

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahlab BLIDA-1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



*Mémoire de fin d'études*

En vue d'obtention du Diplôme de Master

Option : Biochimie

## Thème

**Intérêt du frottis sanguin dans le diagnostic de la leucémie  
lymphoïde chronique (LLC)**

Réalisé par : *M<sup>lle</sup>*. OUARGUI WAFIYA      *M<sup>lle</sup>*. EL HEF MERIEM

*M<sup>lle</sup>*. FENNICHE FERIEL

Date de soutenance : 21/09/2020

Devant les membres de jury:

Mme Hamzi W.	MAA	UB1	Présidente
Mme Khaldoun H.	MCA	UB1	Examinatrice
Mme ELMahdi I.	MAA	UB1	Promotrice
Mme Taoussi S.	Professeur	CLCC	Co-promotrice

Promotion 2019-2020

## *Remerciement*

Au nom de Dieu clément et miséricordieux le plus grand merci lui revient de nous avoir aidés tout au long de nos études, et de nous avoir aidés à réaliser ce travail.

Nous tenants à exprimer nos respectueux remerciements aux membres de jury qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail en tant que président de Jury **Mme HAMZI W.**, nous tenons à vous témoigner tous les remerciements ainsi que notre profond respect.

Merci au **Dr KHALDOUN H.** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Permettez-nous **Mme ELMAHDII.** D'exprimer nos profonds remerciements pour l'aide compétente que vous nous avez apporté, pour votre encouragement, pour vos conseils et la confiance que vous nous avez fait. Nous sommes vraiment impressionnés par votre gentillesse, bonne humeur, disponibilité et par un ensemble de qualités dont l'espace ne nous suffirait pas pour les citer toutes. Nous vous prions de bien vouloir trouver ici le témoignage de notre vive reconnaissance, de notre haute considération et nos sincères remerciements d'avoir accepté de nous encadrer.

Nous remercions **Mme TAOUSSI S.** pour l'attention que vous avez portée à ce mémoire, d'avoir accepté de nous aider et de nous accorder de votre temps. Merci d'avoir fait partager votre expérience. Nous vous prions de trouver ici le témoignage de notre vive reconnaissance, de notre haute considération.

Merci à tous les travailleurs du **C.A.C de BLIDA**, surtout les techniciens supérieurs dans le laboratoire d'hématologie.

Merci à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

## *Dédicace*

*Je voudrais tout d'abord, remercier Dieu de m'avoir  
donnée le courage pour accomplir ce travail.*

*A Mon très cher père, aucune dédicace ne saurait  
exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai pour  
vous, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et  
nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*A Ma très chère mère tu as fait qu'une mère puisse  
faire  
pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur  
vie, et leurs études, je te dédie ce travail en témoignage  
de mon profond amour.*

*A Mes adorables sœurs et frère :*

*Hassina, Badea et Sidahmed vous êtes les frères idéals pour  
moi,  
Qui m'ont accompagnée dans chaque étape de ma vie.  
Sans vous ma vie n'aurait pas eu le même goût.  
Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.  
Merci d'être toujours là à mes côtés.*

*A mes chers grands-parents, mes oncles, mes cousins,  
cousines.*

*Ainsi à toutes mes copines en particulier :  
Niema, Amina et Yasmine.*

*Wafiya.*

## *Dédicace*

*Je voudrais tout d'abord, remercier dieu de m'avoir  
Donné le courage pour accomplir ce travail :  
Que j'ai dédiée.*

*A mon adorable mère et à mon père. pour l'affection, la  
patience, l'encouragement qu'ils m'ont donnés pendant toute  
ma vie. Et toutes les épreuves difficiles traversées ; qu'ils  
puissent trouver ici le fruit et l'aboutissement de tous les  
sacrifices qu'ils ont consentis pour moi, que dieu me les  
garde.*

*A ma adorable petite sœur, ma moitié YASMINE.*

*A la mémoire de mon grand père et ma grande mère  
qui nous a quittés, Reposent en paix, j'espère que j'ai pu être  
à la hauteur de tes espérances là où vous êtes.*

*A ma tante NADIA et mon oncle IBRAHIM. Merci  
d'être toujours là à mes côtés.*

*A mes cousines et cousins.*

*Et à toutes ma grande famille.*

*A mes intimes amies :*

*NOUR ELHOUDA, WAFIA et MAROUA*

*Meriem.*

## *Dédicace*

*Je voudrais tout d'abord, remercier dieu de m'avoir  
donnée le courage pour accomplir ce travail.*

*A Mon très cher père, aucune dédicace ne saurait  
exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai eu pour  
vous, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit  
pour mon éducation et mon bien être.*

*Ma très chère mère, tu as fait qu'une mère puisse faire  
pour que ces enfants suivent le bon chemin dans leur vie, et  
leurs études, je te dédie ce travail en témoignage de mon  
profond amour.*

*A Mes adorables frères et ma sœur :  
Tarik, Djihad, Lotfi, Khalil, Fulla.*

*Tous mes chers amis surtout : Malika, Chahra, Zahra,  
Amina  
Ainsi qu'à tous mes collègues.*

*Feriel.*

## Résumé

Ce travail est réalisé au service d'Hématologie du Centre Anti Cancer Blida a comporté une étude cyto-morphologique sur frottis sanguin de la leucémie lymphoïde chronique.

Il avait pour objectif de réaliser pour chaque cas de leucémie lymphoïde chronique inclus dans l'étude, un frottis sanguin afin de recenser les anomalies cytologiques des populations lymphoïdes observées pour mieux classer les variétés cytologiques de leucémie lymphoïde chronique.

Dans notre étude, après examen et application minutieuse des critères cytologiques sur le frottis sanguin de 22 patients, la majorité des patients (77,3%) a présenté une forme typique de leucémie lymphoïde chronique ; dans 22,7% des cas la leucémie lymphoïde chronique était atypique.

Ainsi, l'étude cytologique rigoureuse du frottis sanguin constitue un outil puissant et fiable pour établir le diagnostic de leucémie lymphoïde chronique à côté de l'examen plus spécifique, la cytométrie en flux

Ce travail a mis en évidence l'importance du frottis sanguin pour le diagnostic de la leucémie lymphoïde chronique.

**Mots clés :** Leucémie lymphoïde chronique, frottis sanguin, lymphocyte, morphologie.

## **Abstract**

This work, carried out in the Hematology department of Anti-CancerCenterBlida, included a cyto-morphological study on blood smear of chronic lymphoid leukemia.

Its objective was to perform a blood smear for each case of chronic lymphoid leukemia included in the study in order to identify the cytological abnormalities of the lymphoid populations observed in order to better classify the cytological varieties of chronic lymphoid leukemia.

In our study, after careful examination and application of cytological criteria on the blood smear of 22 patients, the majority of patients (77.3%) presented with a typical form of CLL; in 22.7% of cases, the chronic lymphoid leukemia was atypical.

Thus, the rigorous cytological study of the blood smear constitutes a powerful and reliable tool for establishing the diagnosis of chronic lymphoid leukemia alongside the more specific examination, flow cytometry

This work has demonstrated the importance of the blood smear for the diagnosis of chronic lymphoid leukemia.

**Keywords:** Chronic lymphocytic leukemia, blood smear, lymphocyte, morphology.

## ملخص

شمل هذا العمل الذي تم في قسم علم الدم التابع لـ مركز مكافحة السرطان بالبلدية دراسة سيتومورفولوجية عن تلطخ الدم من سرطان الدم الليمفاوي المزمن.

وكان الهدف من ذلك هو إجراء مسحة دم لكل حالة من حالات سرطان الدم اللمفاوي المدرجة في الدراسة لتحديد تشوهات الخلايا في الجماعات الليمفاوية التي لوحظت و هذا للتصنيف على نحو أفضل أنواع خلايا سرطان الدم اللمفاوي.

في دراستنا، وبعد الفحص الدقيق وتطبيق معايير الخلايا على لطخات دم 22 مريض ، قدمت غالبية المرضى (77.3%) شكلاً نموذجياً من سرطان الدم الليمفاوي المزمن؛ وفي 22.7% من الحالات كانت سرطان دم لمفاوي مزمن غير نمذجي.

وبالتالي، فإن الدراسة الدقيقة للخلايا لللطخات الدم هي أداة قوية وموثوقة لتحديد تشخيص سرطان الدم الليمفاوي المزمن إلى جانب الفحص الأكثر تحديداً، قياس التدفق الخلوي.

وقد أظهر هذا العمل أهمية لطخات الدم لتشخيص سرطان الدم الليمفاوي المزمن.

**الكلمات المفتاحية:** سرطان الدم الليمفاوي المزمن ، مسحة الدم ، الخلايا الليمفاوية ، التشكل



## Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

### CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.Le sang.....	2
I.1.1.Définition.....	2
I.2.Hématopoïèse.....	2
I.2.1.Définition de l'hématopoïèse.....	2
I.2.2.Lymphopoïèse.....	3
I.2.3. Lymphocytes.....	3
I.3. Hémopathies malignes.....	4
I.4.Leucémie lymphoïde chronique.....	5
I.4.1. Définition.....	5
I.4.2.Epidémiologie.....	5
I.4.3.Physiopathologie.....	5
I.4.4.Etude clinique.....	5
I.4.4.3.Examens complémentaires.....	6
I.4.4.3.1.Hémogramme.....	6
I.4.4.3.2.Frottis sanguin.....	6
I.4.4.4.Diagnostic cytologiques différentiels de la LLC.....	7
I.4.4.5.Immunophénotypage ou cytométrie en flux.....	10
I.4.5.Facteurs pronostiques.....	11
I.4.5.3. Facteurs pronostiques complémentaires.....	13

### CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

<b>II.1.Introduction</b> .....	14
II.2.Etapes de travail.....	14
II.3.Matériel et méthodes.....	14
II.3.1. Matériel.....	14
II.3.2.Méthodes.....	14
II.3.2.1. Prélèvement du sang.....	14

II.3.2.2. Réalisation de l'héogramme.....	15
II.3.2.3. Réalisation du frottis sanguin.....	18
II.3.2.4. Coloration d'un frottis sanguin : <u>May-Grünwald Giemsa</u> .....	20
II.3.2.5. Examen microscopique.....	23

### **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

III.1. Résultats.....	25
III.1.1. Répartition selon le sexe.....	27
III.1.2. Répartition selon l'âge.....	28
III.1.3. Répartition selon la wilaya d'origine.....	28
III.1.4. Répartition selon la profession : précisée chez les hommes.....	28
III.1.5. Répartition selon la présentation clinique.....	29
III.1.6. Répartition selon le taux de globules blancs.....	30
III.1.7. Répartition selon le taux de lymphocytes.....	30
III.1.8. Répartition selon le taux d'hémoglobine.....	31
III.1.9. Répartition selon le taux de plaquettes.....	31
III.1.10. Répartition selon le stade de Binet.....	31
III.1.11. Répartition selon le score de Matute.....	32
III.1.12. Répartition des patients selon l'étude cytologique.....	33
III.2. Discussion.....	35
<b>Conclusion</b> .....	37
<b>Références bibliographiques</b> .....	38

**Annexe**

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 01</b>	Schéma de l'hématopoïèse	02
<b>Figure 02</b>	Frottis sanguin de LLC typique	07
<b>Figure 03</b>	LLC atypique	07
<b>Figure 04</b>	Prolymphocytes de LPL	09
<b>Figure 05</b>	Lymphome folliculaire leucémisé	09
<b>Figure 06</b>	Lymphome du manteau leucémisé	09
<b>Figure 07</b>	Leucémie à tricholeucocytes variante	10
<b>Figure 08</b>	Cinq aires lymphoïdes palpables	12
<b>Figure 09</b>	Résultats d'un hémogramme automatisé	17
<b>Figure 10</b>	Etapes de réalisation d'un frottis sanguin	18
<b>Figure 11</b>	Différents frottis sanguins	19
<b>Figure 12</b>	Aspect d'un frottis sanguin de bonne qualité	20
<b>Figure 13</b>	Fixation de la lame	20
<b>Figure 14</b>	Ajout de colorant May-Grünwald	21
<b>Figure 15</b>	Rejet de colorant	21
<b>Figure 16</b>	Coloration au Giemsa	22
<b>Figure 17</b>	Rinçage de la lame	22
<b>Figure 18</b>	Séchage de la lame	22
<b>Figure 19</b>	Aspects des différentes cellules sanguines des patients atteintes de LLC sous microscope optique	25
<b>Figure 20</b>	Secteurs de pourcentage des globules blancs	27
<b>Figure 21</b>	Répartition des patients selon le sexe	27
<b>Figure 22</b>	Origine géographique des patients LLC	28
<b>Figure 23</b>	Répartition des professions chez les hommes	29
<b>Figure 24</b>	Répartition des patients selon le type de syndrome tumoral	29
<b>Figure 25</b>	Répartition des patients selon le taux des globules blancs	30

<b>Figure 26</b>	Répartition des patients selon le taux des lymphocytes	31
<b>Figure 27</b>	Répartition selon le stade de Binet	32
<b>Figure 28</b>	Répartition selon le score de Matutes	32
<b>Figure 29</b>	Caryotype complexe : tri 12 ; del 13q14, del P53 et d'autres anomalies	33
<b>Figure 30</b>	Caryotype de LLC montrant une trisomie 12	34

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Tableau I	Caractéristiques cytologiques des différentes cellules lymphoïdes observées dans la LLC	08
Tableau II	Critères du Score de Matutes	10
Tableau III	Classification de Rai	12
Tableau IV	Classification de Binet	13
Tableau V	Pourcentage des différents types des globules blancs	27

# Glossaire

**Adénopathie** : désigne le gonflement des ganglions lymphatiques.

**Cytopénie** : c'est la diminution du nombre des cellules circulantes dans le sang.

**Hépatomégalie** : une augmentation du volume du foie.

**Lymphocytose** : une augmentation du nombre des lymphocytes.

**Lymphomes hodgkiniens** : appelé également maladie de Hodgkin. Ils représentent 25% des lymphomes. Caractérisé par la présence de grosses cellules atypiques.

**Myélome** : Cancer de la moelle osseuse qui se caractérise par une prolifération de plasmocytes qui synthétisent une immunoglobuline monoclonale anormale.

**Ombres de Gümprécht** : Correspondent à des cellules lymphoïdes lysées avec membrane nucléaire interrompue et cytoplasme non intact.

**Polyglobulie de Vaquez** : un syndrome myéloprolifératif acquis caractérisé par une hyperproduction des globules rouges.

**Prolymphocyte** : Cellule de grande taille avec un noyau régulier avec une chromatine plus fine et parfois nucléolé et au cytoplasme plus étendu.

**Score Matutes** : score de 5 points sur la base de la présence ou l'absence de cinq marqueurs de surface, permet de confirmer le diagnostic de LLC lorsqu'il est  $\geq 4$ .

**Splénomégalie** : une augmentation du volume de la rate.

**Thrombopénie** : c'est la diminution du nombre des thrombocytes (plaquettes).

**Thrombocytémie** : syndrome myéloprolifératif portant sur la lignée plaquettaire.

## Liste des abréviations

**CCMH** : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

**CHU**: Centre Hospitalo-Universitaire.

**CSH** : Cellule Souche Hématopoïétique.

**CD** : Cluster de Différenciation.

**EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétracétique.

**FAB** : Franco-américano-britannique.

**FNS** : Formule de numérotation sanguine.

**IDP** : Indice de distribution des plaquettes.

**IDR** : Indice de distribution de globule rouge.

**HAS** : Haute Autorité de Santé.

**HDJ** : Hôpital du jour.

**HGB** : Hémoglobine.

**GB** : Globule Blanc.

**GR** : Globule Rouge.

**LAL** : Leucémie aigue lymphoblastique.

**LAM** : Leucémie aigue myéloblastique.

**LB** : Lymphocyte B.

**LLC** : Leucémie Lymphoïde Chronique.

**LMC**: Leucémie myéloïde chronique.

**LPL** : Leucémie prolymphocytaire.

**LT**: Lymphocyte T.

**MDS** : Myélodysplasies.

**MGG** : May-Grunewald Giemsa.

**NK** : Naturel Killer.

**Plaq** : Plaquettes.

**SLPC** : Syndromes Lymphoprolifératifs Chroniques.

**SMP** : Syndromes myéloprolifératifs.

**TCR** : Récepteur des cellules T.

**TDL** : Temps de doublement des lymphocytes.

**TCMH** : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.

**VGM** : Volume globulaire moyen.



# **Introduction**

## Introduction

Une hémopathie maligne est un cancer du sang qui a pour origine une prolifération anarchique de cellules matures ou immatures à l'origine d'hémopathies chroniques à évolution lente ou aiguës à évolution rapide.

Ce processus malin prend naissance soit dans la moelle hématopoïétique (leucémies ; myélome) soit dans les organes lymphoïdes (Lymphomes). (**Diebold et al.,2008**).

Il existe différents types de leucémies :

Les leucémies aiguës représentent un groupe hétérogène de néoplasies qui se caractérisent par une transformation maligne de précurseurs hématopoïétiques peu différenciés et incapables d'achever leurs maturations, d'évolution aiguë : leucémie aiguë myéloblastique (LAM) et leucémie aiguë lymphoblastique (LAL). (**Harisson,1993**).

Les leucémies chroniques regroupent des entités caractérisées par une prolifération de cellules matures, d'évolution lente : leucémie myéloïde chronique (LMC) et leucémie lymphoïde chronique (LLC)

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une hémopathie maligne caractérisée par une accumulation dans le sang, la moelle osseuse et les organes lymphoïdes secondaires (ganglion, rate) de petits lymphocytes d'aspect mature (**Caligaris et al.,1993**), apparentés à la lignée B. Le diagnostic est biologique. La Haute Autorité de Santé (HAS) définit la LLC selon ces critères «Toute lymphocytose isolée de plus de 5 000 /mm<sup>3</sup>, persistant depuis plus de 3 mois, chez un sujet adulte, doit faire évoquer le diagnostic de LLC».

Le présent travail a pour objectif de réaliser pour chaque cas de LLC qui nous sera confié, un frottis sanguin afin de recenser les anomalies cytologiques des populations lymphoïdes observées pour mieux classer les variétés cytologiques de LLC. Par conséquent, ce manuscrit se composera de deux parties, une qui présente des rappels bibliographiques de cette pathologie et l'autre pratique qui traitera des aspects cytologiques sur frottis sanguin de cette pathologie.

**CHAPITRE I :**

**PARTIE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

I.1. Le sang

I.1.1.Définition

C'est un tissu vital sous forme d'un liquide visqueux plus épais et plus dense que l'eau, de couleur rouge, circulant dans les vaisseaux. Le volume de ce tissu est compris entre 5- 6 litres chez l'homme, 4-5 litres chez la femme et 250 ml chez le nouveau-né. Il représente environ 7 à 10% du poids corporel total. Il est légèrement alcalin, son PH se situe entre (7,35-7,45), sa température est égale à 37°C. Il se compose de plasma et de divers types de cellules [les globules rouges (GR) ou hématies, les globules blancs (GB) ou leucocytes et les plaquettes (plaq) ou thrombocytes].

Les GR acheminent l'oxygène absorbé par les poumons vers les tissus ; les plaquettes sanguines participent aux mécanismes de l'hémostase et les globules blancs assurent la défense cellulaire de l'organisme par le polynucléaires (défense non spécifique) et les lymphocytes (défense spécifique cellulaire et humorale).**(Paubel et al., 1999).**

I.2. Hématopoïèse

I.2.1. Définition

L'hématopoïèse est le processus qui assure de manière complexe et hiérarchisée dans la moelle hématopoïétique, la production continue des différentes cellules sanguines à partir d'une seule cellule souche hématopoïétique (CSH).C'est un ensemble de mécanismes de différenciation et de maturation cellulaire à l'origine de la production quotidienne de près de 200 milliards de globules rouges, 100 milliards de plaquettes et 50 milliards de globules blancs. La figure 1 illustre les différents niveaux et étapes de l'hématopoïèse :

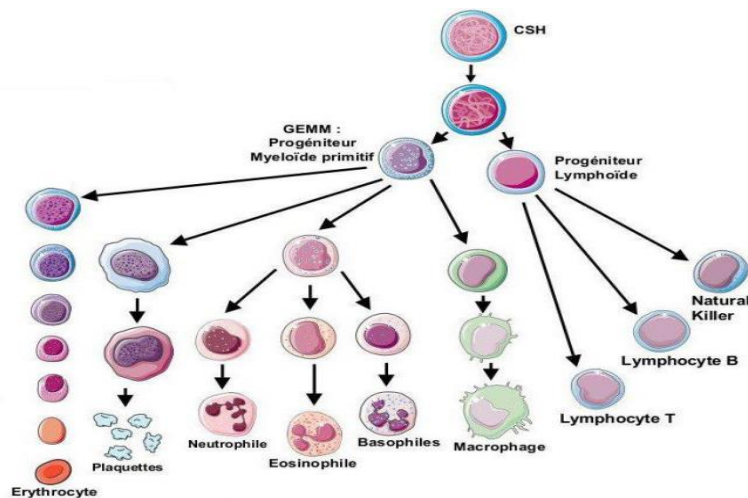


Figure 1 : Schéma de l'hématopoïèse. **(Barroca, 2009).**

**I.2.2.Lymphopoïèse**

La lymphopoïèse comprend l'ensemble des mécanismes et processus aboutissant à la production des lymphocytes. C'est un processus complexe de différenciation et de maturation continu qui débute après l'engagement de la CSH à l'origine de la production des progéniteurs lymphoïdes qui donneront les précurseurs lymphoïdes et eux même donneront les lymphocytes. Chaque progéniteur lymphoïde (Pro-B, Pro-T et Pro-NK) donnera le type final de lymphocytes : B, T et NK. **(Kohn et al., 2012).**

**I.2.2.1.Lymphopoïèse B**

Elle produit des lymphocytes B. Ces lymphocytes B présentent à leur surface des marqueurs antigéniques différents. Ceux sont des cellules immunitaires adaptatives. Elles reconnaissent les agents pathogènes qu'elles neutralisent par les anticorps spécifiques qu'elles produisent contre eux. **(Busslinger, 2004).**

**I.2.2.2.Lymphopoïèse T**

Durant toute la vie de l'être humain, la moelle hématopoïétique alimente le thymus en lymphocytes spécifiques qui subiront dans cet organe plusieurs étapes de différenciation T au cours desquelles sera acquis le complexe CD3-TCR spécifique du lymphocyte T [prolifération de thymocytes corticaux qui évolueront en thymocytes communs puis en thymocytes matures].

**I.2.2.3. Lymphopoïèse NK**

Elle se déroule dans la moelle hématopoïétique, les ganglions, le foie, produisant des lymphocytes de l'immunité naturelle ou innée qui seront responsables de la défense contre les micro-organismes et d'une activité anti tumorale. **(Galy, 1995).**

**I.2.3.Lymphocytes**

Le lymphocyte est une cellule mononuclée, de petite taille (8-10 µm de diamètre) avec un noyau occupant la quasi-totalité de la cellule. Sa forme est régulière et arrondie. Il est la cellule centrale du système immunitaire. Il assure la fonction essentielle d'identification de l'antigène en étroite collaboration avec le macrophage et joue un rôle central dans la réaction immunitaire qui provoque la neutralisation et l'élimination des agents étrangers soit directement (effet cytotoxique) ou indirectement par sa transformation en plasmocyte producteur d'anticorps (effet immuno toxique).**(Bennet, 1989).**

Selon leurs fonctions on peut distinguer trois types : T, B et NK.

**I.2.3.1. Lymphocytes T (Thymo-dépendants)**

Ils représentent environ 70% des cellules immunitaires et sont impliqués dans l'immunité à médiation cellulaire. Ils assurent plusieurs fonctions : reconnaissance de l'antigène (Ag), régulation de la réponse immunitaire, fonction de mémoire. **(Harald, 2000)**.

**I.2.3.2. Lymphocytes B**

Ils représentent environ 20% des cellules immunitaires, originaires de la moelle osseuse, sont impliqués dans l'immunité à médiation humorale. Ils ont pour fonction : la production d'anticorps (immunoglobulines), la présentation et reconnaissance de l'antigène, ainsi que la fonction mémoire. **(Harald, 2000)**.

**I.2.3.3. Lymphocytes NK**

Les lymphocytes NK (Natural Killer) sont des grandes cellules granules douées d'immunité innée ayant pour fonctions : la lutte contre les micro-organismes et la lutte anti-tumorale. **(Galy, 1995)**.

**I.3. Hémopathies malignes**

Ceux sont des cancers de la moelle hématopoïétiques et des organes lymphoïdes. Ils résultent d'une prolifération de cellules matures (responsables d'hémopathies malignes d'évolution lente ou chronique) ou immatures (entraînant les hémopathies malignes d'évolution rapide ou aigue).

Selon le site initial de leur développement, on les classe en deux principaux groupes : les leucoses ou leucémies et les syndromes lymphoprolifératifs. **(Bernard et al., 1998)**.

Les cancers du sang ou « hématologiques » comprennent :

- Les leucémies aiguës (Myéloblastiques et lymphoblastiques).
- Les leucémies chroniques (Myéloïde chronique et Lymphoïde chronique)
- Lymphomes (lymphome de Hodgkin, Lymphomes non Hodgkiniens)
- Les syndromes myéloprolifératifs (SMP) : la polyglobulie de Vaquez, la thrombocytémie.
- Le myélome consiste en la prolifération de plasmocytes malins.
- Les myélodysplasies (MDS) sont des états préleucémiques. **(Boyne, 2015)**.

**I.4. Leucémie lymphoïde chronique****I.4.1. Définition**

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une hémopathie maligne intégrée dans le groupe des syndromes lymphoprolifératifs chroniques (SLPC). Elle est caractérisée par une prolifération médullaire monoclonale et une accumulation des lymphocytes B matures avec passage vers le sang périphérique et les autres organes lymphoïdes. (Swerdlow,2016).

**I.4.2. Epidémiologie**

En occident c'est la plus fréquente des leucémies de l'adulte, son incidence augmente avec l'âge (70% des sujets atteints ont plus de 65 ans) et touche deux fois plus les hommes que les femmes.

**I.4.3. Physiopathologie**

Elle est caractérisée par une prolifération et accumulation de lymphocytes B matures immunologiquement incompetents. Au plan moléculaire on observe un défaut d'apoptose des lymphocytes tumoraux.

On note une fréquence particulière des phénomènes auto-immuns et un déficit immunitaire qui peut être sévère, certains malades ne nécessitent jamais de traitement alors que d'autres présentent une évolution agressive avec une mauvaise réponse à la thérapie conduisant à la mort en quelque mois.(Kipps et al.,2017).

**I.4.4. Etude clinique****I.4.4.1. Circonstances de découverte**

- Fortuite lors d'un hémogramme de routine.
- Adénopathies
- Complications infectieuses ou auto-immunes

**I.4.4.2. Symptomatologie**

Les principaux symptômes de LLC sont :

- Hypertrophie des ganglions lymphatiques au niveau de cou, des aisselles et de l'aîne
- Anémie et des symptômes associés dont la fatigue.
- Augmentation du volume de la rate.
- Fièvre légère.

**I.4.4.3. Examens complémentaires****I.4.4.3.1. Hémogramme**

- Hyperleucocytose constante souvent supérieure à 50000/ $\mu$ l
- Hyperlymphocytose constante > 5000/ $\mu$ l

**I.4.4.3.2. Frottis sanguin**

L'étude du frottis sanguin constitue une étape primordiale dans la démarche diagnostique de la leucémie lymphoïde chronique.

Dans la LLC, selon la classification Franco-Américano-Britannique (FAB), (**Bennet, 1989**) :

Aspect morphologique des lymphocytes pathologiques très proche de celui des lymphocytes normaux avec parfois quelques atypies.

Le plus souvent il s'agit d'une population monomorphe de lymphocytes matures de petite taille avec un cytoplasme peu étendu, un noyau arrondi et une chromatine mottée.

La structure du noyau et du cytoplasme est régulière ; le cytoplasme est homogène, faiblement basophile, sans granulations ; le rapport nucléo-cytoplasmique (N/P) est élevé ; le noyau est habituellement arrondi, présente une chromatine plus ou moins condensée (mottes chromatinienne) ; absence de nucléoles.

On peut retrouver des cellules de plus grande taille avec un cytoplasme basophile et une chromatine plus fine, un noyau parfois nucléolé.

Il peut exister des cellules lymphoïdes atypiques de taille moyenne, à chromatine relativement mottée contenant un nucléole unique central qui correspondent à des prolymphocytes.

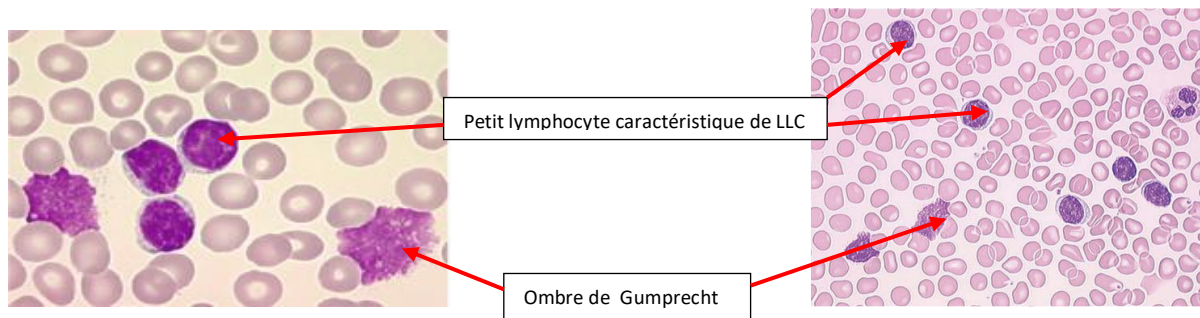
Dans une LLC de morphologie typique, les cellules atypiques ne doivent pas représenter plus de 10 % de la population lymphoïde pathologique.

Lorsque le taux de prolymphocytes représente plus de 55 % des lymphocytes totaux, il s'agit d'une leucémie prolymphocytaire (LPL).

On retrouve de plus des ombres nucléaires de "Gümprecht" ou "smudgecells" qui sont assez caractéristiques de la LLC. Elles ont été décrites pour la première fois par Gümprecht en 1896 et correspondent à des cellules lymphoïdes lysées avec membrane nucléaire interrompue

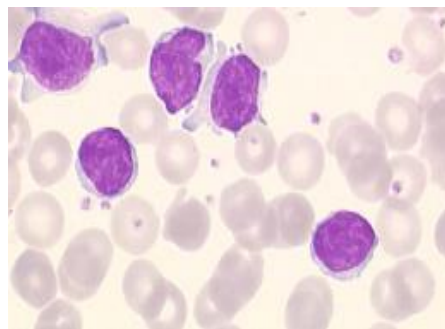


et cytoplasme non intact. Ces cellules ne sont pas liées à un artefact de préparation des lames mais à une fragilité cellulaire, probablement révélée par les dispositifs de prélèvements sous vide. La formation de ces "smudgecells" est inversement corrélée à l'expression de la vimentine, une protéine du cytosquelette essentielle pour la rigidité et l'intégrité du lymphocyte (**Johansson et al.,2010**).La présence d'un faible nombre d'ombres de Gümprrecht serait un facteur de pronostic défavorable (**Nowakowski et al., 2009**).



**Figure 2 :** Frottis sanguin de LLC typique. (**John,2005**).

Une forme mixte LLC/ LPL se définit par un pourcentage intermédiaire de prolymphocytes, compris entre 10 et 55 %.( **Merle-Béral,2012**).



**Figure 3 :** LLC atypique. (**Merle-Béral,2012**).

#### I.4.4.4. Diagnostics cytologiques différentiels de la LLC

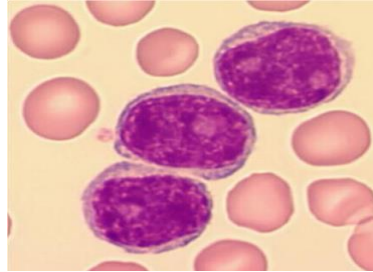
De nombreuses hémopathies malignes lymphoïdes leucémisées peuvent se présenter avec une hyperlymphocytose sanguine; le frottis sanguin permet très souvent de les reconnaître et les différencier d'une LLC : les caractéristiques cytologiques de la LLC sont données selon le FAB : tableau I. (**Bennet, 1989**)

**Tableau I :** Caractéristiques cytologiques des différentes cellules lymphoïdes observées dans la LLC :

Type de cellule	Taille	Chromatine	Nucléole	Cytoplasme	Autres
Petits lymphocytes	< 2 globules rouges	Agglutiné en blocs grossiers	Absent	Rapport nucléaire: cytoplasmique peu élevé	Contour nucléaire régulier
Grands lymphocytes	>2 globules rouges	Agglutiné	Peu visible ou petit	Rapport nucléaire bas: cytoplasmique, variable	Taille variable
Prolymphocytes	>2 globules rouges	Agglutiné	Un, proéminent	Faible rapport nucléaire: cytoplasmique	Taille variable
Prolymphocytespleomorphe	>2 globules rouges	Agglutiné	Centrale et proéminent	Rapport nucléaire variable: cytoplasmique	Taille variable
Cellules fendues	1-2 globule rouge	Grossierhomogène	Absent ou un ou deux peu visibles	Maigre; bord non visible ou étroit	Un ou deux fentes nucléaires étroites peu profondes ou profondes de la base angulaire.

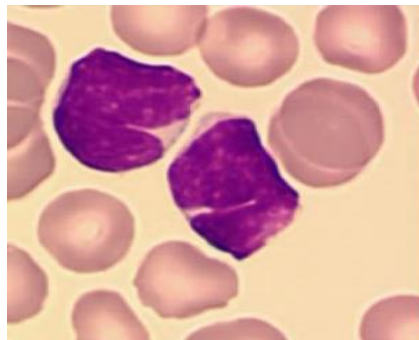
(Bennet, 1989).

- ✓ Leucémie prolymphocytaire (LPL): la prolifération cellulaire est faite de cellules de plus grande taille avec N/P moyen, représentant plus de 55% des cellules lymphoïdes. Il faut noter qu'une LLC peut se transformer en LPL.



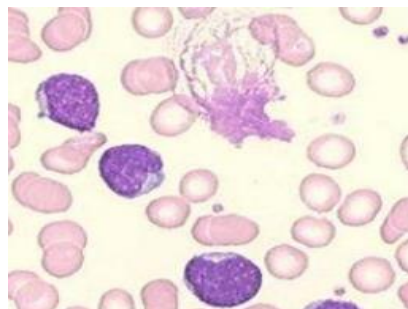
**Figure 4 :** Prolymphocytes de LPL. (Troussard,2016).

- ✓ Le lymphome folliculaire leucémisé : la prolifération cellulaire est faite de cellules caractéristiques en grains de café avec une encoche nucléaire profonde.



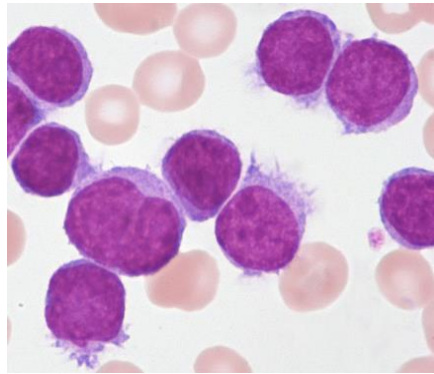
**Figure 5 :** Lymphome folliculaire leucémisé.(Troussard,2016).

- ✓ Lymphome du manteau leucémisé :



**Figure 6 :** Lymphome du manteau leucémisé.(Troussard,2016).

- ✓ Leucémie à tricholeucocytes : forme hyperleucocytaire et variante.



**Figure 7 : Leucémie à tricholeucocytes variante.(Troussard,2016).**

**I.4.4.5.Immunophénotypage ou cytométrie en flux**

C'est un examen qui consiste à identifier les marqueurs de surface présenter sur les cellules leucémiques ainsi de confirmer la LLC. (Matutes et al., 1994).

Les lymphocytes de la LLC sont des cellules B : CD19+. Un score de Matutes a été établi pour confirmer le diagnostic de LLC selon l'expression des marqueurs rapportés dans le tableau II.

Un score  $\geq 4$  confirme le diagnostic de LLC.

**Tableau II : Critères du Score de Matutes.(Matutes et al.,1994).**

	Score
Chaîne légère monotypique de faible intensité	1 point
CD5 positif	1 point
CD23 positif	1 point
CD79b (ou CD22) négatif ou faible	1 point
FMC7 négatif ou faible	1 point

(Matutes et al.,1994).

L'immunophénotype détecté par cytométrie de flux, doit respecter les critères suivants :

- Expression faible d'une seule chaîne légère d'immunoglobuline (kappa ou lambda) : monoclonalité.
- Co-expression des marqueurs CD19, CD5 et CD23. Expression faible ou absence d'expression du CD79B et du FMC7. (Matutes *et al.*, 1994 ; Matutes *et al.*, 2000).

Un score de Matutes inférieur à 3 exclue théoriquement le diagnostic de LLC, un autre syndrome lymphoprolifératif doit être envisagé.

Cependant en cas de score à 3, le diagnostic de LLC atypique est possible (environ 5% des LLC) et nécessite la réalisation d'autres examens complémentaires (cytogénétique, biologie moléculaire).

Si la lymphocytose B est inférieure à 5 G/L et le score de Matutes  $\geq 4$  et en l'absence d'autres signes de prolifération (organomégalie ou cytopénies) il s'agit d'une lymphocytose B monoclonale (LBM). Le risque d'évolution d'une LBM vers une véritable LLC est de 1 à 2% par an (Rawstron *et al.*, 2008).

#### **I.4.5. Facteurs pronostiques**

##### **I.4.5.1 Facteurs pronostiques généraux**

La leucémie lymphoïde chronique est une maladie maligne d'évolution lente, variable d'un patient à un autre, l'âge avancé, les signes cliniques comme la fatigue l'anémie ou encore le sexe masculin ont un impact négatif sur la survie des patients. (Michael *et Mario*, 2011).

##### **I.4.5.2. Facteurs pronostiques clinico-biologiques**

La LLC est actuellement classée selon des systèmes de classification cliniques à valeur pronostique, développés par Rai et Binet en 1975 et 1981 respectivement (Binet *et al.*, 1981 ; Rai *et al.*, 1975).

###### **I.4.5.2.1. Classification de Rai**

Décrite par Rai aux Etats-Unis en 1975, elle définit quatre stades par l'existence d'un syndrome tumoral (adéno-, spléno- ou hépatomégalie) et la présence de cytopénies (anémie, thrombopénie) (Tableau III)

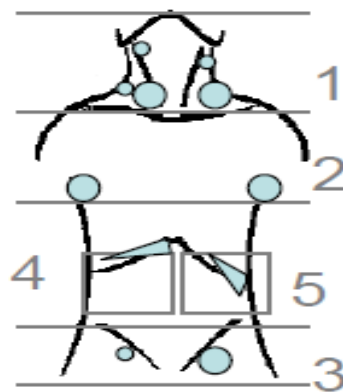
**Tableau III** : Classification de Rai.

Niveau de risque :	Stade :	Caractéristique:	Pronostic :
Faible	0	Lymphocytose >4G/L	Bon
Intermédiaire	I	Lymphocytose et adénopathie.	Intermédiaire
	II	Lymphocytose et splénomégalie et ou hépatomégalie.	Intermédiaire
Elevé	III	Lymphocytose et anémie (hémoglobine < 10g/dL).	Mauvais
	IV	Lymphocytose et Thrombopénie (plaquettes<100G /L)	Mauvais

(Rai et al.,1975).

**I.4.5.2.2.Classification de Binet**

La plus utilisée en France et en Europe. Créée en 1981 par Jaques-Louis Binet, elle est déterminée par le nombre d'aires ganglionnaires atteintes le plus souvent bilatérales (Figure 9) et le taux d'hémoglobine et de plaquettes ; elle consiste à une classification pronostique en trois stades (stade A, B et C) (Tableau IV).



**Figure 8** : Cinq aires lymphoïdes palpables. (John,2005).

**Tableau IV** : Classification de Binet.

Niveau de risque :	Stade :	Caractéristiques :
Faible	A	Hémoglobine > 10 G/L ; Plaquettes > 100 G/L et moins de 03 aires ganglionnaires atteintes
Intermédiaire	B	Hémoglobine > 10 G/L ; Plaquettes > 100 G/L et au moins 03 aires ganglionnaires atteintes
Elevé	C	Anémie (hémoglobine < 10 g/dl) ; Thrombopénie (plaquettes < 100 G/L) quelque soit l'atteinte ganglionnaire

(Binet et al.,1981).

### **I.4.5.3. Facteurs pronostiques complémentaires**

#### **I.4.5.3.1. Temps de doublement des lymphocytes (TDL)**

Le temps de doublement des lymphocytes est des facteurs discriminants au sein de stade A car il reflète l'évolutivité de la maladie inférieure à 12 mois, qu'il représente un facteur de mauvais pronostic. (Troussard, 2007).

#### **II.5.3.2 Taux de béta-2 microglobuline sérique**

La béta-2 microglobuline est une protéine extracellulaire de la superfamille des Ig liée de façon non covalente à la chaîne  $\alpha$  des molécules du CMH de classe I, la forme soluble de cette protéine est détectable dans le sérum. (Hallek et al.,1999).

Le taux de la béta-2 microglobuline permettant d'estimer la masse tumorale, lorsqu'il est élevé on l'observe chez les patients à un stade avancé de la maladie.

**CHAPITRE II :**  
**MATERIEL ET**  
**METHODES**



**II.1.Introduction**

L'objectif de notre travail est de réaliser au niveau du laboratoire du service hématologie, centre de lutte contre le cancer, Hôpital Frantz Fanon Blida, un diagnostic d'une leucémie lymphoïde chronique à partir de l'étude de frottis sanguins.

Notre étude a été réalisée sur 22 patients leucémiques chroniques (LLC) au niveau de HDJ du service hématologie, CAC Blida (hôpital Frantz Fanon), pour une période d'un mois de Février.

**II.2. Etapes de travail**

- Prélèvements sanguins pour hémogramme.
- Réalisation du frottis sanguins.
- La coloration des frottis sanguins (coloration de MGG).
- Observation en microscopie optique pour l'étude cytologique.

**II.3. Matériel et méthodes****II.3.1.Matériel****II.3.1.1. Matériel non biologique**

L'ensemble du matériel est illustré dans l'annexe :

- Automate d'analyse sanguin.
- Les tubes EDTA
- la verrerie (lames)
- les réactifs du MGG
- Microscope optique
- Piano pour équilibre leucocytaire compteur

**II 3.1.2.Matériel biologique**

- Sang

**II.3.2. Méthodes****II.3.2.1 Prélèvement du sang**

- ✓ Pour réaliser un frottis sanguin, une pique au doigt permet de recueillir une goutte de sang qui est déposée sur une lame pour étalement et coloration au MGG.
- ✓ Un prélèvement de 5 ml de sang à la veine est effectué pour réaliser un hémogramme.
- ✓ Ce dernier est fait dans un tube EDTA qui préserve le volume globulaire et ne modifie donc pas l'hématocrite.
- ✓ Il n'est pas nécessaire que le patient soit à jeun.

- ✓ Le ou les tubes doivent être identifiés (étiquetage) immédiatement (nom, prénom, numéro...).
- ✓ Les informations doivent accompagner le prélèvement (date, heure, renseignements cliniques et thérapeutiques) sont nécessaires pour l'interprétation des résultats.
- ✓ Les tubes doivent être placés dans des sachets en plastique et acheminés au laboratoire à température ambiante dans les délais les plus brefs.

**II.3.2.2.Réalisation de l'hémogramme****II.3.2.2.1.Principe**

- ✓ L'hémogramme est une analyse à la fois quantitative et qualitative du sang et cellules sanguines.
- ✓ Il est réalisé en routine par des automates. Il étudie les éléments figurés du sang : globules rouges, globules blancs et plaquettes.
- ✓ C'est un examen qui permet de déterminer le nombre absolu par unité de volume de sang de chaque type d'éléments figurés du sang en suspension dans le plasma.

**II.3.2.2.2.Mode opératoire**

- ✓ Cette étape se fait grâce à un automate de comptage des cellules sanguines et de dosage d'hémoglobine.
- ✓ On présente l'échantillon sous le bec d'aspiration de l'automate puis appuyer sur la touche aspiration,
- ✓ L'automate va prélever 100 µl du sang total, analyse puis un rinçage automatique est effectué afin d'éviter la contamination entre les échantillons.
- ✓ Les résultats seront donnés sur une fiche imprimée comprenant l'ensemble des paramètres analysés :
  - Taux de globules rouges.
  - Indice de distribution des GR : IDR.
  - Taux d'hématocrite.
  - Taux d'hémoglobine.
  - VGM.
  - CCMH.
  - TCMH.
  - Taux de globules Blancs.
  - Taux relatifs et absolus de Polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles.
  - Taux de lymphocytes relatif et absolu.

- Taux de plaquettes.
- Indice de distribution des plaquettes : IDP.
- ✓ Le résultat doit être validé par le médecin responsable de l'unité d'exploration biologique.
- ✓ Les résultats de chaque examen sont transcrits dans un registre d'archives avec mention de la date de l'examen et de la référence du cas.
- ✓ Le résultat est remis au demandeur dans les meilleurs délais.

SYSMEX : XT-4000i

Nom:

Prénom:

Date de naissance:

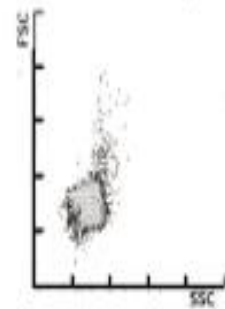
N° du patient:

Date de dosage:

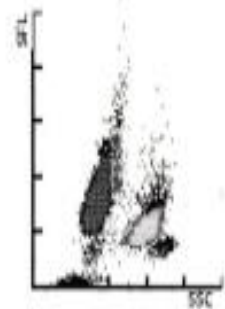
Modele d'hémogramme dans une LLC objectivant une hyperleucocytose majeure et une hyperlymphocytose majeure et une thrombopénie

GB	61.82 *	( 4.00 - 10.00)	[10 <sup>3</sup> /uL]	
GR	4.00	( 4.00 - 5.50)	[10 <sup>6</sup> /uL]	
HGB	13.3	( 12.0 - 16.0)	[g/dL]	
HCT	44.8	( 38.0 - 45.0)	[%]	
VGM	112.0 +	( 85.0 - 100.0)	[fL]	
TCMH	33.3	( 26.0 - 38.0)	[pg]	
CCMH	29.7 -	( 31.0 - 37.0)	[g/dL]	
PLQ	56 -	( 150 - 450)	[10 <sup>3</sup> /uL]	
IDR-SD	57.9 +	( 37.0 - 54.0)	[fL]	
IDR-CV	14.7	( 11.0 - 16.0)	[%]	
IDP	11.9	( 9.0 - 17.0)	[fL]	
VPM	10.7	( 9.0 - 13.0)	[fL]	
P-RGC	30.3	( 13.0 - 43.0)	[%]	
PCT	0.06 -	( 0.17 - 0.35)	[%]	
NEUT	6.41 *	( 1.60 - 7.00)	[10 <sup>3</sup> /uL]	10.4 * ( 40.0 - 70.0) [%]
LYMPH	53.55 *	( 1.00 - 4.00)	[10 <sup>3</sup> /uL]	86.0 * ( 20.0 - 40.0) [%]
MONO	1.13 *	( 0.00 - 0.70)	[10 <sup>3</sup> /uL]	1.8 * ( 0.0 - 7.0) [%]
EO	0.61 *	( 0.00 - 0.40)	[10 <sup>3</sup> /uL]	1.0 * ( 0.0 - 7.0) [%]
BASO	0.12 *	( 0.00 - 0.15)	[10 <sup>3</sup> /uL]	0.2 * ( 0.0 - 1.5) [%]
RET	0.0568	(0.0250 - 0.1000)	[10 <sup>6</sup> /uL]	1.42 - ( 1.50 - 2.50) [%]
IRF	14.8	( 0.0 - 100.0)	[%]	
LFR	85.2	( 0.0 - 100.0)	[%]	
MFR	11.8	( 0.0 - 100.0)	[%]	
HFR	3.0	( 0.0 - 100.0)	[%]	
RET-He	33.8	( 0.0 - 99.9)	[pg]	
IG	0.59 *	( 0.00 - 7.00)	[10 <sup>3</sup> /uL]	1.0 * ( 0.0 - 72.0) [%]

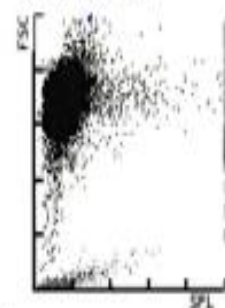
WBC/BASO Scattergram



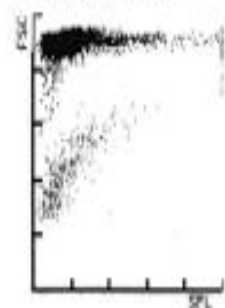
DIFF Scattergram



RET Scattergram



PLT-O Scattergram



RDC Distribution



PLT Distribution



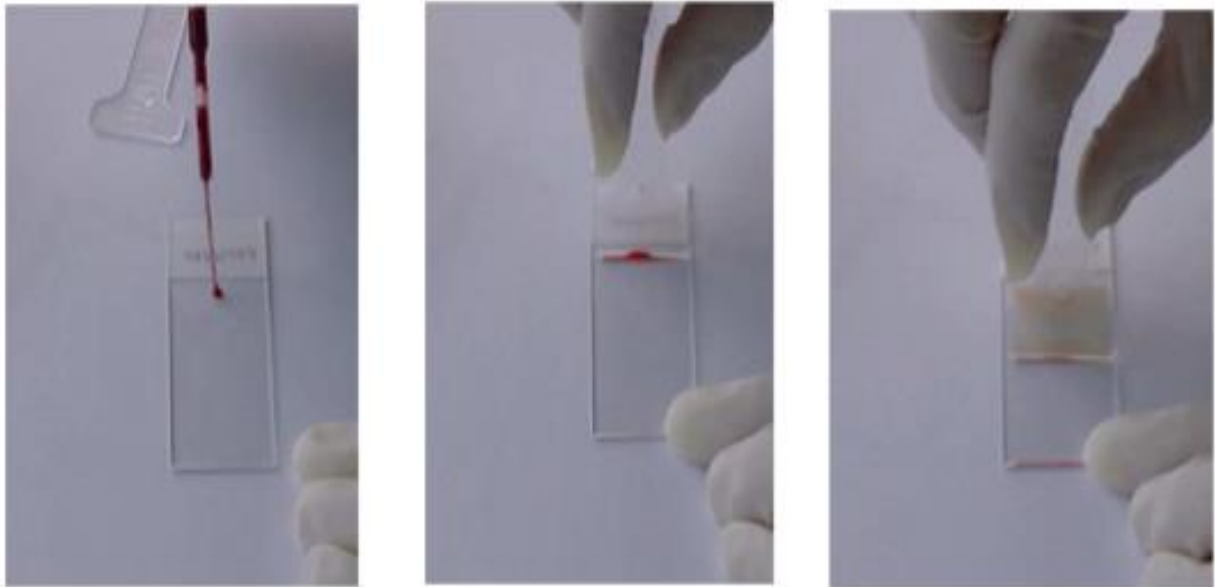
Figure 9 : Résultats d'un hémogramme automatisé. (Taoussi, 2020).

**II.3.2.3. Réalisation du frottis sanguin**

C'est une analyse morphologique des éléments figurés du sang (GR, Plaq, GB).

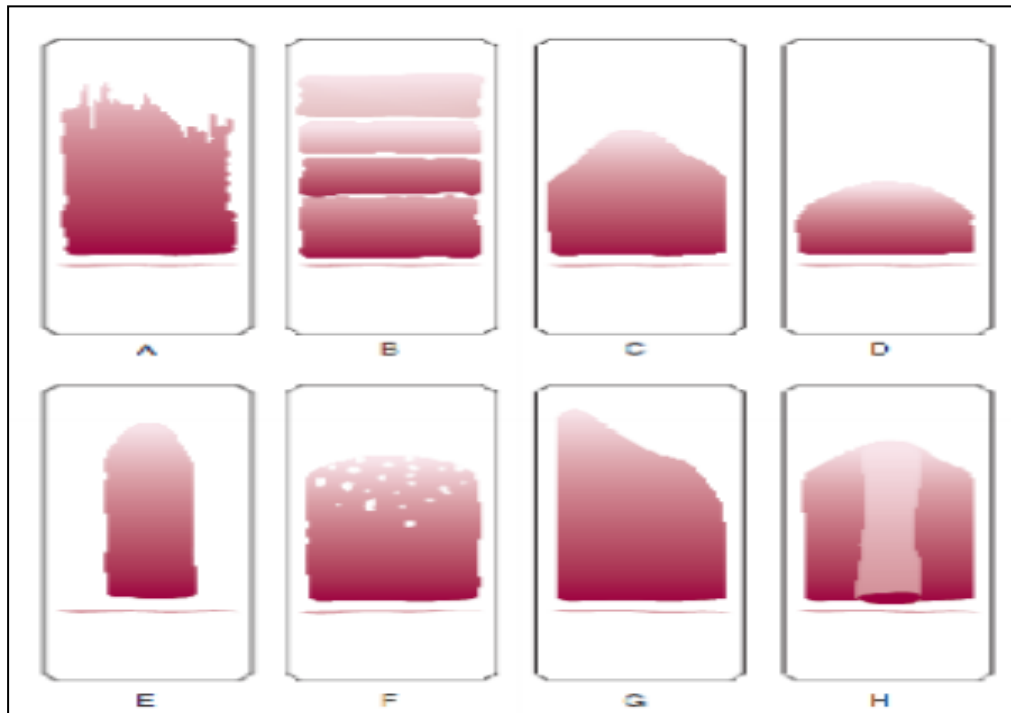
**II.3.2.3.1. Préparation d'un frottis sanguin**

- Nettoyer 2 lames à l'alcool (faces et tranches), les sécher avec du papier absorbant,
- Prélever par pique au doigt du patient une goutte de sang.
- Déposer la goutte de sang à l'extrémité d'une lame.
- Appliquer une autre lame inclinée à 45° en avant de la goutte de sang de façon à ce que le sang s'étale sous la lame par capillarité.
- Faire glisser la lame inclinée à 45° pour étaler uniformément la goutte.
- Laisser le frottis sécher.
- Repérer au marqueur, avec une lettre F, la face où se trouve le sang.



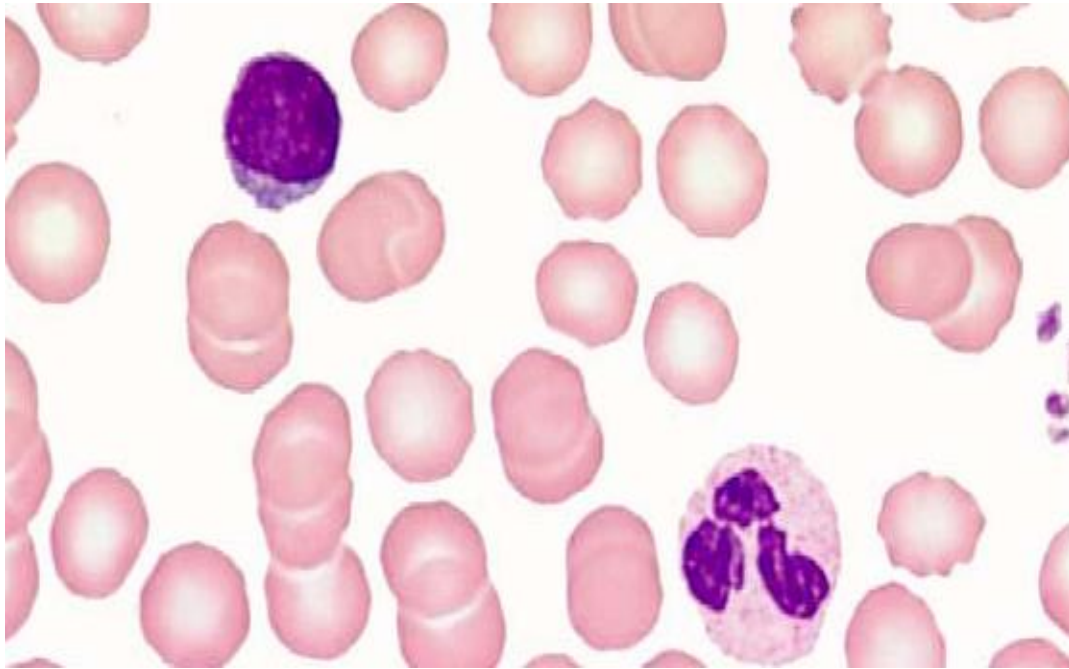
**Figure 10:** Etapes de réalisation d'un frottis sanguin. (photo originale).

♣ Bon frottis : Bonne taille ( $\frac{1}{2}$  à  $\frac{3}{4}$  de la lame) Bonne densité, goutte étalée en entier.



**Figure 11** : Différents frottis sanguins. (L'italien et Lord Dubé, 1998).

- ✓ La qualité d'un frottis sanguin est apprécié sur :
  - La répartition de l'étalement qui idéalement doit occuper les  $\frac{2}{3}$  de la lame
  - L'épaisseur du frottis : idéalement très fin.
- ✓ La qualité de la coloration :
  - Les globules rouges doivent être bien colorés : idéalement en rose orangé.
  - Les globules blancs en bleu-violacé
  - Les plaquettes sanguines en violet

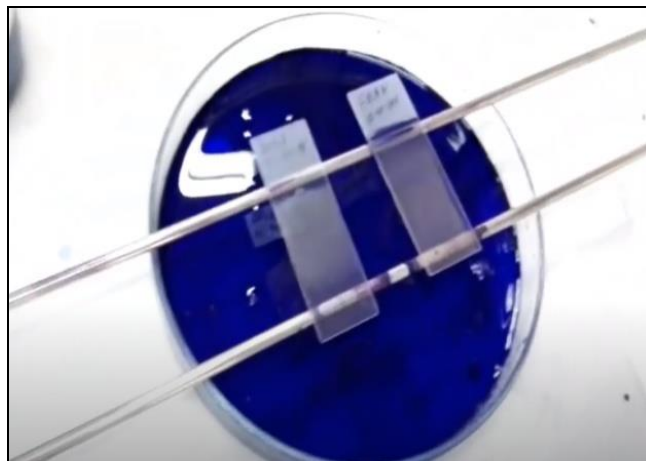


**Figure 12** : Aspect d'un frottis sanguin de bonne qualité (Wikipédia).

#### II.3.2.4. Coloration d'un frottis sanguin : May Grünwald Giemsa

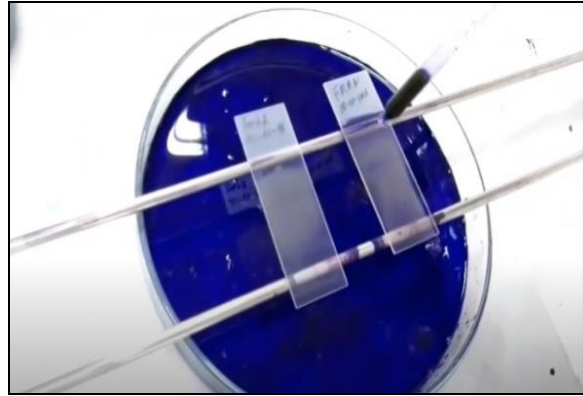
##### 1- Fixation

- ✓ Placer la lame du frottis sur un support horizontal au-dessus d'un bac de coloration.



**Figure 13** : Fixation de la lame. (photo originale).

- ✓ Verser sur la lame 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur de façon à recouvrir complètement le frottis.



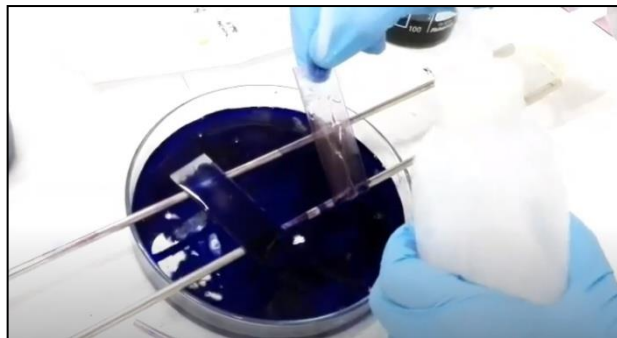
**Figure 14:** Ajout de colorant May-Grünwald. (photo originale).

✓ Laisser agir 3 minutes.

2- Coloration au May-Grünwald

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

✓ Rejeter le colorant par un jet d'eau neutre.



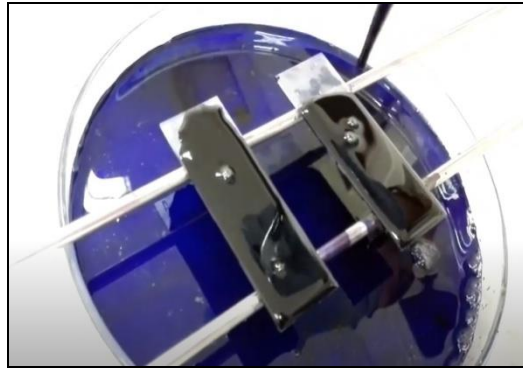
**Figure 15:** Rejet de colorant. (photo originale).

3- Coloration au Giemsa

✓ Préparer la dilution du Giemsa pendant les 3 minutes précédentes : pour cela introduire 20 cm<sup>3</sup> d'eau neutre dans une éprouvette graduée, ajouter 30 gouttes de colorant de telle manière que celui-ci reste à la surface de l'eau neutre.

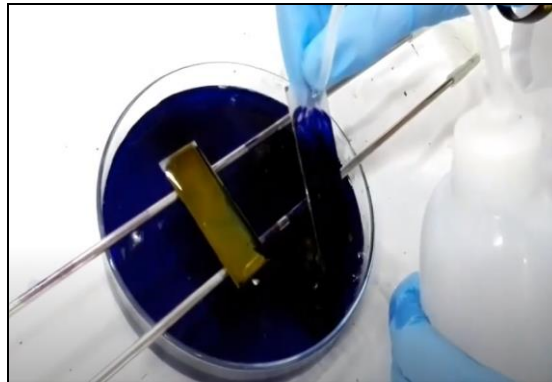
✓ Verser le contenu de l'éprouvette dans une boîte de Laveran. Dès que la lame est prête, mélanger en agitant doucement (le pouvoir colorant est maximum au moment du mélange).





**Figure 16 :** Coloration au Giemsa. (photo originale).

- ✓ Déposer la lame frottis en dessous dans la boîte, laisser agir 20 minutes (Giemsa lent).
- ✓ Rincer avec l'eau neutre.



**Figure 17:**Rinçage de la lame. (photo originale).

4- Séchage

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



**Figure 18 :** Séchage de la lame (photo originale).

**II.3.2.5.Examen microscopique**

- ✓ A pour but d'observer et de noter la morphologie de GR, d'identifier les différents types de leucocytes, d'établir le pourcentage de chaque catégorie de GB et d'observer les plaquettes.
- ✓ Allumer le microscope, placer la lame sur la platine et faire déplacer la platine horizontalement et verticalement jusqu'à ce que la mise au point soit nette.
- ✓ Utiliser l'objectif 20 pour apprécier la qualité d'étalement et de coloration (sans immersion).
- ✓ Pour la reconnaissance des cellules on utilise l'objectif 40 pour établir la formule leucocytaire (équilibre leucocytaire).
- ✓ Tourner le bloc des objectifs pour pouvoir grossir l'image (l'objectif 100) et déposer une goutte d'huile à immersion sur la lame pour l'analyse des cellules.
- ✓ Refaire la mise au point pour régler l'image de manière à ce qu'elle soit nette.
- ✓ Dès que la mise au point est terminée on doit choisir un champ et analyser les lymphocytes sur le plan morphologique (taille, rapport nucléo-cytoplasmique, aspect du cytoplasme, aspect du noyau).
- ✓ Analyser aussi les globules rouges et les plaquettes.

**II.3.2.5.1.Expression des résultats de l'étude cytologique**

- ✓ Sur un document officiel :
  - Noter le nom et prénom du patient.
  - Noter la date du prélèvement.
  - Noter la date de l'examen cytologique.
  - Noter le nom du Médecin réalisant la lecture du frottis sanguin.
- ✓ Noter pour chaque type de cellule :
  - La forme.
  - La taille.
  - Le rapport nucléo-cytoplasmique (N/P).
  - Décrire le cytoplasme : abondance, couleur, architecture.
  - Décrire le noyau : forme, couleur, structure, nucléole.
  - Décrire la présence de cellules anormales : leucoblastes.
  - Décrire les plaquettes sanguines : quantité, qualité.

-On trouve des lymphocytes de petite de taille lorsque le rapport nucléo-cytoplasmique (N/P) est élevé.

-Ou bien des lymphocyte de grande de taille lorsque le rapport nucléo-cytoplasmique(N/P) est faible

**CHAPITRE III :**  
**RESULTATS ET**  
**DISCUSSION**

III.1. Résultats

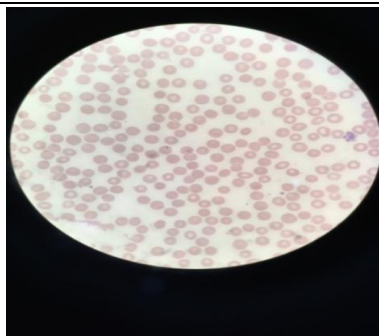
A cause de la pandémie covid 19 on a pas pu de terminé notre stage pratique donc :

✓ Le travail réalisé :

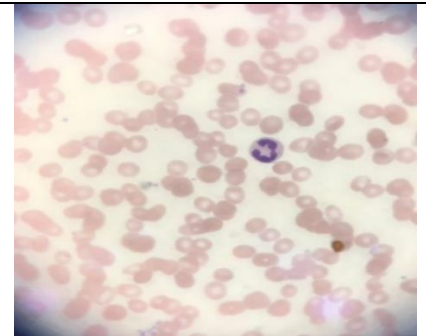
-Notre étude a porté sur 22 patients atteints de LLC.

-Après l'examen microscopique du 22 frottis sanguins on a obtenu :

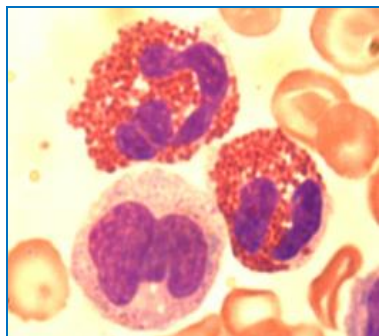
- Quelques aspects des différentes cellules sanguins sous microscope optique :



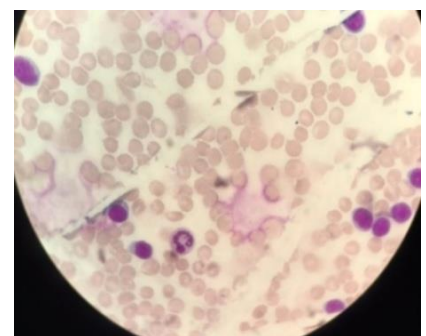
Globules Rouges



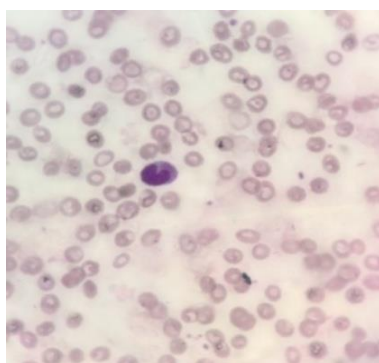
Polynucléaire neutrophile



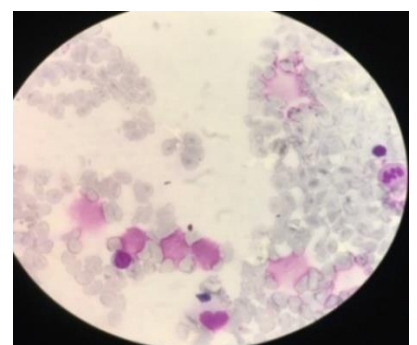
Polynucléaires Eosinophiles



Lymphocytes



Monocyte



Les Ombres de Gümprich

**Figure 19** : Aspects des différentes cellules sanguines des patients atteints de LLC sous microscope optique.(photos originales)

- L'étude cytologique du 22 frottis sanguins des patients atteints de LLC :

-Qualité du frottis : bon étalement et bonne coloration.

-Quantité :

-Globules Rouges :

- ✓ 19 cas 86% est de taille et forme normale.
- ✓ 3 cas 14% est de grande taille et forme normale

-Globule Blancs :

- ✓ La formule leucocytaire :(PNN ; Eosinophile ; Basophile ; Lymphocyte ; Monocyte).

	PNN	EOSINOPHILE	BASOPHILE	LYMPHOCYTE	MONOCYTE
1	5%	0%	0%	95%	0%
2	15%	0%	1%	84%	0%
3	8%	1%	0%	75%	0%
4	17%	0%	1%	82%	0%
5	9%	0%	0%	91%	0%
6	11%	2%	0%	64%	0%
7	40%	7%	0%	51%	2%
8	4%	1%	0%	95%	0%
9	5%	2%	0%	93%	0%
10	0%	0%	0%	100%	0%
11	23%	3%	0%	61%	13%
12	2%	1%	0%	96%	1%
13	3%	0%	0%	97%	0%
14	12%	1%	0%	87%	1%
15	46%	6%	0%	40%	8%
16	17%	1%	0%	82%	0%
17	41%	1%	0%	55%	4%
18	10%	0%	0%	87%	3%
19	5%	0%	0%	95%	0%
20	3%	1%	0%	91%	5%

21	32%	1%	0%	52%	16%
22	3%	0%	0%	97%	0%
moyenne	14,10%	1,30%	0,09%	80,50%	2,30%

Tableau V : Pourcentage des différents types des globules blancs.

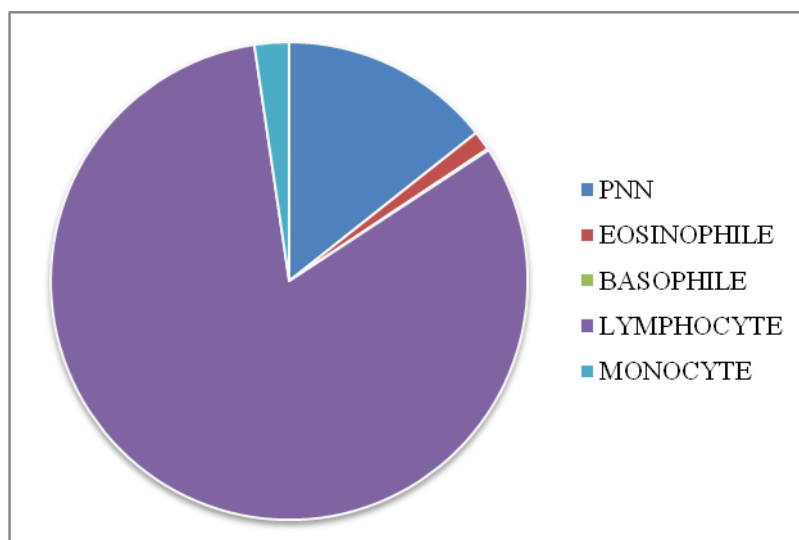


Figure 20 : Secteur de pourcentage des globules blancs.

✓ Le travail non réalisé :

### III.1.1 Répartition selon le sexe

Parmi les 22 patients de notre étude on dénombre 14 hommes (64%) et 08 femmes (36%).

Le sexe ratio est de 1,75.

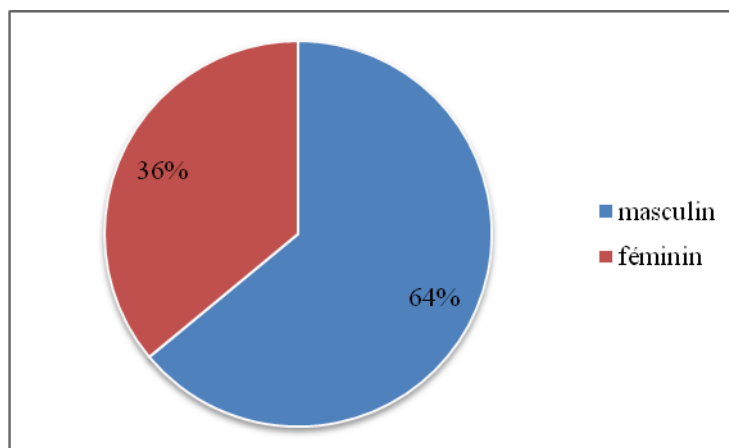


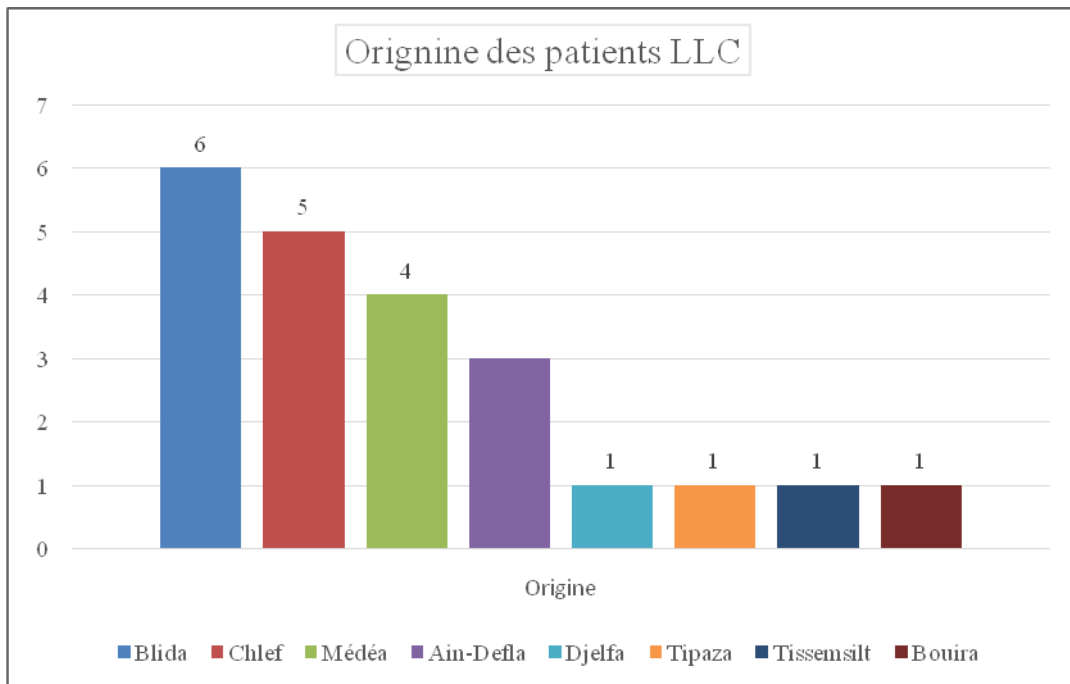
Figure 21 : Répartition des patients selon le sexe.

**III.1.2. Répartition selon l'âge**

Age moyen = 63 ans (44-82).

**III.1.3. Répartition selon la wilaya l'origine**

- Blida 06 cas.
- Chlef 05 cas.
- Médéa 04 cas.
- Ain-Defla 03 cas.
- Djelfa 01 cas.
- Tipaza 01 cas.
- Tissemsilt 01 cas.
- Bouira 01 cas.



**Figure 22 :** Origine géographique des patients LLC.

**III.1.4. Répartition selon la profession (plus précisée chez les hommes)**

Parmi les professions les plus exposés, nous retrouvons :

- Agriculteurs : 02 cas (14.2%).



- Maçon : 03 cas (21.4%).
- Soudeur : 01 cas (7.4%).
- Autres : 08 cas (57%).

On constate 3 cas (21.6%) des patients plus précisément des hommes (agriculteurs et soudeur) qui sont exposés aux agents chimiques qui sont considérés comme facteurs de risques

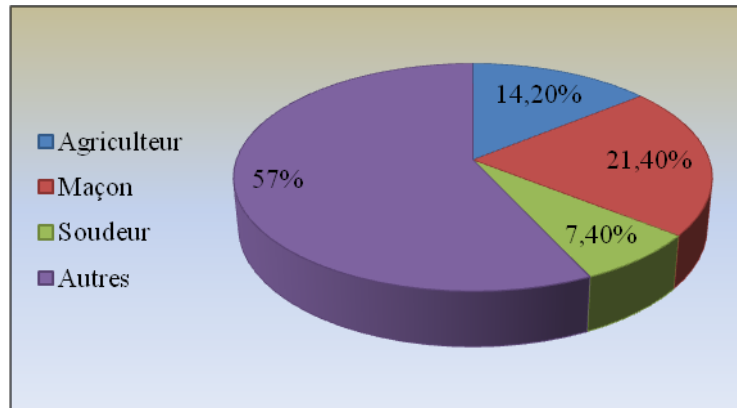


Figure 23 : Répartition des professions chez les hommes.

III.1.5. Répartition selon la présentation clinique

- Absence de syndrome tumoral : 03 cas (14%).
- Présence d'un syndrome tumoral adénopathie et splénomégalie : 09 cas (41%).
- Une splénomégalie : 10 cas (45%).

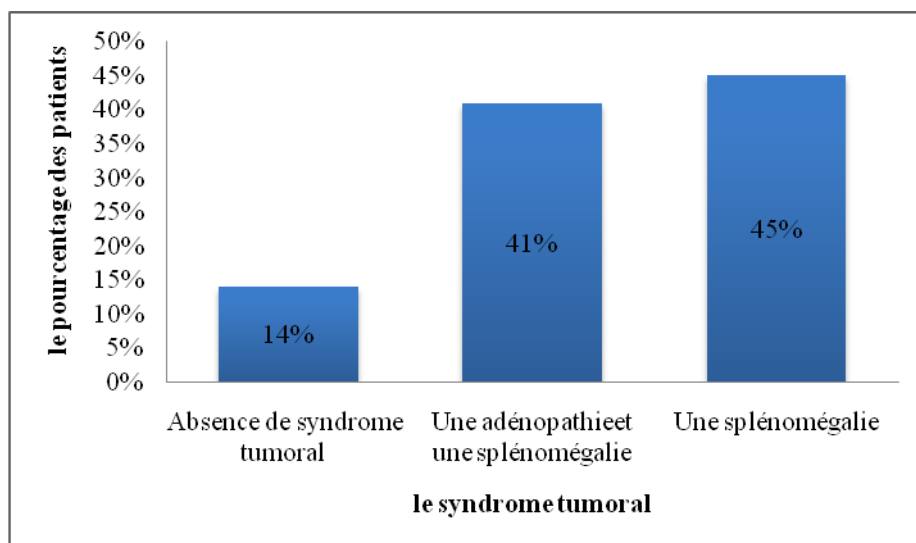


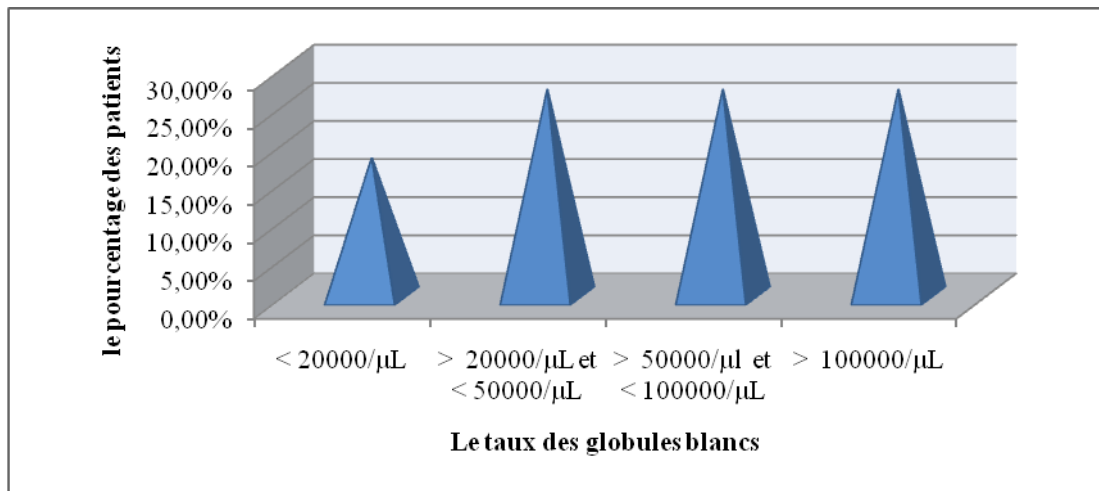
Figure 24 : Répartition des patients selon le type de syndrome tumoral.

**III.1.6. Répartition selon le taux de globules blancs**

Taux moyen = 161 000 / $\mu$ l (13500-443300)

L'hyperleucocytose était :

- < 20000/ $\mu$ L dans 4 cas (18,2%).
- 20000/ $\mu$ L et < 50000/ $\mu$ L dans 6 cas (27,2%).
- 50000/ $\mu$ l et < 100000/ $\mu$ L dans 6 cas (27,2%).
- 100000/ $\mu$ L dans 6 cas (27,2%).



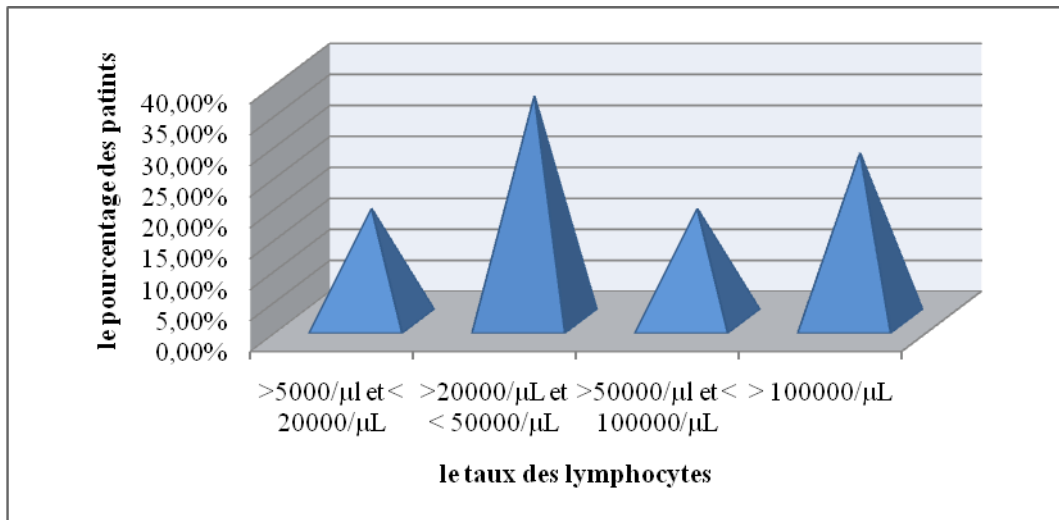
**Figure 25 :** Répartition des patients selon le taux des globules blancs.

**III.1.7. Répartition selon le taux de lymphocytes**

Taux moyen : 97857 / $\mu$ l (6800-412300)

L'hyperlymphocytose était :

- 5000/ $\mu$ l et < 20000/ $\mu$ L dans 4 cas (18,2%).
- 20000/ $\mu$ L et < 50000/ $\mu$ L dans 8 cas (36,4%).
- >50000/ $\mu$ l et < 100000/ $\mu$ L dans 4 cas (18,2%).
- 100000/ $\mu$ L dans 6 cas (27,2%).



**Figure 26 :** Répartition des patients selon le taux des lymphocytes.

### III.1.8. Répartition selon le taux d'hémoglobine

Taux moyen : 12 g/dl (6,6-15,4)

- ✓ Une anémie < 10 g/dl d'hémoglobine a été observée chez 3 patients qui ont été classés au stade C de Binet.
- ✓ Pour tous les patients qui présentaient une anémie (Hb < 12 g/dl chez la femme et < 14 g/dl chez l'homme), celle-ci était sévère dans 2 cas et modérée dans 9 cas.

### III.1.9. Répartition selon le taux de plaquettes

Taux moyen : 161000/µl (54000-385000)

- ✓ Une thrombopénie a été relevée chez 6 patients qui ont été classés en stade C de Binet
- ✓ Cette thrombopénie était sévère dans un cas et modérée dans 5 cas.

### III.1.10. Répartition selon le stade de Binet

- Stade A : 6 cas.
- Stade B : 7 cas.
- Stade C : 9 cas.

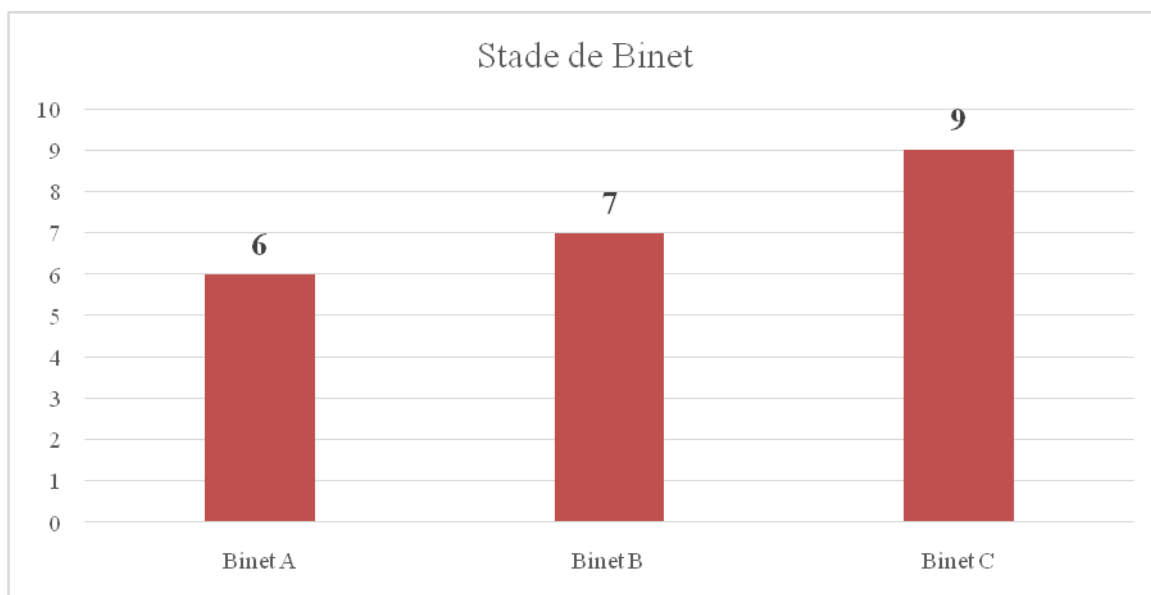


Figure 27 : Répartition selon le stade de Binet.

### III.1.11. Répartition selon le score de Matutes

- Score 5 : 14 cas (64%).
- Score 4 : 04 cas (18%).
- Score 3 : 04 cas (18%).

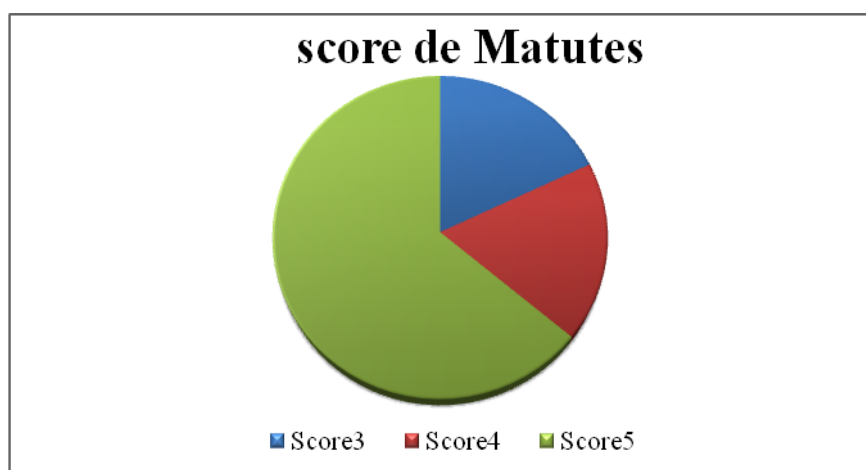


Figure 28 : Répartition selon le score de Matutes.

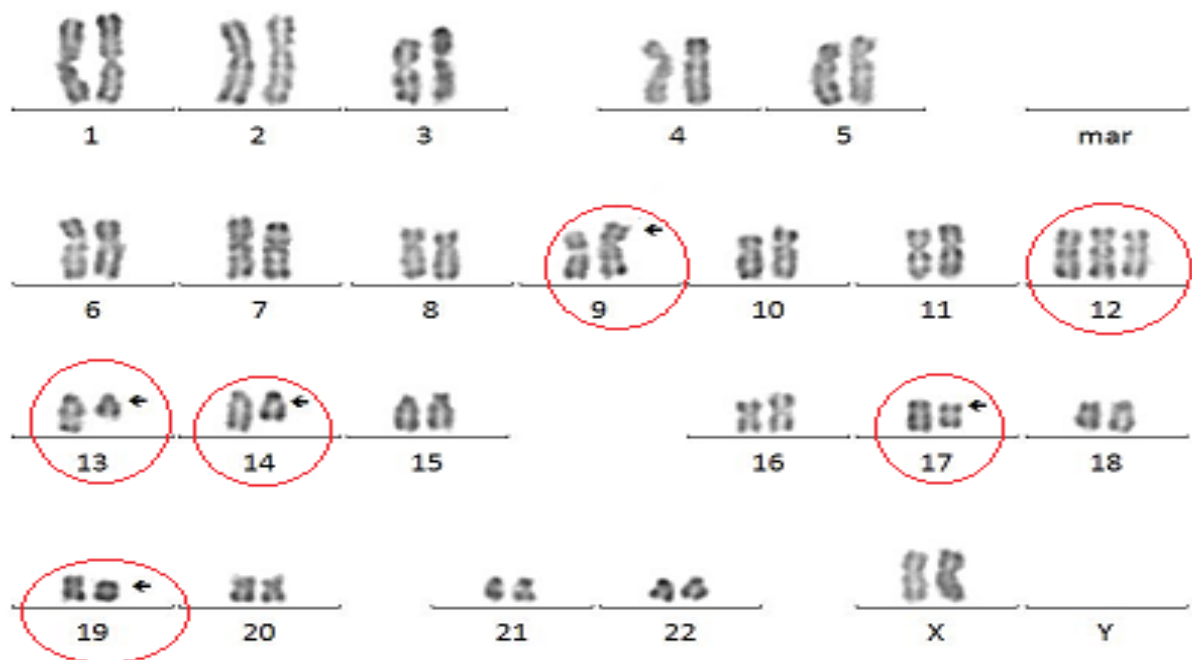
- ✓ Tous les patients évalués sont CD 3 négatifs.
- ✓ Tous les patients sont CD 10 négatifs.

### III.1.12. Répartition des patients selon l'étude cytologique

#### III.1.12.1. Aspect de LLC typique

17 cas (77,3%) dont les caractéristiques sont :

- ✓ Un syndrome tumoral évocateur dans 14 cas.
- ✓ Aspect cytologique de petits lymphocytes matures.
- ✓ Présence d'ombres de Gumprecht dans l'ensemble des cas à des degrés variables.
- ✓ Score de Matutes 5 : 12 cas.
- ✓ Score de Matutes 4 : 04 cas.
- ✓ Score de Matutes 3 (CD5+, CD23+, FMC7 négatif) : 01 cas : sur le plan cytogénétique une trisomie 12 est notée sur une population lymphoïde mature de petite taille.
- ✓ Des anomalies cytogénétiques caractéristiques dans 14 cas (del 13q14 ; del ATM ; del P53 et trisomie 12).

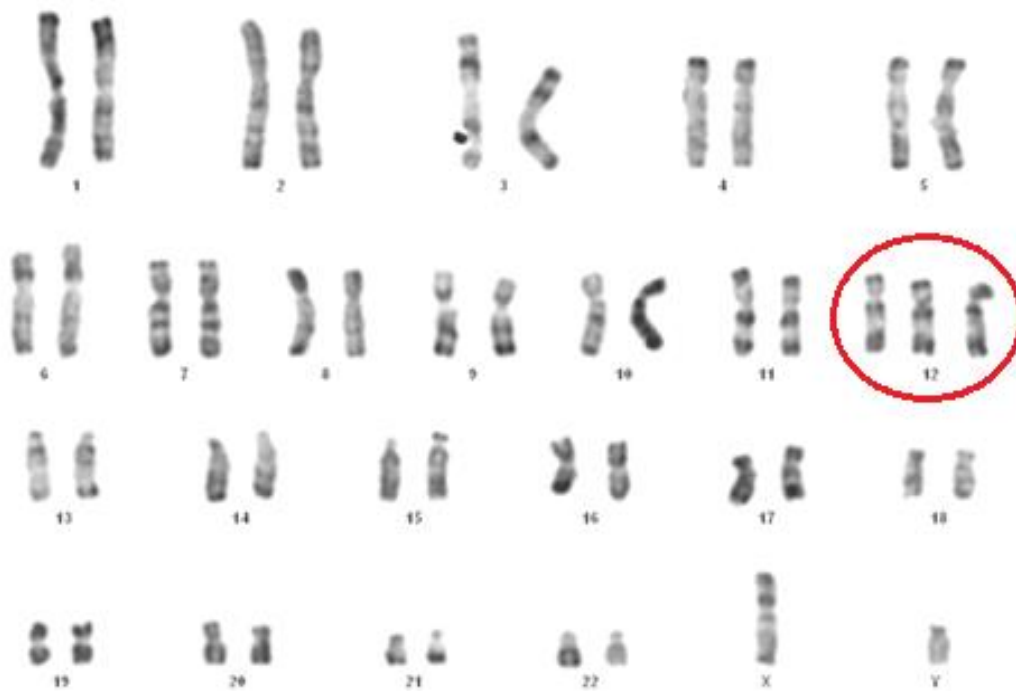


**Figure 29** : Caryotype complexe : tri 12 ; del 13q14, del P53 et d'autres anomalies. (Taoussi, 2020).

### III.1.12.2. Aspects de LLC atypique

05 cas (22,7%) dont les caractéristiques sont :

- ✓ Un syndrome tumoral évocateur dans 5 cas.
- ✓ Aspect cytologique de LLC/PL : 01 cas.
- ✓ Aspect de LLC mixte : 04 cas.
- ✓ Présence d'ombres de Gumprecht dans l'ensemble des cas.
- ✓ Score de Matutes :
  - ✚ Score 5 : 2 cas : une del 13q14 + tri 12, un sans anomalie.
  - ✚ Score 3 (CD5+,CD23+,FMC7+(1 cas) : 3 cas :
    - Tri 12 : 2 cas.
    - Sans anomalie : 1 cas.



**Figure 30:** Caryotype de LLC montrant une trisomie 12. (Taoussi, 2020).

Il existe également des cas familiaux de leucémie, avec ou sans facteur génétique identifié. (Blaise, 2018).

Les aberrations chromosomiques ont été détectées chez 268 des 325 patients (82 %). Les changements les plus fréquents sont une délétion dans 13q (55 %), dans 11q (18%), la trisomie de 12q (16 %), une délétion dans 17p (7%) et une délétion dans 6q (6 %). (**Hartmut et al.,1998**).

### **III.2.Discussion**

La leucémie lymphoïde chronique présente dans la majorité des cas un profil cytologique stéréotypé, fait d'une population lymphoïde de petite taille et mature.

Dans une proportion non négligeable de cas, le diagnostic différentiel avec les autres syndromes lymphoprolifératifs peut se poser. De ce fait, une étude cytologique rigoureuse est nécessaire pour mieux appréhender les aspects cytologiques inhabituels de la LLC.

Nous avons au cours de notre stage au service d'hématologie du CLCC de Blida, et sous l'assistance du Professeur S. Taoussi, réalisé un travail pratique de lecture de frottis sanguin de 22 patients atteints de leucémie lymphoïde chronique confirmée.

Les paramètres cytologiques qui ont été étudiés sont : la forme et la taille des cellules lymphoïdes, le rapport N/P, l'aspect du noyau dont l'organisation de la chromatine, celui du cytoplasme (abondance, couleur, structure), la quantification des variétés de cellules retrouvées.

Nous avons confronté les résultats de l'étude cytologique de notre enquête aux données essentielles étudiées dans cette pathologie : âge, existence ou absence d'un syndrome tumoral, score de Matutes, données cytogénétiques.

Dans notre étude, les données d'âge, de la présentation clinique (syndrome tumoral prononcé dans la majorité des cas) de l'Hyperlymphocytose majeure (moyenne = 97857/ $\mu$ L), la présence d'ombres de Gumprecht, un score de Matutes majoritairement 4 et 5, ont été des arguments puissants en faveur du diagnostic de leucémie lymphoïde chronique. Il faut cependant être prudent, la présence de fausses ombres de Gumprecht est possibles dans les lymphomes à petites cellules leucémisées et résulte de l'écrasement cellulaire lors de la confection du frottis sanguin ; pour éviter cet artefact, il est souhaitable de pratiquer la lecture en début de frottis où les lymphocytes sont intacts. (**Johansson et al.,2010**).

Sur le plan cytologique, la majorité des patients [17/22 (77,3%)] a présenté une LLC typique telle que décrite dans la littérature et nous n'avons pas eu de difficultés à les classer LLC authentiques.

Une certaine variation morphologique est observée d'un patient à l'autre dans un groupe de 5 patients (22,7%). Chez certains, le cytoplasme a tendance à être un peu plus abondant. Lorsque plus de 10% des lymphocytes sont plus grands (dans 4 cas) le diagnostic

de LLC de type à « cellules mixtes » ( **Merle-Béral,2012**)a été retenu en analysant les autres caractéristiques (âge, organomégalie, données cytogénétiques).

Nous avons aussi observé un cas de LLC/LPL dans cette série de patients pour lequel les données complémentaires nous ont permis de l'étiqueter LLC/PL. Ainsi chez ces patients, le recoupement des données cliniques (forte masse tumorale), la distribution généralisée des adénopathies, la présence d'ombres de Gumprecht ainsi que le score de Matutes et les données cytogénétiques ont pu dans chaque cas faire retenir le diagnostic de LLC atypique.

Il s'avère ainsi que le frottis sanguin est un outil sensible pour établir le diagnostic de LLC. Ainsi, l'application rigoureuse de critères cytologiques précis lors de l'examen de frottis sanguin bien étalés et convenablement colorés chez des patients suspects de présenter une leucémie lymphoïde chronique (**Bennet, 1989**), constitue un outils puissant et fiable , conforté en cela par les résultats de l'étude immunocytologique et cytogénétique dans les cas les plus difficiles.

La biopsie ganglionnaire est un acte exceptionnel dans la démarche diagnostique de la LLC, excepté lors d'une transformation en lymphome de haut grade (Syndrome de Richter). Parmi les entités citées en diagnostic différentiel, les lymphomes leucémisés, l'apport de la biopsie tumorale est une étape incontournable conjuguée à l'immunomarquage et à l'étude cytogénétique par caryotype et hybridation in situ fluorescent (FISH).



# CONCLUSION

## **COCLUSION**

La leucémie lymphoïde chronique est une pathologie du sujet âgé qui requiert un ensemble d'examens biologiques pour en établir le diagnostic.

Parmi ces examens, le frottis sanguin a une place centrale puisque seul, il permet d'évoquer ce diagnostic

Notre travail avait pour objectif de préciser l'importance du frottis sanguin dans le diagnostic de la leucémie lymphoïde chronique.

A partir des résultats obtenus on peut dire que le diagnostic de cette pathologie passe par une étude hématologique clinique et biologique bien codifiée.

La suspicion de LLC repose sur la présence d'adénopathies superficielles bilatérales symétriques, indolentes ; elle peut aussi être évoquée, en absence d'adénopathies, sur un hémogramme qui présente une hyperleucocytose avec hyperlymphocytose.

L'étude cytologique sur le frottis sanguin est l'étape essentielle pour affiner l'approche diagnostique.

Ces approches ont été confirmées dans notre étude aussi bien par l'étude de l'hémogramme que celui du frottis sanguin.

En effet les patients que nous avons étudiés se présentent tous avec une hyperleucocytose et une hyperlymphocytose supérieure à 5000 L/ $\mu$ l ; l'étude de leur frottis sanguins a montré un aspect de LLC typique dans 77,3% des cas (tous confirmés par CMF) et un aspect de LLC atypique dans 22,7% des cas (tous confirmés par CMF).

Il s'avère ainsi que le frottis sanguin est un outil sensible pour établir le diagnostic de LLC.

# **Références bibliographiques**

## B

**Barroca V., (2009).** Caractérisation épidémiogénétique de la population de Tlemcen par le cancer de leucémie chronique. MEMOIRE de MASTER génétique des populations. UNIVERSITE de TLEMCEM 7p.

**Bernard J, Lévy J P, Varet B, Claudel JP, Rain JD, Sultan Y., (1998).** Hématologie. Abrégé.Masson. Paris. 352 p.

**Bennet, JM, D.Catovsky, M.T Daniel, G. Flandrin,D.A Galton, H.R Gralnick, C. Sultan., (1989)** Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukemias. French-American-British (FAB) Cooperativ Group. *J ClinPathol*; 42(6): 567-84.

**Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguet H, Goasguen J, Vaugier G, Potron G, Thomas M, Tchernia G, Jacquilat C, Boivin P, Lesty C, Duault M T, Monconduit M, Bellabes S, Gremy F.,(1981).**A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*, 48 (1): p198-206.

**Boyne J ., (2015)**Caractérisation épidémiogénétique de la population de Tlemcen par le cancer de leucémie chronique. MEMOIRE de MASTER génétique des populations. UNIVERSITE de TLEMCEM 6p.

**Busslinger M., (2004).** Transcriptional control of early B cell development.*Annu Rev Immunol*; 22:55-79

**Blaise D., (2018).** Leucémies de l'adulte : les facteurs de risque département d'onco-hématologie et de transplantation et thérapie cellulaire à l'Institut Paoli-Calmettes à Marseille.

## C

**Caligaris-Cappio F, Gottardi D, Alfarano A, Stacchini A, Gregoretti MG, Ghia P.,(1993).**The nature of the B lymphocyte in B-chronic lymphocytic leukemia. *Blood Cells*; 19(3): 601-613.

## D

**Diebold . J, Molina. T, Le Tourneau. A, Audouin. J., (2008).** Hémopathies malignes : définition et différentes variétés selon la classification de l'OMS 2001. *Revue Francophone Des Laboratoires* ; 398 : 65-71

## G

**Galy A, Travis M, Cen D, Chen B. Human T, B.,(1995).** Natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset. *Immunity*; 3 : 459-73

## H

**Hallek M, Langenmayer I, Nerl C, Knauf W, Dietzfelbinger H, Adorf D.,(1999).** Elevated serum thymidine kinase levels identify a subgroup at high risk of disease progression in early, non-smoldering chronic lymphocytic leukemia. *Blood Mar*; 93(5): 1732-1737.

**Harald T., (2000).** Atlas de poche hématologie. Médecine science Flammarion. France. 2-4-6 p

**Harisson TR., (1993).** Principe de médecine interne. Médecine-sciences. Flammarion. 5ème éd.

**HAS.,(2011)** Guide - Affection de longue durée : Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique Leucémie lymphoïde chronique.  
Guide ALD n° 30 « Leucémie lymphoïde chronique »

**Hartmut D, Stephan S, Axel B, Elke L, Alexander Kröber, Lars B, Konstanze D, Martin B, et Peter L.(1998).** Genomic Aberrations and Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia

## J

**Johansson P, Eisele L, Klein-Hitpass L, Sellmann L, Dührsen U, Dürig J.,(2010).**Percentage of smudge cells determined on routine blood smears is a novel prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk.*;34(7):892–8.

**John L.,(2005).**Annales de biologie Clinique

## K

**Kipps TJ, Stevenson FK, Wu CJ, Crose CM, Packham G, Weir da WG, Rai K.,(2017).**chronic lymphocytic leukemia. *Nature Review Disease primers* 3,13096

**Kohn Lisa A., Qian-Lin Hao, Rajkumar Sasidharan, Chintan Parekh, Shundi Ge, Yuhua Zhu, Hanna K.A. Mikkola, and Gay M. Crooks.,(2012).** Lymphoid Priming in Human Bone Marrow Begins Prior to CD10 Expression with Up-Regulation of L-selectin. *Nat Immunol* ; 13(10): 963–971.

## L

**L'italien R et Lord dubé H., (1998).** Hématologie, deuxième édition, SainteFoy (Québec), Le Griffon d'argile, 434 p.

## M

**Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Marco JG, Houlihan A, Que TH, Catovsky D.,(1994).**The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia*, 8(10): p1640–1645.

**Matutes E, Polliack A.,(2000).**Morphological and immunophenotypic features of chronic lymphocytic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol*, 4: p22-47.

**Merle-Beral H.,(2012).**Diagnostic cytologique, histologique, phénotypique de la llc. *Horizons en hématologie*. Mars, 2,(1).

**Michael G ,Mario B.,(2011).**Forum Med Suisse.

## N

**Nowakowski GS, Hoyer JD, Shanafelt TD, Zent CS, Call TG, Bone ND.,(2009).**Percentage of smudge cells on routine blood smear predicts survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*,27(11):1844–9.

## P

**Paubel. P, Sauvageon M, Wallet P.,(1999).**Sang, les médicaments dérivés du sang. Arnette. Paris. 395 p.

## R

**Rai KR, Sawitsky A, Crokite G, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS., (1975).**Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 46: p219-234.

**Rawstron AC, Bennett FL, O'Connor SJM, Kwok M, Fenton JAL, Plummer M.,(2008).**Monoclonal B-cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia.*N Engl J Med*;359(6):575-83.

## S

**SwerdlowSH ,Campo E,PileriSA,HarrisNL,StienH,SiebertR,Jaffe ES.,(2016).**The 2016 revision of the World Health Organization Classification of lymphoid neoplasms.*Blood*,127(20),2375-2390.

## T

**Troussard X.,(2007).**Diagnostic,pronostic et traitement chez les patients avec une leucémie lymphoïde chronique.*ELSEVIER MAISON*,22:p.313-318.

**Troussard X, Benakli M.,(2016).** Syndromes lymphoprolifératifs chroniques-B (SLPC-B)(2016). *Revue Algérienne d'Hématologie*, N° 12, Décembre 2016.

# **ANNEXES**



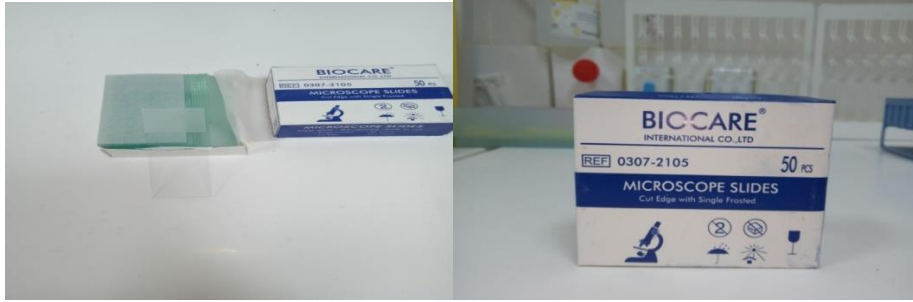
**Annexes**



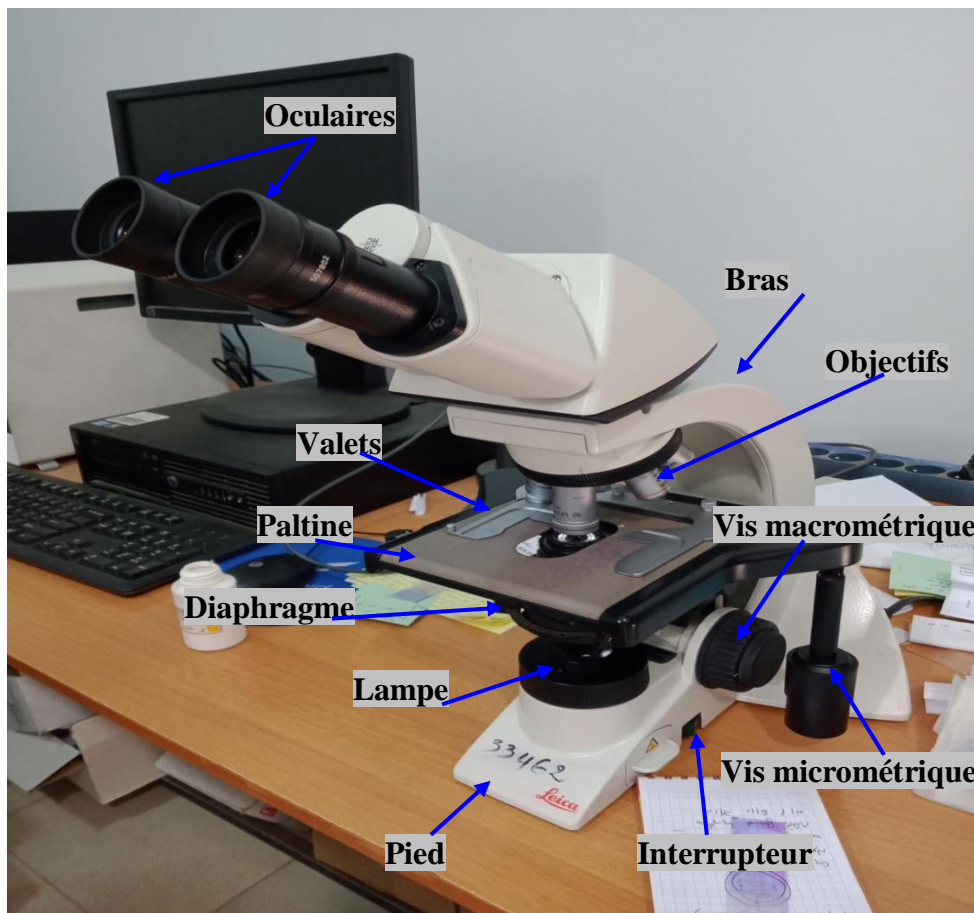
**Automate d'analyse sanguine.**



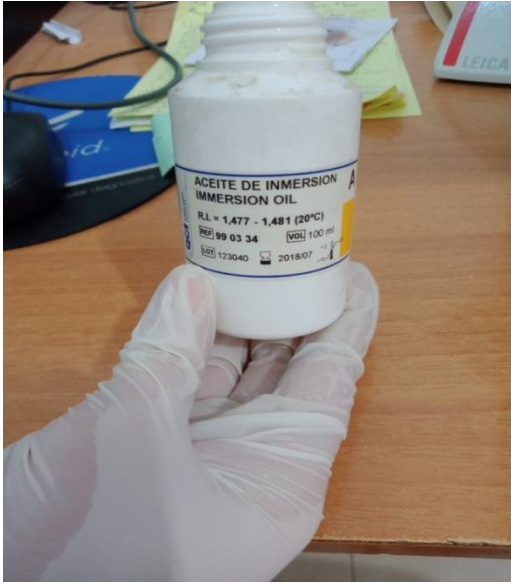
**Tubes EDTA.**



Les lames



Microscope optique.



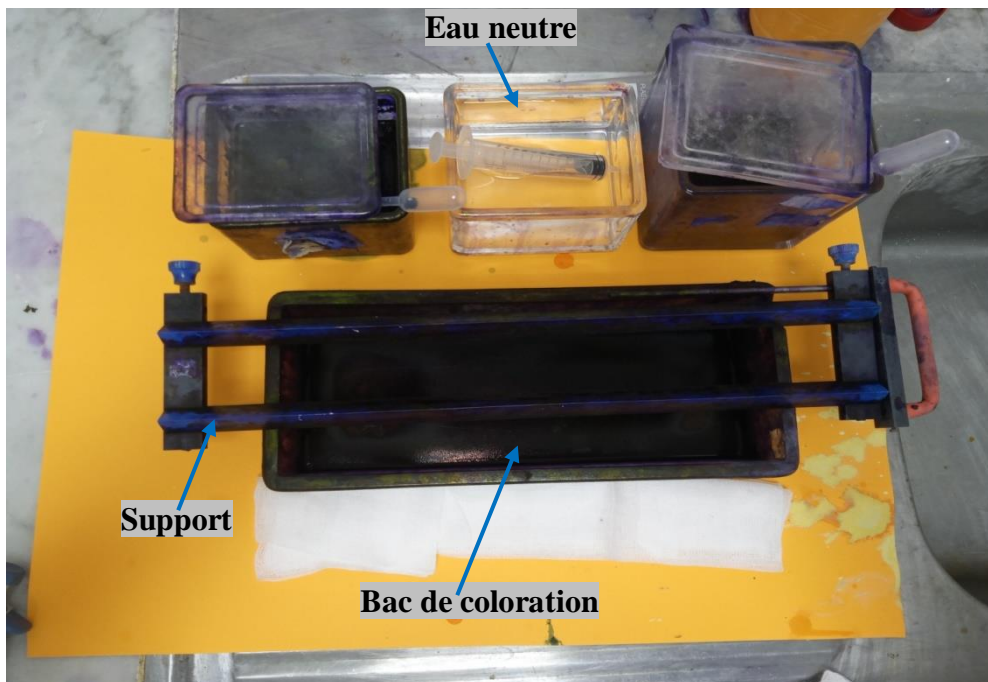
**Huile à immersion.**



**Eprouvette.**



**Piano pour équilibre leucocytaire (compteur).**



Equipement de coloration May-Grünwald Giemsa.



Les réactifs de May-Grünwald Giemsa.