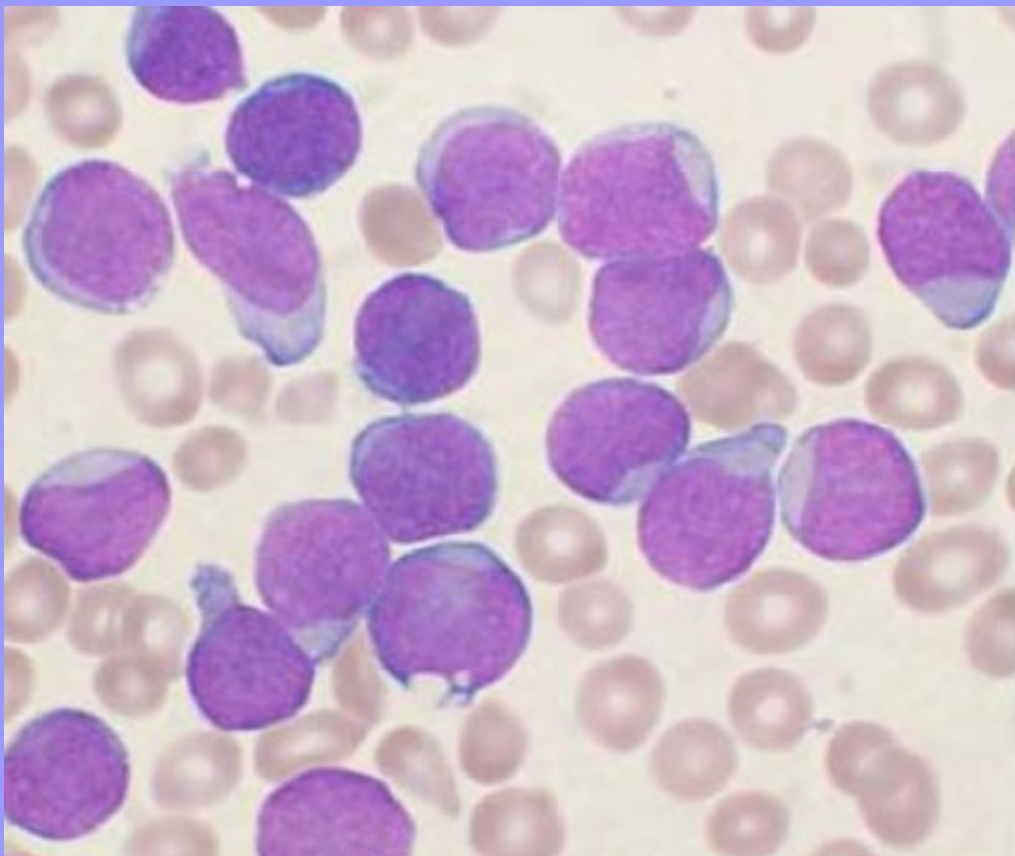


# Hématologie

## Hémopathies

Livret 2 d'activités technologiques



Chantal Muller (Professeur - Lycée La Martinière Duchère - LYON )

## Remerciements

*Mes remerciements vont à tous ceux qui ont permis la réalisation de cet ouvrage, en particulier mes collègues, professeurs au lycée La Martinière Duchère de Lyon avec qui j'ai travaillé avec énormément de plaisir en hématologie :*

*Marie Claude Peyrot, qui m'a aidé à débiter cet enseignement,*

*Caroline Platroz et Stéphanie Darmochod, qui m'ont aidé à améliorer efficacement ces fiches techniques et qui ont relu l'ensemble des livrets.*

*Un remerciement particulier à Christiane Robin, technicienne de laboratoire au lycée La Martinière Duchère de Lyon, qui a contribué avec compétence et gentillesse à la mise au point de techniques.*

*Des remerciements aussi pour Gilles et Sangeetha Muller qui m'ont aidé pour la mise en page.*

Mes remerciements vont aussi à Madame Treille-Ritouet , maître de conférence et praticien hospitalier de l'hôpital Édouard Herriot de Lyon qui m'a également aidé par ses conseils et son cours concernant les leucémies aiguës et les syndromes myélodysplasiques,

Les Biologistes du laboratoire d'hématologie du Centre de Biologie Nord de Lyon ainsi que Mme Bizeul, technicienne cytologiste qui ont relu et corrigé ce livret.

*La majorité des photographies des cellules sanguines et médullaires présentes dans les livrets 1 et 2 ont été reproduites avec l'aimable autorisation des responsables du site <http://med2.univ-angers.fr> .*

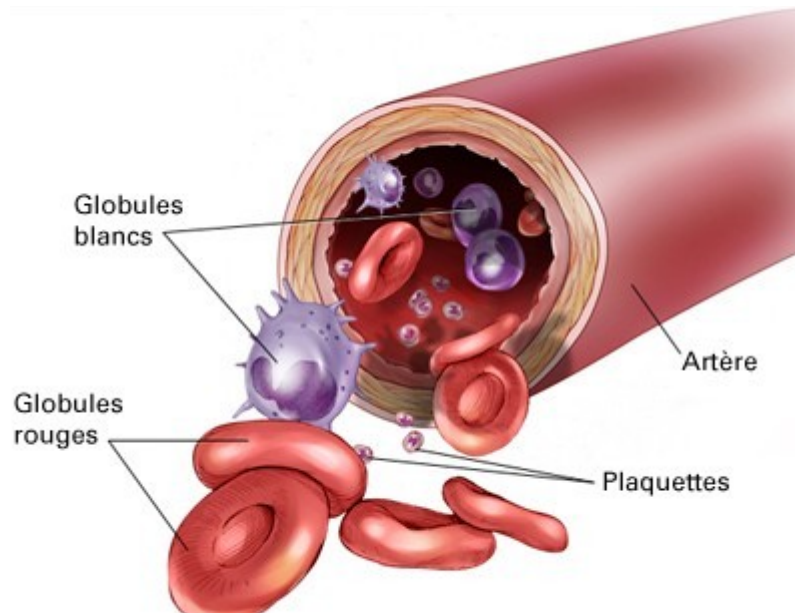
## Avant-propos

Ce livret 2 d'activités technologiques s'adresse aux étudiants de deuxième année de section de technicien supérieur d'analyses de biologie médicale (B2ABM).

Il correspond au module 2 des activités technologiques d'hématologie du référentiel 2008 du brevet de technicien supérieur d'analyses de biologie médicale. Il sera complété par l'étude en classe d'hémodiagramme et des frottis sanguin et/ou médullaires correspondants.

Ce livret 2 fait partie de quatre livrets relatifs aux enseignements technologiques d'hématologie de la section technicien supérieur d'analyses de biologie médicale.

- ✓ Livret 1 – Cellules normales du sang et de la moelle rouge des os
- ✓ Livret 2 – Hémopathies
- ✓ Livret 3 – Hémostase
- ✓ Livret 4 – Immuno-hématologie



AOÛT/2015

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	<b>6</b>
<b>Chapitre 1 – Anémies</b> .....	<b>7</b>
Fiche 1 – Exploration du métabolisme du fer .....	11
Fiche 2 – Anémies microcytaires.....	23
Fiche 3 – Anémies régénératives.....	27
<i>Documents : Étude de l'hémoglobine</i> .....	32
Fiche 4 – Anémies mégaloblastiques.....	35
<b>Chapitre 2 – Hyperleucocytoses bénignes et transitoires</b> .....	<b>41</b>
Fiche 1 – Neutrophilie.....	42
Fiche 2 – Éosinophilie.....	45
Fiche 3 – Lymphocytoses réactionnelles.....	47
<i>Documents : Sérodiagnostic de la mononucléose infectieuse</i> .....	51
<b>Chapitre 3 – Syndromes myéloprolifératifs chroniques</b> .....	<b>55</b>
Fiche 1 – Leucémie myéloïde chronique.....	57
Fiche 2 – Splénomégalie myéloïde.....	63
Fiche 3 – Thrombocytémie essentielle.....	65
<b>Chapitre 4 – Syndromes lymphoprolifératifs</b> .....	<b>67</b>
Fiche 1 – Leucémie lymphoïde chronique.....	69
Fiche 2 – Myélome multiple ou maladie de Kahler.....	71
Fiche 3 – Macroglobulinémie de Waldenström.....	75
Fiche 4 – Dysglobulinémies monoclonales.....	77
<b>Chapitre 5 – Leucémies aiguës</b> .....	<b>85</b>
Fiche 1 – Hémogramme caractéristique.....	91
Fiche 2 – Myélogramme caractéristique.....	97
Fiche 3 – Leucémies aiguës myéloblastiques.....	99
Fiche 4 – Leucémies aiguës lymphoblastiques.....	105
<i>Quelques pathologies à ne pas confondre</i> .....	107
<b>Chapitre 6 – Syndromes myélodysplasiques</b> .....	<b>109</b>
Fiche – Diagnostic biologique.....	113
<b>Chapitre 7 – Aplasies médullaires</b> .....	<b>117</b>
Fiche – Diagnostic biologique.....	118
<b>Études de diverses hémopathies à partir d'hémogrammes</b> .....	<b>119</b>

# Hémopathies

## PRÉREQUIS :

- Morphologie, physiologie des cellules normales du sang et de la moelle (cours théoriques de 1ère année)
- Hémopathies (cours théoriques de 2ème année)
- Métabolisme du fer (cours théoriques de 1ère année)
- Hémogramme et myélogramme normaux (livret 1)
- Anomalies érythrocytaires (livret 1)
- Correction de la leucocytose lors d'érythroblastose (livret 1)
- Intervalles de référence (livret 1)

## OBJECTIFS :

- Savoir interpréter un hémogramme anormal en tenant compte des signes cliniques, de l'âge du patient...
- Savoir reconnaître des cellules anormales
- Proposer des examens complémentaires

# Introduction

**Les hémopathies sont des pathologies qui affectent les cellules et les protéines sanguines.**

Elles peuvent être d'origine génétique ou, plus fréquemment, acquises.

Les anomalies peuvent être :

- quantitatives (défaut ou excès de production)
- qualitatives ou fonctionnelles
- dues à une durée de vie raccourcie (destruction ou consommation rapide ou excessive).

**Deux grands types d'hémopathies :**

- **Hémopathies bénignes** (cf. chapitre 1, 2 et 7)
- **Hémopathies malignes** (cf. chapitre 3, 4, 5, 6 et 7)

Les hémopathies malignes constituent l'ensemble des **proliférations tumorales des cellules** (progéniteurs, précurseurs, cellules matures) d'une lignée à partir d'une cellule souche mutée : **maladies clonales.**

Plusieurs classifications d'hémopathies malignes

– selon la capacité de différenciation et de maturation :

- x **Syndromes prolifératifs** : prolifération et persistance de maturation
- x **Syndromes aigus** : prolifération et blocage de maturation

– selon la lignée :

- x **Hémopathies myéloïdes** (chroniques) **ou myéloblastiques** (aiguës) : prolifération cellules d'une ou plusieurs lignées granulocytaires, monocytaires, érythrocytaires, thrombocytaires
- x **Hémopathies lymphoïdes** (chroniques) **ou lymphoblastiques** (aiguës) : prolifération cellules lignée lymphoïde

– selon la localisation primaire et principale de la prolifération :

- x **Leucémies** : moelle osseuse et sang
- x **Myélomes** : moelle osseuse
- x **Lymphomes** : organes lymphoïdes secondaires.

# - Chapitre 1 -

## Anémies

### Généralités

**Définition** : l'anémie est définie par la diminution de la masse totale d'hémoglobine intra-érythrocytaire fonctionnelle circulante.

*(Cette définition permet d'éliminer les fausses anémies par hémodilution ou hémococoncentration)*

### 1 - Diagnostic de l'anémie

Il repose généralement, uniquement sur le dosage de l'hémoglobine.

[Hb] < .....

[Hb] < .....

*Vérifier l'absence de signes  
d'hémodilution ou  
hémococoncentration*

Parallèlement on peut observer de façon non systématique, une érythropénie et un abaissement de l'hématocrite.

L'anémie est alors caractérisée par le VGM et la TCMH :

Caractérisation de l'anémie	TCMH < 27 pg	TCMH > 27 pg
VGM < 80 fL		
80 < VGM < 100 fL		
VGM > 100 fL		

*Remarque* : Les nombres de leucocytes et des plaquettes sont normaux voire légèrement augmentés.

## 2 - Classification

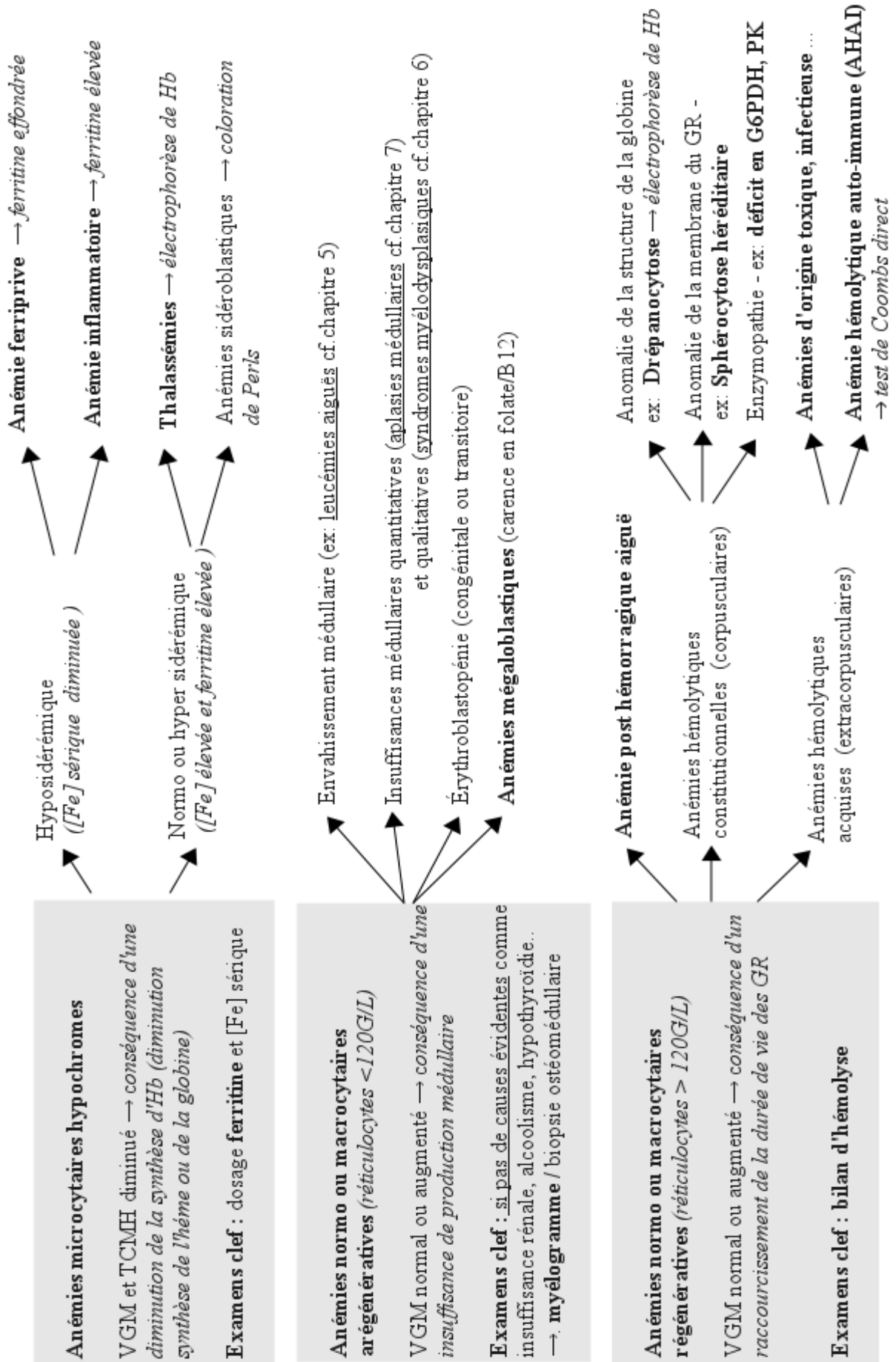
<p><b>Anémies périphériques</b> (généralement régénératives : réticulocytes &gt; 120 G/L) <i>présence de signes de régénération sur frottis sanguin coloré au MGG : macrocytes, GR polychromatophiles et ± érythroblastes</i></p>	<p><b>Anémies centrales</b> (arégénératives : réticulocytes &lt; 120 G/L)</p>
<p><b>1 - Post-hémorragie aiguë</b></p>	<p><b>1 – Insuffisance quantitative</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Aplasie</li> <li>- Envahissement médullaire</li> </ul>
<p><b>2 – Hyperhémolyse : anémies hémolytiques</b></p> <div style="border: 2px solid magenta; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p><b>Origine corpusculaire (constitutionnel en général)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>anomalie de la membrane</u> (ex: <i>Sphérocytose héréditaire</i>)</li> <li>- <u>anomalie enzymatique : enzymopathie</u> (ex: <i>déficit en G6PD, PK</i>)</li> <li>- <u>anomalie qualitative de Hb</u> (ex: <i>Drépanocytose</i> → chaîne β de structure anormale βs)</li> <li>- <u>anomalie quantitative de Hb</u> (ex: <i>Thalassémies</i>)</li> </ul> <p><b>Attention :</b> pour les β-Thalassémies majeures, la régénération érythroblastique n'est assez efficace → <i>anémie arégénérative</i>.</p> </div> <div style="border: 2px solid magenta; padding: 5px;"> <p><b>Origine extracorporelle (acquis)</b></p> <p>→ <b>normocytes normochromes</b> dues à des :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>toxiques</u> (toxines, médicaments, ...)</li> <li>- <u>parasites</u> (ex: <i>plasmodium</i>) ou des <u>agents infectieux</u> (ex: septicémie à <i>Clostridium perfringens</i>)</li> <li>- <u>agressions mécaniques</u> (ex: valves cardiaques)</li> <li>- <u>agressions immunologiques</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>allo-Ac</i> → ex: <i>transfusion incompatible, MHNN</i></li> <li>▪ <i>auto-Ac</i> → <i>anémie hémolytique auto-immune (AHAI)</i></li> </ul> </li> </ul> </div>	<p><b>2 – Anomalies qualitatives</b></p> <div style="border: 2px solid purple; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p><b>Anomalies de synthèse de l'ADN</b></p> <p>→ <b>macrocytes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- primitive</li> <li>- acquise : carence en folates /B12</li> </ul> <p>→ <i>anémie mégaloblastique</i></p> </div> <div style="border: 2px solid purple; padding: 5px;"> <p><b>Anomalie de synthèse de l'Hb</b></p> <p>→ <b>microcytes</b> et présence de codocytes</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>carence en fer</u> :→ <i>anémie ferriprive</i></li> <li>- <u>trouble de l'utilisation du fer</u> → <i>anémie inflammatoire ; anémies sidéroblastiques<sup>1</sup>, intoxication au plomb<sup>2</sup> (saturnisme)...</i></li> </ul> </div> <p><small><sup>1,2</sup></small></p>
<p><b>3 - Réparation d'un défaut d'érythropoïèse</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- correction de carence, arrêt de toxique (alcool...)</li> <li>- levée d'inflammation</li> </ul>	<p><b>3 – Causes diverses</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- insuffisance rénale</li> <li>- endocrinopathie (ex: <i>hypothyroïdie</i>)</li> </ul>

**1Anémies sidéroblastiques :** Groupe hétérogène d'anémies avec présence de dépôts de fer dans les mitochondries des érythroblastes (production insuffisante d'hème). Les dépôts de fer donnent un aspect de sidéroblastes en couronnes, après coloration de Perls. - ex : *syndromes myélodysplasiques...*

**2L'intoxication au Pb** provoque une inhibition de l'incorporation du fer dans l'hème, l'anémie est alors parfois sidéroblastique.



**Diagramme décisionnel**



Dans ce chapitre 1 seront étudiés :

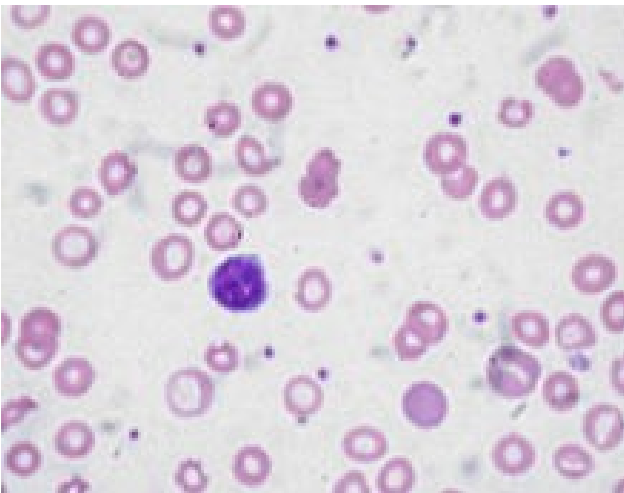
**Fiche 1 : Exploration du métabolisme du fer**

**Fiche 2 : Anémies microcytaires**

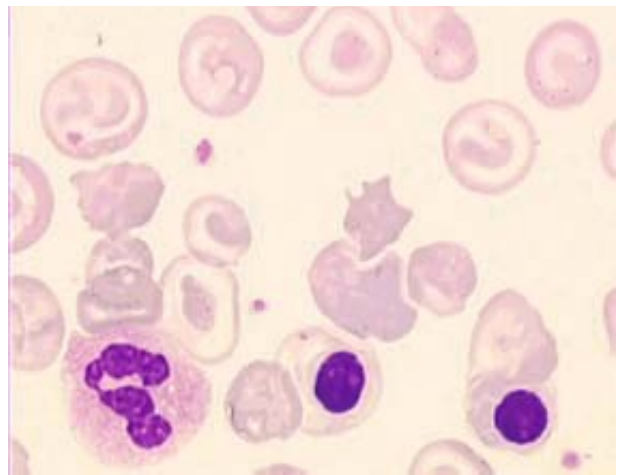
**Fiche 3 : Anémies régénératives**

**Fiche 4 : Anémies mégaloblastiques**

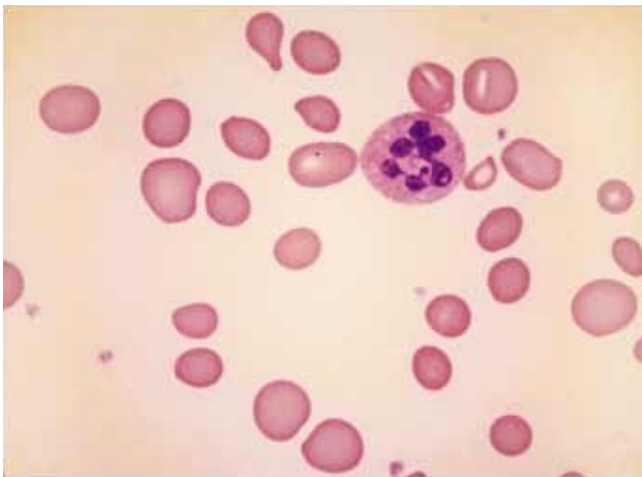
Ci-dessous des photographies de frottis sanguins colorés au MGG de patients anémiés :



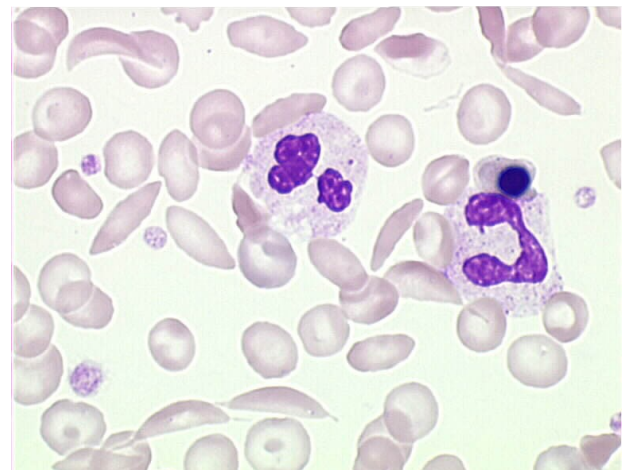
*Anémie ferriprive - anémie arégénérative.*



*β-Thalassémie majeure (Maladie de Cooley) - anémie hémolytique très peu ou non régénérative.*



*Anémie mégaloblastique – anémie non régénérative*



*Drépanocytose – anémie hémolytique régénérative*

## Chapitre 1 – Fiche 1

# Exploration du métabolisme du fer

## 1 - Dosage du fer sérique

### 1.1 - Forme du fer sérique et intérêt du dosage

Le dosage du fer sérique donne un **aperçu instantané de l'équilibre entre absorption, utilisation et élimination du fer.**

**Il reflète le fer disponible pour la synthèse de l'hémoglobine : c'est un examen de base, couramment effectué.**

Chez le sujet normal, le fer circulant sous une autre forme que l'hémoglobine est presque exclusivement du fer lié à la transferrine.

Par contre, à l'état pathologique, on peut trouver aussi du fer d'origine hémoglobinique (hémolyse), du fer lié à la ferritine en quantité élevée (nécrose hépatique, surcharge), une forme atypique de fer non liée à la transferrine (hémochromatose) ou du fer chélaté.

### 1.2 - Prélèvement

Il doit être réalisé sur tube sec (les anticoagulants peuvent entraîner des interférences), entre 8 h et 10 h du matin. Le dosage s'effectue sur le sérum non hémolysé.

N.B. Le fer sérique présente en effet d'importantes variations nyctémérales : maximal à midi, minimal à minuit, avec une amplitude de 30 à 40 % en moyenne.

### 1.3 - Technique de dosage (cf. TP de biochimie)

Méthode manuelle de référence :

- dissociation du complexe fer-protéine contenu dans le sérum par l'action d'un acide suivie d'une centrifugation - qui permet d'éliminer les substances interférentes (bilirubine, hémoglobine, médicaments, cuivre)
- réduction du fer libéré  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  par un agent réducteur (ex : acide ascorbique)
- dosage colorimétrique de  $Fe^{2+}$  après réaction avec un réactif spécifique pour former un complexe ayant un spectre d'absorption caractéristique.

### 1.4 - Résultats et interprétations

**Intervalles de référence** : cf tableau annexe

**L'interprétation** des résultats est **impossible si le dosage est effectué isolément**, (en raison des variations nyctémérales déjà évoquées et du fait que le fer sérique peut être abaissé dans des circonstances qui n'ont rien à voir avec le métabolisme du fer -inflammation, infection, chirurgie, etc.-), son dosage doit être accompagné d'autres explorations (dosage de la transferrine, de la ferritine...).

## 2 - Dosage de la transferrine, capacité totale de saturation (CTST) et du coefficient de saturation (CST)

### 2.1 - Propriétés de la transferrine et intérêt du dosage

**La transferrine ou sidérophiline** est une glycoprotéine ( $\beta$  globuline synthétisée par le foie ) assurant :

- le transport du fer depuis les entérocytes intestinaux jusqu'aux érythroblastes médullaires
- la récupération du fer après destruction des érythrocytes par le système macrophagique.

**La synthèse de la transferrine augmente lorsque les réserves en fer diminuent**, et ceci bien avant l'apparition de l'anémie .

Par conséquent **la concentration de la transferrine est inversement corrélée à l'état des réserves**



**Chaque molécule de transferrine possède deux sites de fixation du fer.**

**La capacité totale de saturation en fer de la transferrine (CTST)** correspond au nombre de  $\mu\text{mol}$  de fer pouvant saturer totalement la transferrine contenu dans 1 L de plasma.

**CTST est aussi inversement corrélée à l'état des réserves.**

**Le coefficient de saturation en fer de la transferrine (CST)** correspond au pourcentage de sites ayant fixé le fer.

Dans les conditions normales 1/3 des sites de fixation sont occupés  $\rightarrow$  le taux normal de saturation de la transferrine est de :  $\text{CTST}=33\%$ .

**CST est plutôt un bon indicateur du transport du fer et de sa livraison aux tissus médullaire et hépatique.**

Toute diminution de ce coefficient au dessous de 15 % traduit une diminution de la livraison du fer à l'érythropoïèse.

A l'opposé, toute augmentation de ce coefficient au delà de 55 % témoigne d'un danger de surcharge tissulaire en fer du type hémochromatose.

### 2.2 - Prélèvement

Le sang est recueilli sur tube sec, le dosage s'effectue sur le sérum

ou parfois recueilli du héparinate de lithium, le dosage s'effectue sur le plasma.

### 2.3 - Techniques de dosage de la transferrine

Le dosage préconisé pour la transferrine est un dosage immunochimique direct par immunoprécipitation en veine liquide (immuno-néphélométrie, immuno-turbidimétrie).

*Ex : test immunoturbidimétrique*

*La transferrine humaine forme un précipité en présence d'un antisérum spécifique ; ce précipité est mesuré par turbidimétrie.*

Le résultat s'exprime en g/L de transferrine sérique ou plasmatique.

## 2.4 - Calcul de la CTST et du CST

### Capacité totale de saturation en fer de la transferrine (CTS)

Soit [Tf g/L] la concentration plasmatique de la transferrine,

Sachant que 1 mol de Tf est saturée totalement par 2 mol de fer (MMTf : 80 000 g/mol)

Donc 80 000 g de Tf sont saturées totalement par 2 mol de fer ou  $2 \times 10^6$   $\mu\text{mol}$  de fer

[Tf g/L] sont saturées totalement par CTS ( $\mu\text{mol fer/L}$ ) = .....

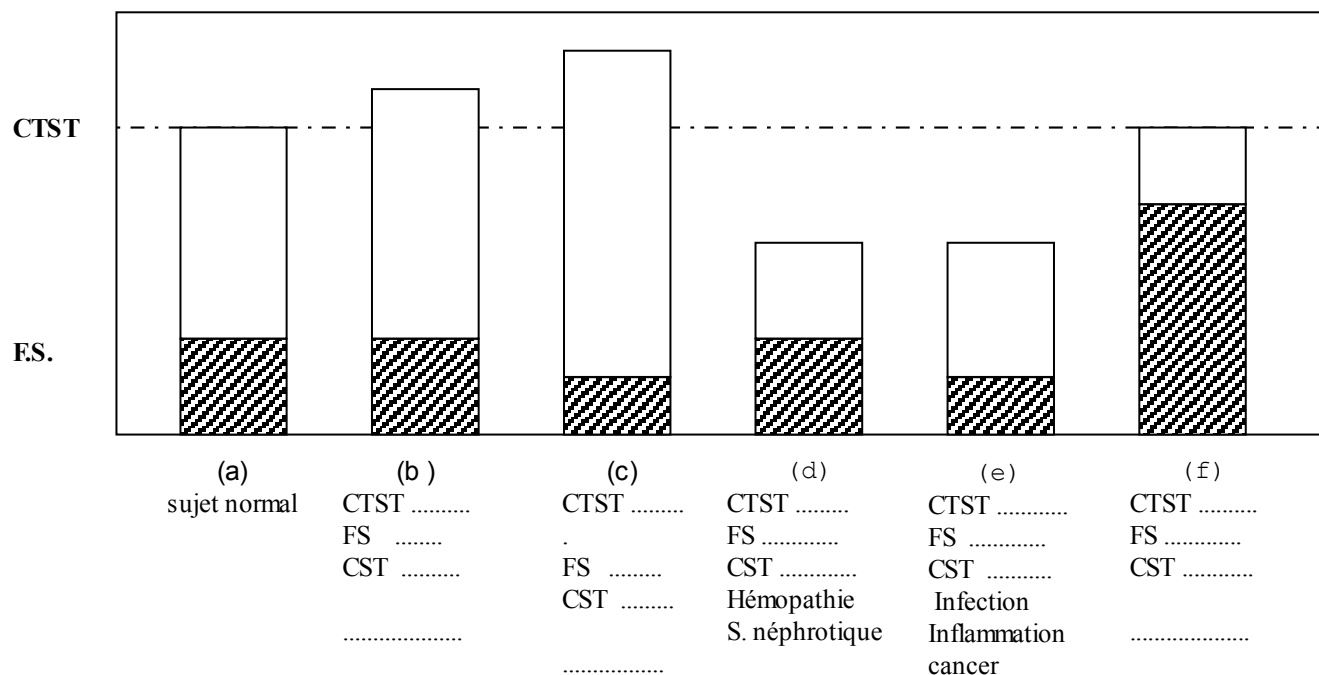
$$\text{CTS } (\mu\text{mol/L}) = [\text{Tf g/L}] \times 25$$

**Coefficient de saturation en fer de la transferrine (CS) :**  $\text{CS } (\%) = \frac{[\text{Fer sérique}] \times 100}{\text{CTST}}$

## 2.5 - Résultats et interprétations

Intervalles de référence : cf. tableau annexe page 19

### Interprétations



## 3 - Dosage de la ferritine plasmatique

### 3.1 - Propriétés de la ferritine et intérêt de son dosage

La ferritine est par excellence la protéine de mise en réserve du fer avec disponibilité permanente adaptée aux besoins, au contraire de l'hémossidérine, plus chargée en fer mais moins soluble, et qui représente une forme stable de stockage, ne se mobilisant qu'à long terme.

La **ferritine plasmatique** est essentiellement de l'**apoferritine** (sans fer), **cependant sa concentration est un excellent reflet des réserves de fer de l'organisme.**

Le résultat de son dosage est l'indicateur le plus sensible et le plus précoce d'une carence martiale. Il permet aussi de juger de la restauration des réserves en fer.

### 3.2 - Prélèvement

Plasma recueilli sur héparinate de lithium, EDTA

### 3.3 - Technique de dosage

- méthodes immunoenzymologiques à la peroxydase ou à la phosphatase alcaline,
- ou bien méthode fluoroenzymo-immunométrique.

### 3.4 - Intervalles de référence et interprétations

**Intervalles de référence** : cf. tableau annexe

#### Interprétations

- Concentration diminuée dans les carences martiales mêmes précoces,
- Concentration augmentée dans les lyses cellulaires importantes (infarctus, hépatites aiguës, syndrome myéloprolifératif), les syndromes inflammatoires, les affections malignes, dans les surcharges martiales, hémochromatoses<sup>3</sup>)

*Remarque* : Chez l'enfant (grande lenteur de la mobilisation du fer de réserve) et les personnes âgées (présentes souvent des phénomènes inflammatoires), la ferritine est un mauvais marqueur de carence.

## 4 - Autres dosages peu réalisés

**Dosage de la ferritine érythrocytaire** (dosage immuno-enzymologique sur des hématies hémolysées)

Le taux reflète l'équilibre entre les entrées de fer dans la moelle érythropoïétique et les sorties, c'est à dire la synthèse de l'hémoglobine.

Toute augmentation des entrées non justifiée par des besoins accrus (hémochromatose) ou toute utilisation défailante (hémoglobinoopathies) sans restriction des apports, ont pour conséquence une augmentation de la concentration érythroblastique (et donc érythrocytaire) en ferritine.

Intérêt du dosage : dans le diagnostic et le suivi des surcharges en fer.

**Dosage des récepteurs solubles de la transferrine RTfs** (dosage immuno-enzymologique)

Le récepteur membranaire présent sur érythroblastes subit un clivage progressif pendant la maturation de l'érythroblaste et devient récepteur soluble plasmatique.

Par conséquent : Son taux est fonction de la richesse en récepteur membranaires et donc des besoins en fer et de la disponibilité des réserves.

Intérêt du dosage : RTfs est un témoin sensible et très précoce des carences en fer. Sa concentration n'est pas modifiée en cas d'inflammation contrairement à la ferritine.

<sup>3</sup> L'hémochromatose est une maladie de surcharge en fer génétiquement déterminée

## 5 - Coloration de Perls

### 5.1 - But de la technique

La coloration de Perls met en évidence les complexes cellulaires insolubles contenant du fer : hémossidérine, granules de Pappenheimer (fines granules riches en fer) = mitochondries surchargées en fer.

La ferritine et l'hémoglobine ne sont pas révélés par cette méthode.

Cette technique permet d'apprécier :

- le fer de réserve dans les macrophages
- le fer insoluble présent éventuellement dans les érythroblastes (appelés alors sidéroblastes) et dans les hématies (appelées alors sidérocytes). La présence de très nombreux grains de fer insoluble dans les érythroblastes montre une difficulté cellulaire pour incorporer le fer dans l'hème.

### 5.2 - Principe

Le fer de réserve, sous forme d'hémossidérine, est libéré de la partie protéique par un milieu acide. Les ions ferriques réagissent avec un réactif contenant de l'hexacyanoferrate II de potassium (anciennement appelé ferrocyanure de potassium) pour donner un précipité coloré appelé Bleu de Prusse (hexacyanoferrate II de fer III) visible sous forme de grains bleu turquoise dans le cytoplasme des érythroblastes (sidéroblastes I : 1 à 2 grains, sidéroblastes II : couronne de grains), des érythrocytes (sidérocytes) et des macrophages.

### 5.3 - Technique

- Frottis de sang ou de moelle séchés à l'air
- Fixer 10 minutes avec du méthanol absolu, puis sécher à l'air sans rincer.
- Recouvrir les lames ou les immerger dans un mélange préparé extemporanément : 10 mL HCl 1 mol/L, 40 mL eau distillée, 50 mL solution de ferrocyanure de potassium à 2%. Incuber le flacon avec couvercle posé, non fermé, 20 minutes à 37°C
- Rincer à l'eau courante puis sécher à l'air
- Colorer éventuellement les noyaux avec de l'éosine diluée ou de l'hématoxyline (quelques minutes maximum), ou 20 minutes avec une solution de nuclear fast red ( 5 g sulfate d'alumine et 100 mL d'eau distillée; après dissolution ajouter 0.2 g de nuclear fast red)
- Rincer à l'eau distillée et sécher à l'air. La coloration résiste à l'huile à immersion et aux solvants des résines de montage.

*NB: toujours mettre dans le bain de coloration une lame témoin « positive » .*

## 5.4 - Résultats et interprétation

Les granulations ferriques apparaissent en bleu-vert (Bleu de Prusse), les noyaux rouges sur fond rose

- Observation à faible grossissement (X10) au niveau de grumeaux de moelle dans régions bien étalées des frottis: pour apprécier le fer des « réserves », dans les macrophages.

- Observation à fort grossissement ( X100) : pour apprécier le fer dans les érythroblastes (et dans les hématies éventuellement)

Fer de réserve ou fer macrophagique (mis en évidence sur des grumeaux de moelle osseuse)

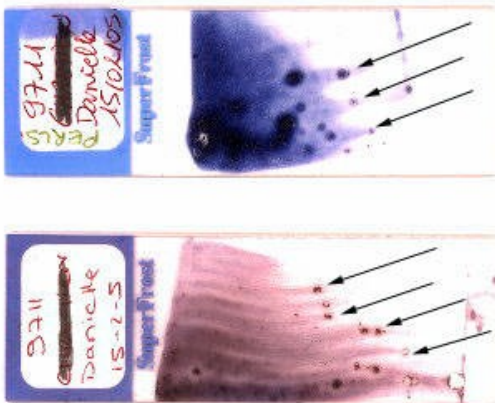


Fig 1: Grumeaux de moelle sur frottis coloré au MGG (en bas) et Perls (en haut).

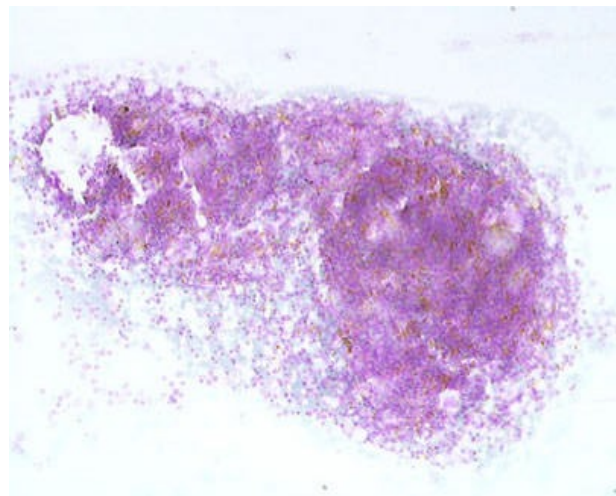


Fig 2: Grumeau de moelle au grossissement moyen : fer en quantité normale.

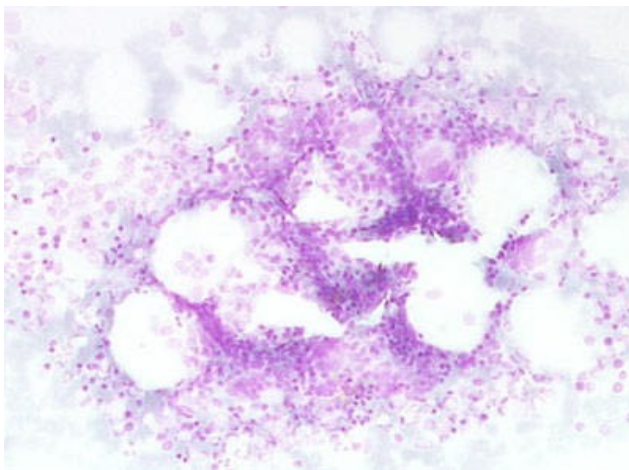


Fig 3: Grumeau de moelle au grossissement intermédiaire : absence de fer (pas de coloration bleu-verte).

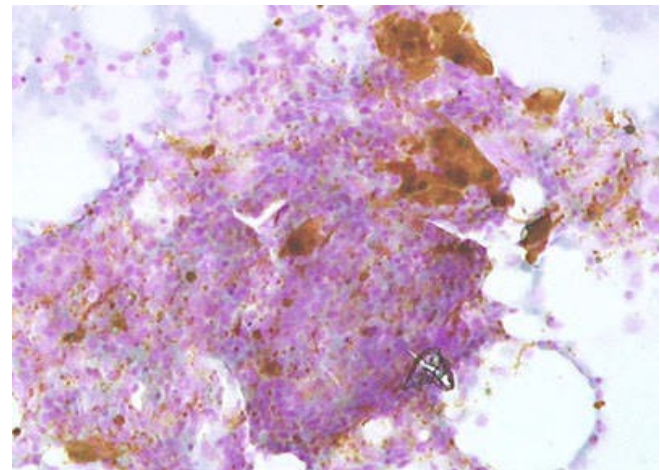


Fig 4: Grumeau de moelle au grossissement moyen : fer en quantité très augmentée ; les macrophages sont très riches en fer.

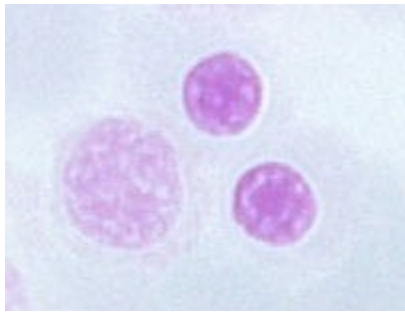
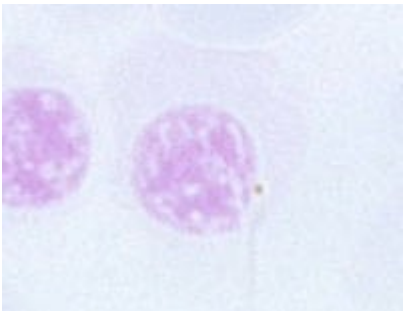
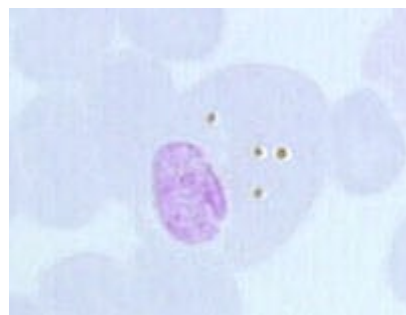
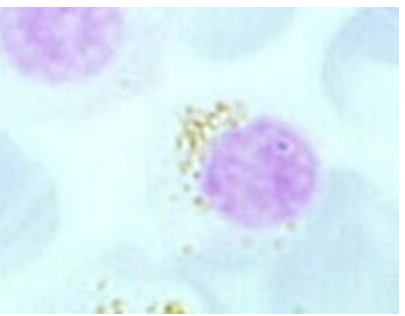
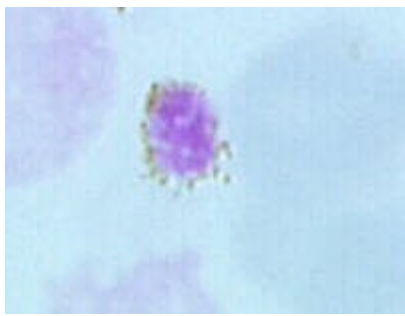



Pour le décompte : on regarde chaque érythroblaste , et on compte le nombre de grains bleu-vert ; 100 érythroblastes sont dénombrés comme suit :

	Intervalles de référence
Érythroblastes sans grain bleu -vert	60 – 90 %
Érythroblastes (sidéroblastes) avec 1-3 grains* (sidéroblaste type I)	10 – 40 %
Érythroblastes (sidéroblastes) avec > 3 grains* (sidéroblaste type II)	0
Érythroblastes (sidéroblastes) en couronne	0

La présence éventuelle de sidérocytes (hématies avec granulations ferriques) est mentionnée.

Coloration de Perls : quelques exemples d'érythroblastes et de sidéroblastes

		
3 érythroblastes sans granule de fer	Érythroblaste avec 1 granule de fer (sidéroblaste type I)	Érythroblaste avec plus de 3 granules de fer (sidéroblaste type II)
		
Érythroblaste avec nombreux granules de fer qui s'organisent +/- près du noyau (sidéroblaste type II presque en couronne)	Sidéroblaste « en couronne »	Sidérocyte (hématie contenant des grains de fer) -

## 5.5 - Interprétation générale des résultats

### Problèmes de lecture :

- Les précipités de colorant ne doivent pas être interprétés comme du fer macrophagique (formes polyédriques et non arrondies)
- Les érythroblastes sans grains sont plus difficiles à repérer, surtout les plus immatures
- Les lymphocytes ne doivent pas être confondus avec les érythroblastes matures
- Le sidéroblaste en « couronne » n'est pas toujours aisé à définir, surtout qu'il y a souvent association à un excès de sidéroblastes à plus de 3 grains.

**A l'état normal**, le nombre de sidérocytes est très faible dans la moelle et ils sont absents du sang, les sidéroblastes présents (10 à 40 %) sont de type I.

**Anémies inflammatoires** : fer macrophagique normal ou augmenté, et peu ou pas de sidéroblastes.

**Anémie par carence martiale** : absence de fer dans les macrophages et dans les érythroblastes.

### **Anémies sidéroblastiques primitives ou secondaires** :

(cf. syndromes myélodysplasiques – Chapitre 6 - ) présence d'un nombre variable de sidéroblastes en couronne (au moins 15% pour évoquer une Anémie Réfractaire Sidéroblastique Idiopathique ou ARSI).

**Anémies en pathologie générale** : toutes les dysérythropoïèses (sauf la carence martiale) peuvent s'accompagner d'une petite augmentation du nombre de sidéroblastes avec > 3 grains, sans apparition de couronnes.

N.B. De nombreux médicaments entraînent une dysérythropoïèse (pas uniquement les chimiothérapies) avec excès de sidéroblastes > 3 grains

Le fer macrophagique est augmenté dans les thalassémies, toutes les grandes dysérythropoïèses, les syndromes myélodysplasiques...(en général en parallèle de la ferritinémie).

**Tableau annexe :**

**Intervalles de référence des indicateurs du métabolisme du fer et leur variations lors de certaines anémies.**

		Intervalles de références	Anémie ferriprive	Anémie inflammatoire	Anémie hypersidérémique (Thalassémies, An.sidéroblastique)
<b>SANG</b>	<b>- fer sérique</b> (fer par colorimétrie) reflète le fer disponible	H : 10 à 30 µmol/L F: 8 à 25 µmol/L	↓	N ou ↓	N ou ↑
	<b>- ferritine sérique</b> (dosage immunoenzymatique) reflète les réserves en fer	H : 30 à 300 µg/L F : 20 à 200 µg/L	↓	N ou ↑	N ou ↑
	<b>Transferrine sérique</b>  - capacité totale de saturation en fer de la transferrine (CTST)  - coefficient de saturation en fer de la transferrine (CST)	2.5 à 3.8 g/L  60 à 95 µmol/L  H : 20 à 40 % F : 15 à 35 %	↑  ↑  ↓	↓  ↓  ?	N ou ↓  N ou ↓  ↑
<b>PERLS sur MOELLE OSSEUSE</b>	<b>- fer dans les sidéroblastes</b> reflète le fer non utilisé pour la synthèse de Hb	10 à 40 % sidéroblastes type I	↓	N	↑
	<b>- fer extra-érythroblastique</b> reflète les réserves en fer dans les macrophages	N	↓	↑	↑

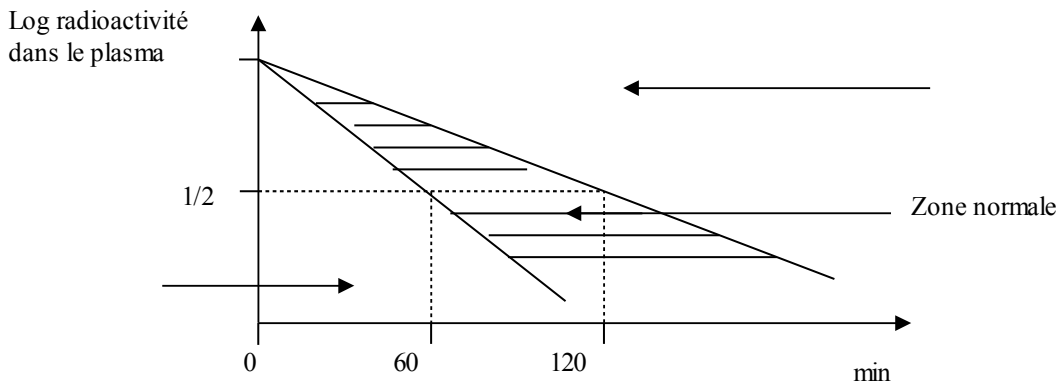
## 6 - Exploration isotopique du métabolisme du fer

**Intérêt :** Étude de l'importance et de l'efficacité de l'érythropoïèse ainsi que de sa localisation.

**Principe :** le cycle du fer est exploré en suivant l'évolution de la radioactivité plasmatique et globulaire après injection de fer radioactif lié à la transferrine ( $^{59}\text{Fe}$ ).

L'exploration est complétée par des comptages externes.

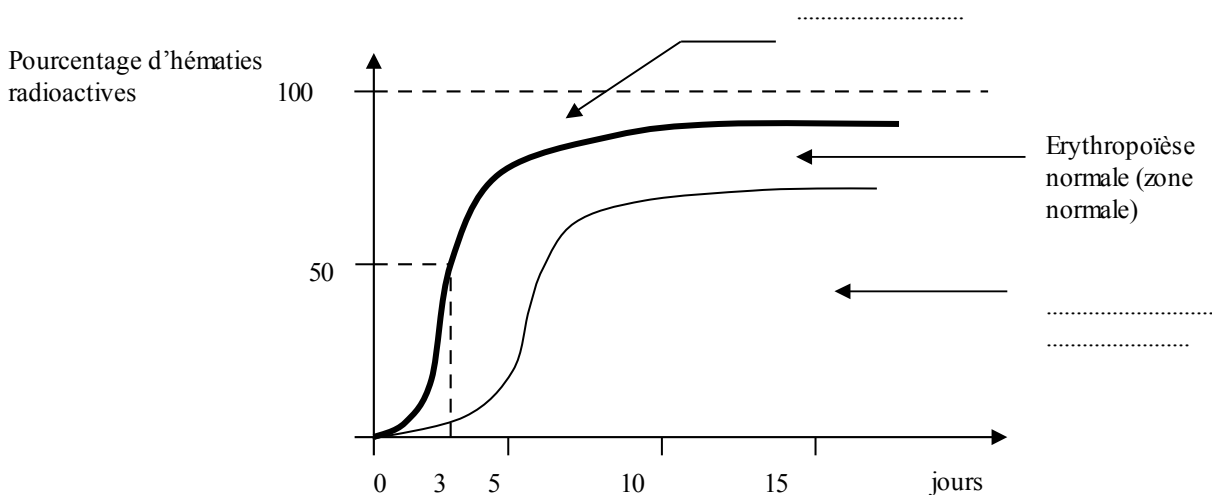
- ❶ Une dose traceuse de fer  $^{59}\text{Fe}$  lié à la transferrine est injectée par voie intraveineuse
- ❷ Dans les 1ères heures qui suivent l'injection, on mesure la radioactivité dans le plasma en fonction du temps : on détermine ensuite le temps de demi-disparition de la radioactivité injectée.



Interprétation : .....

Conclusion : ces mesures permettent l'étude du stockage et/ou de l'utilisation du fer dans les différents organes.

- ❸ Ensuite, on suit l'incorporation du fer \* dans les hématies du sang circulant. Cette étude renseigne sur l'efficacité de l'érythropoïèse.



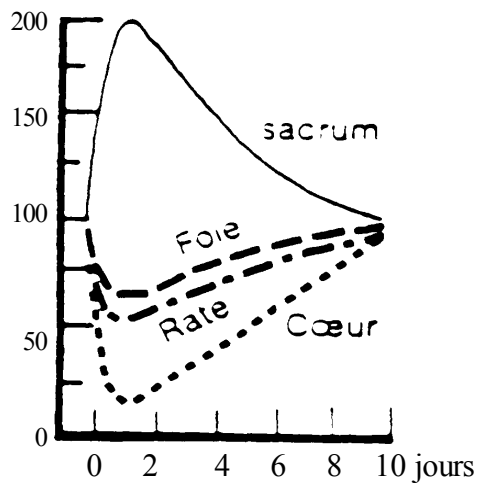
④ Dans les jours qui suivent l'injection, la destinée du fer est suivie par des comptages externes. Ces comptages renseignent sur le lieu du stockage du fer ou de son utilisation pour l'érythropoïèse :

- au niveau d'un os plat, le sacrum : renseigne sur.....
- au niveau du cœur : renseigne .....
- au niveau du foie : renseigne sur .....
- au niveau de la rate : renseigne sur .....

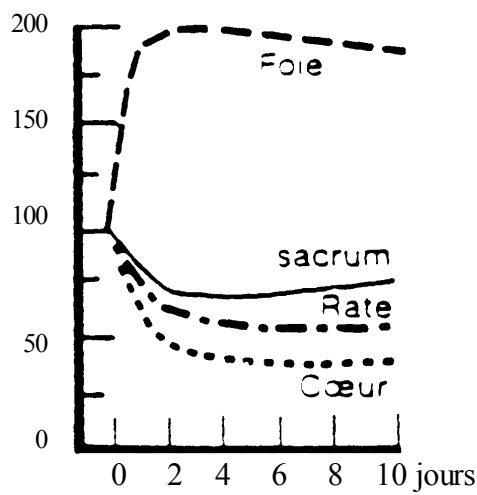
Ces épreuves isotopiques souvent couplées à la durée de vie des hématies sont longues (14j). Par conséquent, elles ne sont utilisées qu'en milieu spécialisé lorsque le mécanisme d'une anémie reste inexplicé.

**Exercice :** Mesure du  $^{59}\text{Fe}$  injectée par comptage externe au niveau du cœur, du foie, de la rate et de la moelle osseuse chez trois patients A (normal), B et C. Interpréter les résultats.

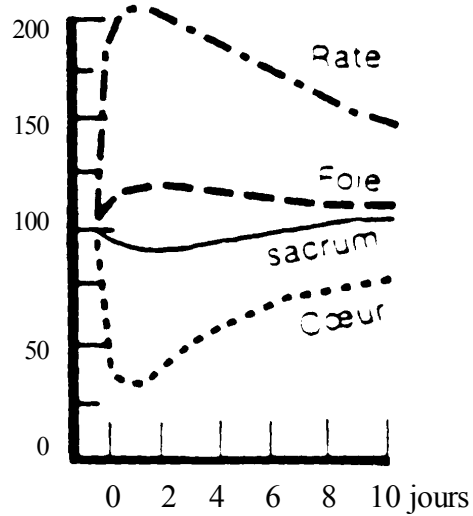
**Sujet A**



**Sujet B**



**Sujet C**



## Chapitre 1 – Fiche 2

# A

## némies microcytaires (VGM < 80 fL)

### 1 - Caractéristiques communes

Elles traduisent un trouble de la synthèse d'hémoglobine, la microcytose reflétant l'augmentation du nombre de mitoses dans la lignée érythroblastique.

Elles sont le plus souvent arégénératives (carence en fer, syndromes inflammatoire) ou parfois régénératives (hémoglobinopathies constitutionnelles type Thalassémie mineure par exemple).



#### Rappels :

- Lors de l'érythropoïèse, il existe une régulation entre le nombre de mitoses et la concentration cytoplasmique des érythroblastes en hémoglobine: lorsque la concentration cytoplasmique en hémoglobine des érythroblastes atteint une valeur seuil, les mitoses s'arrêtent.
- Si le nombre de mitoses augmente, la taille des cellules diminue.

Si lors de l'érythropoïèse, la quantité d'hémoglobine disponible est insuffisante par

- manque de fer disponible pour l'érythropoïèse  
*exemples: anémie ferriprive → les stocks de fer sont diminués*  
*ou anémies inflammatoires → le fer est séquestré dans les macrophages.*
- manque d'une chaîne de globine (alpha ou bêta thalassémie)
- synthèse insuffisante d'hème (ex : intoxication au plomb)
- .....

**alors** le nombre de mitoses des érythroblastes augmente et leur taille diminue. Les hématies ont alors l'aspect de microcytes hypochromes.

### 2 - Tableau comparatif des anémies microcytaires

Les anémies microcytaires sont au nombre de trois :

- anémie ferriprive ou par carence martiale ou sidéropénique
- anémies des syndromes inflammatoires
- thalassémies

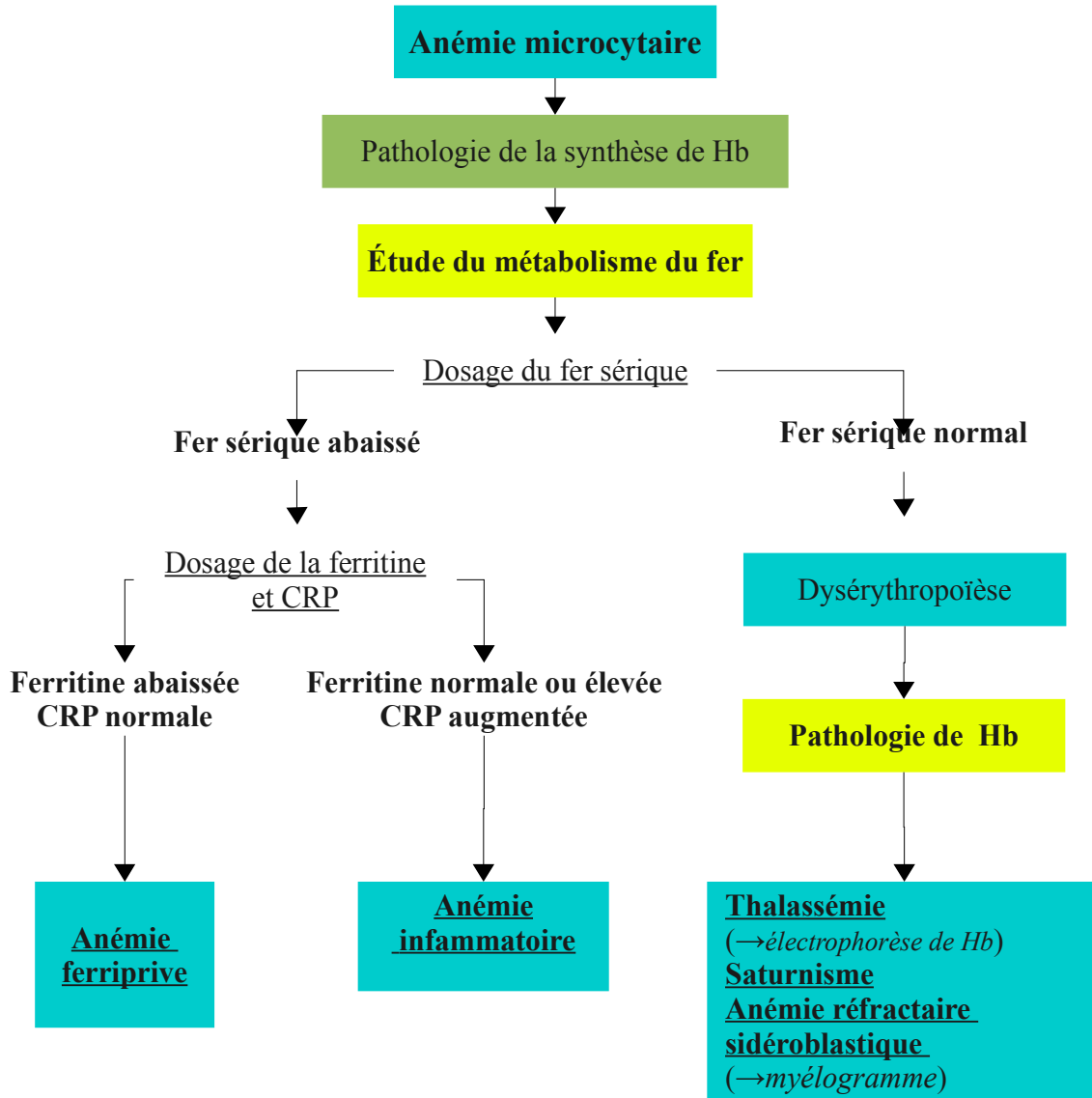
<b>Anémie (A)</b>	<b>A. ferriprive</b>	<b>A. inflammatoire</b>	<b>Thalassémie</b>
<b>Origine</b>	Carence en fer -Diminution du fer disponible pour érythropoïèse -Diminution des stocks de fer	Anémie liée à une inflammation chronique -Diverses cytokines (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1) inhibent la croissance des progéniteurs érythroblastiques et limitent la production et l'action de EPO. -Fer séquestré par les macrophages	Défaut de synthèse d'une chaîne de globine
<b>Hb</b>	<b>Anémie:</b> modérée à majeure, parfois < 60 g/L	<b>Anémie :</b> souvent modérée (100 - 110 g/L)	<b>Thalassémie majeure</b> (homozygote) ou maladie de Cooley → <b>anémie intense,</b> <b><math>\beta</math> et <math>\alpha</math> thalassémies mineures :</b> <b>anémie absente ou discrète</b> parfois même on retrouve une pseudo-polyglobulie microcytaire (hématies = 5-6 T/L)
<b>VGM TCMH</b>	<b>Microcytose</b> (VGM<80 f) et hypochromie (TCMH < 27 pg)	Normocytose et normochromie, qui vont devenir microcytaire hypochrome si l'état inflammatoire se prolonge plusieurs mois.	microcytose nette (60-70 fL, hypochromie
<b>Leucocytes</b>	<b>Nombre normal</b> et formule leucocytaire normale  Discrète neutropénie possible dans les carences profondes ; les granulocytes peuvent apparaître moins riches en granulations et le noyau un peu plus segmenté.	<b>Nombre augmenté</b> (15 – 25 G/L) dû à une neutrophilie ; myélémie absente ou < 5%)	Normal
<b>Plaquettes</b>	Nombre normal ou légèrement augmenté	<b>Nombre augmenté,</b> jusqu'à 600-800 G/L.	Normal



Anémie (A)	A.ferriprive	A.inflammatoire	Thalassémie
<b>Frottis sanguin</b>	microcytes annulocytes parfois codocytes	anomalies morphologiques des hématies peu évocatrices.	<b>Thalassémies majeures</b> : anisocytose – fortes poïkilocytose (codocytes...)- anisochromie (annulocytes, GR polychromatophile) , GR ponctués et érythroblastes.  <b>Thalassémie mineures</b> : quelques codocytes et GR ponctués (surtout pour $\beta$ thalassémies)
<b>Réticulocytes</b>	Arégénérative < 120 G/L		arégénérative ou peu régénérative
<b>Myélogramme</b>	inutile	inutile	inutile
<b>Métabolisme du fer</b>	<u>Fer sérique</u> : diminué <u>Capacité totale de fixation de la transferrine (CTST)</u> : augmentée <u>Ferritine</u> : diminué <u>Coloration de Perls</u> : absence de fer intra et extra érythroblastique et dans les macrophages	<u>Fer sérique</u> : diminué <u>Capacité totale de fixation de la transferrine (CTST)</u> : diminué <u>Ferritine</u> : augmenté <u>Coloration de Perls</u> : absence de fer intra et extra érythroblastique mais présence de fer dans les macrophages	<u>Fer sérique</u> augmenté <u>Capacité totale de fixation de la transferrine (CTST)</u> : diminué <u>Ferritine</u> : augmenté
<b>Autres tests</b>	-	<u>VS</u> accéléré <u>Protéines de l'inflammation</u> (CRP <sup>4</sup> , fibrinogène ..) élevées	<u>Électrophorèse de Hb</u> <i>cf. fiche 3 page 32</i>

4 CRP : C-reactive protein, protéine synthétisée au niveau de l'hépatocyte, existe à l'état de traces chez l'individu sain. La CRP joue le rôle d'activateur de la voie classique du complément et favorise la phagocytose bactérienne. L'inflammation est la seule cause de l'augmentation de la CRP. De plus son temps de demi-vie plasmatique court la situe comme paramètre de choix dans l'investigation d'un processus inflammatoire.

### 3 - Organigramme décisionnel



## Chapitre 1 – Fiche 3

# A

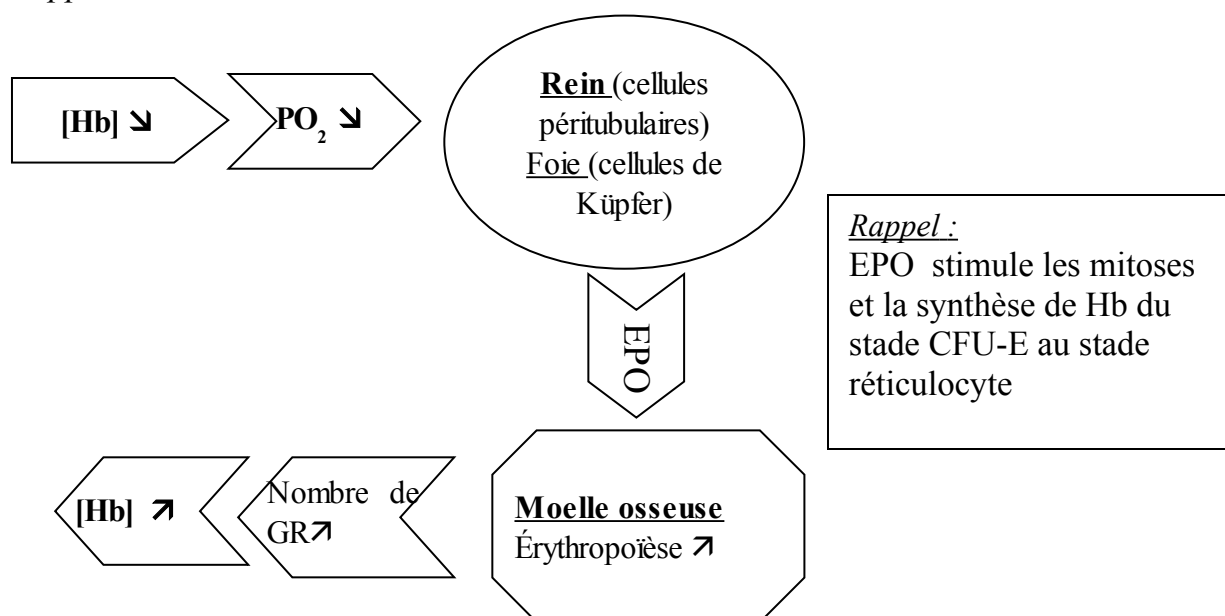
## némies régénératives (normo ou macrocytaires)

### 1 - Généralités

#### 1.1 - Caractères régénératifs de l'anémie

Le caractère régénératif de l'anémie traduit une érythropoïèse médullaire augmentée sous la dépendance de l'érythropoïétine (EPO)

Rappel :



(Autres hormones : hormones thyroïdiennes, testotérone)



**Conséquences : signes de régénération médullaire**

- nombre de réticulocytes sanguins augmenté : > 120 G/L, donnant sur frottis sanguins des macrocytes et des GR polychromatophiles.
- érythroblastose sanguine assez fréquente.

**Il s'agit d'anémies normo ou macrocytaires.**

## 1.2 - Étiologie des anémies régénératives

Les anémies régénératives sont d'origine périphérique, donc consécutives à:

- une perte exagérée d'hématies  
→ **anémie post-hémorragique aiguë**
- un excès de destruction des hématies dans le sang ou dans la rate  
→ **anémies hémolytiques d'origine :**
  - intra corpusculaire (en général constitutionnel)

- x anomalie de la membrane
- x anomalie enzymatique
- x anomalie qualitative de Hb (ex: drépanocytose)
- x .....



**Attention :** les anomalies quantitatives de Hb (ex: thalassémies, anémies microcytaire) sont des anémies hémolytiques généralement non régénératives mais peuvent présenter parfois des signes de régénération.

- ou extra corpusculaire (acquis)
- x dues à des toxiques
- x dues à des parasites
- x dues à des agressions mécaniques
- x dues à des agressions immunologiques

Ces anémies hémolytiques peuvent s'accompagner d'anomalies érythrocytaires.

- une phase de réparation d'un défaut d'érythropoïèse

N.B. Toutes les anémies, quelque soit leur origine, présentent en cours de traitement réparateur des caractères d'anémies régénératives.

## 2 - Hémogramme

rappel : [Hb] < 115 g/L chez la femme et [Hb] < 130 g/L chez l'homme

### 2.1 - Signes de régénération médullaire

#### 2.1.1 - Augmentation du nombre de réticulocytes circulants

Le dénombrement s'effectue sur frottis coloré sur BCB<sup>5</sup>. (cf TP 1<sup>ère</sup> année)

**Un résultat supérieur 120 G/L permet de définir une anémie régénérative** d'intensité variable



Cette numération ne fait pas partie de l'hémogramme, elle est réalisée en complément uniquement lors d'anémie normocytaire ou macrocytaire.

**L'augmentation des réticulocytes peut se traduire par la présence sur frottis sanguin coloré au MGG d'hématies polychromatophiles voire de macrocytes.**

Attention : la présence seule d'hématies polychromatophiles ou de macrocytes ne permet pas de définir le caractère régénératif de l'anémie.

#### 2.1.2 - Érythroblastose sanguine assez fréquente

Il est fréquent d'observer sur frottis sanguin coloré au MGG des érythroblastes acidophiles voire polychromatophiles ou même basophiles. Leur présence définit

Lors de l'établissement de la formule leucocytaire ces érythroblastes doivent être comptés et identifiés avec précision. Leur nombre est exprimé pour 100 GB indépendamment de la formule leucocytaire. Leur présence fausse le résultat de la numération des leucocytes qui prend en compte toutes les cellules nucléées. Elle implique donc de corriger le résultat du nombre de leucocytes par litre de sang.

Exemple :

PN	60 %	} 100 GB
PE	2 %	
PB	0 %	
L	28 %	
M	10 %	

E acidophiles : 8 pour 100 GB (8 en plus de 100 GB)

E polychromatophiles : 1 pour 100 GB

- Si N leucocytes : 10,9 G/L, calculer le nombre réel de GB ?
- Corriger la formule leucocytaire

5 BCP : bleu de crésyl brillant

## 2.2 - Anomalies érythrocytaires évoquant une anémie hémolytique.

Certaines anomalies sont caractéristiques de pathologie qui aboutissent à une destruction accélérée des hématies (durée de vie < 120 jours).

### 2.2.1 - Drépanocytes

Ils sont spécifiques de la drépanocytose qui se définit par la présence d'une hémoglobine anormale HbS.

Ils ne doivent pas être confondus avec des schizocytes ou des ovalocytes (leurs extrémités sont toujours effilées).

Ils n'apparaissent que si HbS est sous forme réduite.

☞ **La suspicion de drépanocytose** d'après l'allure du frottis doit toujours être confirmée par une **électrophorèse de Hb** : → **mise en évidence d'hémoglobine S**

### 2.2.2 - Sphérocytes

Ils se rencontrent dans les sphérocytoses héréditaires (presque toutes les hématies sont sous forme de sphérocytes).

Ils se rencontrent également dans d'autres anémies hémolytiques.

### 2.2.3 - Codocytes ou cellules cibles

Elles orientent vers un trouble de synthèse de l'hémoglobine.

Elles se rencontrent notamment dans les drépanocytoses, les  $\beta$  thalassémies et certaines anémies arégénératives.

### 2.2.4 - Schizocytes

Ils orientent vers une hémolyse mécanique (valves cardiaques, CIVD...)

Ils signent une fragmentation des hématies.

### 2.2.5 - Corps de Heinz

**Attention** : ils ne sont visibles qu'après coloration post vitale au bleu de crésyl brillant (BCB)

Ils orientent vers :

- une anomalie constitutionnelle des hématies (déficit enzymatique, présence d'Hb instable)
- une anémie hémolytique toxique faisant suite à une intoxication au plomb (saturnisme) ou médicamenteuse.

### 2.2.6 - Présence de parasites érythrocytaires

*cf. cours parasitologie*

### 3 - Myélogramme : moelle érythroblastique

Il confirme le diagnostic

L'érythropoïèse étant stimulée, on observe une hyperplasie érythroblastique (taux d'érythroblastes > 30%)

**Attention : ce n'est pas un examen clef**

- L'évolution de la lignée érythroblastique est normale
  - érythroblastes à cytologie normale
  - pyramide de maturation bien conservée (*il y a plus d'érythroblastes (E). acidophiles et polychromatophiles que des E. basophiles et de proérythroblastes*).
- Les autres lignées sont normales.

	MOELLE NORMALE	MOELLE ÉRYTHROBLASTIQUE
Pourcentage d'érythroblastes		
Pyramide de maturation de la lignée érythroblastique		
Aspect des érythroblastes		
Aspect des autres lignées		

### 4 - Examens biologiques complémentaires

☞ Éliminer les signes d'hémorragies

☞ Examens prouvant le caractère hémolytique de l'anémie : bilan d'hémolyse

- LDH augmenté
- fer sérique : augmenté
- bilirubine non conjuguée augmentée (si hémolyse intra-tissulaire)
- haptoglobine éffondrée (surtout en cas d'hémolyse intra-vasculaire)

**Recherche de la cause de l'hémolyse :**

Examens prouvant l'origine:	
<u>Intra corpusculaire</u>	<u>Extra corpusculaire</u>
Étude de la membrane érythrocytaire Dosage d'enzymes Électrophorèse de Hb .....	Bilan immunologiques (test de Coombs direct → cf. livret 4)



## Documents : Étude de l'hémoglobine

Test de EMMEL ou test de falciformation : mise en évidence de HbS

L'examen du frottis sanguin peut ne révéler aucune anomalie cytologique, il est alors possible de déclencher au laboratoire la falciformation, soit en rajoutant du **métabisulfite au sang du malade** soit en créant artificiellement une atmosphère pauvre en oxygène.

On observe alors à l'état frais, entre lame et lamelle, les **hématies qui prennent progressivement la forme typique en "faucille"**. Ce test ne st plus utilisé.

Test d'ITANO ou test de solubilité : mise en évidence de HbS

L'hémoglobine S, réduite par action d'hydrosulfite de sodium, précipite dans une solution de phosphate 2,24 mol/L.

*Ce test n'est toutefois pas spécifique car d'autres hémoglobines, plus rares, peuvent également précipiter.*

### Électrophorèse de l'hémoglobine

Elle permet la mise en évidence des différentes types d'hémoglobine : A1, A2, F, S .....

Cette technique permet le diagnostic

- de la drépanocytose (forme homozygote) et le trait drépanocytaire (forme hétérozygote)
- des thalassémies

#### Prélèvement

Le sang est recueilli sur un anticoagulant (héparine, citrate ou EDTA).

Il est conservé à 4°C. Le délai de conservation ne doit pas excéder une semaine en raison de l'apparition de fractions dénaturées dans le prélèvement ainsi que la dégradation de certaines fractions comme l'hémoglobine fœtale.

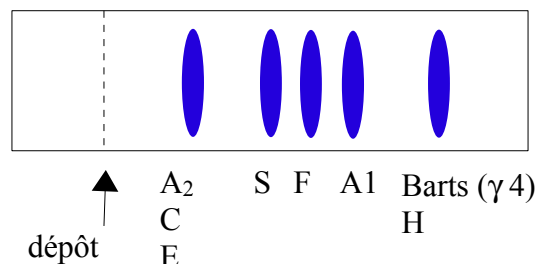
La recherche d'hémoglobines à l'état de trace ne peut se faire que sur un échantillon frais : c'est le cas de l'hémoglobine Bart ( $\gamma 4$ ) présente chez les nouveaux-nés atteints d' $\alpha$ -thalassémie majeure.

#### Techniques électrophorétiques :

Électrophorèse de zone à pH alcalin (pH = 8,6) sur acétate de cellulose

(pHi de Hb < 8,6).

Résultats :



Indiquer :  
-la position de l'anode (+)  
et de la cathode  
-le sens de déplacement  
des protéines



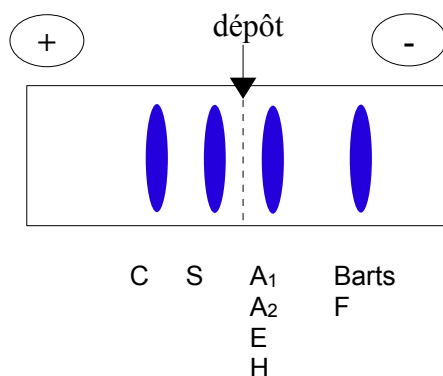
### Électrophorèse sur citrate agar à pH acide (pH = 6,0),

L'hémoglobine migre dans un tampon maléique pH=6. L'Agarose contient de l'agaropectine, un polysaccharide sulfaté. L'agaropectine et l'acide maléique sont des poly-anions comme le 2,3 DPG et peuvent entrer en compétition pour se fixer sur certaines régions chargées positivement tel que le site de fixation du 2,3 DPG.

La migration de l'hémoglobine à pH=6 résulte de :

- l'électroendosmose qui entraîne un flux de liquide vers la cathode,
- la liaison à l'agaropectine, le complexe migrant vers l'anode,
- l'effet de l'ion citrate qui entre en compétition avec l'agaropectine pour sa fixation au site du 2 - 3 DPG et des autres régions chargées positivement de l'hémoglobine.

**Résultats :**



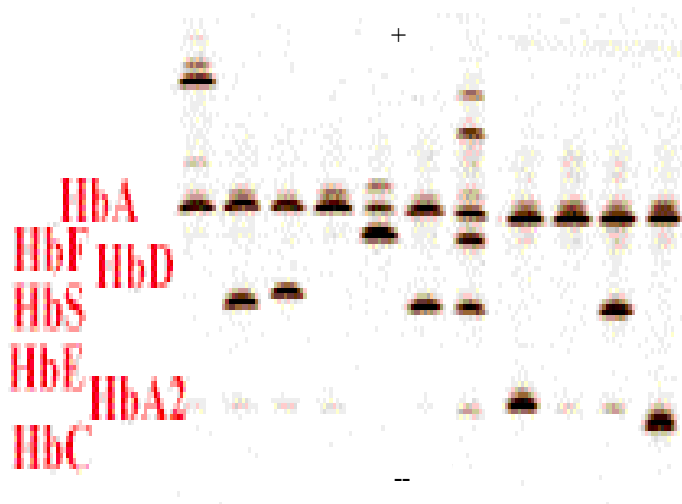
Cette électrophorèse sur gel d'agar en citrate est donc l'un des tests classiques de diagnostic positif de l'HbS.

### Isofocalisation électrique (sur gel de polyacrylamide, voltage élevé, gradient de pH)

**C'est la technique actuelle de référence.** Certains laboratoires la pratiquent d'emblée. Sa résolution est supérieure à celle de l'électrophorèse à pH alcalin.

La focalisation isoélectrique (également appelée électrofocalisation) diffère de l'électrophorèse classique par le fait que la migration, sous l'effet du champ électrique, ne s'effectue plus dans un tampon de pH fixe mais dans un milieu constitué par un gradient continu de pH (par exemple de pH 6,0 à 8) où chaque protéine va migrer pour focaliser en une bande très fine dans la zone où le pH est égal à son point isoélectrique (pHi).

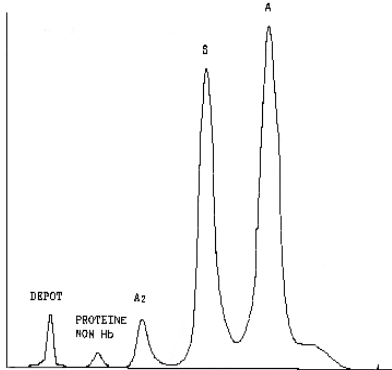
L'électrofocalisation permet de séparer des protéines dont les pHi sont différents de 0,005 unité pH.



## Quantification des hémoglobines : exemples de résultats

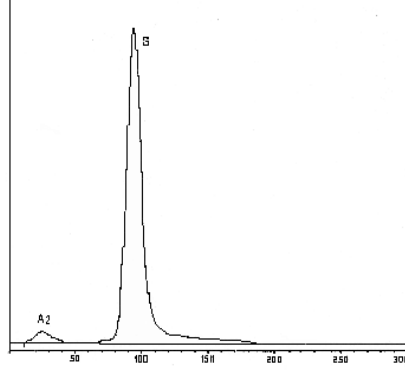
### Drépanocytose hétérozygote AS

HbA1 = 58 %  
 HbS = 35,3 %  
 HbA2 = 4,7 %  
 Non Hb = 0,2 %



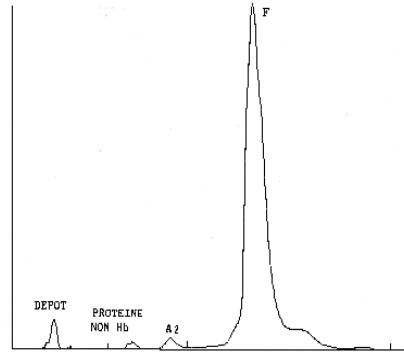
### Drépanocytose homozygote SS

HbS = 95,6 %  
 HbA2 = 4,4 %



### β°-Thalassémie majeure

HbA1 = 0 %  
 HbF = 98,8 %  
 HbA2 = 1,2 %



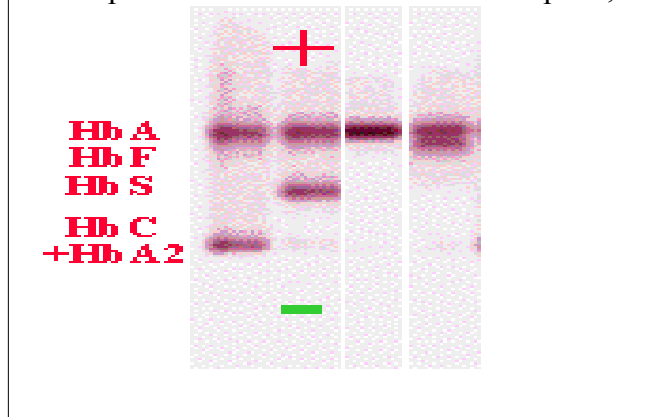
D'autres techniques peuvent être utilisées.

Dosage spectrophotométrique d'HbS et HbA2 après séparation sur microcolonnes échangeuses d'ions, HPLC (Chromatographie liquide de haute pression) pour des laboratoires spécialisés.

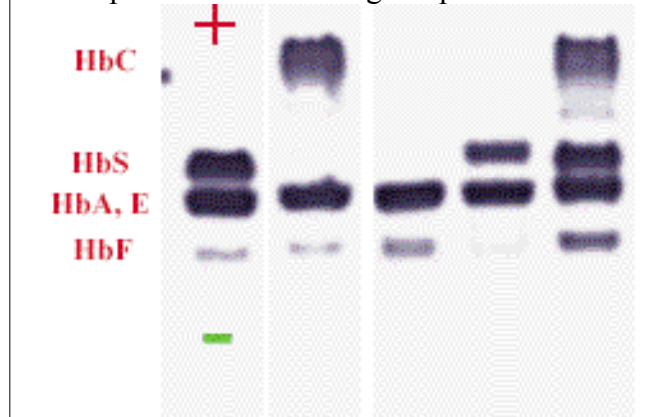


**Exercices** : Interpréter les résultats suivants.

Électrophorèse sur acétate de cellulose – pH 8,6



Électrophorèse sur citrate agar – pH 8,6



## Chapitre 1 – Fiche 4

# Anémies mégaloblastiques

## 1 - Généralités

L'évolution normale des lignées (maturation et amplification) nécessite la présence d'un certains nombre de facteurs indispensables :

- à la synthèse d'ADN intervenant dans le mécanisme d'amplification de toutes les lignées.
  - Cas de la vitamine B12 et de l'acide folique
- à la synthèse de caractères spécifiques de chaque lignée
  - Cas du fer et de plusieurs acides aminés indispensables à la synthèse de l'hémoglobine, protéine spécifique de la lignée érythroblastique.

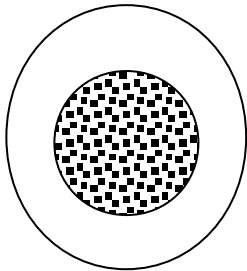
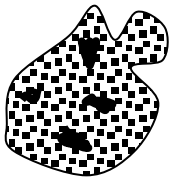
## 2 - Troubles médullaires dûs à une carence en vitamine B12 ou en acide folique



Cette carence se traduit par des troubles de la maturation nucléaire et des retards de division  
La synthèse de l'hémoglobine n'est pas perturbée.

### 2.1 - Troubles de maturation

**Anomalie nucléaire consécutive à une mauvaise synthèse de l'ADN.**

	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Les cellules de toutes les lignées sont concernées ; la condensation chromatiniennne s'effectuant mal, on observe des cellules avec une chromatine perlée.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Dans la lignée érythroblastique on peut également observer des anomalies dans la forme du noyau : contour nucléaire irrégulier présentant des excroissances correspondant aux futurs corps de Jolly.</li> </ul>

Remarque : les déformations du noyau peuvent également s'observer sur les cellules des autres lignées, mais elles sont mieux visibles sur la lignée érythrocytaire compte tenue de la forme bien ronde du noyau.

## 2.2 - Retards de division

Pour l'ensemble des lignées ce retard de division se traduit par une **amplification moins importante** et des **tailles cellulaires plus grandes** que la normale.

- ♦ Dans la lignée érythroblastique : **présence d'érythroblastes de très grande taille (mégalo blasts)**
  - anomalies de taille particulièrement nettes,
  - décalage entre la maturation du noyau et celle du cytoplasme nette également. Les caractères de maturation du cytoplasme (synthèse de l'hémoglobine) apparaissent dans des cellules ayant une chromatine peu ou non condensée.
    - ↳ l'identification du stade se base essentiellement sur la couleur du cytoplasme.
- ♦ Dans la lignée granuleuse : gigantisme myélocytaire (métamyélocytes, PN géants), PN hypersegmentés.
- ♦ Dans la lignée mégacaryocytaire : mégacaryocytes rares et anormaux , plaquettes géantes.



### CRITÈRES D'IDENTIFICATION D'UNE MOELLE MÉGALOBLASTIQUE :

- cellules de grande taille (érythroblastes, métamyéloblaste, PN...)
- noyaux présentant une chromatine perlée et des déformations ± nettes
- prédominance des cellules immatures (nombreux avortements cellulaires) d'où :
  - basophilie accentuée du frottis : « aspect de moelle bleue »
  - pyramide de maturation non respectée
  - de nombreux noyaux nus (dus au nombreux avortement cellulaires)

Remarque : Parallèlement à ces désordres cytologiques on peut observer des cellules normales en faible pourcentage le plus souvent.

## 3 - Troubles sanguins dus à une carence en vitamine B12 ou en acide folique

### 3.1 - Troubles quantitatifs

- \* Baisse du nombre d'érythrocytes conduisant à une érythropénie accompagnée d'une baisse de la concentration d'hémoglobine d'où anémie.
- \* Existence en parallèle d'une leucopénie et d'une thrombocytopénie peu marquées
  - ↳ **pancytopénie sanguine**
- \* Taux de réticulocytes jamais augmenté
  - ↳ **anémie arégnérative.**

### 3.2 - Troubles qualitatifs

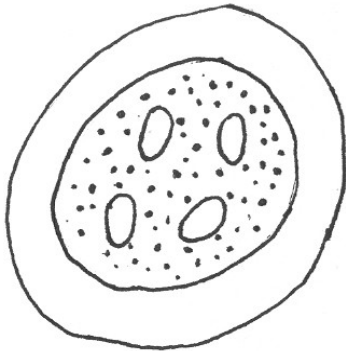
- \* Hématies :
  - Couleur normale mais de grande taille : macrocytes voire mégalo cytes
  - Présence éventuelle d'inclusions : les corps de Jolly
  - Indices érythrocytaires : VGM > 100 fL, TCMH > 27 pg

Dans le sang : **ANÉMIE MACROCYTAIRE NORMOCHROME**

- \* Polynucléaires: possibilité de noyaux hypersegmentés
- \* Plaquettes : possibilité de gigantisme
- \* Sérum : LDH et bilirubine élevée ↳ **hémolyse intra-médullaire**  
Concentration en vitamine B12 et/ou acide folique faible.

## Érythroblastes « mégaloblastiques »

### Proérythroblaste « mégaloblastique »



Cellule arrondie ou légèrement ovale de 25 à 35  $\mu\text{m}$   
(quelquefois plus)  
N/C : 0,8 environ

**Noyau :**

position centrale  
chromatine peu condensée donnant un aspect perlé caractéristique  
présence constante de nucléoles (1 à 4)

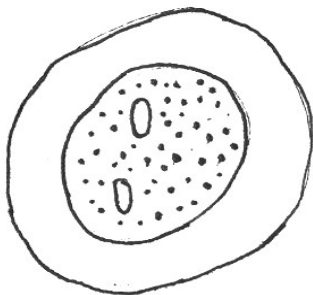
**Cytoplasme :**

basophilie accentuée avec des zones décolorées

☞ **par rapport au proérythroblaste :**

cellule plus grande  
chromatine plus perlée  
cytoplasme plus basophile

### Érythroblaste basophile (stades I et II) « mégaloblastique »



Cellule arrondie ou légèrement ovale de 25 puis 20  $\mu\text{m}$   
N/C : 0,5 à 0,7

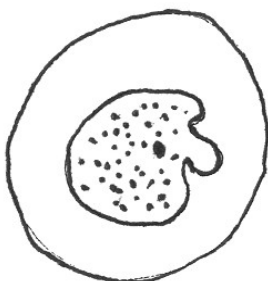
**Noyau :**

Rond avec une chromatine très perlée  
Persistance des nucléoles en général

**Cytoplasme :**

Basophilie très accentuée avec parfois des zones violacées.

### Érythroblaste polychromatophile « mégaloblastique »



Cellule arrondie ou légèrement ovale de 14 à 18  $\mu\text{m}$   
N/C : 0,5 environ

**Noyau :**

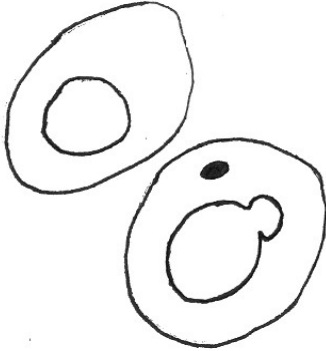
Chromatine perlée avec apparition de quelques amas chromatiniques  
Possibilité de contours irréguliers avec des bourgeons qui se détachent persistant dans le cytoplasme sous forme de micro noyaux : les corps de Jolly

**Cytoplasme :**

Nette polychromatophilie : cytoplasme mauve puis gris rosé  
Présence fréquente de corps de Jolly

**Asynchronisme nucléo-cytoplasmique particulièrement net à ce stade.**

## Érythroblaste acidophile « mégalo-blastique »



Cellule souvent ovalaire de 10 à 14  $\mu\text{m}$

N/C : 0,2 à 0,3

**Noyau** :

irrégulier

ne présentant pas l'aspect pycnotique homogène de la lignée normale

**Cytoplasme** :

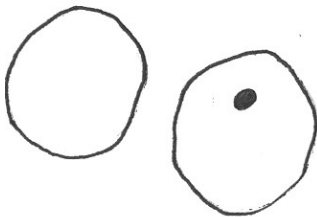
très étendu, beige rosé

présence fréquente de corps de Jolly

## Réticulocyte « mégalo-blastique »

Plus grand que le réticulocyte de la lignée normale avec présence possible de corps de Jolly.

## Macrocyte (mégalo-cyte)

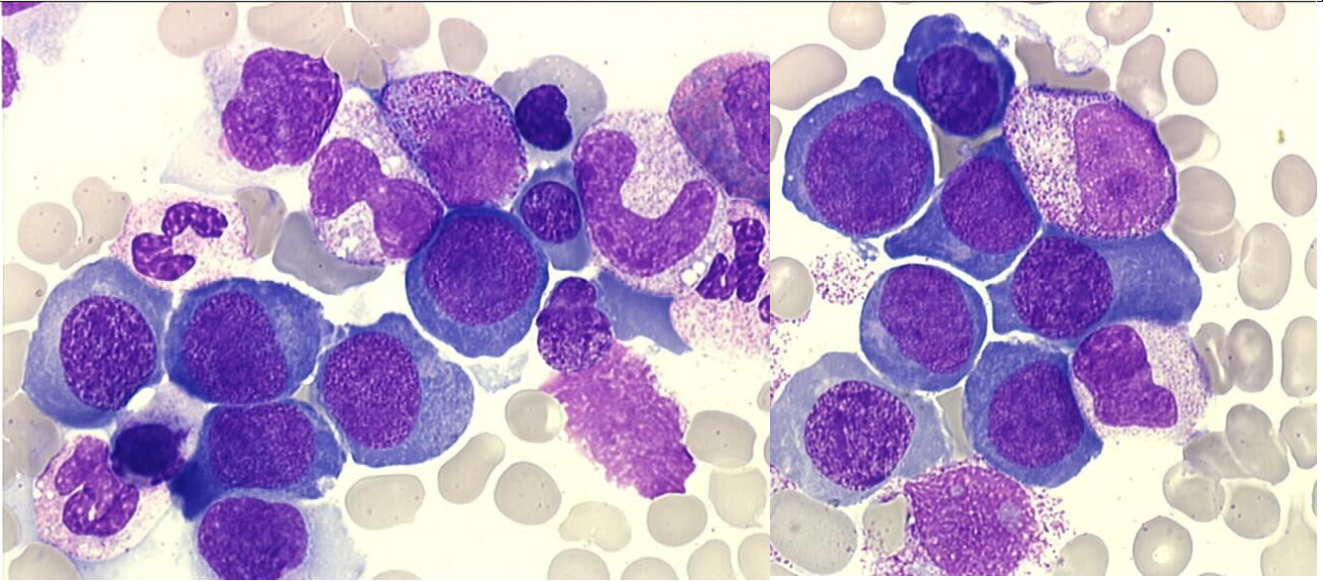


Hématie volumineuse de 9 à 12  $\mu\text{m}$  (voire 15  $\mu\text{m}$ ) sans dépression centrale

Présence fréquente de corps de Jolly.

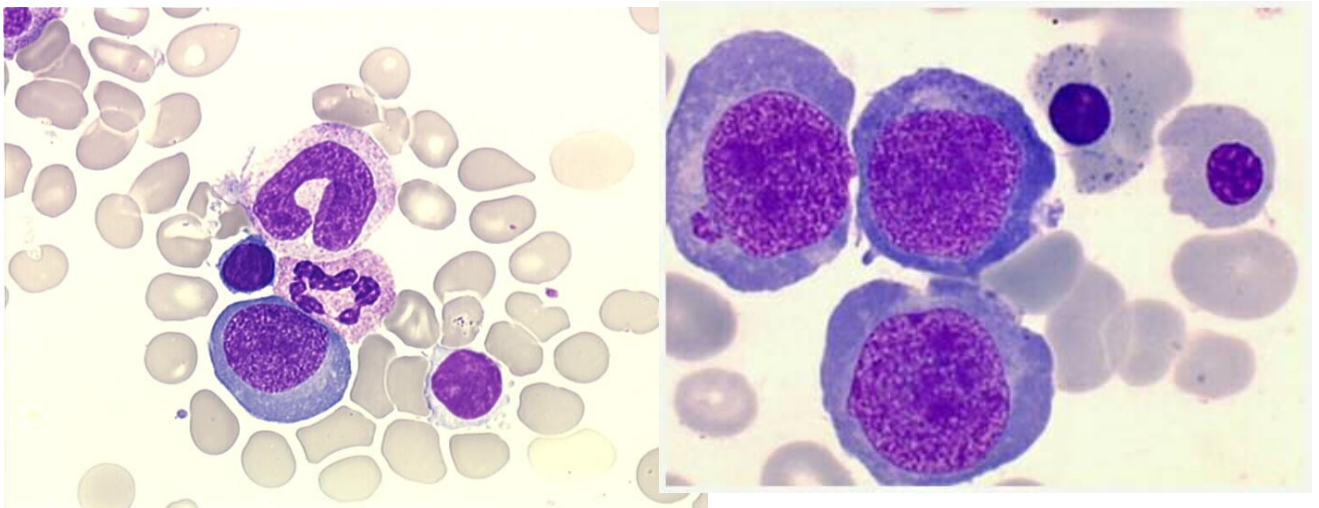
### **Moelle mégaloblastique**

#### **Vue d'ensemble**

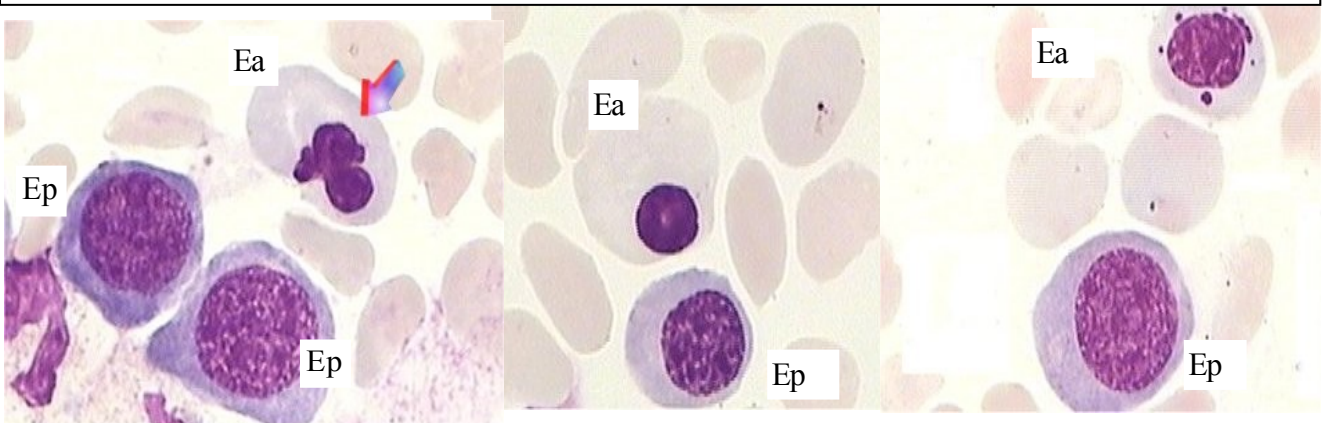


**Anomalies de la lignée granuleuse neutrophile**

**Eb. basophiles « mégaloblastique »**



**Eb polychromatophiles et acidophiles « mégaloblastiques »**



**TABLEAU COMPARATIF DES MYÉLOGRAMMES**

	MOELLE NORMALE	MOELLE ÉRYTHROBLASTIQUE	MOELLE MÉGALOBLASTIQUE
Pourcentage d'érythroblastes			
Pyramide de maturation de la lignée érythroblastique			
Aspect des érythroblastes			
Aspect des autres lignées			

**Conséquences dans le sang périphérique**

--	--



# Polynucléose neutrophile ou neutrophilie

## 1 - Définition

Une neutrophilie se définit par un nombre de polynucléaires neutrophiles supérieur ou égal à 8 Giga par litre de sang circulant.

$PN \geq 8 \text{ G} / \text{L de sang}$  ☞ polynucléose neutrophile

## 2 - Classification

### 2.1 - Polynucléoses physiologiques

Elles sont toujours modérées ( $< 15 \text{ G/L}$ )

Elles se rencontrent :

- chez le nouveau né,
- chez la femme en cours de menstruation, de grossesse,
- lors d'exercice violent, en cours de digestion d'où l'importance des conditions de prélèvement (sujet à jeun et au repos).

### 2.2 - Polynucléoses « réactionnelles »

Elles sont en relation avec le rôle de phagocytose des PN.

#### 2.2.1 - Étiologies

Les plus fréquentes à rechercher systématiquement correspondent à :

- **une augmentation des besoins (cas le plus fréquent)**
  - infections à germes pyogènes (staphylocoques, streptocoques A, pneumocoques...)
    - localisées : abcès, appendicites, angines à staphylocoque hémolytiques A, endocardites...
    - généralisées: septicémie
  - syndromes inflammatoires : rhumatisme articulaire aiguë, polyarthrite rhumatoïde...
  - nécroses cellulaires : infarctus du myocarde, traumatismes, brûlures...
  - cancers évolués
    - ↳ VS élevée et les signes inflammatoires s'accompagnent généralement de fièvre.
- **une démargination excessive**
  - stress, effort musculaire, repas,
  - médicaments (adrénaline, corticoïdes...)
  - tabagisme (avec légère polyglobulie)...
    - ↳ VS normale
- **une régénération médullaire (souvent associée à une myélémie)**
  - suite à une anémie hémolytique ou à une hémorragie ou correction d'une aplasie
- **un défaut de destruction (splénectomie)**

### 2.2.1 - Différents mécanismes

- Stimulation de la granulopoïèse par excès de facteurs stimulants ou baisse des inhibiteurs ;
- Démargination
- Passage dans le sang du stock médullaire
- Freinage de la diapédèse due à l'administration de corticoïdes ou autres inflammatoires ;
- Augmentation de la durée de vie des PN dans le sang consécutive à une splénectomie, une LMC.

### 2.2.1 - Signes biologiques accompagnateurs les plus fréquents

- Hyperleucocytose modérée : 10 G à 15 G Lkc / L, quelquefois plus
- Signes de jeunesse cellulaire :
  - PN hyposegmentés,
  - possibilité de rencontrer dans le sang quelques cellules immatures de cytologie normale (métamyélocytes voire myélocytes neutrophiles) = myélémie légère (nombre de PN dans ce cas élevé > 15 G/ L)
- Possibilité d'observer des anomalies morphologiques des PN :
  - granulations toxiques (plus grosses et plus violacées que la normale) parfois associés à des vacuoles → infections sévères
  - corps de Döhle (plage basophile, bleuté dans le cytoplasme, résidus ribosomiques, témoins d'un asynchronisme de maturation nucléocytoplasmique) → infections, maladie génétique, .....
  - présence de phagosomes avec bactéries, levures, parasites

## 2.3 - Polynucléoses primitives

Ces polynucléoses primitives sont généralement associées à un syndrome myéloprolifératif  
– voir chapitre 3-



- CONDUITE DU DIAGNOSTIC :

**1 – Affirmer la polynucléose neutrophile :  $PN \geq 8 \text{ G / L}$**

ATTENTION ! Ne pas confondre NEUTROPHILIE avec LYMPHOPENIE

↳ Seule l'interprétation du nombre de PN/L permet de conclure.

**2 – Rechercher l'étiologie :**

Savoir éliminer une leucémie myéloïde chronique (cf. chapitre 3 fiche 1) ou une autre polynucléose primitive.

Savoir décrire les anomalies morphologiques éventuelles.

Savoir qu'une anomalie des granulations peut aussi être héréditaire ou induite par des médicaments.

**3 – Caractériser le mécanisme :**

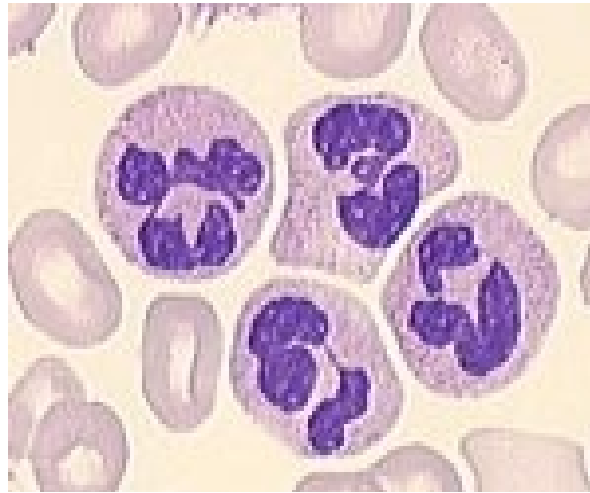
Retenir que: une myélémie associée à la neutrophilie affirme l'origine médullaire.



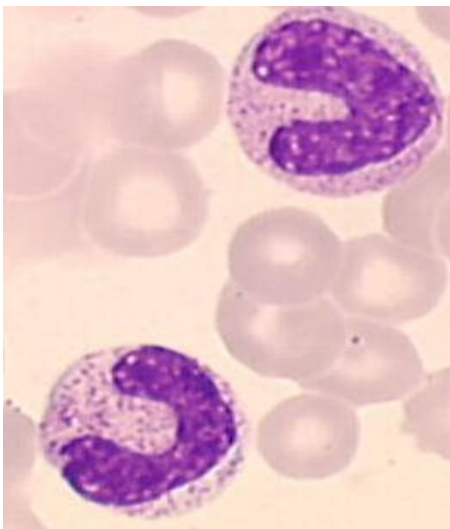
**Définition de la myélémie :** présence dans le sang de précurseurs granuleux.

Documents :

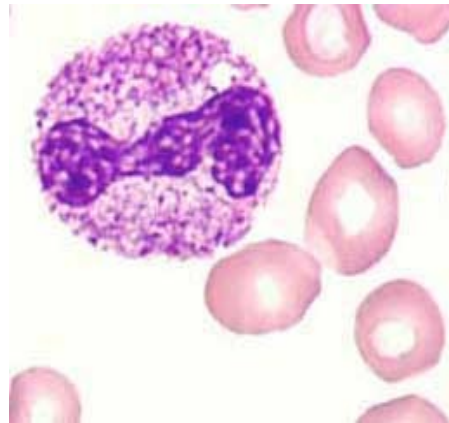
**Polynucléaires  
neutrophiles  
de morphologie normale  
et altérée.**



*Illustration 1: PN de morphologie normale  
(Coloration MGG)*



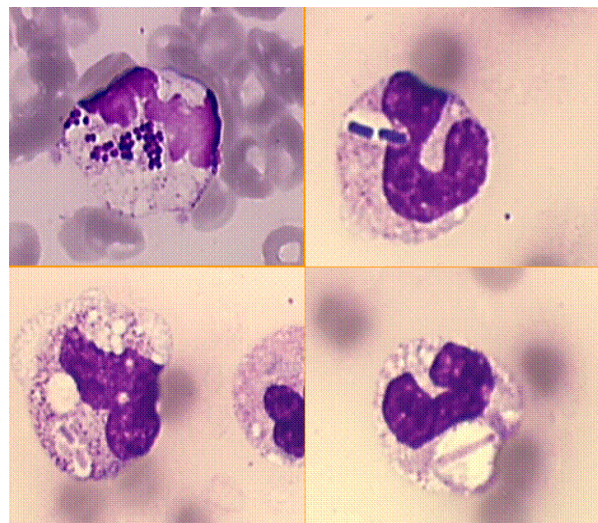
*Illustration 3: Métamyélocyte  
neutrophile et PN non segmenté*



*Illustration 2: PN hyposegmenté  
avec granulations toxiques*



*Illustration 5: PN avec corps de  
Döhle*



*Illustration 4: Quatre PN avec vacuoles,  
phagocytant des bactéries*

## Chapitre 2 – Fiche 2

# H

## yperéosinophilie ou éosinophilie

### 1 - Définition

Une éosinophilie se définit par un nombre de polynucléaires éosinophiles supérieur ou égal à 0,7 Giga par litre de sang circulant.

**PE  $\geq$  0,7 G / L de sang  $\Rightarrow$  hyperéosinophilie**

### 2 - Étiologies

#### 2.1 - Éosinophilies réactionnelles

Elles sont en relation avec le rôle des polynucléaires éosinophiles.  
Ces éosinophilies peuvent être causées par des allergies ou des parasites.

##### 2.1.1 - Réactions à des parasites

► les polynucléaires éosinophiles interviennent dans la destruction des parasites.

**Les hyper éosinophilies d'origine parasitaire sont plus ou moins importantes, ainsi :**

- les helminthes à cycle tissulaire provoquent les éosinophilies les plus fortes (jusqu'à 80 %)  
en France : ascaris, douves, larva migrans  
en pays endémique : hydatidose, trichinose, anguillulose, fillariose, bilharziose

-les helminthiases purement digestives entraînent des éosinophilies plus modérées (ténia, trichocéphale, oxyure)

- les parasitoses multiples des pays tropicaux entraînent des éosinophilies fortes.

*Remarque : l'éosinophilie suit la courbe de Lavier (cf. cours de parasitologie)*

##### 2.1.2 - Réactions allergiques

Les enzymes des polynucléaires éosinophiles limitent l'ampleur de la réaction anaphylactique en bloquant la sécrétion d'histamine et en neutralisant l'histamine (histaminase).

**L'éosinophilie est de l'ordre de 10 à 20 %**

Exemples : asthme, urticaire, rhinite allergique, eczéma, réaction allergique médicamenteuse (pénicilline, iode).

## 2.2 - Causes plus rares

**Exemples** : certaines néoplasies (Formation nouvelle qui se développe par prolifération cellulaire et qui présente une organisation structurale et une coordination fonctionnelle faibles, voire nulles avec le tissu environnant.) : leucémie myéloïde chronique, lymphomes....

### **CONDUITE DU DIAGNOSTIC :**

#### **1 – Affirmer l'hyperéosinophilie: PE > 0,7 G/ L**

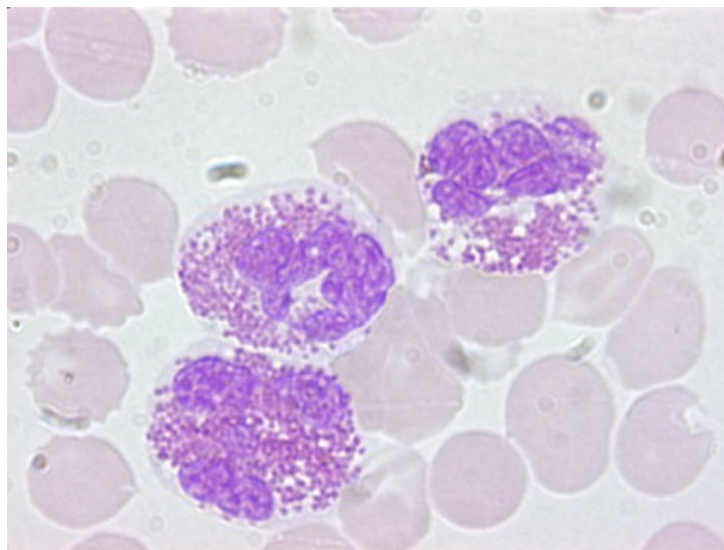
Seule l'interprétation nombre de PE/L permet de conclure.

#### **2 – Rechercher l'étiologie :**



→ les fortes éosinophilies (> 50 %) sont toujours causées par des parasitoses

→ les éosinophilies modérées peuvent être consécutives à une parasitose ou à une réaction allergique



*Illustration 6: Photographie d'un champ microscopique observé sur un frottis sanguin (MGG) lors d'une éosinophilie*

# - Chapitre 2 -

## Hyperleucocytoses bénignes et transitoires

### Généralités

Les hyperleucocytoses correspondent à un nombre augmenté de leucocytes dans le sang : > 10 G/L

Dans ce chapitre, seront étudiés uniquement certaines **hyperleucocytoses réactionnelles, bénignes et transitoires**. L'augmentation des leucocytes dans le sang est modérée.

**Fiche 1 : Neutrophilies**

**Fiche 2 : Éosinophilies**

**Fiche 3 : Lymphocytoses réactionnelles**

Les hyperleucocytoses primitives seront étudiés dans les chapitres suivants.

## Chapitre 2 – Fiche 3

# Lymphocytoses sanguines

## 1 - Définition

Les **lymphocytoses** se définissent par un taux sanguin de lymphocytes supérieur à :

- 4 G/L chez l'adulte
- 7 G/L chez l'enfant
- 11 G/L chez le nourrisson

**On distingue :**

• **Les lymphocytoses transitoires : réactionnelles**

Ces lymphocytoses traduisent une stimulation du système immunitaire. Elles s'accompagnent donc fréquemment d'une hypertrophie des organes lymphoïdes périphériques (ou secondaires) comme les ganglions lymphatiques (adénopathies)

Elles sont transitoires et généralement modérées.

• **Les lymphocytoses permanentes : syndromes lymphoprolifératifs (cf. chapitre 4)**

Ce sont des proliférations malignes clonales de lymphocytes à partir du tissu lymphoïde (ganglions lymphatiques, rate, amygdales, moelle osseuse, ...)

Elles sont permanentes et généralement importantes.

*Exemple : leucémie lymphoïde chronique (LLC)-cf chapitre 4 – fiche 1*

## 2 - Lymphocytoses réactionnelles

Suivant l'aspect des lymphocytes sur frottis, on les range classiquement en 2 groupes :

- les lymphocytoses à lymphocytes normaux
- les lymphocytoses avec syndrome mononucléosique (SMN)

### 2.1 - Lymphocytoses à lymphocytes normaux

Ces lymphocytoses se caractérisent par la présence sur frottis sanguins de:

- **petits lymphocytes en majorité**
- **grands lymphocytes.**
- parfois des plasmocytes.

➤ **Étiologies :**

**Fréquentes chez l'enfant, elles sont beaucoup plus rares chez l'adulte.**

On les observe lors :

- d'**infections virales** : rougeole, oreillon, rubéole, varicelle....
- de la coqueluche (bactérie *Bordetella pertussis*) entre 10 à 25 10<sup>9</sup> lymphocytes/L
- de la maladie de Carl Smith (pharyngite infectieuse infantile souvent asymptomatique) entre 20 à 100.10<sup>9</sup> lymphocytes/L.
- de réactions post- vaccinales
- d'allergies médicamenteuses

## 2.2 - Syndrome mononucléosique (SMN)

Le SMN se définit par la présence sur frottis sanguins :

- ✓ d'une **population lymphocytaire** très **hétérogène** (polymorphe)
  - ✓ avec présence de **plus de 10 %** de **grands lymphocytes hyperbasophiles** caractéristiques.
- Le nombre de lymphocytes/L de sang est souvent augmenté, mais parfois ce nombre peut être normal.

L'aspect morphologique de ces **grands lymphocytes hyperbasophiles** est le résultat d'une activation ou stimulation immunologique :

Taille variable : 12 à 30 µm

Noyau

- rond, ovalaire ou allongé ; souvent plus irrégulier que le lymphocyte normal.
- chromatine fine, peignée plus ou moins décondensée
- présence parfois d'un nucléole

Cytoplasme

- abondant
- hyperbasophilie surtout en périphérie (grande quantité d'ARN)
- présence de granulations azurophiles comme les grands lymphocytes granuleux (lymphocytes à grains)..

Le **polymorphisme cellulaire** se traduit par variabilité :

de taille,

de basophilie (au sein d'une même cellule et d'une cellule à l'autre),

de structure et de forme du noyau.

Il existe une continuité allant du lymphocyte banal au grand lymphocyte hyperbasophile.

On peut aussi observer quelques plasmocytes et des cellules intermédiaires entre lymphocytes et plasmocytes.

Remarques : ces cellules possèdent les marqueurs des lymphocytes T.

Ce sont des lymphocytes T cytotoxiques, effecteurs des réactions immunitaires à médiation cellulaire.



### Attention : ne pas confondre

- les monocytes qui présentent un cytoplasme plus clair
- les blastes de leucémies aiguës toujours monomorphes.

### ➤ Étiologies :

**La mononucléose infectieuse (MNI)** : cause la plus fréquente (85% des cas) des SMN.

☞ SMN majeur : nombreux et nets lymphocytes hyperbasophiles

Elle correspond à l'expression clinique d'une primo-infection (habituellement inapparente) par le virus du groupe Herpès : le **virus d'Epstein-Barr (EBV)** cf. cours de virologie.

Elle affecte les sujets jeunes (adolescents, jeunes adultes) et se manifeste par une angine fébrile accompagnée d'une grande fatigue et d'adénopathie cervicale.

La transmission est interhumaine stricte et nécessite un contact étroit par la salive (« maladie du baiser »).



**Autres infections virales :**

**Infections à cytomégalovirus (CMV) :** 5 % des cas de SMN  
**Primo-infection à VIH** (virus de l'immunodéficience humaine)  
 Rougeole, varicelle ...

**La toxoplasmose :** infection due à un protozoaire *Toxoplasma gondii* (1% des cas de SMN)

Autres causes : allergies médicamenteuses, ...

## 2.3 - Diagnostic des lymphocytoses réactionnelles

Il se base fondamentalement sur :

- le contexte clinique, l'âge du patient
- le nombre de leucocyte/L de sang : en général modérément augmenté, varie selon l'étiologie
- l'étude du frottis sanguin : nombre de lymphocytes/L de sang et cytologie

### 2.3.1 - Vérifier le nombre de lymphocytes/L de sang


⇒ Prendre en compte l'âge du patient. (cf. définition)

### 2.3.2 - Orienter le diagnostic en fonction de l'aspect des lymphocytes et de l'âge du patient


#### 👁️ Lymphocytes à cytologie normale :

**Chez l'enfant :** il s'agit **toujours** d'une **lymphocytose réactionnelle**

Le contexte clinique est évocateur (rougeole, coqueluche, vaccination...)

 pas de leucémie lymphoïde chronique (LLC) avant 40 ans.

**Chez l'adulte :** les lymphocytoses réactionnelles étant plus rares, il faut éliminer la possibilité d'un syndrome lympho-prolifératif.

 une lymphocytose persistante > 10 G/L (souvent beaucoup plus) chez un sujet de plus de 40 ans oriente vers une LLC (cf. cours suivant)

#### 👁️ Lymphocytes hyperbasophiles (>10 %) accompagnés d'un polymorphisme lymphocytaire : conclure à un syndrome mononucléosique (SMN)

🌐 Dans 60 à 80 % des cas il s'agit d'**une MNI** qui se traduit par :

- hyperleucocytose modérée allant de 10 à 25 G/L
- syndrome mononucléosique net (majeur) sur frottis
- un nombre d'hématies et de plaquettes normal

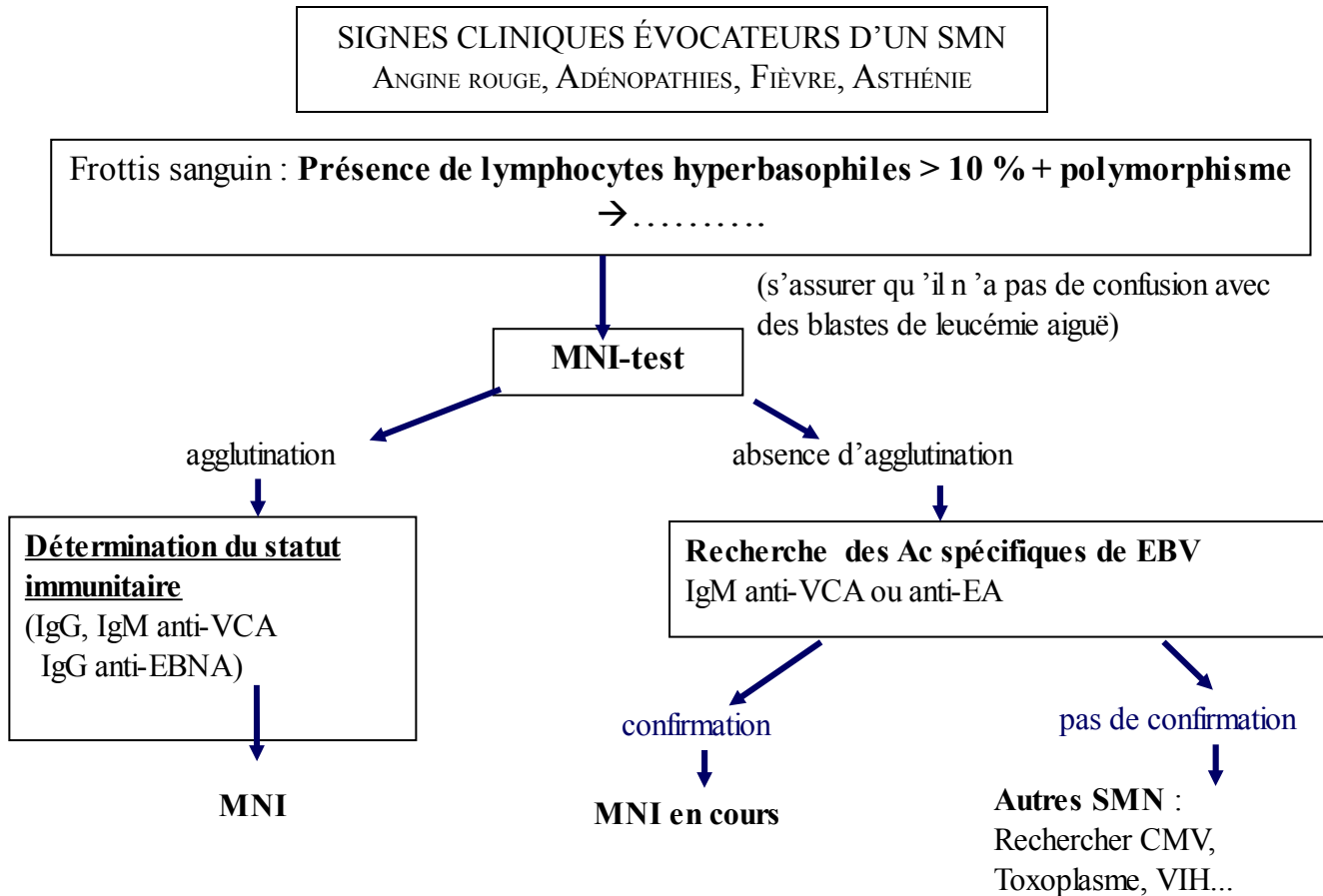
Examen complémentaire confirmant le diagnostic : tests sérologiques (MNI-test, recherche des Ac spécifiques de l'EBV)

🌐 Les **autres étiologies** sont recherchées si la sérologie de la MNI est négative.

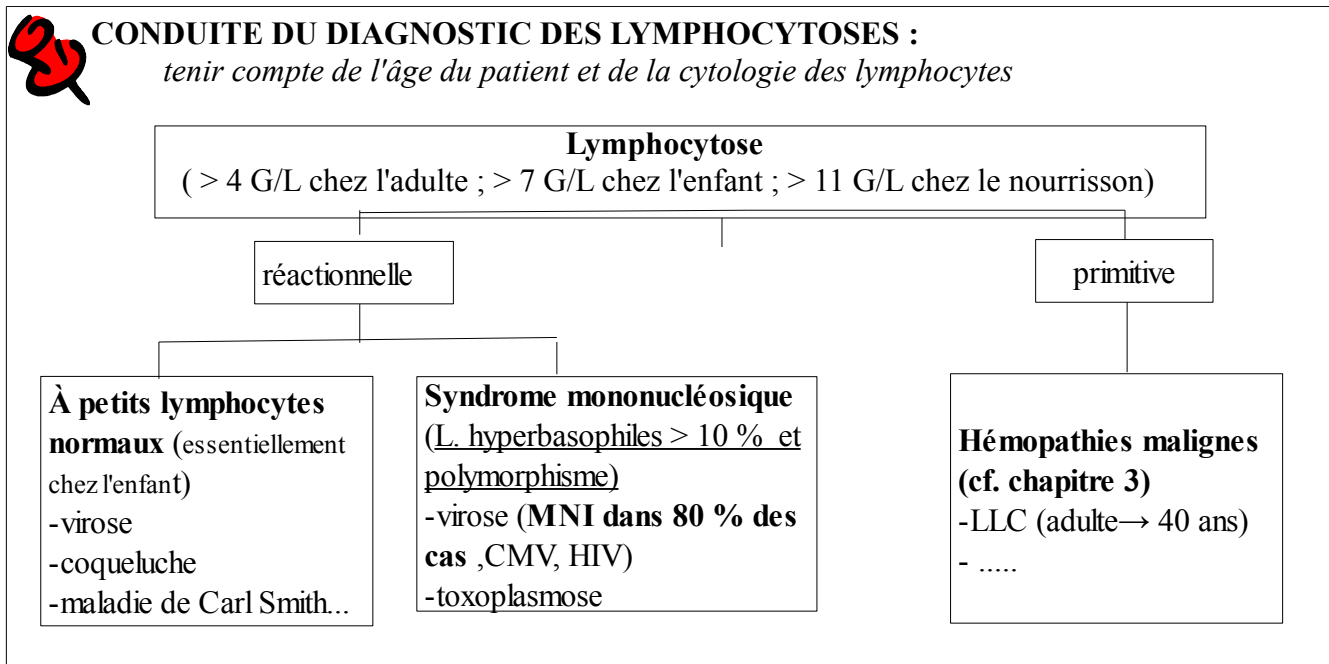
- Le SMN peut être caractérisé par des lymphocytes hyperbasophiles moins nombreux et moins nets.

Examen complémentaires : tests sérologiques de dépistage (virus -CMV, HIV ....- ,toxoplasme)

**Étapes du diagnostic d'un SMN et les examens complémentaires :**

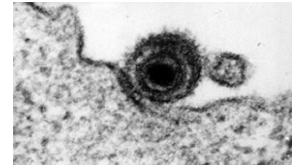


Signification des sigles VCA, EA, EBNA : cf. document « sérodiagnostic de la mononucléose infectieuse ».





## Documents



### Sérodiagnostic de la mononucléose infectieuse

La **mononucléose infectieuse** est une maladie virale contagieuse, exclusivement **humaine**, surnommée la « maladie du baiser ». Cette maladie généralement bénigne est due **au virus d'Epstein-Barr (EBV)**. C'est une infection fréquente (90 % des adultes ont été en contact avec le EBV). Dans la majorité des cas, la primo-infection survient dans l'enfance et est **asymptomatique**.

**Quand elle survient tardivement chez l'adolescent ou le jeune adulte, elle donne dans 1 cas sur 2 la mononucléose infectieuse (MNI).**

**Après une période d'incubation de 30 à 50 jours, les principaux symptômes sont : fièvre, angine, adénopathie et fatigue très marquée. La guérison est spontanée en 2 à 3 semaines.**

#### ➤ Agent pathogène : virus d'Epstein-Barr (EBV)

##### Structure

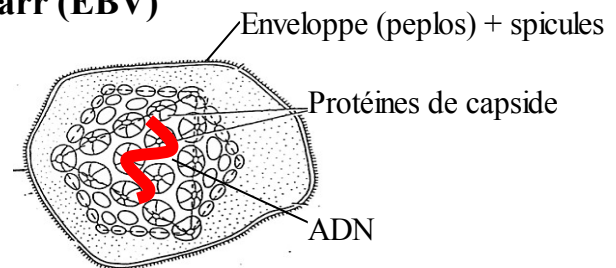
Le virus appartient aux *Herpesviridae*.

Il comprend :

un ADN bicaténaire

une capsidie icosaédrique,

une enveloppe (d'origine cellulaire, contenant des glycoprotéines d'origine virale : les spicules)



Cellules cibles : cellules exclusivement humaine → cellules épithéliales de l'oropharynx et les lymphocytes B . .

##### Caractéristiques du cycle viral

Contrairement aux autres herpès virus, il est **peu cytotytique** mais possède un pouvoir transformant, c'est à dire qu'il **donne aux cellules infectées la propriété de croissance indéfinie in vitro** (immortalisation)

Le virus pénètre généralement dans l'organisme par voie orale.

- Il infecte de manière complète, lytique, les **cellules épithéliales du pharynx et des glandes salivaires**, avec **excrétion de virus dans la salive**.
- Il infecte les **lymphocytes B**, (intègre son génome dans l'ADN du LB mais ne provoque pas la lyse de la cellule et ne libère pas de virion : le cycle est dit abortif) et **provoque leur prolifération polyclonale**. Ces LB deviennent immortels.  
La prolifération des LB induit une réponse immunologique faite d'une prolifération polyclonale des lymphocytes Tc qui la contrôle et qui est responsable du syndrome mononucléosique.
- Le virus **persiste à vie dans les lymphocytes B** sous forme d'ADN génomique, donnant une infection latente, abortive et **immortalisant** ces cellules.

*Remarques* : En cas d'immunodépression (SIDA, greffé d'organe ou de moelle osseuse ....) portant sur les lymphocytes T, la lymphoprolifération B induite par l'EBV se trouve incontrôlée et peut aboutir à un lymphome de Burkitt, une leucémie aiguë lymphoblastique (*cf. cours d'hématologie*), de même la prolifération des cellules infectées de l'oropharynx aboutit au carcinome nasopharyngé.

Ce virus pourrait aussi être impliqué dans la maladie de Hodgkin - *cf. cours d'hématologie*

**MNI** une maladie de **l'adulte jeune ou de l'adolescent**, bénigne, lymphoproliférative B induite par EBV et contrôlée par les lymphocytes T.

➤ Principaux antigènes exprimés pendant la multiplication du virus EBV :

- **présence, dans 60 à 80% des cas, d'Ac hétérophiles particuliers « associé à la MNI »**

Ce sont des IgM qui apparaissent pour des raisons mal connues quelques jours après le début des signes cliniques et disparaissent 1 à 3 mois plus tard.

Ils sont différents des Ac anti-Ag de Forssmann, Ac hétérophiles présents chez de nombreux individus.

Ac hétérophiles	Ac de type Forssmann	Ac de type MNI
Ag hétérophiles situés sur :		
GR humain A et AB	X (parfois)	X
GR mouton, cheval, chien, chat	X	X
GR de boeuf		X

*Légende X : reconnaissance spécifique*

- **présence d'Ac spécifiques anti-virus EB**

Ils sont produits selon la chronologie suivante:

1. **Ac anti-VCA** (contre l'Ag de capsid - virus capsid Antigen) : IgM, IgG, IgA. subsistent tout au long de la vie, excepté les IgM
2. **Ac anti-EA** (contre les Ag précoces cytoplasmiques – Early Ag) : IgG apparaissant dans 60 % des cas et disparaissant en quelques mois
3. **Ac anti-EBNA** (contre l'Ag nucléaire - Epstein Barr Nuclear Antigen) : Ils apparaissent plus tardivement (1 à 6 mois après l'infection)

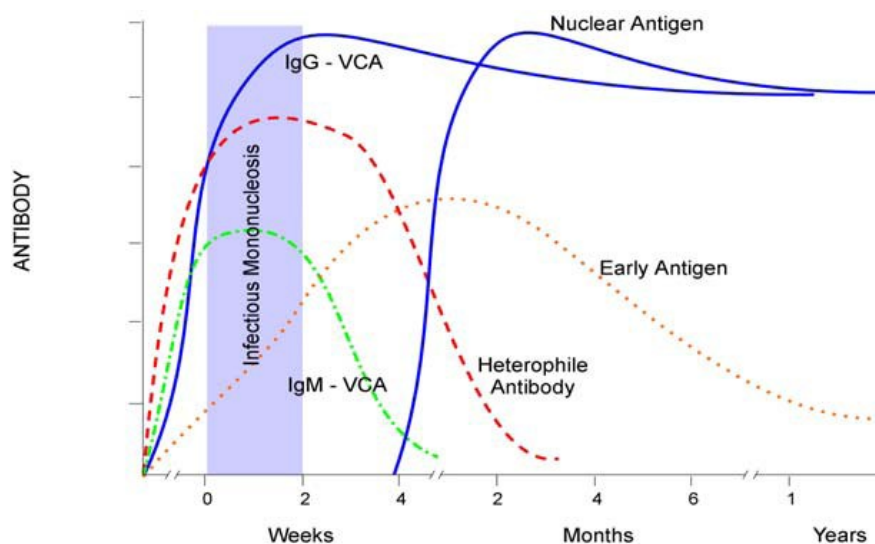


Fig 5: Cinétique de la concentration en anticorps lors d'une infection par EBV

➤ **Examens sérologiques**

**① Recherche et titrage des Ac hétérophiles**

- ✓ **MNI-test** : test rapide – réaction qualitative d'agglutination directe sur lame entre les Ac hétérophiles de type MNI présents dans le sérum d'un patient et des GR de cheval.

**② Recherche et titrage des Ac spécifiques**

Trois Ac spécifiques anti-EBV (Ac anti-VCA , anti-EA et anti-EBNA) différents doivent être titrés simultanément.

Exemples de techniques :

- immunofluorescence directe (sérum mis en présence d'une culture cellulaires infectées par le virus (conjugué anti-Ig)
- système immunoenzymatique sur membrane utilisant des Ag pour la détection des IgM anti-EBV du sérum
- immunochromatographie

**Des Ac-antiVCA en absence d'EBNA signe une primo-infection.  
La présence simultanée des 2 types d'Ac est le témoin d'une infection ancienne**



Après étude des réactifs utilisés et de la procédure (indiqués ci-dessous) de détection d'Ac spécifiques de EBV, expliquer le principe de la réaction. Un schéma réactionnel est attendu. Proposer un ou de témoins permettant la validation de la technique.

### Réactifs

3 bandelettes de nitrocellulose coatées avec les antigènes recombinants :

- 1 bandelette coatée avec VCA,
- 1 bandelette coatée avec EA
- 1 bandelette coatée avec EBNA

Solution tampon de lavage

Conjugué anti-IgM humaines : anti-IgM humaines de lapin conjugué à la peroxydase de raifort)  
Substrat TMB

### Procédure

1. Incubation du sérum : Déposer chaque membrane dans une gouttière du plateau d'incubation à l'aide de la pince plastique en orientant la face numérotée au dessus. 2 mL de solution tampon sont déposés dans chaque gouttière.
2. 20 µL de l'échantillon sérique sont ajoutés .
3. Les plateaux sont placés sur un plateau oscillant et incubés 1 heure à température ambiante.
4. Aspirer ou pipeter complètement les solutions dans chaque gouttière.
5. Ajouter 2 mL de solution tampon et incuber 5 minutes sur le plateau oscillant.
6. Répéter ce lavage 2 fois.
7. Incubation du conjugué : 2 mL de conjugué sont ajoutés.
8. Incuber 30 minutes sur le plateau oscillant.
9. Aspirer ou pipeter complètement les solutions dans chaque gouttière.
10. Laver 3 fois 5 minutes les bandelettes dans 2 mL de solution tampon.
11. Coloration : ajouter 1.5 mL de substrat TMB. Laisser incuber 5 minutes et arrêter la réaction.
12. Le substrat TMB est éliminé par absorption ou pipetage et la bandelette est lavée 3 fois avec de l'eau distillée.
13. Les bandelettes sont ensuite séchées sur papier filtre pendant deux heures.
14. Conserver les bandelettes à l'abri de la lumière.

# - Chapitre 3 -

## Syndromes myéloprolifératifs chroniques (SMPC)

### Généralités

#### 1 - Définition

- Prolifération monoclonale résultant de la transformation d'une cellule souche myéloïde pluripotente.
- Multiplication des cellules hématopoïétiques spontanée même en absence des facteurs de croissance : elle échappe à toute régulation.
- Prolifération sans blocage de la maturation au stade chronique de la maladie.

#### 2 - Caractères communs des SMPC

La prolifération monoclonale sans blocage de maturation entraîne :

- Une hyperplasie de la moelle osseuse
- La reprise de l'hématopoïèse dans les os longs (ex : fémur)
- La reprise de l'hématopoïèse extra-médullaire dans la rate, le foie : d'où hépatosplénomégalie

#### 3 - Quatre types principaux de SMPC

- **Leucémie myéloïde chronique (LMC)**
  - ☞ prolifération touchant surtout les lignées granuleuses
- **Myélofibrose primitive (MFI) ou splénomégalie myéloïde ou ostéomyélosclérose**
  - ☞ prolifération touchant les 3 lignées myéloïdes
- **Polyglobulie de Vaquez**
  - ☞ prolifération touchant surtout la lignée érythroblastique
- **Thrombocytémie essentielle**
  - ☞ prolifération touchant surtout la lignée mégacaryocytaire.

Dans ce chapitre, seront étudiés :

**Fiche 1 : Leucémie myéloïde chronique (LMC)**

**Fiche 2 : Splénomégalie myéloïde ou myélofibrose primitive**

**Fiche 3 : Thrombocytémie essentielle**

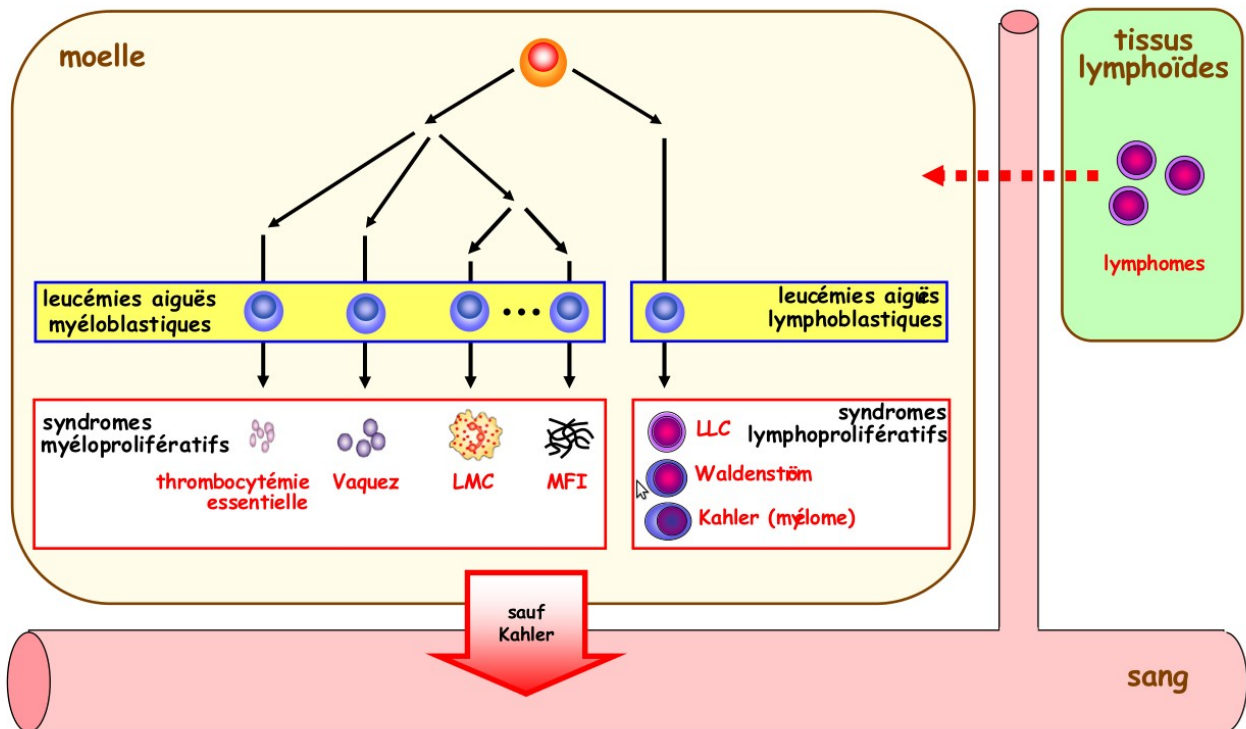


Fig 6: Schéma : hémopathies malignes  
d'après Olivier Hérault - Hématologie - Université & CHU de Tours



## Chapitre 3 – Fiche 1

# Leucémie myéloïde chronique

## 1 - Définition

**Syndrome myéloprolifératif chronique (SMPC) associant :**

- **Prolifération prédominante de la lignée granuleuse** dans la moelle osseuse, la rate **sans arrêt de maturation** (au stade chronique de la maladie) : → myélémie
- Une **anomalie chromosomique acquise spécifique** :  
le chromosome Philadelphie : Ph1, translocation réciproque 9 ↔ 22  
ou une anomalie chromosomique plus limitée
- Une évolution en leucémie aiguë de façon irrémédiable, au bout de 3 à 4 ans (en absence de greffe osseuse) ⇒ un pronostic mauvais bien que modifié avec les progrès thérapeutiques (glivec® – anti-tyrosine kinase bcr-abl, greffe de moelle,...)
- Survient plutôt entre 20 et 40-50 ans.

## 2 - Hémogramme



**C'est l'élément fondamental du diagnostic.**

### ① Hyperleucocytose souvent considérable

toujours > 50 G/L - souvent 100 à 300 G/L  
il existe des variations importantes d'un jour à l'autre chez un même patient.

### ② Formule leucocytaire souvent très évocatrice

- ✓ **Myélémie constante, massive (20 à 50 %), comportant tous les stades de maturation, avec respect de la pyramide car :**  
il n'y a pas blocage de la maturation.  
les cellules ont un aspect normal.
  - nombreux métamyélocytes neutrophiles (10 à 30 %)
  - nombreux myélocytes neutrophiles (10 à 25 %)
  - Promyélocytes plus rares (5 à 10 %)
  - **Myéloblastes toujours < 5 % au stade chronique de la maladie**
- ✓ **Polynucléose neutrophile nette**
- ✓ **Basophilie et/ou éosinophilie**
- ✓ Nombre des lymphocytes et des monocytes (G/L) reste normale ou diminué

### ③ **Hématies, hémoglobine**

- le plus souvent anémie normochrome normocytaire arégénérative modérée
- parfois valeurs normales

### ④ **Plaquettes**

- fréquemment thrombocytose modérée (500 à 800 G/L)
- plus rarement thrombopénie ou hyperthrombocytose plus importante.
- les plaquettes peuvent avoir des tailles très différentes, présence fréquente de plaquettes géantes ayant jusqu'à 10 µm.

**Leucocytose > 75 G/L**

**Polynucléose neutrophile**

**Éosinophilie et /ou basophilie**

**Myélémie > 20 %**



**orientent vers une LMC**



### **Diagnostic différentiel:**

Dans certains cas, le diagnostic est plus difficile, en particulier lorsque la leucocytose et la myélémie ne sont pas très élevées ; il faut alors éliminer les autres causes de myélémie :

#### ■ **Myélémie réactionnelle** : causes le plus souvent infectieuses :

- hyperleucocytose et myélémies faibles et transitoires
- pas d'éosinophilie ni de basophilie

#### ■ **Autres syndromes myéloprolifératifs**

- **Thrombocytémie essentielle** est facile à éliminer car :

- le nombre de GB est normal ou < 20 G/L
- la myélémie est absente ou < 5 %
- nombre de plaquettes > 1000 G/L

- **Polyglobulie de Vaquez** est éliminée par la polyglobulie (nombre de GR augmenté et taux sanguin d'Hb augmenté)

- **Splénomégalie myéloïde** peut être plus difficile à éliminer :

- il y a toujours hyperleucocytose
- la myélémie peut atteindre 15 %
- il y a neutrophilie et basophilie
- mais il y a aussi une érythroblastose sanguine nette 5 à 10 %
- présence de dacryocytes et de schizocytes.

### 3 - Étude de la moelle

Le myélogramme est indispensable au diagnostic, il permet notamment une étude cytogénétique.  
Le myélogramme se caractérise par :

- ① une **extrême richesse cellulaire**  
Les cellules sont serrées les une contre les autres donc difficiles à identifier parfois. Il y a peu d'espaces gras.  
Les cellules sont serrées les une contre les autres donc difficiles à identifier parfois. Il y a peu d'espaces gras.
- ② une **hyperplasie granuleuse**
  - au début de la maladie, l'hyperplasie se fait au dépend des espaces gras puis il y a augmentation progressive du % des granuleux jusqu'à 95 %.
  - au stade chronique de la maladie :
    - la maturation est conservée, tous les stades sont présents et la pyramide de maturation est respectée.
    - le pourcentage de blastes reste inférieur à 5 -10 %
    - l'éosinophilie et la basophilie sont habituelles.
- ③ le pourcentage de la lignée érythroblastique et le pourcentage des lymphocytes sont diminués.
- ④ une **hyperplasie mégacaryocytaire**
  - Les mégacaryocytes sont plus nombreux que normalement
  - Certains peuvent être dystrophiques :
    - petite taille (10 µm)
    - peu polypoïde

## 4 - Analyse cytogénétique

Le diagnostic est établi lorsque le chromosome Philadelphie et le gène bcr- abl<sup>6</sup> sont retrouvés .

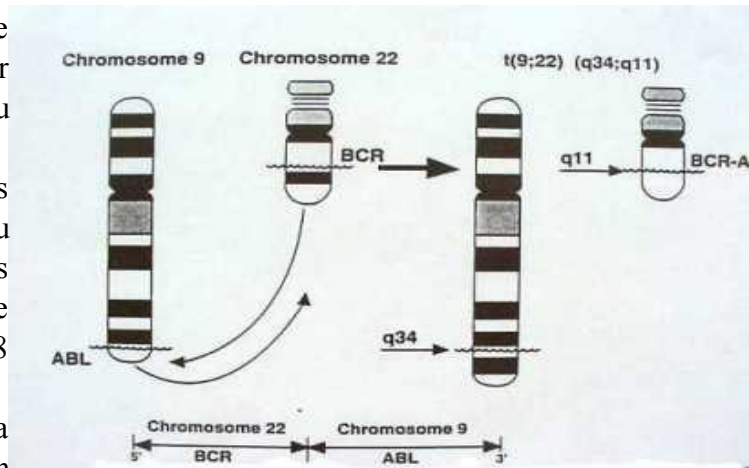
Le gène de fusion hybride bcr-abl code pour une nouvelle enzyme, une tyrosine kinase, responsable du pouvoir oncogène.

### 4.1 - Caryotype

Le matériel de choix est la moëlle osseuse. Le prélèvement doit être effectué stérilement sur tube hépariné (héparinate de lithium ou héparinate de sodium).

Après numération du prélèvement, les cellules sont mises en culture, dans un milieu synthétique sans adjonction de mitogène, puis à l'étuve (37°C) pour une durée variant de quelques heures (examen direct) à 24 ou 48 heures.

Les étapes suivantes comportent l'arrêt de la culture par adjonction de colchicine, suivi d'un choc hypotonique et de plusieurs fixations (méthanol-acide acétique). Le culot cellulaire obtenu est alors étalé sur lame.



### 4.2 - Techniques FISH (Fluorescence In Situ par Hybridation)

cf. livret « anatomopathologie » - 3 ème partie – cytogénétique.

Les techniques d'hybridation in situ reposent sur la capacité des fragments d'ADN marqués par un ou plusieurs fluorochromes (sondes) d'ADN de s'hybrider spécifiquement avec un ADN complémentaire (préparation chromosomique dénaturée sur lame) grâce à la complémentarité des bases nucléotidiques.

Les hybrides non spécifiques et les molécules de sonde non hybridées sont éliminés par lavages.

Les hybrides spécifiques sont révélés par immunofluorescence.

Un microscope à épi fluorescence, équipé de filtres appropriés aux nombreux fluorochromes disponibles et couplé à un logiciel d'analyse, permet la lecture des préparations FISH.

Les sondes spécifiques BCR et ABL ont été choisies en fonction de leur position par rapport au point de cassure. Le diagnostic repose alors sur la fusion des spots du 9 et 22 sur le chromosome Philadelphie. Cette recherche ciblée peut s'appliquer sur les chromosomes métaphasiques mais aussi interphasiques, c'est-à-dire sur les noyaux cellulaires.

<sup>6</sup> bcr : breakpoint cluster region - abl : « Abelson »

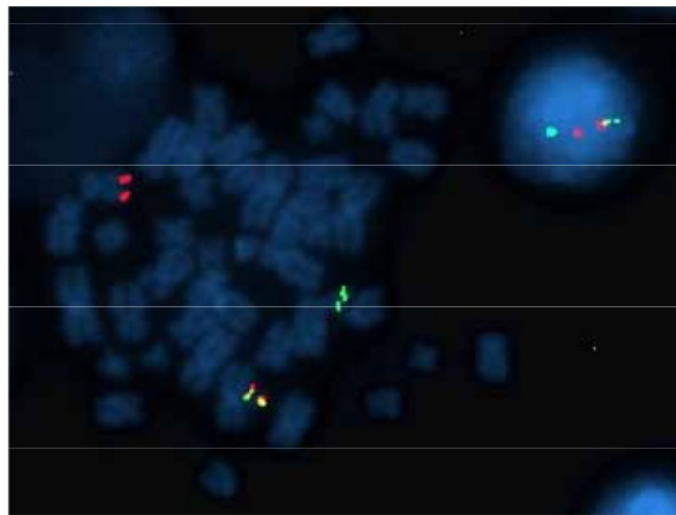
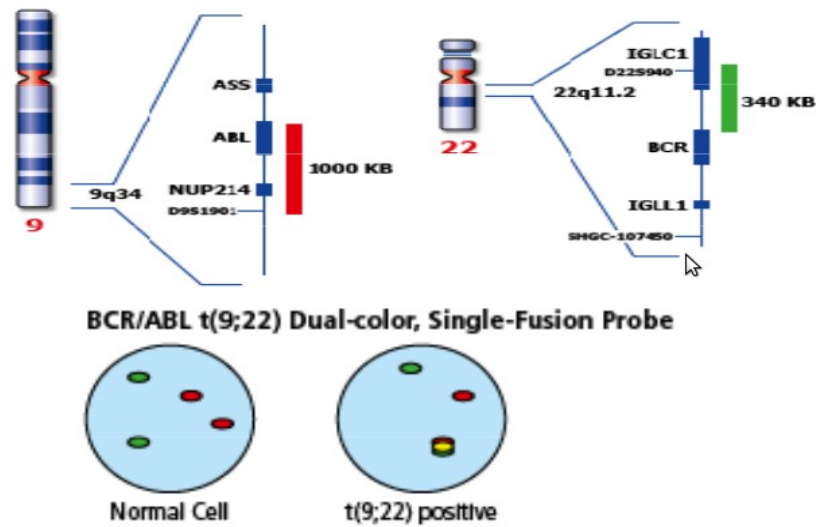


Fig 7: Technique FISH appliquée au diagnostic de la LMC

## 5 - Analyses biochimiques

Dosages sanguins	Résultats
Phosphatase alcaline	↘
Acide urique	↗
Lactate déshydrogénase	↗
Vitamine B12	↗

## 6 - Conclusion



L'hémogramme a lui seul évoque une LMC

L'étude de la moelle montre l'hyperplasie granuleuse.

Si tous les précurseurs présents indiquent que la pyramide de maturation et si le pourcentage de blastes est  $< 5\%$  dans le sang ou  $< 10\%$  dans la moelle : il s'agit de la phase chronique de la maladie.

La confirmation sera faite par la mise en évidence du chromosome Philadelphie (ou de la translocation 9 – 22 ) caractéristique de cette leucémie.

**Attention :** si le pourcentage de blastes est  $> 5\%$  dans le sang ou  $> 10\%$  dans la moelle, cela signifie qu'un blocage de la maturation s'installe, il y a acutisation : la LMC évolue vers une leucémie aiguë.

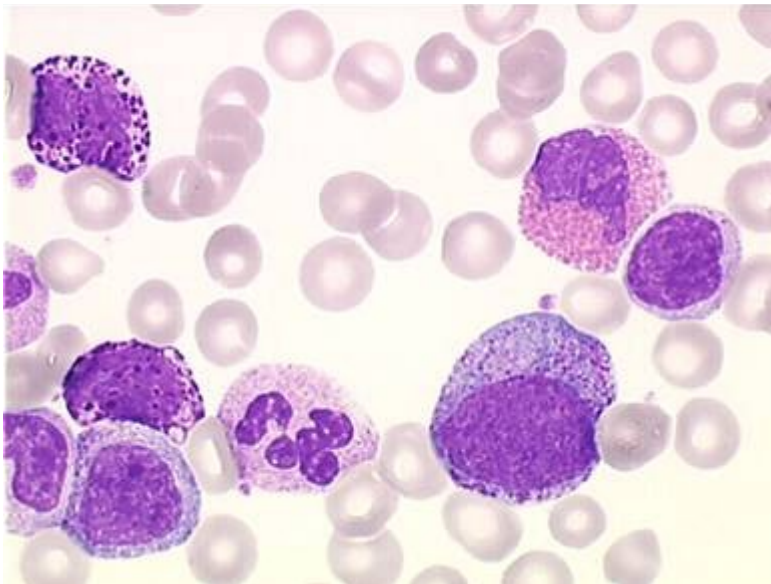


Illustration 7: Aspect du frottis sanguin lors d'une LMC (stade chronique)

## Chapitre 3 – Fiche 2

# Splénomégalie myéloïde ou myélofibrose primitive

## 1 - Définition

C'est un **syndrome myéloprolifératif** (rare) associant :

- une **prolifération maligne monoclonale de cellules souches hématopoïétiques** : les 3 lignées myéloïdes sont touchées.
- la **prolifération mégacaryocytaire** est un signe essentiel de la maladie.
- une **prolifération fibroblastique réactionnelle non clonale**, (stimulée par des cytokines relarguées par la prolifération mégacaryocytaire), **présente d'emblée et évolutive**, provoquant une **myélofibrose médullaire** : augmentation de la densité des fibres de réticuline puis de collagène pouvant aller jusqu'à l'**ostéomyélosclérose**.
- une **hématopoïèse extra-médullaire** : **métaplasie hépato-splénique** expliquant notamment la **splénomégalie**.
- Survient plutôt chez le sujet âgé de 50 à 70 ans (prédominance masculine).

## 2 - Hémogramme

Hyperleucocytose modérée (souvent 20 G/L) avec

- myélémie modérée (< 15 %)
- souvent neutrophilie, éosinophilie et basophilie

Anémie normochrome normocytaire avec érythroblastose fréquente, parfois polyglobulie

- anisocytose importante,
- poïkilocytose : nombreux **dacryocytes** (lié à la myélofibrose), schizocytes
- érythroblastose fréquente (< 10 %)

Plaquettes en nombre variable (normal dans 50 % des cas, ou augmenté ou diminué) avec des plaquettes géantes.

## 2.1 - Étude de la moelle osseuse

### 2.1.1 - Myélogramme

Il est le plus souvent un échec :

- la ponction est impossible en raison de la dureté de l'os
- l'aspiration éventuelle est très pauvre à cause de la fibrose.

### 2.1.2 - Biopsie médullaire (indispensable)

Elle permet :

- d'affirmer le diagnostic en montrant une myélofibrose nette et d'emblée
- d'apprécier le degré d'évolution de la maladie.

**Stade 1 :**

- augmentation de la densité des fibres de réticuline et des fibroblastes, réduction des adipocytes
- hyperplasie érythroblastique, granuleuse et surtout mégacaryocytaire (l'hématopoïèse est conservée).

**Stade 2 :**

- le réseau de réticuline est très dense, des fibres de collagène apparaissent
- diminution du nombre de cellules hématopoïétiques sauf des mégacaryocytes qui sont nombreux et dystrophiques.

**Stade 3 : ostéomyélosclérose**

- formation de tissu osseux
- seul, quelques mégacaryocytes très dystrophiques persistent

Les signes d'insuffisance médullaire sont alors nombreux :

- anémie normochrome normocytaire arégénérative
- thrombopénie avec risque d'hémorragie
- neutropénie avec risque infectieux.

## 2.2 - Examens complémentaires

Les phosphatases alcalines leucocytaires sont élevées, ainsi que l'acide urique (hyperdestruction cellulaire liée à la myéloprolifération).

Les radiographies osseuses montrent l'augmentation de densité des os.

L'étude isotopique au fer 59 ou la scintigraphie à l'indium 111 affirme la métaplasie hépato-splénique

**Attention :**

absence de chromosome Philadelphie ou de réarrangement bcr-abl.

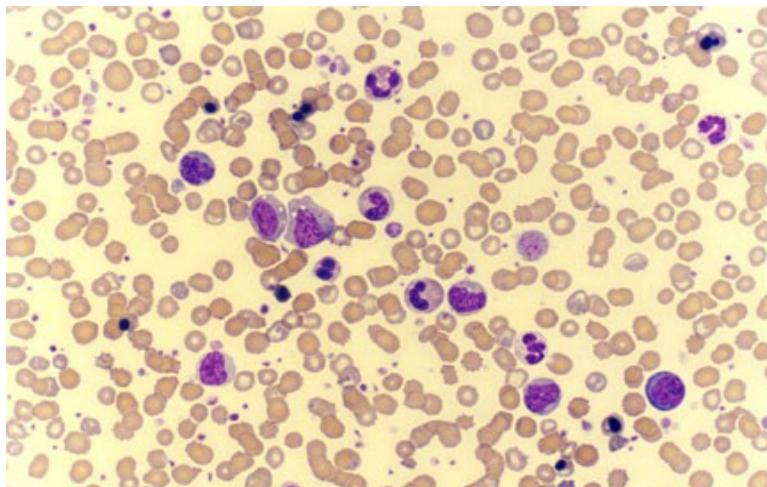


Illustration 8: Frottis sanguin coloré au MGG : noter l'érythro-myélémie, l'anisoplaquettose (plaquettes géantes), la présence de quelques dacryocytes.



## Chapitre 3 – Fiche 3

# Thrombocytémie essentielle (TE)

## 1 - Définition

**Syndrome myéloprolifératif chronique (SMPC) rare caractérisé par :**

- une thrombocytose (>600 G/L de façon permanente : 2 hémogrammes à 1 mois d'intervalle)
- une prolifération excessive de mégacaryocytes
- des accidents thrombotiques et hémorragiques.

Jusqu'à présent, le diagnostic de TE était un **diagnostic d'exclusion**. Actuellement il a été montré **chez 50 % des TE, il existe une mutation V617F de JAK2<sup>7</sup>** :

Touche l'adulte (50 – 60 ans) avec une égale fréquence de sexe; autre petit pic de fréquence vers 30 ans (femmes)

## 2 - Hémogramme

### 2.1 - Plaquettes

**Nombre :** > 600 G/L sur deux hémogrammes successifs à un mois d'intervalle ; le plus souvent entre 1000 et 1200 G/L (peut même atteindre 2 à 4 T/L)

N.B. La distinction entre thrombocytémie et thrombocytose est difficile sur la base du seul nombre des plaquettes sanguines, cependant il est rare que les thrombocytoses dépassent le seuil de 1000 G/L.

**Frottis sanguin :** anisocytose plaquettaire avec de nombreuses plaquettes géantes.

### 2.2 - Leucocytes

**Hyperleucocytose modérée** (10 à 20 G/L) due à une neutrophilie parfois une basophilie ou une éosinophilie

Parfois une myélémie légère (< 5 %).

#### **Hématies, hémoglobine**

absence d'anomalie de la lignée érythrocytaire, en particulier absence d'anémie sauf en cas d'hémorragies répétées (carence en fer) une anémie hypochrome microcytaire est alors observée.

<sup>7</sup> La mutation **V617F de JAK2** est décelée dans 90 % des cas de polyglobulie de Vaquez, 43 to 67% des cas de myélofibrose primitive

JAK (Janus Kinase 2) est une enzyme cytoplasmique appartenant au groupe des tyrosines kinases. JAK2/ transducteurs de signal et activateurs de la transcription agit sur la prolifération cellulaire, l'activation, la migration et l'apoptose.

### 3 - Étude de la moelle osseuse

Le **myélogramme** montre de nombreux mégacaryocytes polymorphes, souvent de grandes taille, avec un noyau à aspect en bois de cerf et des amas plaquettaires associés.

**La biopsie médullaire** (elle confirme le diagnostic)

Hyperplasie médullaire concernant les 3 lignées myéloïdes, mais touchant plus particulièrement la lignée mégacaryocytaire. Diminution des cellules adipeuses

Présence de mégacaryocytes dystrophiques : grande taille, à noyau hyperlobulé répartis en amas

Myélofibrose inexistante ou discrète.

**Analyse cytogénétique** : Mutation JAK 2 dans 50% des cas. Absence de chromosomes Philadelphie.

**Culture in vitro des progéniteurs médullaires** : formation spontanée de colonies mégacaryocytaires et érythroblastiques.

### 4 - Étude des fonctions plaquettaires

**Anomalie fonctionnelle des plaquettes** le plus souvent de type déficitaire avec troubles de l'hémostase primaire :

**Allongement du temps de saignement** variable

**Hypo-agrégabilité des plaquettes** fréquente (adrénaline, ADP).

### 5 - Conclusion



Le diagnostic se fait recherche de la mutation JAK2 (50 % des TE) ou par exclusion

Le diagnostic de thrombocytémie est retenu :

◆ si le nombre de plaquettes est > 600 G/L (2 hémogrammes à 1 mois d'intervalle)

◆ si les autres thrombocytoses de type réactionnelle ont été éliminés

On vérifiera donc l'absence de

✓splénectomie

✓maladie infectieuse ou maladie inflammatoires chroniques (VS, CRP normaux)

✓carence martiale (fer sérique normal, ferritine normale)

✓régénération médullaire due à une hémorragie, une hémolyse d'origine périphérique

✓certains cancers

◆ si les autres syndromes myéloprolifératifs ont été éliminés

✓LMC éliminé par l'absence de chromosome Philadelphie

✓Myélofibrose éliminé par l'absence de myélofibrose importante d'emblée et par l'absence de métaplasie hépato-splénique

✓Polyglobulie de Vaquez éliminé par l'absence de signes de polyglobulie (contrôle du volume globulaire isotopique).

# - Chapitre 4 -

## Syndromes lymphoprolifératifs chroniques (SLP)

### Généralités

Les syndromes lymphoprolifératifs constituent un groupe hétérogène d'hémopathies malignes dues à une prolifération clonale de cellules lymphoïdes pouvant être de nature B ou T avec anomalies fonctionnelles.

**Le clone de cellules lymphoïdes est bloqué à un stade de sa maturation.**

Si le blocage de maturation est proche de la cellule mature : syndromes lymphoprolifératifs chroniques.

L'expression : syndrome lymphoprolifératif est plutôt utilisé pour les formes chroniques. Ces affections malignes peuvent avoir ou non une expression sanguine.

- Schématiquement, on distingue :

#### 1 - Les syndromes lymphoprolifératifs dont l'origine est médullaire

SLP	Passage des cellules malignes dans le sang :	Prolifération clonale bloquée au stade :
<b>LLC : leucémie lymphoïde chronique</b> (leucémie la plus fréquente)	OUI (= leucémie)	Lymphocyte B
<b>Myélome multiple ou maladie de Kahler</b>	NON (= maladie non leucémique)	Plasmocyte immature immunologiquement
<b>Macroglobulinémie de Waldenström</b> (maladie rare)	NON généralement	Lymphocyte B se différenciant en plasmocyte

N.B. Il existe d'autres SLP (ex : Leucémie à tricholeucocytes , syndrome de Sésary....

## 2 - Les syndromes lymphoprolifératifs dont l'origine est ganglionnaire

Ils sont localisés essentiellement dans les ganglions lymphatiques : les **lymphomes malins**

On distingue 2 types de lymphomes malins

- la maladie de Hodgkin
- les lymphomes malins non hodgkiniens (LMNH)

Au cours de l'évolution des LMNH, des cellules ganglionnaires malignes peuvent passer dans le sang (aspect de lymphocytes atypiques)

Les fiches étudiées :

**Fiche 1 : Leucémie lymphoïde chronique**

**Fiche 2 : Myélome multiple ou maladie de Kahler**

**Fiche 3 : Macroglobulinémie de Waldenström**

**Fiche 4 : Dysglobulinémies monoclonales**

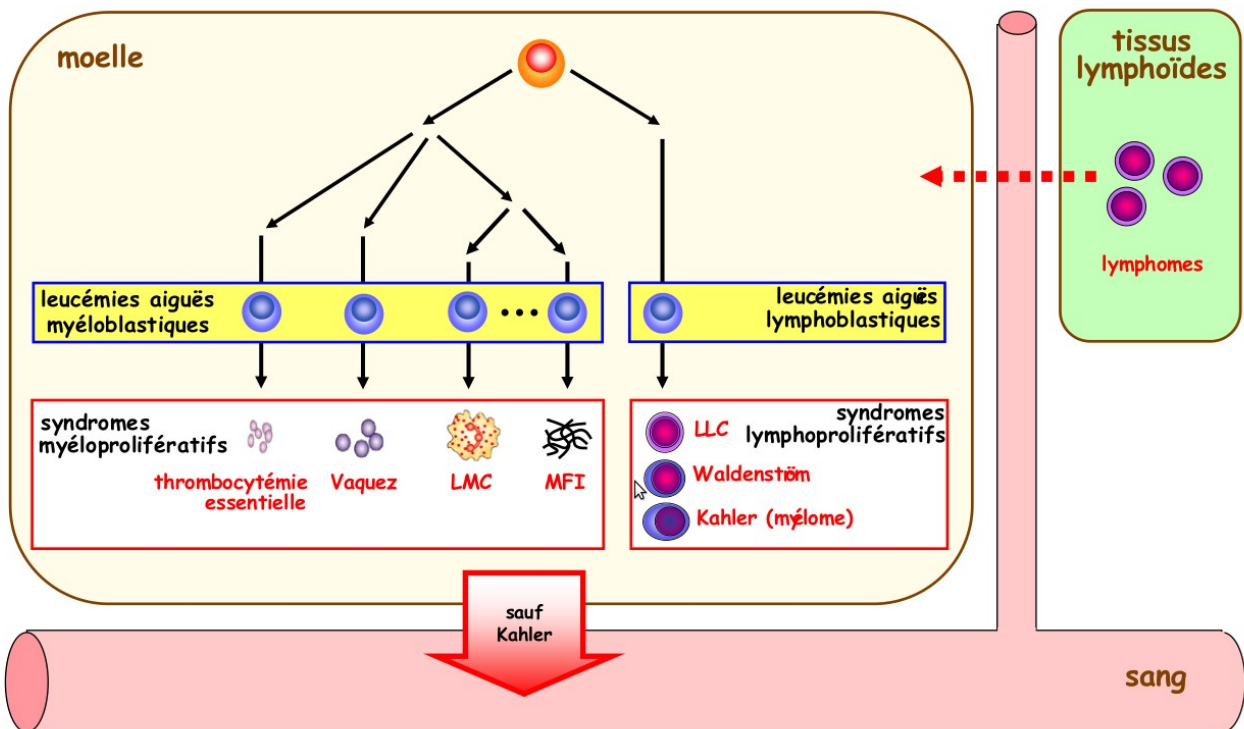


Fig 8: Schéma : hémopathies malignes

d'après Olivier Héroult - Hématologie - Université & CHU de Tours

## Chapitre 4 – Fiche 1

# L

# Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC)

## 1 - Définition

C'est un **syndrome lymphoprolifératif** défini par l'**expansion monoclonale, maligne, de lymphocytes B de morphologie mature mais de phénotype immature.**

Ces **lymphocytes B anormaux s'accumulent au niveau des compartiments médullaire, sanguin, ganglionnaire et splénique.** Ils sont le plus souvent normaux morphologiquement mais anormaux au plan fonctionnel.

Ces lymphocytes B présentent les Ag CD19 et CD20 et l'Ag **CD5** (habituellement marqueur de lymphocytes T) ; la monotypie des lymphocytes est prouvée par l'**expression d'une seule chaîne légère d'immunoglobuline** de faible intensité.

## 2 - Hémogramme



**C'est le premier élément du diagnostic : il suffit à évoquer une LLC.**

Il révèle **une hyperleucocytose franche due à une hyperlymphocytose** (80 à 90 % de lymphocytes)

**Lymphocytes > 4 G/L chez des personnes de plus de 50ans**  
**Souvent 20 à 50 G/L au début de la maladie**  
**Pouvant atteindre 300 G/L à un stade avancé de la maladie (rare)**

**L'aspect des lymphocytes est un caractère fondamental du diagnostic**

**Majorité de petits lymphocytes d'aspect normal**  
**Moins de 10 % de lymphocytes atypiques**  
**Présence de nombreuses cellules lysées ou ombre de Gumprecht**

Aspect normal des petits lymphocytes :

Taille : 10 à 12  $\mu\text{m}$   
 Noyau : rond, parfois encoché  
 chromatine condensée  
 sans nucléole

Cytoplasme : peu abondant, basophile

Quelques lymphocytes atypiques: (<10 %)

Noyau : forme plus irrégulière, nucléolée  
 Cytoplasme : plus abondant

Cellules lysées encore appelées ombre de Gumprecht :

Elles témoignent de la fragilité des lymphocytes ;  
 Elles ne sont pas spécifiques de la maladie.



**Attention : les ombres de Gumprecht sont comptées dans la formule sanguine.**

**Les autres cellules sanguines:**

Leur taux généralement normal au début de la maladie peut diminuer au cours de son évolution :

- anémie normochrome normocytaire (insuffisance médullaire ou anémie auto-immune)
- thrombopénie (insuffisance médullaire ou thrombopénie auto-immune)

### 3 - Myélogramme

Il montre un **nombre de lymphocytes très augmenté : > 20 %**

↳ Ce qui permet d'affirmer qu'il s'agit d'un syndrome lymphoprolifératif.

Les lymphocytes ont le même aspect que sur frottis sanguin : majorité de PL d'aspect normal.

**Un SLP avec une lymphocytose sanguine constituée de petits lymphocytes d'aspect normal oriente vers une LLC chez un adulte de plus de 50 ans.**

### 4 - Diagnostic

➤ **Arguments cliniques :**

- Importance de l'âge du sujet : la LLC n'existe que chez des **sujets de plus de 50 ans** (ce qui permet d'éliminer la plupart des lymphocytoses réactionnelles à PL qui surviennent surtout chez le jeune enfant)

- Signes cliniques évocateurs :

- **Adénopathies généralisées**
- Splénomégalie fréquente

➤ **Hémogramme orientant vers une LLC**

- Hyperleucocytose due à une lymphocytose persistante > 4 G/L
- Majorité de PL d'aspect normal
- Ombres de Gumprecht

↳ LLC suspectée

➤ **Étude de la moelle osseuse**

- Le myélogramme

Si infiltration lymphocytaire > 20 % ⇒ conclure à un syndrome lymphoprolifératif

**C'est la manifestation sanguine de ce SLP et l'aspect normal des PL qui permet de conclure à une LLC**

- La biopsie médullaire

Permet de préciser le degré d'envahissement de la moelle

Permet de connaître le type d'envahissement : nodulaire, diffus...

➤ **Phéno typage des lymphocytes est indispensable pour confirmer le diagnostic**

Il se fait à partir du sang et de la moelle osseuse.

On recherche les marqueurs des lymphocytes B.

Marqueurs recherchés	1 point	0 point
<b>CD5</b>	+	-
CD23	+	-
CD22 (CD79b)	Faible expression	Forte expression
FMC7	-	+
Ig de surface	Faible expression	Forte expression

Pour conclure définitivement à une LLC, on établit le score de Matute :  
si 4-5 points → LLC

## Chapitre 4 – Fiche 2

# M

## ylôme multiple ou maladie de Kahler

### 1 - Définition

Il s'agit d'un **syndrome lymphoprolifératif** se manifestant par **une infiltration plasmocytaire monoclonale maligne de la moelle osseuse sans passage des plasmocytes dans le sang.**

Cette prolifération maligne dans la moelle osseuse s'accompagne, en général de 3 types de manifestations :

✓**osseuses** : lésions osseuses, dues à l'ostéolyse au voisinage des foyers de prolifération plasmocytaire.

✓**biochimiques** : protéinémie importante due à la présence d'une Ig monoclonale dans le plasma.

✓**hématologiques** :

1. présence dans la moelle osseuse de **nombreux plasmocytes (>10-15% plasmocytes dystrophiques)**. Ces plasmocytes ne passent pas dans le sang.
2. **une insuffisance médullaire** (l'hématopoïèse est inhibée par l'expansion du clone myélomateux) au stage avancée de la maladie.

### 2 - Hémogramme

Il donne peu d'information

→L'élément évocateur est la **présence**, sur frottis sanguin coloré au MGG, de **rouleaux érythrocytaires** qui évoquent une importante hyperprotéinémie (ne pas les confondre avec les amas d'hématies des frottis trop épais !). Cette observation est confirmée par une **VS très augmentée  $\geq 100$  mm après 1h de dépôt.**

→Les **données quantitatives de l'hémogramme sont normales dans 1/3 des cas** .

→**Si on constate des signes d'insuffisance médullaire** due à la prolifération plasmocytaire:

- une anémie normochrome normocytaire arégénérative (majorée par l'hémodilution liée à l'hyperprotéinémie)
- une neutropénie et une thrombopénie plus tardive.



**Il n'y a pas de plasmocytose sanguine.**

### 3 - Myélogramme

Il suffit habituellement pour déceler l'infiltration plasmocytaire.

- Taux de **plasmocytes médullaires élevé  $\geq 15\%$**
- **Morphologie des plasmocytes variable**, souvent dystrophique.

#### Aspect normal du plasmocyte

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cellule ovale de 10 à 20 <math>\mu\text{m}</math></li> <li>• N/C = 1/3</li> <li>• Noyau : excentré, à chromatine très condensée en carapace de tortue</li> <li>• Cytoplasme : abondant, très basophile avec un archoplasme net.</li> </ul>
--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Principales caractéristiques des plasmocytes dystrophiques

	<u>Anomalie de taille</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gigantisme</li> </ul>
	<u>Anomalie du noyau</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cellule multinucléée (2 ou 4 noyaux)</li> <li>• Parfois peu excentrée</li> <li>• Chromatine lâche, nucléolée</li> </ul>
	<u>Anomalie du cytoplasme</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• basophilie parfois peu accentuée</li> <li>• absence d'archoplasme</li> <li>• présence de nombreuses vacuoles de petite taille ou parfois de taille très volumineuse occupant tout de volume cellulaire (<math>\rightarrow</math> cellule de Mott)</li> <li>• inclusions rougeâtres intra-cytoplasmiques d'Ig cristallisées mais non sécrétées = corps de Russel</li> <li>• contour irrégulier</li> </ul>



## 4 - Diagnostic hématologique

La maladie est évoquée chez un adulte de **plus de 60 ans** présentant des **douleurs osseuses**.

### ■ Étude du sang :

- L'hémogramme et la VS révèlent :

- sur frottis sanguin des **hématies en rouleaux**
- des signes d'insuffisances médullaires (ANN, neutropénie et thrombopénie) dans 2/3 des cas
- **VS  $\geq$  100 mm** après 1h de dépôt.

### ■ Étude de la moelle osseuse :

Le myélogramme est l'**élément essentiel du diagnostic** avec un **taux de plasmocytes élevé  $\geq$  10 %**.  
L'aspect des plasmocytes souvent dystrophiques doit être décrit.

Les autres lignées permettent d'apprécier s'il y a ou non des signes d'insuffisances médullaires.

Un phénotypage des plasmocytes est aussi réalisé.

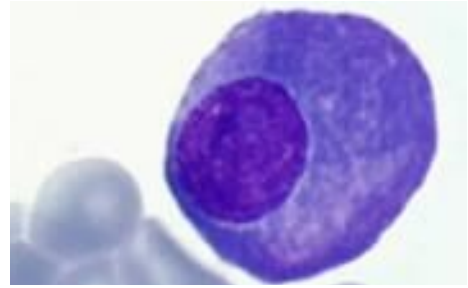
## 5 - Diagnostic biochimique

Les dosages biochimiques sont effectués parallèlement aux études hématologiques.

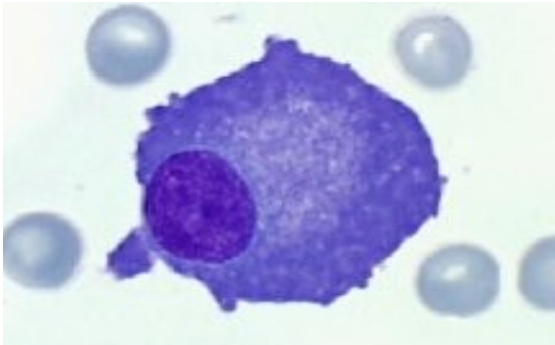
**Cas habituel : myélome sécrétant une Ig monoclonale complète (80 % des cas)**

- **Hyperprotidémie** ( $> 80$  g/L).
- **L'étude des Ig** révèle le caractère monoclonal de la maladie :
  - électrophorèse des protéines sériques qui caractérise un pic monoclonal au niveau des  $\gamma$  globulines
  - immunoelectrophorèse ou mieux immunofixation caractérisant la nature des chaînes lourdes et légères de ces  $\gamma$  globulines : IgG, IgA (IgD, IgE et IgM exceptionnelle)
- Une **protéinurie de Bence Jones** (chaînes légères monoclonales associées entre elles) est détectée généralement.
- **Hypercalcémie**

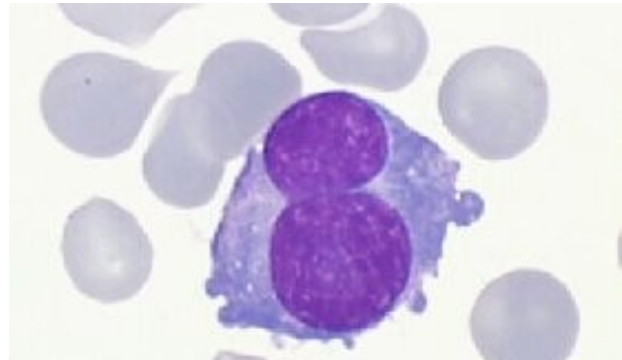
## Différents aspects des plasmocytes médullaires



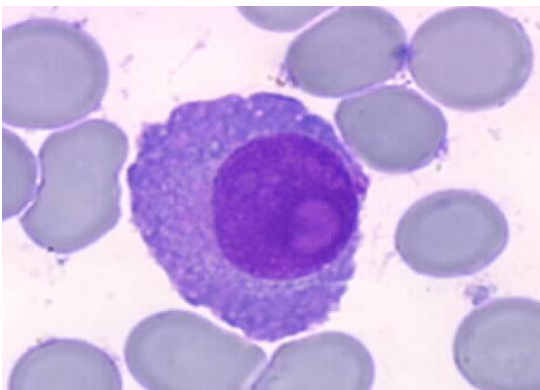
Plasmocyte normal



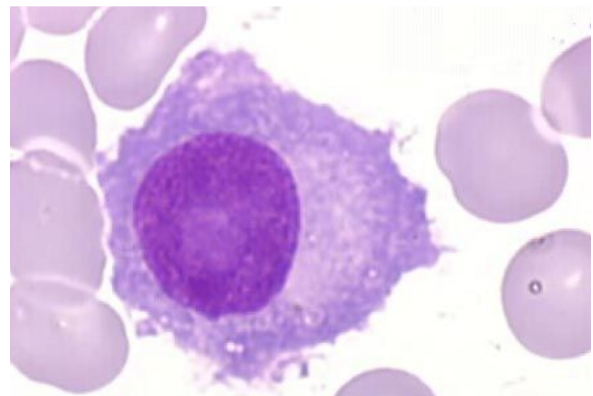
Plasmocyte géant à contour irrégulier



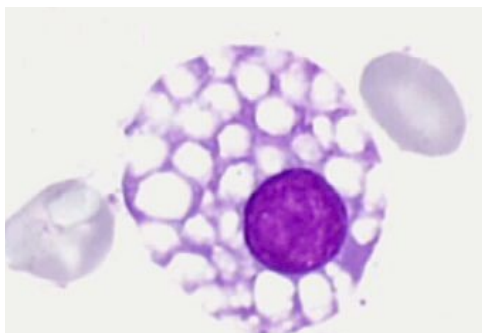
Plasmocyte binucléé



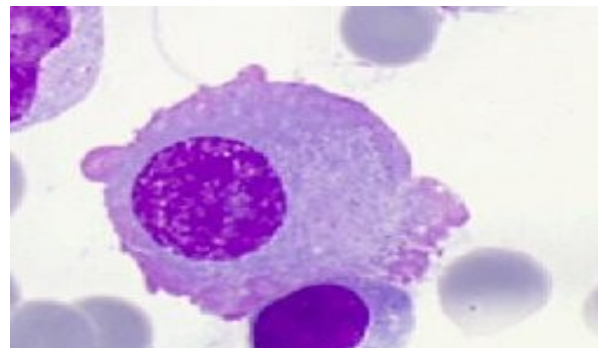
Plasmocyte à noyau immature  
(chromatine lâche, nucléoles)



Plasmocyte à noyau immature et  
cytoplasme peu basophile



Cellule de Mott



Plasmocyte à cytoplasme flammé

## Chapitre 4 – Fiche 3

# Macroglobulinémie de Waldenström

## 1 - Définition

C'est un syndrome lymphoprolifératif chronique, rare, de l'adulte (> 60ans – prédominance masculine) due à une prolifération médullaire lente, monoclonale de lymphocyte B se différenciant en plasmocytes avec sécrétion d'une IgM monoclonale.

La prolifération s'effectue dans la moelle osseuse et éventuellement dans les autres organes lymphoïdes, le passage dans le sang de ces lymphocytes B tumoraux est possible.

Remarques :

- l'infiltration lymphoïde dans la moelle osseuse est polymorphe
- la présence dans le sérum d'une IgM monoclonale en grande quantité a donné le nom à cette maladie : macroglobulinémie.

**Signes cliniques :**

- altération de l'état général (asthénie, amaigrissement, fièvre),
- syndrome d'hyperviscosité sanguine (céphalées, troubles visuels, vertiges, hémorragies des muqueuses...).
- présence d'adénopathies et/ou de splénomégalie à l'examen clinique

**Signes biologiques :**

- VS très accélérée
- gamopathie monoclonale à IgM
- présence dans l'urine des protéines de Bence et Jones (chaîne légère des IgM)

## 2 - Hémogramme et VS

**Anémie** : normocytaire normochrome arégénérative, des signes d'hémolyse (activité auto anticorps de l'IgM). L'anémie est majorée par hémodilution en cas d'hypervolémie par augmentation du taux de protéines (IgM),

**Sur frottis** : présence de rouleaux d'hématies

**Leucocytes** :

- Le plus souvent : formule normale
- Possibilité d'hyperlymphocytose (10% des cas) avec tous les intermédiaires entre petits lymphocytes et plasmocytes.

**Plaquettes** : Normales ou thrombopénie modérée.

**VS** accélérée, souvent > 100 mm après la 1ère heure

## 3 - Étude de la moelle osseuse

### Myélogramme : richesse cellulaire normale ou diminuée

↳ Infiltration lymphocytaire de la moelle (20 à 50%) polymorphe :

- Lymphocytes basophiles,
- Lymphoplasmocytes : formes intermédiaires entre lymphocytes et plasmocytes
- Plasmocytes (rare) . .

### Biopsie médullaire (seulement si le myélogramme est pauvre)

↳ Confirme l'infiltration lymphocytaire polymorphe avec hypoplasie du tissu hématopoïétique

↳ Précise le caractère diffus ou nodulaire de cette infiltration.

↳ Montre (50% des cas) une myélofibrose constituée de fibre de réticuline.

## 4 - Examens complémentaires

### 4.1 - Immunophénotypage

Le phénotypage des cellules tumorales est effectué dans le sang et dans la moelle osseuse, à l'aide d'anticorps monoclonaux.

On trouve les marqueurs présents sur les cellules de maturité intermédiaire entre le lymphocyte B et le plasmocyte :

IgM de surface, CD19, CD20, CD22

### 4.2 - Recherche des anomalies protéiques sériques et urinaires

cf. fiche 4

#### ❶ Études des protéines sériques montre

◆ Signes d'orientation (non spécifiques)

- Protéïnémie: élevée (> 80 g/L).
- **Électrophorèse des protéines sériques :**

↳ Bande ou pic anormal à base plutôt étroite, siégeant souvent dans la zone des gamma ou des beta globulines : ce pic d'allure monoclonal permet de suspecter une Ig monoclonale.

#### ◆ Examens de confirmation : examens immunologiques

- Immunoélectrophorèse (plus utilisée actuellement) ou immunofixation ⇒ Mise en évidence du caractère monoclonal de l'IgM: chaîne lourde  $\mu$  /1 seul type de chaîne légère  $\kappa$  ou  $\lambda$ .

#### ❷ Étude des protéines urinaires

↳ Protéinurie (sur échantillon des urines de 24 h) fréquente : > à 1g/L constituée de chaînes légères d'Ig (= protéinurie de Bence et Jones).

Chapitre 4 – Fiche 4

# Dysglobulinémies monoclonales

## 1 - Mise en évidence d'une dysglobulinémie monoclonale

### 1.1 - Signes d'orientation non spécifiques

- VS accélérée et présence de **rouleaux d'hématies** sur frottis sanguin.
- **Protéinémie élevée** (>80 g/L)
- **Électrophorèse.**

Définition : **Électrophorèse** = séparation de molécules chargées dans un champ électrique.

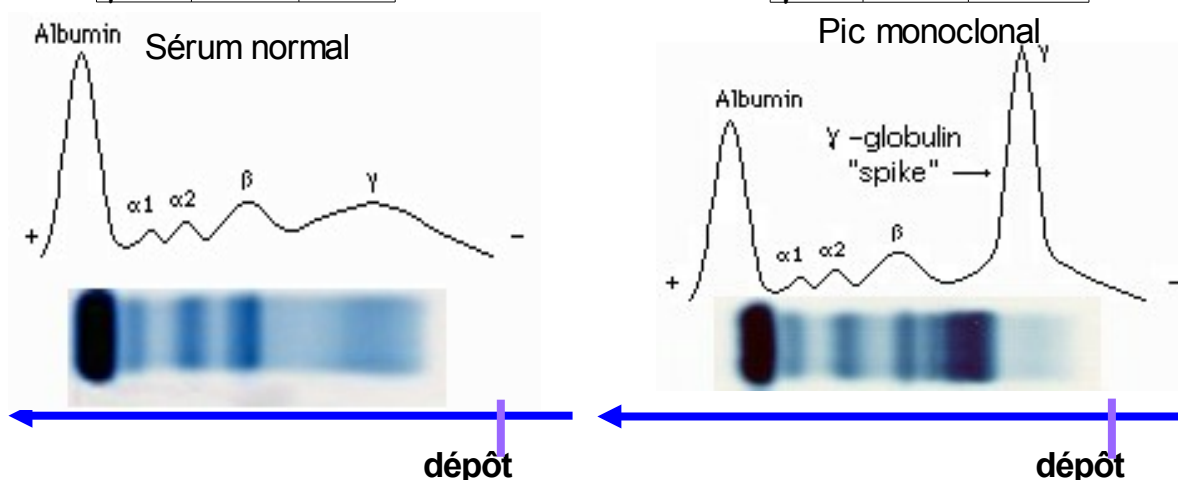
**Principe** : L'électrophorèse des protéines sériques s'effectue sur acétate de cellulose ou dans un gel d'agar à pH légèrement alcalin. À ce pH, les différentes protéines sériques sont chargées négativement. Par conséquent le sérum est déposé du côté de la cathode, les protéines migreront alors vers l'anode en fonction de leur charge et de leur taille.

**Intérêt** : Cette technique permet la séparation de l'albumine, et des globulines ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ).

La présence d'un pic monoclonal, bande étroite sur le tracé, localisée parfois dans la région des gamma globulines ou parfois des beta globulines, permet d'apprécier le taux de l'Ig monoclonale.

	%	g/L
P.T		65
Alb.	62,2	40,5
$\alpha_1$	3,8	2,5
$\alpha_2$	10,8	7,0
$\beta$	10,5	6,8
$\gamma$	12,7	8,2

	%	g/L
P.T		102
Alb.	40,8	41,6
$\alpha_1$	3,1	3,2
$\alpha_2$	7,9	8,0
$\beta$	10,3	10,5
$\gamma$	37,9	38,6



## 2 - Identification de l'isotype monoclonale

### 2.1 - Immunoélectrophorèse

Cette technique permet d'affiner l'identification des constituants d'un mélange antigénique.

#### 2.1.1 - Principe et technique

Deux propriétés indépendantes des constituants antigéniques sont utilisées :

leur mobilité électrophorétique → **électrophorèse**

leur spécificité antigénique → **immunodiffusion double et immunoprécipitation avec les Ac spécifiques.**

#### 1<sup>ère</sup> étape : migration électrophorétique des constituants du mélange antigénique.

Dépôt du sérum ou de l'urine dans un puits creusé dans un gel d'agar immunologiquement neutre pH alcalin (pH : 8,2)

**Electrophorèse** des molécules antigéniques en fonction de leur charge et de leur masse

#### 2<sup>ème</sup> étape : immunodiffusion double.

Création d'une gouttière creusée dans le gel puis dépôt de l'immunsérum (Ac)

**Immunodiffusion double** des Ag et Ac

Formation des immunocomplexes qui précipitent dans la zone d'équivalence sous forme d'arc

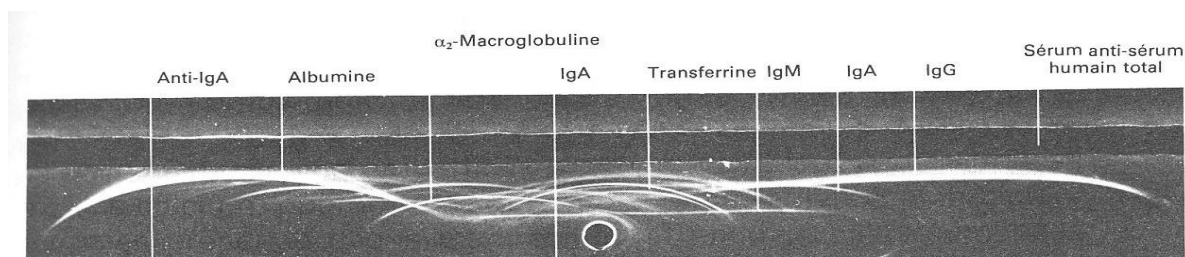
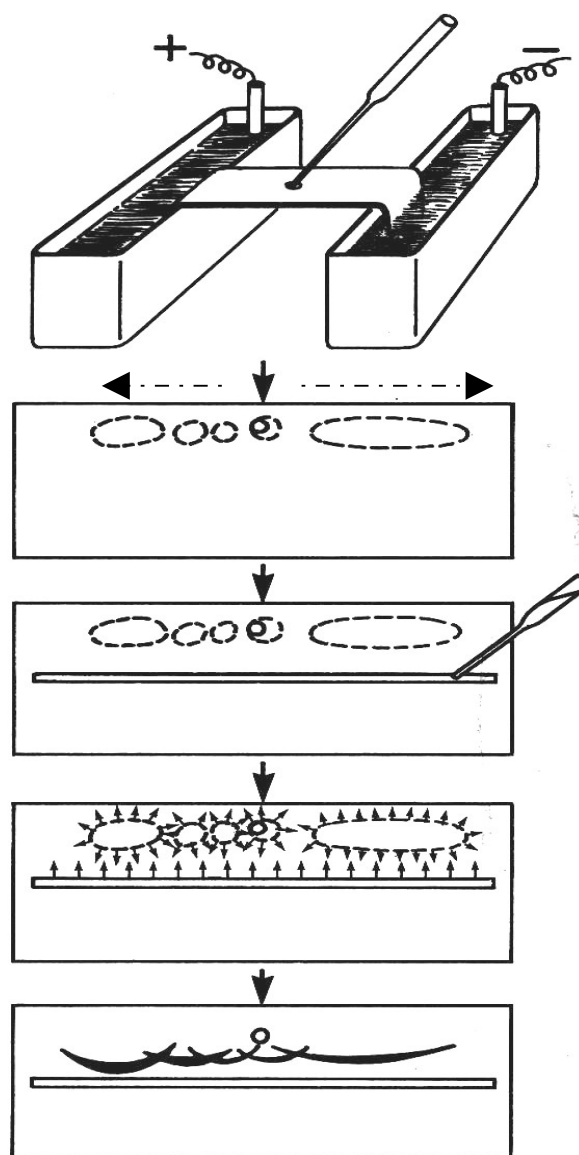
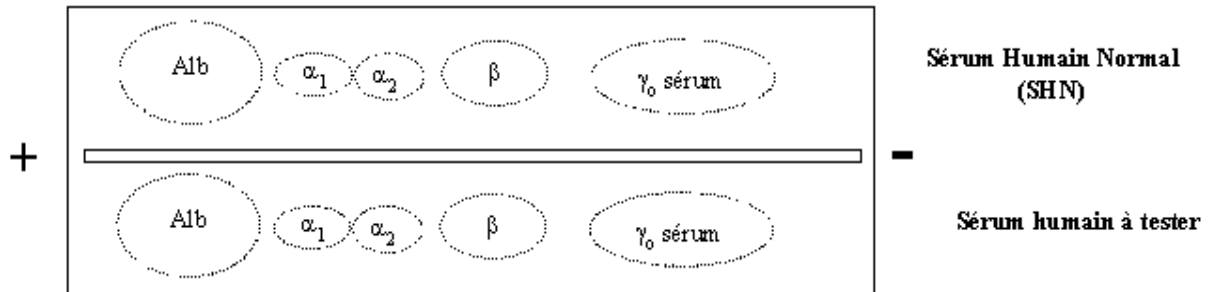


Fig 9: Immunoélectrophorèse d'un sérum normal

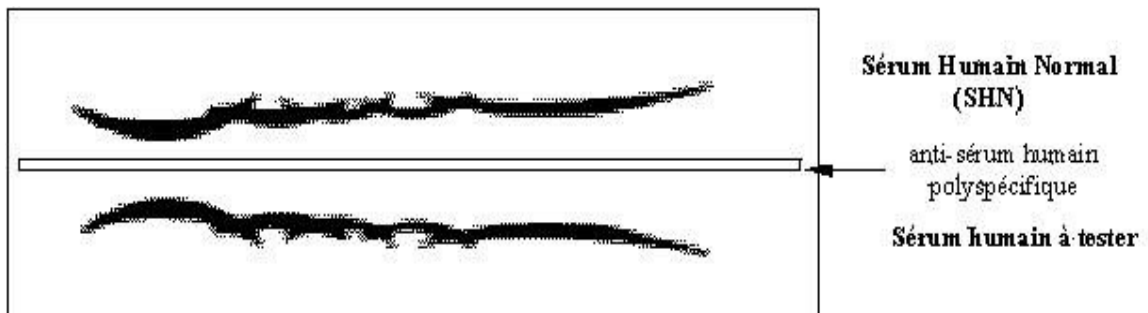
### 2.1.2 - Exemples: Immunoélectrophorèses comparées entre un sérum humain normal et un sérum humain à tester

#### 1er exemple : Étude d'un sérum X1 à tester

1 - Après électrophorèse



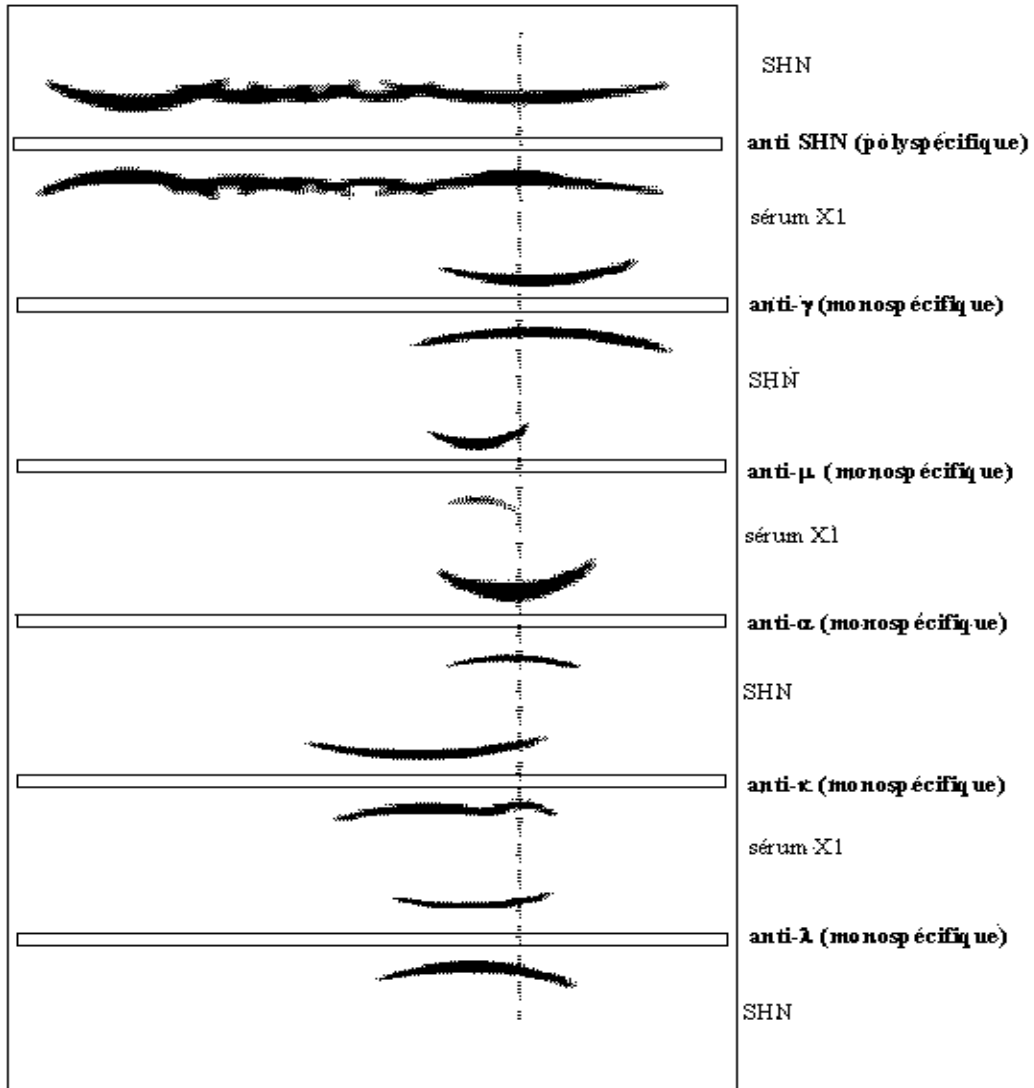
2 –Après immunodiffusion double et précipitation



Les arcs sont comparés selon 3 critères :

- leur déformations
- l'apparence de l'arc (longueur, épaisseur, densité)
- leur distance par rapport à la gouttière

Pour identifier précisément l'isotype de Ig monoclonale, on réalise simultanément plusieurs immunoélectrophorèse, en déposant dans la rigole des Ac anti-isotype- $\gamma$  (gamma) , anti-isotype  $\mu$ , (mu) anti-isotype  $\alpha$  (alpha), anti-isotype  $\kappa$  (kappa) et anti-isotype  $\lambda$  .(lambda).



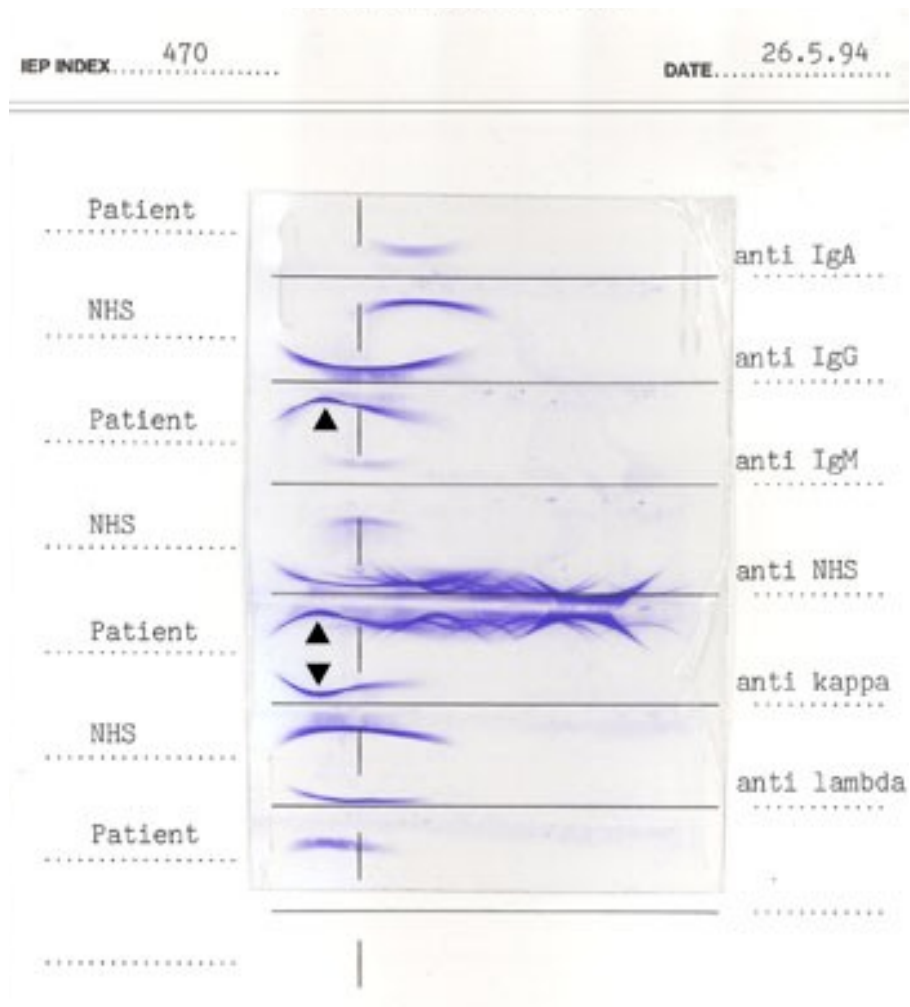
Conclusion : .....

.....



2ème exemple : Étude d'un sérum P à tester

P : patient  
C : contrôle



Conclusion : .....

.....

## 2.2 - Immunofixation

Cette technique tend actuellement à supplanter l'immunoélectrophorèse. Elle est plus facile d'interprétation, plus rapide (absence de diffusion double).

### 2.2.1 - Principe et technique

Deux propriétés indépendantes des constituants antigéniques sont utilisées :

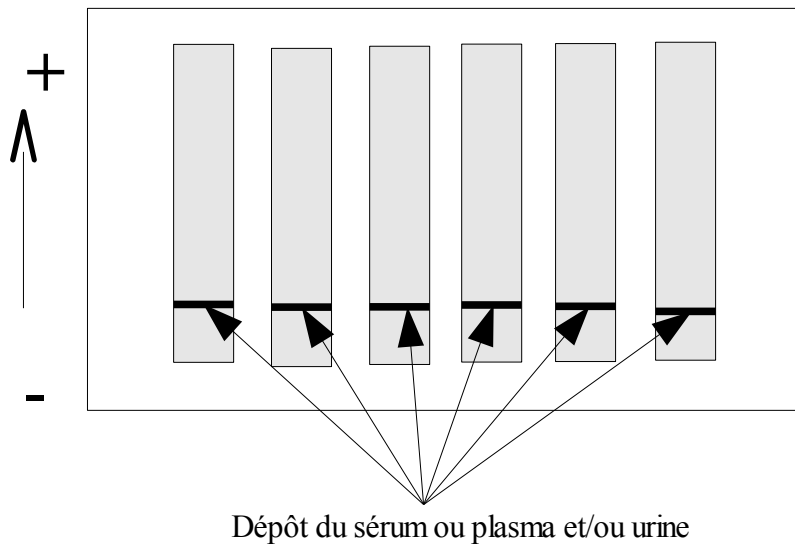
leur mobilité électrophorétique → **électrophorèse**

leur spécificité antigénique → **précipitation des Ag en présence des Ac spécifiques**  
(attention : pas de diffusion)

L'immunofixation se déroule en 2 étapes

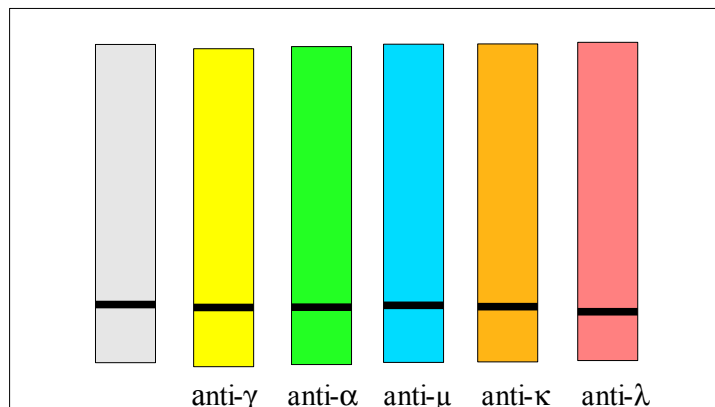
– **électrophorèse des protéines dans un gel d'agarose**

Les Ag contenus dans le plasma ou l'urine sont déposés sur plusieurs pistes du gel puis séparés en fonction de leur mobilité électrophorétique en les faisant migrer dans un champ électrique.



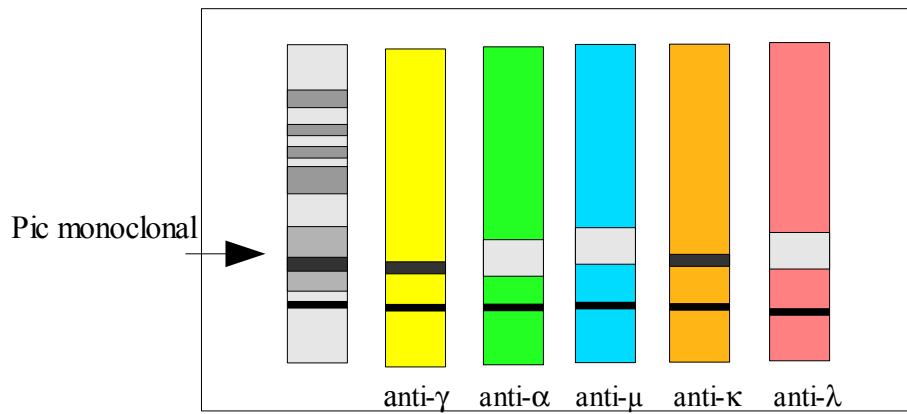
– **précipitation des protéines en présence des Ac spécifiques**

Les anticorps ne sont pas déposés dans une rigole, comme dans l'électrophorèse, mais sont ajoutés individuellement sur chaque piste de migration.



NB. La 1ère piste :  
électrophorèse simple.

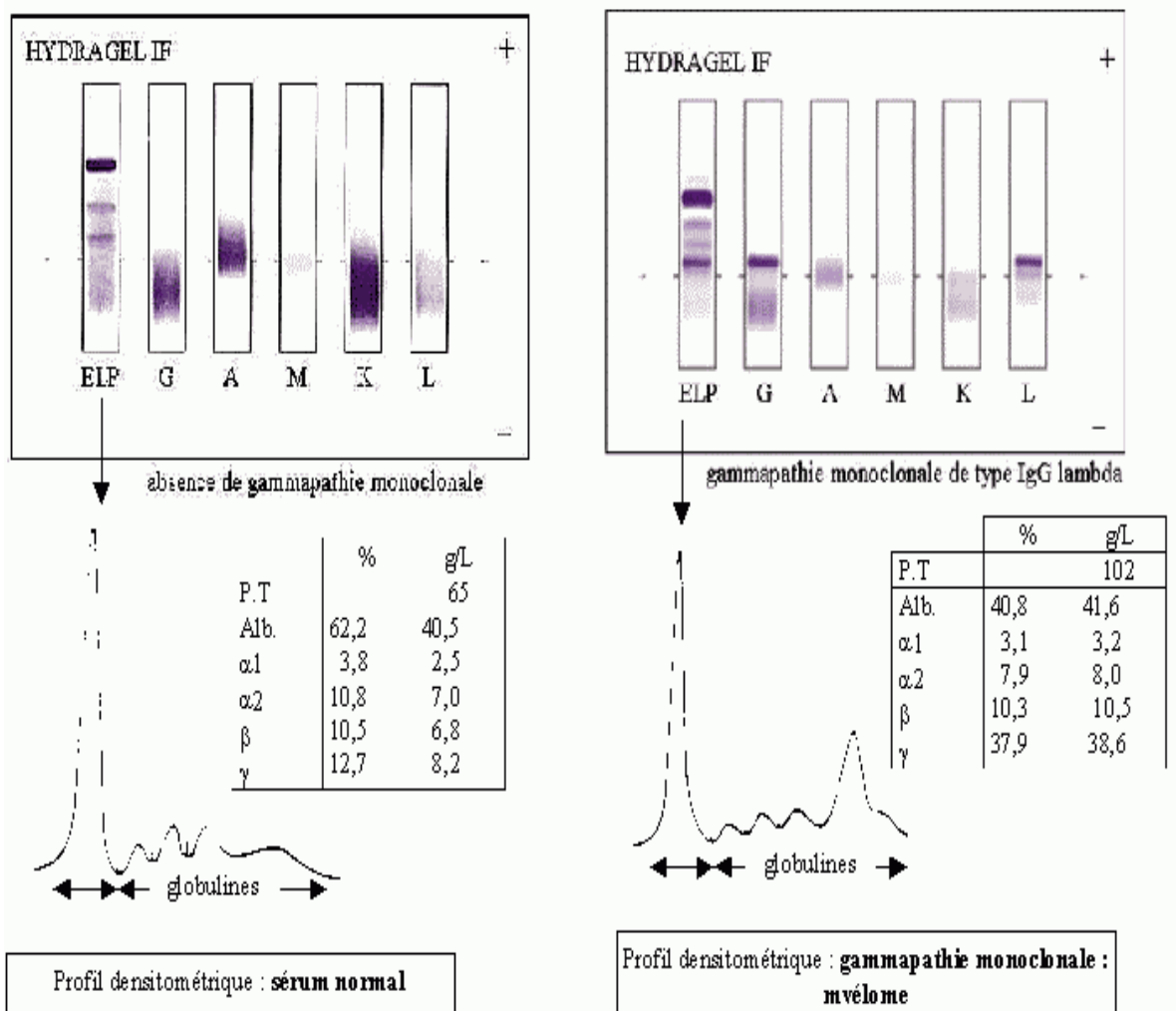
- La présence d'une immunoglobuline monoclonale se traduit par l'apparition d'une bande étroite après coloration des complexes précipités.



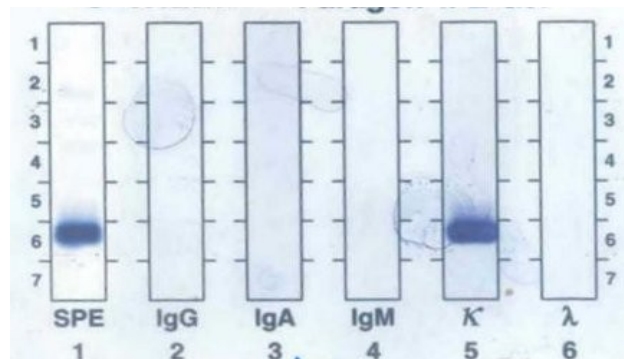
- Dans ce cas: il s'agit d'une IgG à chaîne légère  $\kappa$ , on observera une bande étroite, à la fois, sur la piste où a été déposé l'anti- $\gamma$  (gamma) ainsi que sur celle où a été déposé l'anti- $\kappa$  (kappa) .

### 2.2.2 - Exemple de résultats

Immunofixation sur le sérum d'un patient sain et d'un patient atteint de gammapathie monoclonale



Immunofixation sur l'urine d'un patient : protéinurie de Bence et Jones



# - Chapitre 5 -

## Leucémies aiguës (LA)

### Généralités

#### 1 - Définition

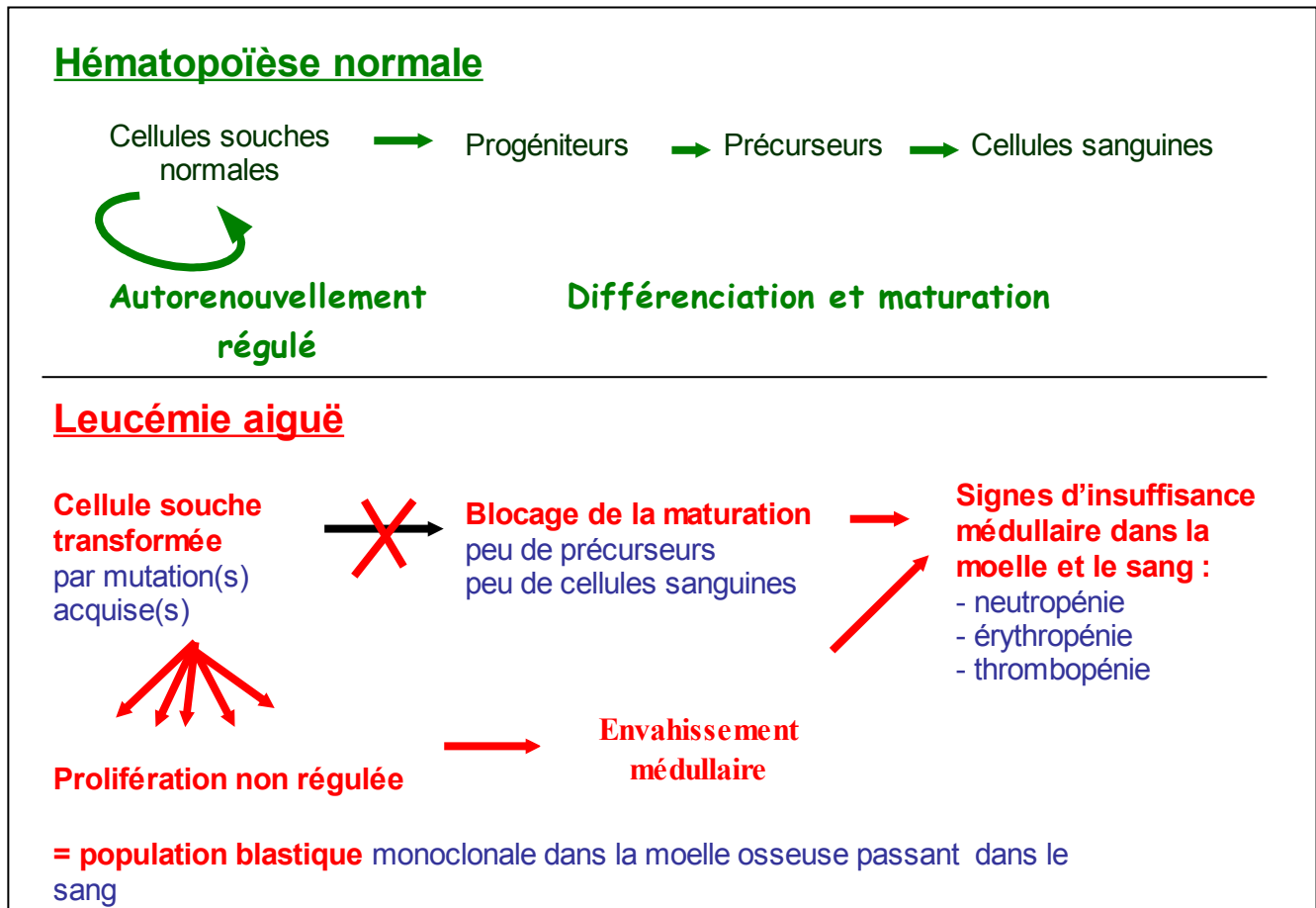
Hémopathies malignes caractérisées par une prolifération monoclonale, au niveau de la moelle osseuse, de **cellules souches immatures** (ayant acquis une mutation), à la **différenciation bloquée** = **blastés**.

Ces cellules devenues malignes = **blastés**

- ✓ont **perdu leur capacité de maturation**
- ✓prolifèrent à ce stade figé de maturation
- ✓sont **non fonctionnelles**

Ces cellules malignes médullaires (= blastés) passent généralement dans le sang.

## 2 - Comparaison : hématopoïèse normale et lors d'une LA



### Conséquences

- prolifération de blastes dans la moelle osseuse et dans le sang
- signes d'insuffisance médullaire : cytopénie

### 3 - Classifications

Elle est indispensable pour une meilleure adaptation des protocoles thérapeutiques.

- Les cellules leucémiques immatures amorcent une différenciation dans une des voies définissant des lignées sanguines.

On distingue ainsi deux grandes catégories de leucémies :

- **leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)** affectant la lignée lymphoïde - Plus fréquente chez l'enfant.
- **leucémies aiguës myéloblastiques (LAM)** affectant la lignée myéloïde (granuleuse, monocytaire et parfois érythrocytaire et plaquettaire) - Peut survenir à tout âge, mais plus fréquente chez l'adulte.

On distingue également, dans chacune de ces lignées, des formes peu et bien différenciées, selon que le blocage de maturation est précoce ou tardif.

#### 3.1 - Classification FAB (Franco Américano Britannique) de 1976-85

Cette classification est très utilisée, elle est basée sur des données de morphologie cytologique (après coloration MGG) et cytochimique.

Leucémies aiguës myéloblastiques LAM	Leucémies aiguës lymphoblastiques LAL
M0: indifférenciée sur le plan cytologique	L1: blastes de petites tailles (LAL de type T et LAL de la lignée B)
M1: myéloblastique sans maturation	L2: blastes de différentes tailles et différents aspects (LAL de type T et LAL de la lignée B)
M2: myéloblastique avec maturation	L3: à cellules de Burkitt (LAL de type B)
M3: à composante promyélocytaire	
M4: myélomonocytaire	
M5: monoblastique	
M6: à composante érythroblastique	
M7: à mégacaryoblastes	

Cette étude morphologique et cytochimique doit être complétée par des analyses immunologiques et cytogénétiques (caryotype, FISH ...)

#### 3.2 - Classification OMS 2008

Cette classification met en évidence les anomalies cytogénétiques et moléculaires dans la définition des leucémies aiguës.

## 4 - Principales réactions cytochimiques utiles au diagnostic.

Un composant ou une enzyme particulière à une lignée ou un stade de différenciation est recherchée. Les réactions cytochimiques sont réalisées sur frottis médullaires.

### 4.1 - Recherche des myéloperoxydases (MPO)

La myéloperoxydase (MPO) est une enzyme contenue en grande quantité dans les granulations primaires des polynucléaires neutrophiles (PN) et en quantité plus faible dans les granulations des monocytes. Elle est absente des lymphoblastes.

**Fonctions de la MPO** : rôle essentiel dans la bactéricidie oxygénodépendante et libère H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### Techniques de recherche :

La réaction cytochimique : la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> permet la transformation d'un sel de benzidine en un composé brun aux endroits où se trouve la peroxydase.

La benzidine étant cancérigène, on préfère actuellement utiliser des techniques immunocytoologiques utilisant des anticorps monoclonaux, anti-MPO (meilleure sensibilité).

#### Résultats

MPO +++	dans les lignées granuleuses
MPO +/-	dans la lignée monocytaire
MPO -	dans tous les lymphoblastes

#### Intérêt de la recherche des myéloperoxydases

Cette recherche permet de différencier les LAM peu ou pas granuleuses des LAL.

**Une MPO + , dans plus de 3 % des blastes, élimine une LAL**

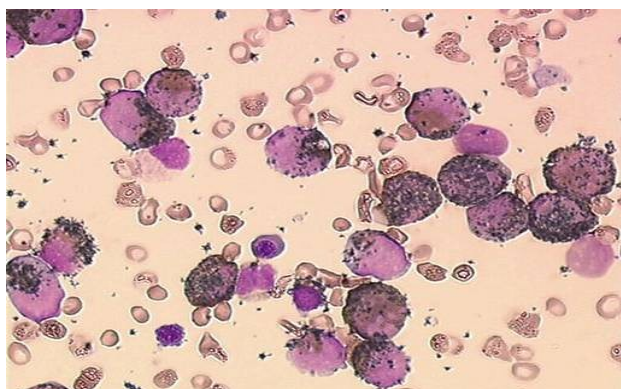


Fig 11: Blastes MPO +++

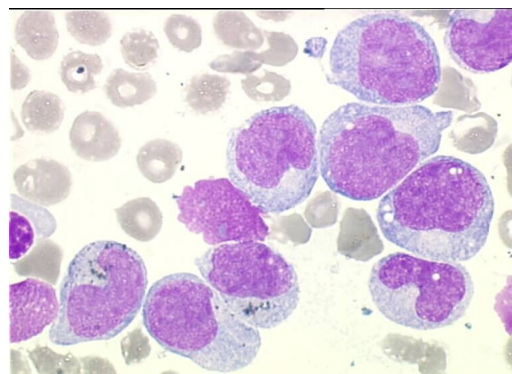


Fig 10: Blastes MPO (+)

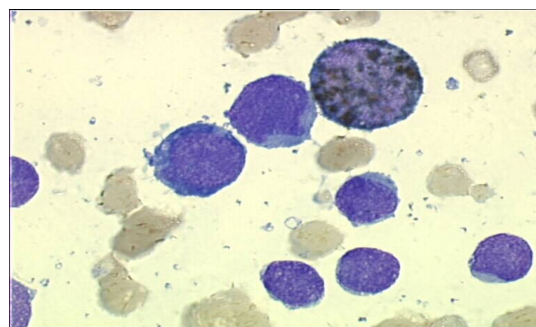


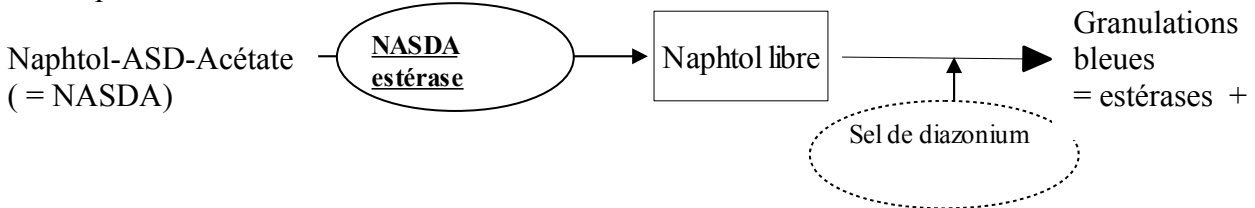
Fig 12: Blastes MPO - (à noter un précurseur granulocytaire MPO +)



### 4.2 - Recherche des NASDA estérases

Dans les granulations des cellules des lignées granuleuse et monocyttaire se trouve une enzyme nommée estérase.

Cette enzyme catalyse une réaction d'hydrolyse sur de nombreux substrats comme le naphthol-AS-D-Chloroacétate ou le Naphthol-AS-D-acétate (NASDA). Le naphthol peut être précipité en un produit coloré par un sel de diazonium.



Dans la lignée monocyttaire uniquement, l'enzyme est inhibée par l'ajout de Fluorure de sodium (NaF) au substrat.

Dans le cadre des leucémies aiguës, la réalisation de deux colorations, l'une sans et l'autre avec le NaF, permet de reconnaître les variétés de LAM dont l'estérase est inhibée par le fluorure de sodium :

- LAM 4 à composantes monocytaires (blastes et monocytes dystrophiques)
- et
- LAM 5 (monoblastes).

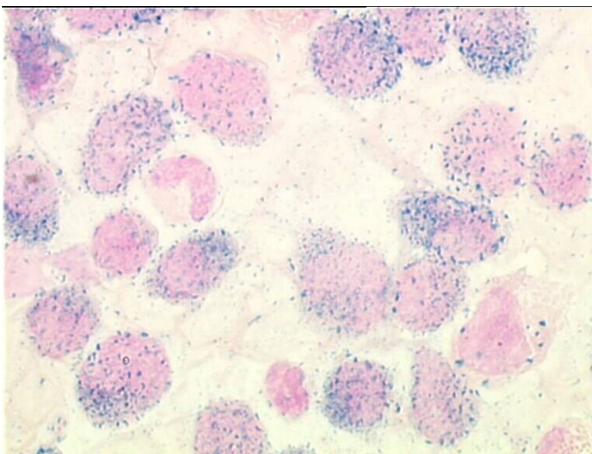


Fig 14: Blastes NASDA estérase + (LAM4 - LAM5)

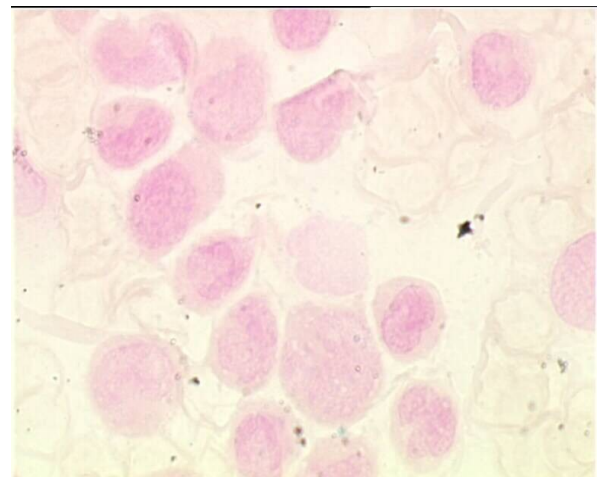


Fig 13: Blastes : NASDA estérase inhibée par NaF(LAM5)

En pratique : la cytochimie de la myéloperoxydase est indispensable au diagnostic d'une LA. Les cytochimies des estérases sont à réaliser en fonction de l'hypothèse proposée par l'examen morphologique.

## 5 - Immunophénotypage

Il détermine par cytométrie en flux la présence de différents antigènes, reconnus par des anticorps monoclonaux.

En fonction des antigènes détectés ; il est possible de classer les leucémies aiguës.

Buts de l'immunophénotypage :

-Identifier la lignée cellulaire en cause

Exemples :CD79a pour la lignée B - CD3 pour la lignée T -Myéloperoxydase (MPO) pour la lignée myéloïde (mais certaines LAM (M0) sont MPO-)

- Identifier le stade de maturation

## 6 - Cytogénétique et biologie moléculaire

L'**étude cytogénétique** permet une aide diagnostique mais surtout elle conditionne le pronostic.

Ces anomalies peuvent être de nature :

- quantitative : (chromosome supplémentaire ou en moins) ex : trisomie 8, monosomies 7 mauvais pronostic
- qualitative (délétion ou translocation) ex : LAM t (8 ;21) bon pronostic

Les **études en biologie moléculaire** (à l'aide de « primers » spécifiques) ou en hybridation in situ fluorescente (FISH) à l'aide de sondes spécifiques, sont très utiles pour rechercher les équivalents des translocations ou des autres anomalies, car elles ne nécessitent pas d'obtenir des mitoses comme pour le caryotype.

L'analyse en biologie moléculaire permet aussi dans le cas des leucémies aiguës lymphoblastiques par la recherche d'un réarrangement des gènes des immunoglobulines ou du récepteur T de faire la preuve de la monoclonalité.

Ces techniques sont aussi utiles pour suivre l'évolution de la maladie.

**Les fiches étudiées :**

**Fiche 1 : Hémogramme caractéristique d'une LA**

**Fiche 2 : Myélogramme caractéristique d'une LA**

**Fiche 3 : Leucémies aiguës myéloblastiques**

**Fiche 4 : Leucémies aiguës lymphoblastiques**

## Chapitre 5 – Fiche 1

# L

## Leucémies aiguës (LA) Hémogramme

Il permet souvent à lui seul le diagnostic de LA

### Deux critères importants :

- ☞ Présence presque constante de blastes dans le sang (% variable)
- ☞ Signes d'insuffisance médullaire :
  - ✗ Anémie normochrome normocytaire arégénérative due à l'érythropénie
  - ✗ Neutropénie
  - ✗ Thrombopénie

**ATTENTION** : La leucocytose est variable

## 1 - Présence généralement de blastes dans le sang

Ils sont d'autant plus nombreux que la leucocytose est importante

Leur aspect est variable selon le type de LA

- taille variable : 12 à 40  $\mu\text{m}$  (petits moyens, grands)
- rapport N/C également variable
- caractéristiques de cellules immatures :  
Noyau à chromatine lâche, avec des nucléoles plus ou moins nets  
Cytoplasme basophile
- cellules pathologiques :  
anomalies nucléaires (noyau irrégulier ....)  
anomalies cytoplasmiques : bâtonnets d'Auer, granulations azurophiles...)  
nombreuses vacuoles...

**L'aspect des blastes est monomorphe pour un type de LA chez un patient donné.**

## 2 - Leucocytose variable

- Le plus souvent, hyperleucocytose, parfois considérable (jusqu'à 100 G/L)
- Elle est due au passage des blastes dans le sang

**Attention** : Parfois il y a leucopénie (blastes restant dans la moelle), elle est souvent due à la neutropénie

Remarque : des cas intermédiaires avec leucocytose normale sont possibles

### 3 - Signes d'insuffisance médullaire, évidents au niveau de l'hémogramme

- ✓ Anémie normochrome souvent macrocytaire arégénérative, souvent profonde (érythropénie)
- ✓ Neutropénie presque toujours < 1 G/L
- ✓ Thrombopénie souvent sévère < 20 G/L (→ risque hémorragique)

Ces 3 signes sont toujours retrouvés à la phase confirmée de la maladie : ils constituent une pancytopenie (érythropénie + thrombopénie + leucopénie)

Bien repérer sur le frottis sanguin la thrombopénie

Au début de la maladie, une ou deux des trois lignées peuvent être seulement touchées.

**REMARQUE** : les blastes peuvent être absent du sang lors d'une LA, mais les signes d'insuffisances médullaire imposent toujours la réalisation d'un myélogramme.

### 4 - Conduite du diagnostic à partir de l'hémogramme

#### 4.1 - Sur frottis sanguin coloré au MGG

##### 4.1.1 - Savoir repérer les blastes

**Ne pas confondre blaste avec grand lymphocyte hyperbasophile :**

- Lors du SMN il y a polymorphisme des lymphocytes
- Hyperbasophilie périphérique du cytoplasme
- Il n'y a pas thrombopénie

**Ne pas confondre PL et blastes :**

Rechercher systématiquement un PL sur frottis pour bien voir la différence de taille et de condensation de la chromatine.

Remarque : l'âge peut parfois aider à éliminer la LLC

##### 4.1.2 - Réaliser la FL, en décrivant avec précision les blastes observés

**Décrire :**

- taille
- aspect du noyau
- aspect du cytoplasme : (granulations, bâtonnets d'Auer ?...)

**Observer** les autres cellules sanguines en particulier **noter la rareté des plaquettes sur frottis**

## 4.2 - À partir des autres renseignements de l'hémogramme

Noter les signes d'insuffisance médullaire :

- anémie normochrome normocytaire arégénérative avec érythropénie
- thrombopénie
- neutropénie pouvant entraîner une leucopénie



### Conclure :

#### • à une leucémie aiguë

si présence de ...% de blastes associés à des signes d'insuffisance médullaire (anémie normochrome normocytaire, neutropénie, thrombopénie)

#### • orienter vers une LAM ou LAL

si certains blastes contiennent des granulations azurophiles et/ou des bâtonnets d'Auer.

- La présence d'un seul bâtonnet d'Auer sur le frottis permet d'affirmer la LAM.
- L'absence de ces signes ne permet pas de préciser le diagnostic, il peut s'agir d'une LAM ou d'une LAL.

Le myélogramme après ponction médullaire est indispensable :

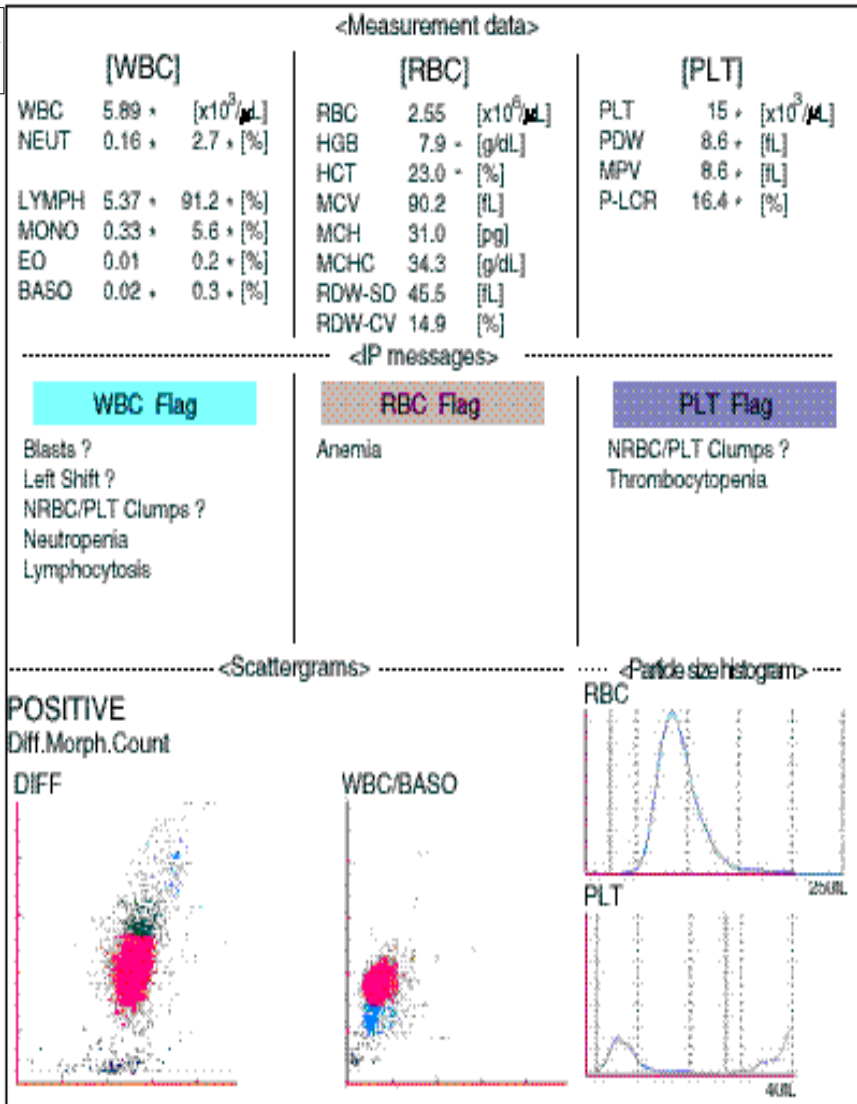
- pour confirmer le diagnostic de LA (> 30% blastes dans la moelle)
- pour préciser le type cytologique
- pour effectuer les études complémentaires : cytochimie, cytogénétiques....

**Exercices :**

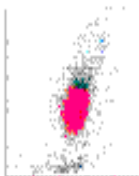


I - Pour les deux hémogrammes automatisé suivants, réaliser un tableau récapitulatif des résultats d' hémogramme avec les unités conventionnelles, les intervalles de référence. Pour chaque histogramme, préciser les grandeurs aux axes. Pour les scattergrammes, identifier si possible les nuages de points. Donner plusieurs raisons expliquant la non validation technique de ces hémogrammes.

**Hémogramme A  
Homme 28 ans**

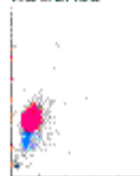


★Point★  
DIFF



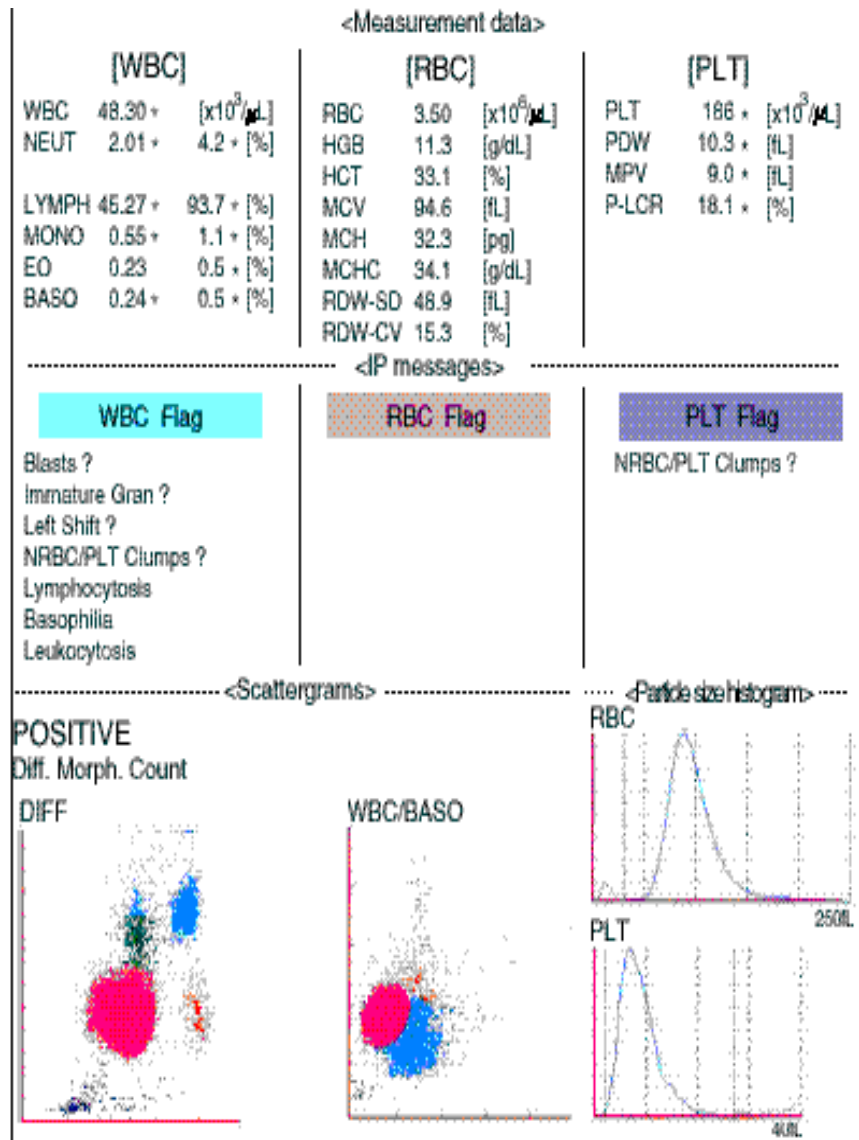
Because almost no granulocytes are present, a single large cluster is found from the lymphocyte area to the monocyte area.

★Point★  
WBC/BASO



Plots of lymphoblasts are distributed from the lymphocyte/monocyte area toward the ghost area.

**Hémogramme B**  
Femme 45 ans



★Point★  
DIFF

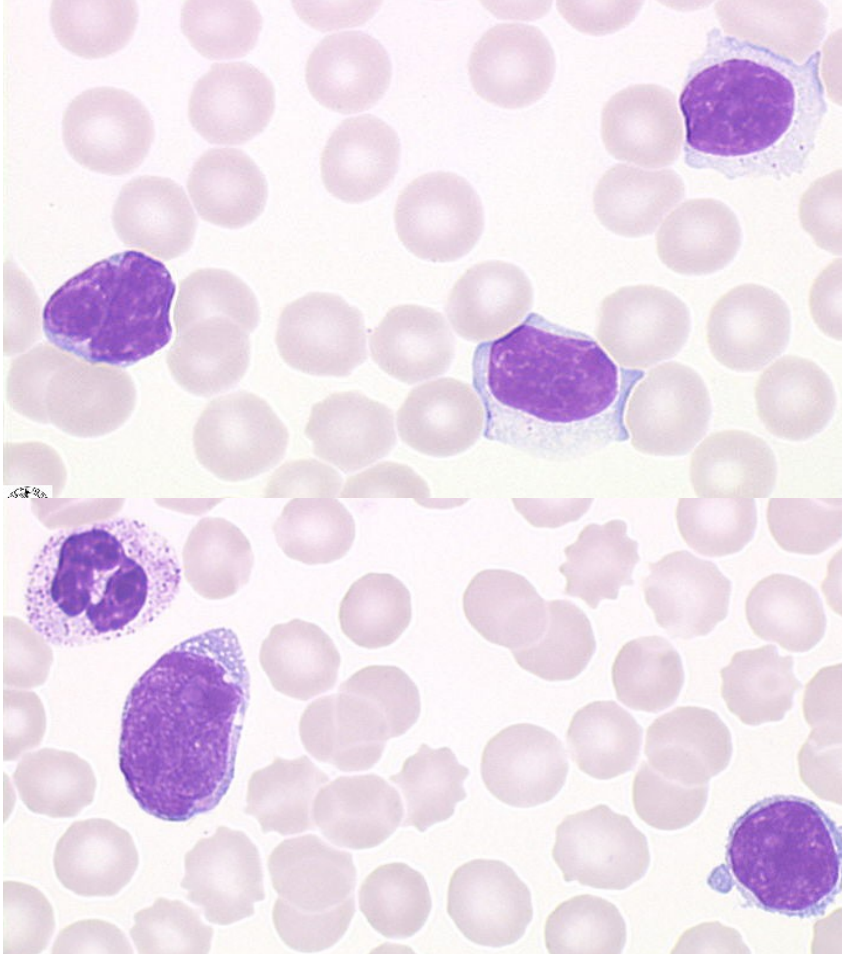
The pink plot population seems to represent myeloblasts. The plots extend in the X-axis direction (indicated by →), with an unclear border with the monocyte area (indicated by ↘).

★Point★  
WBC/BASO

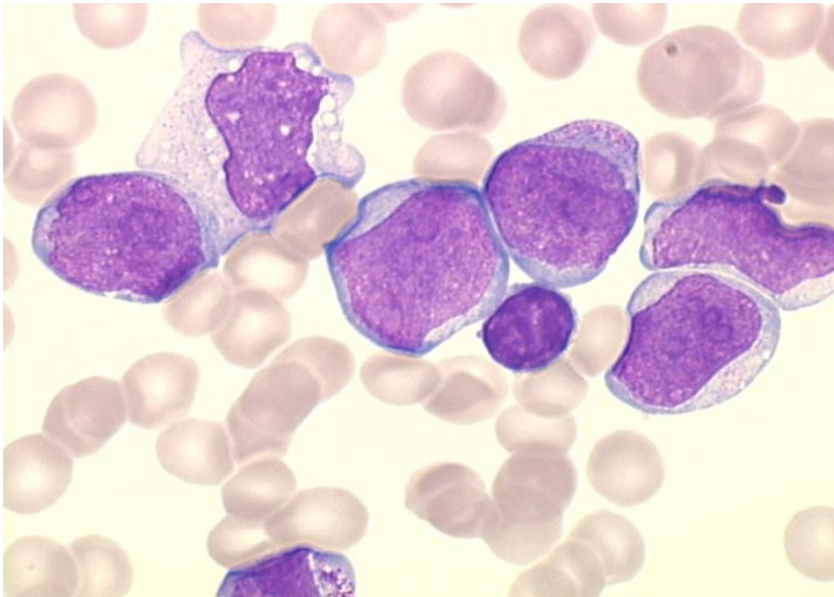
Pink and blue plots have an unclear border (indicated by ↗), forming a single cluster. The presence of a high ratio of abnormal cells is suggested.

II – Identifier les cellules sur les frottis A et B sanguins colorés au MGG, ci-dessous. Les cellules anormales seront décrites (taille, rapport N/C, aspect noyau, cytoplasme...).

**Frottis A**



**Frottis B**





## Chapitre 5 – Fiche 2

# Leucémies aiguës

## Myélogramme

### 1 - Intérêt

Il est indispensable pour :

- **Confirmer le diagnostic d'une leucémie aiguë (LA)**



- x blastes > 20 % dans la moelle osseuse (ce pourcentage peut atteindre 90 % voire 100 %)
- x avec signes d'insuffisance médullaire (diminution du pourcentage des lignées granulocytaire neutrophile, érythroblastique et mégacaryocytaire).

- **Orienter la classification grâce à l'étude cytologique des blastes**

- x taille
- x rapport N/C
- x aspect du noyau (forme, nucléoles, chromatine)
- x aspect du cytoplasme (vacuoles, granulations azurophiles, bâtonnets d'Auer)

voir cours

### 2 - Interprétation de la lecture du frottis médullaire

- **La présence de plus de 20 % de blastes associée à des signes d'insuffisance médullaire permet d'affirmer qu'il s'agit d'une leucémie aiguë.**
- **L'observation d'un seul bâtonnet d'Auer ou de granulations azurophiles dans certains blastes permet d'affirmer qu'il s'agit d'une leucémie aiguë myéloblastique (LAM).**

Évoquer le type M1 si :

- x très nombreux blastes, environ 90% de taille moyenne
- x pas de maturation granulocytaire (moins de 10 % de myélocytes + métamyélocytes + polynucléaires neutrophiles)

Évoquer le type M2, M3 ou M4, M5 si :

- x blastes en pourcentage variable (30 à 90 %) de taille moyenne
- x accompagnés d'une maturation granuleuse (plus de 10 % de myélocytes + métamyélocytes + polynucléaires neutrophiles)

Des recherches enzymatiques permettent de distinguer ces 2 types :

Enzymes	Type M4	Type M5
NASDA estérases	+	+
Estérases après inhibition par Na F	+	-

- **L'absence de bâtonnet d'Auer et de granulations azurophiles dans l'ensemble des blastes ne permet pas de conclure.**

☞ Il peut s'agir d'une **leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) ou myéloblastique (LAM)**  
Le diagnostic différentiel repose sur la recherche des myéloperoxydases (MPO) et le phénotypage des blastes.

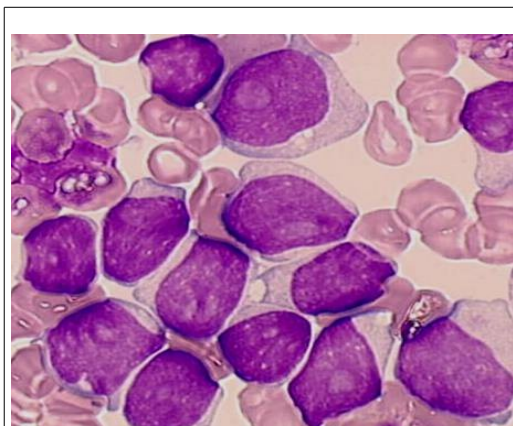
Recherche	LAM	LAL
MPO	+dans > 3 % blastes (sauf LAM-0:MPO-)	-
Phénotypage des blastes	Phénotype myéloïde	Phénotype lymphoïde B ou T

## Chapitre 5 – fiche 3

# Leucémies aiguës myéloblastiques

D' après la classification FAB

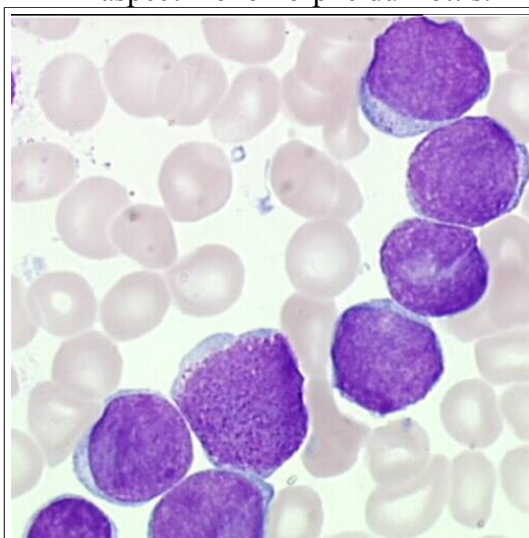
## 1 - LAM-0 sans différenciation cytologique



forme rare (3 % des LAM)  
non identifiable sur des critères morphologiques (blastes indifférenciés), ni cytochimiques (MPO négative), seul le phénotypage permet leur identification : CD34, CD33, CD13, CD115

## 2 - LAM-1 prolifération myéloblastique sans maturation

- **Sang**  
forte hyperleucocytose  
pourcentage élevé de blastes
- **Moelle osseuse**  
Les blastes représentent 90 % des cellules nucléées médullaires.  
Il n'y a pas de maturation granuleuse ou maturation < à 10 %  
aspect monomorphe du frottis.



Prolifération blastique homogène

**Taille des cellules :** 12 à 30 µm

**Rapport N/C :** élevé 0,8

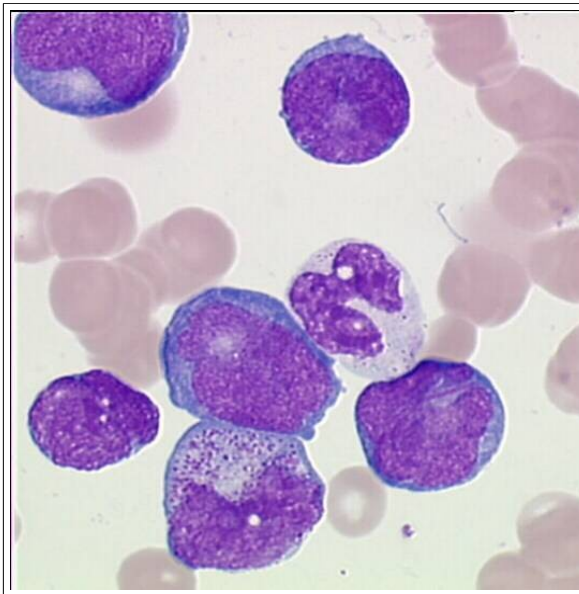
**Aspect du noyau :** Noyau rond ou ovalaire  
Chromatine fine  
1 ou 2 nucléoles très nets

**Aspect du cytoplasme;** Basophile  
Avec ou sans granulations azurophiles  
Avec ou sans corps d'Auer

**Phénotype :** CD34, CD33, CD13, CD115, MPO +,  
**Translocation** t9;22 parfois

### 3 - LAM-2 prolifération myéloblastique avec maturation

- **Sang**  
peu de blastes  
des PN  
parfois une myélémie
- **Moelle osseuse**  
Blastes : 30 à 90 % des cellules nucléées médullaires



<b>Taille des cellules</b>	20 à 35 µm
<b>rapport N/C</b>	0,7
<b>Aspect du noyau</b>	Forme plus ou moins irrégulière Chromatine fine 1 ou 2 nucléoles très nets
<b>Aspect du cytoplasme</b>	Basophile Souvent de nombreuses granulations azurophiles, corps d'Auer fréquents jamais d'archoplasme
<b>Phénotype</b> : CD33, CD13, CD15, CD16, CD65, MPO +, <b>Translocation</b> t8;21 fréquente	

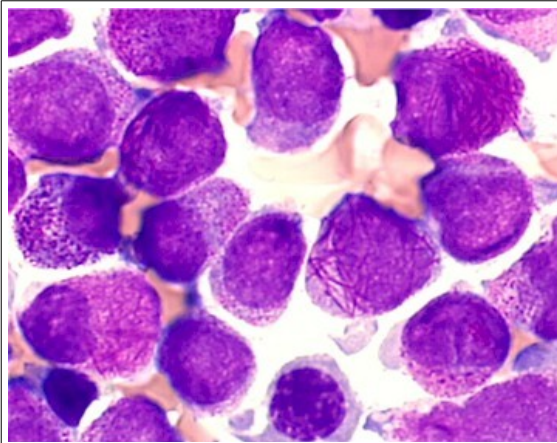
Remarque : du fait de la maturation granuleuse, les LAM 2 peuvent être confondues avec les myélodysplasies : la présence d'un seul bâtonnet d'Auer permet d'éliminer les myélodysplasies.

### 4 - LAM-3 prolifération à composante promyélocytaire

(10% des LAM, plutôt chez le sujet jeune)

Risque important d'hémorragie liée à une CIVD : **diagnostic et traitement urgent**

- **Sang** : (diagnostic si possible sur le sang)  
pancytopénie  
peu de blastes, rechercher un blastes caractéristique de la LAM3.
- **Moelle osseuse** : (myélogramme difficile à réaliser car le sang médullaire coagule très vite).



Morphologie de promyélocytes anormaux, souvent volumineux, avec un cytoplasme bourré de granulations azurophiles ou de fagots de corps d'Auer.  
Noyaux de taille variable et de forme irrégulière

**Phénotype** : CD33, CD13, CD15, CD65, MPO +++

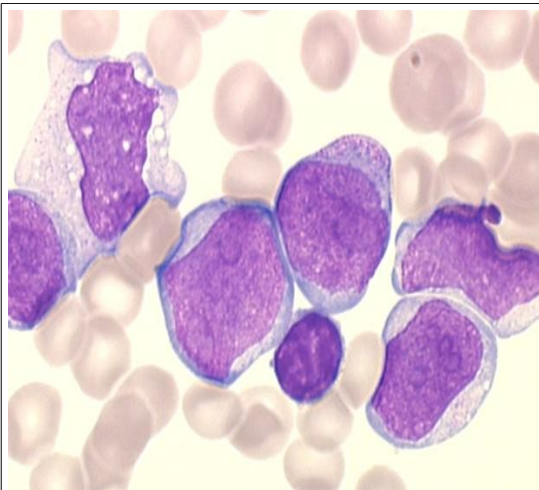
**Translocation** t15;17 quasi constante

Rq. Une forme variante est au contraire agranulaire ou microgranulaire avec des noyaux bilobés (en aile de papillon).

Cette forme est hyperleucocytaire généralement.

## 5 - LAM-4 myélomonocytaire

- **Sang**  
monocytose sanguine > 5 G/L
- **Moelle osseuse**  
blastes (aspect de « myéloblastes » comme LAM2) > 30 %  
lignée monocytaire >20 %  
maturation granuleuse >10 %



Prolifération mixte, granuleuse, avec souvent des corps d'Auer, prédominant dans la moelle, et monocytaire jeune, prédominant dans le sang

**Cytochimie** : MPO+,

NASDA estérase +, non inhibée par NaF,

**Phénotype** : CD33, CD13, CD15, CD65, CD11, CD14,

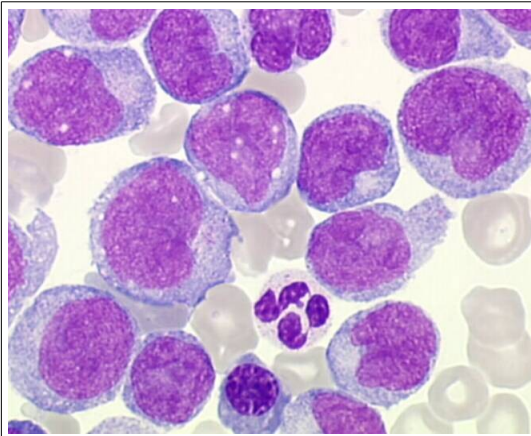
**Translocation** : t 9;11, t11;19

Une variété dite à « différenciation éosinophile » (M4-éosino) représente 30% des LAM 4. Anomalie du chromosome 16. Cette forme se voit chez le sujet jeune et son pronostic est favorable (RC90%).

## 6 - LAM-5 monoblastique

(CIVD dans 25% des cas – hypertrophie gingivale fréquente)

- **Sang**  
hyperleucocytose importante, % de blastes élevés  
(il existe une variété à promonocytes facile à reconnaître et une variété à monoblastes plus difficile à identifier)
- **Moelle osseuse**  
Pourcentage de cellules de la lignée monocyttaire > 90 %  
Maturation granuleuse < 20 %



Monoblastes :noyau découpé, nucléolé, cytoplasme étendu, ± basophile. Il peut exister des bâtonnets d'Auer (souvent plus longs et plus fins)

**Cytochimie** (indispensable pour confirmer)

MPO+/-

Nasda-estérases +, inhibées par NaF

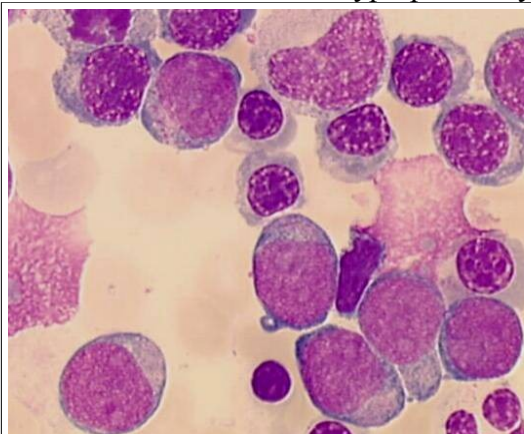
**Phénotype** : CD33, CD13, CD15, CD65, CD11, CD14

## 7 - LAM-6 à composante érythroblastique

Forme très rare, plutôt chez le sujet âgé, ou transformation d'une myélodysplasie.

Pronostic défavorable, survie moyenne 18 mois

- **Sang** : anémie sévère, anomalies érythrocytaires, parfois des blastes et une érythroblastose
- **Moelle osseuse** : Hyperplasie érythroblastique > 50 %



Blastes avec ou sans granulation, avec ou sans bâtonnets d'Auer.

Dystrophie fréquente: cellules multinucléées, vacuoles, fragmentation nucléaire, ponctuations basophiles.

Maturation granuleuse avec des anomalies (dégranulation, hyposegmentation des PN)

**Phénotypage**: glycophorineA, CD11, CD13, CD14, CD36  
MPO+

## 8 - LAM-7 à mégacaryoblaste

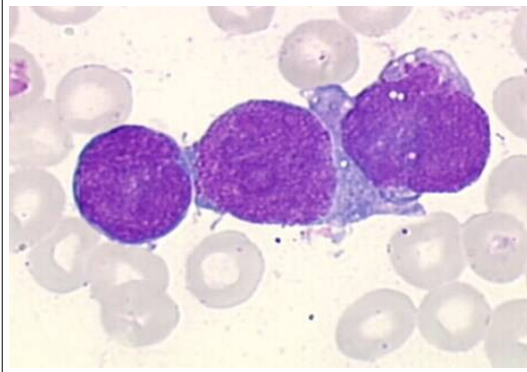
Chez l'adulte ou jeune enfant, en particulier trisomie 21.

Forme très rare

Le diagnostic est difficile : elle est identifiée par les marqueurs spécifiques de la lignée mégacaryocytaire

Pronostic très défavorable.

Myélogramme souvent hypocellulaire en raison d'une myélofibrose habituelle,



Blastes souvent indifférenciés, fréquemment nucléolés  
Contour cytoplasmique irréguliers  
Taille variable

Pas de granulations azurophiles ou de corps d'Auer

MPO -,  
CD11, CD13, CD33+, CD41, CD42, CD61

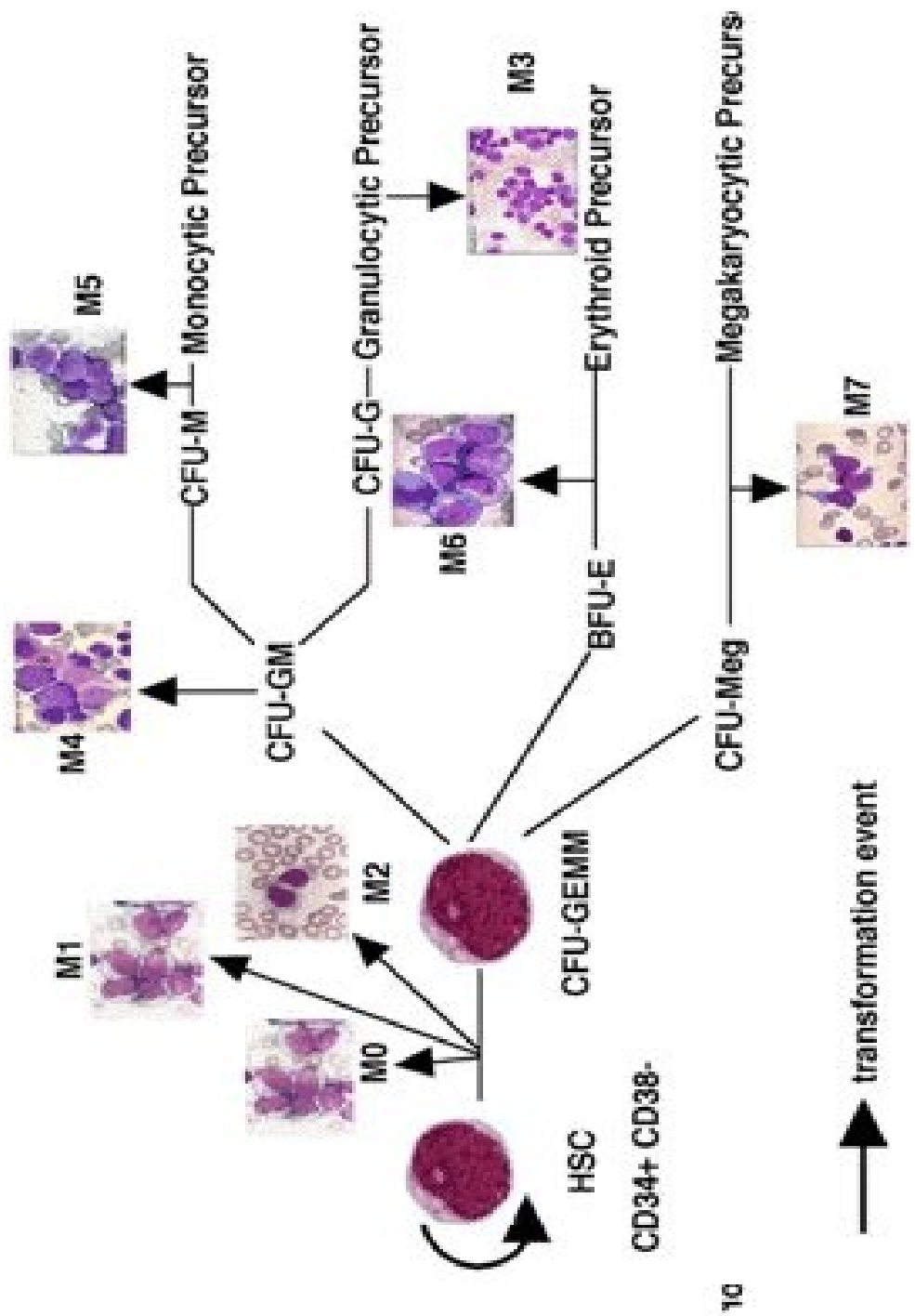


Fig 15: Les blastes des LAM sont bloqués à un stade de leur maturation.



## Chapitre 5 – fiche 4

# L

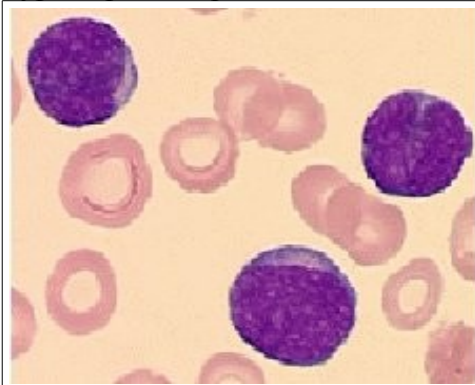
## eucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)

### 1 - Trois types cytologiques, selon la classification FAB

**Rappel** : tous les blastes de LAL sont dépourvus de myéloperoxydases (MPO -)

#### 1.1 - LAL-1

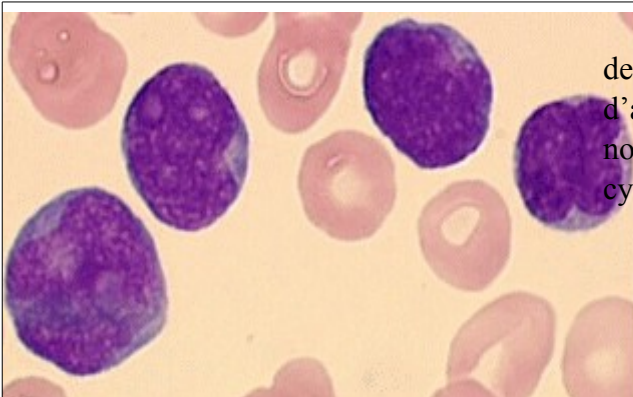
Type le plus fréquent et la forme habituelle chez l'enfant.



Prolifération de blastes :  
 -de petite taille, homogène  
 -à noyau rond ou encoché, peu ou pas nucléolé  
 -à cytoplasme réduit

#### 1.2 - LAL-2

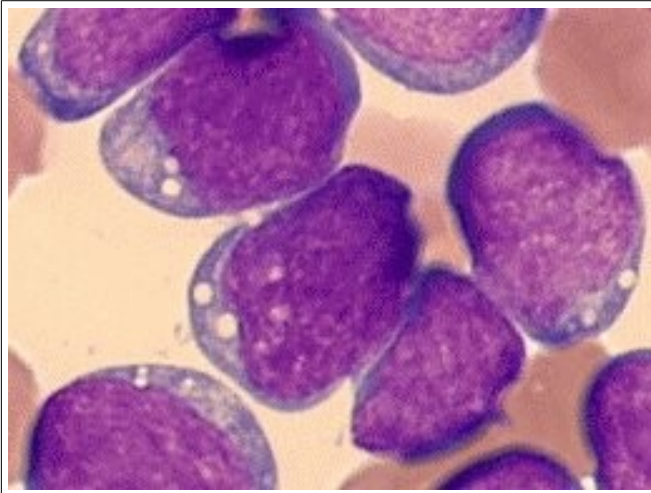
Prédomine chez l'adulte.



Prolifération de blastes  
 de taille hétérogène  
 d'aspect hétérogène  
 noyau irrégulier, nucléoles plus nets  
 cytoplasme un peu plus étendu

## 1.3 - LAL-3 ou LAL à cellules de Burkitt

Très rare, 3 % des cas -



Prolifération de blastes

- de taille moyenne
- à noyau rond, avec un ou plusieurs nucléoles
- cytoplasme très basophile et criblé de vacuoles

(Ces cellules comportent une anomalie cytogénétique caractéristique. Le pronostic de cette LAL3 est mauvais)

## 2 - Phénotypage : essentiel au diagnostic

La recherche des marqueurs immunologiques permet de :

- confirmer l'appartenance des blastes à la lignée lymphoïde
- déterminer l'appartenance des blastes à la lignée T ou B
- mettre en évidence le degré de maturation des blastes → important pour le pronostic et le traitement
- de classer la LAL selon la **classification OMS (2008)**

**Ag recherchés :**

- \* Ag membranaires B (CD19, CD 20, CD22)
- \* Ag membranaires T (CD7, CD2, CD3, CD4, CD8)
- \* Ag commun des LAL ou CALLA (common acute lymphoblastic leukemia antigen- CD10)
- \* TdT (terminal déoxy-nucléotidyl-transférase) -DNA polymérase spécifique lymphoïde .

## 3 - Cytogénétique

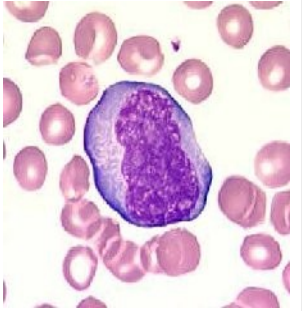
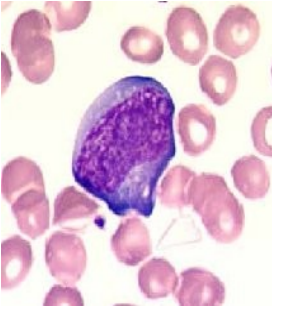
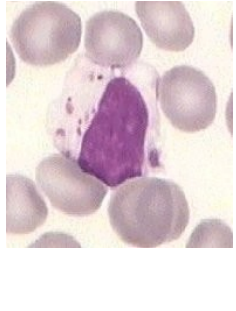
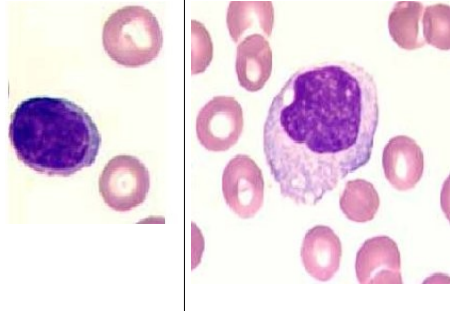
Hyperploïdies fréquentes (>50 chr)- Bon pronostic

Anomalies qualitatives:

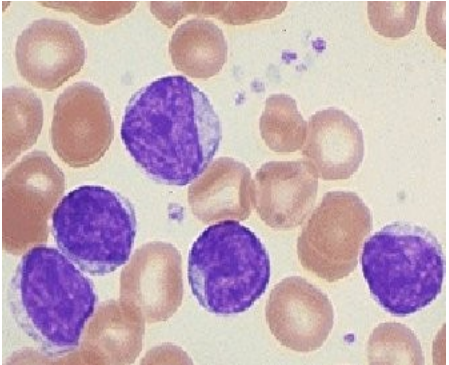
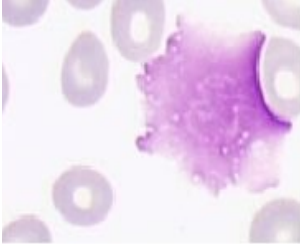
- t (9;22) – chromosome Philadelphie : LAL > 50 ans - Mauvais pronostic
- t (4;11), t(11;14), t (1;19)
- t (8;14), t (2;8), t (8;22) : LAL3 - Mauvais pronostic.

## Frottis sanguins (MGG) – QUELQUES PATHOLOGIES À NE PAS CONFONDRE

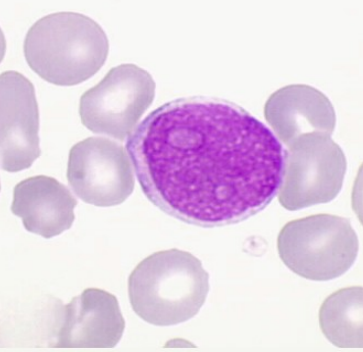
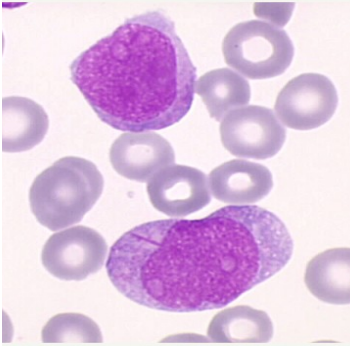
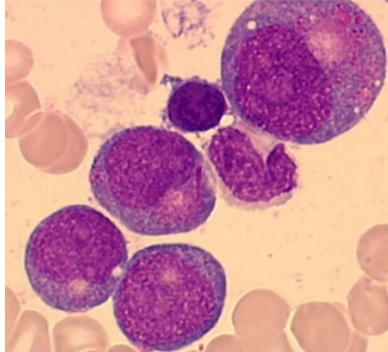
**Syndrôme mononucléosique (SMN) : noter le polymorphisme des lymphocytes**

			
Grands lymphocytes hyperbasophiles caractéristiques du SMN	Grand lymphocyte normal	Petit lymphocyte	Monocyte

**Leucémie lymphoïde chronique (LLC)**

		<p>Noter :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- le monomorphisme des lymphocytes, petits lymphocytes d'aspect normal</li> <li>- l'ombre de Gumprecht</li> </ul>
------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**Leucémie aiguë (LA)**

		
Blaste	Blastes avec bâtonnets d'Auer	Blastes avec granulations azurophiles

← -----uniquement rencontrés dans les LAM-----

→

**Exercices :** Pour chaque patient présentant une lymphocytose, proposer une orientation de diagnostic. Le raisonnement sera expliqué.

1- Un patient de 67 ans asthénique, avec une hépato-splénomégalie et des adénopathies.

Le bilan biologique montre :

GB: 184 G/L, Hb: 6 g/dL, GR: 1.87 T/L, VGM: 116 fL, TCMH : 32 pg, plaquettes: 209 G/L, réticulocytes: 353 G/L

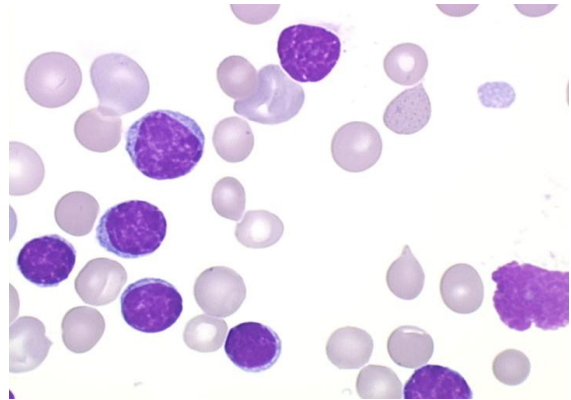


Fig 16: Frottis sanguin coloré au MGG

2- Une patiente de 22 ans est admise à l'hôpital pour un syndrome fébrile à 39°C avec sueurs et frissons, associé à une toux sèche.

Les premiers résultats biologiques montrent :

GB : 13 G/L, Hb : 120 g/L, VGM : 87 fL, TCMH : 28,5 pg, Plaquettes : 249 G/L

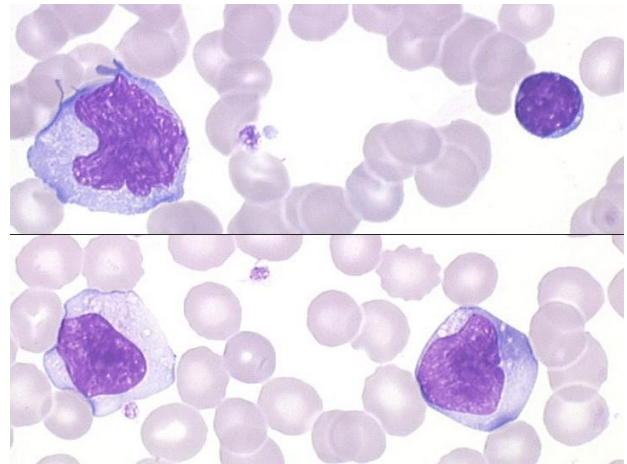


Fig 17: Frottis sanguin colorés au MGG

3- Cette patiente de 73 ans présente depuis plusieurs semaines une asthénie progressivement croissante, et a par ailleurs maigri de 4 kg ces derniers 6 mois. Un hémogramme est réalisé: leucocytes = 24 G/L, plaquettes = 63 G/L, hémoglobine = 7.4 g/dl, VGM = 90 fL, TCMH = 29 pg.

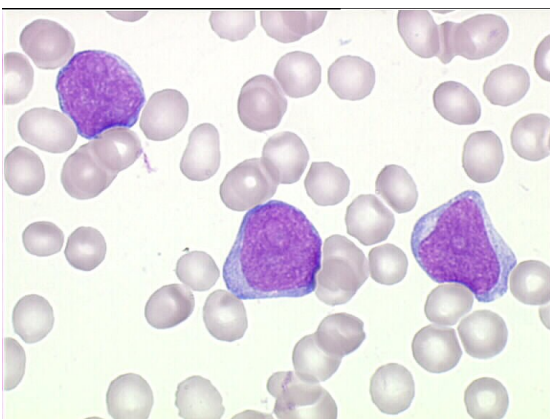


Fig 19: Frottis sanguin coloré au MGG

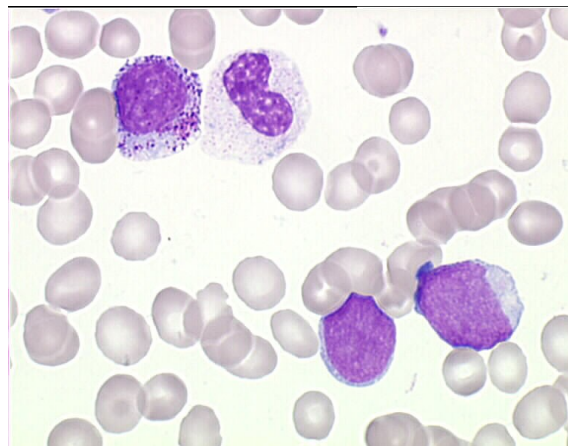


Fig 18: Frottis sanguin coloré au MGG

# - Chapitre 6 -

## Syndromes myélodysplasiques (SMD)

### Généralités

#### 1 - Définition

**Ces hémopathies** constituent un **groupe hétérogène d'affections hématologiques**, correspondant à une **maladie clonale** de la cellule souche hématopoïétique, caractérisée par une **prolifération** et une différenciation anormales d'une ou plusieurs lignées myéloïdes (**dysmyélopoïèse**) avec **apoptose** de nombreux précurseurs médullaires (**hématopoïèse inefficace**).

Il s'agit d'un état pré-leucémique (possibilité de transformation en leucémie aiguë myéloblastique).

Le terme « syndromes » indique la variété des anomalies que l'on peut observer.

#### Remarque

Il est important de faire la distinction entre les myélodysplasies et les signes de dysmyélopoïèse

- myélodysplasies = entités cliniques hématologiques.
- signes de dysmyélopoïèse = description cytologique (c'est-à-dire morphologique) d'anomalie(s) cellulaire(s) sanguine et/ou médullaire sur une ou plusieurs lignées.

La constatation de signes de dysmyélopoïèse ne conduit pas toujours à un diagnostic de MDS.

Certains signes de dysmyélopoïèse peuvent se rencontrer dans d'autres circonstances :

Par exemple : dysmyélopoïèse transitoire liée à la toxicité de certains traitements (Colchicine, anti-foliques...), dysmyélopoïèse dans les contextes carenciels... Les anomalies morphologiques s'amendent après arrêt du traitement en cause, après correction de la (ou des) carence(s).

#### 2 - Épidémiologie

**Pathologie des sujets âgés** : fréquent à 60-75 ans, rare chez l'enfant.

- Primitifs dans 80-90 % des cas.
- Secondaires dans 10-20 % des cas (chimiothérapie, toxiques, irradiations...ou maladies acquises ou constitutionnelles...).

### 3 - Physiopathologie

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont le résultat d'une **atteinte clonale des cellules souches hématopoïétiques (CSH)**, pouvant résulter d'abérations chromosomiques diverses (translocation, perte ou gain de chromosomes).



L'atteinte clonale a pour conséquence une **dysmyélopoïèse**.

– **Dans la moelle osseuse** : une **richesse cellulaire** avec :

- une **prolifération excessive de précurseurs** qui commencent à se différencier
- des **cellules dysplasiques** dues à un **défaut de maturation** provoquant des anomalies morphologiques et fonctionnelles avec impossibilité d'achever toutes les étapes de la différenciation vers des cellules matures.
- de nombreux **avortements cellulaires** (apoptose).
- une **inhibition de l'hématopoïèse normale** due à l'envahissement des cellules tumorale.

– **Dans le sang** : une **cytopénie** pouvant atteindre une ou plusieurs lignées et **des cellules "anormales"**.

**Il y a donc à la fois prolifération et mort cellulaire : hématopoïèse inefficace** La diminution de la réponse aux facteurs de croissance et aux hormones régulatrices contribue à leur physiopathologie.

Lors des stades tardifs : il y a acquisition de nouvelles anomalies moléculaires (ex: mutation de p53) qui conduisent à l'inhibition des voies de l'apoptose. Des précurseurs (blastes) «immortels» émergent et peuvent s'accumuler, il y a alors transformation leucémique.

### 4 - Classifications

#### 4.1 - Classification FAB (Franco-Américano-Britannique) (1982)

C'était une classification strictement morphologique, basée essentiellement sur l'importance de la blastose sanguine et médullaire.

#### 4.2 - Nouvelle classification OMS (2001)

Elle est à la fois morphologique et cytogénétique. Elle garde comme principal critère le pourcentage de blastes sanguins et médullaires.

L'OMS limite le pourcentage de blastes médullaires à 20% pour les MDS. Au delà de 20% de blastes dans la moelle, c'est une LAM.

*Remarque : Les leucémies myélo-monocytaires chroniques (LMMC) présente dans la classification FAB seraient classées maintenant dans les syndromes myloprolifératifs/myélodysplasiques.*

Cette classification OMS permet aussi de classer les SMD en fonction de leur gravité en SMD de bas risque ) et SMD de haut risque.

	Sang		Moelle osseuse		Gravité
Anémie réfractaire (AR)	Blastes = absents ou <1%	Anémie	<5% blastes	Dysérythroïèse <15% de sidérobastes en couronne	SMD de bas risque
AR avec sidérobastes en couronne (ARSI)	Blastes= absents	Anémie	< 5% blastes	dysérythroïèse pure >15% de sidérobastes en couronne	
Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée (CRDM)	Blastes = absents ou <1% pas de corps d'Auer Monocytes <1G/L	Bi ou pancytopenie	< 5% blastes	Dysplasie >10% des cellules d'au moins 2 lignées <15% de sidérobastes en couronne	SMD de plus haut risque
CRDM et sidérobastes en couronne CRDM-RC	Blastes = absents ou <1% pas de corps d'Auer Monocytes <1G/L	Bi ou pancytopenie	< 5% blastes	Dysplasie >10% des cellules d'au moins 2 lignées >15% de sidérobastes en couronne	
AR avec excès de blastes type 1 (AREB 1)	Blastes = absents ou <1% pas de corps d'Auer Monocytes<1G/L	cytopénie	blastes 5-10% pas de corps d'Auer	Dysplasie d'une ou plusieurs lignées	
AR avec excès de blastes type 2 (AREB 2)	Blastes : 5-19% Corps d'Auer possible Monocytes <1G/L	cytopénie	Blastes 10-19% Corps d'Auer possibles	Dysplasie d'une ou plusieurs lignées	
SMD inclassables (SMD-U)*	Blastes = absents ou <1%	cytopénie	Blastes 5-10% pas de corps d'Auer	dysplasie sur une seule lignée (granulocytaire ou mégacaryocytaire)	
SMD avec anomalies 5q- isolée	Blastes = absents ou <1%	Anémie plaquettes N ou augmentées	< 5% blastes pas de corps d'Auer	Nb de mégacaryocytes normal ou augmenté, noyau non lobé délétion isolée 5q-	

Les patients avec SMD de bas risque évoluent le plus souvent vers une aggravation lentement progressive de leur(s) cytopénie(s). Les transformations blastiques sont rares voire exceptionnelles. Les patients avec SMD de haut risque connaissent des évolutions plus rapides avec complications cliniques plus graves et une majoration de la blastose médullaire et souvent transformation en LAM.

## 5 - Circonstances de découvertes et traitements

Il s'agit le plus souvent d'une découverte fortuite.

Plus rarement, un hémogramme est réalisé devant des signes évocateurs d'une cytopénie : pâleur, asthénie, dyspnée (anémie), hémorragies cutanéomuqueuses (thrombopénie) ou infections à répétitions (neutropénie).

Pas de traitements efficaces sauf l'allogreffe peut offrir une chance de guérison.

Les traitements sont uniquement symptomatiques (transfusions, traitement antibiotiques...)

## Conclusions

Pour diagnostiquer ces syndromes, il faut d'abord éliminer les anémies les plus fréquentes. Ce n'est qu'ensuite qu'on peut penser à une myélodysplasie : c'est un **diagnostic d'exclusion**.

### Critères diagnostiques

- Présence de cytopénie et dysplasie (uni ou multilignée)
- Pourcentage de blastes sanguins et médullaires
- Présence ou non de sidéroblastes pathologiques visibles à la coloration de Perls.

ANOMALIES	Érythropoïèse	Granulopoïèse	Mégacaryocytopoïèse
<b>Hémogramme</b>	<b>anémie</b> le plus souvent macrocytaire, arégénérative, présente dans 90% des cas. Peut être normo-voire microcytaire.	<b>neutropénie</b> (polynucléaires dégranulés et/ou peu segmentés)	<b>thrombopénie</b> (50% des cas) anisoplaquettose, plaquettes géantes, hypogranulaires
<b>Myélogramme</b>	Érythroblastes macrocytaires, (coloration du fer PERLS +/- sidéroblastes en couronne).	Dégranulation des précurseurs, PN à noyaux en bandes	micromégacaryocytes à noyaux ronds séparés
<b>Anomalies fonctionnelles</b>	Perte des molécules de surface : changement de groupe sanguin. Résistance à l'érythropoïétine.	Défaut du chimiotactisme, de la phagocytose, de la bactéricidie... déficit enzymatique en myéloperoxydase, en PAL.	Trouble de l'adhésion et de l'activation, de libération du contenu des granules...

Fiche étudiée :

## Fiche : Diagnostic biologique des SMD



## Chapitre 6 – Fiche

# Syndromes myélodysplasiques

## Diagnostic biologique

### 1 - Hémogramme

Dans la plupart des cas, c'est lors de l'étude de l'hémogramme que le diagnostic est évoqué.

#### 1.1 - Anémie dans > 80- 90% des cas.

Anémie (70 - 130 g/L)

- normocytaire ou macrocytaire arégénérative dans 90 % des cas; parfois érythroblastes circulants.
- anisocytose (parfois 2 populations de GR avec des tailles différentes, visible sur la courbe de Price Jones des automates),
- poikilocytose

#### 1.2 - Leucocytes

Leucopénie (rare hyperleucocytose)

Neutrophiles :

Neutropénie modérée entre 0,7 et  $1 \times 10^9/L$  (< 1.5 G/l dans 20% des cas.), parfois plus sévère dans 30 % des cas, isolée ou associée à l'anémie.

Anomalies des granuleux sur le frottis : hyposégmentation des polynucléaires, dégranulation.

Éosinophiles : anomalies nucléaires et/ou cytoplasmiques dans 10 - 20% des cas

Polynucléaires basophiles : nombre augmenté dans 5% des cas ; les anomalies morphologiques sont difficiles à apprécier (granulations de taille réduite)

Lymphocytes et monocytes: pas d'anomalie quantitative ou qualitative, sauf pour LMMC

Quelques blastes (1-5%) chez 25% des patients, d'aspect indifférencié

Une blastose élevée (5-19%) est rare)

Attention : si > 20% blastes = LAM

*Remarques* : Myélémie possible, mais souvent associée à une monocytose évocatrice de LMMC (cf syndromes myéloprolifératifs - chapitre.

#### 1.3 - Plaquettes

Nombre normal, ou diminué dans 20% des cas.

Dans 5% des cas : nombre augmenté, en relation avec des anomalies cytogénétiques particulières (délétion 5q, inversion 3q).

Thrombopathie fréquente qui explique des saignements quand la numération est peu diminuée.

Dans 10% des cas : quelques micromégacaryocytes ou noyaux nus de mégacaryocytes.

## 2 - Myélogramme

Il est souvent informatif et fait le diagnostic dans 2/3 des cas.

Il peut être normal au début de la maladie.

- **Cellularité** normale/augmentée  
Dans environ 20% des cas le myélogramme est pauvre, liée ou non à une myélofibrose.

- **Mégacaryocytes** : nombre variable.

Divers types d'anomalies morphologiques, parfois particuliers à une classe particulière de SMD (grands mégacaryocytes avec petit noyau monolobé du syndrome 5q-, micromégacaryocytes en petits amas de l'inversion 3q).

- **Lignée érythroblastique** : souvent un peu augmentée (30 – 50%) avec dysérythropoïèse  
Diverses anomalies morphologiques sont observables (multinucléation, ponctuations basophiles...).

**La coloration de Perls** met en évidence les sidéroblastes en couronne d'une forme particulière de SMD : **l'anémie réfractaire avec sidéroblastes** en couronne.

### L'anémie est sidéroblastique

- **Lignée granuleuse** : plusieurs aspects possibles.

-Parfois absence de particularité,

-Parfois excès de formes immatures (blastés + myéloblastes + promyélocytes + myélocytes) avec défaut des formes matures : dysgranulopoïèse (hyposégmentation, hypogranularité...)

- **Blastés** : Nombre normal (<5%) ou augmenté (5 - 19%).

Il s'agit le plus souvent de petits blastés peu différenciés (ni granulations ni corps d'Auer, souvent dépourvus de myéloperoxydase).

*Remarque : au-delà de 20% de blastés il s'agit d'une leucémie aiguë myéloblastique.*

- **Autres cellules** :

Fréquent excès d'histiocytes (=macrophages), témoin d'un hypercatabolisme cellulaire.

Plasmocytes : nombre augmenté (5 – 9 %) dans 10% des cas (parfois gammopathie monoclonale idiopathique associée).

## 3 - Autres examens utiles

### 3.1 - Bilan martial

Fer sérique : N ou augmenté.

Ferritinémie : augmentée chez 25% des patients au diagnostic . Elle est d'abord le témoin d'une érythropoïèse inefficace (hémolyse intramédullaire) et d'une augmentation d'absorption du fer.

### 3.2 - Caryotype et analyse moléculaire.

Une anomalie cytogénétique acquise est retrouvée dans 50% des SMD primitifs et 85% des SMD secondaires.

Les anomalies sont le plus souvent des délétions partielles ou totales d'un chromosome dans les SMD primitifs, tandis que les translocations sont plus fréquentes dans les SMD secondaires.

Ces anomalies permettent de classer le SMD..

### 3.3 - LDH.

Reflet indirect de prolifération et de l'apoptose.

. Les valeurs > N sont de pronostic péjoratif.

### 3.4 - Érythropoïétine sérique.

Des valeurs normales basses ou diminuées sont un facteur important de sensibilité au traitement par EPO recombinante.

### 3.5 - Autres examens biologiques (non systématique)

\* Biopsie ostéo-médullaire : 20% des SMD ont une moelle pauvre.

La BOM va pouvoir séparer les SMD hypocellulaires et les SMD avec myélofibrose

\* Culture de progéniteurs myéloïdes : Diverses anomalies de croissance in vitro

\* Signes en rapport avec une dysérythropoïèse de type fœtal : réapparition d'hémoglobine fœtale (5-10% à l'électrophorèse de l'hémoglobine), augmentation d'activité d'enzymes de la glycolyse du globule rouge, baisse d'expression de divers antigènes de groupes sanguins (perturbant la détermination du groupe)

\* Signes en rapport avec une dysgranulopoïèse fonctionnelle : défaut de phagocytose ou de bactéricidie

\* Signes en rapport avec une thrombopathie : allongement excessif du Temps de Saignement par rapport à la thrombopénie ; défaut d'agrégation plaquettaire

\* Signes en rapport avec un état dysimmunitaire : test de Coombs direct positif chez 5% des patients (sans anémie hémolytique), hypergammaglobulinémie polyclonale dans 20% des cas et monoclonale dans 10% des cas, lymphopénie, déficit en lymphocytes CD4+ ou en cellules NK.

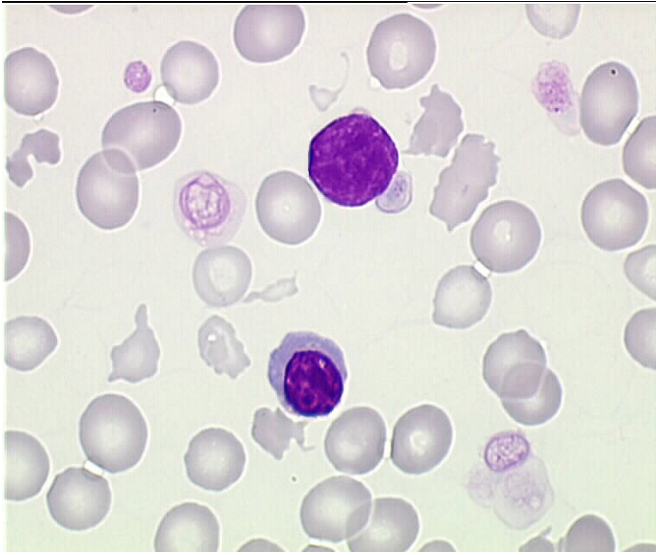
\* Bilirubine libre augmentée (hémolyse intramédullaire)

\* Immunophénotype des cellules myéloïdes. Expression aberrante ou asynchrone de divers antigènes sur les diverses lignées myéloïdes. Pas d'usage en pratique courante.

\* Dosage de la vitamine B12 et des folates sanguins : normaux

\* Bilan thyroïdien : normal (mais une hypothyroïdie peut coexister avec un SMD)

### Observation de frottis sanguins colorés au MGG

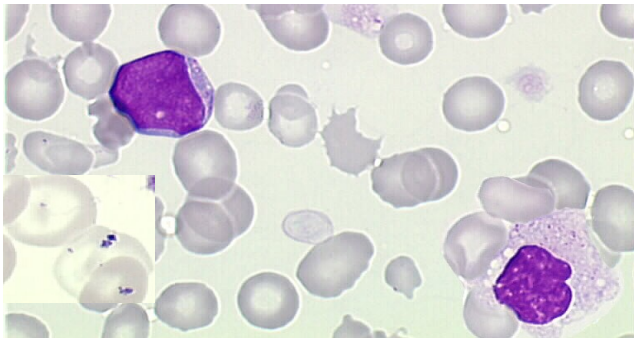


#### Anomalies érythrocytaires :

- aniso et poikilocytose,
- corps de Pappenheimer : fines granules riches en fer (1 à 3 par hématie)

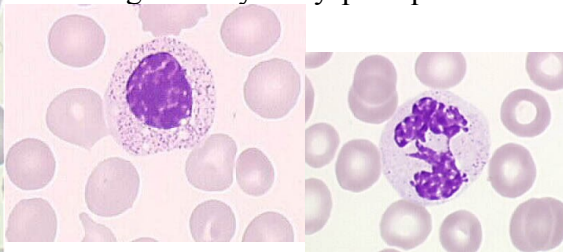
#### Anomalies plaquettaires :

- anisocytose avec macrothrombocytes, plaquettes dégranulées, persistance de microtubules sous forme d'anneaux
- micromégacaryocyte en haut de l'image : petite cellule (pseudo lymphocytaire ici) au rapport N/C proche de 1, dont le cytoplasme émet quelquefois un petit bourgeon qui rappelle une plaquette.

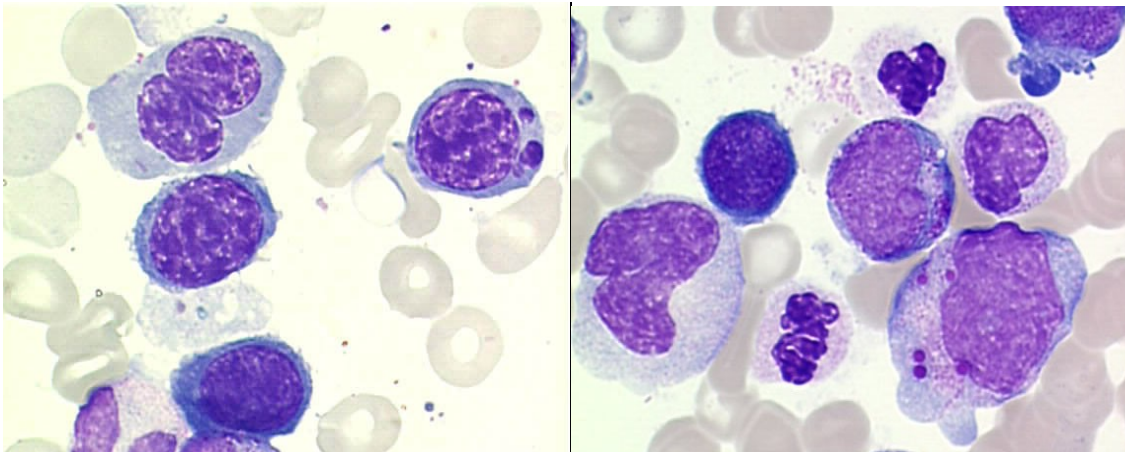


#### Anomalies leucocytaires :

- blaste
- granulocytes dysplasiques



### Observation de frottis médullaires colorés au MGG



Dysérythropoïèse et dysgranulopoïèse

# - Chapitre 7 -

## Aplasies médullaires

### Généralités

#### 1 - Définition

L'aplasie est une insuffisance médullaire quantitative des cellules souches hématopoïétiques, avec disparition complète ou partielle des tissus hématopoïétiques, sans prolifération cellulaire anormale, sans myélofibrose.

Elle est rare.

#### 2 - Conséquences

Elle entraîne une **pancytopénie périphérique** : installation progressive ou brutale des signes d'insuffisances médullaires :

- signes d'anémie
- signes infectieux liés à la neutropénie
- signes hémorragiques liés à la thrombopénie

Il y a absence d'hépatosplénomégalie et d'adénopathie.

Elle met en jeu le pronostic vital (risques infectieux et/ ou hémorragiques).

Fiche étudié :

**Fiche : Diagnostic biologique des aplasies médullaires**

# Aplasies médullaires

## Diagnostic biologique

### 1 - Hémogramme

Il montre une pancytopenie plus ou moins sévère :

- Anémie souvent profonde, normocytaire, normochrome, arégénérative  
(Le taux de réticulocytes est essentiel pour apprécier la sévérité de l'aplasie).
- Leucopénie avec neutropénie (PN <1,5G/L)
- Thrombopénie

Il n'y a pas d'anomalies morphologiques des GR, GB, plaquettes.

Il n'y a pas de cellules anormales dans le sang.

### 2 - Étude de la moelle osseuse

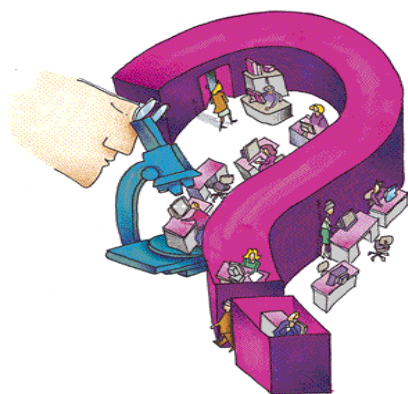
- ◆ Le **myélogramme** confirme l'origine centrale de la pancytopenie :
  - Moelle pauvre, diminution des 3 lignées myéloïdes
  - Persistance des lymphocytes et des plasmocytes
  - Absence de cellules anormales.

N.B. Si la moelle est hétérogène la ponction peut ne pas être représentative de l'ensemble, la biopsie échappe en partie à cet écueil.

- ◆ La **biopsie ostéoméduleuse** est indispensable pour confirmer le diagnostic ; elle montre :
  - Une moelle pauvre avec augmentation des adipocytes et rareté des cellules hématopoïétiques.
  - Absence d'envahissement
  - Absence de fibrose

### 3 - Autres examens

- ◆ Explorations isotopiques
  - Fer 59 (non indispensable) : forte captation hépatique, la moelle ne fixant pas le Fe □ témoin de l'insuffisance médullaire.
- ◆ Cultures de progéniteurs médullaires (non indispensable) :
  - Elles montrent une diminution de la croissance des cellules souches myéloïdes.
- ◆ Investigations permettant de rechercher les étiologies connues :
  - Installation brutale ou progressive ?
  - Explosion aux toxiques professionnels, médicamenteux, domestiques.
  - Bilan hépatique, sérologie virale (hépatite B, C, VIH)
  - Antécédents hématologiques et cancérologiques personnels et familiaux
- ◆ Caryotype.



# E

## xercices : interprétation d'hémogrammes

### 1er cas

Monsieur Adam LABROSSE, 60 ans, vient consulter pour une asthénie et des céphalées. L'examen ne révèle rien d'autre qu'une petite splénomégalie.

L'hémogramme montre :

	Résultats		Résultats en unités conventionnelles
<b>HÉMATIES</b>	<b>6 750 000 /mm<sup>3</sup></b>		
Hémoglobine	19,5 g/100mL		
Hématocrite	60,9 %		
Volume globulaire (VGM)	91 µm <sup>3</sup>		
Charge (TCMH)	29 pg		
Concentration (CCMH)	32 %		
<b>LEUCOCYTES</b>	<b>12700 /mm<sup>3</sup></b>		
Poly. Neutrophiles	72 %	9 144 /mm <sup>3</sup>	
Poly. Éosinophiles	3	381 /mm <sup>3</sup>	
Poly. Basophiles	1	127 /mm <sup>3</sup>	
Lymphocytes	13	1 651 /mm <sup>3</sup>	
Monocytes	9	1 143 /mm <sup>3</sup>	
Métamyélocytes neutrophiles	2	.....	
<b>PLAQUETTES</b>	<b>552000 /mm<sup>3</sup></b>		

Compléter le tableau.

Interpréter l'hémogramme.

Proposer un ou des diagnostic(s) possibles.

## 2<sup>ème</sup> cas

Mademoiselle Alice BOITAM, patiente de 16 ans;  
Asthénie. Angine. Petites adénopathies diffuses.

L'hémogramme :

	Résultats	Unités
HÉMATIES	3,96	
Hémoglobine	125	
Hématocrite	0,37	
VGM	94	
TCMH	31,5	
CCMH	336	
LEUCOCYTES	21,4	
PLAQUETTES	145	

	en %
Poly. neutrophiles	16
Poly. éosinophiles	0
Poly. basophiles	0
Lymphocytes	83
Monocytes	1

Présence de lymphocytes hyperbasophiles : 15 %

### Interpréter l'hémogramme

Proposer un diagnostic possible, ainsi qu'un examen complémentaire permettant d'affirmer le diagnostic.





**3<sup>ème</sup> cas**

Monsieur Paul COUP âgé de 67 ans, présente des signes cliniques suivants:

- une altération de l'état général (asthénie, amaigrissement, pâleur),
- un syndrome d'hyperviscosité sanguine (céphalées, troubles visuels, vertiges, hémorragies des muqueuses...).
- présence d'adénopathies et de splénomégalie

- VS : 110 mm/h -

- L'hémogramme :

HEMATIES  $3,6 \cdot 10^6$  à  $37^\circ\text{C}$  ( $1,9 \cdot 10^6$  à  $20^\circ\text{C}$  avec agglutinats d'hématies sur frottis)

Hémoglobine 12,0

Hématocrite 35

Volume globulaire (VGM) 97

Charge (TCMH)

Concentration (CCMH)

LEUCOCYTES  $6 \cdot 10^9$

en %

Poly. neutrophiles 30

Poly. éosinophiles 1

Poly. basophiles 1

Lymphocytes 65

Monocytes 3

Présence de nombreux rouleaux d'hématies sur frottis sanguins colorés au MGG.

PLAQUETTES  $145 \cdot 10^9$

**1° Indiquer l'unité correspondante à côté de chaque valeur de l'hémogramme et présenter chaque valeur avec l'unité conventionnelle.**

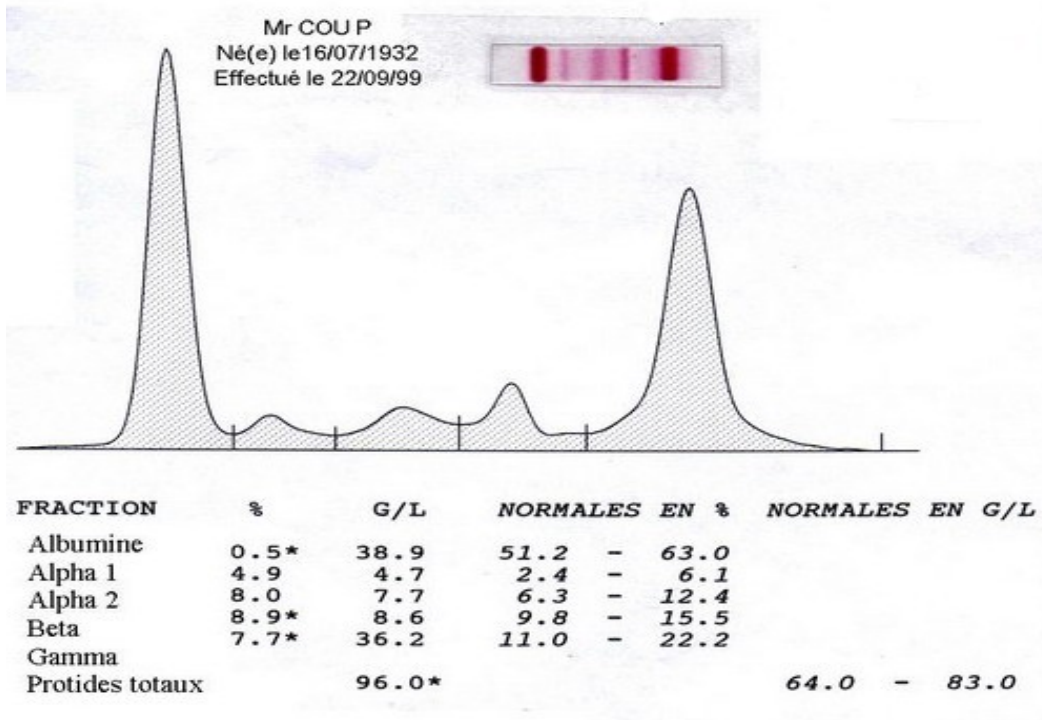
**2° Proposer une explication à la présence d'agglutinats d'hématies sur frottis sanguin coloré au MGG à  $20^\circ\text{C}$ , agglutinats qui disparaissent à  $37^\circ\text{C}$ .**

**3° Interpréter l'hémogramme. Proposer un diagnostic probable.**

**2° Le dosage et l'électrophorèse des protéines sériques donnent le résultat indiqué page 122.**

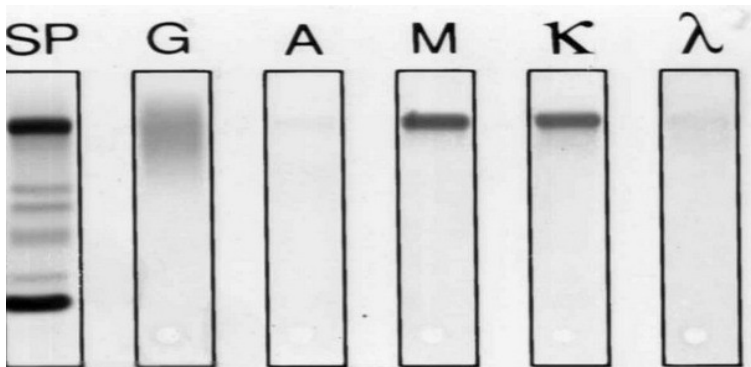
**Sur le schéma de l'électrophorèse (acétate de cellulose – pH 8,6) , indiquer:**

- la position de la cathode et de l'anode
- la zone de dépôt
- le sens de déplacement des protéines.



Interpréter ces résultats.

3° L'immunofixation des protéines sériques donne le résultat suivant.



- Sur le schéma, indiquer :
- la position de la cathode et de l'anode
- la zone de dépôt
- le sens de déplacement des protéines.

- Interpréter ces résultats. Proposer un diagnostic possible.

4° Proposer un examen complémentaire pour affirmer le diagnostic.

### Immunophénotypage

Le phénotypage des cellules tumorales est effectué dans le sang et dans la moelle osseuse, à l'aide d'anticorps monoclonaux.

On trouve les marqueurs présents sur les cellules de maturité intermédiaire entre le lymphocyte B et le plasmocyte : IgM de surface, CD19, CD20, CD22

**4<sup>ème</sup> cas**

Madame Aline NAFT, patiente de 75 ans. Asthénie modérée.  
Examen clinique normal.

**Hémogramme :**

HEMATIES /mm <sup>3</sup>		4 430 000
Hémoglobine en g/100mL		14,7
Hématocrite en %		43,2
Volume globulaire (VGM) en µm <sup>3</sup>		98
Charge (TCMH) en picog.		33
Concentration (CCMH) en %		34
LEUCOCYTES /mm <sup>3</sup>		25300
	en %	/mm <sup>3</sup>
Poly. Neutrophiles	23	5 819
Poly. éosinophiles	2	506
Poly. basophiles	2	506
Lymphocytes	70	17 710
Monocytes	3	759
PLAQUETTES /mm <sup>3</sup>		244 000

**Interpréter ces résultats. Proposer un diagnostic possible.  
Proposer un examen complémentaire pour affirmer le diagnostic.**



## 5<sup>ème</sup> cas

M. PAN Amédée, 44 ans, sans antécédents pathologiques notables, ne se sent pas bien. Les hémogrammes faits régulièrement montrent une hyperleucocytose progressive, associée à une discrète myélémie, Par ailleurs il existe une hyperuricémie, une augmentation des LDH, et l'échographie abdominale montre une hépatomégalie modérée et une splénomégalie.

L'hémogramme montre :

HEMATIES /mm <sup>3</sup>	5 400 000
Hémoglobine en g/100ml	17,6
Hématocrite en %	49,6
Volume globulaire (VGM) en $\mu^3$	91,9
Charge (TCMH) en picog.	
Concentration (CCMH) en %	
LEUCOCYTES /mm <sup>3</sup>	50 800

	en %
Poly. neutrophiles	70
Poly. éosinophiles	0
Poly. basophiles	0
Lymphocytes	10
Monocytes	2
Blastes	1
Promyélocytes	5
Myélocytes	5
Métamyélocytes	7

PLAQUETTES /mm <sup>3</sup>	470 000
-----------------------------	---------

**Analyser l'hémogramme.**

**Proposer un diagnostic, et des examens complémentaires pouvant le confirmer.**

**6<sup>ème</sup> cas**

Abel MIR, 12 ans présente les signes cliniques : pâleur, fatigue.

L'hémogramme partiel des rouges :

GR :  $6,02 \cdot 10^{12}$  /L

Ht : 39 %

Hb : 12,3 g /dL

VMG :  $64,7 \mu\text{m}^3$

TCMH 20,4 pg

Interpréter ces résultats.

**1 ° Le dosage du fer sérique et de la ferritine plasmatiques donnent les résultats suivants :**  
fer sérique 30 mmol/L - (VR : Homme : 16 à 28  $\mu\text{mol/L}$  Femme : 13,5 à 25  $\mu\text{mol/L}$ )

ferritinémie 183  $\mu\text{g/L}$  - (VR - Homme : 30 à 180  $\mu\text{g/L}$  Femme : 20 à 80  $\mu\text{g/L}$ )

**Interpréter.**

**2 ° Proposer un examen complémentaire et indiquer le résultat obtenu qui confirmerait votre diagnostic.**



### **7<sup>ème</sup> cas**

Mme Georgette TAIPAL, 70 ans, est adressée en consultation d'hématologie pour une anémie connue depuis 6 mois et ayant résisté à cette époque à un traitement associant vitamine B12 et acide folique par voie orale. Sans antécédents particuliers, elle se plaint d'une asthénie accompagnée d'une dyspnée d'effort. Elle ne prend aucun traitement et ne boit pas d'alcool.. Le teint est pâle. Il n'y a pas d'hépatosplénomégalie, les aires ganglionnaires sont libres.

L'hémogramme est le suivant:

#### **Numération et constantes érythrocytaires**

<b>Hématies :</b>	2.000.000 / mm <sup>3</sup>
Hémoglobine :	7,0 g/dL
Hématocrite :	25,0 %
Volume globulaire (VGM) :	125,0 µm <sup>3</sup>
Charge (TCMH) :	35,0 pg

#### **Numération et formule leucocytaire**

<b>Leucocytes :</b>	2500 / mm <sup>3</sup>
Polynucléaires neutrophiles :	40 % soit 1000 / mm <sup>3</sup>
Polynucléaires éosinophiles :	3 % soit 75 / mm <sup>3</sup>
Polynucléaires basophiles :	0 % soit 0 / mm <sup>3</sup>
Lymphocytes :	49 % soit 1225 / mm <sup>3</sup>
Monocytes :	8 % soit 200 / mm <sup>3</sup>

**Numération des plaquettes :** 98.000 / mm<sup>3</sup>

**1° Que montre l'hémogramme ?**

**2° Devant ce tableau anémique, quels sont les éléments orientant vers une maladie de Biermer ?**

-

**3° Quels sont les examens à pratiquer pour confirmer le diagnostic d'anémie de Biermer?**

**8<sup>ème</sup> cas**

Mme A. PADEFER, 35 ans, est fatiguée, pâle.

Un hémogramme est demandé:

**Numération et constantes érythrocytaires**

Hématies :	3.900.000 / mm <sup>3</sup>
Hémoglobine :	10,4 g/dL
hematocrite :	33,0 %
Volume globulaire (VGM) :	84,0 µm <sup>3</sup>
Charge (TCMH) :	26,6 pg
Concentration (CCMH) :	32,0 %

**Numération et formule leucocytaire**

Leucocytes :	9800 / mm <sup>3</sup>
Polynucléaires neutrophiles :	72 % soit 7056 / mm <sup>3</sup>
Polynucléaires éosinophiles :	1% soit 98 / mm <sup>3</sup>
Polynucléaires basophiles :	1% soit 98 / mm <sup>3</sup>
Lymphocytes :	20 % soit 1960 / mm <sup>3</sup>
Monocytes :	6% soit 588 / mm <sup>3</sup>
Numération des plaquettes :	465.000 / mm <sup>3</sup>

**Examens complémentaires :**

Réticulocytes :	60.000 / mm <sup>3</sup>
Fer sérique :	16 µg/dL (VR. 60 à 160)
Vitesse de sédimentation :	1ère heure : 80 mm - 2ème heure : 117 mm

**1° Interpréter ce bilan ? Quel diagnostic peut-on envisager ?**

**2° Quel examen complémentaire allez-vous demander pour affirmer le diagnostic ?**

### **9 ème cas**

M. T. CRAMOISI, 60 ans, consulte pour céphalées et bourdonnements d'oreilles. Il présente une splénomégalie.

Le bilan systématique montre cet héogramme:

#### **NUMERATION ET CONSTANTES ERYTHROCYTAIRES**

<b>Hématies :</b>	<b>6.800.000 / mm<sup>3</sup></b>
Hémoglobine :	18,5 g/dL
Hématocrite :	61,0 %
Volume globulaire (VGM) :	89,0 µm <sup>3</sup>
Charge (TCMH) :	27,2 pg
Concentration (CCMH) :	30 %

#### **NUMERATION ET FORMULE LEUCOCYTAIRE**

<b>Leucocytes :</b>	<b>11200 / mm<sup>3</sup></b>
Polynucléaires neutrophile :	72 % soit 8064 / mm <sup>3</sup>
Polynucléaires éosinophiles :	3% soit 336 / mm <sup>3</sup>
Polynucléaires basophiles :	2% soit 224 / mm <sup>3</sup>
Lymphocytes :	12 % soit 1344 / mm <sup>3</sup>
Monocytes :	8% soit 896 / mm <sup>3</sup>
Métamyélocytes :	3% soit.....

**NUMERATION DES PLAQUETTES : 740.000 / mm<sup>3</sup>**

**1° L'héogramme évoque une polyglobulie ? Sur quels critères ? Proposer des examens complémentaires pour confirmer le diagnostic.**

**2° Quelles autres anomalies met en évidence l'héogramme ? Évoquer un diagnostic.**



**10<sup>ème</sup> cas**

Mme H. HELSAY, âgée de 60 ans, signale une asthénie récente. L'examen clinique est sans particularité à l'exception d'une pâleur cutanéomuqueuse.

Le bilan que vous avez demandé est le suivant :

**Numération et constantes érythrocytaires**

Hématies : 2.700.000 / mm<sup>3</sup>

Hémoglobine : 8,2 g/dl

Hématocrite : 25,5 %

Volume globulaire (VGM) : 94,0 µ<sup>3</sup>

Charge (TCMH) : 30,3 pg

Concentration (CCMH) : 32,0 %

IDR: 17 %

**Numération et formule leucocytaire**

Leucocytes : 10500 / mm<sup>3</sup>

Polynucléaires neutrophiles : 75 %

Ea : 10 % et Eb: 5 %

Polynucléaires éosinophiles : 0 %

Polynucléaires basophiles : 0 %

Lymphocytes : 20 %

Monocytes : 5 %

Numération des plaquettes : 250.000 / mm<sup>3</sup>

**Observation du frottis sanguin coloré au MGG:**

- les hématies :

légère anisocytose avec présence de quelque macrocytes,

présence de quelques hématies polychromatophiles et présence d'érythroblastes

- les plaquettes : leur nombre semble normal/champ; isolées; aspect normal

Le reste du bilan biologique (VS, créatinine, iono, glycémie, TSH) est normal.

**1° Que montre l'hémogramme ?**

**2° Proposer un diagnostic probable**

**3° Proposer des examens complémentaires pour confirmer et affiner le diagnostic.**

### 11ème cas

Madame MIRAISIN, patiente de 77 ans.

Ne prend aucun traitement.

Asthénie. Pas d'épisode infectieux récent.

L'hémogramme est le suivant :

HEMATIES :	1 900 000/mm <sup>3</sup>	
Hémoglobine	6,3 g/100mL	
Hématocrite	20 %	
Volume globulaire (VGM)	105 fL	
Charge (TCMH)	33 pg	
Concentration (CCMH)	31,5%	
IDR	20 %	
LEUCOCYTES	1 900/mm <sup>3</sup>	
	en %	/mm <sup>3</sup>
Poly. Neutrophiles	6	114
Poly. Éosinophiles	0	0
Poly. Basophiles	0	0
Lymphocytes	88	1 670
Monocytes	4	76
Blastes	2	40
PLAQUETTES	108 000/mm <sup>3</sup>	

**Analyser l'hémogramme.**

**Proposer un diagnostic probable.**

