

HEMATOLOGIE

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Constantine 3

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie



Mémoire de fin d'études
Pour l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème

**L'APPORT DE LA CYTOMETRIE EN
FLUX DANS LE DIAGNOSTIC ET LE
SUIVIE DES LEUCEMIES AIGUES**

Réalisé, soutenue par :

BOUDRA Soumia

BOUFAMMA Aya

ZAÏDI Bouchra

Encadré par :

Dr R.ZOUITEN

Année universitaire : 2016/2017

Table des Matières

| | |
|--|----------|
| Table des Matières | 1 |
| Liste des Annexes | 4 |
| Liste des Figures | 5 |
| Liste des Tableaux | 8 |
| Liste des Abréviations | 9 |
| INTRODUCTION | 1 |
| I HISTORIQUE | 2 |
| II GENERALITES SUR LES LEUCEMIES AIGUËS | 3 |
| II.1 Définition | 3 |
| II.2 La leucémogénèse..... | 3 |
| II.2.1 Organisation clonal..... | 4 |
| II.3 Diagnostic | 5 |
| II.3.1 Les circonstances de découverte..... | 5 |
| II.3.2 Diagnostic biologique..... | 5 |
| II.4 Classification | 6 |
| II.4.1 Classification des LA selon la FAB | 6 |
| II.4.2 Classification EGIL des LA | 7 |
| II.4.3 Classification OMS des LA..... | 7 |
| II.4.3.1 La classification OMS 2008 des LAM..... | 7 |
| II.4.3.2 La classification OMS 2008 des LAL..... | 8 |
| II.4.3.3 LA de lignée indéterminée | 8 |
| II.5 Traitement..... | 8 |
| II.5.1 Le traitement spécifique | 8 |
| II.5.2 Les traitements adjuvants | 8 |
| II.5.3 La greffe de moelle..... | 8 |
| II.6 Suivi des LA | 9 |

| | |
|---|-----------|
| III. CYTOMETRIE EN FLUX..... | 10 |
| III.1 Définition | 10 |
| III.2 Principe de la CMF | 10 |
| III.2.1 Système fluidique | 11 |
| III.2.2 Système optique..... | 12 |
| III.2.2.1 Les paramètres mesurés par la CMF | 13 |
| III.2.2.2 Sources lumineuses | 14 |
| III.2.2.3 Filtres et éléments optiques..... | 15 |
| III.2.2.4 Détecteurs..... | 17 |
| III.2.2.5 L'immunofluorescence..... | 17 |
| III.2.3 Système électronique..... | 21 |
| III.2.3.1 Seuil (Threshold)..... | 22 |
| III.3 Applications de la CMF | 23 |
| III.4 Avantage de la CMF | 24 |
| III.5 Limites de la CMF..... | 25 |
| IV. APPLICATION DE LA CYTOMETRIE EN FLUX DANS LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DES LEUCEMIES AIGUËS | 26 |
| IV.1 Principaux Marqueurs Cellulaires..... | 26 |
| IV.2 Diagnostic des LA par la CMF | 27 |
| IV.2.1 Les conditions pré-analytiques..... | 28 |
| IV.2.2 Démarche pratique et immunophénotypage des LA | 29 |
| IV.2.2.1 Assignation de lignée des blastes et définition des entités cliniques | 29 |
| IV.2.2.2 Détermination des sous-types des LA..... | 30 |
| IV.3 Suivi des LA par la CMF | 33 |
| IV.3.1 Détection de la maladie résiduelle..... | 33 |
| I. Présentation du laboratoire | 36 |
| II. Développement : Matériels, Principes et Méthodes | 36 |
| II.1 Matériels | 36 |
| II.1.1 Attune® NxT Acoustic Focusing Cytometer | 36 |

| | | |
|-------------|---|------------|
| II.1.1.1 | Différents systèmes du cytomètre | 38 |
| II.1.1.2 | Présentation des résultats | 43 |
| II.1.1.3 | Paramètres de l'instrument | 44 |
| II.1.2 | Instruments de laboratoire | 45 |
| II.1.3 | Réactifs | 46 |
| II.1.4 | Echantillon biologique : | 46 |
| II.2 | Méthodes..... | 47 |
| II.2.1 | Interprétation des résultats..... | 47 |
| II.2.2 | La mise en marche du cytomètre et l'immunophénotypage..... | 50 |
| II.2.2.1 | Test de performance | 50 |
| II.2.2.2 | La compensation | 53 |
| II.2.2.3 | Marquage de surface | 55 |
| II.2.2.4 | Marquage en intracytoplasmique | 55 |
| II.2.2.5 | Mesure de la concentration des cellules par la cytométrie en flux : . | 57 |
| III. | Résultats | 60 |
| III.1.1 | Résultat du test de performance (PT) | 60 |
| III.1.2 | Résultat de la compensation | 62 |
| III.1.3 | Résultat du marquage intracytoplasmique..... | 70 |
| III.1.4 | Résultat du comptage des cellules | 72 |
| III.1.5 | Etude des cas cliniques | 75 |
| III.1.5.1 | Cas N°1 | 75 |
| III.1.5.2 | Cas N°2 | 81 |
| III.1.5.3 | Cas N°3 | 86 |
| IV. | Discussion | 91 |
| V. | Conclusion | 98 |
| | Bibliographie..... | 100 |
| | ANNEXES | 104 |

RESUME :

Les leucémies aiguës sont des hémopathies malignes qui nécessitent un diagnostic et une prise en charge rapide. Avec la CMF, le diagnostic et le suivi de ces maladies est de plus en plus facile, rapide et complet. Cependant, cet intérêt ne peut être achevé qu'après l'établissement de nombreuses études techniques et cliniques assurant les données obtenues par le cytomètre. C'est dans cette mesure que nous avons fixé nos objectifs de cette étude.

A la suite de notre travail, grâce aux systèmes développés et sophistiqués d'Attune® NxT Acoustic Focusing Cytometer et après la réalisation d'une série d'étude et d'optimisation de ce cytomètre, on a pu prouver le rôle crucial de la cytométrie en flux qu'elle joue dans l'immunophénotypage des cellules.

Cette technique quantitative et qualitative a pu établir un diagnostic rapide dans lequel elle a permis d'identifier la lignée en cause, de confirmer les résultats obtenus par l'analyse cytologique des LAM. Elle est considérée comme la seule méthode qui permet la mise en évidence des profils immunophénotypiques associés aux leucémies ce qui facilite la quantification et le suivi des maladies résiduelles et par la suite la détermination du pronostic vital du patient, une chose qu'on n'a pas pu réaliser à cause du manque des cas et des moyens, sans oublier l'évolution rapide de cette maladie.

La CMF représente donc un examen essentiel pour le diagnostic et le suivi des différentes classes des leucémies aiguës.

Mots clés : Cytométrie en flux, leucémie aiguë, immunophénotypage, Attune® NxT Acoustic Focusing Cytometer, Diagnostique et suivi des LA.

ABSTRACT:

Acute leukemias are malignant hemopathies that require a quick diagnosis and management. With flow cytometry, the diagnosis and monitoring of these diseases are increasingly easy, fast and complete. However, this interest can only be achieved after the establishment of numerous **technical** and clinical studies insuring the data obtained by the cytometer. To this extent, we have set our objectives for this study.

As a result of our work, thanks to developed systems and sophisticated Acoustic Focusing Cytometer Attune® NxT and after realisation of a serie of study and optimization of this cytometer, it was possible to prove the crucial role of flow cytometry that it plays in the immunophenotyping of the cells.

This quantitative and qualitative technique was able to establish a quick diagnosis in which it allowed to identify the causing lineage, to confirm the results obtained by the cytological analysis of acute myeloid leukemia. It is considered as the only method that allows the clarification of the immunophenotypic profiles associated with the leukemias, which facilitates the quantification and the monitoring of the residual diseases and subsequently the determination of the vital prognosis of the patient, one thing that could not be realized because of the lack of cases and means, never forget the quick evolution of this disease.

The CMF, thus, represents an essential examination for the diagnosis and monitoring of the different classes of acute leukemias.

Keywords: flow cytometry, acute leukemia, immunophenotyping, Attune® NxT Acoustic Focusing Cytometer, diagnosis and monitoring of acute leukemias.