

UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE



PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence en Sciences & Techniques :
Biologie & Santé

Leucémie Aigue Myéloïde

Présenté le : VENDREDI 10 JUIN 2011

Par : EL HAMMOUDI YOUSRA

Encadré par :

FSTF : Dr. Abdelali Tazi

Etablissement d'accueil : Dr. MONCEF AMRANI HASSANI

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

- Dr. ABDELALI TAZI : Président
- Dr. Moncef Amrani Hassani : Examineur
- Dr. KAOUAKIB EL ABIDA : Examineur

Année Universitaire : 2010-2011

DEDICACE

J'ai le grand plaisir de dédier ce travail :

A mes parents, mes frères, mes belles sœurs, mes neveux et ma
nièce pour le bonheur, la joie et le soutien qu'ils me portent

Toutes celles et ceux qui m'ont aidé

Tous mes ami(e)s et mes collègues pour leurs encouragements et
leurs respects.

Toutes les personnes que j'aime

Toutes les personnes qui m'aiment et me souhaitent le meilleur.

Remerciement

Je remercie tous les enseignants de la FST, particulièrement, ceux du département des sciences de la vie, de leur bonne direction qui reflètent les qualités d'un responsable compétant et méritant.

Je remercie Dr. Professeur **AMRANI HASSANI MONCEF** Médecin-chef de service d'hématologie, CHU Hassan II de m'avoir accordé la possibilité d'accéder à cet établissement pour la réalisation de ce projet de fin d'étude.

Je remercie aussi bien mon Professeur et coordonnateur de la LST-biologie et santé **Mr. ABDELALI TAZI** qui a bien voulu accepter d'encadrer ce travail, pour son aide et aussi pour ses conseils.

Je remercie **Dr. Imane Tlamsani** pour l'intérêt qu'elle a porté à l'égard de mon travail, pour sa gentillesse et le temps qu'elle m'a consacré tout au long de ce stage.

Mes remerciements aussi pour tous les médecins et les techniciens
Au sein du service d'hématologie, CHU Hassan II

Aussi je vous remercie Professeur **KAOUAKIB EL ABIDA** pour votre bonne direction

Merci à tous

Sommaire

Liste des abréviations

Première partie : partie bibliographique

I-

Introduction.....
3

II- Définition de l'hématopoïèse.....3

III- Définition de la leucémie aigue myéloïde
.....5

IV- Circonstances de découverte :(signes
cliniques).....6

➤ Signe d'insuffisance médullaire
.....6

➤ Syndrome tumoral.....6

V-Diagnostic clinique :

➤ Interrogatoire.....
7

➤ Examen clinique
.....8

➤ Examens complémentaires
.....8

VI_Diagnostic biologique

➤ Hémogramme8

➤ Myélogramme.....9

➤ Etude cytologique du
myélogramme.....11

➤ Etude cytochimique sur le myélogramme12

➤ Immuno-
phénotypage.....12

➤ Cytogénétique13

➤ Biopsie ostéo-médullaire
.....13

VII_Bilan post diagnostic : bilan pré-thérapeutique

➤ Bilan d'hémostase.....13

➤ Bilan
biochimique.....14

VIII_Prise en charge thérapeutique
.....14

-Objectif du travail16

Deuxième partie : matériel et méthodes

➤ <i>Le milieu d'étude</i>	18
➤ <i>Le type d'étude</i>	18
➤ <i>La population cible</i>	18

Méthode de collecte des données.....18

✓ <i>Les bilans NFS : (numération formule sanguine)</i>	18
✓ <i>L'appareil d'analyse sysmex XE2100</i>	19
✓ <i>Examen morphologique des cellules du sang</i>	19
✓ <i>Réalisation du frottis sanguin</i>	20
✓ <i>Protocole de la coloration à MGG</i>	21

Troisième partie : résultats

<i>1-Répartition selon l'âge</i>	23
<i>2- Répartition selon le sexe</i>	23
<i>3- Les caractéristiques d'hémogramme des cas étudié</i>	23
<i>4- Fréquence des LAM selon leurs types</i>	25
<i>5-Etude cytologique et cytochimique</i>	25
<i>6-Etude morphologique des LAM</i>	25

Discussion :.....3

1

Conclusion :

I- Introduction :

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont des proliférations aiguës, développées à partir des précurseurs hématopoïétiques (blastes) des lignées myéloblastique, érythroblastique ou mégacaryocytaire, et ce, à tous les stades de maturation de ces précurseurs.

La maladie se développe, en règle générale dans la moelle osseuse :

* sa présence inhibe l'hématopoïèse normale, aboutissant au syndrome d'insuffisance médullaire, caractérisée par des cytopénies (anémie, neutropénie, thrombopénie), dont les conséquences cliniques représentent le principal mode de découverte de la maladie

* la maladie peut également s'étendre au sang avec apparition de blastes circulants ou à d'autres organes hématopoïétiques (rate, ganglions, foie ...).[1]

II- Définition de l'hématopoïèse :

L'Hématopoïèse se définit par l'ensemble des mécanismes qui assurent le remplacement continu et régulé des différentes cellules sanguines:

– Polynucléaires Neutrophiles (PNN), Basophiles (PNB), Eosinophiles (PNE). Ces éléments figurés du sang ont une demi-vie de 24 heures.

– Globules rouges (GR) ou érythrocytes, durée de vie 120 jours.

– Plaquettes (thrombocytes), durée de vie 7 jours.

Les valeurs normales des cellules sanguines

La numération globulaire

Nombre de globules rouges (GR), globules blancs (GB ou leucocytes) et plaquettes par unité de volume de sang.

Résultats normaux :

- ✓ GR : 5 000 000 ± 500 000 par microlitre, chez l'homme
4 500 000 ± 500 000 par microlitre, chez la femme
- ✓ GB : 7 000 ± 3 000 par microlitre, chez l'adulte
- ✓ Plaquettes : 150 000 à 450 000 par microlitre [2]

La formule sanguine (ou formule leucocytaire)

Nombre de chacune des différentes populations de leucocytes.

Actuellement, les résultats exprimés en nombre absolu par microlitre (1 μl = 1 mm^3) plutôt qu'en % des différentes variétés de leucocytes :

- ✓ Granulocytes neutrophiles : 1 800 à 8 000 / μl
- ✓ Granulocytes éosinophiles : 50 à 500 / μl
- ✓ Granulocytes basophiles : < 100 / μl
- ✓ Lymphocytes : 1 500 à 4 500 / μl
- ✓ Monocytes : 100 à 1000 / μl [2]

Hématopoïèse

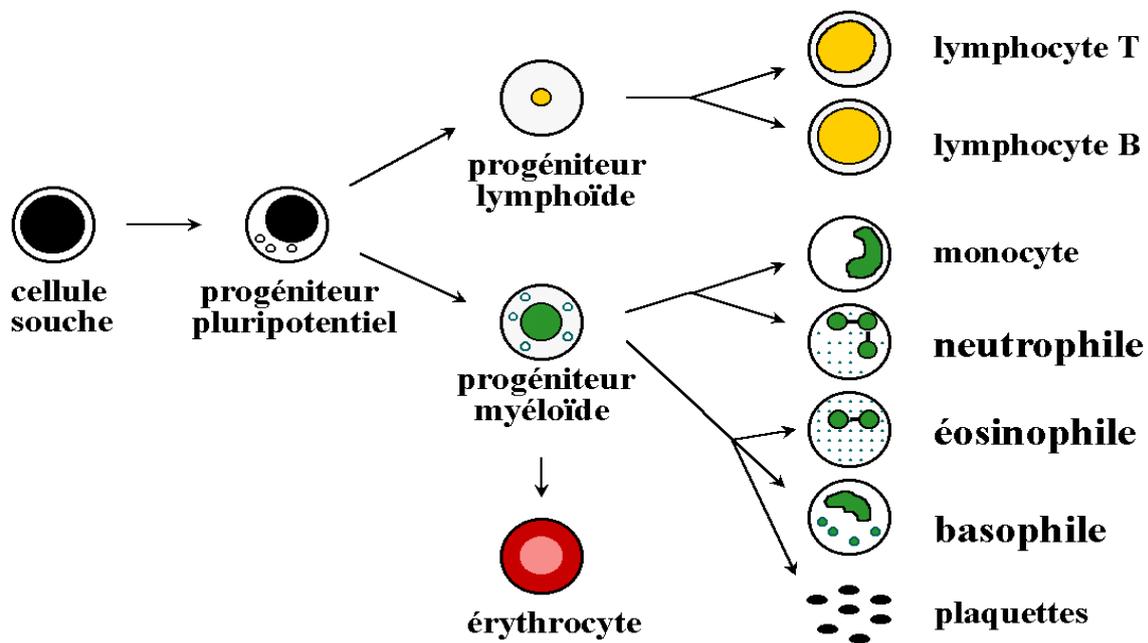


Figure N°1 : Représentation schématique de l'hématopoïèse

III- Définition de la leucémie aigue myéloïde:

Les leucémies aigues (LA) sont des proliférations clonales et malignes de cellules hématopoïétiques immatures (blastes) bloquées dans leur processus de différenciation, qui envahissent la moelle osseuse puis le sang périphérique et finalement de nombreux organes. Ce phénomène d'expansion clonale s'accompagne d'une insuffisance médullaire quantitative.

III-1- Classification des leucémies aigues :

Les LA sont principalement classées en fonction de leur lignée d'origine et du niveau de blocage de la maturation des blastes, en se basant sur leur morphologie, leurs marqueurs de surface (immunophénotype) et parfois des anomalies de leurs chromosomes.

- Des Leucémies aigues lymphoïdes.
- Des leucémies aigues myéloïdes.

III-2- Définition de leucémie aigue lymphoïde (LAL) :

C'est la forme la plus courante chez les enfants. Elle résulte d'une multiplication et d'une accumulation non contrôlées de lymphocytes (globules blancs) immatures. Cela entraîne une

accumulation de lymphocytes immatures dans l'organisme et dérègle également la production des globules rouges.

III-3- Définition de leucémie aigue myéloïde (LAM) :

La LAM est une forme de cancer qui touche les cellules de la moelle osseuse, qui produisent normalement les globules rouges, les plaquettes, les polynucléaires. Dans la LAM, les précurseurs des polynucléaires ou des monocytes prolifèrent de façon anarchique, sans "mûrir" (sans se différencier). L'accumulation de ces cellules "immatures" (cellules leucémiques ou blastiques) empêche la production des autres types cellulaires, ce qui conduit à une anémie (manque de globules rouges et baisse de l'hémoglobine), une neutropénie (manque de polynucléaires) et une Thrombocytopenie (baisse des plaquettes). Les cellules leucémiques présentes dans la moelle osseuse ont tendance à passer dans le sang, ce qui permet un diagnostic facile par une numération formule sanguine.[1]

III-4- les types des leucémies aigues myéloïdes :

La classification des LAM est basée sur l'aspect des cellules leucémiques observées au microscope (cytologie) et sur l'analyse des chromosomes des cellules leucémiques. La classification internationale FAB (Franco-Américano-britannique) est la plus souvent utilisée :

- LAM avec différenciation minimale (LAM 0)
- LAM sans maturation (LAM 1)
- LAM avec maturation (LAM 2)
- LAM avec différenciation promyélocytaire (LAM 3)
- LAM avec différenciation myélomonocytaire (LAM 4)
- LAM monoblastique (LAM 5)
- LAM avec différenciation érythroblastique (LAM 6)
- LAM avec différenciation mégacaryocytaire (LAM 7)

IV- Circonstances de découverte :

Le diagnostic est suspecté sur la traduction clinique d'une complication (altération de l'état général, syndrome hémorragique, état infectieux) amenant à la réalisation d'hémogramme.

Les signes cliniques n'ont qu'une valeur d'orientation, lorsqu'ils existent ils traduisent soit un syndrome tumoral soit une complication.

IV-1. Signes d'insuffisance médullaire

Il est lié à l'existence de blastes granuleux médullaires responsables de l'inhibition de l'hématopoïèse normale et de cytopénie(s) myéloïde(s). L'insuffisance médullaire est quasi constante. Le tableau clinique comporte de façon plus ou moins complète :

- un syndrome anémique
- un syndrome hémorragique d'origine plaquettaire
- un syndrome infectieux d'origine granulocytaire. [4]

IV-2. Syndrome tumoral

Le syndrome tumoral peut être absent ou marqué par :

- Des douleurs osseuses
- Une hypertrophie des organes hématopoïétiques
- Une atteinte tissulaire et viscérale
- Une atteinte cutanée de la muqueuse gingivale
- Atteinte des gonades
- Atteinte neuro-méningée : on note des signes d'hypertension crânien [4]



Figure 2. Hypertrophie gingival majeure de l'arcade dentaire inférieure dans une leucémie aiguë myéloblastique

V- Diagnostic clinique

V-1. Interrogatoire :

Il renseigne sur l'âge, le sexe, les antécédents pathologiques, le traitement en cours et l'exposition à un facteur de risque. Parmi les facteurs de risque on trouve :

- Facteurs génétiques :

Des facteurs génétiques constitutionnels associés peuvent favoriser le phénomène d'instabilité génétique et/ou de la réparation des modifications nucléiques

- Exposition au benzène :

L'action leucémogène du benzène est connue depuis de nombreuses années en raison de l'augmentation de fréquence des LA en cas d'exposition professionnelle chronique.[1]

- Le rôle des radiations ionisantes est également bien démontré, aussi bien chez les survivants d'explosion atomique que chez les sujets exposés professionnellement aux risques. De même, les malades traités par radiothérapie ou par produits isotopiques ont un risque accru de LAM classées alors dans le groupe des LAM dites secondaires.

V-2. Examen clinique :

L'examen clinique peut associer de façon variable :

- Une altération de l'état générale
- Un syndrome d'insuffisance médullaire
- Des douleurs osseuses
- Un syndrome tumoral lié à une infiltration tumorale tissulaire [2]

V-3. Examens complémentaires :

a- Hémogramme :

La **numération formule sanguine (NFS)** appelée également **hémogramme** est un test de dépistage et de diagnostic de nombreuses affections et maladies, il peut montrer des anomalies du volume liquide du sang (telle une déshydratation), une spoliation sanguine, anomalies de production des cellules sanguines ou de leur durée de vie, voire une infection ou une affection allergique.

b- Myélogramme :

Le myélogramme permet de réaliser une classification cytologique des LAM en 8 groupes cytologiques (LAM0 à LAM7). Cette classification morphologique des LAM est actuellement systématiquement complétée par une analyse immunocytochimique (la recherche de la myéloperoxydase est positive dans plus de 5% des blastes).

VI- Diagnostic biologique :

VI-1. Hémogramme :

Il est toujours anormal :

- Existence d'une blastose circulante

L'hémogramme permet très souvent d'évoquer d'emblée le diagnostic de leucémie aiguë myéloïde devant l'existence de blastes granuleux sur la formule leucocytaire. La leucocytose en résultant est variable car la blastose variable. Il existe des formes pancytopéniques ou hyperleucocytaires. L'absence de blastose circulante n'élimine pas le diagnostic de LAM. Certains blastes leucémiques peuvent échapper aux compteurs automatiques. C'est la raison pour laquelle la présence d'une cytopénie doit toujours entraîner une lecture cytologique (à l'œil) de la formule leucocytaire.[2]

- Existence de signes d'insuffisance médullaire

L'hémogramme montre des signes d'insuffisance médullaire : anémie normochrome arégénérative dans 89-90% des cas ; thrombopénie ; neutropénie très fréquente voire agranulocytose.

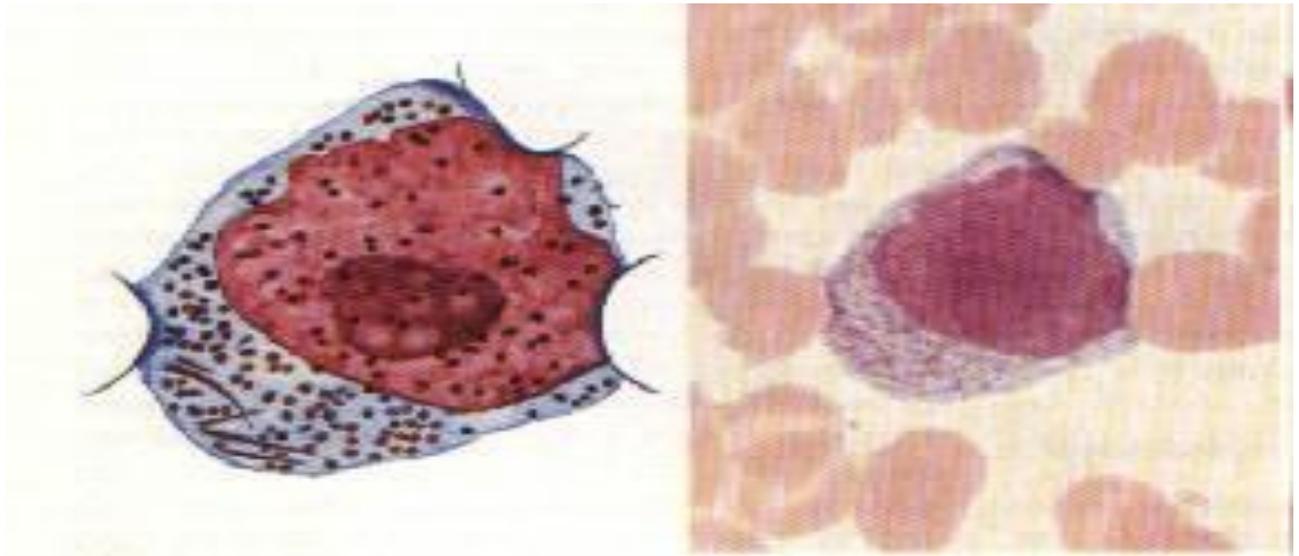


Figure3 :Représentation d'un myéloblaste leucémique avec corps d'Auer .[2]

VI-2-Myélogramme :

La réalisation d'un myélogramme est un acte strictement médical, réservé à une personne qualifiée.

Établissement de frottis sur lames à partir de « suc médullaire » obtenu par ponction d'un os (généralement le sternum) par un trocart et aspiration par une seringue montée. Une anesthésie locale est possible mais non nécessaire. Le suc est tiré doucement (ni étalé ni écrasé) sur plusieurs lames qui sont séchées à l'air. Il faut absolument obtenir des "grains", visibles à l'œil. Les lames sont ensuite colorées au MGG (May-Grünwald-Giemsa). Il confirme le diagnostic montrant une infiltration médullaire par des myéloblastes ou monoblastes (> 20% par définition mais souvent massive > 80%). La coloration est réalisée au May-Grünwald-Giemsa. Les cellules blastiques présentent dans la majorité des cas une différenciation myéloïde reconnaissable, la présence de granulations cytoplasmiques azurophiles ou de corps d'Auer dans le cytoplasme des blastes voire il existe une disposition en fagots de corps d'Auer dans les leucémies aiguës promyélocyaires de type LAM3. .[2]

Myélogramme

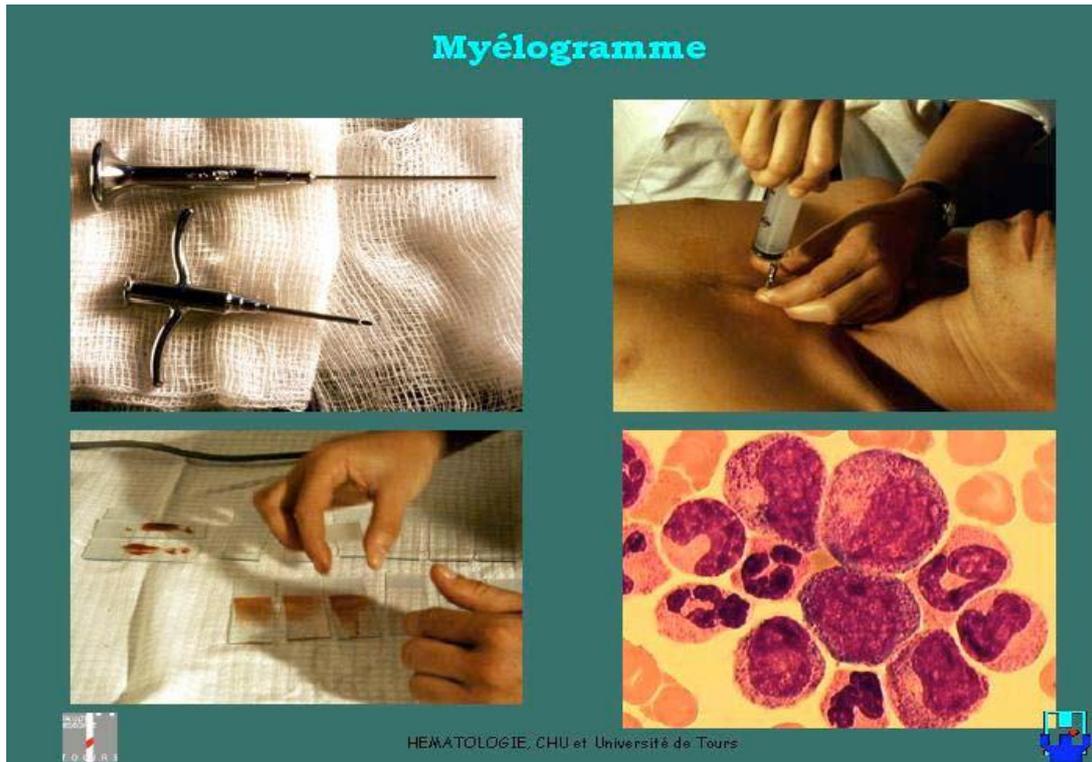


Figure 4 : méthode de réalisation du myélogramme

VI-2-1. Etude cytologique du myélogramme :

L'analyse cytologique du myélogramme, après coloration au MGG, met en évidence une infiltration blastique supérieure à 20 %, définissant le diagnostic de LAM .

Le tableau suivant présente la classification selon FAB des LAM [2]

Type	Cytologie
LAM0 LAM indifférenciée	-blastés sans différenciation

LAM1 LAM sans maturation granuleuse	- myéloblaste - maturation granuleuse < 10% - corps d'Auer
LAM2 LAM sans maturation granuleuse	- myéloblaste - maturation granuleuse > 10% - corps d'Auer
LAM3 LAM à promyélocytes	-myéloblastes + -promyélocytoses anormaux - fagots de corps d'Auer
LAM4 LAM myélomonocytaire	-myéloblastes + -promonocytes
LAM5 LAM monoblastique	-myéloblastes + -promonocytes
LAM6 Erythroleucémie	-myéloblastes (> 30%) + -érythroblastes (>50%) Dystrophies érythroblastiques
LAM7 LAM mégacaryocytes	-variable -mégacaryocytes anormaux -fibrose médullaire myélofibrose

L'étude cytologique conventionnelle est complétée par une étude :

VI-2-1. Etude cytochimique sur le myélogramme :

Cytochimie à la myéloperoxydase :

- la myéloperoxydase caractérise les cellules myéloïdes granulocytaires et à un moindre degré les cellules monocytaires

- doit être positive dans plus de 5% des blastes

Cytochimie des estérases :

Distingue les myéloblastes granuleux des myéloblastes d'origine monocytaire.

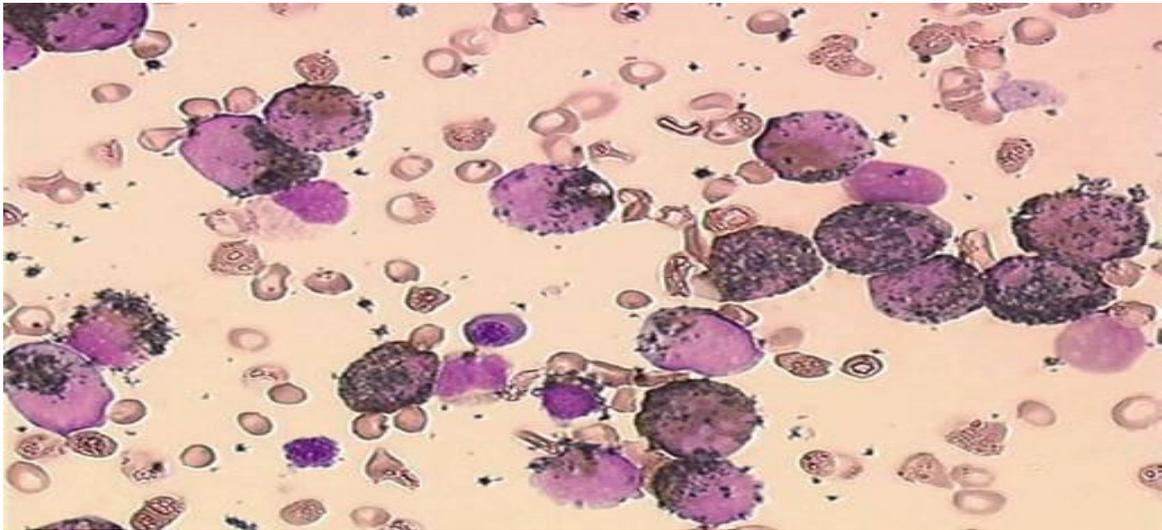


Figure 5 : Cytochimie de la myéloperoxydase :

La réaction nettement positive au cours d'une leucémie aigue myéloblastique. La positivité apparaît sous la forme de grains brun-noirs.

VI-2-3. Immunophénotypage :

Le diagnostic immunologique des leucémies aigues a été révolutionné par l'introduction des anticorps monoclonaux qui a pratiquement supplanté les techniques classiques (immunofluorescence de membrane, mise en évidence de l'enzyme nucléaire TDT pour Terminal Désoxynucléotidyl Transférase). Les anticorps utilisés sont répertoriés selon une liste périodiquement mise à jour en fonction des découvertes scientifiques. Comme ils reconnaissent des antigènes de différenciation selon une lignée, ils sont désignés par les lettres CD (Cluster of différenciation) suivie d'un nombre correspondant à l'antigène reconnu.

Les principaux anticorps utilisés sont :

- Des marqueurs de la lignée T (CD1 à CD8)
- Des marqueurs de la lignée B (principalement CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, CD24, CD37).
- Des marqueurs de la lignée granuleuse notamment CD11B, CD13, CD14, CD15, CD33.
- Les marqueurs des cellules souches hématopoïétiques (HLA DR, CD34, CD38).

VI-2-4. Cytogénétique :

L'étude de la cytogénétique des leucémies aiguës a montré l'existence d'anomalies portant sur le nombre et sur la structure d'anomalies des chromosomes.

Les anomalies de nombre correspondent à des monosomies ou des trisomies, portant sur une ou plusieurs paires, ce qui modifie la « ploïdie » de la cellule.

Les anomalies de structures peuvent exister :

-soit sans modification de la quantité totale des gènes de la cellule (translocations équilibrées) mais avec une altération de leur mode de fonctionnement (effet de position, création de gènes hybrides)

-soit avec modification quantitative des gènes (délétions ou monosomies partielles, duplications ou trisomies partielles).

VI-2-5 la biopsie ostéo-médullaire :

Une *biopsie* de la moelle osseuse est une procédure quelque peu désagréable , qui dure une quinzaine de minutes. Une *anesthésie* locale est utilisée pour cette procédure, et aucune douleur aiguë n'est généralement ressentie. Cette procédure permet à l'anatomopathologiste (médecin formé au diagnostic des maladies sur la base de l'aspect des cellules ou des tissus au microscope) de diagnostiquer la LAM.

VII- Bilan post diagnostic : Bilan pré-thérapeutique

VII-1. Bilan d'hémostase :

Recherche d'une CIVD (**COAGULATION INTRA - VASCULAIRE DISSEMINÉE**), quasi constante dans les LAM 3.

Baisse du fibrinogène, plaquettes.

Augmentation du TP, TCK, ...

VII-2. Bilan biochimique :

Augmentation du lysozyme sanguin et urinaire dans LAM 4 et 5.

Hyperkaliémie (hyperleucocytose).

Hypokaliémie (tubulopathies).

Acidose lactique.

Hyper uricémie (hyper catabolisme cellulaire).

LDH (facteur pronostique).

Bilan rénal.

Typage HLA classe I et classe II en biologie moléculaire si projet de greffe allogénique.

VIII- Prise en charge thérapeutique :

Le traitement consiste en l'administration d'une **polychimiothérapie**, à savoir l'utilisation d'une combinaison de plusieurs médicaments. La première phase (la phase d'induction) consiste en une chimiothérapie et a pour but la destruction des cellules leucémiques. Toutefois, elle détruit également, de manière transitoire, les cellules normales de la moelle et du sang, ce qui est responsable chez le patient d'une phase dite d'aplasie (absence transitoire dans le sang des cellules sanguines normales). Cet état doit être rigoureusement surveillé car il augmente le risque infectieux. Puis, le taux de cellules sanguines remonte, et le patient sort de l'aplasie dans laquelle il se trouvait.

D'autres séquences de **chimiothérapie** (dites de consolidation) doivent alors être entreprises, dont les modalités sont fonction de l'âge et du risque de récurrence. Chez certains patients jeunes, dont la leucémie est à haut risque de récurrence, on peut procéder à une **allogreffe** de cellules souches hématopoïétiques provenant de la moelle osseuse (« greffe de moelle ») ou du sang (« greffe de cellules souches périphériques »), s'il existe un donneur.

Le suivi par les médecins :

Une fois le traitement terminé, les médecins proposent un *suivi* dont le but est de :

- détecter une éventuelle *rechute*, ou retour de la leucémie, le plus tôt possible ;
- évaluer les effets indésirables du traitement et les traiter
- fournir un soutien psychologique et des informations afin d'accompagner le retour à une vie normale.

Les visites de *suivi* avec le médecin devront inclure les éléments suivants :

- Des questions sur l'état de santé, l'évocation des symptômes et un *examen clinique*
- Une nouvelle *biopsie* de moelle osseuse
- Une évaluation de la numération sanguine tous les trois mois.

Objectif du travail

L'objectif de notre travail est de réaliser une étude rétrospective et une analyse descriptive à partir des sérums de 37 patients atteints de leucémie aigue myéloblastique. Les prélèvements étudiés sont reçus par le laboratoire d'hématologie du CHU de FES depuis janvier 2009 jusqu'à Mai 2011.

Notre objectif a été de confirmer la leucémie aigue méyoblastique et de déterminer le type de LAM par

**application des techniques biologique utilisées au sein du
laboratoire d'hématologie CHU FES.**

Deuxième partie :

Matériel et méthodes

- **Le lieu d'étude :**

Notre étude s'est déroulée au sein du laboratoire d'hématologie du CHU Hassan II-Fès.

- **Le type d'étude :**

C'est une étude descriptive. Elle se propose d'explorer le domaine des étiologies des LAM et la démarche du diagnostic de cette pathologie.

- **La population cible :**

Les analyses ont été réalisées sur les sérums de 37 patients ayant demandé d'hémogramme au laboratoire d'hématologie du CHU de Fès. Ces patients sont soit des malades hospitalisés au sein du CHU, soit des malades externes provenant des centres de consultation.

I- Méthodes de collecte des données :

a- Les bilans NFS : (numération formule sanguine)

Les bilans NFS ont été réalisés grâce à l'appareil d'analyse Sysmex XE2100. Cet appareil d'analyse permet de mesurer le nombre absolu des cellules contenues dans Unité de volume de sang. Cette mesure est réalisée par un compteur de globules appelé Coulter 4ème génération avec un double lecteur qui permet d'effectuer les mesures beaucoup plus rapidement et avec une marge d'erreur beaucoup plus faible. Cette marge d'erreur varie de 2 à 6% pour les NFS. Ce compteur électronique assure simultanément la mesure du nombre de GR, le taux d'hémoglobine, et d'hématocrite ainsi que les constantes érythrocytaire (VGM, CCMH, TCMH).

Le comptage comporte :

- La dilution du sang
- Le passage d'un volume précis de cette dilution à travers un détecteur de particules.

Pour que la dilution soit parfaite :

- Le prélèvement doit être homogénéisé et dépourvu de caillot.
- Le liquide de dilution ne doit pas contenir de particules pouvant interférer dans le comptage.

Le fonctionnement de l'appareil repose sur les différences de conductivité entre les cellules sanguines et le milieu salin électro-conducteur dans lequel les cellules sont mises en suspension.

b- L'appareil d'analyse Sysmex XE2100



Figure 6 : l'appareil d'analyse Sysmex XE2100

c- Examen morphologique des cellules du sang :

Il est réalisé en étalant une goutte de sang sur une lame de verre et en l'examinant au microscope après coloration au MGG.

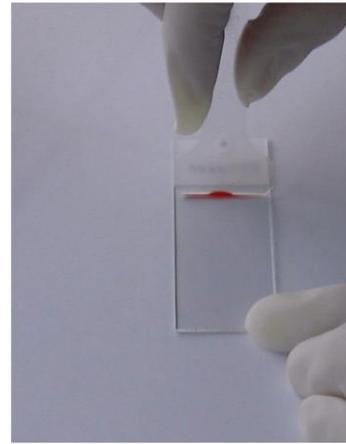
Cet examen microscopique permet d'étudier la morphologie des hématies et de faire la formule leucocytaire. Normalement tous les GR sont approximativement de la même forme, même coloration et même diamètre (7 μ m).

Toute modification de ces données traduit un état pathologique.

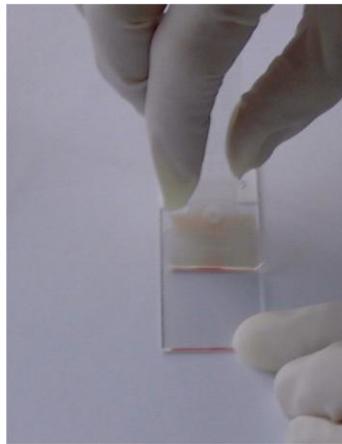
d- Réalisation d'un frottis sanguin :



(1)



(2)



(3)

Figure 7 : Méthode de réalisation d'un frottis sanguin

- (1) Prélever le sang à l'aide d'une pipette après l'avoir homogénéisé et déposer une petite goutte à l'une des extrémités de la lame.
- (2) Positionner la spatule de façon à prendre la totalité de la goutte et la laisser se répartir de façon homogène le long du biseau.
- (3) Appliquer un mouvement de translation horizontale en maintenant la spatule d'un angle de 45° environ sans appuyer tout au long de la lame. Sécher par agitation pour fixer temporairement les cellules.

e- Protocole de la Coloration au May-Grunwald Giemsa

- Fixation

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

- Coloration au May-Grünwald

- Ajouter autant de gouttes d'eau neutre que de gouttes de colorant, mélanger rapidement.
- Laisser agir 2 minutes.
- Rejeter le colorant par un jet d'eau neutre.

- Coloration au Giemsa

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

- Séchage

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

Troisième partie :

résultats et discussion

Notre étude a été réalisée sur le sérum de 37 patients ayant une LAM confirmée par la cytologie. On a calculé l'effectif et les fréquences selon l'âge, le sexe et le type de LAM . D'autre part , nous avons réalisé une étude morphologique pour chaque type de LAM .

1- Répartition selon l'âge :

L'âge des patients intéressés par cette étude varie entre 2 et 80 ans .

Age	Adultes			Enfants	Total
	15-40ans	40-65 ans	65 ans et plus	Moins de 15 ans	
Effectif	14	12	4	7	37
%	38	33	10	19	100

Tableau N° 1 : Répartition de la population étudiée selon l'âge

Nos résultats montrent que 19% des cas sont diagnostiqués avant l'âge de 15 ans et que la leucémie aigue myéloblastique est dominante chez l'adulte (81% des cas). Nos résultats montrent également qu'il n'y a pas de différence significative entre les tranches d'âge 15-40 ans et 40-65ans.

2- Répartition selon le sexe :

Sexe	Féminin	Masculin	Total
Effectif	17	20	37
%	46	54	100

Tableau N°2 : Répartition de la population étudiée selon le sexe

Nos résultats ne montrent pas de différence significative entre les deux sexes, il y a autant de femmes que d'hommes.

3 - les caractéristiques d'hémogramme des cas étudiés :

Notre étude s'était assignée sur un échantillon de 8 patients qui sont atteints de la leucémie aigue myéloïde.

L'analyse s'est faite sur l'examen de la Numération formule sanguine (NFS).

Le tableau suivant montre les différentes valeurs GR, GB, HB et PLQ. On a choisis 8 patients selon la disponibilité des valeurs de NFS :

Les patients	GR ($10^6/\mu\text{l}$)	HB (g/dl)	GB ($10^3 / \mu\text{l}$)	PLQ($10^3 / \mu\text{l}$)
Patient 1	2,32	8,2	3,11	78
Patient 2	2,30	3,7	10,85	23
Patient 3	1,76	5,2	191,19	20
Patient 4	3,40	8	2,05	28
Patient 5	3,08	10,7	145,4	39
Patient 6	2,86	5,4	8,71	65
Patient 7	1,86	6	8,90	33
Patient 8	1,35	3,2	121,3	32,5
Les valeurs normales	(4,00-5,70)	(12 ,5-15,5)	(4,00-10)	(150-400)

Tableau 3 : les résultats d'hémogramme des cas étudiés :

L'hémogramme est toujours anormal.

Le plus souvent il montre :

- Une anémie sévère chez tous les patients.
- Une thrombopénie uniquement deux cas.
- Les leucocytes sont en nombre variable il peut y avoir des blastes identifiables circulant parfois, il existe une leucopénie très sévère.

4-Fréquence des LAM selon leur type :

L'étude morphologique réalisée par coloration au MGG montre la répartition suivante :

Type de LAM	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
L'effectif	0	13	11	0	9	2	1	1
%	0	35	29	0	24	5	2	2

Tableau 4 : fréquence de type de LAM dans la population étudiée :

Les résultats montrent que les leucémies aiguës myéloïdes de type LAM 1 et LAM 2 sont très fréquentes par rapport aux autres types.

5- Etude cytologique et cytochimique :

L'étude morphologique par coloration à la myéloperoxydase a montré la répartition suivante :

Patients	% Blaste	MPO
Patient 1	58	Positif
Patient 2	79	Positif
Patient 3	60	Positif
Patient 4	25	Positif
Patient 5	99	positif
Patient 6	25	positif

Tableau N°5: les caractéristiques cytologique et cytochimiques des LAM

Pour tous les patients étudiés, il s'agit bien d'une LAM car le % des blastes dépasse les 20% et la coloration à la myéloperoxydase est positive.

6-Etude morphologique des LAM

Pour définir le type de LAM, une étude morphologique des lames a été réalisée.

Les figures qui suivent correspondent aux images des lames de différents types de LAM, montrant l'aspect morphologique et obtenues dans le laboratoire d'hématologie grâce à une caméra intégrée dans le microscope.

Myélobla
ste avec
un corps
d'Auer

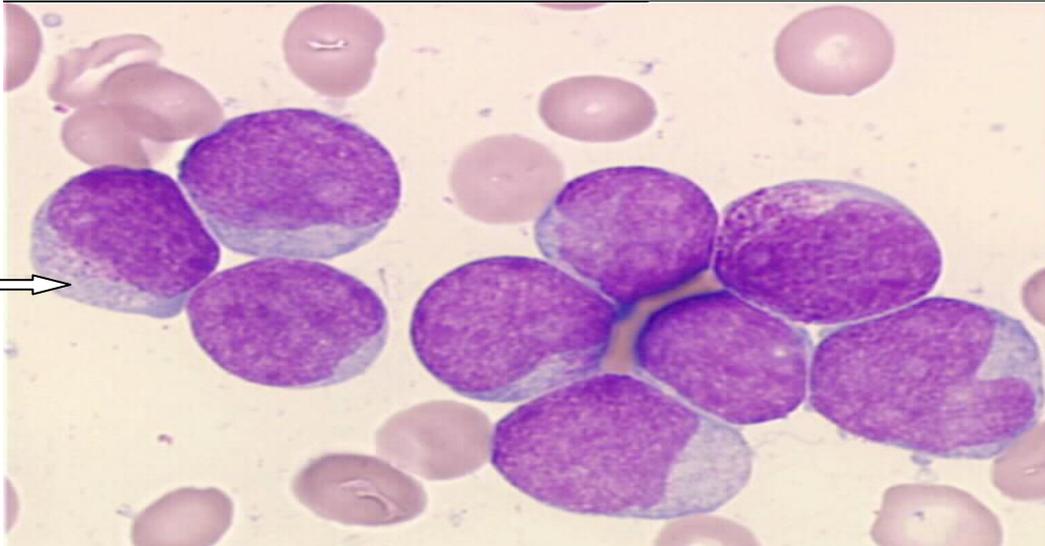


figure 1 :Aspect morphologique de LAM1 par coloration au MGG

Cellules peu différenciées, blastes proches de myéloblaste normal (granulation azurophiles). Les myéloperoxydases sont positives dans au moins 5% des blastes.

Corps d'Auer
volumineux

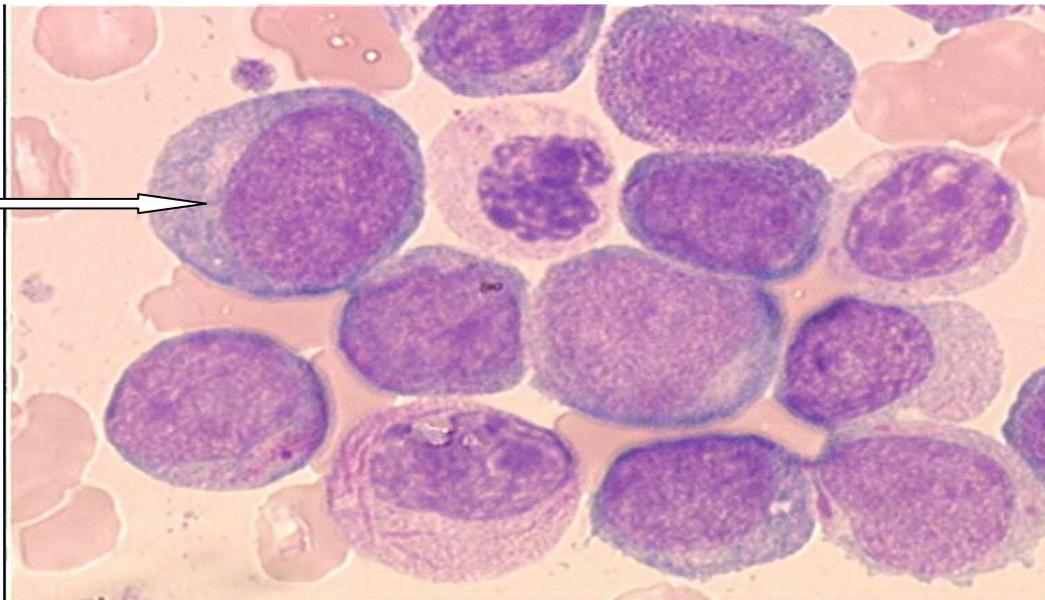
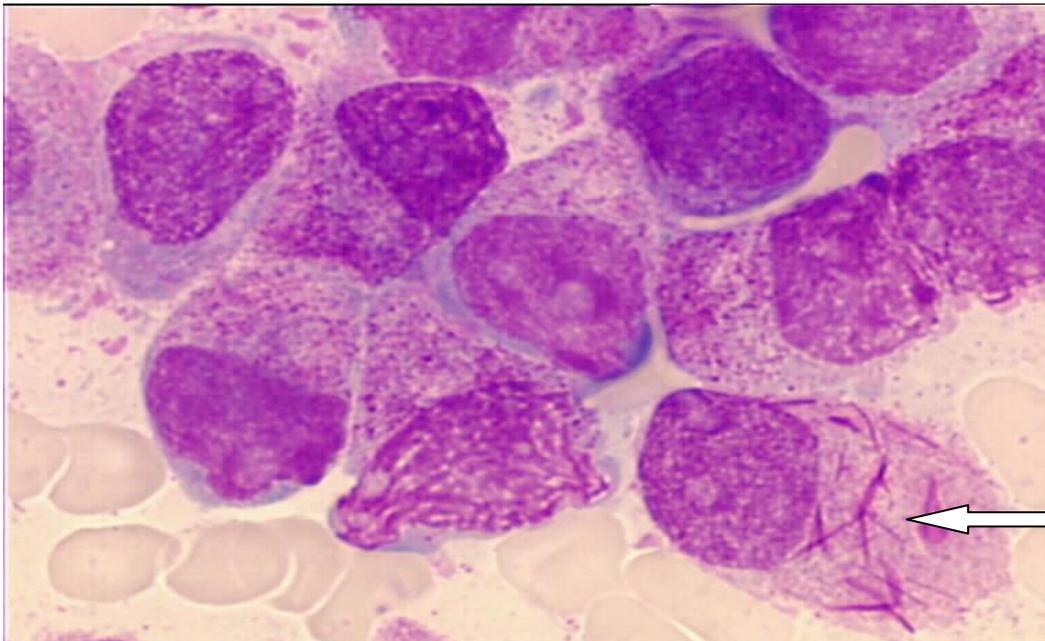


figure 2 :Aspect morphologique de LAM2 par coloration au MGG

Il existe des myéloblastes quelques fois très granuleux avec des corps d'Auer très fréquents. Une maturation granuleuse anormale avec une hyper segmentation.



Un corps
d'Auer en
fagot

figure 3 :Aspect morphologique de LAM3 par coloration au MGG

Il s'agit de cellules hyper granuleuses, renfermant de nombreux grains azurophiles et souvent des corps d'Auer répartis en fagot dans le cytoplasme et pouvant masquer le noyau.

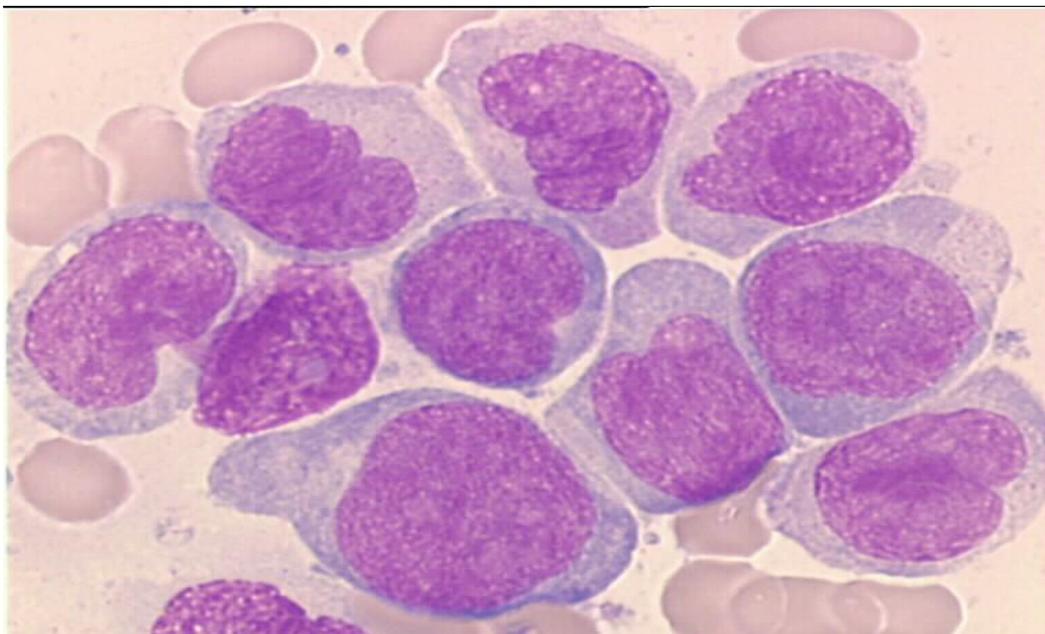
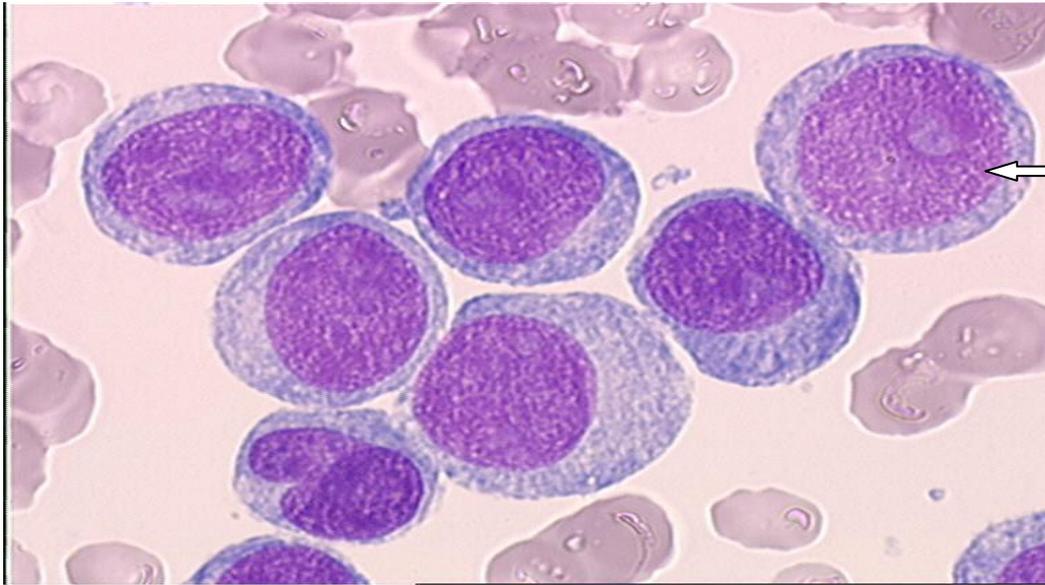


figure 4 :Aspect morphologique de LAM4 par coloration au MGG

Moelle très riche infiltrée par une population blastique faite d'une part de blastes indifférenciés, et d'autre part de myéloblastes de taille moyenne à grande avec noyaux irréguliers.



Monocyte
avec un
noyau

figure 5 :Aspect morphologique de LAM5 par coloration au MGG

Présence de monoblaste et promonocyte. Les monoblastes sont des cellules de très grande taille au noyau arrondi discrètement réniforme. La coloration cytochimique à la myéloperoxydase est positive.

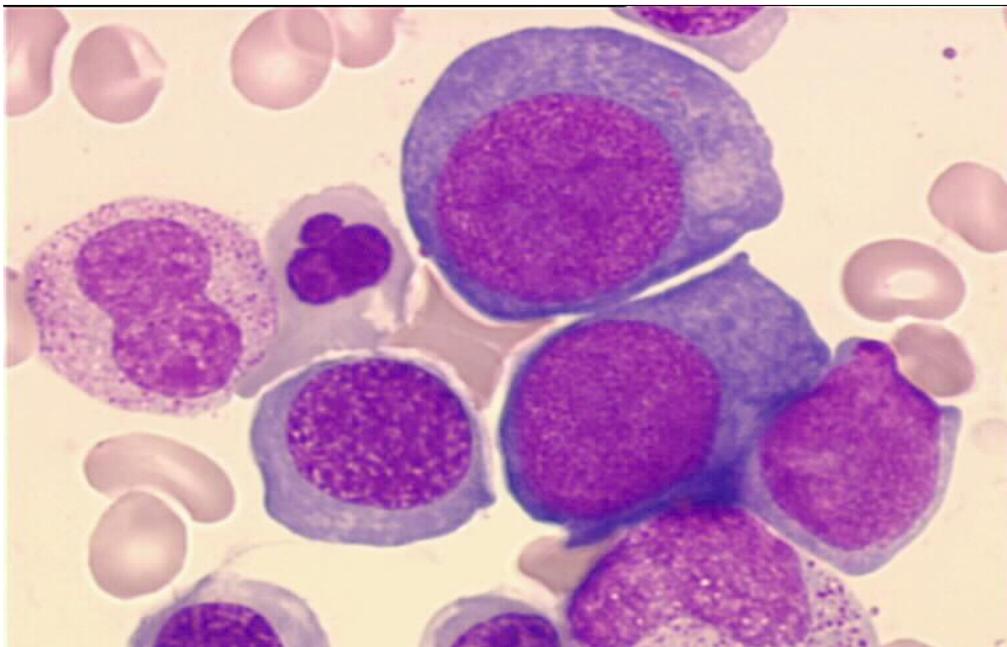


figure 6 :Aspect morphologique de LAM6 par coloration au MGG

La moelle osseuse est infiltrée par plus de 50% d'érythroblastes. Les érythroblastes sont anormaux, comportant des anomalies de maturation et il existe parfois une érythroblastémie.

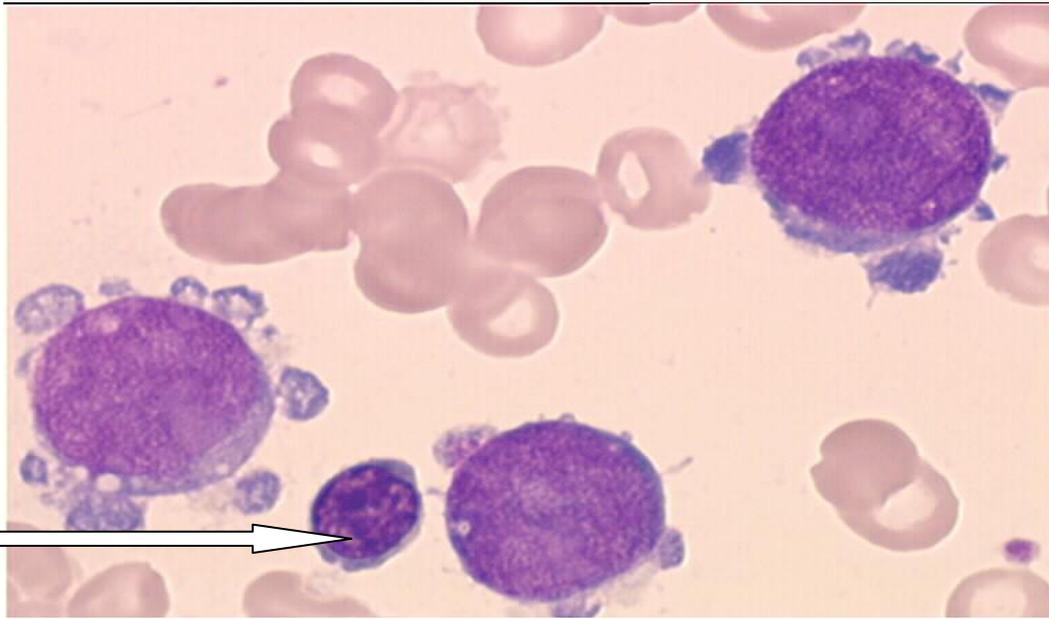


figure 7 :Aspect morphologique de LAM7 par coloration au MGG

Blastes de petite taille, cytoplasme basophile. Noyau à chromatine denses

Discussion

D'après nos résultats la leucémie aiguë myéloblastique peut survenir à tout âge mais elle est plus dominante au fur et à mesure que l'âge avance. Elle est dominante chez l'adulte on trouve 71% des patients de 15 à 65 ans ayant une LAM avec une diminution de la fréquence après l'âge de 65 ans, elle est moins fréquente (19%) chez l'enfant.

Cette répartition de la maladie en fonction de l'âge concorde avec ce qui est décrit dans la littérature. En effet, il a été rapporté que la leucémie aigue myéloïde est une pathologie de l'adulte et que son incidence augmente avec l'âge [5].

Nos résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative de la survenue de la LAM entre les femmes et les hommes.

Ces mêmes résultats ont été trouvés dans une étude sur une population tunisienne, il a été rapporté que Le sexe-ratio H/F est de 1,22. [5].

L'analyse d'hémogramme montre: une anémie, thrombopénie, et une leucopénie. La leucémie aigue myéloblastique est une forme particulière de leucémie qui se développe dans la moelle osseuse et produit des cellules immatures ou blastes qui ne deviendront jamais des cellules sanguines "adultes". Le problème vient du nombre de plus en plus important de ces blastes qui envahissent progressivement les tissus hématopoïétiques. Il en résulte donc une diminution parfois très importante de tous les éléments figurés du sang : plaquettes ou thrombocytes avec les problèmes d'hémostase qui en résultent, globules rouges ou hématies, ce qui entraîne une pâleur excessive et tous les symptômes d'une anémie, globules blancs ou leucocytes avec entre autres, diminution des défenses immunitaires. [7]

Dans notre série, les types cytologiques les plus fréquents étaient les LAM 1 dans 35 % des cas, les LAM 2 dans 29 % des cas, les LAM 4 sont retrouvées dans 24 % des cas et les LAM 5 dans 5 % des cas .

Des études ont montré que le taux a été plus élevé dans les catégories M1, M2 et M3 que dans les formes M4, M5 et M6 [6].

Finalement, on peut dire qu'il y a une discordance entre les résultats de nos études et ceux des autres[6]. Cette discordance n'est expliquée par un nombre insuffisant des patients.

Depuis une vingtaine d'année, la classification des LAM fait appel aux recommandations du groupe FAB. L'intérêt longtemps porté à cette classification est dû à sa relative simplicité basée sur une description morphologique simplifiée, après coloration des frottis de sang et de moelle par le May Grunwald Giemsa complétée par des examens cytochimiques [8].

Conclusion

La Leucémie Aiguë Myéloblastique est une forme de cancer qui atteint les cellules de la moelle osseuse produisant les éléments figurés du sang (globules rouges, globules blancs et plaquettes).

Un hémogramme complet avec une lecture minutieuse des frottis de sang et de moelle complétée par des réactions cytochimiques (MPO) permet encore le classement de la plupart des LAM.

Cependant, l'étude d'autres marqueurs cytogénétiques, immunologiques et moléculaires, est devenue nécessaire pour confirmer le diagnostic des LAM, pour identifier des LA d'aspect atypique et pour établir un pronostic. La classification OMS nouvellement

proposée utilise une recombinaison de l'ensemble de ces approches, prenant en considération leurs capacités à définir des entités biologiques et à apporter des éléments utiles au pronostic.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] <http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/hemato.html>
- [2] <http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p73/hematopoiesepdf.pdf>
- [3] http://santecheznous.com/condition_info_details.asp?disease_id=81
- [4] <http://www.leucemie-espoir.org/IMG/pdf/lam.pdf>

- [5] Imbert M, Jouault H, Sultan C. Classification morphologique des leucémies aiguës. In : Breton-Gorius J, Reyes F, Rochant H, Rosa J, Vernant JP, eds. Hématologie de Bernard Dreyfus. Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 1992 : 767-81.
- [6] Reiffers J, Perel Y, David B. Traitement des leucémies aiguës. In : Breton-Gorius J, Reyes F, Rochant H, Rosa J, Vernant JP, eds. Hématologie de Bernard Dreyfus. Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 1992 : 805-25.
- [7] Castaigne S. Recommandations pour le diagnostic et le traitement des leucémies aiguës myéloblastiques. Hématologie 2004 ; 10 : 80-96.
- [8] Imbert M, Jouault H, Tulliez M. Cytologie des leucémies aiguës. Rev Prat 1996 ; 46 : 23-9.
- [9] AML Collaborative Group, A systematic collaborative overview of randomized trials comparing idarubicin with daunorubin (or other anthracycline) as induction therapy of acute myeloid leukaemia, Br.J.Haematol. 103 (1998) 100-109
- [10] www.med.univ-angers.fr