

LES CAHIERS CERBA

*Recommandations pour le diagnostic et l'interprétation
d'une hyperlymphocytose sanguine*



*par B. Caron Servan, S. Defasque, C. Hémar, H. Mossafa
Biologistes médicaux, Laboratoire CERBA*

SOMMAIRE

Valeurs usuelles	p. 3
Répartition des différentes sous-populations lymphocytaires	p. 3
Hyperlymphocytose réactionnelle	p. 4
Lymphocytose B polyclonale à lymphocytes binucléés	p. 5

HEMOPATHIES LYMPHOÏDES B p. 6

Leucémie lymphoïde chronique (LLC-B)	p. 6
Lymphocytose B monoclonale (LBM)	p. 8
Leucémie prolymphocytaire B (LPL-B)	p. 9
Leucémie à tricholeucocytes (HCL)	p.10
Lymphome de la zone marginale (LZM)	p.11
Lymphome lymphoplasmocytaire (LPL) et maladie de Waldenström (MW)	p.13
Lymphome folliculaire (LF)	p.15

Lymphome à cellules du manteau (LCM)	p.17
Lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB)	p.19
Lymphome de Burkitt	p.20
Profilis phénotypiques classiques des hémopathies lymphoïdes B	p.21

HEMOPATHIES LYMPHOÏDES T p.22

Syndrome de Sézary (SS)	p.22
Leucémie/Lymphome T de l'adulte HTLV1+ (ATLL)	p.23
Leucémie prolymphocytaire T (LPL-T)	p.24
Leucémie lymphoïde à grands lymphocytes granuleux (LGL-T et -NK)	p.25

ETUDE DE CAS p.26

L'hyperlymphocytose est une anomalie fréquente de l'hémogramme découverte le plus souvent de façon fortuite lors d'un bilan sanguin.

Sans conséquence dans de nombreuses situations bénignes (infections virales notamment), elle peut également être le reflet de la phase circulante d'une maladie lymphoproliférative maligne.

Ce cahier est une revue des différents outils diagnostiques à notre disposition permettant de différencier une lymphocytose réactionnelle d'un syndrome lymphoprolifératif chronique (SLPC).

Il souligne l'importance de l'étude morphologique des cellules lymphoïdes sur frottis sanguin, étape indispensable et parfois suffisante pour affirmer le caractère réactionnel ou pour orienter vers un syndrome lymphoprolifératif avec cytologie spécifique.

L'immunomarquage par cytométrie en flux vient en complément pour affiner le diagnostic grâce à l'existence de profils phénotypiques caractéristiques basés sur l'utilisation de marqueurs spécifiques.

Enfin, les techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire (caryotype et FISH) et la biologie moléculaire (clonalité B et T) permettent de préciser le diagnostic dans les cas atypiques et fournissent des éléments pronostiques indispensables pour la prise en charge thérapeutique de nombreuses hémopathies lymphoïdes.

VALEURS USUELLES

Il est important de toujours raisonner en **valeur absolue et non en pourcentage**.

Valeurs normales chez l'adulte : 1 à 4 G/l

L'hyperlymphocytose est définie chez l'adulte par un taux de **lymphocytes > 4 G/l** sur l'hémogramme. **L'hyperlymphocytose** sera dite **chronique** si elle persiste **plus de 3 mois**.

Valeurs normales variables selon l'âge chez l'enfant :

- Enfants < 2 ans
lymphocytose normale si < 11 G/l
- Enfants de 2 à 4 ans
lymphocytose normale si < 8 G/l
- Enfants de 5 à 10 ans
lymphocytose normale si < 6.5 G/l

L'hyperlymphocytose est définie par un taux de **lymphocytes** chez :

- Nourrisson > **11 G/l**
- Enfant > **8 G/l**.

REPARTITION DES DIFFÉRENTES SOUS-POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES

- Lymphocytes **T CD3+** : 75 %
(900 à 1900/mm³)
- Lymphocytes **T CD3+ CD4+** : 40-50 %
(500 à 1200/mm³)
- Lymphocytes **T CD3+ CD8+** : 25-30 %
(200 à 800/mm³)
- Lymphocytes **B** : 10-15 %
(100 à 500/mm³)
- Lymphocytes **NK** : 8-15 %
(70 à 400/mm³)

NB : ce cahier étant une aide au diagnostic biologique des hémopathies lymphoïdes avec dissémination sanguine, l'aspect anatomo-pathologique ne sera pas abordé.

HYPERLYMPHOCYTOSE REACTIONNELLE

1) Définition

A la différence des hyperlymphocytoses malignes, l'hyperlymphocytose réactionnelle est transitoire et peut s'accompagner ou non de la présence de lymphocytes hyperbasophiles.

Hyperlymphocytose réactionnelle sans syndrome mononucléosique :

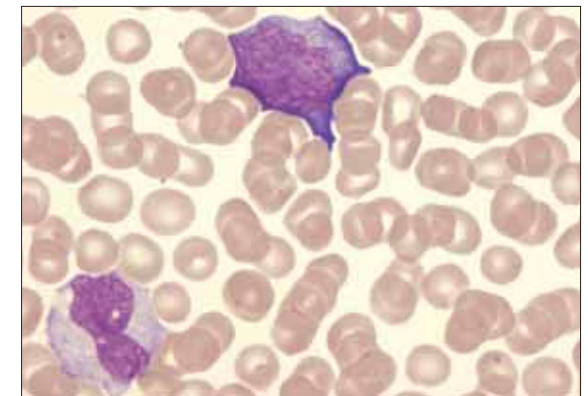
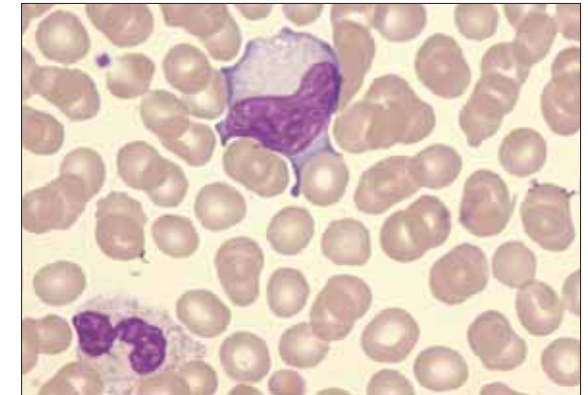
- Infections :
 - Coqueluche
 - . Jeune enfant, toux.
 - . Lymphocytose parfois très élevée (15 à 50 G/l) avec présence de petits lymphocytes matures, parfois clivés.
 - Maladie de Carl-Smith (lymphocytose aiguë infectieuse)
 - . Enfant ou jeune adulte, parfois fièvre, rhinopharyngite, gastro-entérite.
 - . Lymphocytose modérée .
 - Autres infections bactériennes (rares) : syphilis, rickettsioses, tuberculose.
- Autres pathologies :
 - Maladie sérique, maladies autoimmunes.
 - Réactions immunoallergiques aux médicaments.
- Hyperlymphocytose postsplénectomie : peut persister plusieurs mois et s'accompagne souvent d'une hyperplaquettose avec présence de corps d'Howell-Jolly et d'hématies en poire sur le frottis.

Hyperlymphocytose avec syndrome mononucléosique
Présence sur le frottis sanguin de lymphocytes hyperbasophiles en proportion variable.

- Infections virales :
 - Mononucléose infectieuse à virus Epstein-Barr (EBV) :
 - . Enfant ou jeune adulte
 - . Asthénie, fièvre, angine, adénopathies cervicales, parfois neutropénie et thrombopénie associées.
 - Infection à cytomégalovirus (CMV) :
 - . Fièvre, splénomégalie variable, pneumopathie, myocardite, signes neurologiques.
 - Rubéole, oreillons, rougeole, varicelle.
 - Primo-infection VIH, hépatites virales, HSV.
- Autres infections :
 - Parasitaires : paludisme, toxoplasmose.
 - Bactériennes (rares) : brucellose, syphilis.

2) Cytologie

Les lymphocytes hyperbasophiles sont des lymphocytes de grande taille, au noyau le plus souvent régulier, à la chromatine dense, au cytoplasme abondant très basophile (basophilie souvent renforcée en périphérie).
Diagnostic différentiel : blastes, cellules de lymphome.



3) Immunophénotypage (rarement nécessaire)

Présence d'une hyperlymphocytose T CD8+.

LYMPHOCYTOSE B POLYCLONALE A LYMPHOCYTES BINUCLEES

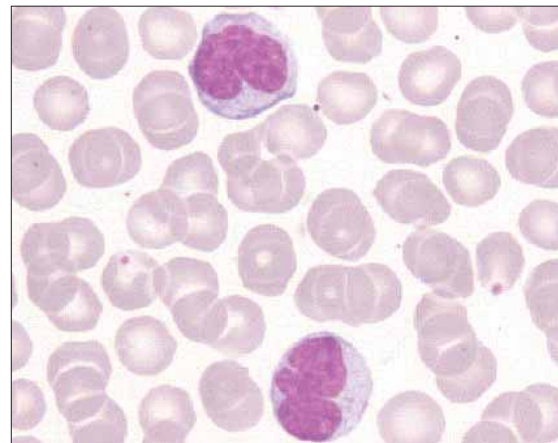
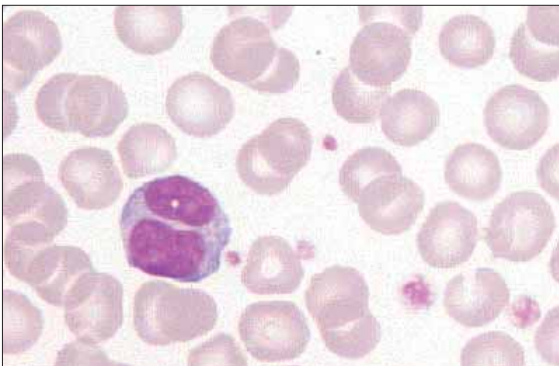
1) Définition

Il s'agit d'une entité rare, le plus souvent observée chez la femme jeune (30 à 50 ans), dans un contexte d'intoxication tabagique sévère. On observe parfois un syndrome tumoral (splénomégalie et/ou adénopathies) avec hypergammaglobulinémie polyclonale de type IgM.

Si l'évolution clinique est indolente dans la plupart des cas, elle peut néanmoins évoluer plus rarement vers une hémopathie lymphoïde B agressive.

2) Cytologie

La population lymphoïde est polymorphe avec présence de lymphocytes bilobés à binucléés en nombre variable.

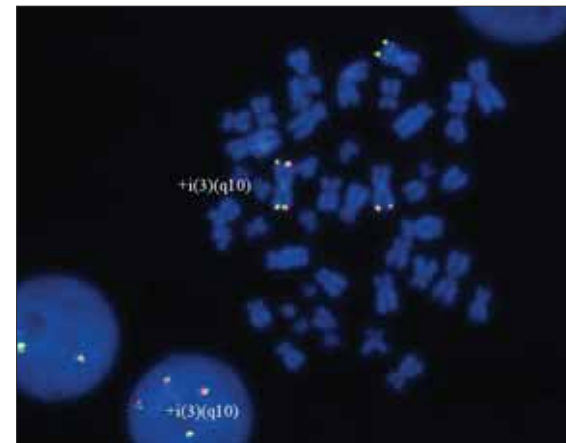


3) Immunophénotypage

Présence d'une hyperlymphocytose B CD19+ sans restriction monotypique.

4) Génétique

Cette entité se caractérise par la présence d'un isochromosome 3q surnuméraire dans 70% des cas. On peut par ailleurs observer un phénomène très inhabituel de condensation prématurée de la chromatine (PCC) et une grande instabilité chromosomique.



FISH sonde locus BCL6 Break Apart : métaphase et cellule interphasique avec isochromosome i(3)(q10)

HEMOPATHIES LYMPHOÏDES B

LEUCEMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC-B)

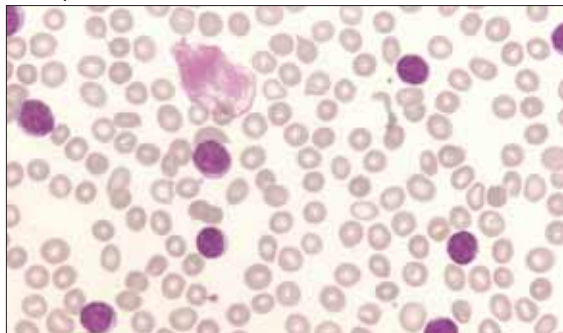
1) Définition

La LLC est définie par une hyperlymphocytose sanguine persistante, plus de 3 mois avec lymphocytose B monotypique > 5 G/l (classification OMS 2008).

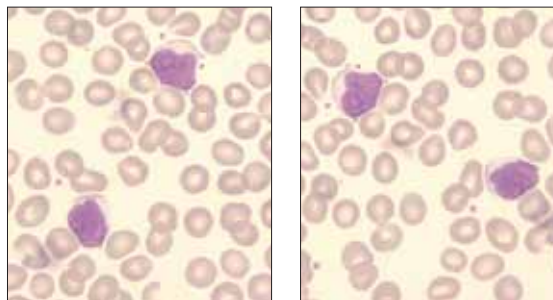
C'est une pathologie fréquente (1 nouveau cas pour 30 000 habitants par an en France), qui survient principalement chez l'adulte autour de 60 ans. Dans 50 % des cas, elle s'accompagne de polyadénopathies avec parfois hépatosplénomégalie.

2) Cytologie

LLC classique : les lymphocytes sont d'aspect monomorphe, de petite taille, au noyau régulier, à la chromatine dense, au cytoplasme peu abondant. On note fréquemment la présence d'assez nombreux noyaux nus (ombres de Gümprecht).



LLC de cytologie atypique : il existe des variants cytologiques de LLC avec présence de lymphocytes au noyau irrégulier, encoché, ou excentré (forme lymphoplasmocytaire) ou présence de prolymphocytes en nombre variable.



3) Immunophénotypage

Présence d'une population lymphoïde B CD19+, **CD5+**, **CD23+**, CD43+, **FMC7-**, **CD79b+ faible**, **CD20+ faible** avec expression **monotypique faible** des Ig de surface kappa ou lambda.

L'expression du **CD38** avec une positivité supérieure à 30 % est un facteur de mauvais pronostic (seuil discuté).

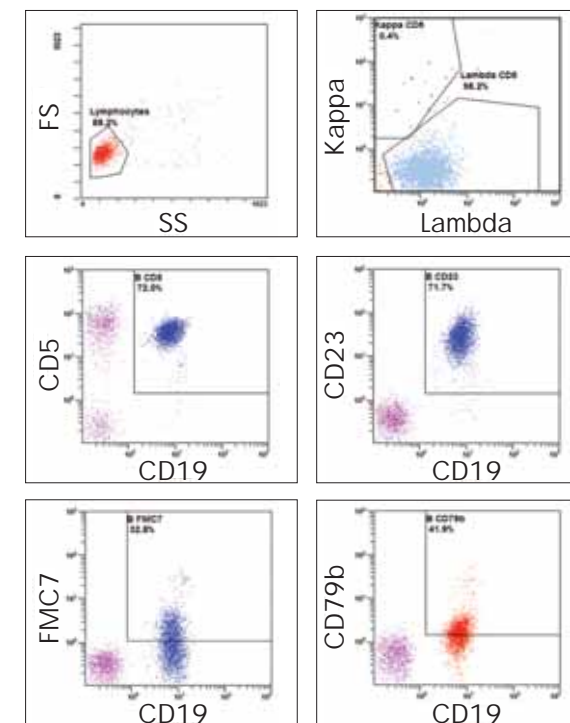
Le score de Matutes permet de poser le diagnostic de LLC. On attribue 0 ou 1 point à chacun des paramètres (voir tableau).

La LLC se définit par un score de Matutes de 4 ou 5. Un score égal à 3 peut correspondre à une « LLC de phénotype atypique », Un score inférieur à 3 élimine formellement une LLC et est en faveur d'un autre syndrome lymphoprolifératif chronique B.

Score de matutes :

Antigène	1 point	0 point
CD5	Positif	Négatif
CD23	Positif	Négatif
CD22 ou CD79b	Négatif ou positif faible	Expression non faible
FMC7	Négatif	Positif
Ig membranaire	Expression faible	Expression non faible

Histogrammes :



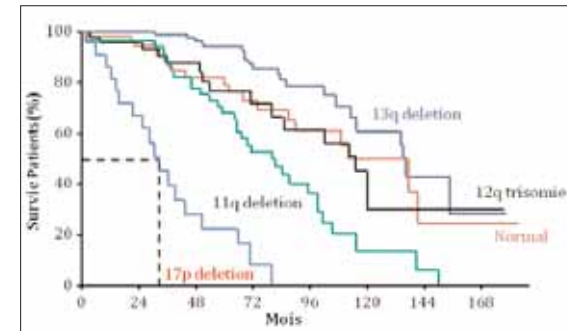
5) Génétique

Dans le cadre de la LLC, la génétique joue un rôle d'orientation diagnostique (dans le cas de présentation clinique, cytologique ou phénotypique atypique) et fournit des arguments pronostiques indépendants des autres paramètres biologiques. La cytogénétique conventionnelle et la cytogénétique moléculaire (FISH) sont toutes les deux indispensables car elles fournissent des informations complémentaires et permettent de détecter des anomalies chromosomiques clonales dans plus de 80 % des cas dont :

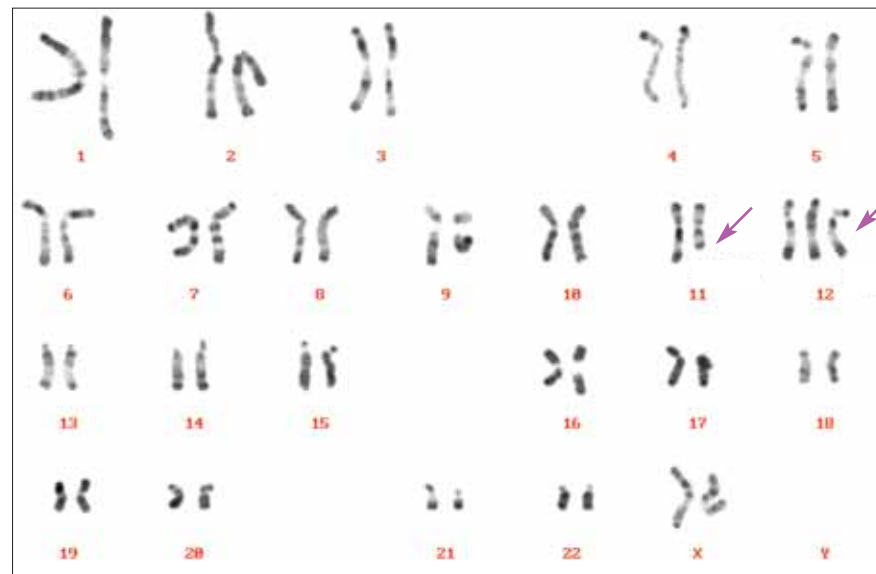
- La délétion du locus D13S319 en 13q14, de bon pronostic lorsqu'elle est isolée.
- La trisomie du chromosome 12, de pronostic intermédiaire.
- La délétion du locus ATM-2 en 11q22, de pronostic péjoratif.
- La délétion du locus P53 en 17p13, également de pronostic péjoratif.
- La délétion du locus MYB en 6q23 et le remaniement du locus IgH en 14q32 de plus en plus recherchés.

Anomalie isolée au caryotype ou en FISH	Fréquence (%)	Médiane de survie (mois)
del17p	7	32
del11q	18	79
+12	16	114
Caryotype normal	18	111
del13q	55-65	133

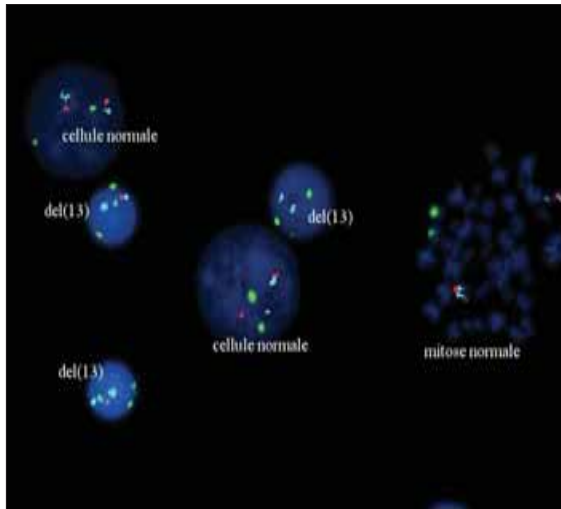
Fréquence des principales anomalies cytogénétiques et médiane de survie associée (Dohner H, et al. *N Engl J Med.* 2000;343:1910-1916)



Médiane de survie et anomalies cytogénétiques (Dohner H, et al. *N Engl J Med.* 2000;343:1910-1916)



Caryotype sanguin avec délétion interstitielle du bras long d'un chromosome 11 associée à la trisomie du chromosome 12.



Mise en évidence par FISH de la délétion du locus D13S319 en 13q14 sur cellules interphasiques

6) Autres facteurs pronostiques

- Temps de doublement des lymphocytes < 12 mois.
- Tyrosine kinase ZAP-70 dont l'expression est très souvent associée au profil non muté des chaînes lourdes des immunoglobulines et à l'expression du CD38.
- Statut mutationnel des chaînes lourdes des immunoglobulines (Igh) : un statut non muté constitue un facteur de mauvais pronostic.

Lymphocytose B monoclonale (LBM)

La nouvelle définition de la LLC dans la classification OMS 2008 (lymphocytose B > 5 G/l), a introduit la notion de lymphocytose B monoclonale comme une étape pouvant précéder la LLC.

La LBM est définie par les critères suivants :

- présence d'une population B monotypique.
- un nombre absolu de lymphocytes B < 5 G/l.
- présence d'un phénotype caractéristique de LLC (CD5+ CD23+).
- absence de maladie auto-immune, d'organomégalies, ou de signes cliniques d'évolutivité.

La LBM correspond à un stade pré-LLC.

Le risque d'évolution de progression de la LBM est estimé à environ 1 % par an.

Ce risque serait différent selon la lymphocytose initiale : une lymphocytose inférieure à 1,9 G/l pourrait être associée à un risque inexistant ou très faible d'évolution vers une LLC et une lymphocytose supérieure à 1,9 G/l à un risque supérieur nécessitant un suivi hématologique plus rapproché.

On estime à environ 3,5 % la prévalence de la LBM dans la population générale.

LEUCEMIE PROLYMPHOCYTAIRE B (LPL-B)

1) Définition

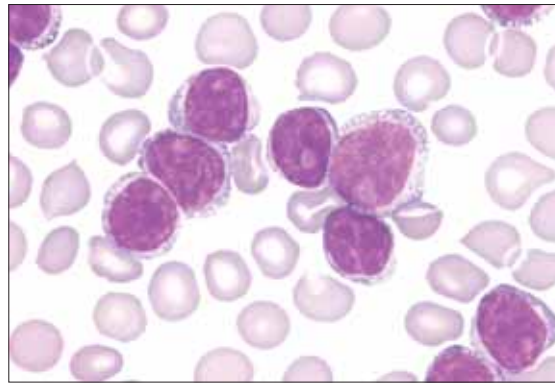
La leucémie prolymphocytaire B est une pathologie très rare qui survient chez l'adulte vers 50 ans. Classiquement, on retrouve une splénomégalie volumineuse avec parfois des adénopathies, associées à une hyperlymphocytose importante (assez souvent supérieure à 100 G/l).

2) Cytologie

Elle est définie cytologiquement selon les classifications FAB puis OMS par la présence dans le sang de plus de 55 % de prolymphocytes.

Le prolymphocyte est une cellule lymphoïde de taille moyenne à grande, au noyau régulier, arrondi, à la chromatine dense présentant un volumineux nucléole bien visible qui le caractérise. Le cytoplasme est modérément abondant et peu basophile.

3) Immunophénotypage



Les cellules lymphoïdes sont CD19+, CD5±, CD23±, CD43-, FMC7+ fort, CD79b+, CD20+ fort, avec expression monotypique modérée à forte des Ig de surface kappa ou lambda.

4) Génétique

Il n'existe pas de corrélation démontrée entre les anomalies cytogénétiques isolées et la survie globale des patients. Le caryotype dans la leucémie prolymphocytaire B est fréquemment complexe et instable, avec des anomalies chromosomiques clonales de nombre et de structure (voir tableau).

Anomalie isolée au caryotype ou en FISH	Fréquence
Délétion du bras court d'un chromosome 17 en 17p13 « locus P53 »	50 %
Délétion du bras long d'un chromosome 13 en 13q14 « locus D13S319 »	27 %
Translocation(11;14)(q13;q32)	20 %
Anomalies de structure des chromosomes 1, 6 [del(6q), t(6;12)(q15;p13)]	?
Trisomie 12	inhabituelle

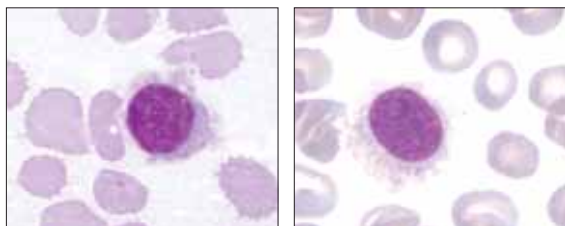
LEUCEMIE A TRICHOLEUCOCYTES (HCL)

1) Définition

La leucémie à tricholeucocytes est une hémopathie rare qui représente environ 2 % de l'ensemble des hémopathies lymphoïdes B. Elle survient chez l'adulte autour de 50 ans avec une nette prédominance masculine (80 % des cas). Elle se caractérise par la présence d'une splénomégalie (3/4 cas) avec le plus souvent au niveau de l'hémogramme une neutropénie avec monocytopénie et parfois thrombopénie.

2) Cytologie

Le tricholeucocyte est une cellule lymphoïde de taille moyenne, au noyau ovalaire ou plus rarement réniforme, à la chromatine réticulée, au cytoplasme clair ayant la particularité de présenter des villosités fines et plus ou moins longues sur tout le pourtour de la cellule, ce qui le différencie du lymphocyte vilieux pour lequel les villosités sont regroupées à un pôle de la cellule.



La recherche des tricholeucocytes sur le frottis sanguin est délicate car ils sont souvent peu nombreux.

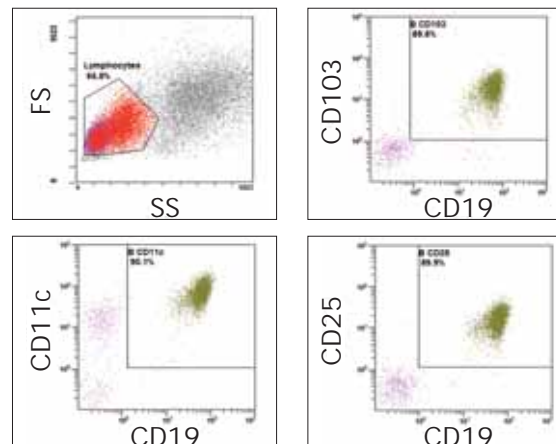
Il existe des HCL variantes (HCL-v), très rares et de reconnaissance difficile, avec un âge médian plus élevé que la forme classique.

La splénomégalie est présente dans 85 % des cas, l'hémogramme montre une hyperlymphocytose sans monocytopénie.

Les cellules lymphoïdes sont de taille moyenne à grande, au noyau rond, à la chromatine déliée avec un nucléole proéminent et un cytoplasme plus ou moins abondant, basophile, au contour présentant des villosités.

3) Immunophénotypage

Dans ce contexte, l'immunophénotypage est la méthode de choix : les tricholeucocytes sont CD19+, CD5-, CD23±, FMC7+, CD79b+ avec expression monotypique modérée à forte des Ig de surface kappa ou lambda. La coexpression des trois marqueurs **CD103**, **CD11c** et **CD25** est spécifique de la maladie.



Dans la HCL forme variante, le CD103 et le CD11c sont également le plus souvent positifs, mais le CD25 n'est pas exprimé.

4) Génétique

La génétique est peu informative dans le cas des leucémies à tricholeucocytes dans sa forme classique (HCL) dans la mesure où ces cellules présentent un index mitotique faible rendant difficile l'obtention de mitoses analysables. Le caryotype est le plus souvent normal, avec des anomalies chromosomiques non clonales. S'il n'existe pas d'anomalies chromosomiques spécifiques dans le cas des HCL, un certain nombre d'anomalies chromosomiques ont toutefois été décrites :

- Anomalies de nombre : trisomie des chromosomes 5 et 7.
- Anomalies de structure : délétion du locus P53 en 17p13, remaniement du locus IgH en 14q32, réarrangement en 14q22-24, anomalies des chromosomes 5, 11 et 12 décrites.

Cas particulier de la leucémie à tricholeucocytes dans sa forme variante (HCL-v) : Caryotype souvent complexe, délétion du locus P53 en 17p13, présence d'une translocation t(14;18)(q32;q21) habituellement décrite dans le lymphome folliculaire, et t(2;8)(p12;q24) habituellement décrite dans le Burkitt.

Dans le cas des diagnostics difficiles, la recherche de clonalité des gènes IgH peut être une aide considérable pour la confirmation de la pathologie.

LYMPHOME DE LA ZONE MARGINALE

(LZM)

1) Définition

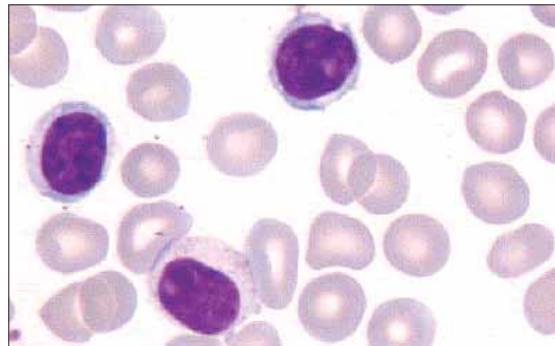
Le terme lymphome de la zone marginale regroupe trois entités distinctes en fonction du site d'envahissement. Il s'agit du lymphome du MALT développé à partir du tissu lymphoïde associé aux muqueuses, du lymphome de la zone marginale splénique (LSZM) avec ou sans lymphocytes villeux (SLVL) et du lymphome de la zone marginale ganglionnaire. Ils représentent environ 10% des LNH-B et touchent le plus souvent l'adulte de plus de 60 ans. La présentation clinique sera différente selon les entités, la forme splénique se caractérise par une splénomégalie isolée avec présence fréquente d'une immunoglobuline monoclonale. La dissémination sanguine est variable avec une lymphocytose généralement modérée.

2) Cytologie

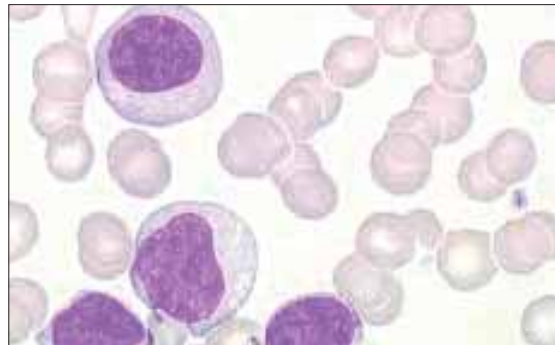
La population lymphoïde est le plus souvent hétérogène avec une majorité de cellules de taille moyenne, au noyau régulier arrondi, ou plus rarement encoché, à la chromatine dense, souvent nucléolée, au cytoplasme plus ou moins abondant, modérément basophile. On peut observer également des formes lymphoplasmocytaires (noyau excentré), ainsi que la présence de rares lymphocytes villeux.

Il existe une présentation cytologique plus rare mais typique avec observation de cellules lymphoïdes de taille moyenne, au noyau moins arrondi, parfois allongé en fer à cheval, au cytoplasme abondant et très clair conférant à la cellule un aspect pseudomonocytaire ou « monocytoïde ».

Forme classique :



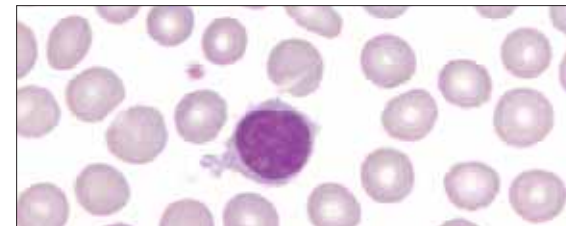
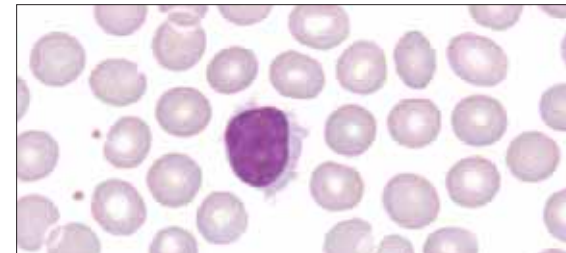
Forme « monocytoïde » :



Le lymphome de la zone marginale splénique à lymphocytes villeux (> 20 % de lymphocytes villeux) :

Les lymphocytes villeux sont des cellules lymphoïdes de taille moyenne, au noyau arrondi, à la chromatine dense parfois nucléolée, au cytoplasme modérément abondant, discrètement basophile, présentant des villosités franches le plus souvent regroupées à un ou plusieurs pôles de la cellule.

La présence de ces villosités est très dépendante de l'étalement, elles sont moins visibles dans les régions trop étalées du frottis.

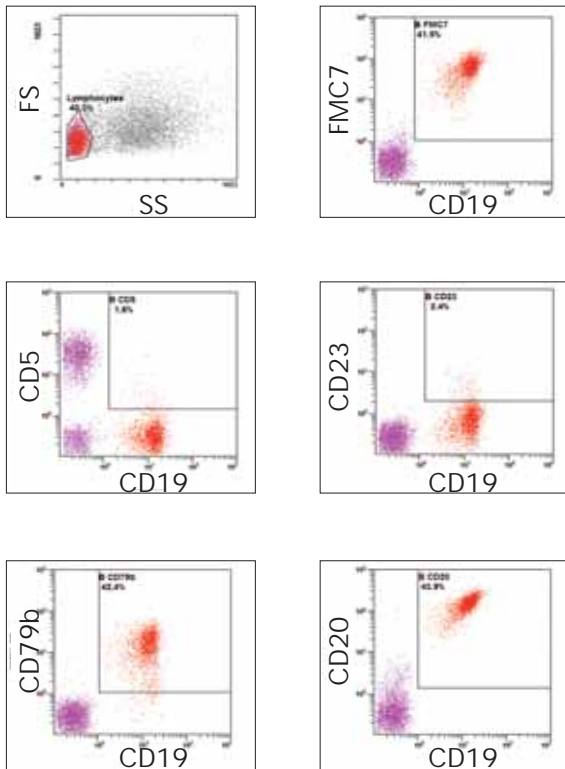


3) Immunophénotypage

Les cellules lymphoïdes sont CD19+, **CD5-**, **CD23-**, CD43-, FMC7+ et CD79b+ avec expression monotypique modérée à forte des Ig de surface kappa ou lambda.

Le score de Matutes est classiquement égal à 0 et le plus souvent ≤ 2 .

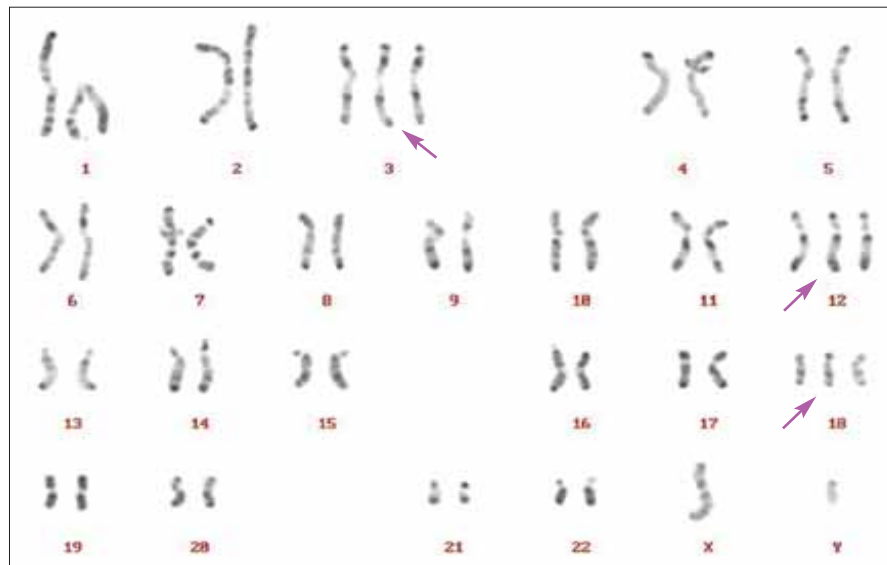
Le profil associant CD5- et CD23- est le plus souvent retrouvé dans le lymphome de la zone marginale.



4) Génétique

La cytogénétique permet de mettre en évidence des anomalies chromosomiques clonales dont les plus fréquemment retrouvées sont :

Anomalie isolée au caryotype	Fréquence
Remaniement du locus MALT-1 en 18q21	25 à 50 %
Trisomie 3q	40 à 85 %
t (11;18)(q21;q21)	25 à 50 %
Trisomie du chromosome 18	28 à 40 %
Trisomie du chromosome 12	18 à 20 %
del(7)(q31-q32)	10 à 40 %
t (1;14)(p22;q32)	rare



Caryotype sanguin avec trisomie des chromosomes 3, 12 et 18, fortement évocateur d'un LNH-B de la zone marginale .

LYMPHOME LYMPHOPLASMOCYTAIRE (LPL) ET MALADIE DE WALDENSTRÖM (MM)

1) Définition

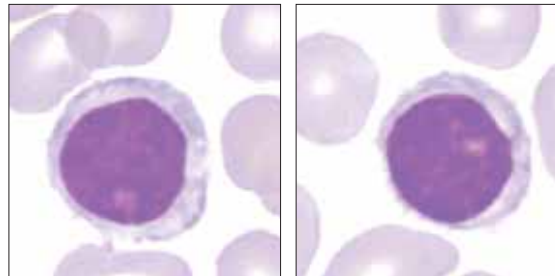
Le lymphome lymphoplasmocytaire correspond à une prolifération composée de lymphocytes, de lymphoplasmocytes et de plasmocytes envahissant le plus souvent la moelle, parfois les ganglions et la rate. La dissémination sanguine est rare, la définition est le plus souvent histologique après élimination des autres SLPC comme le lymphome de la zone marginale avec différenciation plasmocytaire. Il est souvent associé à une IgM monoclonale mais pas de façon constante.

Les LPL surviennent chez l'adulte autour de 60 ans avec une discrète prédominance masculine. Un syndrome tumoral est souvent présent avec polyadénopathies et splénomégalie.

La Macroglobulinémie de Waldenström est une entité à part entière du lymphome lymphoplasmocytaire avec envahissement médullaire par des lymphoplasmocytes toujours accompagnée d'une gammopathie monoclonale de type IgM, quelle qu'en soit la concentration. C'est une maladie peu fréquente, d'évolution indolente.

2) Cytologie

Les cellules lymphoïdes sont de taille moyenne, au noyau régulier, arrondi, plus ou moins excentré, à la chromatine dense, au cytoplasme d'abondance variable, plus ou moins basophile.



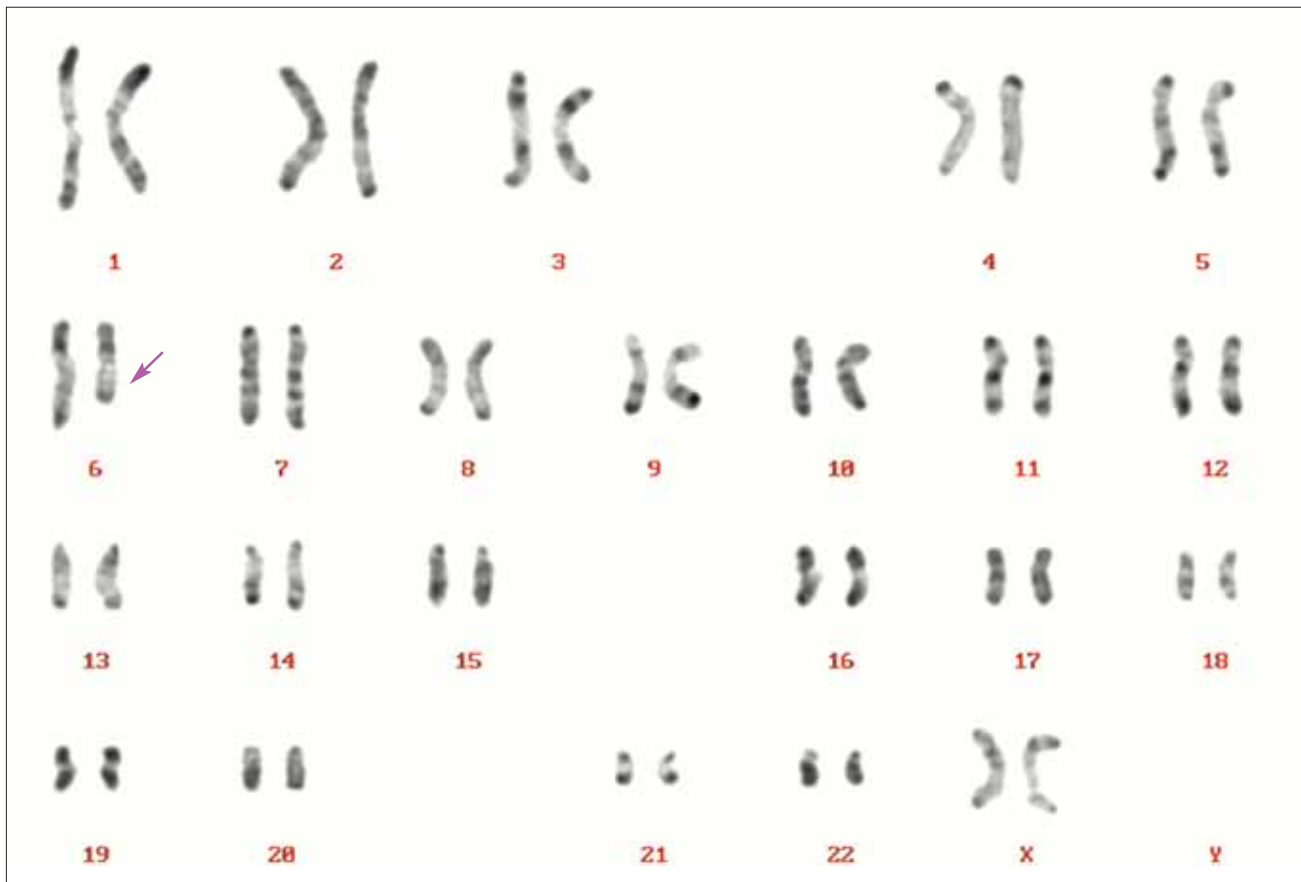
3) Immunophénotypage

Les cellules lymphoïdes sont CD19+, CD5-, CD23-, CD43-, FMC7± et CD79b+ avec expression monotypique modérée des Ig de surface kappa ou lambda.

4) Génétique

Le caryotype est le plus souvent normal. Les anomalies chromosomiques les plus fréquemment décrites, indiquées ci-dessous, ne sont pas spécifiques de la maladie mais ont une valeur pronostique importante.

Anomalie isolée au caryotype	Fréquence
t(9;14)(p13;q32)	50 % des LPL
Délétion du locus MYB en 6q23	21-55 %
Délétion en 13q14	10-15 %
Délétion du locus P53 en 17p13	10-15 %
Trisomie du chromosome 4	9 %
Réarrangement IgH en 14q32	3 %
t(11;18)(q21;q21)	Rares cas décrits



Caryotype sanguin avec délétion interstitielle du bras long d'un chromosome 6 (délétion du locus MYB en 6q23)

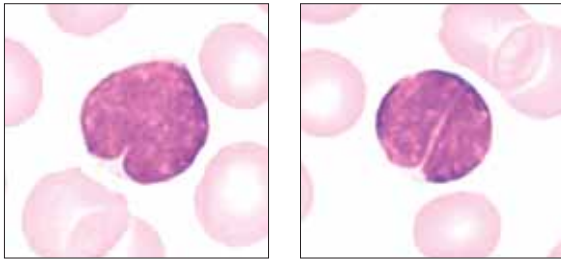
LYMPHOME FOLLICULAIRE (LF)

1) Définition

Le lymphome folliculaire est un lymphome fréquent (1/3 des LNH-B), qui touche l'adulte autour de 60 ans avec une prédominance féminine. Il se présente souvent avec un tableau de polyadénopathies profondes et superficielles avec atteinte médullaire fréquente. La dissémination sanguine est rare (10 % de phase circulante) avec une lymphocytose variable mais le plus souvent modérée. Généralement indolent, le lymphome folliculaire peut néanmoins évoluer vers un lymphome agressif.

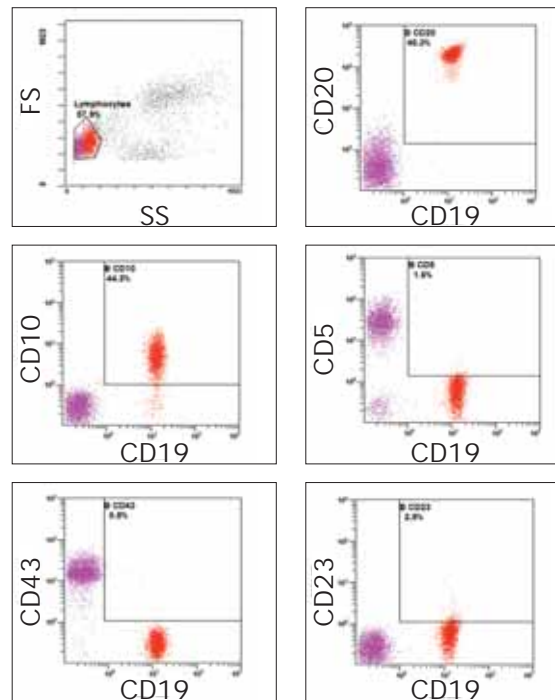
2) Cytologie

Les cellules lymphoïdes sont de taille petite à moyenne, au noyau incisé (incision profonde et étroite en « grain de café »), à la chromatine dense à déliée, au cytoplasme à peine visible.



3) Immunophénotypage

Les cellules lymphoïdes sont classiquement CD19+, **CD5-**, **CD10+**, CD23±, CD43-, FMC7+, CD79b+, avec expression monotypique des Ig de surface de forte intensité kappa ou lambda.

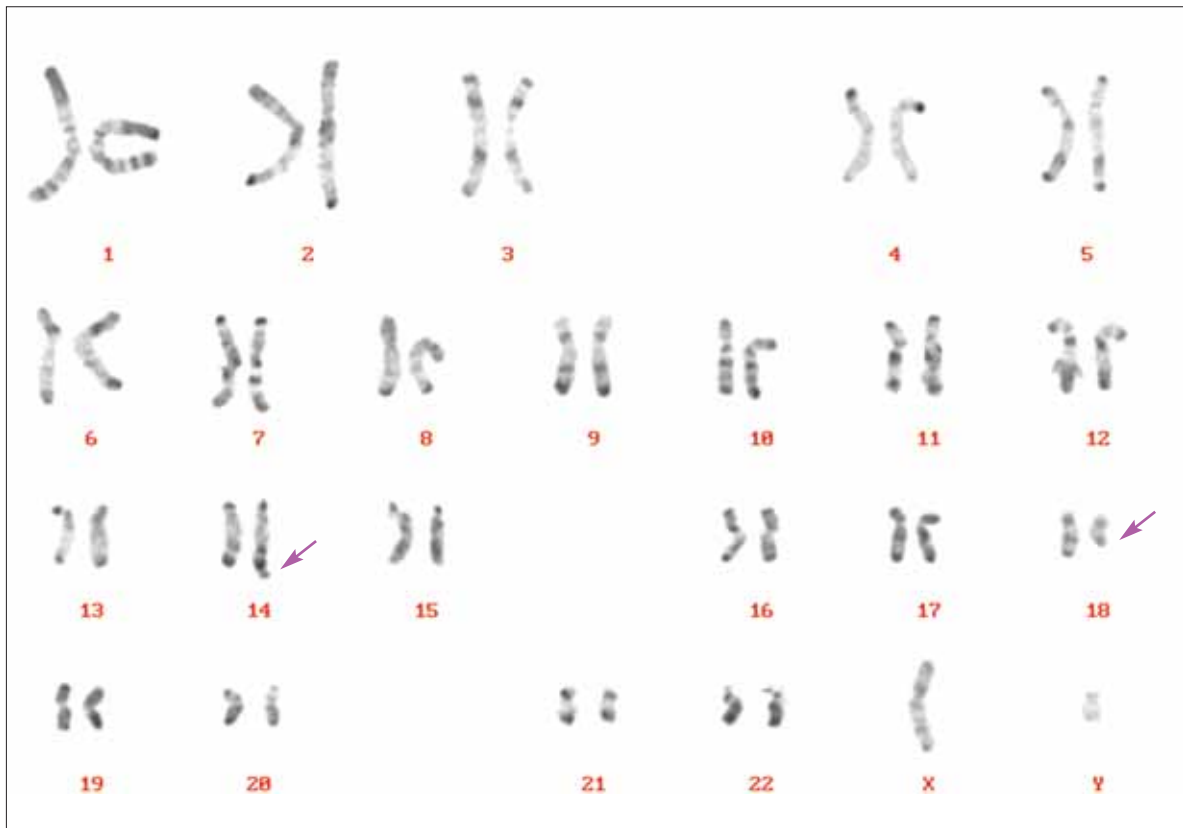


4) Génétique

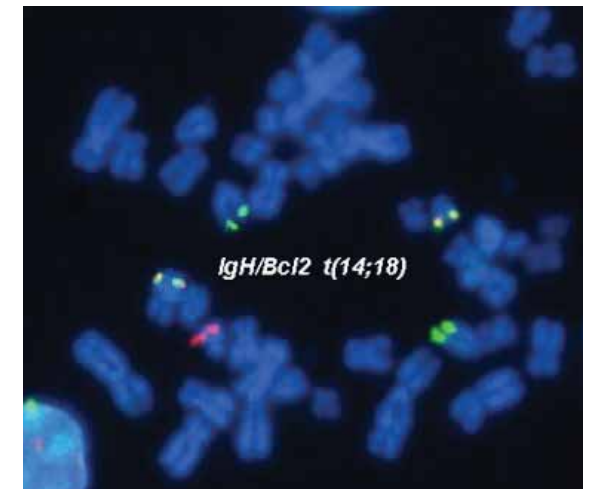
L'anomalie chromosomique la plus fréquemment observée dans le cas du lymphome folliculaire est la translocation t(14;18)(q32;q21). Le caryotype à lui seul ne permet pas de détecter cette anomalie dans tous les cas, il est donc indispensable de le compléter par la technique de FISH à la recherche du réarrangement IgH/Bcl2, son équivalent moléculaire.

Les anomalies chromosomiques clonales additionnelles pouvant apparaître lors de l'évolution de la pathologie sont considérées comme un facteur de pronostic péjoratif.

Anomalie isolée au caryotype	Fréquence
Trisomie du chromosome 7	15 à 20 %
Trisomie du chromosome 18	15 à 20 %
Remaniement du locus BCL6 en 3q27	10 à 15 %
Remaniement du locus c-MYC en 8q24	7 à 10 %
Délétion du locus MYB en 6q23	10 à 15 %
Délétion du locus P53 en 17p13	10 à 15 %
Caryotype complexe ≥ 6 anomalies	15 à 20 %



Caryotype sanguin avec translocation t(14;18)(q32;q21)



FISH Sonde double couleur double fusion IgH/BCL2
Remaniement IgH/BCL2 sur mitose, équivalent moléculaire de la translocation t(14;18), confirmant l'anomalie observée en cytogénétique conventionnelle.

LYMPHOME A CELLULES DU MANTEAU (LCM)

1) Définition

Le lymphome à cellules du manteau est une entité rare (environ 6 % des LNH-B) survenant chez le sujet de plus de 60 ans avec une nette prédominance masculine. Il est le plus souvent d'emblée généralisé, avec des adénopathies multiples et fréquemment une splénomégalie. L'atteinte médullaire est habituelle et la dissémination sanguine fréquente (50 à 70 %). Une hyperlymphocytose est observée dans environ la moitié des cas.

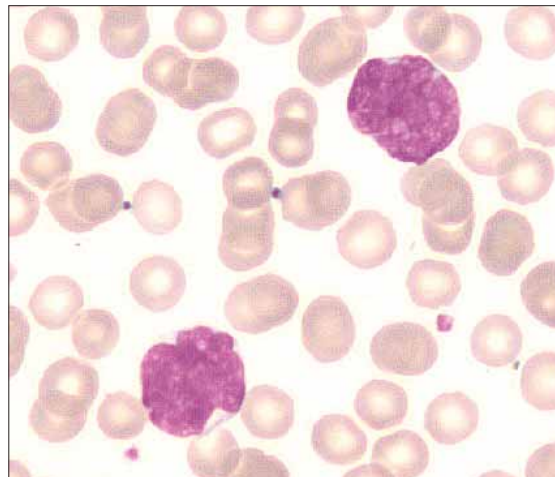
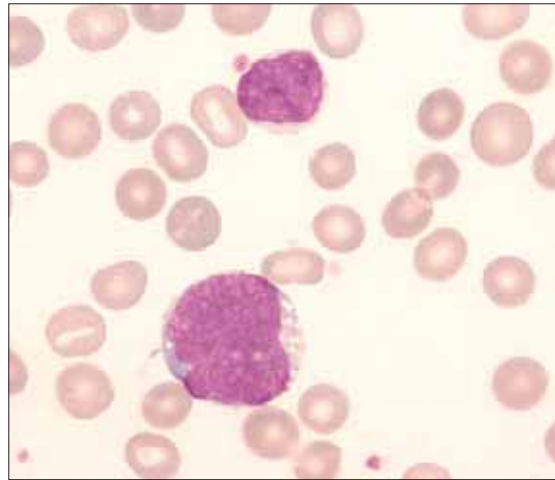
2) Cytologie

Il existe différentes présentations cytologiques :

Forme typique : cellules lymphoïdes de taille petite à moyenne, au noyau plus ou moins régulier, encoché, à la chromatine dense à dispersée, souvent nucléolée, au cytoplasme peu abondant, faiblement basophile.

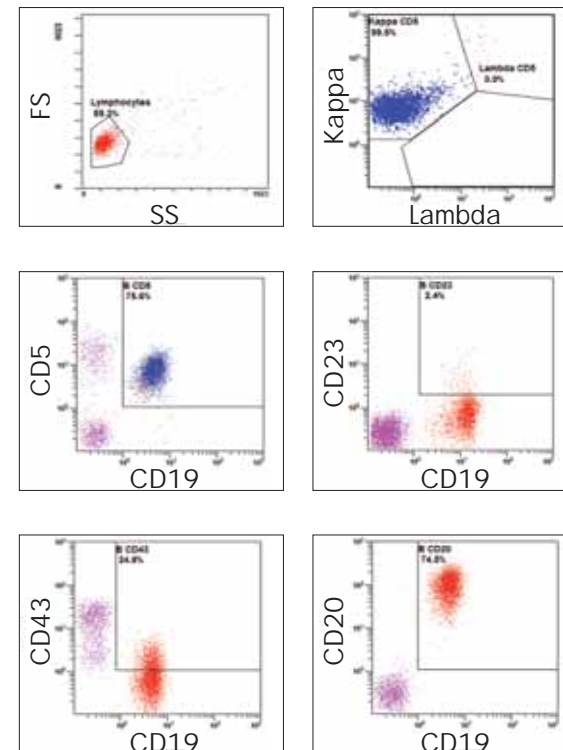
Forme variante blastique : cellules lymphoïdes de plus grande taille, au noyau plus ou moins régulier, à la chromatine relâchée, déliée à fine, se rapprochant de celle du lymphoblaste.

Il est fréquent d'observer un mélange de petites et grandes cellules.



3) Immunophénotypage

Les cellules lymphoïdes sont CD19+, **CD5+**, **CD23-**, CD43±, FMC7+ et CD79b+ avec expression monotypique modérée à forte des Ig de surface kappa ou lambda.



4) Génétique

La génétique a une valeur diagnostique et pronostique indépendante des autres paramètres biologiques et permet de mettre en évidence des anomalies chromosomiques dans plus de 85 % des LNH-B à cellules du manteau, plus particulièrement la translocation t(11;14) impliquant les gènes IgH et CCND1.

Le réarrangement IgH/CCND1 aboutit à l'hyper-expression de la cycline D1 (protéine de régulation du cycle cellulaire).

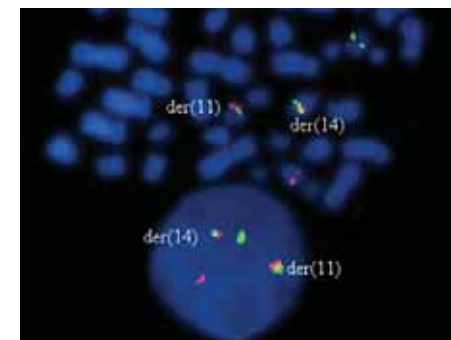
La translocation t(11;14) est facilement détectable par le caryotype (cytogénétique conventionnelle) et confirmée par la technique de FISH, mettant en évidence son équivalent moléculaire, le réarrangement IgH/CCND1.

La translocation t(11;14) n'est cependant pas spécifique du lymphome du manteau. Elle peut être observée dans d'autres types de lymphomes et est distribuée de la manière suivante :

Types d'hémopathie	Fréquence t(11;14)
Lymphome à cellules du manteau	85 à 90 %
LLC	~5 %
SLVL/MZL/SMZL	rare
Myélome	15 à 20 %

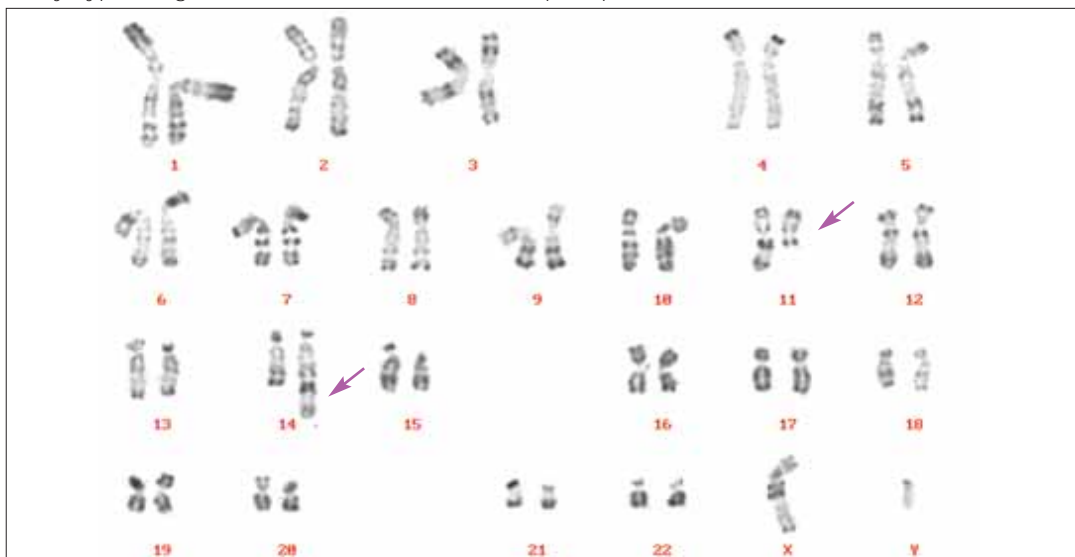
Des anomalies chromosomiques additionnelles sont parfois associées à la t(11;14) et sont considérées comme un facteur de pronostic péjoratif :

Anomalie isolée au caryotype	Fréquence
Trisomie ou remaniement du locus BCL6 en 3q27	35 à 50 %
Remaniement du locus c-MYC en 8q24	20 à 35 %
Remaniement 1(p13-p31)	40 %
Trisomie du chromosome 12	25 %
Délétion 13q	40 à 55 %
Caryotype complexe ≥ 6 anomalies	15 à 20 %



FISH Sonde double marquage double fusion IgH/CCND1 : Réarrangement IgH/CCND1, équivalent moléculaire de la translocation t(11;14) sur cellule interphasique et mitose

Caryotype sanguin avec translocation t(11;14)(q13;q32)



LYMPHOME DIFFUS A GRANDES CELLULES B (LDGCB)

1) Définition

C'est le lymphome le plus fréquent mais la diffusion sanguine est rare. La moyenne d'âge se situe vers 70 ans. Cependant, il peut s'observer à tout âge y compris chez l'enfant. Ces lymphomes surviennent soit *de novo*, soit par transformation d'un LNH-B de bas grade.

L'envahissement médullaire est présent dans 1/3 des cas environ. Ils se présentent cliniquement comme des lymphomes agressifs avec localisations extra-ganglionnaires fréquentes (tube digestif notamment).

2) Cytologie

Les cellules lymphoïdes sont de très grande taille, au noyau le plus souvent irrégulier, à la chromatine dense à déliée, au cytoplasme modérément abondant, basophile, contenant parfois des vacuoles.

3) Immunophénotypage

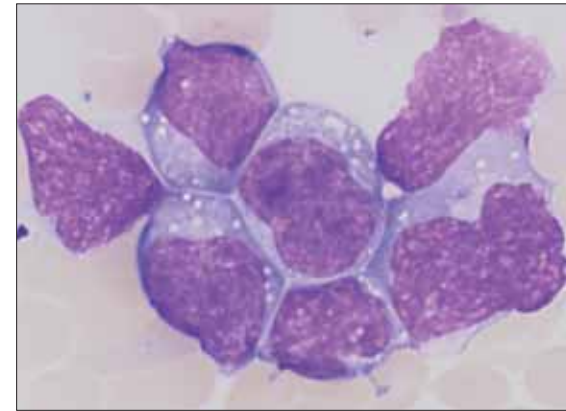
Les cellules lymphoïdes sont CD19+, CD5±, CD23-, CD43-, FMC7+ et CD79b+ avec expression monotypique modérée à forte des Ig de surface kappa ou lambda. A noter la positivité du CD10 dans 25 à 50 % des cas.

4) Génétique

Le caryotype est très souvent complexe avec des anomalies chromosomiques clonales de nombre et de structure impliquant le plus fréquemment les loci BCL6 en 3q27, c-MYC en 8q24, IgH en 14q32 et P53 en 17p13.

La translocation t(14;18) au sein d'un caryotype complexe est également observée dans plus de 15 % des cas.

Le réarrangement du locus c-MYC est considéré comme un facteur de pronostic péjoratif.



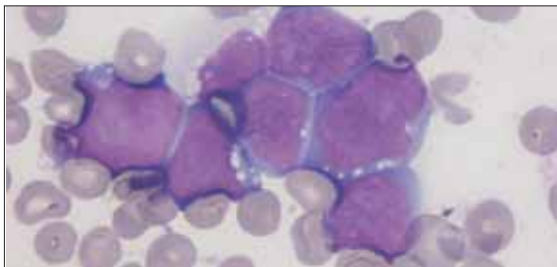
LYMPHOME DE BURKITT

1) Définition

Le lymphome de Burkitt, plus fréquent en Afrique, est un lymphome très agressif se présentant souvent au niveau de sites extra-ganglionnaires ou en phase leucémique. Il est plus fréquent chez les enfants ou souvent associé à un déficit immunitaire (VIH...). Il peut se présenter plus rarement sous une forme purement médullo-sanguine appelée leucémie aiguë à cellules de Burkitt (LAL3 dans l'ancienne classification FAB).

2) Cytologie

La diffusion sanguine est habituellement faible. Les cellules lymphoïdes sont de taille moyenne, au noyau régulier, à la chromatine déliée, au cytoplasme modérément abondant, très basophile, contenant des vacuoles.

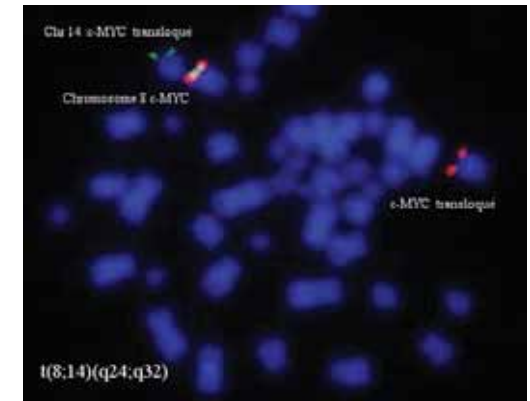


3) Immunophénotypage

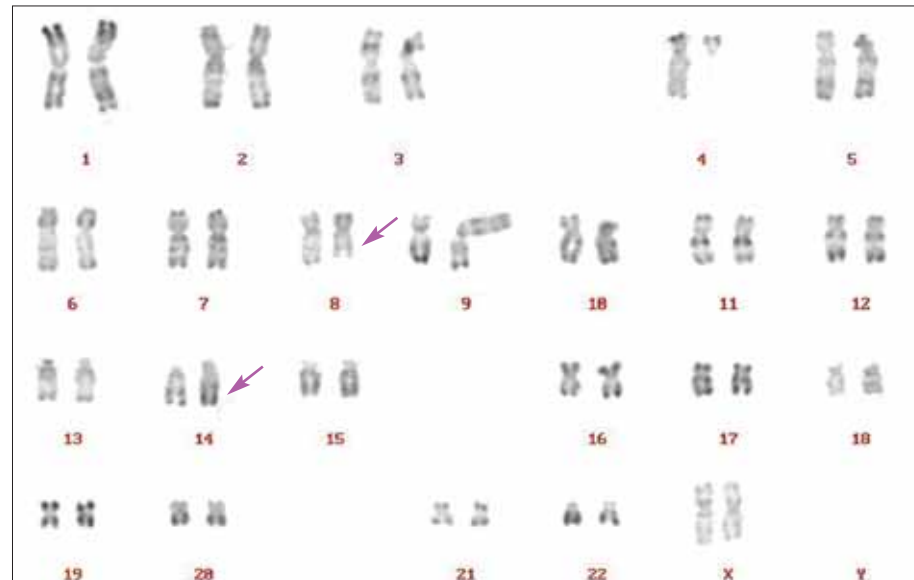
Les cellules lymphoïdes sont CD19+, CD5-, CD23-, CD43-, FMC7+ et CD79b+ avec expression monotypique modérée à forte des Ig de surface kappa ou lambda. On note le plus souvent la positivité du **CD10 et du CD38**.

4) Génétique

La mise en évidence du réarrangement du locus c-MYC en 8q24 est indispensable au diagnostic du LNH-B de type Burkitt. Cette anomalie est principalement observée dans le cadre de la t(8;14) [80-85% des cas], mais également sous forme de translocations variantes : t(2;8) [10-15 % des cas] et t(8;22) [5-10 % des cas]. Des anomalies chromosomiques additionnelles sont très souvent observées aboutissant à un caryotype très souvent complexe. Le caryotype et la technique de FISH sont indispensables au diagnostic. La recherche de clonalité B n'a pas de valeur ajoutée dans cette indication.



FISH Sonde c-MYC Break Apart :
Remaniement du locus c-MYC en 8q24 occasionné par la translocation t(8;14) sur mitose



Caryotype sanguin avec anomalies chromosomiques clonales multiples dont la translocation t(8;14)

PROFILS PHENOTYPIQUES CLASSIQUES DES HEMOPATHIES LYMPHOÏDES CHRONIQUES B

CD	LLC	LPL-B	LCM	LZM	HCL	LF	MW
CD19	+	+	+	+	+	+	+
CD5	+	-/+	+	-	-	-	-
CD22	-/+ faible	+	+	+	++	+	+
CD23	+	-	-	-	-	-/+	+
IgS	+ faible	++	++	++	+++	++	++
FMC7	-/+ faible	++	++	++	+++	++	-/+
CD79b	-/+ faible	++	++	++	+++	++	+
CD10	-	-/+	-	-	-	+	-
CD25	-/+	-	-	-/+	+ (HCL-v : neg)	-/+	+
CD11c	-/+	-	-	-/+	+	-/+	-
CD103	-	-	-	-	+	-	-
CD43	++	-	++	-/+	-	-	-

Légende :

LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique
 LPL-B : Leucémie Prolymphocytaire B
 LCM : Lymphome à cellules du Manteau
 LZM : Lymphome de la Zone Marginale

HCL : "Hairy Cell Leukemia" ou leucémie à tricholeucocytes
 LF : Lymphome Folliculaire
 MW : Maladie de Waldenström
 IgS : immunoglobuline exprimée en surface

HEMOPATHIES LYMPHOÏDES T

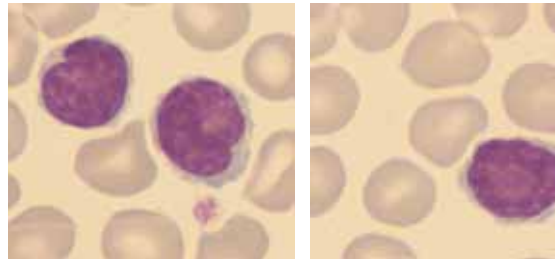
SYNDROME DE SEZARY (SS)

1) Définition

Le syndrome de Sézary est une pathologie rare (moins de 5 % des lymphomes T cutanés) caractérisée par une prolifération clonale de cellules lymphoïdes T à la morphologie très particulière (cellules de Sézary) dans la peau, les ganglions lymphatiques et le sang périphérique. Il se rencontre chez l'adulte, classiquement vers 60 ans, avec une prédominance masculine. Le tableau clinique montre un lymphome T généralisé avec atteinte cutanée (érythrodermie), syndrome tumoral (adénopathies), atteintes viscérales dans les stades évolués et dissémination sanguine.

2) Cytologie

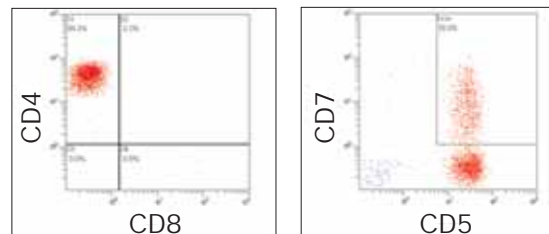
L'hémogramme est le plus souvent normal, sans hyperlymphocytose. Devant toute lésion cutanée « suspecte », un frottis sanguin devra être réalisé pour mettre en évidence des cellules de petite taille ou de grande taille, au noyau « cérébriforme » avec incisures en « coup d'ongles », à la chromatine dense, sans nucléole. La moelle est le plus souvent exempte d'infiltration.



Les cellules de Sézary sont à rechercher dans les zones bien « étalées » du frottis (pour bien analyser l'aspect du noyau).

3) Immunophénotypage

Le profil observé est de type T CD2+, CD3+, le plus souvent **CD4+** (rarement CD8+), CD5+, **CD7 ±** (perte d'expression totale ou partielle) et TCR $\alpha\beta$ +



4) Génétique

La cytogénétique du SS est peu informative, on observe toutefois des anomalies chromosomiques clonales plus fréquentes en cas de maladie agressive ou à un stade avancé.

On ne note pas d'anomalies cytogénétiques récurrentes, le caryotype est souvent complexe (40 à 70 % des cas) avec des anomalies chromosomiques clonales de nombre (monosomie des chromosomes 9 et 10, trisomie du chromosome 18) et de structure (1p32-36, 1q, 2q, 6q22-27, 8q22, 9, 10q23-26, 11, 12q21-22, 17p11.2-13, 19p13.3...).

Dans le cas des diagnostics difficiles, la recherche de réarrangement des gènes TCR (clonalité T) peut être une aide pour confirmer la pathologie.

LEUCEMIE/LYMPHOME T DE L'ADULTE HTLV1+ (ATLL)

1) Définition

Il s'agit d'une prolifération clonale de cellules lymphoïdes T matures dont l'agent étiologique est le rétrovirus humain HTLV-1 (human T-cell leukaemia virus type 1). Elle se rencontre dans les zones de forte endémie virale (îles du sud ouest du Japon, la région Caraïbes et l'Afrique intertropicale) et reste exceptionnelle dans les autres contrées.

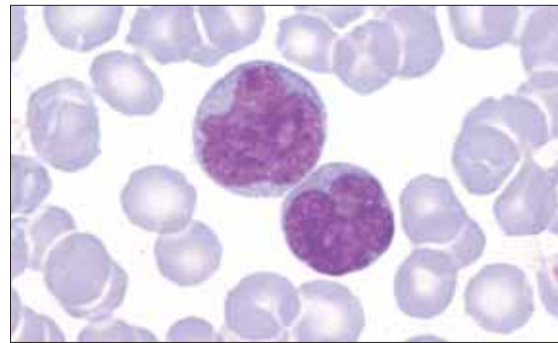
En raison d'une longue période de latence chez les personnes infectées par le virus, l'âge médian est élevé (58 ans) avec une variabilité importante (20-80 ans).

Les signes clinico-biologiques sont extrêmement variables et peuvent associer un syndrome tumoral ganglionnaire avec hépatosplénomégalie. L'atteinte systémique est fréquente, l'atteinte cutanée variable.

Différentes formes cliniques ont été identifiées : aiguë, lymphomateuse, chronique et indolente. La forme aiguë (cliniquement agressive) est de très mauvais pronostic. La sérologie HTLV-1 est toujours positive et la preuve de la responsabilité virale est mise en évidence par PCR (recherche de l'intégration clonale du virus dans l'ADN génomique des cellules lymphoïdes pathologiques).

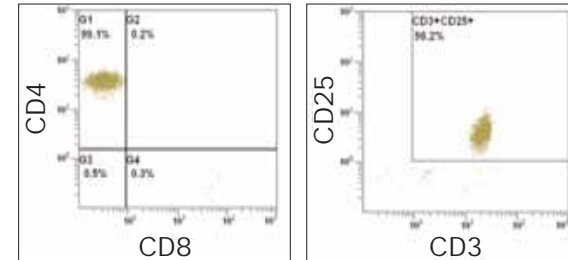
2) Cytologie

L'hémogramme est variable, avec une hyperlymphocytose importante à modérée (formes aiguë et chronique) ou absente (formes lymphomateuse et indolente). Les cellules lymphoïdes sont polymorphes, d'assez grande taille, au cytoplasme basophile, à la chromatine dense, au noyau polylobé, d'aspect folié (« en fleur » ou « en trèfle »).



3) Immunophénotype

Les cellules lymphoïdes T sont CD2+, CD3+, **CD4+** (rarement CD8+), CD5+, **CD7-** et **CD25+**.



4) Génétique

Des anomalies cytogénétiques sont retrouvées dans plus de 90% des cas, le caryotype est souvent complexe et instable avec :

Anomalies chromosomiques de structure :

- Remaniement du locus IgH :
t(14;14)(q11;q32), inv(14)(q11q32), del(14)(q11q32)
- Délétion du bras long du chromosome 6 observée dans 30 à 50 % des cas
- Autres : Remaniements en 1p, 1q, 3q, 7q, 10p, 12q, 13q, 14q, 17p et 21p

Anomalies de nombre les plus fréquentes :

- Trisomie des chromosomes 3, 8, 9 et 21
- Monosomie des chromosomes 4, 8, 10 et 22

Dans le cas des diagnostics difficiles, la recherche de réarrangement des gènes TCR (clonalité T) peut être une aide pour confirmer la pathologie.

LEUCEMIE PROLYMPHOCYTAIRE T (LPL-T)

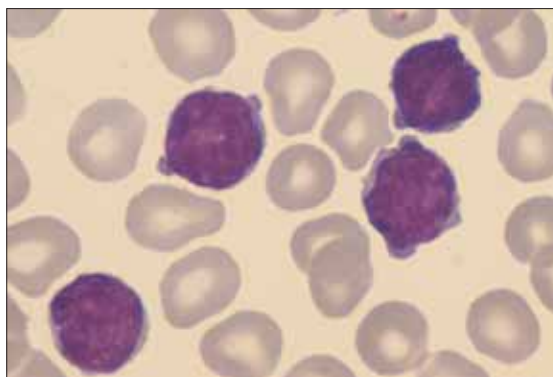
1) Définition

Il s'agit d'une prolifération clonale de cellules lymphoïdes T matures avec dissémination sanguine, médullaire, ganglionnaire et viscérale (foie, rate, peau). C'est une pathologie rare (environ 2 % des syndromes lymphoprolifératifs T) qui survient autour de 65 ans, avec une forte variabilité (30 à 94 ans) et reste exceptionnelle avant 50 ans. La présentation est le plus souvent agressive (rarement indolente) et le tableau clinique associe splénomégalie volumineuse (75 % des cas), adénopathies et lésions viscérales (surtout hépatiques et cutanées). L'évolution est de sombre pronostic avec une survie généralement inférieure à un an.

2) Cytologie

L'hémogramme met en évidence une hyperlymphocytose sanguine majeure (> 200 G/l dans 50 % des cas) avec anémie et thrombopénie fréquentes. Une infiltration diffuse dans la moelle peut être observée.

Forme typique à petites cellules irrégulières : environ 70 % des cas.



Les cellules lymphoïdes sont de taille petite à moyenne, au noyau irrégulier, à la chromatine dense, avec un nucléole bien visible, au cytoplasme basophile, présentant souvent des expansions cytoplasmiques.

Autres formes :

A côté de la forme « typique », il existe différents variants morphologiques : la forme à cellules rondes, la forme à cellules « en fleur », la forme à cellules sézariformes et la forme à petites cellules rondes.

3) Immunophénotypage

Les lymphocytes T sont CD2+, CD3+, CD5+ et CD7+, avec expression variable des CD4 et CD8. Le plus souvent, le profil d'expression est CD4+CD8- (60 % des cas), plus rarement CD4+CD8+ (25 % des cas) ou CD4-CD8+ (15 % des cas).

4) Génétique

Le caryotype est très souvent complexe et instable, les anomalies chromosomiques clonales les plus fréquemment observées sont :

Anomalie isolée au caryotype	Fréquence
i(8)(q10), t(8;8)(p23;q11), +8, del(8p)	60 à 90 %
inv(14)(q11q32), t(14;14)(q11;q32)	40 à 75 %
t(X;14)(q28;q11)...	< 2 %

La recherche de clonalité T n'a pas de valeur ajoutée dans cette indication.

LEUCEMIE LYMPHOÏDE A GRANDS LYMPHOCYTES GRANULEUX (LGL-T et -NK)

1) Définitions

• LGL-T

La leucémie lymphoïde à grands lymphocytes granuleux (LGL-T) est définie par la persistance (> 6 mois) de grands lymphocytes granuleux (LGL) > 2 G/l (seuil discuté à 0,5 G/l), en l'absence de causes réactionnelles identifiées. Elle représente 2 à 3 % des syndromes lymphoprolifératifs et survient le plus souvent entre 45 et 75 ans (73 % des cas).

Le tableau clinico-biologique associe de manière variable des cytopénies (neutropénie ± anémie), une hépatosplénomégalie, des manifestations auto-immunes. Une localisation médullaire est retrouvée dans 25 à 80 % des cas.

L'évolution clinique est le plus souvent indolente (morbidité liée aux cytopénies).

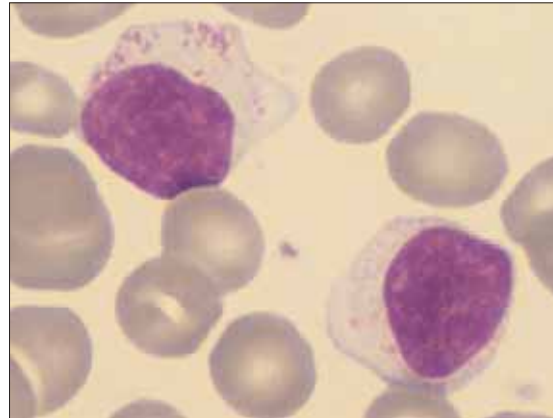
• LGL à cellules NK

De présentation plus agressive (syndrome tumoral et évolution rapide), c'est l'un des diagnostics différentiels avec la LGL-T.

Cette entité rare est plus fréquemment rencontrée chez les sujets d'origine asiatique où elle est souvent associée au virus d'Epstein-Barr.

2) Cytologie

Les cellules lymphoïdes sont de grande taille, au noyau parfois réniforme, au cytoplasme abondant, contenant un nombre variable de grosses granulations azurophiles.

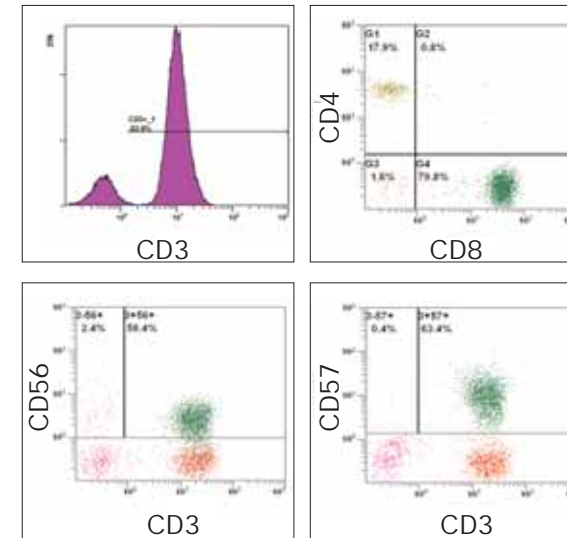


3) Immunophénotype

LGL-T :

La population lymphoïde T est **CD3+**, CD4-, **CD8+** (le plus souvent), **CD56±**, **CD16±**, **CD57+** (80 %).

On observe, de manière variable, une diminution ou une perte d'expression du CD5 et/ou du CD7. Il existe des formes variantes : CD4+CD8-, CD4+CD8+, CD4-CD8-.



LGL-NK :

La population lymphoïde est caractérisée par la **non expression du CD3** et l'expression des marqueurs NK **CD56+**, **CD16+**, **CD57±**.

4) Génétique

La cytogénétique est peu informative. On n'observe pas d'anomalies récurrentes reconnues. Des anomalies chromosomiques clonales de nombre et de structure sont décrites dans de rares cas. Dans le cas des diagnostics difficiles, la recherche de réarrangement des gènes TCR (clonalité T) peut être une aide pour confirmer la pathologie.

ETUDE DE CAS

CAS 1 : LEUCEMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE

CONTEXTE

Patiente de 72 ans consultant pour asthénie et dyspnée.

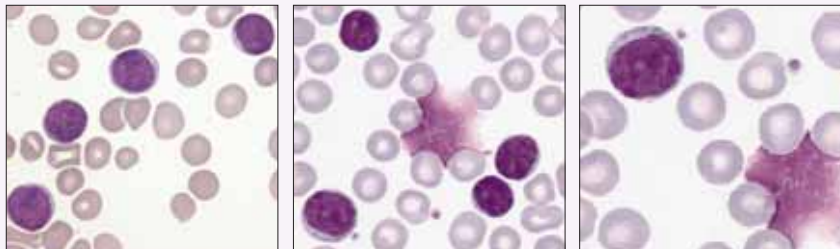
BILAN BIOLOGIQUE

NFS demandée au décours de la consultation :

LEUCOCYTES (10 ⁹ /l)	32.4	(N : 4.0-10.0)
dont Lymphocytes (10 ⁹ /l)	26.59	(N : 1.00-4.00)
HEMOGLOBINE (g/dl)	10.6	(N : 12.0-16.0)
VGM (fl)	91	(N : 80-100)
PLAQUETTES (10 ⁹ /l)	201	(N : 150-450)

CYTOLOGIE

L'examen du frottis sanguin montre essentiellement des lymphocytes matures, de petite taille, au noyau régulier, à la chromatine dense, associés à de très nombreux noyaux nus (ombres de Gümprecht), ce qui est en faveur d'une LLC.



IMMUNOPHENOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE

Cytométrie en flux (5 couleurs) sur sang EDTA

Proportion des cellules étudiées : 68 %
Expression du CD45+ : Forte

LYMPHOCYTES B

CD19+	70 %	soit	18613/mm ³	N : 100 à 500
CD20+	68 %	soit	18081/mm ³	

Immunoglobulines de surface

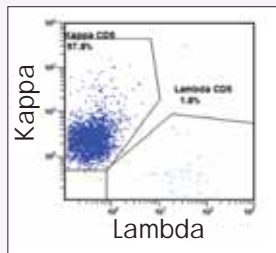
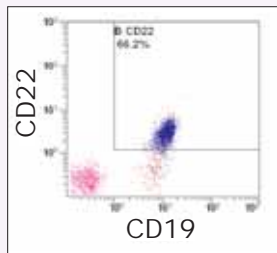
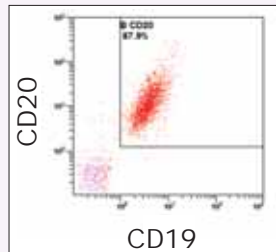
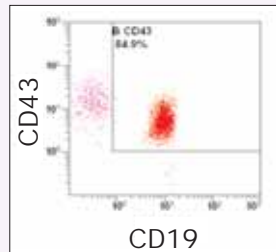
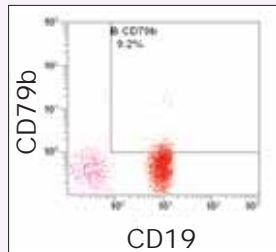
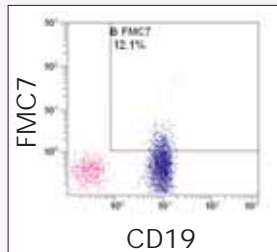
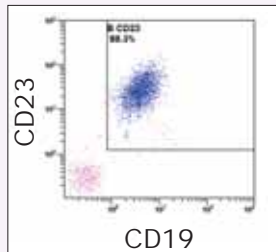
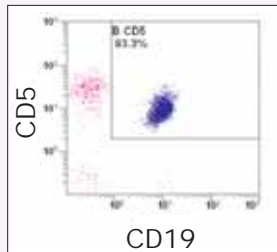
CD19+ Chaînes légères kappa	97 %
CD19+ Chaînes légères lambda	3 %

Interprétation : **Monotypie kappa (expression faible)**, en faveur d'une prolifération lymphoïde B.

MARQUEURS LYMPHOÏDES B (par rapport aux lymphocytes B)

CD19+ CD20+	85 %	CD19+ CD25+	19 %
CD19+ CD5+	83 %	CD19+ CD103+	1 %
CD19+ CD23+	88 %	CD19+ CD11c+	37 %
CD19+ FMC7+	12 %	CD19+ CD38+	17 %
CD19+ CD79b+	9 %	CD19+ CD43+	85 %
CD19+ CD22+	66 %	CD19+ CD10+	0 %

SCORE DE MATUTES (/5) : 5



CONCLUSION de l'IMMUNOPHENOTYPAGE

Mise en évidence d'une population lymphoïde B monotypique CD19+, CD5+, CD23+, CD43+, FMC7-, CD79b-, CD20+ (faible intensité), exprimant une chaîne légère kappa de faible intensité. Le score de Matutes de 5/5 plaide en faveur d'une LLC.

CARYOTYPE HEMATOLOGIQUE : CYTOGENETIQUE CONVENTIONNELLE

(Bandes R)
Formule chromosomique
Culture sang 72 h avec mitogènes
(culture lymphoïde) :
46,XX,dél(11)(q13q24) [2]
47,idem,+12 [13]

CONCLUSION du CARYOTYPE (voir caryotype p.7)

Toutes les mitoses observées présentent une anomalie chromosomique clonale de structure : la délétion interstitielle du bras long d'un chromosome 11. De plus, nous observons une évolution clonale avec l'apparition d'une trisomie du chromosome 12 pour 13 des 15 mitoses analysées.

FISH : CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE

FISH sondes LSI ATM (11q22.3FITC)/P53 (17p13.1Rdh) (Vysis) : Image d'une cellule interphasique avec 2 spots rouges (locus P53 sur le bras court du chromosome 17 en 17p13) et 1 seul spot vert (délétion du locus ATM-2 sur le bras long d'un chromosome 11 en 11q22).



CONCLUSION FISH (CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE)

96 % des cellules interphasiques observées présentent la délétion du locus ATM-2 en 11q22 associée à une trisomie du chromosome 12 pour 86 % des cellules observées. Ces résultats confirment les anomalies observées en cytogénétique conventionnelle. Ce caryotype est compatible avec l'évolution d'une hémopathie lymphoïde B de type LLC et est considéré comme un facteur de pronostic péjoratif.

CAS 2 : LYMPHOME DE LA ZONE MARGINALE

CONTEXTE

Patient de 70 ans présentant une splénomégalie avec hyperlymphocytose isolée sur la NFS.

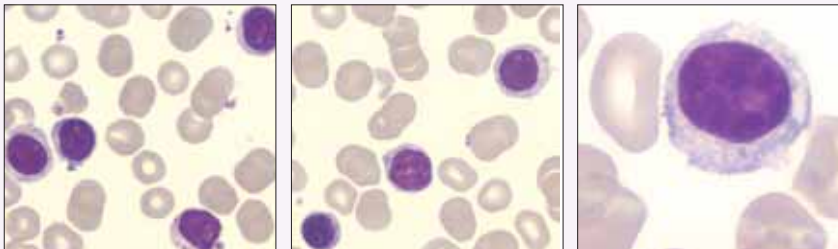
BILAN BIOLOGIQUE

Hémogramme :

LEUCOCYTES (10 ⁹ /l)	41.2	(N : 4.0-10.0)
dont Lymphocytes (10 ⁹ /l)	31	(N : 1.00-4.00)
HEMOGLOBINE (g/dl)	12.1	(N : 13.0-17.0)
VGM (fl)	93	(N : 80-100)
PLAQUETTES (10 ⁹ /l)	154	(N : 150-450)

CYTOLOGIE

L'examen du frottis sanguin montre une majorité de cellules lymphoïdes de taille moyenne, au noyau régulier parfois excentré, à la chromatine dense souvent nucléolée, au cytoplasme d'étendue variable, modérément basophile.



IMMUNOPHENOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE

Cytométrie en flux (5 couleurs) sur sang EDTA

Proportion des cellules étudiées : 82 %
Expression du CD45+ : Forte

LYMPHOCYTES B

CD19+ 87 % soit 26970/mm³ N : 100 à 500
CD20+ 87 % soit 26970/mm³

Immunoglobulines de surface

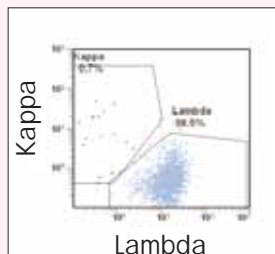
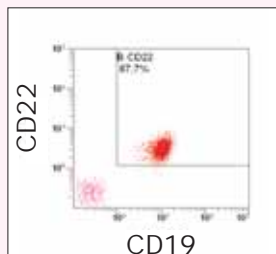
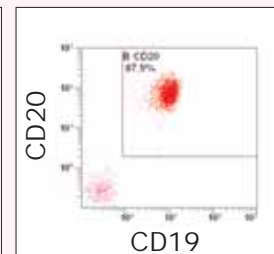
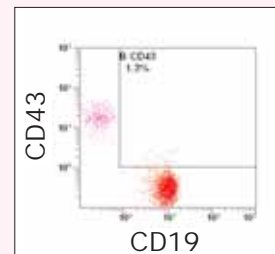
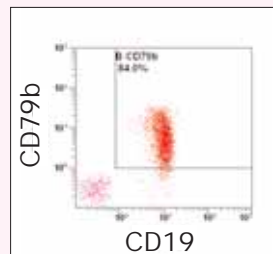
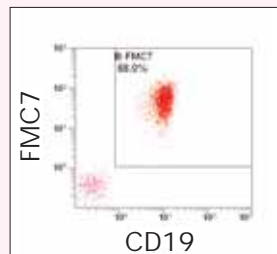
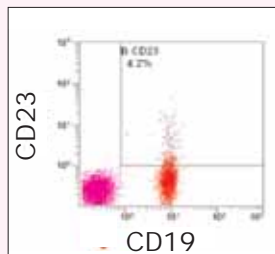
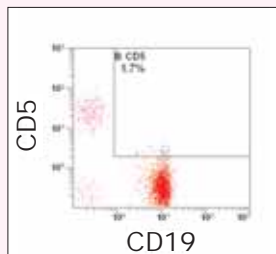
CD19+ Chaînes légères kappa 1 %
CD19+ Chaînes légères lambda 99 %

Interprétation : **Monotypie lambda (expression modérée)**, en faveur d'une prolifération lymphoïde B.

MARQUEURS LYMPHOÏDES B (par rapport aux lymphocytes B)

CD19+ CD20+	88 %	CD19+ CD25+	87 %
CD19+ CD5+	2 %	CD19+ CD103+	0 %
CD19+ CD23+	4 %	CD19+ CD11c+	29 %
CD19+ FMC7+	88 %	CD19+ CD38+	5 %
CD19+ CD79b+	84 %	CD19+ CD43+	1 %
CD19+ CD22+	88 %	CD19+ CD10+	0 %

SCORE DE MATUTES (/5) : 0



CONCLUSION de l'IMMUNOPHENOTYPAGE

Mise en évidence d'une population lymphoïde B monotypique CD19+, CD5-, CD23-, CD43-, FMC7+ fort, CD79b+, CD20+ (forte intensité), exprimant une chaîne légère lambda d'intensité modérée. Le score de Matutes de 0/5 ne plaide pas en faveur d'une LLC et fait discuter la phase circulante d'un LNH-B.

Au total, ces aspects cytologiques et phénotypiques associés à la présentation clinique font discuter la phase circulante d'un lymphome de la zone marginale.

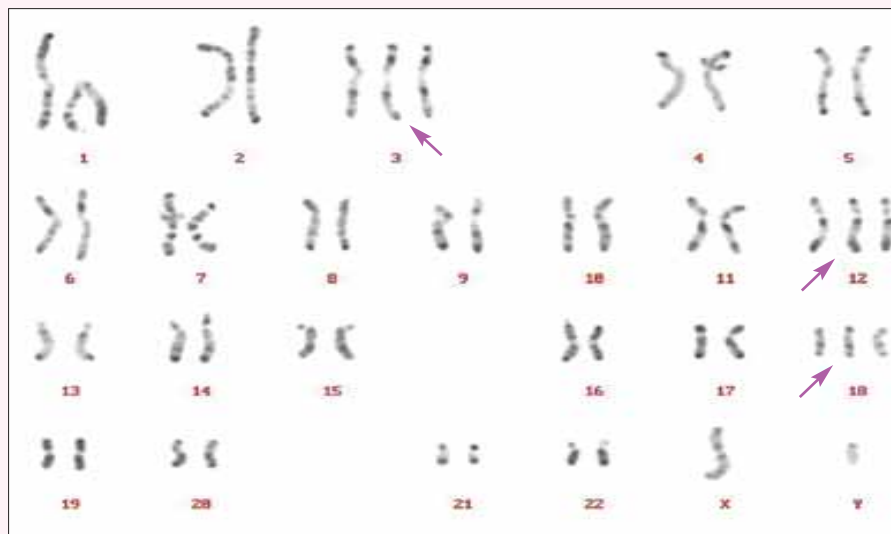
CARYOTYPE HEMATOLOGIQUE : CYTOGENETIQUE CONVENTIONNELLE

(Bandes R)
Formule chromosomique

Culture sang 72 h avec mitogènes (culture lymphoïde) :
49, XY, +3, +12, +18 [10]
46, XY [5]

CONCLUSION du CARYOTYPE

10 des 15 mitoses analysées présentent des anomalies chromosomiques clonales de nombre : la trisomie des chromosomes 3, 12 et 18.
Ce caryotype est compatible avec un lymphome de la zone marginale.



CAS 3 : LYMPHOME A CELLULES DU MANTEAU

CONTEXTE

Patiente de 61 ans consultant un hématologue sur conseils de son médecin référent pour polyadénopathies, splénomégalie et hématomas spontanés.

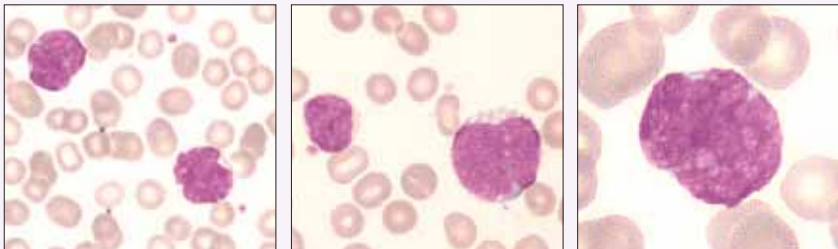
BILAN BIOLOGIQUE

Hémogramme :

LEUCOCYTES (10 ⁹ /l)	13.6	(N : 4.0-10.0)
dont Lymphocytes (10 ⁹ /l)	11.7	(N : 1.00-4.00)
HEMOGLOBINE (g/dl)	11.2	(N : 12.0-16.0)
VGM (fl)	79.6	(N : 80-100)
PLAQUETTES (10 ⁹ /l)	64	(N : 150-450)

CYTOLOGIE

L'examen du frottis sanguin montre des cellules lymphoïdes atypiques de taille moyenne à grande, au noyau irrégulier, incurvé, à la chromatine dispersée, présentant un ou plusieurs nucléoles bien visibles, au cytoplasme d'étendue variable, modérément basophile.



IMMUNOPHENOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE

Cytométrie en flux (5 couleurs) sur sang EDTA

Proportion des cellules étudiées : 86 %
Expression du CD45+ : Forte

LYMPHOCYTES B

CD19+ 57 % soit 6669/mm³ N : 100 à 500
CD20+ 57 % soit 6669/mm³

Immunoglobulines de surface

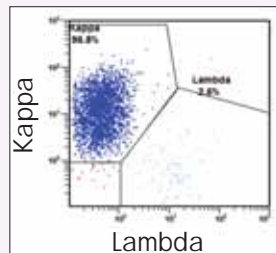
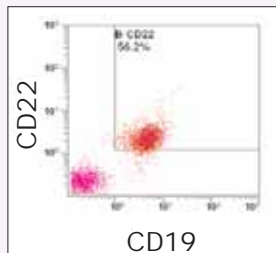
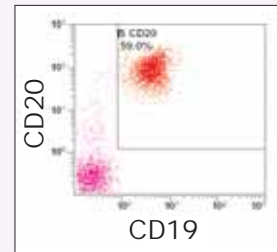
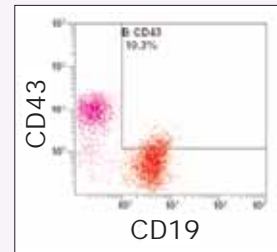
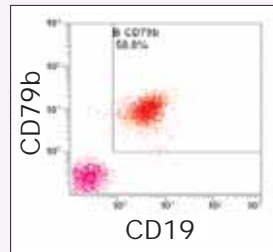
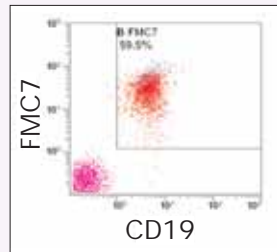
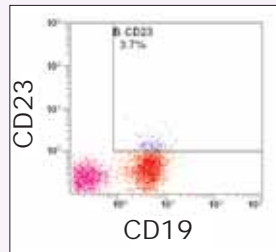
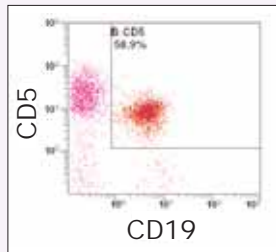
CD19+ Chaînes légères kappa 97 %
CD19+ Chaînes légères lambda 3 %

Interprétation : **Monotypie kappa (expression forte)**, en faveur d'une prolifération lymphoïde B.

MARQUEURS LYMPHOÏDES B (par rapport aux lymphocytes B)

CD19+ CD20+	100 %	CD19+ CD25+	56 %
CD19+ CD5+	60 %	CD19+ CD103+	4 %
CD19+ CD23+	4 %	CD19+ CD11c+	1 %
CD19+ FMC7+	60 %	CD19+ CD38+	99 %
CD19+ CD79b+	60 %	CD19+ CD43+	11 %
CD19+ CD22+	56 %	CD19+ CD10+	2 %

SCORE DE MATUTES (/5) : 1



CONCLUSION de l'IMMUNOPHENOTYPAGE

Mise en évidence d'une population lymphoïde B monotypique CD19+, CD5+, CD23-, CD43+ faible, FMC7+ fort, CD79b+ fort, CD20+ fort, exprimant une chaîne légère kappa de forte intensité.

Au total, ces aspects cytologiques et phénotypiques associés à la présentation clinique, évoquent en premier lieu la phase circulante d'un lymphome à cellules du manteau.

CARYOTYPE HEMATOLOGIQUE : CYTOGENETIQUE CONVENTIONNELLE

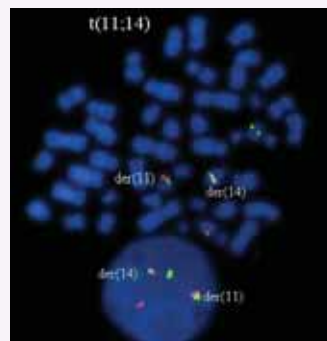
(Bandes R)
Formule chromosomique
Culture sang 72 h avec mitogènes (culture lymphoïde) :
45,X,der(X)t(X;11;14)(q27;q13;32),+1,inv(1)(p36q25),del(2)(q21),
dup(6)(q11q21),del(9)(q32),t(11;14)(q13;q32),
-13,del(13)(q14),add(14)(p11),-15,-15,+18,add(22)(p13) [cp8]
46,XX [7]

FISH : CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE

Image d'une mitose et d'une cellule interphasique avec 2 spots jaunes (2 dérivés issus de la t(11;14), 1 spot vert (le chromosome 14 normal) et 1 spot rouge (le chromosome 11 normal). Sondes double marquage double fusion : LSI, IgH en 14q32.3 / CCND1 en 11q13 (Vysis).

CONCLUSION du CARYOTYPE

8 des 15 mitoses analysées présentent un caryotype très complexe avec anomalies chromosomiques clonales de nombre et de structure dont la translocation t(11;14) identique à celle observée dans le lymphome à cellules du manteau.



CONCLUSION FISH

20 % des cellules observées présentent le réarrangement IgH/CCND1, équivalent moléculaire de la translocation t(11;14). Au total, ces résultats sont compatibles avec l'évolution d'un lymphome à cellules du manteau et sont considérés comme un facteur de pronostic péjoratif.

CAS 4 : LEUCEMIE PROLYMPHOCYTAIRE T

CONTEXTE

Patiente de 81 ans consultant pour polyadénopathies et splénomégalie.

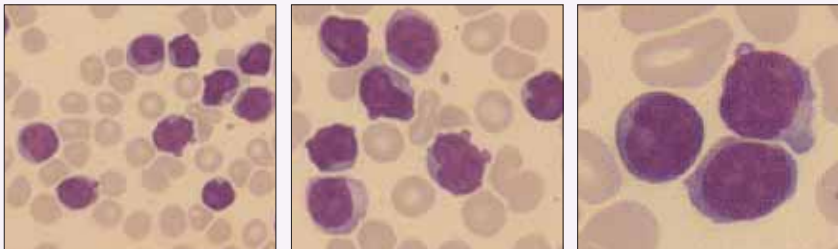
BILAN BIOLOGIQUE

Hémogramme :

LEUCOCYTES (10 ⁹ /l)	158.1	(N : 4.0-10.0)
dont Lymphocytes (10 ⁹ /l)	151.9	(N : 1.00-4.00)
HEMOGLOBINE (g/dl)	10.2	(N : 12.0-16.0)
VGM (fl)	85	(N : 80-100)
PLAQUETTES (10 ⁹ /l)	84	(N : 150-450)

CYTOLOGIE

L'examen du frottis sanguin montre des cellules lymphoïdes de petite taille, au noyau souvent irrégulier, nucléolé, à chromatine mottée, au cytoplasme modérément basophile, montrant parfois quelques expansions cytoplasmiques.



IMMUNOPHENOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE

Cytométrie en flux (5 couleurs) sur sang EDTA

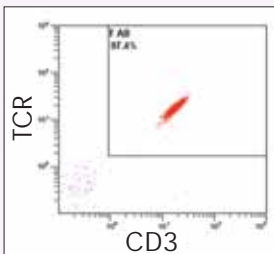
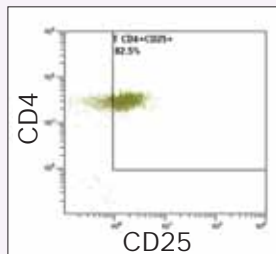
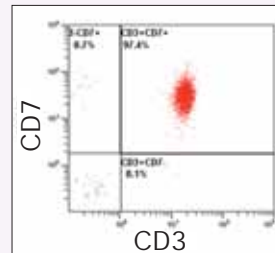
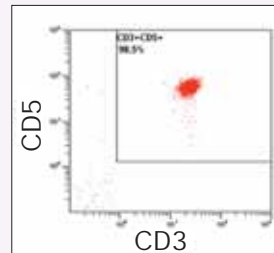
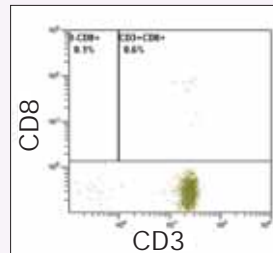
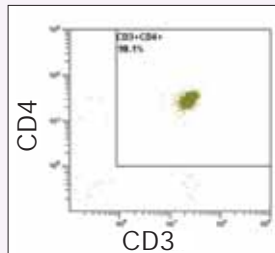
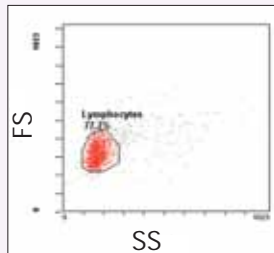
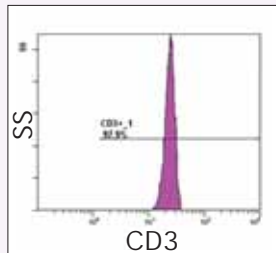
Proportion des cellules étudiées : 77 %
Expression du CD45+ : Forte

LYMPHOCYTES T

CD3+	99 %	soit 150 381/mm ³	N : 900 à 1900
CD3+ CD4+	99 %	soit 150 381/mm ³	N : 500 à 1200
CD3+ CD8+	1 %		
CD3+ CD2+	99 %		
CD3+ CD4+ CD7-	0 %		

MARQUEURS LYMPHOÏDES T (par rapport aux lymphocytes T)

CD3+ CD5+	100 %
CD3+ CD7+	100 %
CD3+ CD4+ CD8+	0 %
CD3+ CD4- CD8-	0 %
CD3+ CD25+	76 %
CD3+ CD4+ CD25+	82 %
CD3+ CD8+ CD25+	0 %
CD3+ CD16+	2 %
CD3+ CD56+	0 %
CD3+ CD57+	0 %
CD3+ CD56+ CD57+	0 %
CD3 TCR alpha-bêta	97 %
CD3 TCR gamma-delta	3 %



CONCLUSION de l'IMMUNOPHENOTYPAGE

Mise en évidence d'une hyperlymphocytose T CD3+CD4+ exprimant également les marqueurs CD2, CD5, CD7, CD25.

Au total, ces aspects cytologiques et phénotypiques associés à la présentation clinique sont compatibles avec une leucémie proliférative T.

CARYOTYPE HEMATOLOGIQUE : CYTOGENETIQUE CONVENTIONNELLE

(Bandes R)

Formule chromosomique

Culture sang 72 h avec mitogènes (culture lymphoïde) :

46,XX,der(6)t(6;?) (p22;?),t(8;8)(p23;q12),t(8;11)(q12;p15),

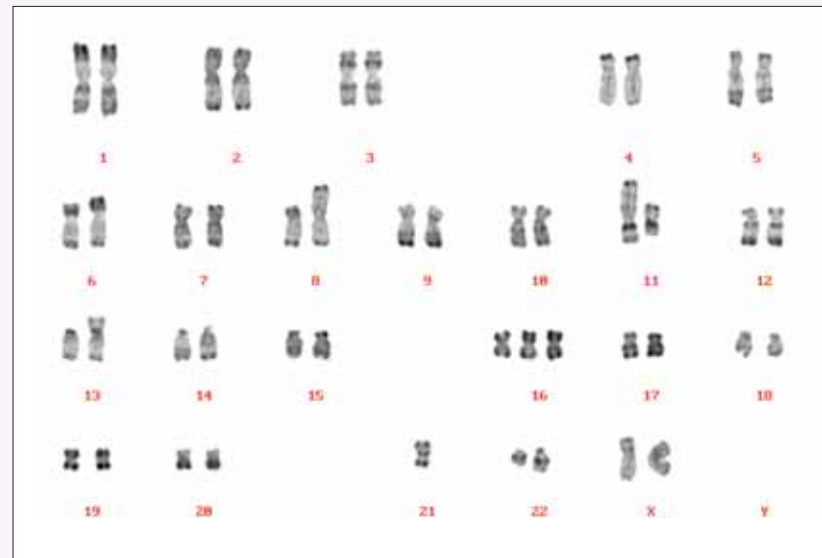
del(11)(q14),add(13)(p12),inv(14)(q11q32),+16,

der(21)t(21;?) (p13;?)-21,add(22)(q13) [cp7]

46,idem,-22,+mar [cp8]

CONCLUSION du CARYOTYPE

Toutes les mitoses analysées présentent un caryotype très complexe avec anomalies chromosomiques clonales de nombre et de structure dont la translocation t(8;8) et l'inversion paracentrique d'un chromosome 14. Ce caryotype est compatible avec une hémopathie lymphoïde T et est considéré comme un facteur de pronostic péjoratif.



Laboratoire CERBA
95066 Cergy-Pontoise cedex 9
FRANCE

☎ : +33.1.34.40.20.20

📠 : +33.1.34.40.21.29

✉ : lab@lab-cerba.com

www.lab-cerba.com

*Flasher le code
pour télécharger
ce cahier en pdf*



NG/N°3_FR_FRA_cahierCERBA
JUN 2012

**Recommandations pour le diagnostic et l'interprétation
d'une hyperlymphocytose sanguine**



**par B. Caron Servan, S. Defasque, C. Hémar, H. Mossafa
Biologistes médicaux, Laboratoire CERBA**

Publication scientifique semestrielle éditée par le Laboratoire CERBA

ISSN : 2110-073X