petits lymphoblastes (petite taille, rapport Noyau/Cytoplasme très élevé, chromatine fine, pas de nucléole visible).

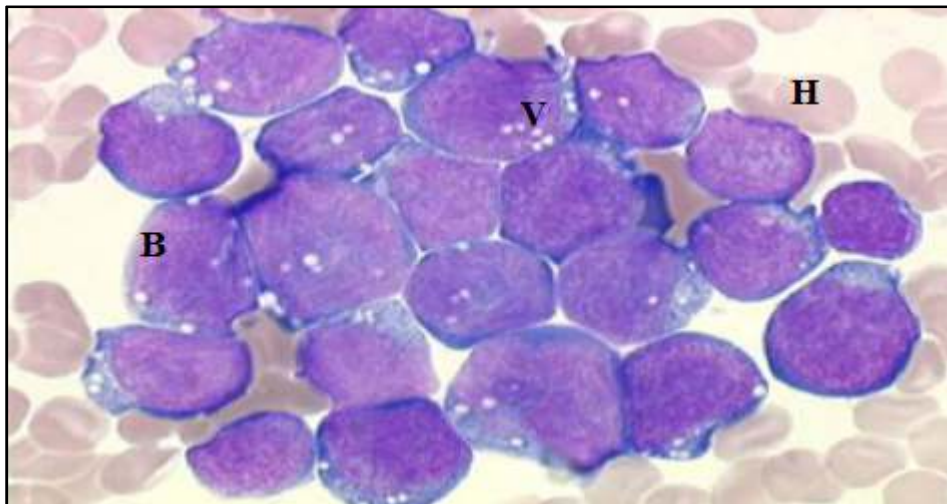
Il nous oriente vers une Leucémie aiguë lymphoblastique de type 1 (LAL1) selon la classification FAB.



H : Hématie ; B : Blaste.

Figure 13 : Myélogramme d'un garçon âgé de 07 ans.
Coloration: May-Grundwald-Giemsa, myéloperoxydase. Gr×100.

La figure 13 montre une moelle envahie de blastes. Ces derniers ont une taille variable, un noyau de contour souvent irrégulier avec une chromatine claire et un cytoplasme réduit sans granulations visibles. Cet aspect caractérise la leucémie aiguë lymphoblastique de type 2 (LAL2) selon FAB.



H : Hématie ; B : Blaste ; V : Vésicules.

Figure 14 : Myélogramme d'un garçon âgé de 13 ans.
Coloration: May-Grundwald-Giemsa, myéloperoxydase. Gr×100

Le résultat de ce frottis montre de grands blastes avec un cytoplasme intensément basophile présentant de multiples petites vacuoles. Selon la classification FAB, il s'agit d'une Leucémie aiguë lymphoïde de type 3 (Burkitt).

III-2- DISCUSSION

Depuis une vingtaine d'années, la classification des leucémies fait appel aux recommandations du groupe FAB. Un grand intérêt est porté à cette classification qui tient à sa relative simplicité basée sur une description morphologique simplifiée. Cette classification est basée sur la coloration des frottis de sang et de la moelle osseuse par la méthode de May-Grünwald-Giemsa complétée par des examens cytochimiques (myéloperoxidase, noir Soudan B). Cet examen est accessible à tous les laboratoires et tient en compte les anomalies cytologiques. Cette approche reste toujours la base du diagnostic des leucémies aiguës en application clinique malgré ses limites (Imbert et *al.*, 1996).

D'après les résultats de notre étude sur 22 cas de leucémies aiguës diagnostiquées au CHU de Hussein Dey-Alger, nous constatons que les leucémies aiguës représentent 20% des hémopathies malignes qui surviennent surtout chez l'enfant avant 9 ans. Ce résultat est déjà décrit par Baruchel (2003) et Jmili et *al.* (2004).

La majorité de nos patients sont atteints d'une leucémie aiguë lymphoïde (64%), alors qu'une minorité (36%) a une leucémie aiguë myéloïde. Cela peut être expliqué par le recrutement des patients très jeunes et par l'augmentation de l'incidence des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) avec l'âge. Il faut rapporter que seulement 18 % de l'ensemble des LAM surviennent chez l'enfant (ROY et Coleman, 1992 ; Chan, 2002 ; Zenhäusern et *al.*, 2003 ; Clavel et *al.*, 2004 ; McKenzie, 2005).

Notre étude a révélé aussi que l'incidence la plus élevée s'observe chez l'enfant entre 4 et 8 ans suivie par la tranche d'âge comprise entre 1 et 3 ans. A partir de l'âge de 10 ans l'incidence diminue selon une allure exponentielle. Ce résultat est en accord avec celui de Roy et Coleman (1992).

Nos résultats montrent aussi une prédominance masculine avec un *sex ratio* de 1,4. Cette prédominance est aussi enregistrée en cas d'hémopathies (Kalifa, 2008 ; Lacour, 2009 ; Troussard et *al.*, 2009). Cela pourrait être expliqué par certaines hypothèses sur la protection du sexe féminin par le chromosome X.

L'étude de la numération et la formule sanguine de ces 22 patients atteints de LA a montré des différentes anomalies illustrées par une anémie normochrome normocytaire arégénérative dans 96%des cas, tandis que 4%présentent une anémie hypochrome microcytaire arégénérative. Ces résultats sont conformes à ceux trouvés par Sangare et *al.* (2013) et Elloumi et *al.* (2002). Cette fréquence élevée d'anémie pourrait s'expliquer par l'hémorragie d'une part, mais aussi par les conditions socio-économiques et nutritionnelles précaires de nos patients d'autre part.

L'examen cytologique des frottis de la moelle osseuse ont permis d'affirmer le diagnostic des 22 cas de LA et d'en préciser que les types cytologiques les plus fréquents étaient les LAL II dans 32 % des cas, les LAL I dans 22 % des cas et les LALIII sont retrouvées dans 09 % des cas étudiés. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés par Braham et *al.* (2004) qui ont noté cette prédominance de LAL II. En revanche, les résultats d'Elloumi et *al.* (2002) montrent une prédominance de LAL I suivi par les LALII.

La répartition des cas de LAM selon la classification FAB est comparable aux données publiées par plusieurs auteurs : Valensi (2003) ; Bacher et *al.*(2005) ;Brionne et Nowoczyn(2009) dont les LAM sont majoritairement de type cytologique M2 puis M1.Nous n'avons recensé aucun cas de M 3, M4, M5, M6 et M7 au CHU -Hussein Dey au cours de notre stage. D'après Sangare et *al.* (2013), l'incidence des leucémies aiguës en général et celle des leucémies aiguës lymphoïdes en particulier, est croissante. Leur diagnostic repose essentiellement sur l'étude cytologique associée quelquefois à la cytochimie. Ce diagnostic ne permet pas toujours de caractériser les lignées prolifératives avec précision et de mettre en évidence les antigènes de surface. Bien que ces méthodes constituent une étape importante dans leur diagnostic, elles restent insuffisantes face à certaines formes de leucémies dont seul l'immunophénotypage permet le diagnostic.

Il s'agit des Leucémies aigues Lymphoïdes T, les Leucémies aigues Lymphoïdes B et des leucémies aigues avec ambiguïté de lignées telles que les biclonales et les biphénotypiques.

En effet, dans notre étude, le plus souvent le diagnostic des leucémies aigues est évident. Cependant, des difficultés de classement se sont posées en cas de frottis pauvres ou mal étalés. La ponction est difficile à réaliser en cas de myélofibrose pouvant gêner l'aspiration de moelle. D'où la nécessité de caractériser la population blastique par d'autres marqueurs immunologiques et cytogénétiques pour affirmer ou même modifier le diagnostic et aussi mieux cibler les indications thérapeutiques initiées (Hunault et *al.*, 1999).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude réalisée sur 22 enfants atteints d'une leucémie aigüe a pour objectif d'identifier correctement la maladie (cytologie, cytochimie), et de reconnaître précocement les éléments pronostiques défavorables cliniques ou biologiques, permettant d'ajuster la prise en charge thérapeutique au risque.

D'après les résultats obtenus nous pouvons conclure que :

- L'hémogramme complet avec une lecture minutieuse des frottis de sang et de moelle complétée par des réactions cytochimiques permettent mieux le classement de la plupart des leucémies aigües.

- La cytochimie a permis d'affiner le diagnostic cytologique des leucémies aigües et de compléter l'étude morphologique.

- La cytologie et la cytochimie restent la base du diagnostic des leucémies aigües.

- Il est important d'envisager les tests biologiques qui fourniront le plus d'information utile et d'éviter les tests inutiles avec une tendance généralisée à contrôler les coûts de santé.

- le plus souvent, le diagnostic des leucémies aigües est évident ; Cependant, des difficultés de classement se présentent en cas de frottis pauvres ou mal étalés.

Il est recommandé, devant des anomalies de l'hémogramme, aux biologistes de réaliser un examen cytologique et cytochimique plus approfondis ; afin d'établir précocement le diagnostic différentiel entre les différents types de leucémies aigües.

Cependant l'étude des autres marqueurs cytogénétiques, immunologiques et moléculaires est devenue nécessaire pour confirmer et identifier le diagnostic des leucémies aigües, dont la nouvelle classification utilise une combinaison de l'ensemble de ces approches.

Référence bibliographique

Atul B, Mehta A, Victor Hoffbrand, 2003. Hematologie. 8-102p

Bacher U., Kern W., Schnittger S., Hiddemann W., Schoch C., Haferlach T; 2005. Further correlations of morphology according to FAB and WHO classification to cytogenetics in de novo acute myeloid leukemia: a study on 2,235 patients. *Ann Hematol*, (12): 785-91.

Baudard M, Marie JP, Cadiou M, Vigié F, Zittoun R. 1994. Acute myelogenous leukaemia in the elderly: retrospective study of 235 consecutive patients. *Br J Haematol* 86: 82-91

Bhatia S., Sklar C, 2002. Second cancers in survivors of childhood cancer. *Nat Rev Cancer*, 2(2): 124-32.

Brionne M., Nowoczyn M Avril, 2009. Leucémies Aiguës Myéloïdes - Nouvelle classification OMS. Laboratoire Hématologie - CHU Caen,

Baruchel Andre, 2003 . BIOLOGIE ET LEUCEMIES AIGUES LYMPHOBLASTIQUES DE L'ENFANT Supplément No 349. Revue Française des Laboratoires.

Chauvenet AR et al, 2006. High WT1 Expression After Induction Therapy Predicts High Risk of Relapse and Death in Pediatric Acute Myeloid Leukemia *JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY*.

Christèle Manuelle , 2008. Les 5 fonctions vitales du corps humain: anatomo-physiopathologie .p14-15.

CLARK JW, ROBERT-GUROFF M, IKEHARA O, HENZAN E, BLATTNER WA, 1985. Human T-cell leukemia-lymphoma virus type 1 and adult T-cell leukemia-lymphoma in Okinawa. *Cancer Res*/45 : 2849-2452

Clavel, J, 2006. Survival in France after childhood acute leukaemia and non-Hodgkin's lymphoma (1990-2000). *Eur J Cancer*, 42, 534-541.

Référence bibliographique

Clavel J., Goubin A., Auclerc M.F., Auvrignon A., Waterkeyn C., Patte C., et al. 2004. 13 Incidence of childhood leukaemia and non-Hodgkin's lymphoma in France: National Registry of Childhood Leukaemia and Lymphoma, 1990-1999. *Eur J Cancer Prev*, (2): 97-103

Chan KW. Acute myeloid leukaemia , 2002. Acute lymphoblastic leukaemia. Current problems in pediatric and adolescent health care. 32(2):40–9.

De Botton S , 2010. Leucémies aiguës myéloblastiques et syndromes myélodysplasiques induits. *Hématologie* :16 (n° spécial 2): 16-20.

Didier Bessis,2009. Manifestations dermatologiques des maladies du système hématopoïétique et oncologie dermatologique Par p49-2,

Dine G, Y. Rehna, S. Brahimia, N. Ali Ammara, B. Gaillarda, Y. Bocqa, G. Fumagallia 2013 : Maladie résiduelle et leucémie myéloïde chronique. *Immuno-analyse et biologie spécialisée.*, 28 : 201—206

Elloumi M, Hafsia R, EL Omri et al ,2002. Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et cytohématologiques des leucémies aiguës lymphoblastiques de l'adulte en Tunisie. *Tunis Médical*;80:199-202.

Fohrer-Sonntag Cécile, Bruno Lioure., 2012- LA REVUE DU PRATICIEN LEUCÉMIES AIGUËS 62 :277-281

Françoise Huguet, Christian Récher,2011. Acute leukemia in adults *Hématologie* : 17 (3) : 203-224

François Lefrère,2005. *Hématologie et transfusion.*119-141

Fournier M, A.Lambilliotte , 1998. Rôle du biologiste dans le diagnostic et le suivi des LAL de l'enfant .*Ann. Biol. Clin*56 :343-7

Référence bibliographique

Gaynon PS, Trigg ME, Heerema NA, rigg et al . 2000

Acute lymphoblastic leukemia Children's Cancer Group trials in childhood: 1983-1995. *Leukemia*;14:2223-2233

Goubin, A., Auclerc, M.F., Auvrignon, A., Patte, C., Bergeron, C., Hemon, D. and

Haferlach T, Kern W, Schnittger S, Schoch C, 2005.Modern diagnostics in acute leukemias. *Crit Rev Oncol Hematol*;56:223–34

Hanahan, D. and Weinberg, R.A. ,2000. The hallmarks of cancer. *Cell*:100, 57-70.

HSU JL, GLASER SL,2000. Epstein-barr virus-associated malignancies: epidemiologic patterns and etiologic implications. *Crit Rev Oncol Hematol* ;34 : 27-53

Hunault-Berger M, Pellier I, NorbertI,1999. Leucémie aiguë lymphoblastique (adulte et enfant). *La Revue du Praticien*., 49:441–5.

Imbert M, Jouault H, Tulliez M, 1996. Cytologie des leucémies aiguës. *La Revue du Praticien*, 46:23–9.

Jakob R. Passweg, Photis Beris, Yves Chalandon, Thomas Matthes, M. S. Apro, P.-A. Plan,2008 .Les leucémies aiguës *Rev Med Suisse*;4:1272-1278

Jean-Marie Andrieu,Pierre Colonna,Raphaël Lévy,1997. Cancers: guide pratique d'évaluation de traitement et de surveillance :p740 .

Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Murray, T., Xu, J., Smigal, C., and Thun, M.J. ,2006. Cancer statistics, *CA Cancer J Clin* 56, 106-130.

.KALIFA C., OBERLIN O. PEIN F, 2008.Cancers de l'enfant.Paris : Flammarion Medecine-Sciences, 378p.

Kebriaei P, Anastasi J, Larson RA ,2002. Acute Lymphoblastic leukemia, Diagnosis and classification *Brest Pract Res Clin Heamatol.*; 15:597-621

Référence bibliographique

LACOUR B., DESANDES E., MALLOL N, 2004.Le Registre Lorrain des Cancers de l'Enfant Resultats de 17 annees d'enregistrement 1983-1999.Vandoeuvre-les-Nancy ; Registre lorrain des cancers de l'enfant- 111p.

Larsen C ,2007. Physiopathologie des leucémies aiguës : des avancées significatives
Bull Cancer vol. 94, n° 10

LAURIER D, VALENTY M, TIRMARCHE M, 2001. Radon Exposure and the Risk of Leukemia:a Review of Epidemiologic Studies. *Health Phys*: 81 : 272-288

Lee Goldman, Pierre L. Masson,2013. Goldman's Cecil Medicine Cancérologie; p77-78

Lewis B. Silverman MD, 2007. Acute Lymphoblastic Leukemia in Infancy *Pediatr Blood Cancer*;49:1070–1073. .

Liesner RJ, Goldstone AH, 1997.ABC of clinical haematology:The acute leukaemias.
Br Med J; 314: 733-743

MANNS A, CLEGHORN FR, FALK RT, HANCHARD B, JAFFE ES, et coll,1993. Role of HTLV-I in development of non-Hodgkin lymphoma in Jamaica and Trinidad and Tobago.The HTLV Lymphoma Study Group. *Lancet*: 342 : 1447-1450

Mauvieux.L, Lessard.M, Lioure.B 2005-2006. Les leucémies aiguës de l'enfant ;
Maladies du sang et transfusion. Université Louis Pasteur, Faculté de Médecine.
Module 07 ;; DCEM3,module 17: 97-110

Michel Arock,Gilbert Chemla,Jean-Paul Chemla,2008.Autoformation et aide au diagnostic en hématologie avec Logiciel ADH.141-153

M SANGARÉ-BAMBA1,2, HY KASSI 2, M N'DOGOMO4, ME YAYO-AYÉ1,2, AK INWOLEY1, D SAWADOGO,2013.PROFIL BIOLOGIQUE DES LEUCEMIES AIGUES NON MYELOIDES EN COTE D'IVOIRE. Biological profil of the non myeloid acute leukemia. *Rev Int Sc Méd* ;15,2:49-53.

Référence bibliographique

Myriam Marolla, François Lefrère, Richard Traineau, 2008 .Hématologie, transfusion sanguine et soins infirmiers 76-78

N. Braham Jmili,1 A. Ben Abdelaziz,2 M. Nagara,1 T. Mahjoub,1 H. Ghannem2 et M. Kortas1, 2004. La Revue de Santé de la Méditerranée orientale, Aspects cytologiques des leucémies aiguës : à propos de 193 cas colligés dans la région centrale de la Tunisie
Vol. 10, No 4/5

Perillat F, 2001.Cancer Causes Control; 12: 935-41

Poplack DG. Hoffman R, Benz EJ Jr, 1999 Shat Shattil SJ, Furie B and Cohen HJ til
Clinical manifestations of acute lymphoblastic leukemia. Hematology basic principles and practice. New York : Churchill Livingstone : 776-784

PRESTON DL, PIERCE DA, SHIMIZU Y, CULLINGS HM, FUJITA S, FUNAMOTO S, KODAMA K, 2004. Effect of recent changes in atomic bomb survivor dosimetry on cancer mortality risk estimates. *Radiat Res*:162 : 377-389

Quessar A, N. Hda, M. Lamchaheb, S. Cherkaoui, M. Rachid, S. Zafad, A.Madani, S , Benchekroun , 2009. Leucémies aiguës myéloblastiques au Maroc : profil cytogénétique à propos de 532 cas REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES– supplément N°416

Reinhard Zenhäusern, Caroline Zwicky, Max Solenthaler, Martin F. Fey, Andreas Tobler,2003. Leucémies aiguës de l'adulte.29/30 :684-686

ROCHFORD R, CANNON MJ, MOORMANN AM,2005. Endemic Burkitt's lymphoma: a polymicrobial disease? *Nat Rev Microbiol* :3 :182-187

Roger Lacave, Christian-Jacques Larsen, Jacques Robert,2005.Cancérologie fondamentale .222-223

Roland Mertelsmann, Monika Engelhardt, D. P. Berger ,2011.pracecis d' hématologie et d'oncologie. 413-414p.

Référence bibliographique

Rouquette Claude ,2002.Médecine chirurgie et soins infirmiers p196

Roy P, Coleman MP,1992 . Epidémiologie des leucémies aiguës lymphoïdes. Revue d'épidémiologie et de santé publique .40:323–34.

Sébahoun G, 2005. leucémies aiguës. Hématologie clinique et biologique ; 2ième édition :277

THORLEY-LAWSON DA, GROSS A,2004. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. *N Engl J Med* :**350** : 1328-1337

Troussard X, Maarouf N,2006. Biphenotypic leukaemia (BAL) : myth, reality, prospects *Spectra biologie*, 152: 34-38

Valensi F. 2003 Classification des leucémies aiguës. Apport des propositions de l'Organisation mondiale de la santé. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*,. 13-018-G-05: 7 pages.

Vardiman J.W., Arber D.A., Brunning R.D., Larson R.A., Matutes E., Baumann I., et al. 2008.Therapy-related myeloid neoplasms. In : Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., *et al.*, editors. Fourth Ed,2008. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press :127-9.

Coloration au May-Grünwald Giemsa

1- Fixation

- Placer la lame du frottis sur un support horizontal au dessus d'un bac de coloration.
 - Verser sur la lame 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur de façon à recouvrir complètement le frottis. **Laisser agir 3 minutes.**

2- Coloration au May-Grünwald

- Ajouter autant de gouttes d'eau neutre que de gouttes de colorant, le mélange est rapide.
- **Laisser agir 2 minutes.** (*Préparer la dilution du Giemsa pendant ce temps.*)
- Rejeter le colorant par un jet d'eau neutre.

3- Coloration au Giemsa

- Préparer la dilution du Giemsa pendant les 3 minutes précédentes : pour cela introduire 20 cm³ d'eau neutre dans une éprouvette graduée, ajouter 30 gouttes de colorant de telle manière que celui-ci reste à la surface de l'eau neutre.
- Verser le contenu de l'éprouvette dans une boîte de Laveran. Dès que la lame est prête, mélanger en agitant doucement (le pouvoir colorant est maximum au moment du mélange).
- Déposer la lame (frottis en dessous) dans la boîte, **laisser agir 20 minutes** (Giemsa lent).

Rincer sous un jet d'eau neutre.

4- Séchage

- Laisser sécher la lame à l'air, en position inclinée, après avoir essuyé la face inférieure de la lame avec du papier filtre.
- Attendre au moins **5 minutes** avant l'examen microscopique du frottis.

Réaction au Noir soudan

Réactifs

Formol

-Solution de travail

- Solution A :

Noir soudan B	0,3g
Ethanol absolu	100ml

- Solution B (tampon) :

Phénol cristallisé	16g
Ethanol absolu	30ml
Phosphate Di sodique	0,3g
Eau distillé	100ml

- Solution C : Solution de travail

- Solution A 60ml

- Solution B 40ml

- Ethanol à 70%

- Giemsa à 10% dans l'eau tamponnée à PH 7

Technique

-dégraisser les lames

-Fixer les frottis 5à10mn ds Les vapeurs de Formol .

-Immerger les lames pdt 1h à température ambiante ds la solution C filtrée.

-Rincer ds l'Ethanol à 70%

-Sécher et contre colorer pdt 15mn, ds la solution de **Giemsa à 1%**

-Rincer à l'eau tamponnée et Sécher à l'air

Tableau I : Fréquence de LA chez les patients étudiés.

Hémopathies malignes	Nombre de cas	Pourcentage
LA	22	20%
Autre hémopathies	88	80%

Tableau II: Répartition des patients en fonction de sexe.

Sexe	Nombre de cas	Pourcentage
Féminin	9	41%
Masculin	13	59%

Tableau III : Répartition des patients selon l'âge.

Age	[0-3]	[4-7]	[8-11]	[12-15]	[16-19]
Nombre de cas	9	5	4	2	1

Tableau IV : Répartition des enfants leucémiques en fonction de type de LA.

Type de LA	Nombre de cas	Pourcentage
LAL	19	86%
LAM	3	14%

Tableau V : Répartition des LAL chez les enfants leucémiques

Sexe \ Age	[0-3]	[4-7]	[8-11]	[12-15]	[16-19]
Féminin	3	2	2	-	-
Masculin	6	3	2	-	-

- Absence des cas atteints de LAL

Tableau VI : Répartition des patients en fonction des résultats du myélogramme

Résultats du myélogramme	Nombre de cas	Pourcentage
LAL I	10	45%
LAL II	7	32%
LAL III	2	9%
LAM 1	1	5%
LAM 2	2	9%



Figure 15 : les outils utilisés au cours de la ponction osseuse



Figure 16 : Frottis de moelle ou myélogramme coloré au May-Grundwald-Giemsa



Figure 17 : Les réactifs de la coloration cytochimique (Myélopéroxydase)



Figure 18 : Les réactifs de May-Grundwald et de Giemsa utilisé au cours de la coloration de myélogramme

TEL
 المركز الطبي الجامعي حسين داي
 Centre Hospitalier Universitaire d'Hassain-Day
 Hôpital Pt. NEPESSE - HASSOUD (Ha. Point)
 LABORATOIRE DE CYTOLOGIE
 Chef de Service: Pr. M. ABDELALI

FICHE DE CYTOLOGIE 11 N° 1152

NOM : CHADOUÉ AGES : 4 ans
 PRENOM : NOUËL BOU-SERVICER Prénoms : Nouïel Bou-Servic

D 03/04/11 Filles 7 ans 9L
 Mucelle ++, mucus +
 Coarses 2, 6b 15%, 48% Pm 24%
 Globes 66% No pousse en mucus
 (Karyotype sentale?)
 (PS non repte). Lb 141
 10/120M i. Lays
 No R+++ pousse mucus 24%
 46% Globes → 17% de
 incomplètes / ccc et 10% mucus
 NB: No pousse vais blasy-e
 Unidale Refaire NO

Figure 19: Fiche de renseignement

GLOSSAIRE

Anémie microcytaire hypochrome arégénérative : anémie modéré à VGM < 80fl, TCMH < 27pg et le réticulocyte < 150g / l

Anémies normocytaires normochromes arégénérative : anémies définissent par un taux d'hémoglobine circulante abaissé avec une TCMH et un VGM normaux et les réticulocytes ne sont plus produits ce qui signe une anémie centrale

Anémie réfractaire avec excès de blastes (AREB) : Elle se manifeste par une pancytopenie(Diminution du nombre des globules rouges, des globules blancs et des plaquettes en présence d'une pathologie sanguine associée) sévère. La blastose sanguine est < 5 % et la blastose médullaire est comprise entre 6 et 20 %.

Aplasie : absence transitoire dans le sang des cellules sanguines normales due à la chimiothérapie

Corps d'Auer: Est formé par la coalescence de lysosomes réalisant un fin bâtonnet de 2 à 3 µm azurophile, c'est un signe cytologique de différenciation myéloïde

Guérison : signifie que le patient est définitivement débarrassé de sa maladie

Hyperplasie : Prolifération de cellules normales dans une structure organique ou un tissu. Elle peut être secondaire à une irritation ou entre dans le cadre d'un processus compensatoire.

Myélofibrose : Augmentation pathologique du réseau de collagène situé autour des cellules de la moelle osseuse.

Neutropénie : est un trouble hématologique caractérisé par un taux bas de granulocytes (ou polynucléaires) neutrophiles dans le sang..

Rémission : correspond à une période pendant laquelle le cancer n'évolue plus .

Thrombopénie :ou **thrombocytopenie** est une diminution du nombre de plaquettes sanguines en dessous du seuil de 150 000 plaquettes par mm³

I-1-GENERALITES SUR LES LEUCEMIES

La leucémie est une affection maligne qui se caractérise par une prolifération de cellules immatures dites blastiques de la moelle osseuse associées à un blocage de la prolifération de cellules normales. Ces cellules anormales et immatures empêchent d'une part la production des cellules normales et vont infiltrer les différents organes (Arock et *al.*, 2008).

I-1-1- Types de leucémies

I-1-1-1- Leucémies aigües

Les leucémies aigües se caractérisent par la prolifération dans la moelle osseuse de cellules à un stade prématuré de leur différenciation. Elles sont d'évolution rapide, bien que leur pronostic se soit sensiblement amélioré ces dernières années. La répartition des leucémies aigües et leur pronostic varient selon l'âge et le type de cellules affectées (Goubin et *al.*, 2006) :

- Leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) : représentent l'affection maligne la plus fréquente à l'âge pédiatrique d'environ 30-35% de l'ensemble des cancers de l'enfant. Elles représentent 80% des leucémie aigues (Andrieu et *al.*, 2007 ; Roland et *al.*, 2011). Chez l'enfant, les LAL de la lignée B sont prédominantes (80-88%) (Jemal et *al.*, 2006). Leur pic de fréquence se situe entre 2 et 5 ans, surtout dans les pays occidentaux. Les LAL de la lignée T prédominent chez des enfants plus âgés, à l'adolescence ou chez les pré-adolescents et restent rares avant 5ans (Fournier, 1998 ; Sébahoun, 2005).
- Les leucémies aiguës myéloblastiques(LAM) :ne représentent que 15 à 20% des leucémies aigues chez l'enfant avec une incidence qui augmente avec l'âge. Elles sont pour la majorité des cas des pathologies de l'adulte(Baudard *etal.*, 1994 ; Chauvenet et *al.*, 2006 ; Quessar et *al.*, 2009).D'après la classification franco-américano-britannique, ces leucémies sont classées en plusieurs types (Atul et *al.*, 2003) :

- LAM 0 : indifférenciée
- LAM 1 : myeloblastique sans différenciation.
- LAM 2 : myeloblastique avec différenciation (30-90% de blastes).
- LAM 3 : promyelocytaire
- LAM 4 : myelomonocytaire
- LAM 4: myelomonocytaire avec éosinophilie
- LAM 5 : monoblastique (sans différenciation : M5a, avec différenciation : M5b)
- LAM 6 : erythroblastique ou erythroleucemie
- LAM 7 : megacaryoblastique

I-1-1-2- Leucémies chroniques

Les leucémies chroniques se caractérisent par la prolifération de cellules produites dans la moelle osseuse, à un stade avancé de leur différenciation en globules du sang. Elles Evoluent sur plusieurs années.

Il existe deux types de leucémies chroniques, distinguées selon le type de cellules affectées :

- Les leucémies lymphoïdes chroniques : c'est la forme plus courante qui touche essentiellement le sujet de plus de 50 ans. Elles sont souvent de découverte fortuite, lors d'un bilan biologique systématique. Le diagnostic est évoqué devant des ganglions multiples, une grosse rate, un gros foie, un amaigrissement. Parfois, il existe des placards rouges violacés multiples sur la peau.
- Les leucémies myéloïdes chroniques : sont plus graves. Elles sont des cancers des cellules souches hématopoïétiques. La phase initiale chronique se manifeste par une production myéloïde excessive de la moelle osseuse et va concerner essentiellement la lignée granulocytaire. Cette affection touche essentiellement l'adulte entre 30 et 50 ans. Il existe quelques cas chez l'enfant. L'homme est plus fréquemment touché que la femme.

La découverte de cette maladie peut être fortuite, à l'occasion d'une prise de sang. Le plus souvent, comme pour la leucémie lymphoïde chronique, un amaigrissement, une fièvre, la découverte de ganglion, d'une grosse rate, d'un gros foie et un saignement digestif (Dine et *al.*, 2013).

I-1-2-Facteurs de risques

Les facteurs de risque des leucémies aiguës sont inconnus dans la quasi-totalité des LAL. Dans 10 à 20 % des LAM, nous retrouvons :

- Une prédisposition génétique :
 - anomalies chromosomiques ou caryotypique.
 - Aberration et l'instabilité chromosomique constitutionnelle.
 - Maladies génétiques des systèmes de réparation de l'ADN.
- Un traitement antérieur par chimiothérapie antimitotique et/ou radiothérapie (Vardiman et al., 2008 ; De Botton, 2010).
- Une exposition professionnelle (des parents) et environnementale chimique (benzène ou ses dérivés) (Delphine et al., 2003 ; Bhatia et al., 2002).
- Exposition environnementale aux radiations ionisantes et non ionisantes (Laurier et al., 2001 ; Perillat, 2001 ; Preston et al., 2004).
- Facteurs infectieux et viraux (Clark et al., 1985 ; Manns et al., 1993 ; Hsu et Glaser, 2000 ; Thorley et Gross, 2004 ; Rochford et al., 2005).

L'étiologie des leucémies de l'enfant reste obscure, et l'ensemble des facteurs de risque connus n'explique qu'une faible part des cas de leucémies survenant chaque année.

I-1-3-Leucémogénèse

Au cours de la leucémie aiguë, il y'a une transformation maligne d'une cellule qui devient incapable de se différencier en réponse aux stimuli physiologiques normaux. Cette cellule multiplie indéfiniment donnant naissance à un clone leucémique, source d'une accumulation de cellules blastiques dans la moelle osseuse entraînant ainsi une défaillance de l'hématopoïèse normale responsable du tableau clinique révélateur de leucémie aiguë (Andrieu et al., 1997, Larsen, 2007). Ce phénomène de leucémisation peut survenir à n'importe quel stade de l'hématopoïèse, depuis la cellule souche pluripotente jusqu'aux précurseurs déjà bien engagés dans une lignée précise (Huguet et Récher, 2011).

La leucémie se développe en règle dans la moelle osseuse, mais peut également s'étendre au sang (d'où la présence des blastes circulants dans certaines leucémies) ou à d'autres organes non hématopoïétiques (peau, gencives, système nerveux central...) ce qui est responsable du syndrome tumoral (Andrieu et al., 1997 ; Manuelle, 2008). L'accumulation des cellules

leucémiques ne provient pas seulement d'une prolifération importante, mais bien plus d'une perte de la capacité de la différenciation totale pour arriver à des cellules matures, ce qui donne aux cellules leucémiques un avantage de survie lié à un échappement aux règles de la mort cellulaire programmée ou l'apoptose. (Hanahan et Weinberg,2000).

La translocation (t) chromosomique pouvait expliquer le blocage de la différenciation cellulaire (Huguet et Récher ,2011).La classification Franco-américano-britannique (FAB) a confirmé cette notion en intégrant parmi les critères de typage des leucémies aiguës les principales translocations qui sont propres à certaines d'entre elles.(Roger et *al.*,2005 ; Huguet et Récher,2011).

I-2-Explorations paracliniques des leucémies

I-2-1-Hémogramme

L'hémogramme ou formule numérique sanguine permet très souvent d'évoquer d'emblée le diagnostic de leucémie aiguë. Il est demandé en premier lieu devant des signes cliniques faisant suspecter une leucémie aiguë. L'hémogramme permet l'analyse quantitative des éléments figurés du sang et éventuellement le nombre de blastes circulants (Gaynon et *al.*,2000).

I-2-2-Myélogramme

Le myélogramme est l'examen-clé du diagnostic .Il identifie et compte les différentes cellules présentes dans la moelle osseuse (Myriam et *al.*,2008).L'examen microscopique est réalisé à partir d'un millilitre de liquide médullaire, obtenu généralement par ponction au niveau du bassin, chez les plus jeunes enfants. Il met en évidence une infiltration blastique supérieure à 30 %, définissant le diagnostic de LA (Fohrer-Sonntag et Lioure ,2012).

Plus récemment, la classification de l'OMS a établi ce seuil à 20%incluant l'entité « anémie réfractaire avec excès de blastes (AREB) en transformation ». (Poplack et al,1999 ;Reinhard et *al.*,2003)

Le diagnostic des variétés cytologiques ce fait grâce à la coloration du frottis médullaire par May Grunwald Giemsa(MGG). Cette coloration est complétée par d'autres colorations concernant essentiellement deux types d'activités enzymatiques : les myéloperoxydases, caractéristiques des LAM(cytochimie positive dans plus de 5 % des blastes) et les estérases qui sont positives sur les cellules granuleuses et monocytaires.

Cette analyse cytologique apporte des éléments extrêmement précieux (dysplasie sur une ou plusieurs lignées cellulaires, aspect caractéristique de blastes myéloïdes ou lymphoïdes...) (Fohrer-Sonntag et Lioure,2012).

I-2-3-Biopsie ostéomédullaire

La biopsie est rarement nécessaire pour le diagnostic. Elle est surtout effectuée en cas d'échec de la ponction de la moelle osseuse, ou dans certaines formes dans lesquelles l'os est trop dur et la moelle inaspirable témoignant en général d'une myélofibrose associée (situation rare chez l'enfant)(Lefrère,2005).

I-2-4-Immunophénotypage

L'immunophénotypage détermine par cytométrie en flux la présence de différents antigènes reconnus par des anticorps monoclonaux fluorescents et permet ainsi :

- Identifier la lignée cellulaire en cause : les marqueurs les plus spécifiques sont l'expression intracytoplasmique de CD79a pour la lignée B et CD3 pour la lignée T et myéloperoxydase (MPO) pour la lignée myéloïde
- Identifier le stade de de différenciation de la cellule. A titre d'exemple, le CD33 représente une molécule exprimée tôt lors de la maturation myéloïde(Jakob et *al.*,2008).
- Identifier une éventuelle leucémie aiguë biphénotypique (10% des cas environ) (Reinhard *etal.*,2003 ; Huguet et Récher,2011).

I-2-5-Cytogénétique

Le caryotype est devenu un examen obligatoire dans toute LA car il constitue un des plus puissants facteurs pronostiques dont la cytogénétique a montré l'existence d'anomalies portant sur le nombre et sur la structure des chromosomes des cellules blastiques :

- Les anomalies de nombre correspondent à des monosomies ou des trisomies, portant sur une ou plusieurs paires, ce qui modifie la « ploïdie » de la cellule.
- Les anomalies de structures peuvent exister :
- Soit sans modification de la quantité totale des gènes de la cellule (translocations équilibrées) mais avec une altération de leur mode de fonctionnement.
- Soit avec modification quantitative des gènes (délétions ou monosomies partielles, duplications ou trisomies partielles) (Reinhard et *al.*,2003 ; Fohrer-Sonntag et Lioure ,2012).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES