

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOGRAPHIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**Université BLIDA 1
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie**



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

**Recherche de la translocation BCR-ABL dans les
leucémies pédiatriques**

Présenté par

M^{elle} Hamidi Hanane & M^{elle} Zourgui Nouhad

Devant le jury composé de :

Mme Chalal N	MCA	USDB 1	Président
Mr Khier M	MCB	USDB 1	Examineur
Mme Raache R	Professeur	USTHB-FSB	Promoteur
Mme Aissani R	MCB	USDB 1	Co-promoteur
Mme Benmouffok N	Professeur	Fac de Médecine Alger	Invitée
Mme Nait Kaci N	MA	Fac de pharmacie Alger	Invitée

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à **Pr Amroune.H**, Chef de service du laboratoire central de l'hôpital Parnet, pour nous avoir ouvert les portes de son service ainsi que **Pr Zeroual et le Pr Benmouffak**, chefs de service de l'oncopédiatrie, de nous avoir permis de réaliser notre stage pratique dans des meilleures conditions.*

*Nous tenons à remercier **Mme Chaalal**, présidente du jury, ainsi que **Mr Khier.M**, examinateur, pour avoir accepté d'évaluer notre travail.*

*Nous adressons un remerciement tout particulier au **Pr Raache.R**, notre promotrice, pour avoir accepté avec tant de générosité et d'engagement de nous encadrer, pour la confiance qu'elle nous a accordée et pour avoir été un véritable pilier tout au long de cette aventure. Par sa disponibilité, et ses conseils avisés, elle nous a non seulement guidées scientifiquement, mais aussi profondément marquées sur le plan humain.*

*Nos sincères remerciements vont à **Dr Aissani.R**, notre co-promotrice dont l'expertise, la pédagogie et la rigueur ont marqué toute notre formation à l'université, de nous avoir transmis un savoir solide et des conseils éclairés qui ont été d'un grand soutien tout au long de ce travail.*

*Nous remercions gracieusement **Dr Louahchi.S**, pour l'appui et le soutien qu'elle nous a apporté tout au long de notre stage ainsi que **Dr Nait Kaci.N**, Chef d'unité d'hémobiologie, pour ses explications claires, et l'aide qu'elle nous a proposée avec beaucoup de générosité.*

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance à **Pr Saadi.L**, Chef d'option de biologie moléculaire et cellulaire, pour son accompagnement tout au long de notre parcours universitaire, ainsi que pour ses conseils précieux et sa motivation.*

*Enfin, nous souhaitons adresser un **remerciement sincère** à **l'ensemble du personnel de l'hôpital Parnet**, pour leur accueil et leur professionnalisme.*

*Nous adressons également notre reconnaissance pour **tous les enseignants de l'université Saad Dahleb de Blida** qui, tout au long de notre parcours, ont su éveiller en nous la curiosité scientifique et nous transmettre leur savoir tout particulièrement **Mr. Benyahia.N** pour ses cours méthodiques et ses nombreux conseils que nous avons appliqués avec reconnaissance lors de la rédaction de ce mémoire*

*À toutes ces personnes, nous disons **merci infiniment**. Ce travail est le fruit d'un accompagnement collectif, d'une générosité humaine, et d'un partage de savoirs qui resteront à jamais gravés dans nos cœurs.*

Dédicace

*Je rends grâce à **Allah**, Le Tout-Puissant, pour Sa miséricorde et la force qu'Il m'a accordée à chaque étape de ce parcours.*

*Je dédie ce travail à **mes parents**, mes premiers soutiens, **pour** leurs prières constantes et leur soutien sans faille. Ce travail est le fruit de votre éducation, de vos valeurs et de tout ce que vous m'avez transmis. Merci d'avoir cru en moi, même quand moi je doutais.*

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à **Nouhad**, mon binôme et mon amie la plus précieuse, avec qui j'ai traversé l'intégralité de mon parcours universitaire. Merci d'avoir vécu avec moi toutes ces années de ce parcours. Nous avons traversé ensemble des moments de joie, mais aussi des épreuves, avec leurs hauts et leurs bas. Ce mémoire est aussi le fruit d'une belle amitié.*

*Je remercie infiniment **notre camarade Achi Meriem**, pour son aide, sa disponibilité et l'esprit d'équipe dont elle a toujours fait preuve. Travailler ensemble a été une expérience marquante.*

*Enfin, une pensée toute particulière pour **ma cousine Manel** et **ma chère amie Sarah** qui ont toujours été là pour moi, dans le bien comme dans les épreuves. Merci pour votre présence et votre soutien*

Hanane

Dédicace

*Je tiens tout d'abord à remercier **Dieu** de m'avoir accordé la force et la persévérance nécessaire pour mener à bien ce travail.*

*Je remercie du fond du cœur **ma chère mère** et **mon père** pour leur amour inconditionnel, leur patience et leur soutien constant tout au long de mon parcours. Sans eux, rien de tout cela n'aurait été possible.*

*Un grand merci à **mon frère Mouiz** pour sa présence et son soutien qui ont souvent été un réconfort dans les moments de doute.*

*Un remerciement tout particulier à **Hanane**, mon binôme, ma sœur de cœur et mon unique amie avec qui j'ai partagé non seulement un travail mais un véritable parcours de vie. Elle a été à mes côtés à chaque étape de ce travail, partageant avec moi les nuits blanches, les rires, les stress, et les petites victoires. Ta présence a été pour moi un pilier inestimable.*

*Une pensée toute particulière à **ma tante Sabrina** et à **son époux Mourad**, pour leur bienveillance et leur soutien réconfortant.*

*J'exprime aussi ma reconnaissance à **ma camarade Meriem**, pour sa gentillesse, sa disponibilité et les échanges enrichissants que nous avons eus. Merci pour ta bienveillance et ta présence.*

*A **ma cousine Ichrak** et **ma chère amie Sarah**, pour leur présence apaisante et leurs soutiens fidèles.
Merci d'avoir été là quand j'en avais besoin*

Nouhad

Résumé

La leucémie pédiatrique est une hémopathie maligne clonale qui représente 30% des maladies qui affectent les enfants moins de 15 ans dont la majorité sont atteints par la forme aigue avec une prédominance de la LAL (75%) qui se traduit par la prolifération de cellules cancéreuses immatures (blastes) suite à des aberrations de mécanismes génétiques et moléculaires en particulier des translocations chromosomiques notamment La translocation t (9 ; 22) (q34;q11) qui conduit à la fusion BCR-ABL représentant un marqueur de mauvais pronostic chez les enfants.

Notre étude a pour objectif d'analyser les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques des leucémies aiguës pédiatriques, ainsi que la recherche de la translocation BCR-ABL dans la LAL-B par la technique RT-qPCR afin d'améliorer le diagnostic, prédire des marqueurs pronostic et améliorer la prise en charge.

L'analyse des caractéristiques réalisée sur 100 patients pédiatriques atteints de leucémie aigüe diagnostiqués et hospitalisés entre 2020-2025 montre une prédominance de la LAL (67%), prévalence du sexe masculin (53%) et une susceptibilité des enfants âgés entre 2-6 ans. La majorité des cas présentent un syndrome tumoral (79%), syndrome hémorragique (43%), Anémie (51%), thrombopénie (46%), leucocytose (39%) et un taux élevé de blastes médullaires 82,5% audiagnostic. La recherche de la translocation BCR-ABL réalisée sur 16 enfants atteints de LAL-B a permis de détecter l'anomalie chez 2 patients qui ont été traités à l'imatinib présentant une rémission complète.

Notre travail met en évidence l'importance du diagnostic moléculaire dans le pronostic, la détection des formes à haut risque de leucémie et l'orientation vers des protocoles thérapeutiques plus adaptés ciblant spécifiquement l'anomalie génétique.

Mots clés : Leucémies pédiatriques, BCR-ABL, RT-qPCR, Leucémie aigüe lymphoblastique B

Abstract

Pediatric leukemia is a malignant hematopathy that accounts for 30% of diseases affecting children under 15 years old, the majority of whom are affected by the acute form with a predominance of ALL (75%), which is characterized by the proliferation of immature cancer cells (blasts) due to aberrations in genetic and molecular mechanisms, particularly chromosomal translocations. The translocation t(9;22)(q34;q11) leads to the BCR-ABL fusion.

Our study aims to analyze the epidemiological, clinical, and biological characteristics of pediatric acute leukemias, as well as the search for the BCR-ABL translocation in B-ALL using the RT-qPCR technique to improve diagnosis, predict prognostic markers, and enhance therapy.

The analysis of the characteristics conducted on 100 pediatric patients with acute leukemia diagnosed and hospitalized between 2020-2025 shows a predominance of ALL (67%), a prevalence of the male sex (53%), and a susceptibility of children aged between 2-6 years. The majority of cases present a tumor syndrome (79%), hemorrhagic syndrome (43%), anemia (51%), thrombocytopenia (46%), leukocytosis (39%), and a high rate of bone marrow blasts (82.5%) at diagnosis. The search of the BCR-ABL translocation conducted on 16 children with B-ALL allowed the detection of the anomaly in 2 patients who were treated with imatinib and achieved complete remission.

Our work highlights the importance of molecular diagnosis in prognosis, the detection of high-risk forms of leukemia, and the guidance towards more suitable therapeutic protocols specifically targeting the genetic anomaly.

Keywords: *Pediatric leukemias, BCR-ABL, RT-qPCR, B acute lymphoblastic leukemia*

المخلص

لوكيميا الأطفال هي مرض دموي خبيث يمثل 30% من الأمراض التي تصيب الأطفال دون سن 15 عامًا، حيث يتأثر الغالبية منهم بالشكل الحاد خاصة سرطان الدم الليمفاوي الحاد (75%) والذي يؤدي إلى تكاثر الخلايا السرطانية غير الناضجة نتيجة اضطرابات في الآليات الوراثية والجزيئية، لاسيما الانتقالات الكروموسومية. يُعتبر الانتقال t(9;22)(q34;q11) مسؤولاً عن تشكل اندماج جيني بين BCR وABL.

تهدف هذه الدراسة إلى تحليل خصائص اللوكيميا الحادة عند الأطفال، إلى جانب الكشف عن الانتقال الجيني BCR-ABL في حالات سرطان الدم الليمفاوي الحاد من النوع B باستخدام تقنية RT-qPCR، بغرض تحسين أدوات التشخيص وتوجيه العلاج بشكل أدق. أُجري التحليل لهذه الخصائص على 100 طفل مصاب باللوكيميا الحادة الذين تم تشخيصهم في الفترة الممتدة من 2020 إلى 2025، وقد أظهر غلبة سرطان الدم الليمفاوي الحاد بنسبة (67%)، وغلبة فئة الذكور (53%)، بالإضافة إلى انتشار المرض لدى الفئة العمرية من 2 إلى 6 سنوات. لوحظت لدى غالبية المرضى أعراض المتلازمة الورمية (79%)، المتلازمة النزفية (43%)، فقر الدم (51%)، نقص الصفائح الدموية (46%)، كثرة الكريات البيضاء (39%)، وارتفاع نسبة الخلايا الغير ناضجة في نخاع العظمي عند التشخيص (82.5%). أما البحث عن انتقال BCR-ABL، فقد تم على 16 طفلاً مصاباً بسرطان الدم الليمفاوي الحاد B، حيث تم الكشف عن هذا الخلل الجيني في حالتين، تم علاجهما باستخدام Imatinib وحققا استجابة علاجية كاملة.

تؤكد نتائج هذا العمل على أهمية التشخيص باستعمال تقنيات البيولوجيا الجزيئية في تتبع سير المرض، وتحديد أشكال اللوكيميا عالية الخطورة، والتوجه نحو بروتوكولات علاجية دقيقة تستهدف هذه الاضطرابات الوراثية بشكل مباشر.

الكلمات المفتاحية: لوكيميا الأطفال، BCR-ABL، RT-qPCR، اللوكيميا الليمفاوية الحادة من النوع B.

SOMMAIRE

I-INTRODUCTION	1
-----------------------------	---

II-RAPPELS

II.1. Les leucémies

II.1.1. Définitions	2
II.1.2. Classification	2
II.1.3. Leucémies pédiatriques	3
II.1.4. Epidémiologie	3
II.1.5. Symptômes	3
II.1.6. Etiologie multifactorielle	4
II.1.7. Facteurs pronostiques	4

II.2. physiopathologie de la leucémie aigue lymphoblastique

II.2.1. Altérations génétiques et épigénétiques	5
II.2.1.1. Translocations Chromosomiques	5
II.2.1.2. Aneuploïdie	5
II.2.1-3. Mutations génétiques	5
II.2.2. La translocation BCR-ABL dans la LAL pédiatrique	6
II.2.2.1. Chromosome Philadelphie	6
II.2.2.2. Variants transcriptionnels	6
II.2.2.3. Domaines fonctionnels	6
II.2.2.4. Voies de signalisation impliquée dans la LAL pédiatrique	8

II.3. Méthodes de diagnostic	9
---	---

II.4. Stratégies thérapeutique	10
---	----

III-MATERIEL ET METHODES

III-1 Matériel

III.1.1. Prélèvements	11
III.1.2. Equipements et réactifs biologiques	11

III.2- Méthodes

III.2.1. Détermination de la morphologie par frottis sanguin et moelle osseuse	12
III.2.2. Techniques d'Extraction de l'ARN totale	13
III.2.2.1. Technique d'Extraction de l'ARN totale semi-automatique	13
III.2.2.2. Technique d'extraction de l'ARN totale automatique	14
III.2.3. Contrôle qualitatif et quantitatif	15

III.2.4. Technique de transcriptase reverse polymerasechainreaction (RT-PCR).....	15
III.2.5. Polymerase Chain Reaction quantitative (Q-PCR)	18
III.2.6. Extraction d'ADN par la technique SALTING OUT	21
III.3. Analyse statistique	21

IV-RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Résultats de l'étude rétrospective

IV.1.1- Caractéristiques cliniques et biologique	22
IV.1.2- Résultats de la répartition des patients en fonction du type de leucémie	23
IV.1.3- Résultats de la répartition des patients en fonction du sexe	24
IV.1.4- Résultats de la répartition des patients en fonction de l'âge	25
IV.1.5- Résultats de l'évolution des patients en fonction des années	26
IV.1.6- Résultats de la répartition des patients en fonction des groupes sanguins	27
IV.1.7- Résultats de la répartition des patients en fonction des atteintes cliniques	28
IV.1.8- Répartition des patients en fonction des régions et de la consanguinité	29

IV.2. Résultats de l'étude prospective

IV.2.1- Caractéristiques cliniques et biologiques des patients	30
IV.2.2- Répartition des patients en fonction de la présence de la translocation BCR-ABL..	30
IV.2.3- Interprétation des résultats du frottis sanguin	31
IV.2.4- Résultats de l'extraction d'ADN et d'ARN	33
IV.2.5- Interprétation des résultats de la RT-qPCR.....	34
IV.2.6- Profil général des patients BCR-ABL négative	35
IV.2.7- Profil des patients BCR-ABL positive	35

V- DISCUSSION GENERALE

VI- CONCLUSION ET PERSPECTIVES

VII- REFERENCES

ANNEXES

LISTE DES FIGURES

<i>N°Figure</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Figure I	Structure du chromosome Philadelphie	7
Figure II	Les différents domaines de BCR et ABL1	7
Figures III	Principales voies régulées par la protéine BCR-ABL1	8
Figure IV	Différentes étapes d'extraction d'ARN automatique.	14
Figure V	Principe de la RT-PCR	16
Figure VI	Analyse d'expression génétique TaqMan (Thermo Fisher)	18
Figure VII	Programme de thermocycleur de la RT-PCR	20
Figure VIII	Répartition des patients en fonction des types	23
Figure IX	Répartition des patients en fonction du sexe	24
Figure X	Répartition des patients en fonction de l'âge	25
Figure XI	Evolution des patients en fonction des années	26
Figure XII	Répartition des patients en fonction des groupes sanguins	27
Figure XIII	Répartition des patients en fonction des manifestations cliniques et biologiques	28
Figure XIV	Répartition des patients en fonction des régions et de consanguinité	29
Figure XV	Répartition des patients en fonction de la présence de la translocation BCR-ABL	31
Figure XVI	Microphotographies du frottis sanguin coloré avec la coloration MGG (GX 100). (a) Eosinophiles; (b) Blastes; (c) Lymphocytes (Unité d'hémobiologie du laboratoire central HopitalParnet2025)	32
Figure XVII	Profil électrophorétique d'ADN chez les témoins. Gel d'agarose à 0.5% en présence du BET (0,5 µg/ml) suivie d'une visualisation sous UV	33
Figure XVIII	Electrophorèse sur gel d'agarose (2%) des ARN	33
Figure XIX	Résultats d'amplification PCR quantitative pour la translocation BCR-ABL1	34
Figure XX	Transformation leucémique de l'ontogenèse des lymphocytes B dans la LAL-B BCR-ABL+	38
Figure XXI	Action de l'Imatinib sur l'activité de BCR-ABL dans les cellules leucémiques (Repsold et <i>al.</i> , 2017).	38

LISTE DES TABLEAUX

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Tableau I	Les différents types de leucémie	2
Tableau II	Les transcrits BCR-ABL1 issus de la recombinaison génomique	6
Tableau III	Différentes étapes d'extraction d'ARN automatique.	17
Tableau IV	Étapes de la RT- PCR et Températures Correspondantes	17
Tableau V	Répartition des solutions	19
Tableau VI	Programme de Thermocycleur en Temps Réel	19
Tableau VII	Répartition des solutions par réaction de 25 μ L	20
Tableau VIII	Séquences des sondes et des amorces	20
Tableau IX	Analyse des critères cliniques et biologiques des patients	22
Tableau X	Caractéristiques des patients LAL-B	30
Tableau XI	Résultats de la q-PCR	34

Liste des abréviations utilisées dans le texte

ABL :Abelson murine Leukemia	LAM : Leucémie aigue myéloïde
ADN : Acide désoxyribonucléique	LAPM : Leucémie aigue à phénotype mixte
ADNc : ADN complémentaire	LLC : Leucémie lymphoïde chronique
AKT :Protein Kinase B	LMC : Leucémie myéloïde chronique
ARN :Acideribonucléique	MEK : Mitogen-Activated Protein Kinase
BCR : Breakpoint Cluster Region	miR : Micro RNA
CAR-T :Chimeric Antigen Receptor T-cell	MLL :Mixed-Lineage Leukemia
CD : Cluster of Differentiation	mTOR : Mechanistic Target Of Rapamycin
CDKN2A/B : Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A/B	NPM1 :Nucléophosmine
CEBPA : CCAAT Enhancer Binding Protein Alpha	OMS : Organisation mondiale de la santé
CIP-1 : CDK Interacting Protein 1	OPN : Ostéopontine
CSH : Cellule souchehématopoïétique	PAX5 : Paired box gene 5
DNase :Deoxyribonuclease	PCR :Polymerase Chain Reaction
DNTP :Deoxynucleotide Triphosphate	PI3K : Phosphoinositide 3-Kinase
DTT :Dithiothreitol	Q-PCR : Quantitative Polymerase Chain Reaction
EDTA :Éthylène diamine tétraacétate	RAF :Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
EGIL :European Group for the Immunological Characterization of Leukemias	RAP1 : RAS-related protein 1
ELK : ETS-Like transcription factor 1	RAS : Rat Sarcoma viral oncogene
ERK : Extracellular signal-Regulated Kinase	RNase :Ribonuclease
ETV6 :ETS Variant Transcription Factor 6	RT-PCR :Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
FAB : French-American-British	RUNX :Runt-related transcription factor 1
FISH :Fluorescence In Situ Hybridization	Ser/Thr :Sérine/Thréonine
FLT3 : FMS-like tyrosine kinase 3	SH2 :Src Homology 2 domain
GAB2 : GRB2-associated binding protein 2	SKP2 : S-phase kinase-associated protein 2
GRB2 : Growth factor receptor-bound protein 2	STAT5 : Signal Transducer and Activator of Transcription 5
IKZF1 : IKAROS family zinc finger 1	TBE :Tris-Borate-EDTA
JAK2 :Janus Kinase 2	TCF3 :Transcription factor 3
KMT2A :LysineMethylTransferase 2A	TK : Tyrosine kinase
LAL : Leucémie aigue lymphoblastique	TNF :Tumor Necrosis Factor
LAL-B : Leucémie aigue lymphoblastique de type B	TP53 : Tumor Protein p53
LAL-T : Leucémie aigue lymphoblastique de type T	TRAIL : TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand
	WAF-1 : Wild-type p53-Activated Fragment 1

I-INTRODUCTION

Introduction

Les leucémies aiguës se caractérisent par la prolifération incontrôlée de cellules immatures, incapables de se différencier, dans les tissus hématopoïétiques touchant principalement la lignée myéloïde et lymphoïde (Rodriguez et *al.*, 2024) avec une prédominance de la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) affectant les lymphocytes B et T (Adar et *al.*, 2024) qui résulte de divers mécanismes moléculaires aberrants, notamment des altérations du cycle cellulaire, des mutations génétiques et des translocations chromosomiques (Munir et *al.*, 2023).

La translocation t(9;22)(q34;q11) du chromosome Philadelphie aboutit à la formation du gène de fusion BCR-ABL qui code pour une protéine chimérique avec une activité tyrosine kinase constitutive de mauvais pronostic détectée dans la LAL-B chez l'enfant (Yan et *al.*, 2024). Le diagnostic de l'anomalie repose sur des examens cytogénétiques et moléculaires notamment la RT-qPCR qui permet de détecter la présence du gène BCR-ABL1 et de suivre l'évolution de la maladie chez les patients sous traitement (Li et *al.*, 2024).

La recherche de la translocation BCR-ABL met en évidence des alternatives thérapeutiques ciblées de la LAL infantile, spécifiquement les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) notamment **l'Imatinib** utilisé en association avec la chimiothérapie pour le traitement des patients atteints de LAL-Ph+ (Ray et *al.*, 2024) permettant d'obtenir une rémission complète dans 20 à 60% des cas (Munir et *al.*, 2023).

L'objectif de notre étude est la caractérisation des leucémies aiguës pédiatriques ainsi que la recherche de la translocation BCR-ABL chez les enfants atteints de leucémie aiguë lymphoïde afin de :

- Contribuer à élargir les données épidémiologiques, cliniques et biologiques concernant les patients atteints de leucémies aiguës pédiatriques.
- Déterminer la fréquence de la translocation BCR-ABL1 chez les patients pédiatriques atteints de leucémie aiguë lymphoblastique de type B
- Mettre en évidence l'importance du diagnostic moléculaire (RT-qPCR) pour l'orientation thérapeutique et la prédiction des marqueurs pronostiques.

II- RAPPELS

Rappels

II.1. LES LEUCEMIES

II.1.1. Définitions

La leucémie est une hémopathie maligne clonale qui résulte d'une transformation anormale des cellules souches hématopoïétiques (CSH) au cours du processus d'hématopoïèse et qui conduit à l'accumulation de cellules leucémiques qui infiltrent la moelle osseuse, le sang, et dans certains cas d'autres organes suite à des aberrations de divers mécanismes moléculaires tels que la prolifération incontrôlée, le blocage de la différenciation et la réduction de l'apoptose (Ma et *al.*, 2021).

II.1.2. Classification

La classification des leucémies est basée principalement selon :

- Classification de l'OMS (Organisation Mondiale de la santé) (Annexe 1) qui repose sur des anomalies cytogénétiques et moléculaires (Juliusson& Hough, 2016).
- Classification FAB (French-American-British) fondée sur des critères morphologiques des cellules leucémiques (Szczepanek, 2020).
- Classification EGIL (European Group for the Immunological Characterization of Leukemias) qui s'appuie sur l'analyse immunophénotypique des cellules leucémiques (Mahdaoui et *al.*, 2023).

Les leucémies sont différenciées selon des critères déterminants en différents types (Tableau I).

Tableau I : Les différents types de leucémie

Critères	Types	Caractéristiques	Références
Blastes (%)	Aigue	Seuil supérieur à 20 % de blastes dans le sang périphérique et la moelle osseuse.	(Chennamadhavuni et <i>al.</i> , 2023)
	Chronique	Seuil inférieur à 20 % de blastes avec une progression lente.	
Origine cellulaire	Lymphoïde	Dérivée des cellules de la lignée lymphoïde (lymphocytes B et T).	(Nemkov et <i>al.</i> , 2018)
	Myéloïde	Dérivée des cellules de la lignée myéloïde (érythrocytes, neutrophiles, monocytes...).	

Leucémie aigue lymphoïde (LAL), leucémie aigue myéloïde (LAM), leucémie chronique lymphoïde (LLC), leucémie chronique myéloïde (LMC). (Chennamadhavuni et al., 2023)

Rappels

II.1.3. Leucémies pédiatriques

Les leucémies pédiatriques représentent 30 % des maladies qui touchent les enfants moins de 15 ans (Rodriguez et *al.*, 2024) dont la majorité sont touchés par la forme aiguë qui se caractérise par la prolifération de cellules cancéreuses immatures, appelées « **blast**es » qui se multiplient de manière incontrôlée sans parvenir à maturité, ce qui les empêche d'exercer leurs fonctions normales et elles envahissent la moelle osseuse (Quessada et *al.*, 2021).

II.1.3.1. *Leucémies aiguës lymphoblastiques*

Les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) Représentent 75% des leucémies aiguës chez l'enfant et affectent la lignée des lymphocytes (Rodriguez et *al.*, 2024).

Les LAL de la lignée B (LAL-B) représentent 85% des cas et surviennent principalement entre 1 et 4 ans (Lejman et *al.*, 2022), tandis que Les LAL de la lignée T (LAL-T), une forme rare de leucémie lymphoblastique, représentent 10 à 15% des cas avec une incidence plus élevée chez les adultes (Lato et *al.*, 2021).

II.1.3.2. *Les leucémies aiguës myéloblastiques*

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) représentent 20 % des cas pédiatriques et affectent les précurseurs des globules blancs et plus rarement des globules rouges ou des plaquettes (Rodriguez et *al.*, 2024).

II.1.3.3. *Les leucémies aiguës à phénotype mixte*

La leucémie aiguë à phénotype mixte (LAPM) est un type rare de leucémies aiguës qui représente 2 à 5% des cas pédiatriques, caractérisé par l'accumulation des mutations et l'affection combinée des progéniteurs hématopoïétiques des deux lignées cellulaires, lymphoïde et myéloïde (B/Myéloïde – T/Myéloïde) (Inaba&Mullighan, 2020).

II.1.4. Epidémiologie

Le taux d'incidence mondial des leucémies pédiatriques en 2020 est estimé à environ 4,8 cas pour 100 000 enfants âgés de 0 à 14 ans. Le taux d'incidence est plus élevé dans l'Amérique du Nord, l'Europe et l'Océanie et plus faible en Afrique et en Asie (Ibrahimova et *al.*, 2021).

II.1.5. Symptômes

Chez les enfants, les signes cliniques de la LAL et de la LAM peuvent apparaître de manière similaire sous forme de pâleur, fatigue, faiblesse, perte d'appétit, fièvre, tachycardie, douleurs osseuses et articulaires, troubles du sommeil, des changements de comportement, un manque de concentration, des pétéchies, anémie, thrombopénie et neutropénie (Erdem&Toruner, 2017).

Rappels

II.1.6. Etiologie multifactorielle

L'étiologie des leucémies pédiatriques est complexe et multifactorielle, impliquant une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux.

II.1.6.1. Facteurs génétiques

- **Prédisposition héréditaire** : certains syndromes génétiques influencent le développement de la leucémie aigüe tel que la Trisomie 21, la neurofibromatose de type 1, le syndrome de Bloom dans la LAL et l'anémie de Fanconi, le syndrome de Li-Fraumeni dans la LAM.
- **Mutations familiales** : des mutations dans des gènes (CEBPA, RUNX1) peuvent augmenter le risque de développement de la LAM.
- **Mutations génétiques acquises** : des translocations chromosomiques (t (9 ; 22)) et des mutations génétiques (FLT3, NPM1, et CEBPA dans la LAM) (Tripathi & Chuda, 2025).

II.1.6.2. Facteurs environnementaux

- Radiations ionisantes et non ionisantes.
- Les solvants organiques (benzène et formaldéhydes...) et les pesticides.
- L'exposition à des agents infectieux (Polychronakis et al., 2013).
- Les infections virales, bactériennes et fongiques (Tebbi, 2021).

II.1.7. Facteurs pronostiques

- **L'âge** : constitue un facteur déterminant dans le pronostic des leucémies pédiatriques. La LAL est plus fréquente entre 1 et 4 ans avec un pronostic plus favorable chez les enfants âgés de 1 à 9 ans et moins bon chez les nourrissons et les adolescents de 15 à 19 ans tandis que la LAM est plus fréquente chez les nourrissons avec un pronostic défavorable chez les enfants de moins de 5ans (Ciesielska et al., 2024).
- **Le sexe** : les garçons sont plus susceptibles de développer les leucémies (LAL ou LAM) que les filles quelquesoit leur origine avec un taux de survie plus faible (Ciesielska et al., 2024).
- **L'origine ethnique** : L'origine ethnique influence le pronostic de la LAL pédiatrique en raison de variations génétiques, de sous-types moléculaires spécifiques à certaines populations (Lee et al., 2022).

Rappels

II.2. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA LEUCEMIE AIGUE LYMPHOBLASTIQUE

Le développement de la leucémie aigüe lymphoblastique implique des mécanismes génétiques et moléculaires anarchiques qui se traduisent par différentes altérations génétiques et épigénétiques ainsi que des voies de signalisation aberrantes.

II.2.1. Altérations génétiques et épigénétiques

II.2.1.1. *Translocations Chromosomiques*

Aboutissent à la formation de gènes de fusion codant pour des protéines oncogéniques. Les plus fréquentes sont :

- t (9 ; 22) (q34 ; q11) conduit à la fusion BCR-**ABL1** qui est de mauvais pronostic.
- t (12 ; 21) (p13 ; q22) conduit à la fusion ETV6-RUNX1.
- t (1 ; 19) (q13 ; p13) conduit à la fusion TCF3-PBX1 (Inaba&Mullighan, 2020).

II.2.1.2. *Aneuploïdie*

Une anomalie du nombre de chromosomes fréquente dans les LAL pédiatriques notamment la LAL-B qui présente une Hyperdiploïdie élevée (>50 chromosomes), une Hypodiploïdie faible (31-39 chromosomes) ou Une haploïdie quasi-masquée (24 à 30 chromosomes) (Inaba&Mullighan, 2020).

II.2.1.3. *Mutations génétiques*

Mutation du facteur de transcription PAX5 fréquente dans la LAL-B et des gènes de signalisation RAS et JAK2 ainsi que des mutations dans le gène ETV6, TP53 (Inaba&Mullighan, 2020) et IKZF-1 qui code pour la protéine de la famille des facteurs de transcription IKAROS (Stanulla et *al.*, 2019) ; des mutations inactivatrices dans le gène CDKN2A/B, un régulateur du cycle cellulaire (annexe 2) (Kang et *al.*, 2016).

II.2.1.4. *Altérations épigénétiques*

Dans les leucémies, trois variations épigénétiques s'impliquent : l'hyperméthylation de l'ADN, les modifications des histones et les expressions aberrantes des micros ARN (Liu et *al.*, 2020). La dérégulation de l'expression des miARN est une caractéristique utile pour la classification des sous-types génétiques de la leucémie aigüe (Rodriguez et *al.*, 2024), le diagnostic et le pronostic (Li et *al.*, 2024). Dans les leucémies pédiatriques l'expression des mi-ARN oncogènes (miR-155 associé aux LAL pédiatriques) est de mauvais pronostic, cependant les mi-ARN suppresseurs de tumeurs (miR-127 associé aux LAL-B) sont de pronostic favorable et bloquent l'expression des proto-oncogènes ce qui les rends comme cible thérapeutique majeure (Szczepanek, 2020).

Rappels

II.2.2. Translocation BCR-ABL dans la LAL pédiatrique

La translocation BCR-ABL crée le gène de fusion Bcr-Abl qui code pour une protéine à activité tyrosine kinase élevée, qui provoque l'apparition de la LAL-Ph positive.

II.2.2.1. Chromosome Philadelphie

Le chromosome de Philadelphie (Ph) est détecté dans 2 à 3 % des cas de LAL pédiatriques (Rodriguez et al., 2024) notamment dans les cas de LAL-B ainsi que les cas de LMC. Il résulte d'une translocation réciproque t (9;22) (q34;q11) (figure I.A) qui entraîne la fusion entre BCR (chromosome 22, bras long) et ABL1 (chromosome 9, bras long) (Kang et al., 2016).

II.2.2.2. Variants transcriptionnels

La recombinaison génomique entre BCR et ABL génère le gène de fusion BCR-ABL1 qui produit trois isoformes de la protéine BCR-ABL1 (p210, p190 et p230) (tableau II) avec une forte activité tyrosine kinase (TK). L'emplacement des points de cassure génomiques BCR et ABL1 est très variable (figure I.B) et concerne l'intron 1, l'intron 13/14 ou l'exon 19 de BCR et une région de 140 kb entre les exons 1b et 2 de ABL1 (Kang et al., 2016).

Tableau II: Les transcrits BCR-ABL1 issus de la recombinaison génomique

Recombinaison génomique		Transcrit de BCR-ABL1	Protéine hybride
BCR	ABL		
Exon 1	Exon 2	m-BCR (e1a2)	P190 (190kDa)
Exon 13 ou 14	Exon 2	M-BCR (e13a2 ou e14a2)	P210 (210kDa)
Exon 19	Exon 2	μ-BCR (e19a2)	P230 (230 kDa)

II.2.2.3. Domaines fonctionnels

La protéine BCR-ABL1 contient plusieurs domaines provenant à la fois de BCR et d'ABL1 (figure II.b).

- **Les domaines de BCR** : Domaine spiralé N-terminal (1 à 63 AA), domaine de kinase Ser/Thr contenant un site d'amarrage (tyrosine phosphorylée 177, Y177) pour la protéine adaptatrice GRB2 (récepteur du facteur de croissance 2) et domaine de kinase de la famille des gènes homologues ras/facteurs d'échange de nucléotides guanine (Rho/GEF) (298 à 413 AA).
- **Les domaines d'ABL1** : Des domaines d'homologie src (SH) (SH1/SH2), un domaine riche en proline et des domaines de liaison à l'ADN et à l'actine (Kang et al., 2016).

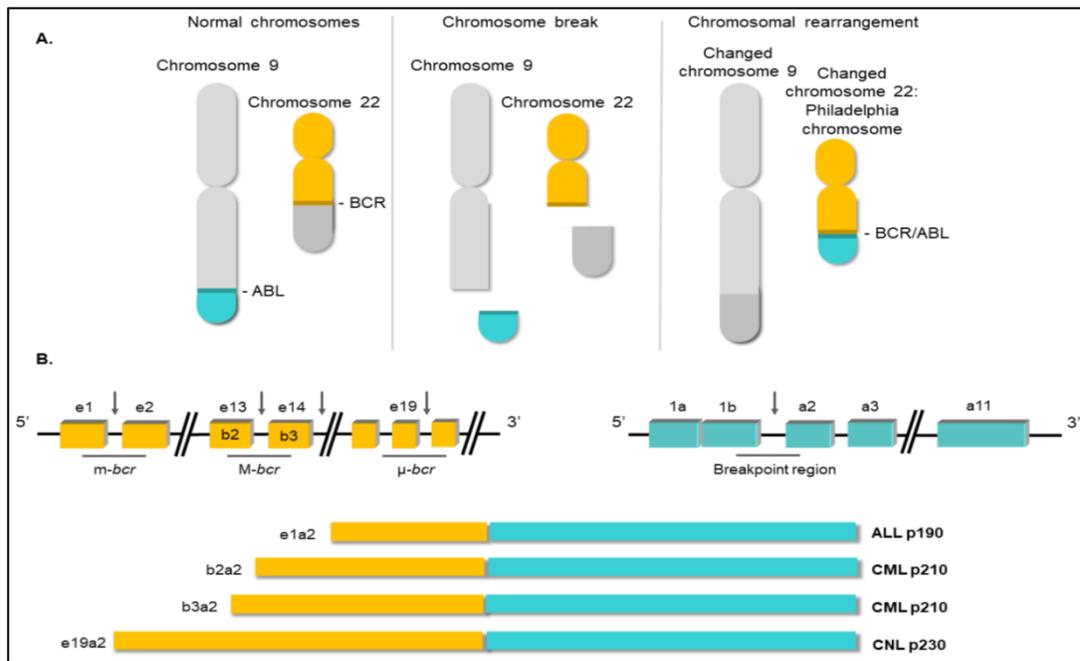


Figure I : Structure de chromosome Philadelphie (Vuelta et al., 2021)

(A) La translocation $t(9;22)(q34;q11)$, (B) L'emplacement des points de cassure et la fusion entre BCR et ABL1. Dans la LAL, les points de cassure sur ABL1 se situent entre les exons 1b et 2 tandis que sur BCR, ils se trouvent dans la région m-BCR (exons 1) résultant des protéines de fusion BCR-ABL1

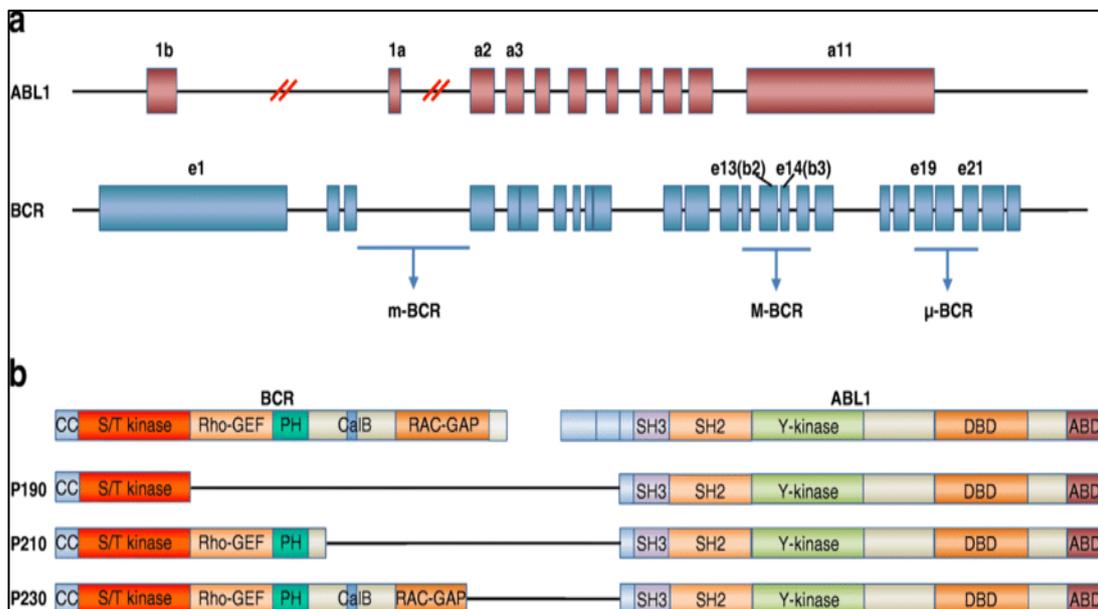


Figure II : les différents domaines de BCR et ABL1 (Zhou et al., 2018)

BCR : CC (domaine d'oligomérisation spiralé), S/T kinase (sérine/thréonine kinase), Rho-GEF (facteur d'échange de type Rho/DBL-like), PH (domaine d'homologie de la pleckstrine), CalB (liaison aux lipides dépendante du calcium), RAC-GAP (protéine activatrice des GTPases de type RAC, tronquée). **ABL1** : SH3 et SH2 (domaines d'homologie SRC), Y-kinase (tyrosine kinase), DBD (domaine de liaison à l'ADN), ABD (domaine de liaison à l'actine).

Rappels

II.2.2.4. Voies de signalisation impliquées dans la LAL pédiatrique

La translocation BCR-ABL1 provoque une autophosphorylation de la protéine de fusion, une perte du domaine N-terminal et une hyperactivation du domaine kinase d'ABL-1 entraînant une prolifération excessive des cellules leucémiques, un blocage de la différenciation cellulaire et une résistance à l'apoptose (Figure III).

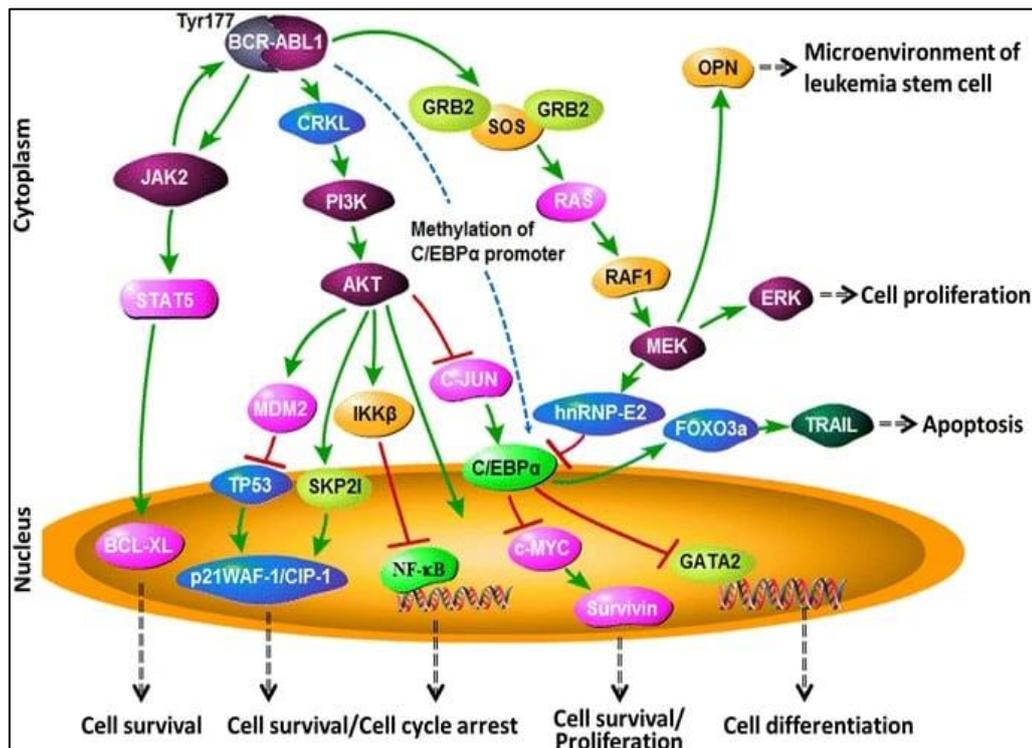


Figure III : Principales voies régulant la protéine BCR-ABL1 (Kang et al., 2016)

La voie de signalisation JAK2-STAT5 est activée de manière anormale suite à l'activation de la Janus kinase JAK2 qui phosphoryle directement le BCR-ABL1 au niveau du domaine Y177 ce qui permet une progression du cycle cellulaire et une survie des cellules leucémiques lymphoïdes. L'activation de la voie PI3K-AKT-mTOR induit l'expression de Skp2 (protéine 2 associée à la kinase de phase S) et augmente l'expression de la p21 (p21WAF-1/CIP-1), inhibiteur de la kinase dépendante de la cycline cytosolique, pour l'échappement à l'arrêt du cycle cellulaire et la prolifération des cellules leucémiques. La voie RAS/RAF/MEK/ERK est activée suite à l'activation de RAS via la phosphorylation de la GAB2 (protéine de liaison associée à GRB2/GRB2 2) dépendante de la phosphorylation d'Y177 de BCR et active RAPI (liée à RAS) ce qui stimule l'activation de la B-RAF stimulant ainsi la voie MEK/ERK/ELK-1 et donc la prolifération incontrôlée des cellules leucémiques. La surexpression de l'ostéopontine (OPN), une protéine de la niche des cellules souches dans les cellules exprimant BCR-ABL1, médiée par la voie RAS/RAF/MEK/ERK favorise le maintien du microenvironnement des cellules souches leucémiques. La sous-expression de TRAIL (TNFSF10) est un ligand inducteur d'apoptose, appartenant à la famille du facteur de nécrose tumorale (TNF) conduit à l'échappement des cellules leucémiques à l'apoptose.

Rappels

II.3. Méthodes de diagnostic

Le diagnostic de la leucémie repose sur des examens cliniques, biologiques et moléculaires visant à confirmer la présence de cellules leucémiques, à déterminer leur origine, et à orienter la prise en charge thérapeutique.

II.3.1. Examens hématologiques de base

- **Hémogramme et frottis sanguin** : permet d'observer une augmentation anormale des globules blancs, une anémie, une thrombopénie, ainsi qu'une présence de blastes circulants sur le frottis sanguin.
- **Le myélogramme** : permet de quantifier les cellules leucémiques médullaires (cellules immatures) de la moelle osseuse
- **Dosage des marqueurs biochimique et inflammatoire** : permet d'évaluer l'état général du patient. Il comprend la mesure de la créatininémie, l'urée, la bilirubine totale, les transaminases ainsi que la vitesse de sédimentation (Li et al., 2024).

II.3.2. Immunophénotypage

L'immunophénotypage par cytométrie en flux multiparamétrique permet de caractériser les blastes en fonction du profil antigénique. Des anticorps fluorescents sont utilisés pour détecter des marqueurs spécifiques (ex : CD3, CD7, CD19, CD20, CD34...), permettant de distinguer les leucémies lymphoïdes des myéloïdes, et d'orienter le diagnostic final (Li et al., 2024).

II.3.3. Analyses moléculaires et cytogénétiques

- **Caryotypage** : Permet d'analyser les chromosomes et de détecter les altérations. Ces anomalies ont une valeur pronostique et peuvent influencer le choix du traitement.
- **FISH(hybridation in situ en fluorescence)** : permet de détecter les translocations chromosomiques visibles et cryptiques, offrant une analyse plus fine que le caryotype classique.
- **PCR (Polymerasechainreaction)** : Permet de détecter des anomalies moléculaires spécifiques (le gène de fusion **BCR-ABL1**) et de suivre la maladie résiduelle après traitement (Li et al., 2024).

Rappels

II.4. Stratégies thérapeutiques

La prise en charge thérapeutique de la leucémie aiguë repose sur une combinaison de traitements adaptés au type de leucémie, aux caractéristiques moléculaires, biologiques et cliniques du patient. L'objectif est d'éliminer les cellules leucémiques, restaurer une hématopoïèse normale et de prévenir les rechutes.

- **Chimiothérapie** : administrée en trois phases pour une rémission complète et pour la prévention de toute rechute.
 - Induction avec les corticoïdes, la vincristine, l'asparginase et l'anthracycline.
 - Consolidation avec la cytarabine, le méthotrexate, l'anthracycline et les agents alkylant.
 - Entretien avec le 6-mercaptopurine, le méthotrexate, la vincristine, les corticoïdes et l'intrathécale (Huang et *al.*, 2020).

- **Agents moléculaires ciblés** (tableau II-3 annexe1) : qui ciblent les mutations génétiques et les voies de signalisation impliquées dans la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) ainsi que les cellules leucémiques tout en préservant les cellules saines (Imatinib, Dasatinib, Vénétoclax).

- **Immunothérapie** : une alternative thérapeutique à base d'anticorps (Blinatumomab, Inotuzumabozogamicine) ou à base de cellules T (CAR T) (tableau II.3 annexe 1) dans les formes résistantes ou en rechute de LAL (Inaba&Mullighan, 2020).

- **Grefe de moelle osseuse** : Une stratégie thérapeutique essentielle pour le traitement des LAL et LAM pédiatriques qui suit une chimiothérapie intensive notamment chez les patients à risque élevé de rechute ou qui ont déjà rechuté. Elle consiste à faire introduire des cellules souches hématopoïétiques saines dans la circulation sanguine de l'enfant afin de restaurer l'activité de la moelle osseuse de manière allogénique (les CSH proviennent d'un donneur ayant un type de tissus compatible à celui du patient) ou autologue (la réintroduction des CSH du patient lui-même) (Rodriguez et *al.*, 2024).

**III- MATERIEL
ET
METHODES**

III-MATERIEL ET METHODES

III.1. Matériel

Notre travail rentre dans le cadre de projet des Programmes Nationaux de Recherche (PNR) N 03/78/DFPR/ATRSSV/22, dont le thème est : Apport de la biologie moléculaire dans la prise en charge de la maladie résiduelle dans les leucémies de l'enfant en Algérie.

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire central de l'hôpital CHU NefissaHamoud pendant 4 mois de Février-Mai. Nous avons réalisé :

- Une étude rétrospective de 2020- 2025 a porté sur **100** patients atteints de leucémie aigüe pédiatrique traités par chimiothérapie et/ou radiothérapie dans le service d'oncologie pédiatrique dirigé par Pr Zeroual et Pr Benmouffak, chez qui nous avons exploité les résultats en fonction des caractéristiques cliniques et biologiques (FNS, biochimie, frottis sanguin, myélogramme, immunophénotypage et génétique).
- Une étude prospective qui a porté sur **16** patients atteints de leucémie aiguë lymphoblastique B (LAL-B), d'âge moyen de **5 ans**, prélevés au niveau du service d'oncologie pédiatrique de l'hôpital CHU NefissaHamoud (Ex : Parnet).Le diagnostic moléculaire et génétique a été réalisé à l'unité de Biologie moléculaire et l'unité d'hémobiologie du laboratoire central.

III.1.1. Prélèvements

- Les prélèvements des patients (5 ml) sont réalisés dans un tube en présence d'un anticoagulant type EDTA, qui est un chélateur ou un inhibiteur de l'action des enzymes nucléases, permettant ainsi de préserver l'intégrité de l'ADN et de l'ARN, pour la recherche de la translocation, les autres prélèvements sont réalisés sur un tube sec et héparine.
- Les prélèvements sont accompagnés d'une fiche de renseignements (annexe 7) avec le consentement éclairé des patients et les parents.

III.1.2. Equipements et réactifs biologiques

III.1.2.1. Equipements (annexe 3)

III.1.2.2. Réactifs biologiques (annexe 4)

III.2- Méthodes

III.2.1. Détermination de la morphologie par frottis sanguin et de moelle osseuse

Principe

Le frottis est une technique qui permet d'évaluer la morphologie des cellules sanguines (érythrocytes, leucocytes et plaquettes), permettant la différenciation des types cellulaires et la détection d'éventuelles anomalies hématologiques, notamment les leucémies aiguës (Vu et *al.*, 2021).

Mode opératoire

- Prélever une goutte de 1ml de sang total ou de moelle osseuse dans un tube en présence d'un anti coagulant EDTA et la déposer avec une micropipette près de l'extrémité d'une lame de verre stérile.
- Placer une autre lame étaleuse, inclinée à environ 45° et la goutte de sang s'étale par capillarité sur la surface de la lame.
- Sécher la lame à l'air libre pendant 10 min et la colorer avec le May-Grünwald (MG) contenant des dérivés du bleu de méthylène et de l'éosine et incuber pendant 4 min à 37°.
- Eliminer le tampon et incuber pendant 4 min puis éliminer l'excès.
- Ajouter la solution de Giemsa diluée (30 ml de l'eau 750de Giemsa) et incuber pendant 20 min à température ambiante.
- Rincer la lame avec de l'eau du robinet, et la sécher puis l'observer au microscope optique (Gx100) pour l'analyse morphologique des cellules.

III.2.2. Techniques d'Extraction de l'ARN totale

Nous avons utilisé deux techniques d'extraction d'ARN totale. Une technique semi-automatique (PureLink® RNA Mini Kit), et une technique par automate (nucleicacid extraction kit Ianlong).

III.2.2.1. Technique d'Extraction de l'ARN totale semi-automatique

Principe

Cette technique repose sur la lyse cellulaire qui permet de libérer l'ARN contenu dans les cellules sanguines. Une fois que l'ARN libéré, il est protégé de la dégradation en utilisant des agents chimiques spécifiques. Ensuite, il est isolé des autres constituants cellulaires, tels que l'ADN, les protéines et les lipides pour obtenir un ARN pur total, utilisé pour la transcription inverse en ADN complémentaire (ADNc) pour l'analyse des gènes spécifiques, la PCR en temps réel pour quantifier l'expression génique (Chen,*etal.*, 2023).

Mode opératoire

- Prélever 200 µl de sang total à l'aide d'une pipette et transférer dans un tube Eppendorf (1.5ml), ajouter 200 µl de tampon de lyse et agiter le tube en vortexant pour assurer la lyse cellulaire.
- Centrifuger le tube à 12000 x g pendant 2 minutes afin de séparer les composants cellulaires (protéines, lipides) du surnageant contenant l'ARN.
- Transférer le surnageant dans un autre tube Eppendorf en Évitant de perturber le culot et ajouter 200 µl d'éthanol absolu au surnageant pour précipiter l'ARN.
- Homogénéiser en vortexant et transférer le surnageant dans une mini colonne de chromatographie échangeuse d'ion fixée dans un tube de collecte, Centrifuger à 12000 x g pendant 15 secondes à température ambiante.
- Eliminer le flux en prenant soin de ne pas perturber le culot et ajouter 80 µl de DNase et 350 µl de tampon de lavage I à la mini colonne. Centrifuger à 12000 x g pendant 15 s, éliminer le flux et le tube de collecte.
- Ajouter 500 µL de tampon de lavage II en présence de l'éthanol. Centrifuger à 12000 x g pendant 15 s, éliminer le flux et faire un 2ème lavage avec la même solution.
- Transférer la mini colonne dans le tube de récupération et ajouter entre 30 - 100 µL d'eau ultra pure sans RNase pour récupérer l'ARN purifié.
- Incuber pendant 1 minute pour permettre la dissolution complète de l'ARN et centrifuger à 12000 x g pendant 2 minutes pour l'élution de l'ARN dans le fond du tube puis conserver dans de la glace ou stocker à -80°C à long terme (PureLink® RNA Mini Kit.2012).

III.2.2.2. Technique d'extraction de l'ARN totale automatique

Principe

La purification basée sur des billes magnétiques implique l'utilisation de polymères synthétiques, de verre poreux ou de particules magnétiques d'un diamètre de 0,5 à 10 μm . Lorsque l'agrégation magnétique commence, la suspension est regroupée pour assurer une extraction uniforme. Les billes magnétiques offrent une méthode simple et fiable pour extraire de l'ADN, de l'ARN, des protéines et d'autres biomolécules à partir de divers types d'échantillons. Cette méthode élimine le besoin de centrifugation ou d'autres étapes longues, ce qui la rend idéale pour le traitement à haut débit, comme l'automatisation (Figure IV).

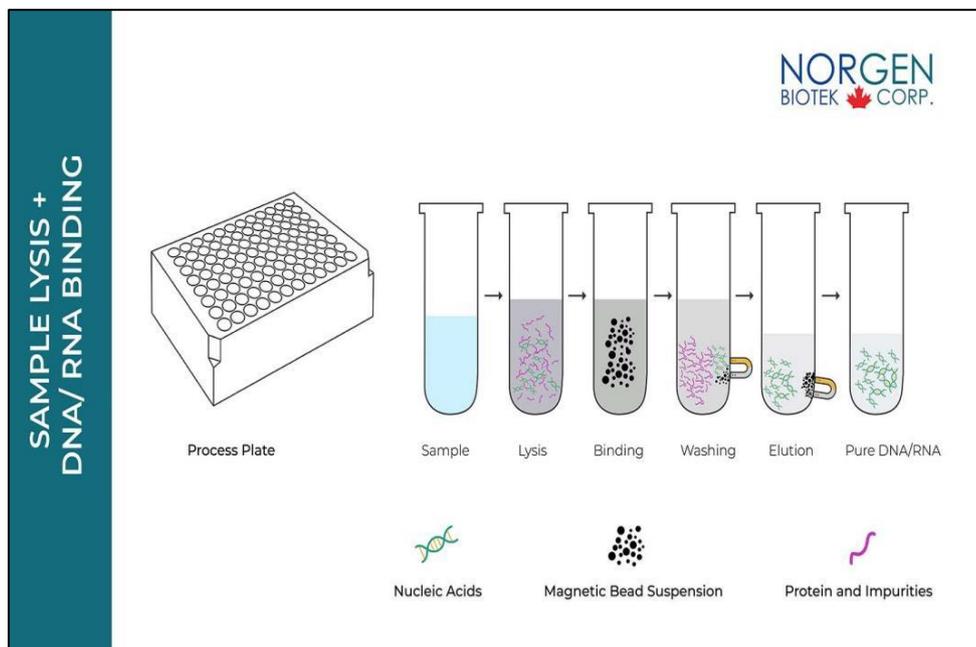


Figure IV : Différentes étapes d'extraction d'ARN automatique.

Mode opératoire

- Déposer 200 μl de sang total avec 20 μl de réactif dans le premier puit de la plaque.
- Placer la plaque et la barrette dans l'automate (programmer pour un seul échantillon).
- Après 20 mn l'ARN est récupéré dans le dernier puit de la plaque.
- L'ARN doit être stocké à 4 $^{\circ}\text{C}$ pour un court terme et à -80°C à long terme.

III.2.3. Contrôle qualitatif et quantitatif

Contrôle de qualité d'ARN et d'ADN par électrophorèse

L'électrophorèse sur gel d'agarose à pH = 8,3, est une méthode simple et efficace pour la séparation, l'identification et la purification des fragments d'ARN et d'ADN. Elle consiste à faire migrer dans un gel soumis à un champ électrique des molécules chargées négativement. Leur distance de migration dépend principalement de leurs poids moléculaires, de la concentration d'agarose et de l'intensité du courant appliqué.

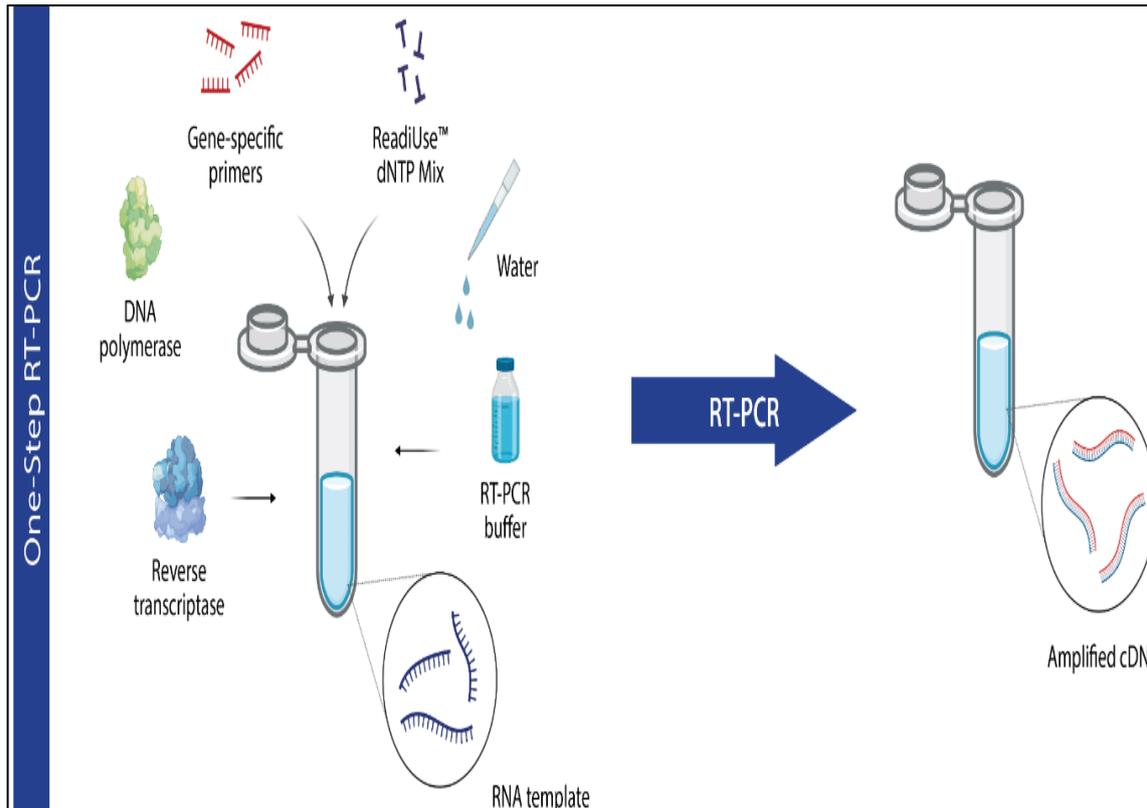
Mode opératoire

- Préparer un gel d'agarose à 2 % dans un tampon Tris – acétate – EDTA (TAE) (1M Tris, 200 mM Acétate, 50 mM EDTA), pH 8 contenant 0,5 µg/ml de bromure d'éthidium pour le contrôle de l'ARN et à 0,5% pour le contrôle d'ADN.
- Préparer les échantillons de façon suivante : 5 µl d'ARN ou d'ADN génomique et 5 µl de bleu de dépôt (0,05 % bleu de bromophénol, 60% glycérol).
- Déposer 10 µl des différents échantillons dans les différents puits du gel et le contrôle positif (ARN/ADN humain) de poids moléculaire variable.
- Faire migrer le gel dans le tampon Tris Acide Borique et EDTA (TBE) (0,5 M) pendant 30 mn à 100 V.
- Révéler l'ARN ou l'ADN par exposition du gel aux rayons UV.

III.2.4. Technique de transcriptase reverse polymerasechainreaction (RT-PCR)

Principe

La réaction de transcription inverse-PCR (RT-PCR) est une technique essentielle en biologie moléculaire qui implique deux étapes principales. Tout d'abord, la transcription inverse utilise la transcriptase inverse pour convertir l'ARN en ADN complémentaire (ADNc) (Figure V). Ensuite, l'amplification PCR amplifie sélectivement la région ADNc d'intérêt en utilisant des amorces spécifiques. Cette méthode permet la détection et l'analyse des produits de PCR, qui peuvent être visualisés par électrophorèse sur gel ou quantifiés à l'aide de la qPCR. La RT-PCR trouve de nombreuses applications dans l'analyse de l'expression génique, la détection des pathogènes et la caractérisation des ARN non codants, permettant la conversion de l'ARN en ADN et l'amplification ciblée de régions spécifiques pour des analyses moléculaires ultérieures (Tantray *et al.*, 2023).



FigureV: Principe de la RT-PCR

Mode opératoire

- La synthèse d'ADNc est réalisée par la technique RT-PCR en présence de 1 μ l d'ARN totale resuspendu dans 10 μ l d'eau ultra pure dans un tube à PCR (100 μ l).
- Après Incubation à 70°C pendant 10 minutes dans un thermocycleur, refroidir le tube dans de la glace et ajouter les solutions pour un volume final de 20 μ l (tableau III).
- Déposer les tubes (200 μ l) de PCR dans un thermocycleur selon le programme (tableau IV)
- Après 1h de programme, diluer l'ADNc avec 30 μ l d'eau ultra pure, (conserver à -20°C) (Van Dongen *et al.*, 1999)

Tableau III : Répartition des solutions et réactifs pour préparation RT mix

Solutions et réactifs	Volume (μl)
Transcriptase inverse (100 U)	1
Tampon RT (1mM)	2
dNTP (1mM)	0,8
DTT (10mM)	0.8
Primaires aléatoires (25mM)	2
Inhibiteur de ARNase (20 U)	1
H2O	4,2
ARN totaux	10
Volume finale	20

Tableau IV : Étapes de la RT- PCR et Températures Correspondantes

Étapes	Température (°C)	Temps (min)
Dénaturation	25	10
Hybridation	42	45
Élongation	99	3
	4	∞

III.2.5. Polymerase Chain Reaction quantitative (Q-PCR)

Principe

La Q-PCR, également connue sous le nom de PCR en temps réel, permet la détection des produits de PCR en temps réel, fournissant des résultats immédiats sur l'amplification de l'ADN cible. Cette méthode permet la quantification de la quantité initiale de modèle d'ADN présente dans la réaction de PCR. En mesurant la fluorescence émise pendant la réaction, le nombre de produits de PCR peut être déterminé, offrant des informations sur la concentration initiale de l'ADN cible. La quantification par Q-PCR implique de comparer le signal de fluorescence de l'échantillon cible avec une courbe standard générée à partir de concentrations connues de l'ADN cible. Cela permet de déterminer avec précision la concentration initiale d'ADN dans l'échantillon (Tantray et al., 2023).

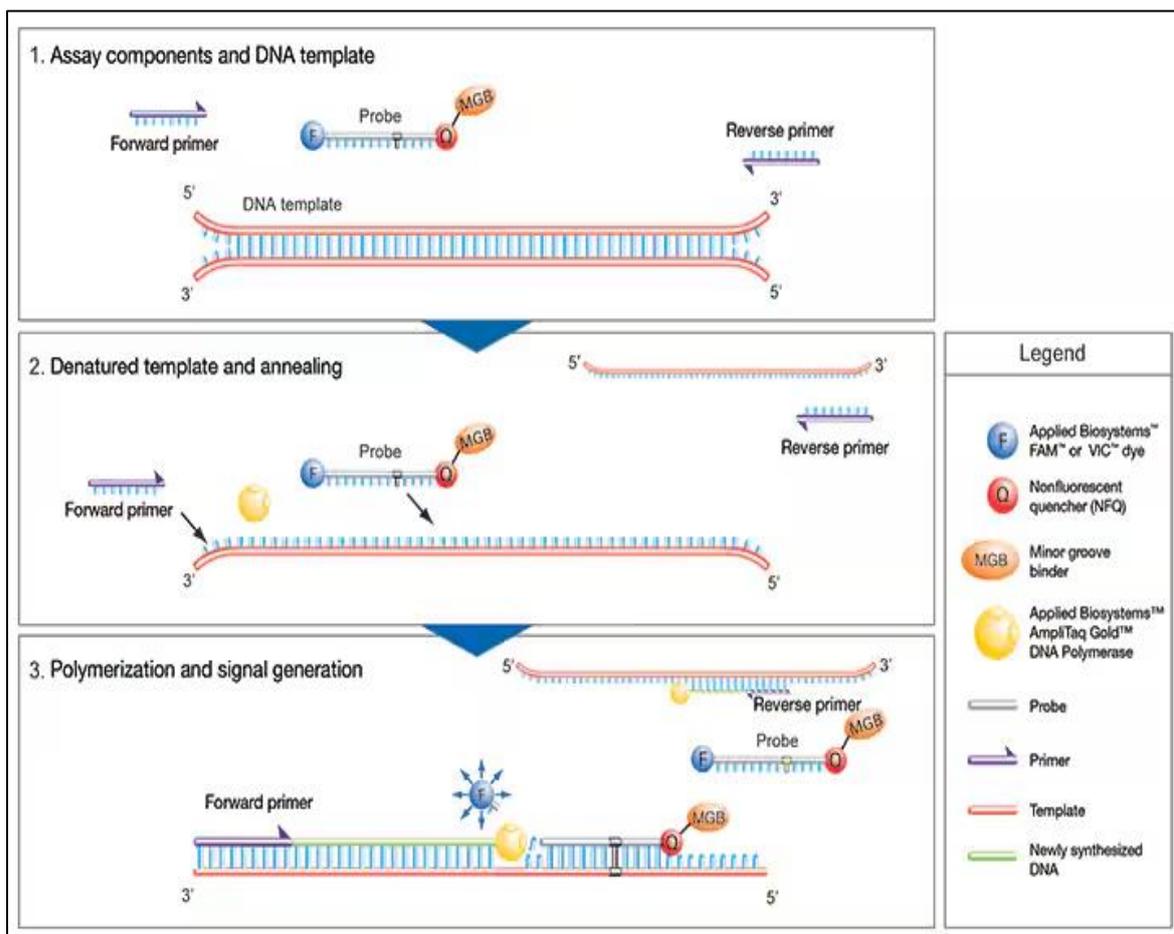


Figure VI : Analyse d'expression génétique TaqMan (Thermo Fisher)

Matériel et méthodes

Mode opératoire

- Déposer 5 µl d'ADNc final, équivalent à 100 ng d'ARN dans un tube PCR (0,2 ml) et incubé à 50°C pendant 2 minutes pour activer la transcriptase inverse (RT) (Tableau V).
- Incuber les tubes dans le thermocycleur en temps réel selon le programme (Tableau VI)
- Pour la mutation, nous avons un contrôle positif correspondant au plasmide (annexe 5) et un contrôle négatif. (Tableau VII)

Tableau V : Répartition des solutions

Solutions et réactifs	Volume (µl)
Mélange maître (D Master Mix) 1x.	12,5
Sonde (200 nM)	0,75
Couple d'amorces (300 nM)	0,75
Eau ultra pure	6
ADNc	5
Volume finale	25

Tableau VI : Programme de Thermocycleur en Temps Réel

Etapes	Température °C	Temps
Activation de transcriptase reverse	50	10 min
Dénaturation de l'ADN double brin et activation de la polymérase	95	10 min
Cyclage : 50 fois		
Dénaturation	95	15 s
Hybridation	60	1 min
Maintien	4	∞

Matériel et méthodes

Tableaux VII : Répartition des solutions par réaction de 25 μ L (Tantray et al., 2023)

Solutions	Patient (μ L)	Témoin positif (μ L)	Témoin négatif (μ L)
D-mix (\times 1)	12,5	12,5	12,5
Couples d'amorces (300 nM)	0,75	0,75	0,75
Sonde (200 nM)	0,75	0,75	0,75
Eau sans nucléase	6	6	11
ADNc	5	-	-
Plasmide	-	5	-

Tableaux VIII : Séquences des sondes et des amorces (amorces de Eurogentec)

Translocations	Amorces et sondes	Séquences	Tm (C°)
BCR- ABL1	Amorce sens F (BCR)	TCC-GCT-GAC-CAT-CAA-TAA-GGA	49,2
	Amorce R (ABL1)	CAC-TCA-GAC-CCT-GAG-GCT-CAA	51,2
	Sonde (ABL)	CCC-TTC-AGC-GGC-CAG-TAG-CAT-CTG-	57,5

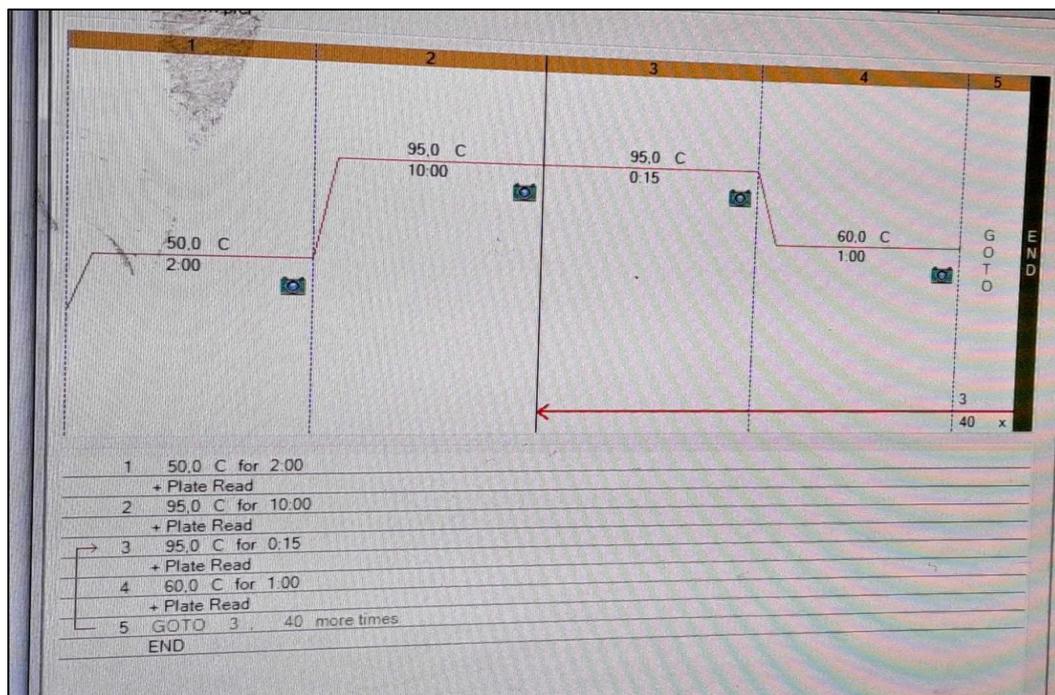


Figure VII: Programme de thermocycleur de la RT-PCR

III.2.6. Extraction d'ADN par la technique SALTING OUT

Nous avons réalisé l'extraction d'ADN par la technique de SALTING OUT à partir du sang total pour une étude immunogénétique des polymorphismes (HLA et récepteur de la vitamine D)

Principe

Les techniques d'extraction de l'ADN utilisant des solutions salines à forte concentration, telles que le NaCl 6 M saturé, relèvent de la méthode de salting out qui repose sur le principe selon lequel les sels minéraux à forte concentration ont besoin d'être entourés par l'eau d'hydratation. Cette situation se produit aux dépens des protéines, qui se retrouvent privées d'eau. En conséquence, une surconcentration se crée, favorisant l'agrégation et l'insolubilisation des protéines. Après centrifugation, les protéines sont sélectivement précipitées au fond du tube, tandis que l'ADN se retrouve libre dans la phase supérieure (Miller et *al.*, 1988).

Mode opératoire

- Prélever 5 à 10 ml du sang sur anticoagulant dans un tube de 50 ml à fond conique.
- Diluer le sang dans 2 volumes de solution de lyse des globules rouges (SLR) (annexe 6), agiter quelques minutes et centrifuger à 12000 g pendant 20 minutes à + 4 ° C.
- Éliminer le surnageant et laisser le culot, puis répéter les lavages jusqu'à obtention d'un culot clair sans globules rouges.
- Éliminer le surnageant et resuspendre le culot dans 9 ml de solution de lyse des globules blancs (SLB) (annexe 6), vortexer et ajouter 500 µl SDS à 10% et 50 µl de protéinase K (1mg/ml).
- Après une Incubation une nuit à + 37 °C dans une étuve, ajouter 3 ml de NaCl de sodium saturé 6M et centrifuger 10 minutes à 1500g. Vérifier la présence de protéines au fond du tube et transféré le surnageant dans un nouveau tube.
- Ajouter 5 ml d'alcool isopropylique et centrifuger 10 minutes à 1500 g.
- Éliminer le surnageant et resuspendre le culot dans un tube eppendorf avec 1,5 ml d'alcool éthylique à 70 %. Centrifuger à 30000 g pendant 5 mn, et éliminer le surnageant.
- Incuber les tubes environ 30 minutes à 37 °C puis resuspendre le culot dans 250-500 µl du tampon Tris-EDTA (TE) à [10V/5V] et conserver l'ADN à - 80 °C.

III.3 Analyse statistique

L'analyse des données, les calculs et les illustrations graphiques ont été réalisés par le logiciel Excel 2019 et GraphPad Prisme version 10. La comparaison entre Les trois types de leucémie aigüe (LAL, LAM et LAB) a été réalisée avec le test ANOVA non paramétrique (KruskallWallis) à un facteur pour les variables quantitatives (Age, poids, taille, blastes médullaire et blastes circulaires), et le test exact de Fisher pour les variables qualitatives (Sexe, rechute, décès, critères clinique, Leucocytoses, Neutropénie, Thrombopénie, Anémie) avec un $p < 0.05$ considéré comme significatif.

IV-RESULTATS

ET

DISCUSSION

Résultats et discussion

IV.1. Résultats de l'étude rétrospective

Notre travail a porté sur une étude rétrospective de 100 patients atteints de leucémie aiguë (LA) d'âge moyen de $5,70 \pm 3,98$ ans hospitalisés entre 2020- 2025 et une étude prospective génétique sur la recherche de la translocation BCR-ABL par la technique de RT-qPCR.

IV.1.1- Les caractéristiques cliniques et biologiques

Les résultats des différentes caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques des patients dans les trois types de leucémie (LAL, LAM, LAB) montrent une différence significative du sexe ($P=0,0499$), syndrome tumoral ($P=0,0147$) et des blastes médullaires ($P=0,0004$) avec 16% de rechute et 17% des décès (tableau IX).

Tableau IX : Analyse des critères cliniques et biologiques des patients

	Patients (n=100)	LAL (n = 67)	LAM (n=30)	LAB (n=3)	pvalue *
Sexe					
Féminin n (%)	47 (47)	30 (45)	17 (57)	1 (33)	0,0499
Masculin n(%)	53 (53)	37 (55)	13 (43)	2 (67)	
Ratio M/F	1,13	1,23	0,76	2	
Age (Année) **	4,7 [0,6-15]	5,7 [0,6-15]	3,3 [0,35-14,64]	4,9 [1,4-11,93]	0,2321
Poids (kg) **	16,5 [5,6-68]	17 [7,8-68]	13 [5,6-63]	22 [8,1-30]	0,1938
Taille (cm) **	106 [64-183]	106,5 [70-183]	100 [64-160]	93,5 [78-109]	0,5096
Rechute n(%)	16 (16)	10 (15)	6 (20)	0 (0)	0,6324
Décès n (%)	17 (17)	8 (11)	9 (30)	0 (0)	0,0791
Critères cliniques					
Douleurs osseuses n(%)	27 (27)	23 (34)	4 (13)	0 (0)	0,0600
Syndrome tumorale n(%)	79 (79)	58 (86)	18 (60)	3 (100)	0,0147
Syndrome hémorragique n(%)	43 (43)	27 (40)	14 (45)	2 (67)	0,5805
Critères biologiques					
Leucocytoses n (%)	39 (39)	26 (39)	12 (40)	1 (33)	0,7342
Neutropénie n(%)	20 (20)	12 (18)	7 (23)	1 (33)	0,5409
Thrombopénie(%)	46 (46)	29 (43)	15 (50)	2 (67)	0,6325
Anémie n(%)	51 (51)	37 (55)	12 (40)	2 (67)	0,3863
Blastes médullaire (%) **	82,5[14-100]	88 [24-100]	65 [14-95]	87[58-89]	0,0004
Blastes circulaires (%) **	37 [0-96]	50 [1-96]	27[0-92]	37[5-40]	0,0762

(*) Comparaison entre LAL : Leucémie lymphoblastique aiguë ; LAM: Leucémie aiguë myéloblastique et LAB : Leucémie aiguë biphénotypique.

(**) Données représentées en valeur de médiane.

Résultats et discussion

IV.1.2- Résultats de la répartition des patients en fonction du type de leucémie

Nos résultats montrent une fréquence élevée de la leucémie aiguë lymphoblastique par rapport aux LAM et LAB (67%, 30% vs 3%) dont 81% de LAL-B et 19% de LAL-T (Figure VIII).

Nos résultats corroborent avec une étude marocaine de Doumbia et *al.* (2016) chez 104 patients atteints de leucémies aiguës pédiatriques qui rapporte une prédominance de la LAL par rapport aux LAM et LAB (74 %, 20,2% vs 5,8%) en particulier la LAL-B par rapport à la LAL-T (78% vs 22%).

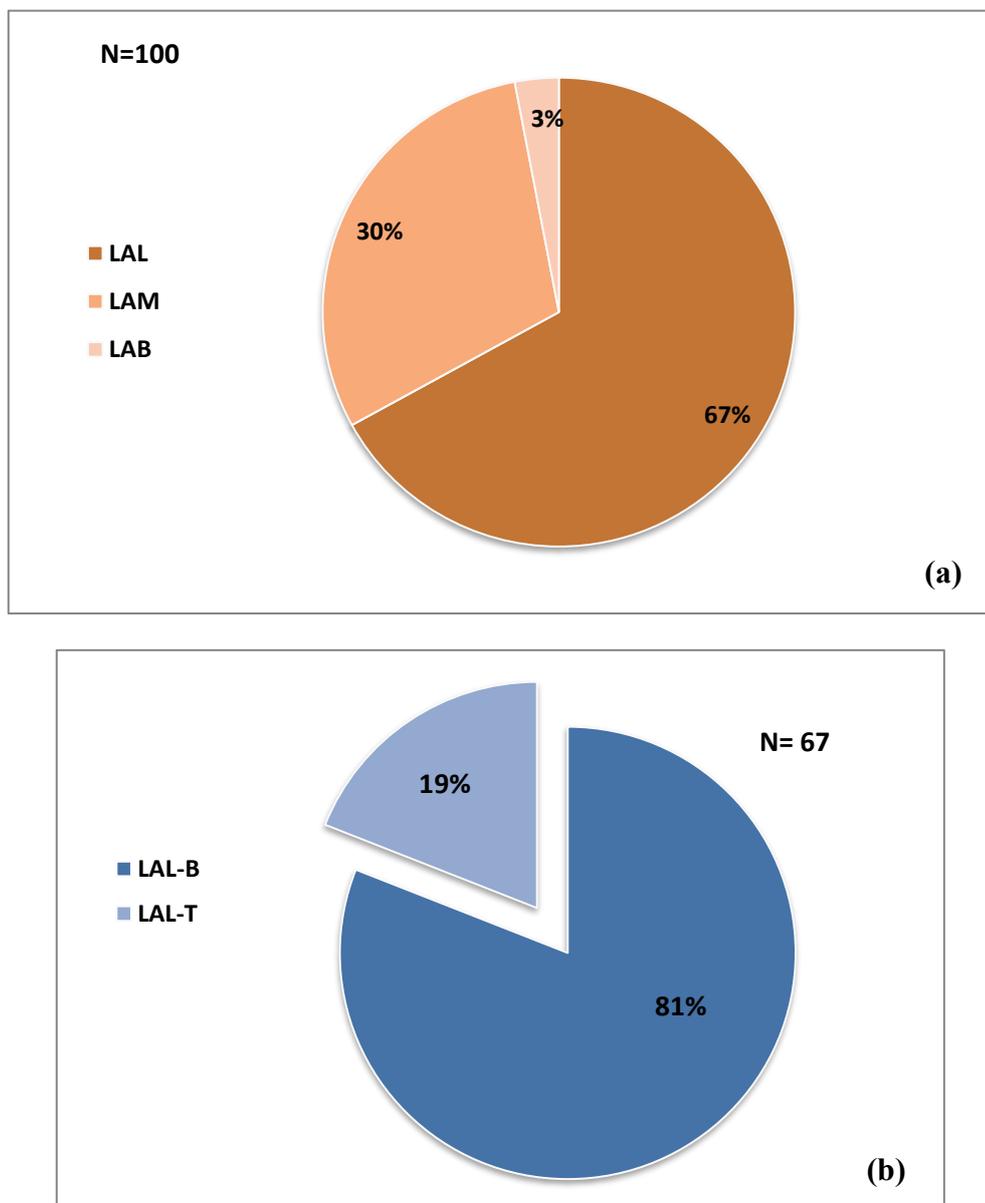


Figure VIII : Répartition des patients en fonction du type de leucémie

IV.1.3- Résultats de la répartition des patients en fonction du sexe

Notre étude montre un **sexe ratio H/F** de **1.13** dont **53%** des patients sont de sexe masculin et **47%** de sexe féminin. (Figure IX.a).

Nos résultats corroborent avec une étude iranienne de Dargahi *et al.* (2016) chez des enfants et adolescents diagnostiqués entre 2006-2016, qui rapporte une fréquence élevée de leucémie aiguë chez les garçons par rapport aux filles (**57,3% vs 42,7%**) avec un sexe ratio H/F = 1,34.

La prédominance masculine concerne la LAL et la LAB par rapport à la LAM avec une différence significative (55%, 67% vs 13%, **P=0.0499**) (Figure IX.b).

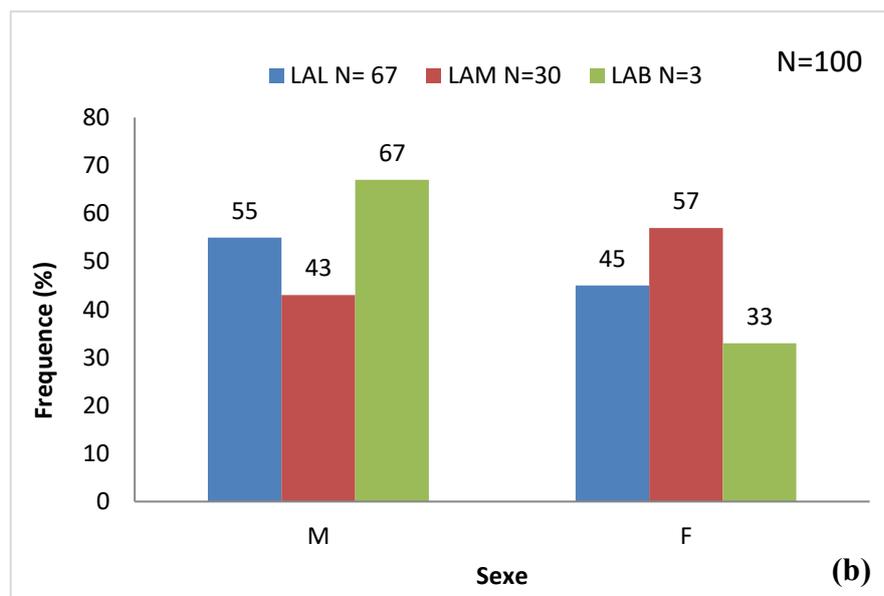
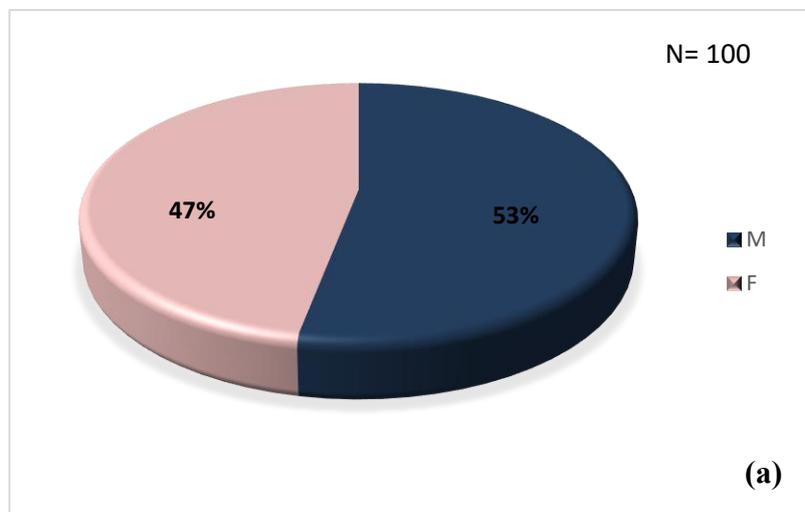


Figure IX : Répartition des patients en fonction du sexe

Résultats et discussion

IV.1.4- Résultats de la répartition des patients en fonction de l'âge

La moyenne d'âge des patients est de 5.70 ± 3.98 ans avec une prédominance au niveau de la tranche d'âge [2 – 6 ans] par rapport aux tranches d'âge [0-2ans], [6-11ans] et [11-16ans](44%, 14%, 27% vs 14%) (Figure X.a).

Nos résultats montrent une fréquence plus élevée dans la tranche d'âge [2 - 6 ans] dans la LAL, LAM et LAB (42%, 50% vs 33%), ce qui concorde avec l'étude de Beghdoud et *al.* (2020) réalisée chez 135 enfants atteints de leucémies aiguës dans l'ouest algérien de 2016-2018 avec une prédominance dans la tranche d'âge de 2 -5 ans (37,8%) (Figure X.b).

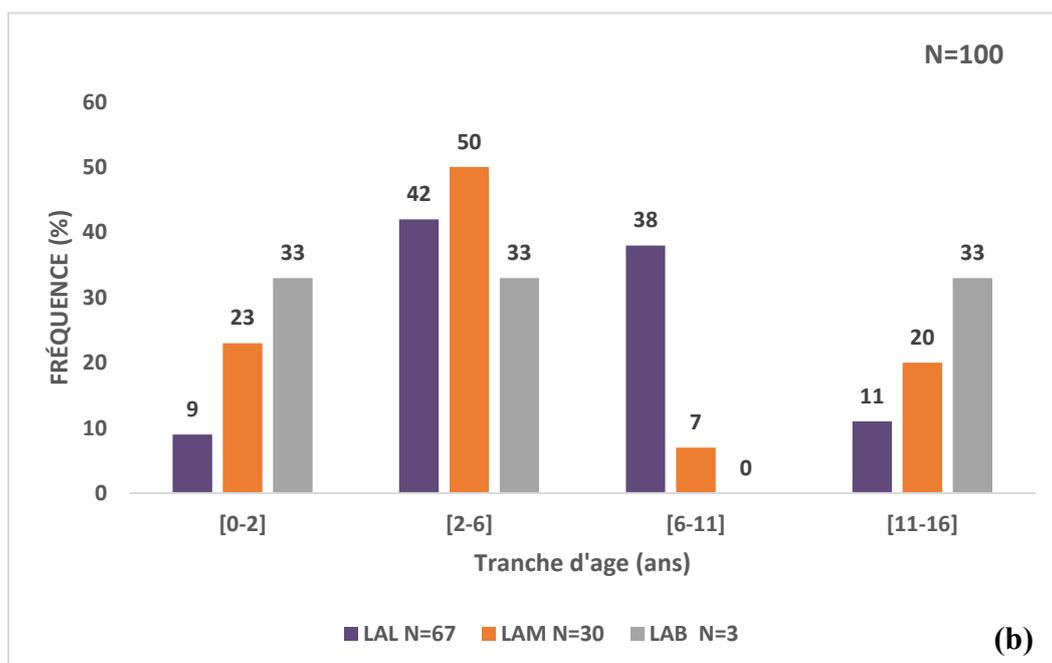
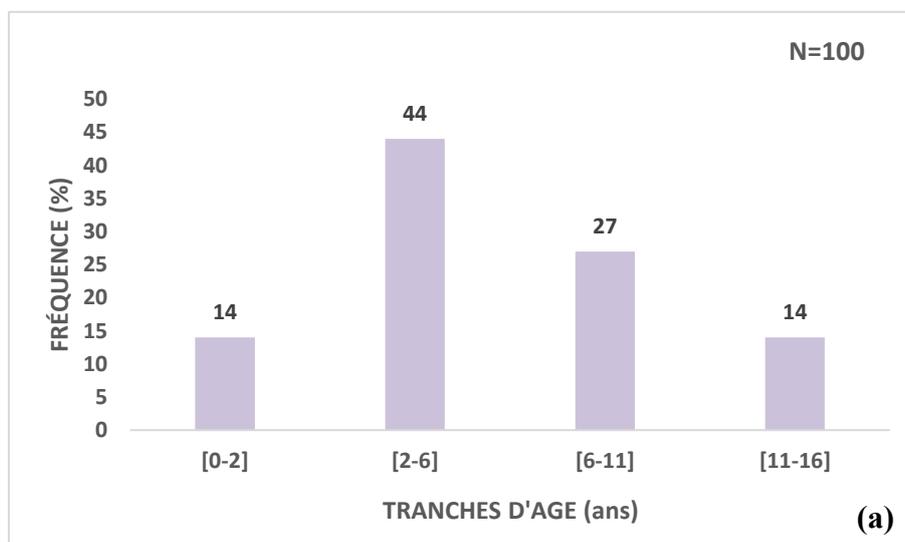


Figure X : Répartition des patients en fonction de l'âge

Résultats et discussion

IV.1.5- Résultats de l'évolution des patients en fonction des années

L'évolution des patients en fonction des années montre une instabilité de nombre de cas et une diminution en 2025 (4%) qui peut être expliquée par le fait que l'année est en cours.

Les variations annuelles de l'incidence des leucémies aiguës pédiatriques sont influencées par plusieurs facteurs, environnementaux ou démographiques, sans lien direct avec un événement épidémiologique précis (Figure XI).

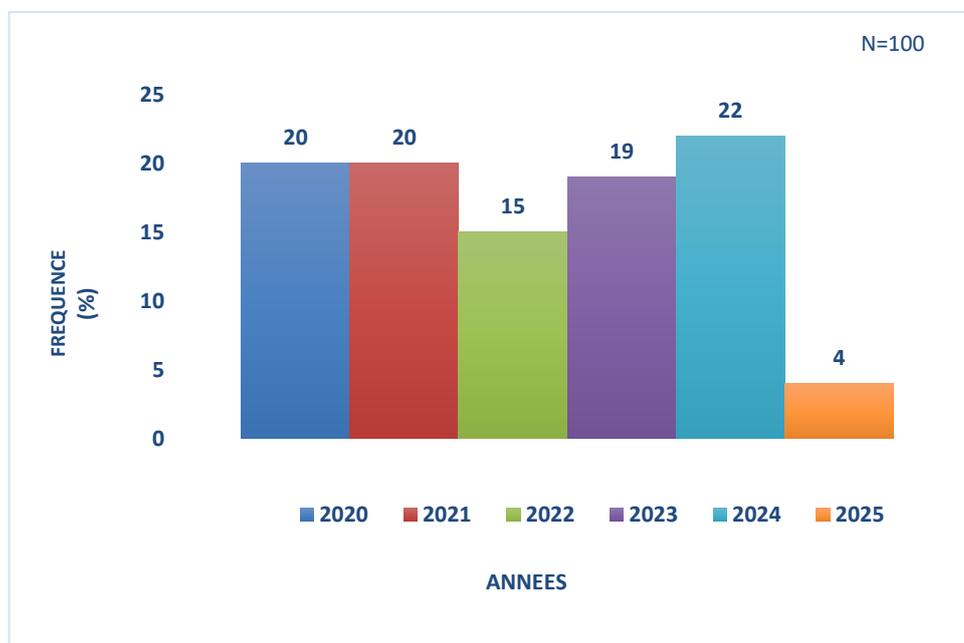


Figure XI: Evolution des patients en fonction des années

Résultats et discussion

IV.1.6- Résultats de la répartition des patients en fonction des groupes sanguins

Nos résultats montrent une fréquence élevée des patients avec le groupe sanguin O+ et A+ par rapport aux autres groupes sanguins(32 %, 30%) (Figure XII).

Nos résultats concordent avec l'étude de Sakić et *al.* (2012) sur 172 enfants atteints de leucémie aigüe de 2000- 2010 à Sarajevo qui rapporte une fréquence élevée du groupe O par rapport aux autres groupes sanguins et avec l'étude de Dargahi et *al.* (2016) qui rapporte une faible fréquence des groupes sanguins Rhésus négatif (6,4%) ce qui peut être expliqué par la faible fréquence du Rh- dans la population générale.

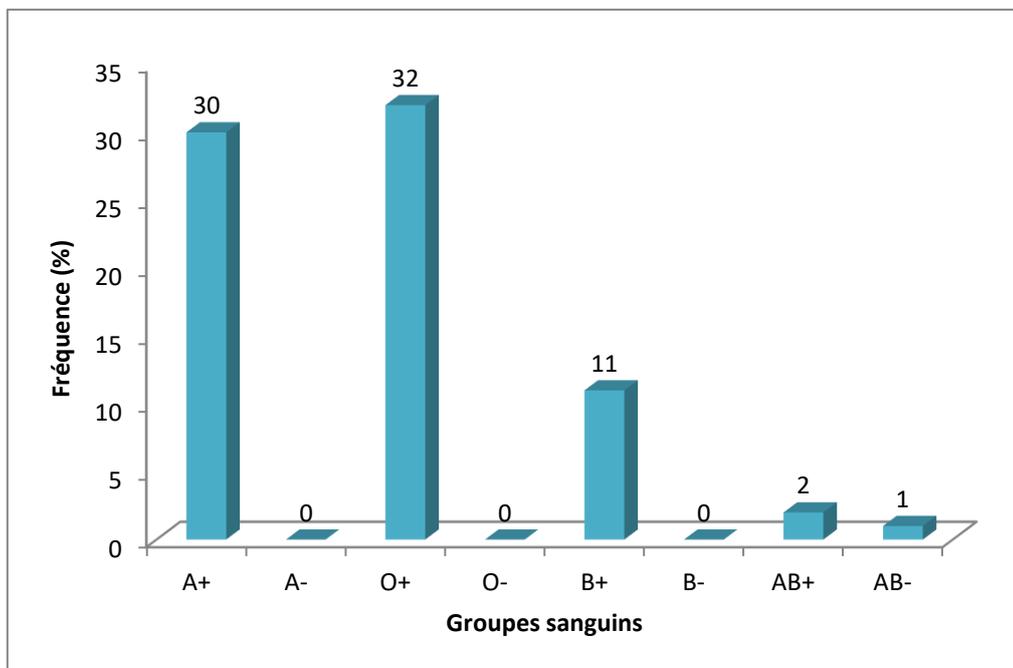


Figure XII: Répartition des patients en fonction des groupes sanguins

Résultats et discussion

IV.1.7- Résultats de la répartition des patients en fonction des atteintes cliniques

Nos résultats montrent que les patients présentent plusieurs manifestations cliniques avec, syndrome tumoral (79%) (Hépatosplénomégalie, adénopathies), syndrome hémorragique (43%) (ecchymoses, pétéchies), douleurs osseuses (27%) et anomalies biologiques avec anémie (51%), thrombopénie (46%), neutropénie (20%) et leucocytose (39%) (Figure XIII).

Nos résultats concordent avec l'étude de Tlamçani et *al.* (2018) réalisée chez 83 patients marocains pédiatriques (LAL) sur une durée de 6 ans qui rapporte un syndrome tumoral(89.2%), anémie (100%), thrombopénie (85,5%), leucocytose (60%) et des douleurs osseuses (6%).

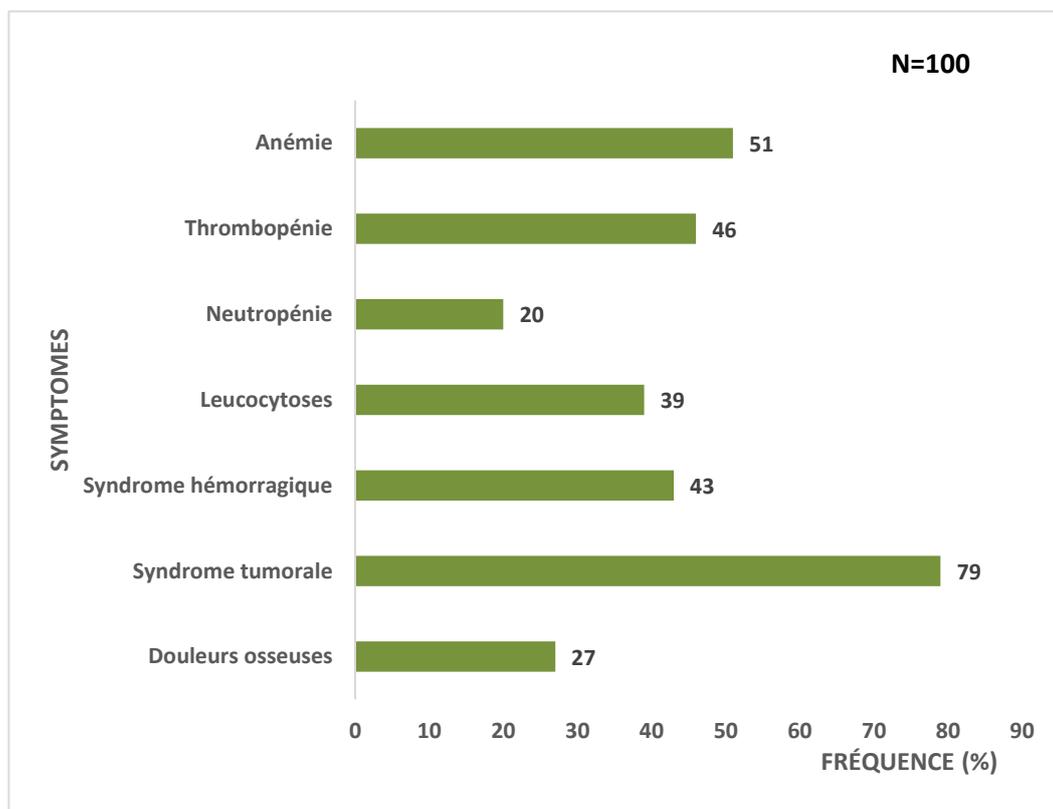


Figure XIII: Répartition des patients en fonction des manifestations cliniques et biologiques

Résultats et discussion

IV.1.8- Résultats de la répartition des patients en fonction des régions et de la consanguinité

Nos résultats montrent que la fréquence des leucémies pédiatriques est plus élevée dans le Nord de l'Algérie (Alger, Médéa, Boumerdas, Bejaïa, Bouira, Tipaza, Jijel, Blida, Tizi ousou) par rapport à l'est (Msila, Constantine, Bordj Bouariredj, Khenchela, Batna, Guelma, Sougahras, Sétif), l'Ouest (Djelfa, Chlef) et le Sud (El Oued, Tamanrasset, Ghardaïa, Laghouat, Biskra, Ouargla) (66%, 10%, 12%, 12%) (Figure XIV).

La consanguinité est plus fréquemment retrouvée chez les patients originaires du Sud et de l'Ouest de l'Algérie par rapport aux patients originaires du Nord et de l'Est (50% vs 19% vs 8%, $P=0,0001$) (Figure XIV.7.b).

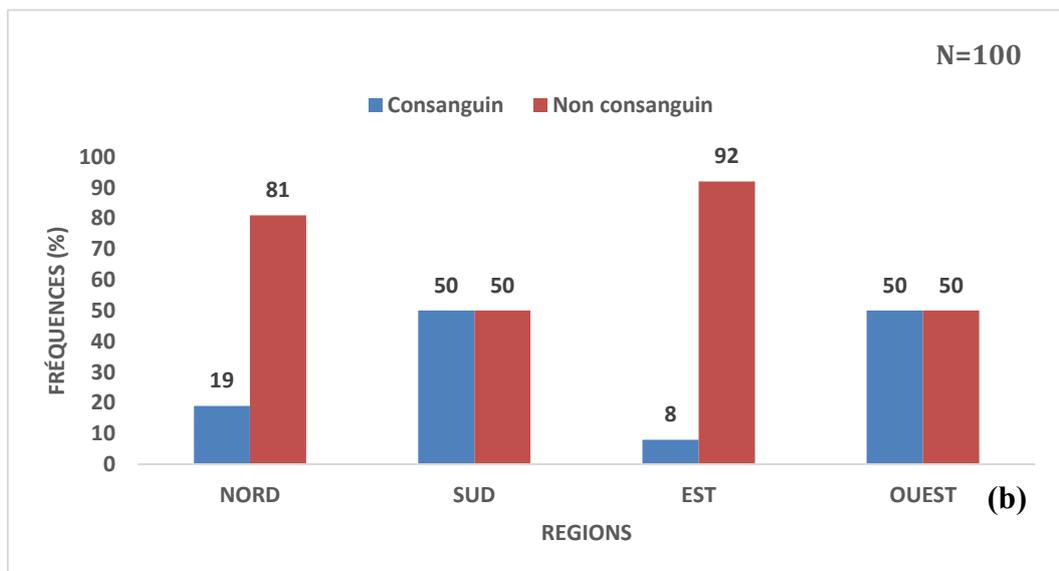
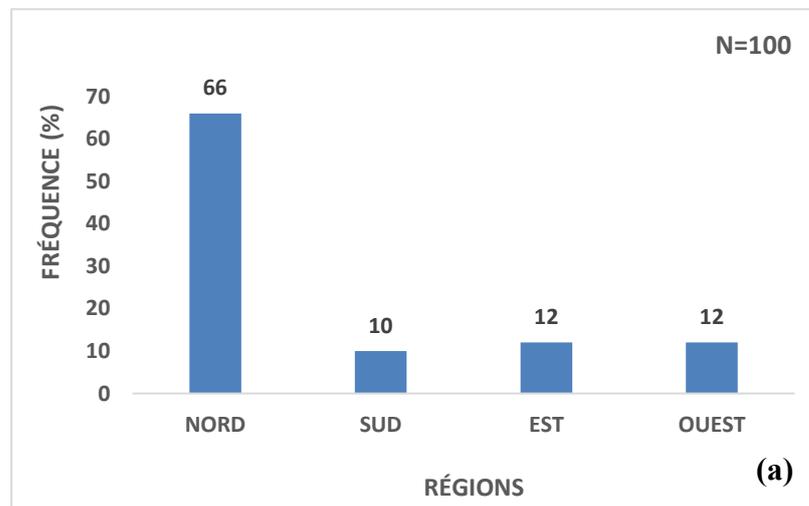


Figure XIV :Répartition des patients en fonction des régions et de la consanguinité

Résultats et discussion

IV.2-Résultats de l'étude prospective

Notre étude à porter sur 28 patients pédiatriques atteints de leucémie aiguë diagnostiqués entre 2024-2025 dont 16 patients présentent une leucémie aiguë lymphoblastique de type B (LAL-B) d'âge moyen $7,505 \pm 4,037$ ans ont été retenus pour la recherche de la translocation BCR-ABL par RT-qPCR.

IV.2.1- Caractéristiques cliniques et biologiques des patients

Les caractéristiques cliniques et biologiques des patients LAL-B montrent un sexe ratio M/F de 1,285, une concentration élevée de LDH 1637,66 U/L par rapport aux témoins (190-400 U/L), une concentration élevée de globule blancs $62,99 \times 10^3/\text{mm}^3$ et une fréquence élevée des blastes médullaires et circulaires (86%, 55%) (tableau X)

Paramètres		Patients LAL-B (N=16)	BCR-ABL négatifs (N=14)	BCR-ABL positifs (N=2)
Sexe (M/F)		9/7	8/6	1/1
Age moyen (ans)		$7,505 \pm 4,037$	$7,61 \pm 4,173$	$6,8 \pm 4,172$
LDH (U/L)		1637,66	1839,5	628,5
GB ($10^3/\text{mm}^3$)		62,99	33,06	257,495
Hémoglobine (g/dl)		8,25	8,02	9,8
Plaquettes ($10^3/\text{mm}^3$)		85,47	89,77	57,5
Taux de blastes (%)	Médullaires	86%	86%	89%
	Circulaires	55%	53%	74%

Tableau X : Caractéristiques des patients LAL-B.

IV.2.2- Résultats de la répartition des patients en fonction de la translocation BCR-ABL

Nos résultats montrent une faible fréquence de la translocation BCR-ABL chez les patients atteints de LAL-B (12,5%) (Figure XV) corroborent avec l'étude de Qamar et *al.* (2022) réalisée chez 150 patients Pakistanais âgés de 1-17ans atteints de LAL-B rapportant une fréquence de 10%.

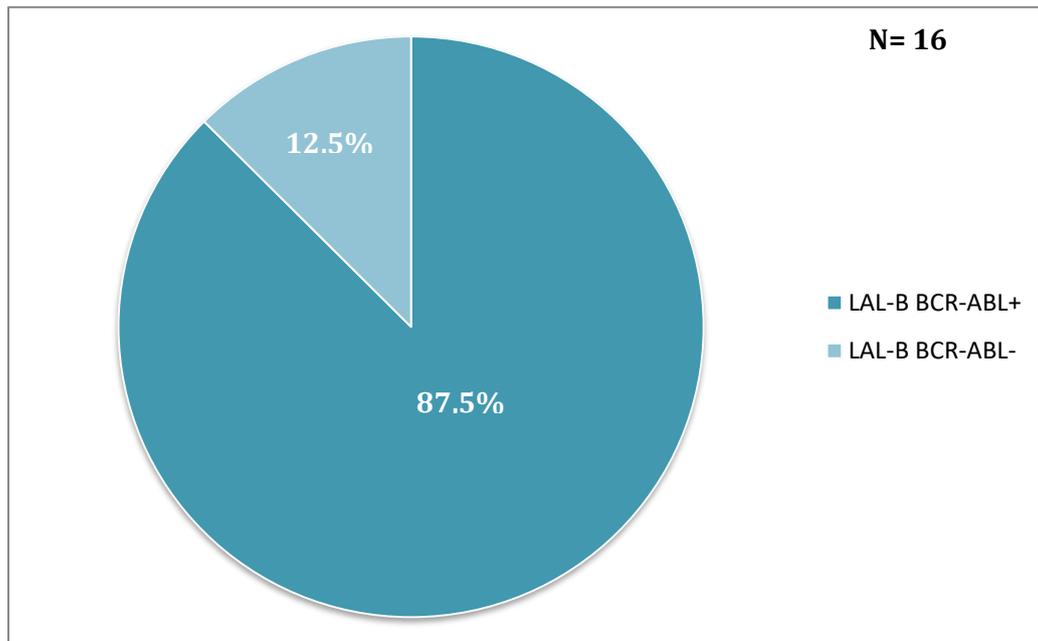


Figure XV : Répartition des patients en fonction de la présence du BCR-ABL

IV.2.3 - Résultats du frottis sanguin

L'analyse morphologique des éléments figurés du sang sur frottis permet une évaluation qualitative des principales lignées cellulaires.

- ✓ Les érythrocytes apparaissent comme des cellules anucléées, de forme de disque biconcave, avec une coloration rosée. Toute variation de taille (anisocytose), de forme (poïkilocytose) ou de couleur (hypochromie ou polychromasie) peut traduire une perturbation de l'érythropoïèse.
- ✓ Les leucocytes et notamment les lymphocytes sont caractérisés par un noyau dense occupant la majeure partie de la cellule, un cytoplasme réduit, basophile, souvent clair en périphérie (Figure XVI.c) et les éosinophiles qui se distinguent par un noyau bilobé et un cytoplasme abondant contenant des granulations éosinophiles rouge-orangé (Figure XVI.a).
- ✓ Les blastes, cellules immatures qui se caractérisent par une grande taille, avec un rapport nucléocytoplasmique élevé, une chromatine fine, des nucléoles et un cytoplasme basophile (Figure XVI.b).

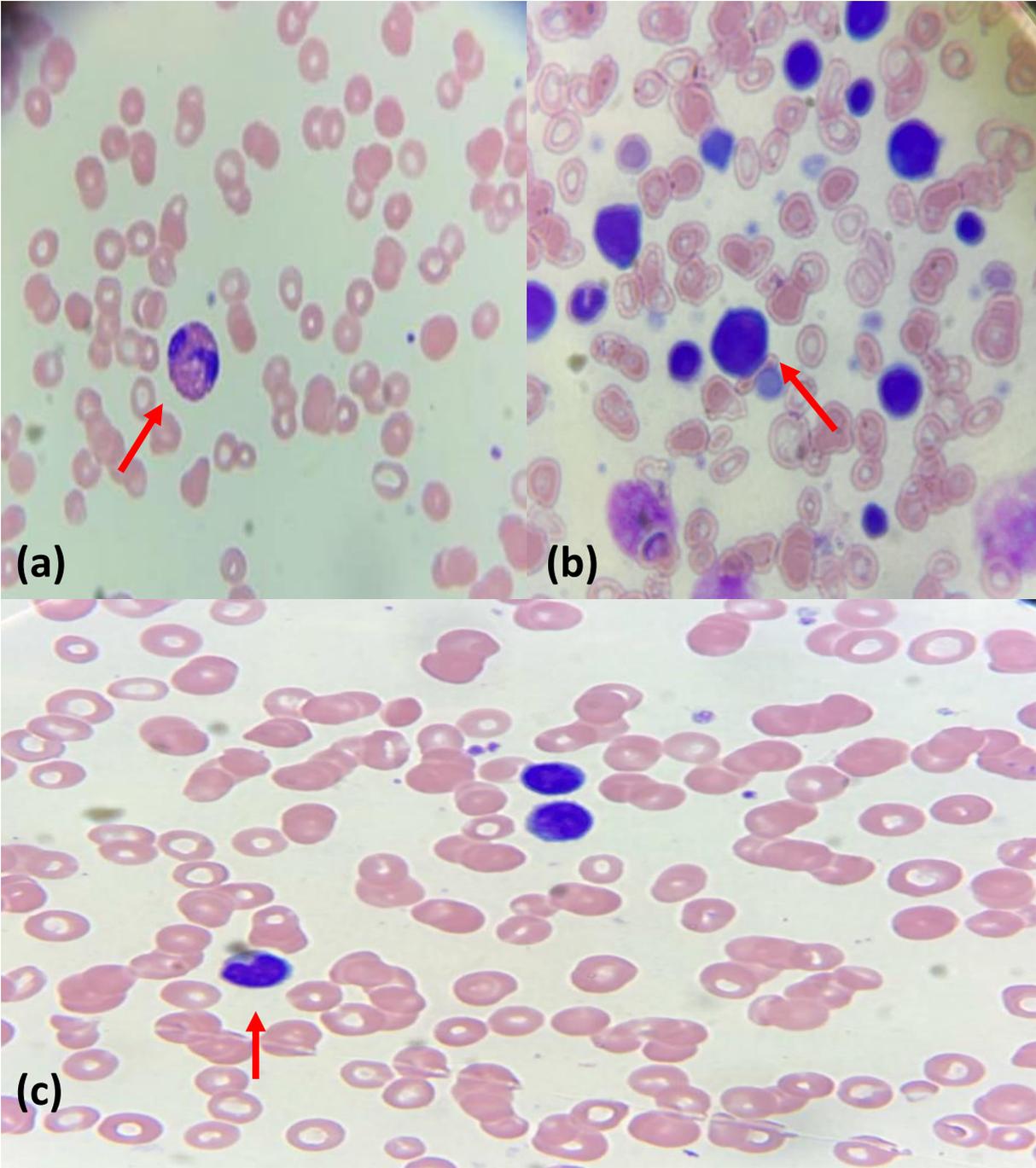


Figure XVI : Microphotographies du frottis sanguin coloré avec la coloration MGG (GX 100). (a) Eosinophiles; (b) Blastes; (c) Lymphocytes (Unité d’hémobiologie du laboratoire central HopitalParnet 2025)

Résultats et discussion

IV.2.4- Résultats de l'extraction de l'ADN et de l'ARN

Une électrophorèse sur gel d'agarose et spectrophotométrie Nanodrop ont été réalisées pour confirmer l'efficacité des méthodes de l'extraction de l'ADN et de l'ARN. La présence de bandes claires et continues indique la pureté et la non-dégradation de l'ARN (Figure XVII et XVIII).

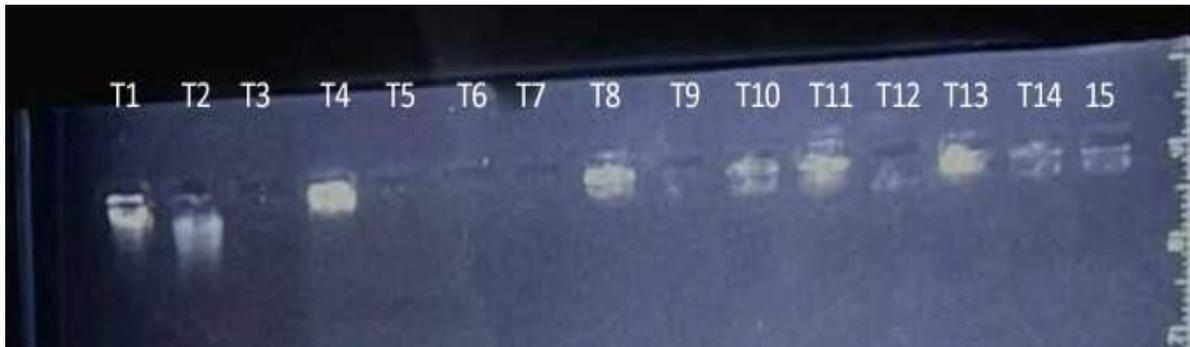


Figure XVII : Profil électrophorétique d'ADN chez les témoins. Gel d'agarose à 0.5% en présence du BET (0,5 µg/ml) suivie d'une visualisation sous UV



F

Figure XVIII : Electrophorèse sur gel d'agarose (2%) des ARN

Résultats et discussion

IV.2.5- Interprétation des résultats de la RT-qPCR

La RT-qPCR a permis de détecter le transcrit de fusion BCR-ABL chez deux patients (tableau XI, figure XIX).

Patients	Amplification du gène témoin positif	Courbe d'amplification	Résultat BCR-ABL
Patient 1	Oui	Oui	Positif
Patient 2	Oui	Oui	Positif
Patient 3 à 16	Oui	Non	Négatif

Tableau XI : Résultat de la qPCR

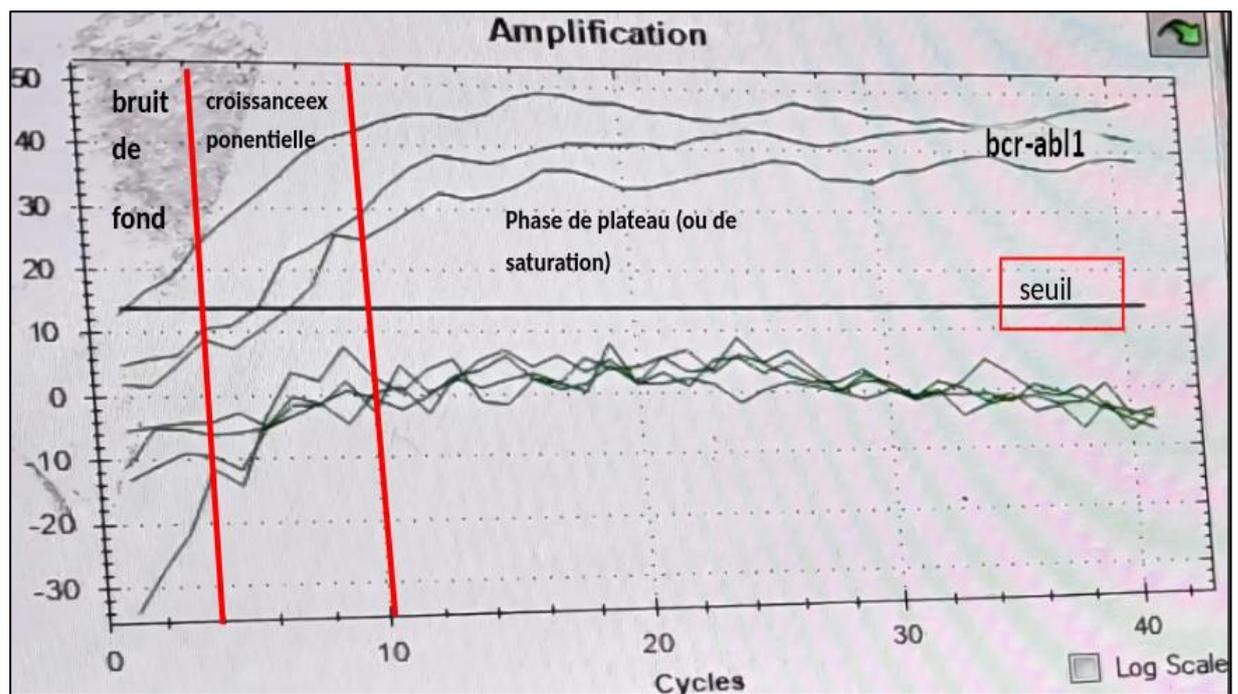


Figure XIX : Résultats d'amplification PCR quantitative pour la translocation BCR-ABL1

Résultats et discussion

IV.2.6- Résultats du profil des patients BCR-ABL négatifs

Nos résultats montrent une fréquence de 87,5% de patients avec absence de la translocation d'âge moyen de 7,61±4.173, avec une prédominance masculine. La moyenne de la fréquence des blastes médullaires 86%, blastes circulaires 53%, globules blancs 33,06 ($10^3/\text{mm}^3$), plaquettes 89,77 ($10^3/\text{mm}^3$), l'hémoglobine 8,02 (g/dl) et du LDH 1839,5 (U/L). Les patients sont traités par chimiothérapie selon le protocole FRALLE-2000 groupe B en 3 phases (induction, consolidation et intensification, entretien).

IV.2.7- Profil des patients BCR-ABL positifs

Parmi les 16 patients inclus dans l'étude BCR-ABL, deux patients présentent un résultat positif de la translocation BCR-ABL.

Caractéristique cliniques et biologiques du patient 1 :

Il s'agit d'une patiente admise pour une prise en charge d'une leucémie aigüe lymphoblastique B en rémission de sexe féminin âgée de 4 ans originaire de Jijel, issue d'un couple non consanguin sans antécédents familiaux et pathologiques particuliers et sans comorbidités, de 14kg et 100 cm.

Le début des symptômes est marqué par une asthénie et anorexie avec apparition d'une splénomégalie de type 2, hépatomégalie, adénopathie, anémie et pâleur après le diagnostic

Les résultats de l'hémogramme révèlent une anémie (Hb=7.5 g/dl), thrombopénie (PLQ= 32) et leucocytose (GB=12.49 $10^3/\text{mm}^3$). L'examen cytologique de la moelle osseuse montre une moelle riche envahie par 82% de blastes avec infiltration de 57% dans le sang. L'étude immunophénotypique confirme l'expression de plusieurs marqueurs de la lignée B (CD19, CD10, CD22, CD24, cCD79a). Les résultats biochimiques montrent une augmentation de la concentration du LDH 473 (U/L) par rapport aux valeurs normales.

Les résultats de l'analyse génétique par QPCR pour la détection de la translocation BCR-ABL montrent une présence du transcrite mBCR-ABL orientant le traitement vers une stratégie adaptée par la pris en charge selon un protocole thérapeutique combinant le protocole de chimiothérapie FRALLE-2000B et l'imatinib (ITK) (100mg).

Résultats et discussion

Caractéristique cliniques et biologiques du patient 2 :

Il s'agit d'un patient admis pour prise en charge d'une leucémie aigüe lymphoblastique B avec atteinte neurologique et ORL de sexe masculin âgé de 10 ans originaire de Médéa, issue d'un couple non consanguin sans antécédents familiaux et pathologiques particuliers et sans comorbidités, de 29kg.

Le début des symptômes est marqué par une pâleur, asthénie, ecchymoses, pétéchies, céphalées, diminution de l'acuité visuelle et une exophtalmie bilatérale avec apparition d'une pansinusite polypoidale, rombéopénie, hépatomégalie, adénopathie cervicale et inguinales bilatérales, splénomégalie type 3, présence d'une hémorragie rétinienne diffuse et bilatérales et hyperplasie du tissu lymphoïde du cavum après le diagnostic

Les résultats de l'hémogramme révèlent une thrombopénie (PLQ= 83) et hyperleucocytose (GB=502.5 $10^3/mm^3$). L'examen cytologique de la moelle osseuse montre une moelle riche envahie par 95% de blastes avec infiltration de 91% de blastes dans le sang. L'étude immunophénotypique confirme l'expression de plusieurs marqueurs de la lignée B (CD19, CD10, CD22, cCD79a). Les résultats biochimiques montrent une augmentation de la concentration du LDH 784 (U/L) par rapport aux valeurs normales.

Les résultats de l'analyse génétique par QPCR pour la détection de la translocation BCR-ABL montrent une présence du transcrit mBCR-ABL orientant le traitement vers une stratégie adaptée par la prise en charge selon un protocole thérapeutique combinant le protocole FRALLE-2000B, l'imatinib (300mg) et 13 séances de radiothérapie. Cette approche a permis d'obtenir une rémission complète (00% de blastes dans la MO) et le patient devient négatif pour le BCR-ABL.

V- DISCUSSION GENERALE

Discussion générale

La leucémie aigüe est le cancer le plus fréquent de l'enfant qui débute dans la moelle osseuse (Rodriguez et *al.*, 2024) affectant la production de la lignée lymphoïde et myéloïde à partir des CSH au cours du processus d'hématopoïèse (Coiteux et *al.*, 2024) qui se différencie en progéniteurs multipotents (MPP) puis en progéniteurs lymphoïdes communs et myéloïdes communs (Kwon et *al.*, 2024) en réponse à des signaux du microenvironnement médullaire (interleukines, cytokines, facteurs de croissance, molécules d'adhésion ...)(Belyavsky et *al.*, 2021).

Les progéniteurs lymphoïdes se différencient en LB dans la moelle osseuse en réponse aux signaux IL-3, IL-7 et IL-4 par plusieurs stades allant d'une cellule Pro-B (exprimant le CD10, CD19, CD20, CD79 et le pro BCR), Pré-B (exprimant le CD10, CD19, CD20, CD40, CD79 et le pré BCR), cellule B immature (exprimant le CD10, CD19, CD20, CD40, CD79, IgM et le BCR), jusqu'à la cellule B mature naïve (exprimant le CD19, CD20, CD21, CD40, CD79, IgM et IgD) (Azam, A., 2018). Chaque étape de différenciation est contrôlée par un ensemble de gènes et de voies de signalisation qui régulent la prolifération, la survie et la différenciation (Kim et *al.*, 2023).

Une altération génétique (Translocation BCR-ABL, mutation du PAX5 associée à la LAL) affectant les voies de signalisation (PI3K/AKT/mTOR, RAS/RAF/MAPK, JAK/STAT) entraîne la perturbation des stades de maturation conduisant ainsi à l'arrêt de différenciation, prolifération accrue et échappement à l'apoptose d'où l'accumulation des blastes dans les leucémies (Inaba & Pui, 2021 ; Wachter & Pikman, 2024) Ce qui concorde avec nos résultats qui montrent une fréquence élevée de blastes médullaires dans les 2 cas BCR-ABL+ (82%, 95%) confirmant le blocage précoce de différenciation dans la leucémogénèse induite par cette translocation.

Le traitement des leucémies aiguës a évolué grâce aux thérapies ciblant les anomalies moléculaires spécifiques notamment les inhibiteurs de tyrosine kinase (Imatinib) (figure XVII) qui agissent en se liant au domaine de tyrosine kinase ABL, empêchant l'activation des voies de signalisation oncogéniques conduisant à une désactivation des voies de survie et à l'induction de l'apoptose dans les cellules leucémiques (Repsold et *al.*, 2017) ce qui explique la rémission des patients de notre étude après l'introduction de l'imatinib dans le traitement

La présence de la fusion BCR-ABL1 explique la prolifération accrue des blastes, et l'action ciblée de l'imatinib permet de maîtriser cette prolifération en bloquant les voies oncogéniques activées par la fusion BCR-ABL1.

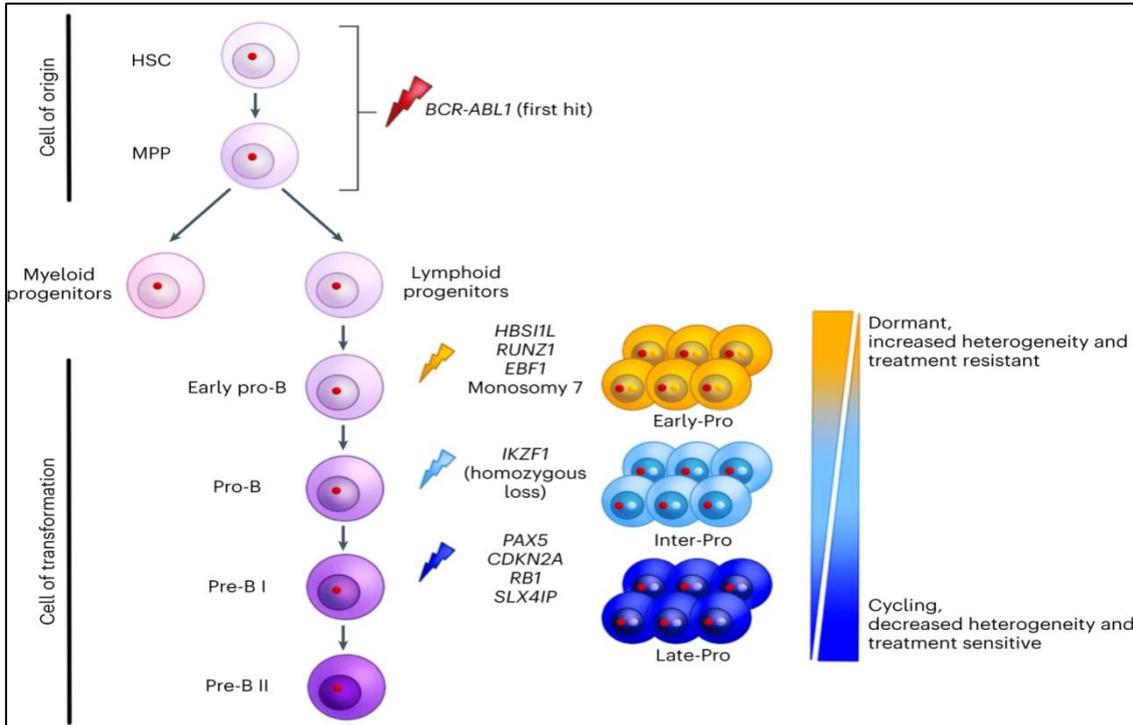


Figure XX : Leucémogénèse de la LAL-B BCR-ABL+ (Kim et al., 2023).

La LAL-B résulte du réarrangement *BCR-ABL1* survenant dans une cellule souche multipotente (CSH ou MPP) favorisant la prolifération et la survie cellulaire. La transformation leucémique s'initie ensuite dans un progéniteur B, via l'acquisition d'altérations secondaires conduisant à un blocage de la différenciation et à l'échappement à l'apoptose.

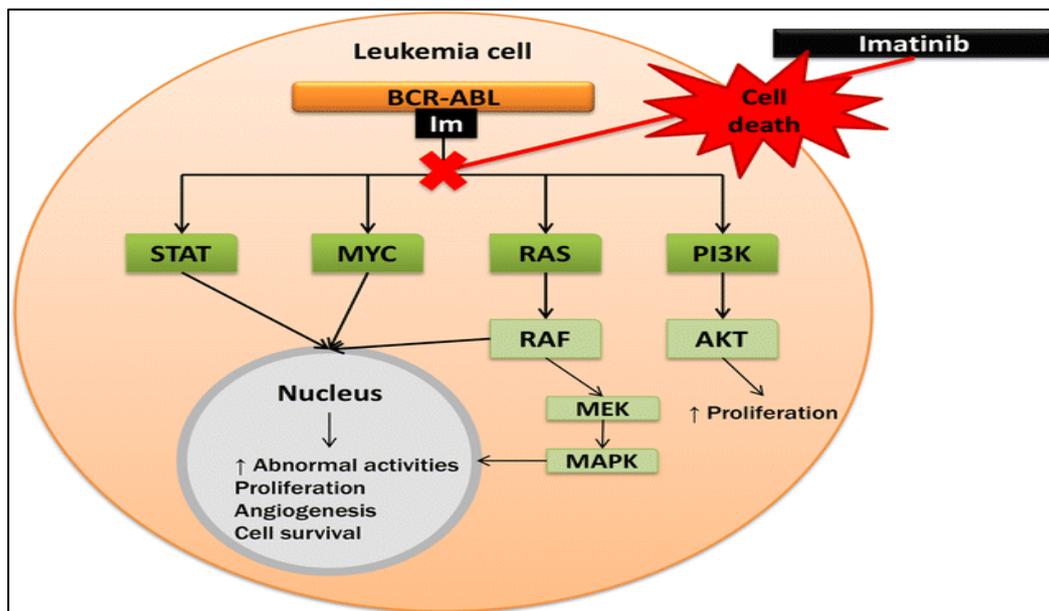


Figure XXI : Action de l'Imatinib sur l'activité BCR-ABL dans les cellules leucémiques (Repsold et al., 2017).

L'imatinib agit en inhibant l'activité tyrosine kinase de *BCR-ABL* ainsi que les voies de signalisation impliquées (*RAS/MAPK*, *PI3K/AKT*, *STAT* et *MYC*) bloquant les mécanismes qui favorisent la prolifération, la survie cellulaire et l'angiogénèse, et induisant la mort des cellules leucémiques.

**VI-CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

Conclusion et perspectives

Notre étude nous a permis de mettre en évidence l'importance de la caractérisation épidémiologique, biologique et moléculaire des patients dans le diagnostic des leucémies aiguës. La détection de la translocation *BCR-ABL1* dans certains cas de LAL confirme la présence de formes Ph⁺ dans la population pédiatrique renforçant l'intérêt de la biologie moléculaire dans le diagnostic ainsi pour l'amélioration du pronostic et des stratégies de prise en charge plus ciblées.

Nos résultats ouvrent la voie à des recherches futures sur d'autres altérations moléculaires associées aux leucémies pédiatriques afin d'optimiser le pronostic et d'augmenter les taux de survie dans cette population.

Notre travail ouvre des perspectives vers :

- La mise en place de la technique RT-Q-PCR dans le laboratoire centrale du CHU Parnet pour la recherche des translocations génétiques
- L'exploration de la recherche de la translocation BCR-ABL dans le suivi des patients au cours du traitement.
- L'intégration des analyses génétiques et moléculaires dans la phase initiale du diagnostic, afin d'identifier précocement les formes à haut risque et d'adapter les protocoles thérapeutiques.
- Une exploitation plus large des données épidémiologique des patients pédiatriques atteints de leucémie aigüe à l'échelle nationale.

VII-RÉFÉRENCES

Références

1. Adar, M., Abur, Ü., & Albayrak, D. (2024). Molecular and cytogenetic evaluation of pediatric leukemias. *Interdisciplinary Medical Journal*, 99-105. <https://doi.org/10.17944/interdiscip.1596058>
2. Aureli, A., Marziani, B., Venditti, A., Sconocchia, T., & Sconocchia, G. (2023). Acute lymphoblastic leukemia immunotherapy treatment : now, next, and beyond. *Cancers*, 15(13), 3346. <https://doi.org/10.3390/cancers15133346>
3. Azam, A. (2018). Etude de la réponse des lymphocytes T spécifiques de l'hormone humaine H2-relaxine et de modifications non-naturelles : perspectives pour la réduction de l'immunogénicité des protéines et peptides thérapeutiques [Thèse de doctorat]. Université Paris-Saclay.
4. Beghdoud, S. K., Youcef, C., Diaf, M., & Boumedane, A. (2020). Comparison of clinical, biological and evolutionary characteristics between childhood acute lymphoblastic and myeloid leukemia in western algeria, from 2016 to 2018. *Journal Of Drug Delivery And Therapeutics*, 10(4), 1-7. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i4.4202>
5. Belyavsky, A., Petinati, N., & Drize, N. (2021). Hematopoiesis during ontogenesis, adult life, and aging. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(17), 9231. <https://doi.org/10.3390/ijms22179231>
6. Chapman, J., & Zhang, Y. (2023, mai 1). Histology, hematopoiesis. StatPearls NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534246/>
7. Chen, Q., Guo, X., Wang, H., Sun, S., Jiang, H., Zhang, P., Shang, E., Zhang, R., Cao, Z., Niu, Q., Zhang, C., Liu, Y., Zheng, Y., Yu, Y., Hou, W., & Shi, L. (2023). Plasma-free samples for transcriptomic analysis : a potential alternative to whole blood samples. bioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory). <https://doi.org/10.1101/2023.04.27.538178>
8. Chennamadhavuni, A., Lyengar, V., Mukkamalla, S. K. R., & Shimanovsky, A. (2023). Leukemia. StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560490/#article-24207.s3>
9. Ciesielska, M., Orzechowska, B., Gamian, A., & Kazanowska, B. (2024). Epidemiology of childhood acute leukemias. *Postępy Higieny I Medycyny Doświadczalnej*, 78(1), 22-36. <https://doi.org/10.2478/ahem-2023-0023>

Références

10. Coiteux, V., Abellan, I., Ahmad, I., Boissard, A., Busquet, C., Ceballos, P., Coman, T., Godin, S., Hermet, É., Marçais, A., Mamez, A., Quessar, A., Souchet, L., Magro, L., & Simon, N. (2024).
Prevention de la rechute des leucémies aiguës et syndromes myelodysplasiques en post-allogreffe : stratégies prophylactique et préemptive (sfgm-tc).
Bulletin du Cancer. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2024.06.015>
11. Dargahi, T., Goudarzi, M., Mobarra, N., Poorkarim, H., Rahmani, S., Khalili, M., Amini, M., Hamedani, J., & Azad, M. (2016).
Investigation of leukemia frequency in children of qazvin province and its correlation with gender, age, and blood groups between 2006-2016.
Novelty in Biomedicine, 4(4), 135–141. <https://doi.org/10.22037/nbm.v4i4.14670>
12. Doumbia, M., Uwingabiye, J., Bissan, A., Rachid, R., Benkirane, S., & Masrar, A. (2016).
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, 23. <https://doi.org/10.11604/pamj.2016.23.258.8396>
13. Erdem, E., & Toruner, E. K. (2017).
How can we use symptom clusters in nursing care of children with leukemia?
Asia-Pacific Journal Of Oncology Nursing, 5(1), 51-56.
https://doi.org/10.4103/apjon.apjon_57_17
14. Ibrahimova, A., Pommert, L., & Breese, E. H. (2021).
Acute leukemia in infants.
Current Oncology Reports, 23(3). <https://doi.org/10.1007/s11912-021-01021-1>
15. Inaba, H., & Mullighan, C. G. (2020).
Pediatric acute lymphoblastic leukemia.
Haematologica, 105(11), 2524-2539. <https://doi.org/10.3324/haematol.2020.247031>
16. Inaba, H., & Pui, C. (2021).
Advances in the diagnosis and treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia.
Journal Of Clinical Medicine, 10(9), 1926. <https://doi.org/10.3390/jcm10091926>
17. Juliusson, G., & Hough, R. (2016).
Leukemia.
Progress In Tumor Research, 87-100. <https://doi.org/10.1159/000447076>
18. Kang, Z., Liu, Y., Xu, L., Long, Z., Huang, D., Yang, Y., Liu, B., Feng, J., Pan, Y., Yan, J., & Liu, Q. (2016).
The philadelphia chromosome in leukemogenesis.
Chinese Journal Of Cancer, 35(1). <https://doi.org/10.1186/s40880-016-0108-0>

Références

19. Khoury, J. D., Solary, E., Abla, O., Akkari, Y., Alaggio, R., Apperley, J. F., Bejar, R., Berti, E., Busque, L., Chan, J. K. C., Chen, W., Chen, X., Chng, W., Choi, J. K., Colmenero, I., Coupland, S. E., Cross, N. C. P., De Jong, D., Elghetany, M. T., . . . Hochhaus, A. (2022).
The 5th edition of the world health organization classification of haematolymphoid tumours : myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms.
Leukemia, 36(7), 1703-1719. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1>
20. Kim, J. C., Chan-Seng-Yue, M., Ge, S., Zeng, A. G. X., Ng, K., Gan, O. I., Garcia-Prat, L., Flores-Figueroa, E., Woo, T., Zhang, A. X. W., Arruda, A., Chithambaram, S., Dobson, S. M., Khoo, A., Khan, S., Ibrahimova, N., George, A., Tierens, A., Hitzler, J., . . . Notta, F. (2023).
Transcriptomic classes of bcr-abl1 lymphoblastic leukemia.
Nature Genetics, 55(7), 1186-1197. <https://doi.org/10.1038/s41588-023-01429-4>
21. Kwon, M., Kim, B. S., Yoon, S., Oh, S., & Lee, D. (2024).
Hematopoietic stem cells and their niche in bone marrow.
International Journal Of Molecular Sciences, 25(13), 6837. <https://doi.org/10.3390/ijms25136837>
22. Lato, M. W., Przysucha, A., Grosman, S., Zawitkowska, J., & Lejman, M. (2021). THE new therapeutic strategies in pediatric t-cell acute lymphoblastic leukemia.
International Journal Of Molecular Sciences, 22(9), 4502. <https://doi.org/10.3390/ijms22094502>
23. Lee, S. H. R., Antillon-Klussmann, F., Pei, D., Yang, W., Roberts, K. G., Li, Z., Devidas, M., Yang, W., Najera, C., Lin, H. P., Tan, A. M., Ariffin, H., Cheng, C., Evans, W. E., Hunger, S. P., Jeha, S., Mullighan, C. G., Loh, M. L., Yeoh, A. E. J., . . . Yang, J. J. (2022). Association of genetic ancestry with the molecular subtypes and prognosis of childhood acute lymphoblastic leukemia.
JAMA Oncology, 8(3), 354. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2021.6826>
24. Lejman, M., Chałupnik, A., Chilimoniuk, Z., & Dobosz, M. (2022).
Genetic biomarkers and their clinical implications in b-cell acute lymphoblastic leukemia in children.
International Journal Of Molecular Sciences, 23(5), 2755. <https://doi.org/10.3390/ijms23052755>
25. Li, J., Wang, Y., Dong, C., & Luo, L. (2024).
Advancements in leukemia management : bridging diagnosis, prognosis and nanotechnology (review).
International Journal Of Oncology, 65(6). <https://doi.org/10.3892/ijo.2024.5700>

Références

26. Liu, X., Liu, H., Li, J., Mao, C., He, J., & Zhao, X. (2020). Role of epigenetic in leukemia : from mechanism to therapy. *Chemico-Biological Interactions*, 317, 108963. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.108963>
27. Ma, X., Wei, L., Lei, Z., Chen, Y., Ding, Z., & Chen, Z. (2021). Recent progress on targeting leukemia stem cells. *Drug Discovery Today*, 26(8), 1904-1913. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.05.009>
28. Mahdaoui, C. E., Hda, N., Oukkache, B., Dehbi, H., Khoubila, N., Madani, A., & Cherkaoui, S. (2023). T(1 ; 4) translocation in a child with acute lymphoblastic leukemia : a case report. *JOURNAL OF MEDICAL CASE REPORTS*, 17(1).<https://doi.org/10.1186/s13256-023-04270-9>
29. Miller, S. A., Dykes, D. D., & Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting dna from human nucleated cells. *Nucleic acids research*, 16(3), 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>
30. Munir, F., He, J., Connors, J., Garcia, M., Gibson, A., McCall, D., Nunez, C., Dinh, C. N., Robusto, L., Roth, M., Khazal, S., Tewari, P., & Cuglievan, B. (2023). Translational advances in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia : narrative review of current and emerging molecular and immunotherapies. *Translational Pediatrics*, 12(3), 487-502. <https://doi.org/10.21037/tp-22-656>
31. Nemkov, T., D'Alessandro, A., & Reisz, J. A. (2018). Metabolic underpinnings of leukemia pathology and treatment. *Cancer reports*, 2(2). <https://doi.org/10.1002/cnr2.1139>
32. Polychronakis, I., Dounias, G., Makropoulos, V., Riza, E., & Linos, A. (2013). Work related leukemia : a systematic review. *Journal Of Occupational Medicine And Toxicology*, 8(1), 14. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-8-14>
33. Qamar, A., Imran, M. Z., Afzal, N., Hussain, S., Andleeb, M., & Shakeel, N. (2022). Frequency of bcr-abl gene translocation in b-all patients associated with clinicopathological parameters. *Pakistan Journal Of Medicine And Dentistry*. <https://doi.org/10.36283/pjmd11-2/005>
34. Quessada, J., Cuccuini, W., Saultier, P., Loosveld, M., Harrison, C. J., & Lafage-Pochitaloff, M. (2021). Cytogenetics of pediatric acute myeloid leukemia : a review of the current knowledge. *Genes*, 12(6), 924. <https://doi.org/10.3390/genes12060924>

Références

35. Ray, A., Levitt, M., Efunkoya, T., & Trinkman, H. (2024). Precision medicine for acute lymphoblastic leukemia in children : a review. *Children*, 11(11), 1329. <https://doi.org/10.3390/children11111329>
36. Repsold, L., Pool, R., Karodia, M., Tintinger, G., & Joubert, A. M. (2017). An overview of the role of platelets in angiogenesis, apoptosis and autophagy in chronic myeloid leukaemia. *Cancer Cell International*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12935-017-0460-4>
37. Rodriguez, P. R. T., Mehta, D., Subhan, M., Yadav, R. P., Yousofzai, B. S., Al-Najjar, E. H., Bibi, R., Idries, M., Singh, A., & Adnan, M. (2024). Evolving horizons in pediatric leukemia: novel insights, challenges, and the journey ahead. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.67480>
38. Sakić, M. (2012). Distribution of abo blood group in children with acute leukemias. *Journal Of Health Sciences*, 2(3), 220-223. <https://doi.org/10.17532/jhsci.2012.41>
39. Seth, R., & Singh, A. (2015). Leukemias in children. *The Indian Journal Of Pediatrics*, 82(9), 817-824. <https://doi.org/10.1007/s12098-015-1695-5>
40. Stanulla, M., Cavé, H., & Moorman, A. V. (2019). Ikbfl deletions in pediatric acute lymphoblastic leukemia : still a poor prognostic marker ? *Blood*, 135(4), 252-260. <https://doi.org/10.1182/blood.2019000813>
41. Szczepanek, J. (2020). Role of microrna dysregulation in childhood acute leukemias : diagnostics, monitoring and therapeutics: a comprehensive review. *World Journal Of Clinical Oncology*, 11(6), 348-369. <https://doi.org/10.5306/wjco.v11.i6.348>
42. Tantray, J. A., Mansoor, S., Wani, R. F. C., & Nissa, N. U. (2023). Pcr for gene amplification. Dans Elsevier eBooks (p. 99-102). <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-19174-9.00023-4>
43. Tebbi, C. K. (2021). Etiology of acute leukemia : a review. *Cancers*, 13(9), 2256. <https://doi.org/10.3390/cancers13092256>

Références

44. Tlamçani, I., Benaaddach, S. O., Abddaoui, M., Benmiloud, S., Hida, M., & Hassani, M. A. (2018).
Profil immunophénotypique des leucémies aiguës lymphoblastiques chez l'enfant.
Médecine Thérapeutique / Pédiatrie, 21(3), 149-159.
<https://doi.org/10.1684/mtp.2018.0691>
45. Tripathi, A. K., & Chuda, R. (2025).
Laboratory evaluation of acute leukemia.
StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK611988/>
46. Vu, Q. H., Van, H. T., Tran, V. T., Huynh, T. D. P., Nguyen, V. C., & Le, D. T. (2021).
Development of a robust blood smear preparation procedure for external quality assessment.
Practical Laboratory Medicine, 27, e00253. <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2021.e00253>
47. Vuelta, E., García-Tuñón, I., Hernández-Carabias, P., Méndez, L., & Sánchez-Martín, M. (2021).
Future approaches for treating chronic myeloid leukemia : crispr therapy.
Biology, 10(2), 118. <https://doi.org/10.3390/biology10020118>
48. Wachter, F., & Pikman, Y. (2024).
Pathophysiology of acute myeloid leukemia.
Acta Haematologica, 147(2), 229-246. <https://doi.org/10.1159/000536152>
49. Yan, Y. C., Wang, C., Mi, J. Q., & Wang, J. (2024).
[The progress in classification and prognosis evaluation of bcr : : abl1 positive acute lymphoblastic leukemia].
PubMed, 45(7), 705-710. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121090-20240315-00096>
50. Zhou, T., Medeiros, L. J., & Hu, S. (2018).
Chronic myeloid leukemia : beyond bcr-abl1.
Current Hematologic Malignancy Reports, 13(6), 435-445. <https://doi.org/10.1007/s11899-018-0474-6>

ANNEXES

Annexe 1

Figure 1 : Classification OMS 2022 des leucémies aigues lymphoblastiques (Aureli et al., 2023).

Table 1. WHO classification of acute lymphoblastic leukemia.
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, NOS
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34.1;q11.2);BCR-ABL1
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(v;11q23.3);KMT2A rearranged
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(12;21)(p13.2;q22.1);ETV6-RUNX1
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hyperdiploidy
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hypodiploidy
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(5;14)(q31.1;q32.3)IL3-IGH
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(1;19)(q23;p13.3);TCF3-PBX1
Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with translocations involving tyrosine kinases or cytokine receptors ("BCR-ABL1-like")
Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21)
T-lymphoblastic leukemia/lymphoma (can only be differentiated from B-ALL/LBL based on IHC and/or flow cytometry).
Provisional entity: Early T-cell precursor lymphoblastic leukemia
Provisional entity: NK cell lymphoblastic leukemia/lymphoma

Figure 2 : Classification OMS 2022 des leucémies aigues myéloïdes (Khoury et al., 2022)

Table 7. Acute myeloid leukaemia.
Acute myeloid leukaemia with defining genetic abnormalities
Acute promyelocytic leukaemia with <i>PML::RARA</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>RUNX1::RUNX1T1</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>CBFB::MYH11</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>DEK::NUP214</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>RBM15::MRTFA</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>BCR::ABL1</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>KMT2A</i> rearrangement
Acute myeloid leukaemia with <i>MECOM</i> rearrangement
Acute myeloid leukaemia with <i>NUP98</i> rearrangement
Acute myeloid leukaemia with <i>NPM1</i> mutation
Acute myeloid leukaemia with <i>CEBPA</i> mutation
Acute myeloid leukaemia, myelodysplasia-related
Acute myeloid leukaemia with other defined genetic alterations
Acute myeloid leukaemia, defined by differentiation
Acute myeloid leukaemia with minimal differentiation
Acute myeloid leukaemia without maturation
Acute myeloid leukaemia with maturation
Acute basophilic leukaemia
Acute myelomonocytic leukaemia
Acute monocytic leukaemia
Acute erythroid leukaemia
Acute megakaryoblastic leukaemia

Annexes

Annexe 2

Figure 3 : Les instabilités génomiques récurrents dans les leucémies à chromosome philadelphie positif (Kang et al., 2016)

Table 1 Recurrent genomic abnormalities in Philadelphia chromosome (Ph)-positive leukemia

Genomic abnormality	Location	Status	Ph-positive leukemia	Frequency	Reference(s)
<i>IKZF1</i>	7q12.2	Deletion	ALL	50%–83%	[162, 164]
		Deletion	Lymphoid CML-BC	73%–75%	[163, 180]
<i>PAX5</i>	9p13	Deletion	ALL	33%–51%	[171, 172, 180]
		Deletion	Lymphoid CML-BC	58.3%	[180]
<i>EBF1</i>	5q34	Deletion	ALL	14%	[198]
<i>CDKN2A/B</i>	9p13-p23.1	Deletion	AML	50%	[66]
		Deletion	MPAL	33.3%	[66]
		Deletion	ALL	53.5%	[163, 164]
<i>IG</i>	14q32.33	<i>IGHV/IGHG2 M</i> deletion	Lymphoid CML-BC	58.3%–69%	[180]
	22q11.2	<i>IGLL1</i> deletion	Lymphoid CML-BC	66%–100%	[66, 163, 180]
<i>TCR</i>	14q11.2/7p14.1	<i>TCRA/B/D</i> deletion	AML/MPAL	66.7%	[66]
	14q11.2	<i>TCRA</i> deletion	Lymphoid CML-BC	66.7%	[66]
<i>BTG1</i>	12q21.33	Deletion	AML/MPAL	74%	[66, 180]
		Deletion	BCP-ALL	11%–31.3%	[176]
		Deletion	MPAL	33.3%	[176]
		Deletion	CML-BC (B-lineage)	33.3%	[176]

IKZF1 transcription factor IKAROS family zinc finger protein 1, *PAX5* paired box 5, *EBF1* early B-cell factor 1, *CDKN2A/B* cyclin-dependent kinase inhibitor 2, *IG* immunoglobulin, *TCR* T-cell receptor, *BTG1* B-cell translocation gene 1, *IGHV* immunoglobulin heavy chain variable region, *IGHG2M* immunoglobulin heavy constant gamma 2, *IGLL1* immunoglobulin lambda-like polypeptide 1, *TCRA* T-cell receptor alpha locus, *ALL* acute lymphoblastic leukemia, *CML-BC* chronic myeloid leukemia blast crisis, *AML* acute myeloid leukemia, *MPAL* mixed-phenotype acute leukemia, *BCP-ALL* B-cell precursor ALL

Annexe 3:

Les différentes méthodes ont été réalisées au sein du laboratoire de biologie moléculaire, comprenant trois salles distinctes pour la manipulation de l'ADN, de l'ARN et pour l'électrophorèse, chacune équipée selon les exigences des techniques utilisées.

Annexes

Tableau 1 : Liste des équipements utilisés

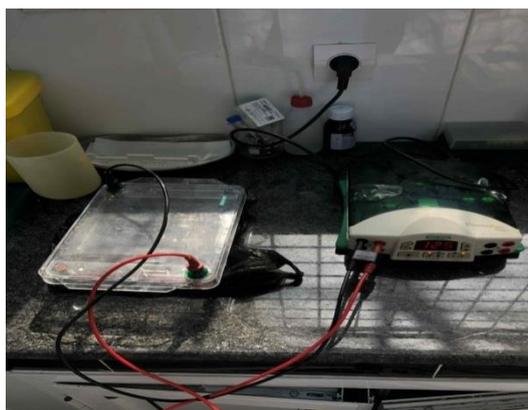
Équipement utilisé	La marque
Poste de sécurité microbiologique	PSM-120
Automate d'extraction des acides nucléiques	IANLONG
Electrophorèse	PowerPac Basic BIO-RAD
Thermocycleur classique et en temps réel	BIO-RAD C1000 Touche
Automate d'imagerie moléculaire	BIO-RAD Gel Doc XR+
Centrifugeuse	Mini spin Eppendorf
Balance analytique	/
Bain marie	BOECO
Microscope optique	ELCIA DM750
Réfrigérateur	/
Vortex	/



Poste de sécurité microbiologique



Automate d'extraction des acides nucléiques



Electrophorèse

Annexes



Thermocycleur



Microscope optique

Annexe 4: Réactifs biologiques

Tableau 2 : Liste des équipements utilisés

Techniques	Réactifs utilisés
Frottis sanguin	Colorant de type May-Grünwald Giemsa (MGG)
Extraction d'ARN	Tampon de lyse, ethanol 100%, DNase, tampon de lavage 1, tampon de lavage 2, l'eau sans RNase
Electrophorèse	Agarose, TBE 10 mg/ml, BET, eau distillée
RT-PCR	Master mix (tampon RT, dNTP, Primers aléatoires, reverse transcriptase, inhibiteur de l'ARNase)
Q-PCR	Couples des amorces (BCR et ABL), la sonde (SyberGreen), Master mix de qPCR
Extraction d'ADN	Tampons de lyse (SLR et SLB), Solution saline saturée (NaCl ou acétate), Protéinase K, Ethanol absolu et 70%, Tampon TE



Colorant Giemsa



Kit d'extraction d'ARN



Méduse d'ADN



Plasmide BCR-ABL1

Annexe 5 : Plasmide de la translocation BCR-ABL1

Invitrogen
by Thermo Fisher Scientific

Quality Assurance Documentation

ProjectID:	2022AAGV4C	ConstructID:	22ACPI6C
Gene Name:	sapiens_BCR-ABL1	Gene Size:	720 bp
Designation:	E.coli K12 DH10B™ T1R	Vector Backbone:	pMA-RQ (AmpR)
Manufacturing Date:	3 November 2023	Quantity:	~5 µg Plasmid DNA

Product Description: The synthetic gene sapiens_BCR-ABL1 was assembled from synthetic oligonucleotides and/or PCR products. The fragment was inserted into pMA-RQ (AmpR). The plasmid DNA was purified from transformed bacteria and concentration determined by UV spectroscopy. The final construct was verified by sequencing. The sequence identity within the insertion sites was 100%. 5 µg of the plasmid preparation were vacuum dried for shipping.

Product Handling: The delivered DNA amounts are indicated on the individual tube labels. Centrifuge tubes prior to opening. Do not store vacuum dried DNA for a prolonged time. Add an appropriate amount of distilled water or 10 mM Tris-HCl (pH 8.5) and incubate for 1 hour at room temperature (optionally followed by an overnight incubation at 4°C). Resuspend DNA by gently pipetting up and down a couple of times. If not to be used immediately, resuspended DNA should be stored at -20°C or -80°C. Storing as aliquots helps to reduce unfavorable freeze-thaw cycles. We recommend sequence verification after each subcloning respectively transformation step.

Plasmid Map:

Data Handling:

If you have subscribed to our convenient service to deliver all Quality Assurance Documentation (QAD) for your GeneArt orders electronically through Thermo Fisher Cloud, please follow this link to access your information: <https://apps.thermofisher.com/apps/geneart-qa>. Alternatively, you can scan the QR code. If you have not subscribed to this service, the QAD can be found on the CD included in your shipment. The QAD includes a .gb file containing the full vector information, a .fas file for your insert sequence only and if applicable, your ordered raw sequencing data.

Annexe 6 : Préparation des solutions

Préparation de la solution de lyse des globules rouges (SLR) :

- Ajouter 10 ml du tampon Tris avec 20 ml de l'EDTA.
- Ajouter 970 ml de l'eau distillée pour une solution de 1000 ml.

Préparation de la solution de lyse des globules blancs (SLB) :

- Ajouter 5 ml du tampon Tris avec 5 ml de l'EDTA.
- Ajouter 490 ml de l'eau distillée pour une solution de 500 ml.

Annexe 7: Fiche de renseignement des patients

Fiche de renseignement				Code patient:
1- INFORMATIONS GENERALES				
Nom:		Prénom:		
Date et lieu de naissance:				
Age:				
Adresse :		Numéro de téléphone:		
Origine :				
Sexe:				
Taille (cm) :	Poids (kg):	IMC :	SC:	
Groupage :		Antigène :		
Date d'hospitalisation :				
Médecins traitants :				
2- HISTORIQUE MÉDICAL ET PERSONNEL				
Co-sanguinité: oui <input type="radio"/> non <input type="radio"/>				
Antécédents médicaux (maladies antérieures):				
Antécédents familiaux :				
<input type="checkbox"/> Cancer				
<input type="checkbox"/> Syndrome héréditaire				
<input type="checkbox"/> Autres:				
Comorbidités (autres maladies présentes):				
Autres (vaccination, période néonatal.):				
3- MANIFESTATIONS CLINIQUES				
Type de Leucémie				
<input type="checkbox"/> Leucémie aigüe lymphoblastique (LAL)		T =	B =	
<input type="checkbox"/> Leucémie aigüe myéloblastique (LAM)				
<input type="checkbox"/> Autres (précisez) :				
Rechute : oui non				
Sanguine		médullaire	méningés	

Code patient:

Atteintes hématologiques

Anémie pâleur Fatigue et manque d'énergie thrombocytopénie ecchymoses
pétéchies Saignements Fièvre Infections récurrentes Douleurs osseuses ou
articulaires Adénopathie Leucopénie Leucocytose : les nausées, vomissements,
convulsions, diminution du niveau de conscience, déficience visuelle

Manifestations buccales: Aphtes, hypertrophie gingivale et saignements des gencives.

Autres symptômes:.....

Anomalies du système nerveux central

Manifestation Viscérale

Atteinte neurologique Hépatique splénomégalie cardiaque respiratoire pulmonaire
hématologique ophtalmologique Digestive

Radiographie :

Thorax abdominale cardiaque

4- BILAN PRÉ-THERAPEUTIQUE

FNS

Cellules	Résultats	Normes
Globules blancs ($\times 10^3/\text{mm}^3$)		
Lymphocytes ($\times 10^2/\text{mm}^3$)		
Neutrophiles ($\times 10^2/\text{mm}^3$)		
Globules rouges ($\times 10^6/\text{mm}^3$)		
Hb (g/dl)		
Hématocrites (%)		
Plaquettes ($\times 10^3/\text{mm}^3$)		
VGM (fL)		
CCMH (g/dl)		
TCM (pg)		

Frottis sanguin

Cellules	Résultats
GB	
PNN (%)	
PNE (%)	
PNE (%)	
Monocytes (%)	
Lymphocytes (%)	
GR	
Normocytose	
Normochromie	
poikilocytose	
Plaquettes	
Elastes (%)	

Code patient:

IMMUNOPHENOTHYPAGE

Prélèvement : Sang ☐ MO ☐ Leucocytes (/ mm3) : Cellules étudiées (%):

CD45:

CD3: HLA-DR:

CD117 : CD64 : CD13s : CD14: CD33s: CD34 :

CD4 : CD7 : MPOc : CD13c : CD33c: CD15:

CD11b: CD61: CD42a: CD235a: CD19: CD20 :

CD22: CD10: CD79a: CD1a: CD3s: CD5:

CD33: CD13: CD2: CD3Surface: CD8 :

Conclusion

.....

Résultats de la recherche des translocations

BCR- ABL ☐

E2A-PBX☐

TEL- AML 1☐

MYELOGRAMME

Blastes: %

Lignées 0 % sauf:

Conclusion

.....

Cytopathologie du LCR

.....

Code patient:

5- TRAITEMENTS

Chimiothérapie **Oui** **Non**

Si oui, préciser le traitement

.....

Radiothérapie **Oui** **Non**

Si oui, préciser le traitement

.....

Immunothérapie **Oui** **Non**

Si oui, préciser le traitement

.....

6- Résultats pendant le traitement

Frottis JS

Cellules	Résultats
GB (%)	
PNN (%)	
PNB (%)	
PNE (%)	
Monocytes (%)	
Lymphocytes (%)	
Blastes (%)	

PMO (MYELOGRAMME) J21

Cellules	Résultats
Myéloblastes (%)	
Promyélocytes (%)	
Myélocytes (%)	
Métamyélocytes (%)	
PNN (%)	
Eosinophiles (%)	
Erythroblastes (%)	
Mégacaryocytaire	
Lymphocytes (%)	
Monocytes (%)	
Plasmocytes (%)	
Blastes (%)	

Annexes

Code patient:

FNS	Pré TRAI	Pré Induction	Post Induction	Post consolidation			Post intensification		Post Entretien
				1	2	3	1	2	
GB (x10 ³ /mm ³)									
Lym (x10 ³ /mm ³)									
Neu (x10 ³ /mm ³)									
HCT (l/l)									
GR (x10 ⁶ /mm ³)									
Hb (g/dl)									
Plt(x10 ³ /mm ³)									
VGM (fL)									
CCMH (g/dl)									
TCM (pg)									

Frottis Post induction

Cellules	Resultats
GB (0%)	
PNN (0%)	
PNB (0%)	
PNE (0%)	
Monocytes (0%)	
Lymphocytes (0%)	
Blastes (0%)	

Code patient:

5. Patient rechuté : Oui Non

Phase de rechute :

MYELOGRAMME

Myéloblastes (%)	
Promyélocytes (%)	
Myélocytes (%)	
Métamyélocytes (%)	
PNN (%)	
Eosinophiles (%)	
Erythroblastes (%)	
Mégacaryocytaire	
Lymphocytes (%)	
Monocytes (%)	
Plasmocytes (%)	
Blastes (%)	

FROTTIS

Cellules	Résultats
GB	
PNN (%)	
PNB (%)	
PNE (%)	
Monocytes (%)	
Lymphocytes (%)	
GR	
Normocytose	
Normochromie	
Poikilocytose	
Plaquettes	
Blastes (%)	

FNS

Cellules	Résultats	Normes
Globules blancs /mm ³		
Polynucléaires		
Neutrophiles PNN(/mm ³)		
Lymphocytes (c)		
Neutrophiles (/mm ³)		
Globules rouges(/mm ³)		
Hb (g/dl)		
Hématocrites (l/l)		
Plaquettes (/mm ³)		
VGM(µm ³)		
CCMH (g/100ml)		
TCM (pg)		

Code patient:

Remarques

.....
.....
.....
.....

6. ARBRE GENEALOGIQUE

|

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOGRAPHIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université BLIDA 1
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

*Recherche de la translocation BCR-ABL dans les
leucémies pédiatriques*

Présenté par

M^{elle} Hamidi Hanane & M^{elle} Zourgui Nouhad

Devant le jury composé de :

Mme Chalal N	MCA	USDB 1	Président
Mr Khier M	MCB	USDB 1	Examinateur
Mme Raache R	Professeur	USTHB-FSB	Promoteur
Mme Aissani R	MCB	USDB 1	Co-promoteur
Mme Benmouffok N	Professeur	Fac de Médecine Alger	Invitée
Mme Nait Kaci N	MA	Fac de pharmacie Alger	Invitée

Année universitaire : 2024/2025