

# Lymphocytose : quand s'inquiéter ?

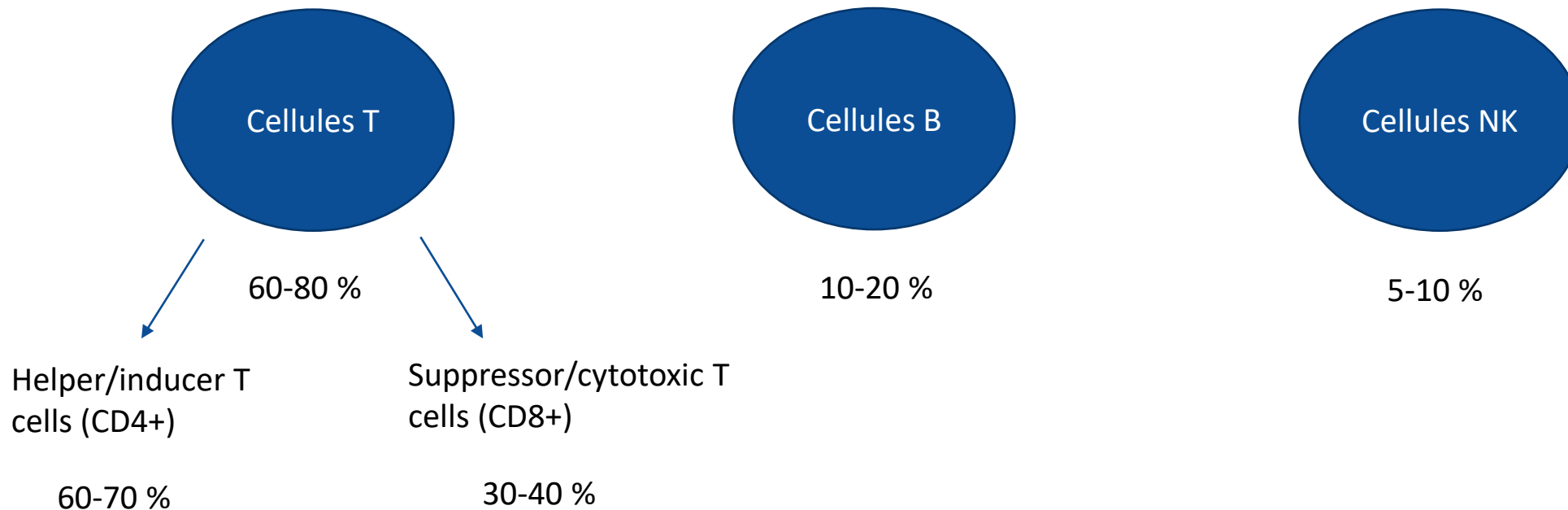
Marie DELEERS & Mirvate HARB

Soirée scientifique IBC'LAB-LHUB-ULB 21/11/2024

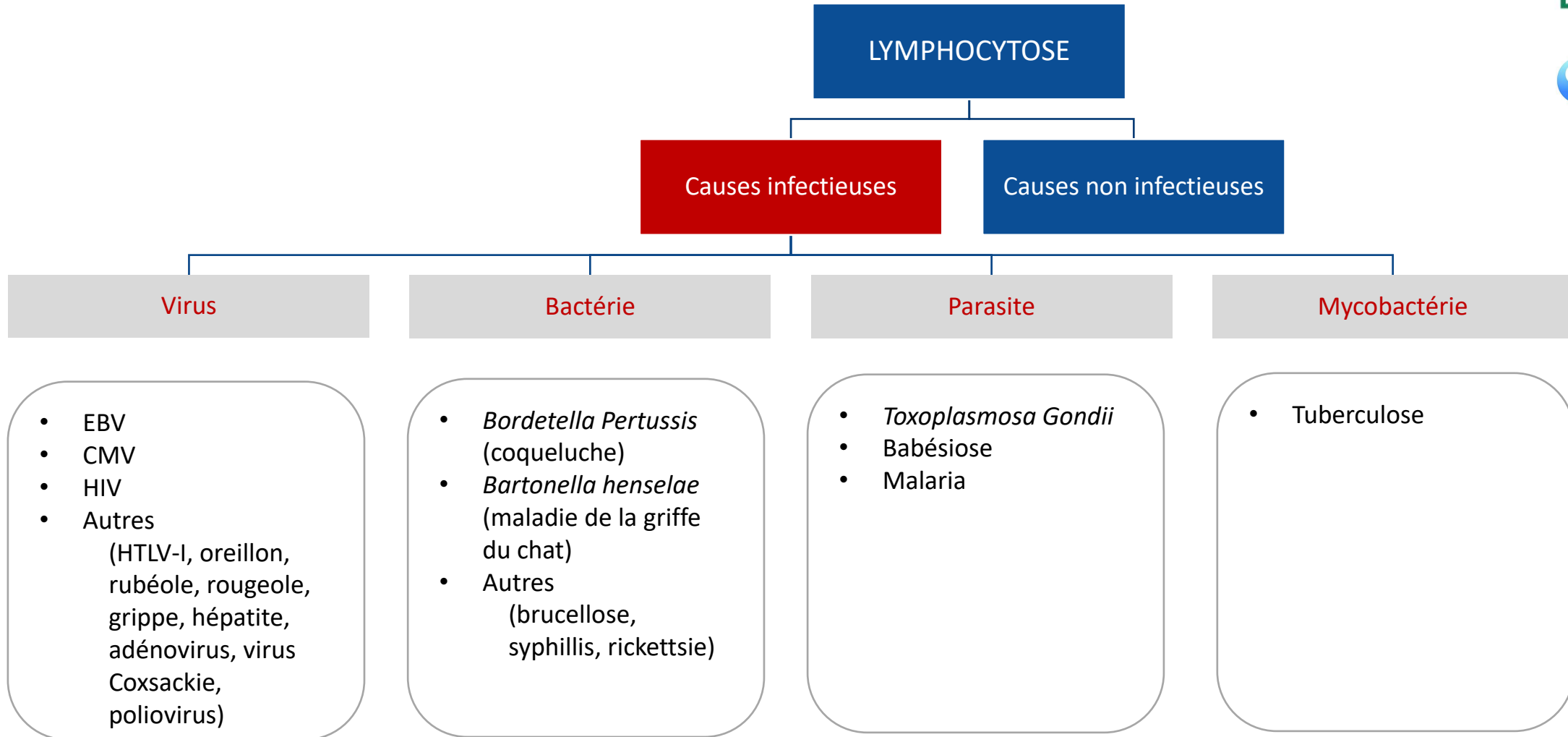
# Lymphocytose

- **Définition** : valeur absolue  $> 4 (5) \times 10^3/\mu\text{L}$  (adultes)

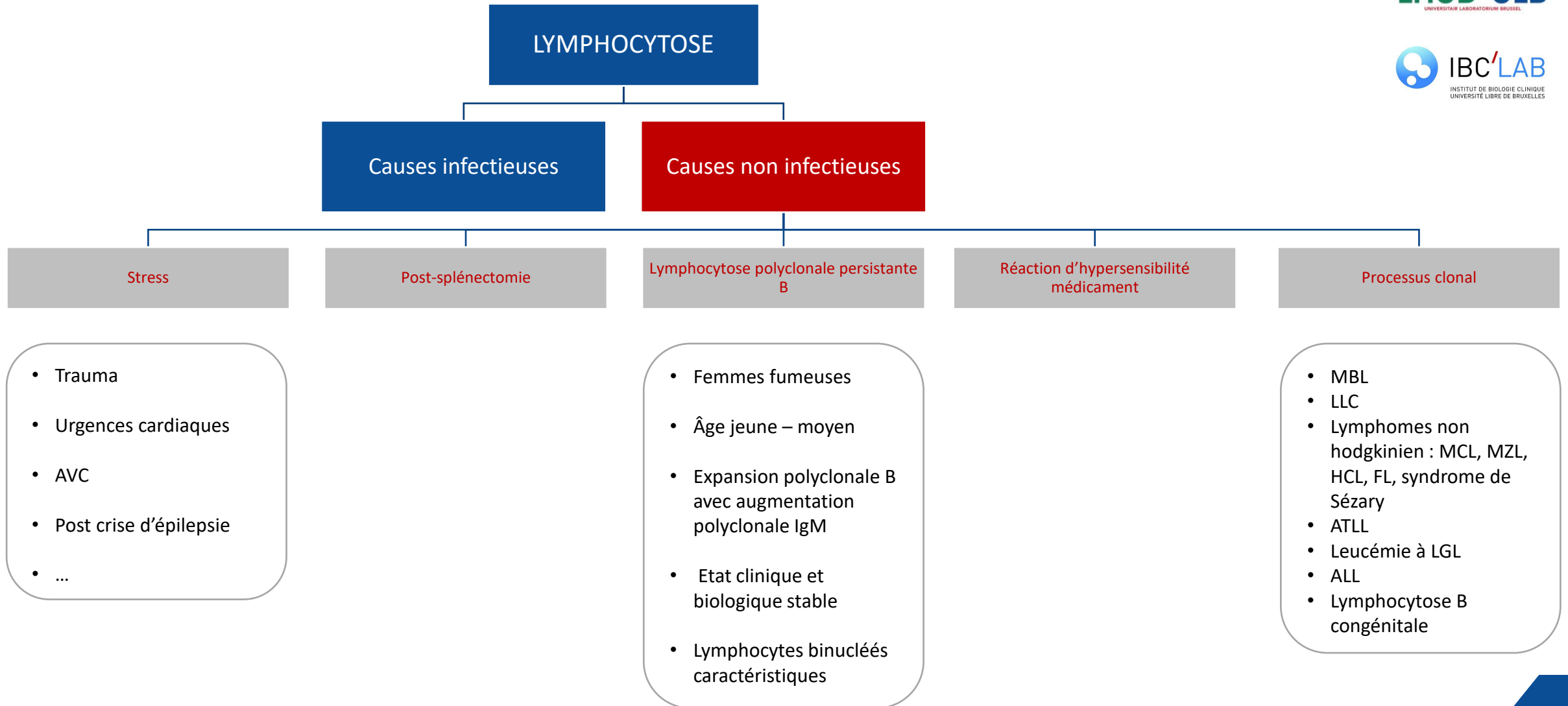
**NB:** enfants : variation des valeurs normales de GB et de lymphocytes en fonction de l'âge



# Causes



# Causes

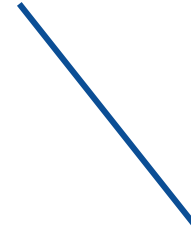


# Lymphocytose

- Lymphocytose **transitoire** ou lymphocytose **chronique** (> 3 mois) ?

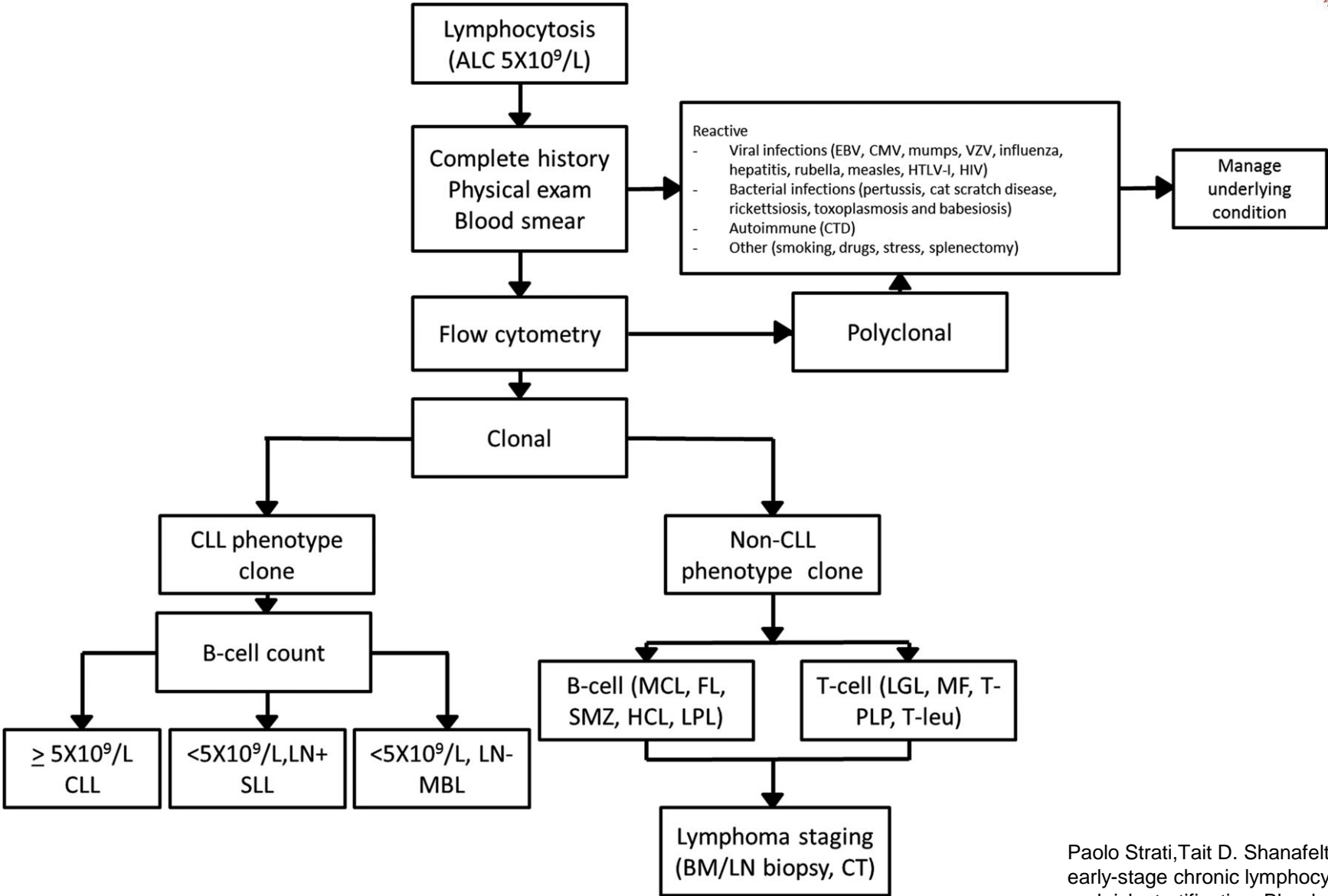


- > Infections virales (EBV, CMV, oreillons, rubéole, hépatite A, ... )
- > Situations de stress (trauma, urgences cardiaques, AVC...)
- > ...



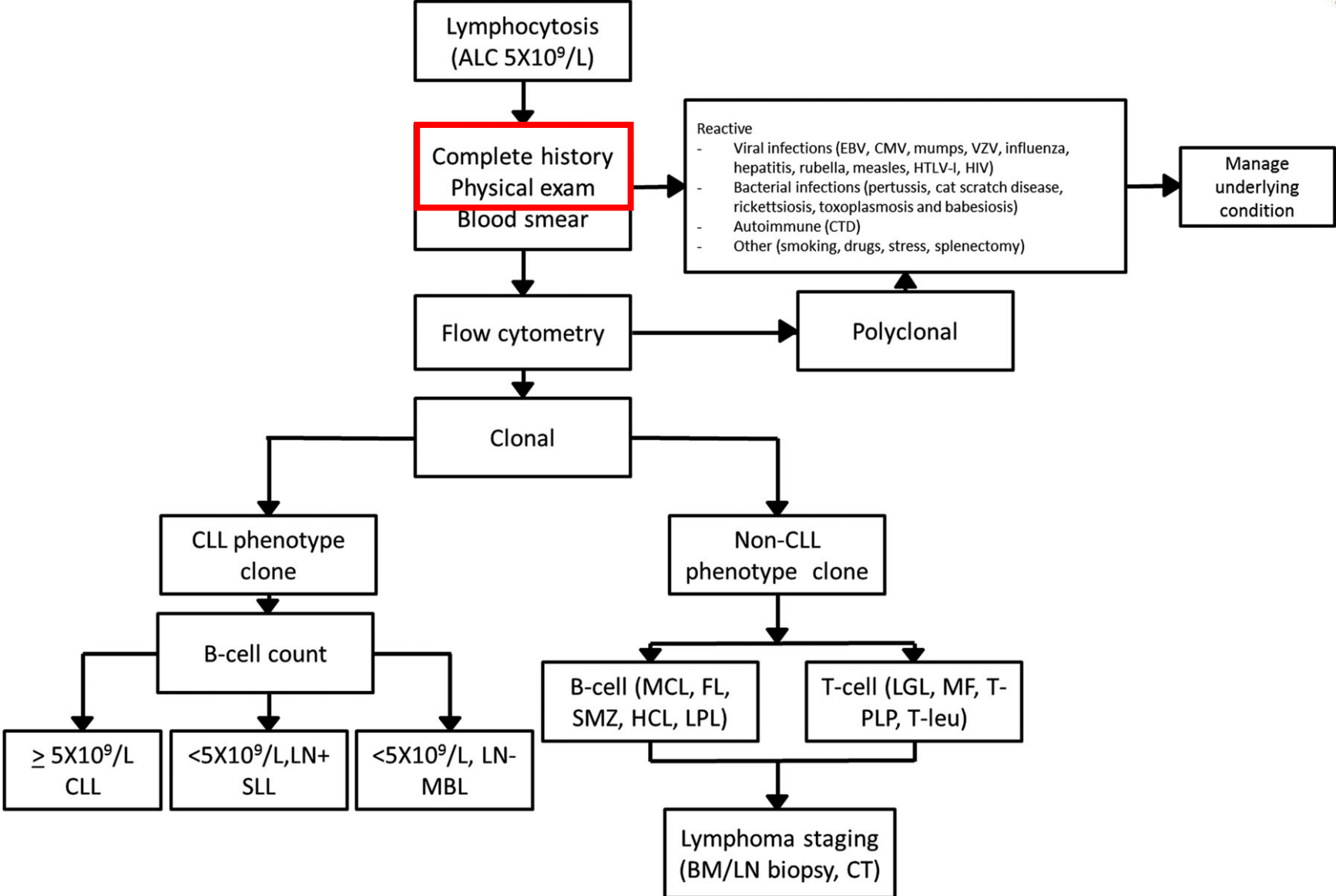
- > Infections chroniques (hépatites B, hépatite C, HIV, tuberculose)
- > Hémopathies malignes (LLC, lymphomes non hodgkinien...)
- > Splénectomie
- > Lymphocytose polyclonale persistante B
- > ...

# Démarche devant une lymphocytose



Paolo Strati, Tait D. Shanafelt, Monoclonal B-cell lymphocytosis and early-stage chronic lymphocytic leukemia: diagnosis, natural history, and risk stratification, Blood, 2015.

# Démarche devant une lymphocytose



## ANAMNÈSE

- ✓ Âge
- ✓ Contexte infectieux (fièvre d'apparition récente, toux, angine...)
- ✓ Antécédent de maladie hématologique
- ✓ Histoire familiale de néoplasie ou lymphocytose
- ✓ Maladie auto-immune
- ✓ Signes et/ou symptômes B (lymphadénopathie, fièvre, sueurs nocturnes, perte de poids...)
- ✓ Asplénie fonctionnelle ou chirurgicale
- ✓ Médicaments
- ✓ Tabagisme
- ✓ Stress aigu

## EXAMEN CLINIQUE : à la recherche de signe d'infection/d'inflammation/de malignité:

- ✓ Fièvre
- ✓ Paleur, pétechie
- ✓ Recherche d'adénopathies (cervicales, axillaires, inguinales)
- ✓ Hépatosplénomégalie
- ✓ Raideurs articulations, douleurs abdominales, poumons

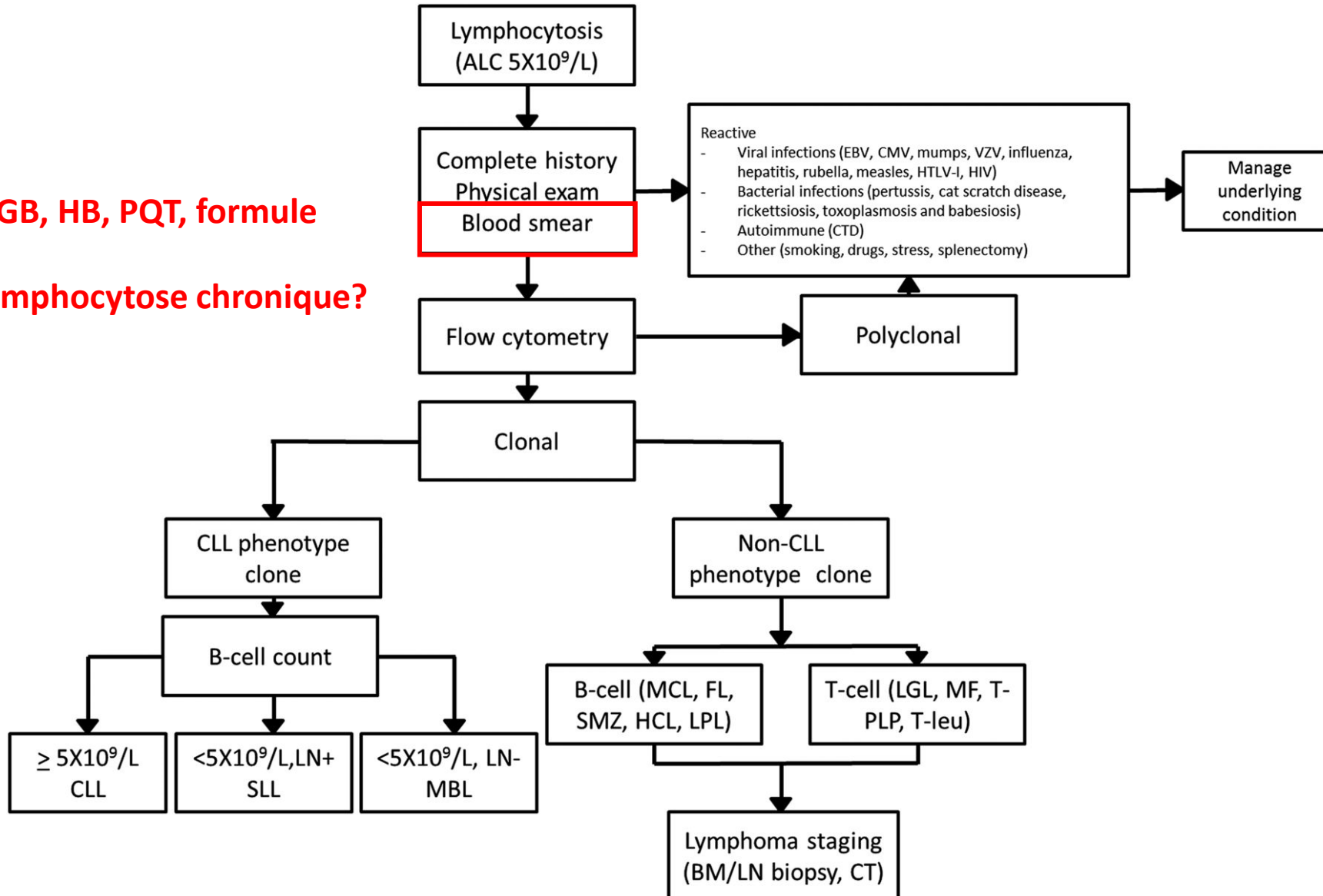


# Démarche devant une lymphocytose



+ GB, HB, PQT, formule

Lymphocytose chronique?



## LABORATOIRE :

### HÉMATOLOGIE

- 1 901  Hémoglobine ..... 2
- 902  G.R - Hématocrite..... 2
- 903  Globules blancs ..... 2
- 904  Formule..... 2
- 905  Plaquettes..... 2
  
- 907  Réticulocytes..... 2



Sang total EDTA (bouchon mauve)



Pré-analytique !!!



Advia 2120 et Autoslide (Siemens) (IBC'Lab)

# Génération d'un frottis sanguin pour analyse au microscope

## ○ Critères quantitatifs :

### ➤ Lymphocytose absolue (sans antécédent) (ISLH guidelines)

> 5.0 ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) si  $\geq 12$  ans

> 7.0 ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) si  $< 12$  ans

### ➤ LUC $\geq 4\%$

= **Large Unstained Cells** : Grands lymphocytes atypiques, blastes et/ou grandes cellules anormales sans activité peroxydase

### ➤ ...

## ○ Alarmes de l'automate (analyseur hématologie)

### ➤ **ATYP**: Lymphocytes atypiques

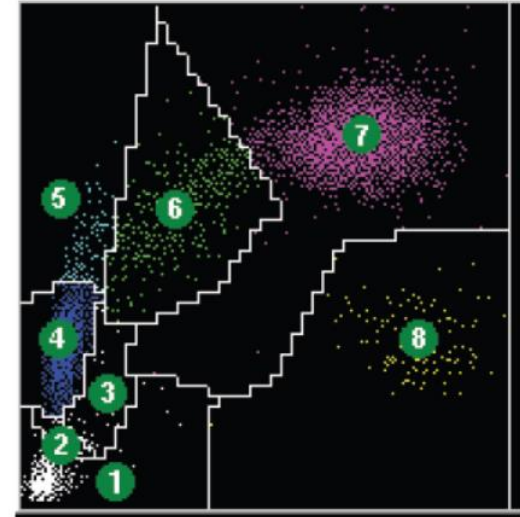
### ➤ **BLASTS**

### ➤ ...



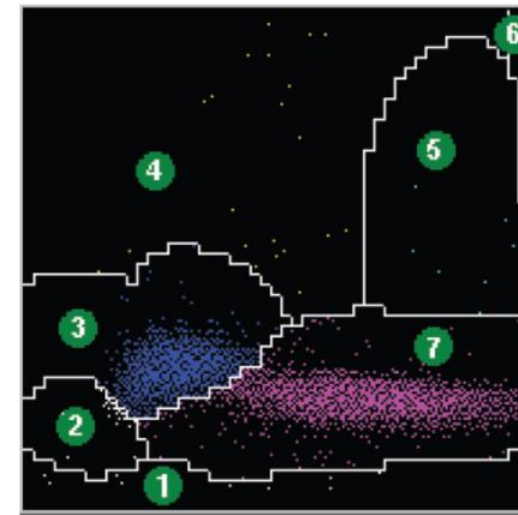
Délai supplémentaire pour le rendu de l'héματο

## Perox cytogram



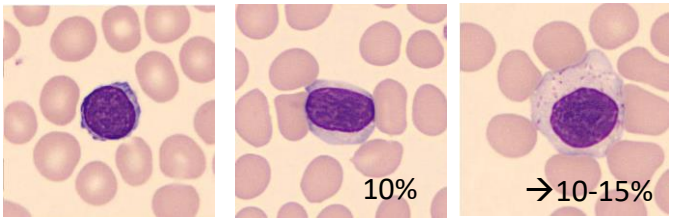
- 1 Noise
- 2 Nucleated Red Blood Cells
- 3 Platelet Clumps
- 4 Lymphocytes and Basophils
- 5 Large Unstained Cells
- 6 Monocytes
- 7 Neutrophils
- 8 Eosinophils

## Baso cytogram

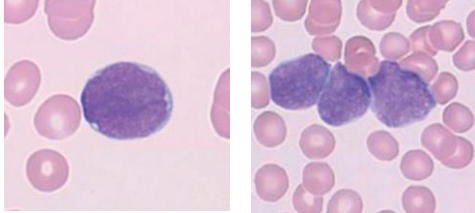


- 1 Noise
- 2 Blast cell nuclei
- 3 Mononuclear WBCs (Monocyte and Lymphocyte nuclei)
- 4 Basophils
- 5 Baso Suspect
- 6 Saturation
- 7 Polymorphonuclear WBCs (Neutrophil and Eosinophil nuclei)

Lymphocytes normaux



### EXCLURE LA PRESENCE DE BLASTES



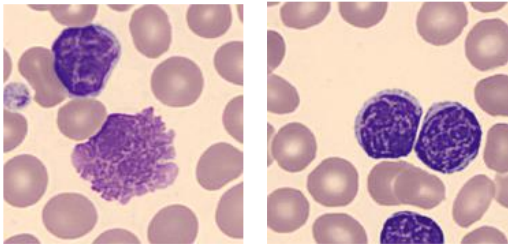
Suspicion de leucémie aigue → hospitalisation rapide dans service hématologie

### LYMPHOCYTOSES SUSPECTES- PROCESSUS MALIN

Généralement monomorphe

Le plus souvent:

- LLC



Plus rarement:

- Lymphomes non hodgkinien : MCL, MZL, HCL, FL, syndrome de Sézary
- ATLL
- Leucémie à LGL



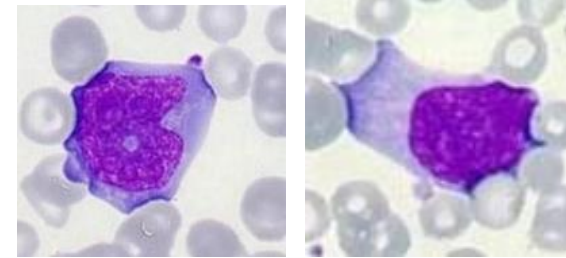
### LYMPHOCYTOSE RÉACTIONNELLE

Généralement pléomorphe

**1/ Si lymphocytes réactionnels hyperbasophiles**

**Syndrome mononucléosique**

Voir bilan infectieux +++

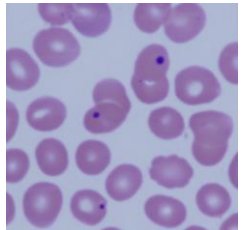


Étiologies les plus fréquentes : EBV, CMV, rubéole, rougeole, varicelle primo infection VIH, hépatites

Plus rares : Paludisme, toxoplasmose, brucellose, syphilis

**2/ Autres étiologies :**

- Hypersensibilité médicament
- Asplénisme, hyposplénisme
- Maladies auto-immunes
- Autres infections (virales, bactériennes, parasitaires)
- Vaccinations
- Stress (infarctus, chirurgie, épilepsie, traumatisme)
- Fumeur

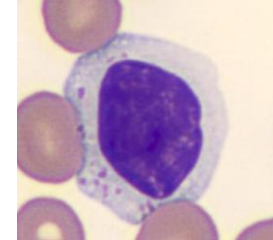
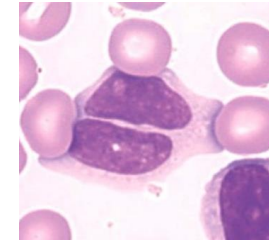
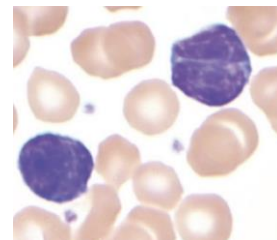


**Attention : exceptions :**

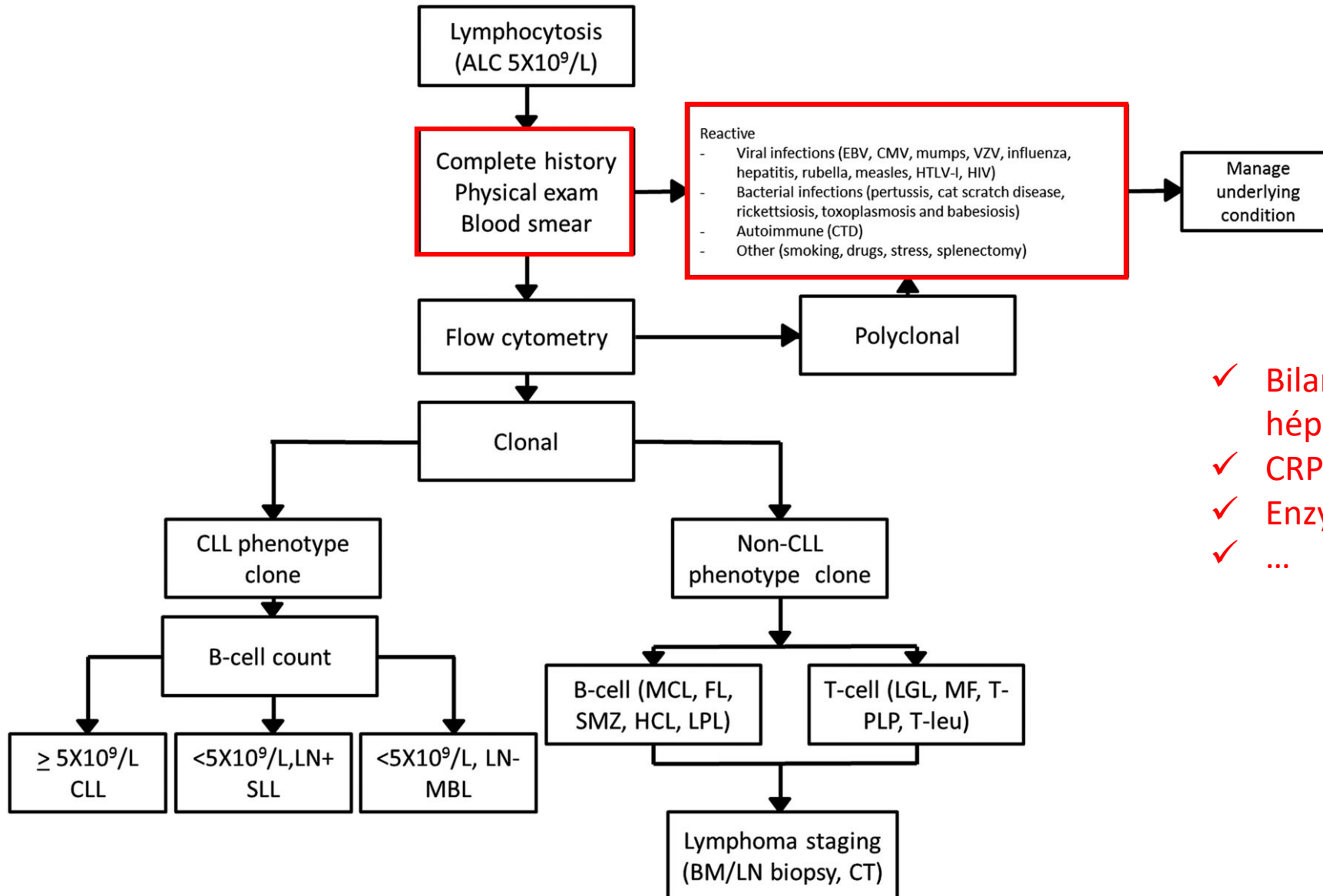
Bordetella Pertussis

Lymphocytose B polyclonale

LGL



# Démarche devant une lymphocytose

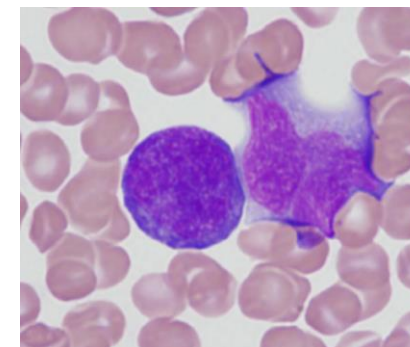
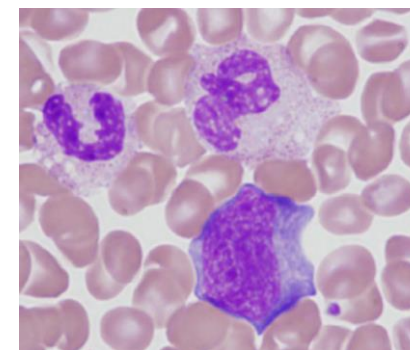


- ✓ Bilan infectieux (EBV, CMV, HIV, hépatites...)
- ✓ CRP
- ✓ Enzymes hépatiques
- ✓ ...

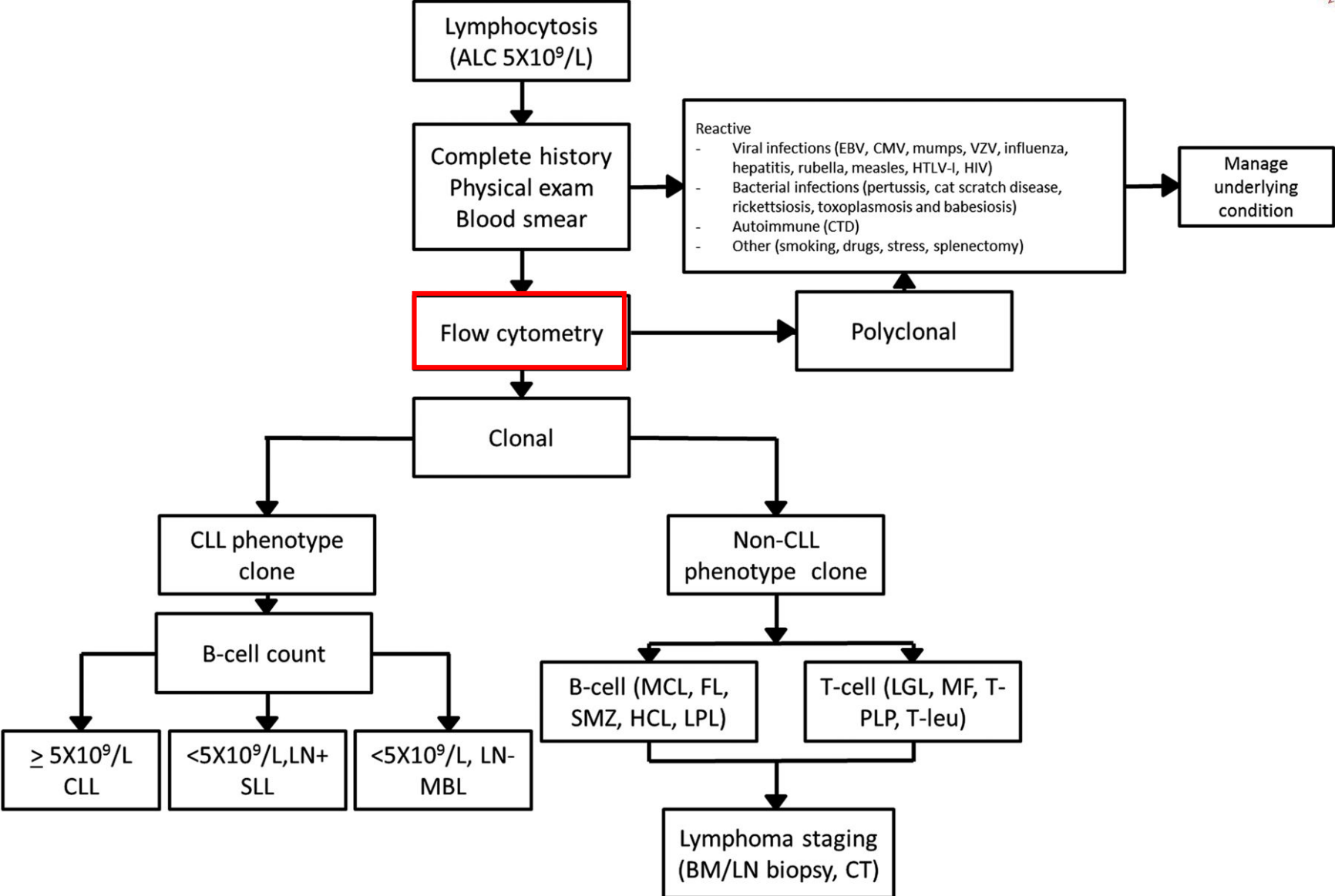
# MNI typique

Fille, 11 ans

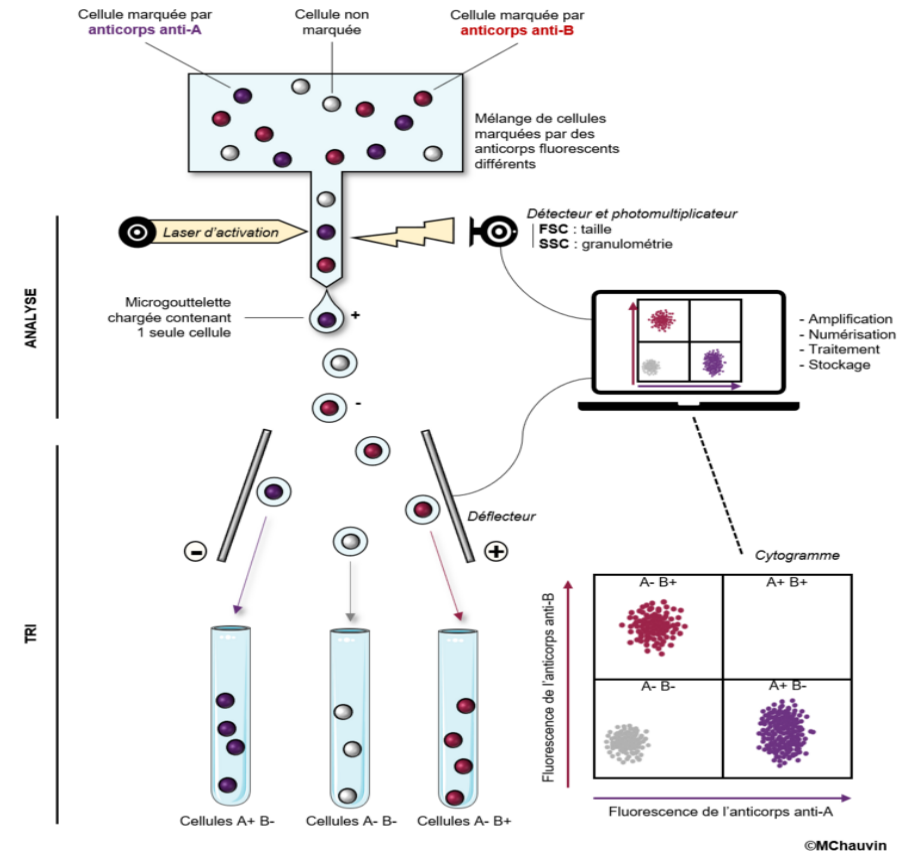
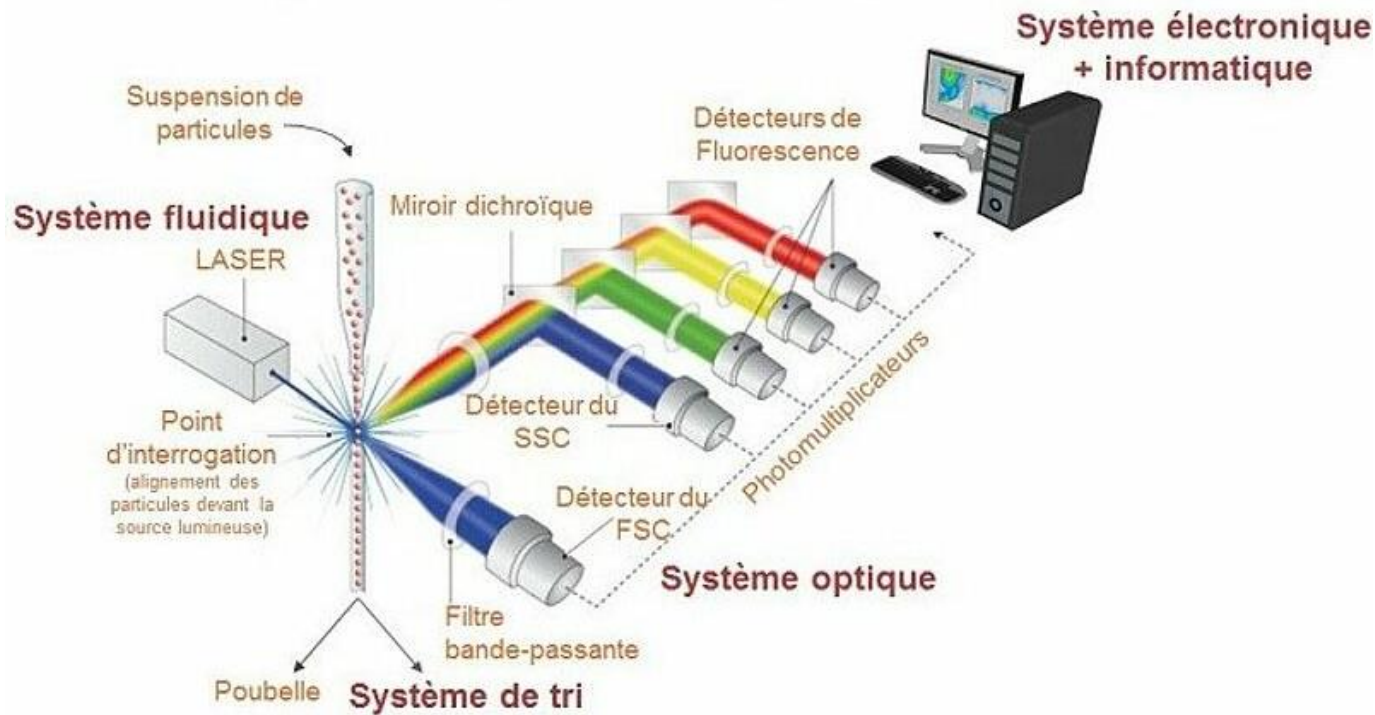
HEMATOLOGIE			
Hémoglobine	12.8	12.0 - 15.0	g/dL
Hématocrite	40	34 - 44	%
Globules rouges	4.69	3.80 - 5.00	10E6/mm3
M.C.V.	85	76 - 90	fL
M.C.H.	27	26 - 32	pg
M.C.H.C.	32.1	32.0 - 36.0	g/dL
Globules blancs	↑ 15.00	4.50 - 13.50	1000/mm3
Formule microscope (%)			
Neutrophiles	↓ 15	40 - 74	%
Lymphocytes	↑ 59	19 - 48	%
Monocytes	5	3 - 9	%
Eosinophiles	2	< 7	%
Basophiles	0	< 2	%
L.U.C	↑ 19	< 4	%
Formule microscope (valeurs absolues)			
Neutrophiles	2.30	1.50 - 8.00	1000/mm3
Lymphocytes	↑ 8.80	1.20 - 5.20	1000/mm3
Monocytes	0.80	0.00 - 0.80	1000/mm3
Eosinophiles	0.30	0.00 - 0.70	1000/mm3
Basophiles	0.00	0.00 - 0.20	1000/mm3
L.U.C.	↑ 2.90	< 0.40	1000/mm3
Plaquettes	293	150 - 400	1000/mm3
Foie-coeur-enzymes			
Bilirubine totale	0.4	0.3 - 0.8	mg/dL
Bilirubine directe	0.2	< 0.3	mg/dL
Bilirubine indirecte	0.2	0.0 - 1.1	mg/dL
Gamma GT	↑ 193	< 22	U/L
GOT (AST)	↑ 107	20 - 40	U/L
GPT (ALT)	↑ 125	8 - 27	U/L
LDH totales	↑ 621	207 - 383	U/L
Phosphatases alcalines	275	186 - 440	U/L
Lipase	20	12 - 53	U/L
SEROLOGIE VIRALE			
Epstein-Barr			
EBV IgM (VCA)	Positif		
EBV IgG (VCA)	↑ 118.0	< 20.0	U/mL
Commentaire	Suspicion d'infection récente : contrôle d'évolution dans trois semaines.		
Cytomégalovirus			
Cytomégalovirus IgM §	Négatif		
Cytomégalovirus IgG	Négatif	< 1.00	Index
Commentaire	Absence probable d'infection récente ou ancienne.		



# Démarche devant une lymphocytose

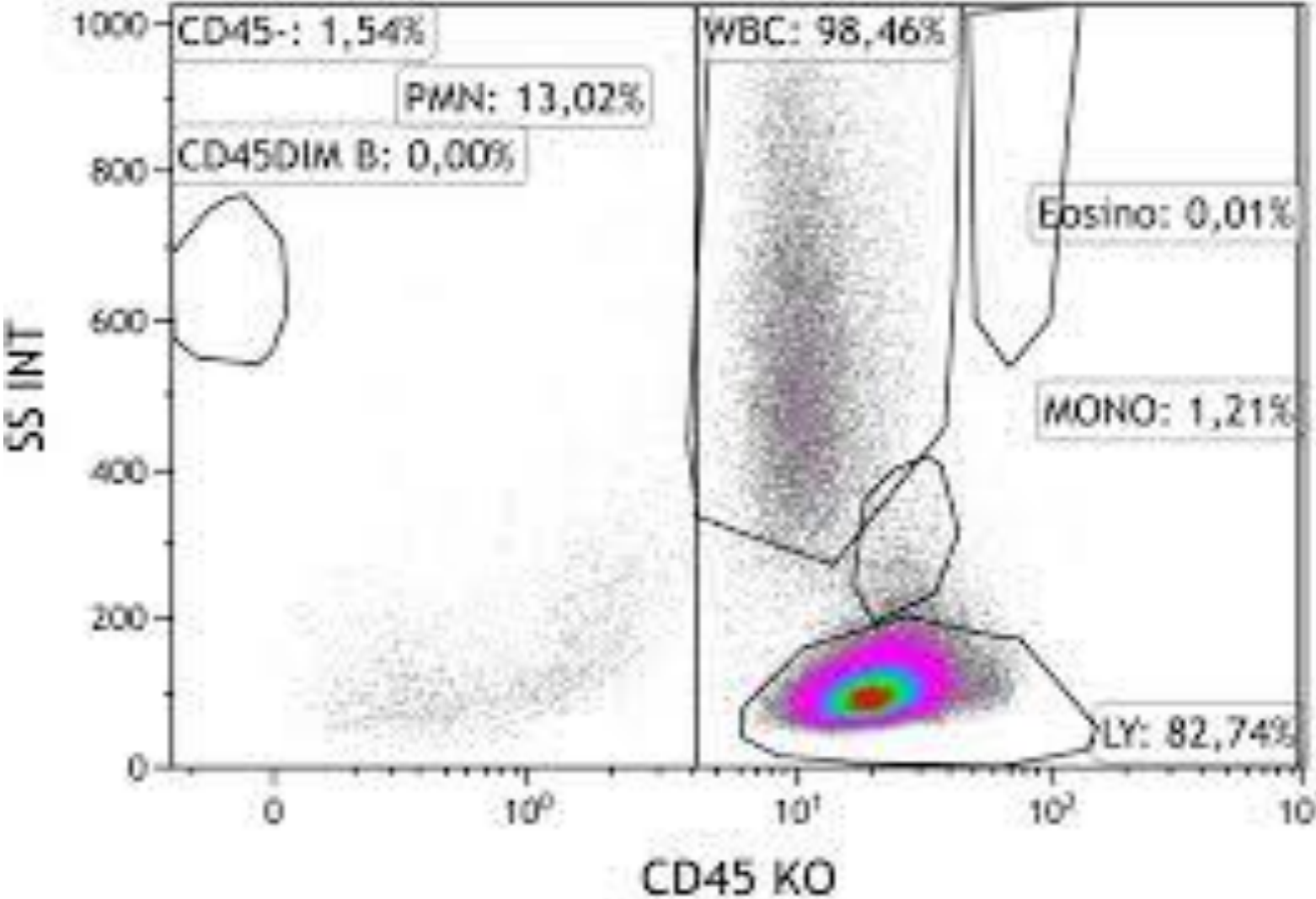


# Principe de la cytométrie en flux

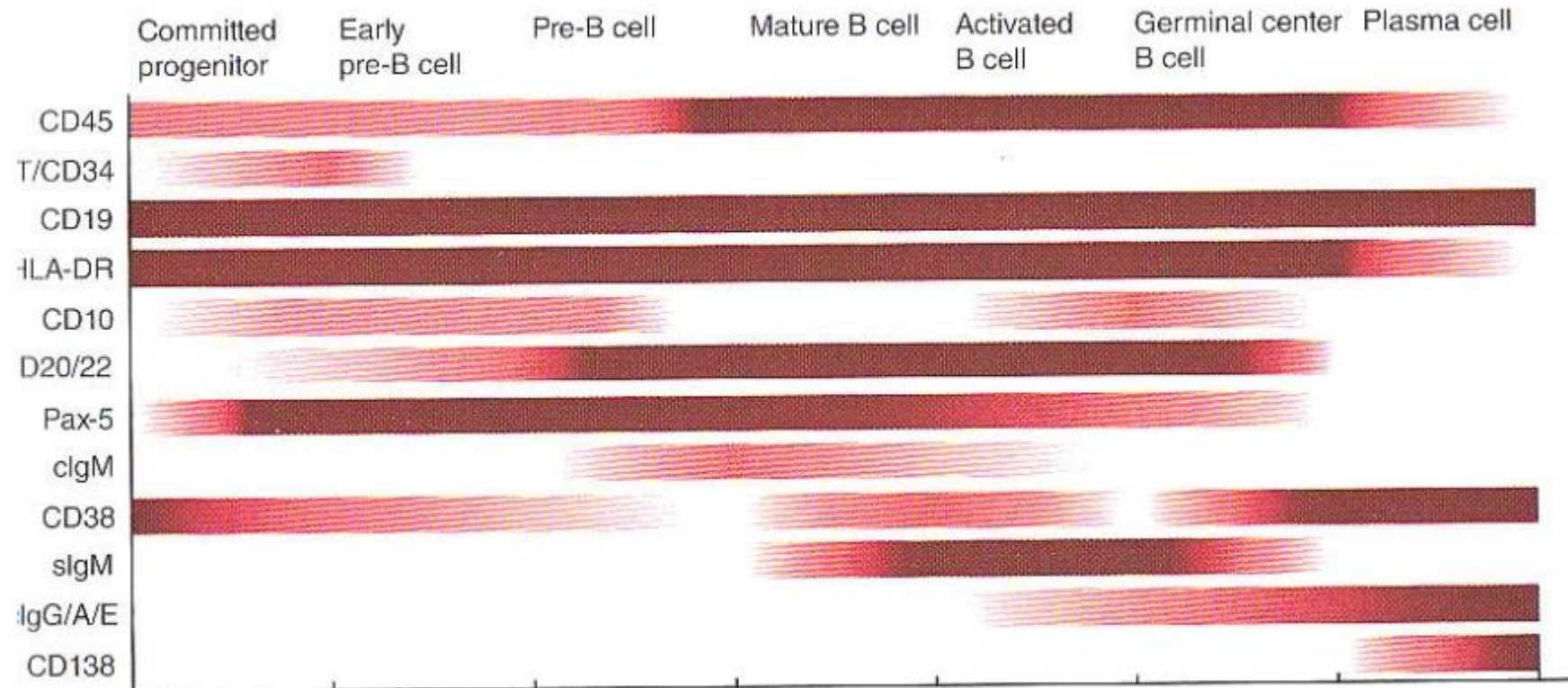




# Principales applications

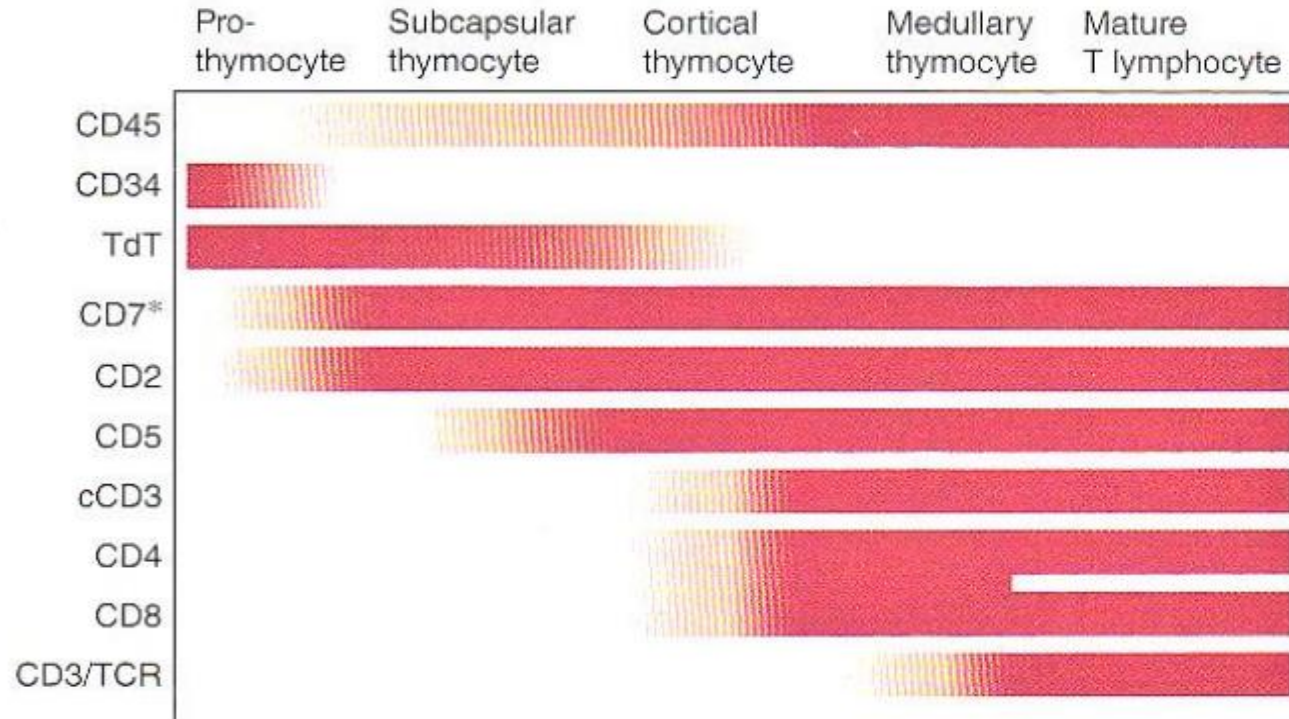


# Molécules de surface des lymphocytes B



- Apparaissent ou disparaissent en fonction des stades

# Molécules de surface des lymphocytes T

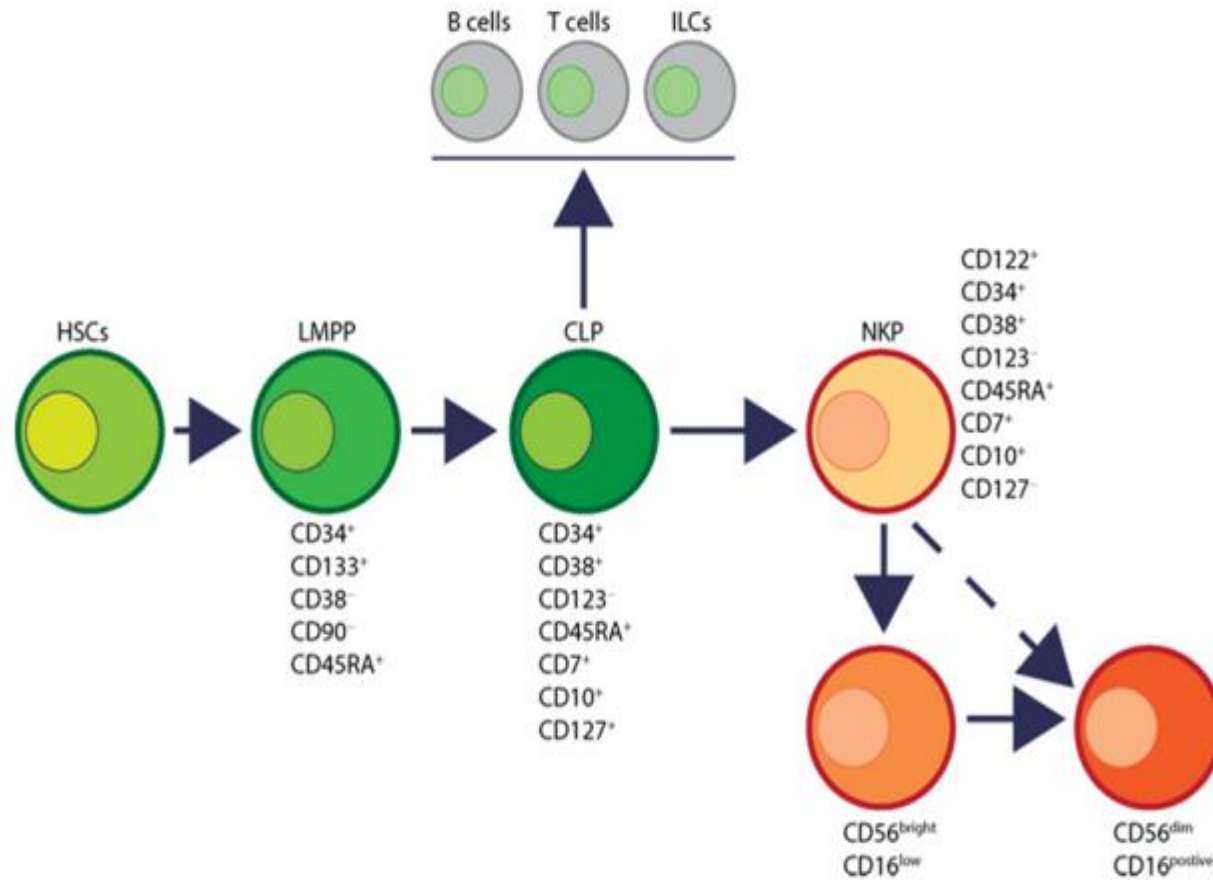


\*CD7 is expressed on most, but not all, mature T lymphocytes.

- CD2 (adhésion)
- CD3
- CD5 (activation)
- CD7
- CD4 (T helpers)
- CD8 (T cytotoxique)
- CD28 (co-stimulation)

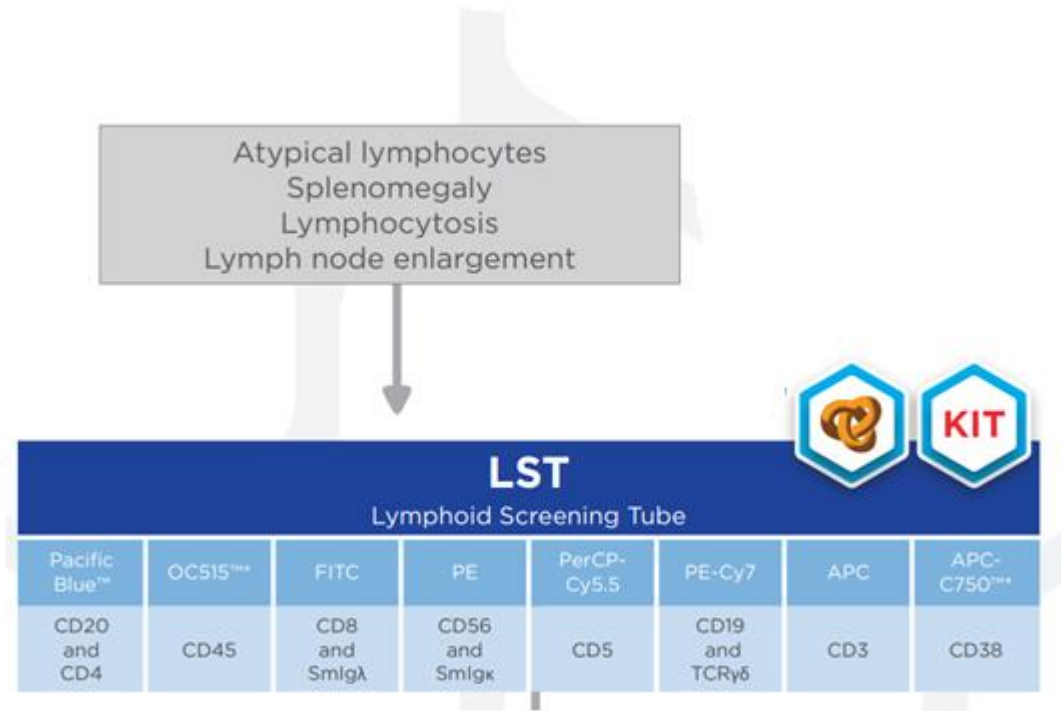
# Lymphopoïèse NK

- NK immatures  $CD56^{bright}$   $CD16^{low}$   
**faible activité cytotoxique**
- NK mature  $CD56^{low}$   $CD16^{bright}$   
**forte activité cytotoxique**



**Pas de CD3,  
Pas de TCR**

# Indications



# Tube de screening lymphoïde LST



**Table A2.** Composition of LST and technical information on reagents

<i>PacB</i>	<i>PacO</i>	<i>FITC</i>	<i>PE</i>	<i>PerCPCy5.5</i>	<i>PECy7</i>	<i>APC</i>	<i>APCH7</i>
CD20 and CD4	CD45	CD8 and Smlgλ	CD56 and Smlgκ	CD5	CD19 and TCRγδ	SmCD3	CD38

- EuroFlow
- Combinaison d'anticorps de 8 couleurs et 12 marqueurs
- Détection des populations phénotypiquement aberrantes de cellules B matures, T et NK
- Dépistage et diagnostic des SLP
  
- Deux marqueurs différents dans certains canaux de fluorescence:  
pour surmonter le nombre limité de détecteurs de fluorescence par rapport au nombre de réactifs d'anticorps nécessaires
  
- Tube de dépistage lymphoïde (LST) → nécessité d'un immunophénotypage supplémentaire: panels EuroFlow: B-CLPD, T-CLPD et NK-CLPD ?

# Sélection d'Anticorps

**Table A2.** Composition of LST and technical information on reagents

<i>PacB</i>	<i>PacO</i>	<i>FITC</i>	<i>PE</i>	<i>PerCPCy5.5</i>	<i>PECy7</i>	<i>APC</i>	<i>APCH7</i>
CD20 and CD4	CD45	CD8 and Smlgλ	CD56 and Smlgκ	CD5	CD19 and TCRγδ	SmCD3	CD38

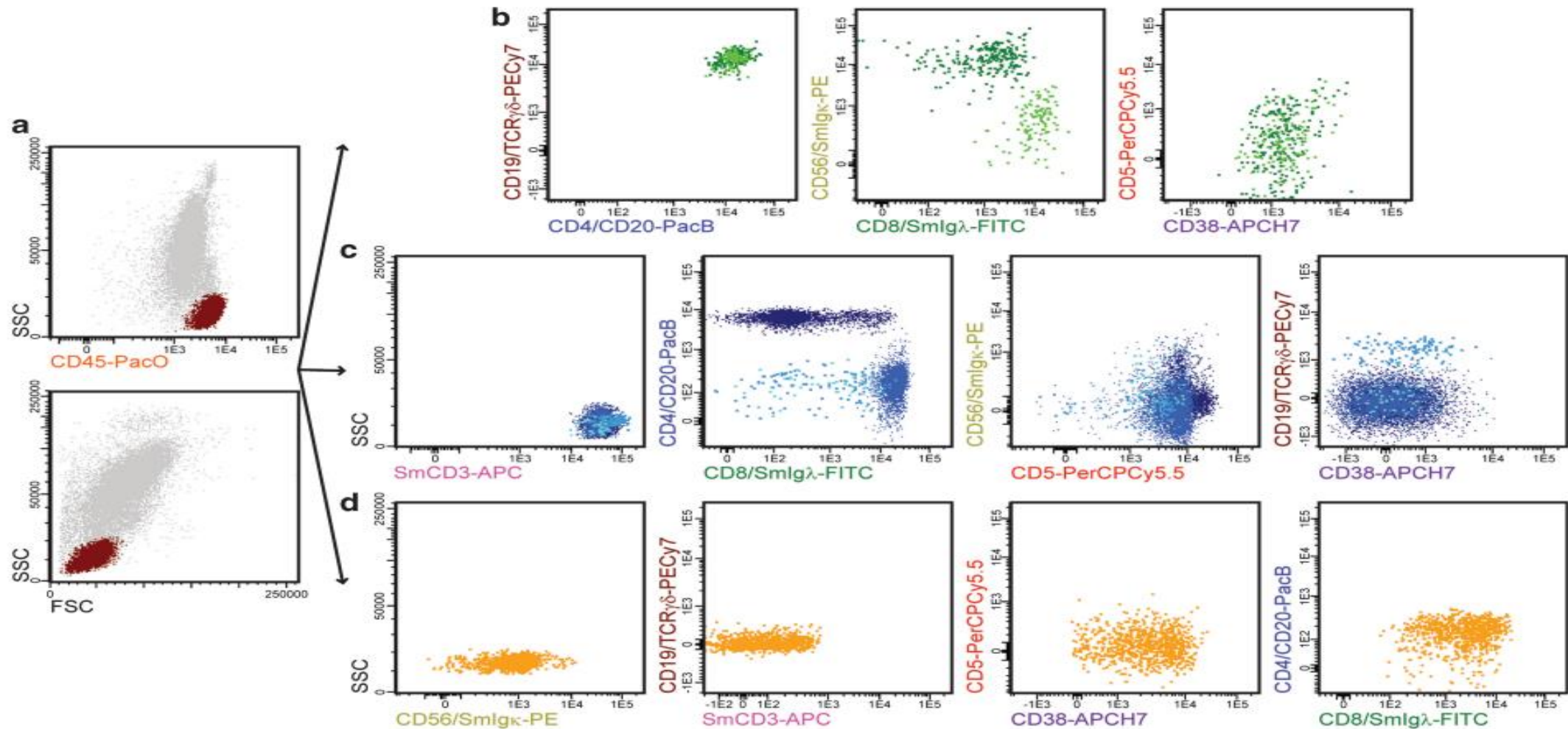
- **CD45** : définition des compartiments des lymphocytes matures par rapport aux lymphocytes immatures
- **CD3** : identification des lymphocytes T
- **CD19** et **CD20** : sélection des lymphocytes B

D'autres marqueurs ont été sélectionnés pour une sous-classification ultérieure des cellules B, T et NK:

- Smlgk** et **Smlgl**
- CD4**, **CD8** et **CD56**
- CD56** et **CD8**

Inclusion CD38, TCRgd, CD5

## Exemple illustratif du profil immunophénotypique normal des populations lymphocytaires

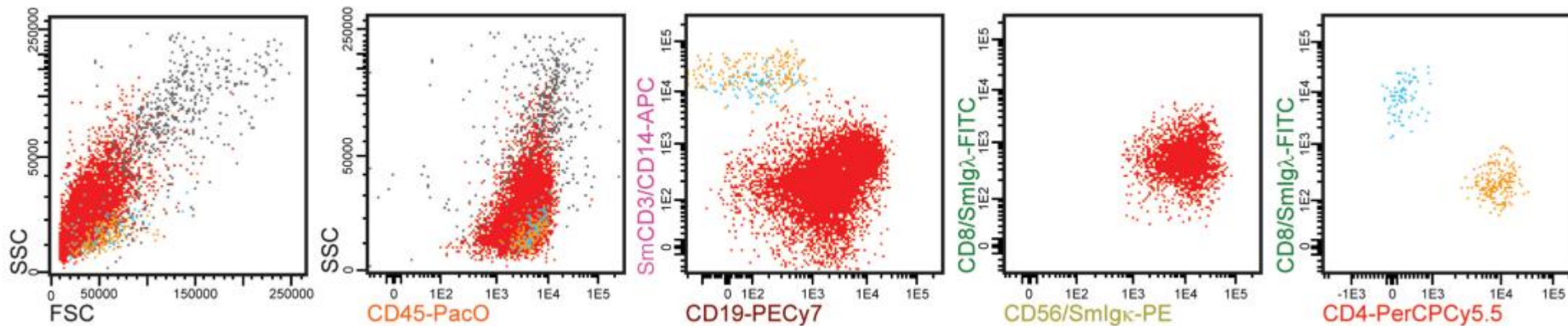


**Figure 8.** Illustrative example of the immunophenotypic profile of the lymphocyte populations present in normal peripheral blood stained with the lymphoid screening tube (LST) (version 7). **(a)** Typical profile of mature lymphocytes (brown dots) for light scatter parameters and CD45. **(b)** Phenotype of normal mature B-cells for the B-cell-associated markers in the LST combination with a normal distribution according to surface membrane (Sm) light-chain expression (Smlgκ<sup>+</sup> B-cells are painted as dark green dots and Smlgλ<sup>+</sup> B-lymphocytes as light green dots). **(c)** The phenotypic features of normal mature T-cells as defined by the expression of relevant markers in the combination (CD4<sup>+</sup> T-cells: dark blue dots; CD8<sup>hi</sup> T-cells: blue dots; CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-/lo</sup>/TCRγδ<sup>-</sup> T-cells: light blue dots; and CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-/lo</sup>/TCRγδ<sup>+</sup> T-cells: cyan dots). **(d)** Phenotypic pattern of normal peripheral blood NK-cells (yellow dots) for SSC, CD56, CD19/TCRγδ, SmCD3, CD38, CD5, CD8 and CD20/CD4 with version 7 of the LST.

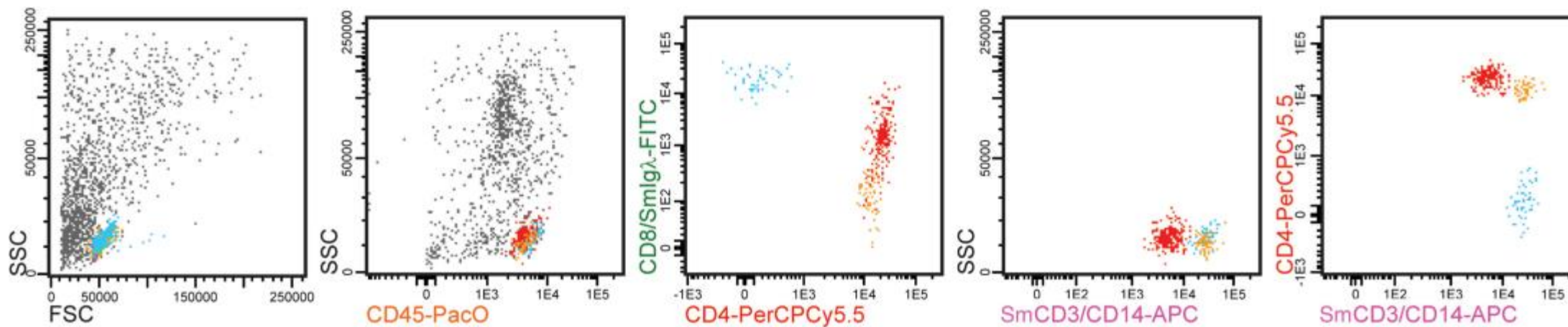


# Exemples illustratifs de profil immunophénotypiques aberrants des populations lymphocytaires

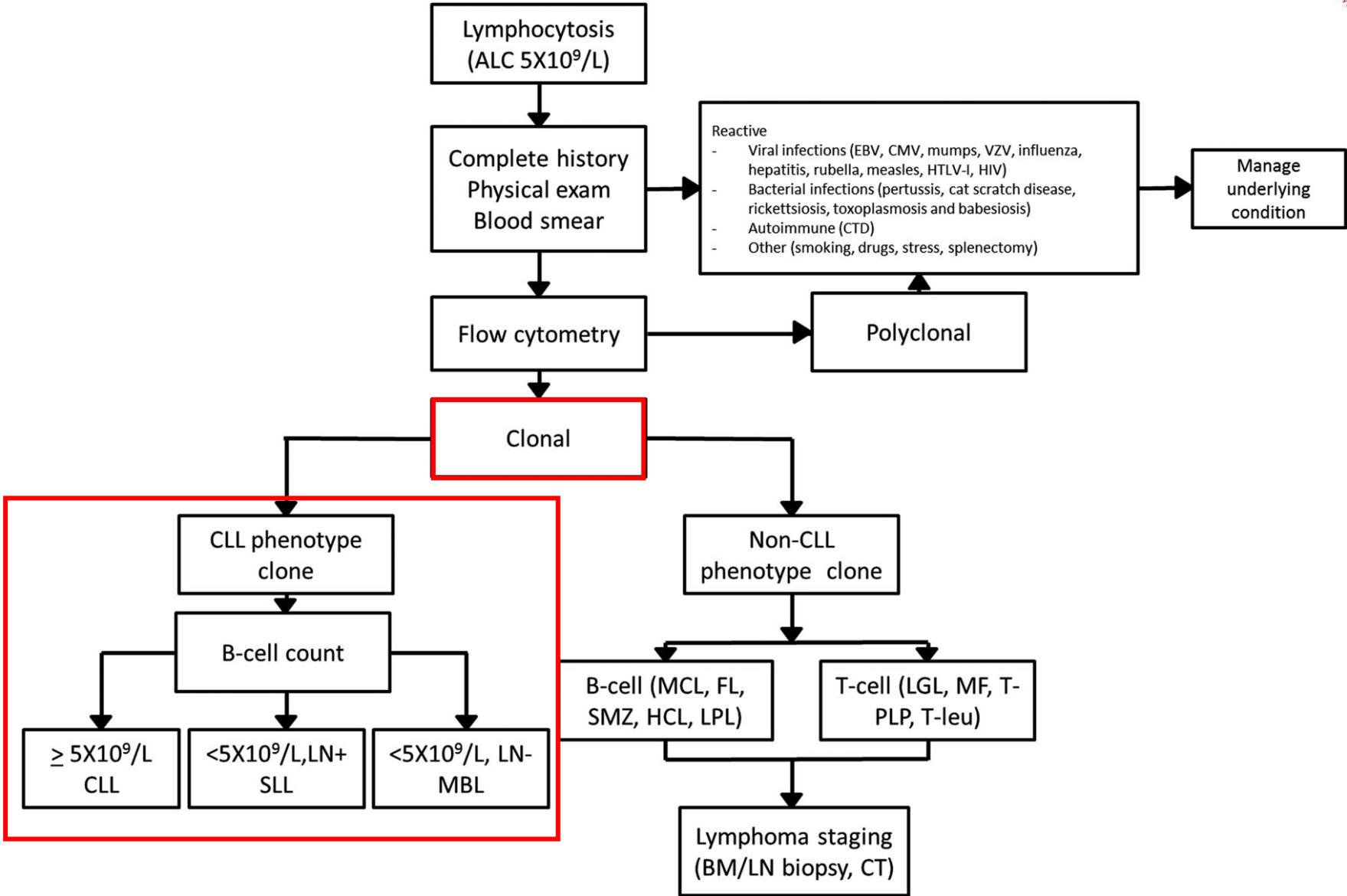
**a** clonal Ig $\kappa$ <sup>+</sup> B-cell population



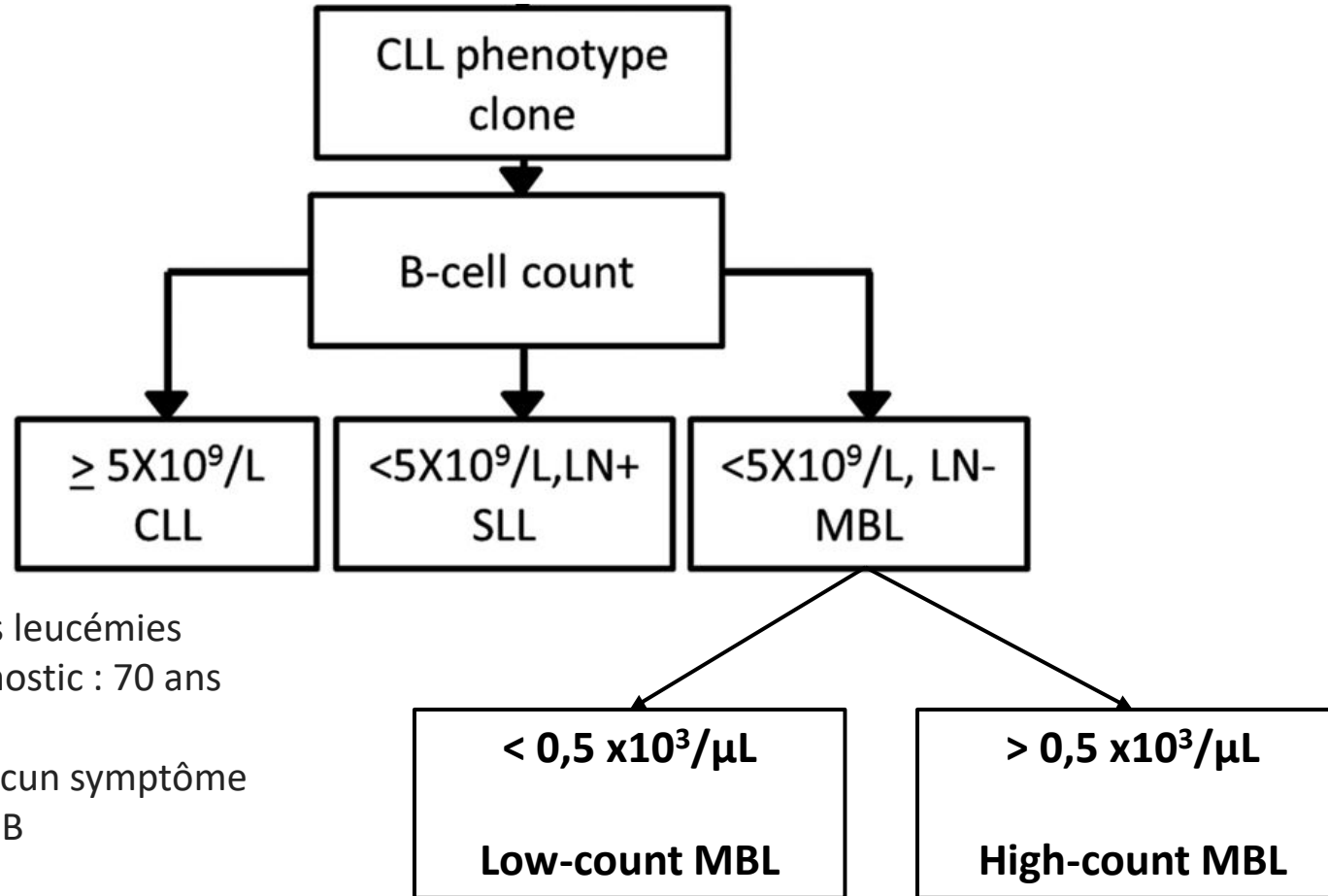
**b** aberrant T-cell population



# Démarche devant une lymphocytose



# Démarche devant une lymphocytose

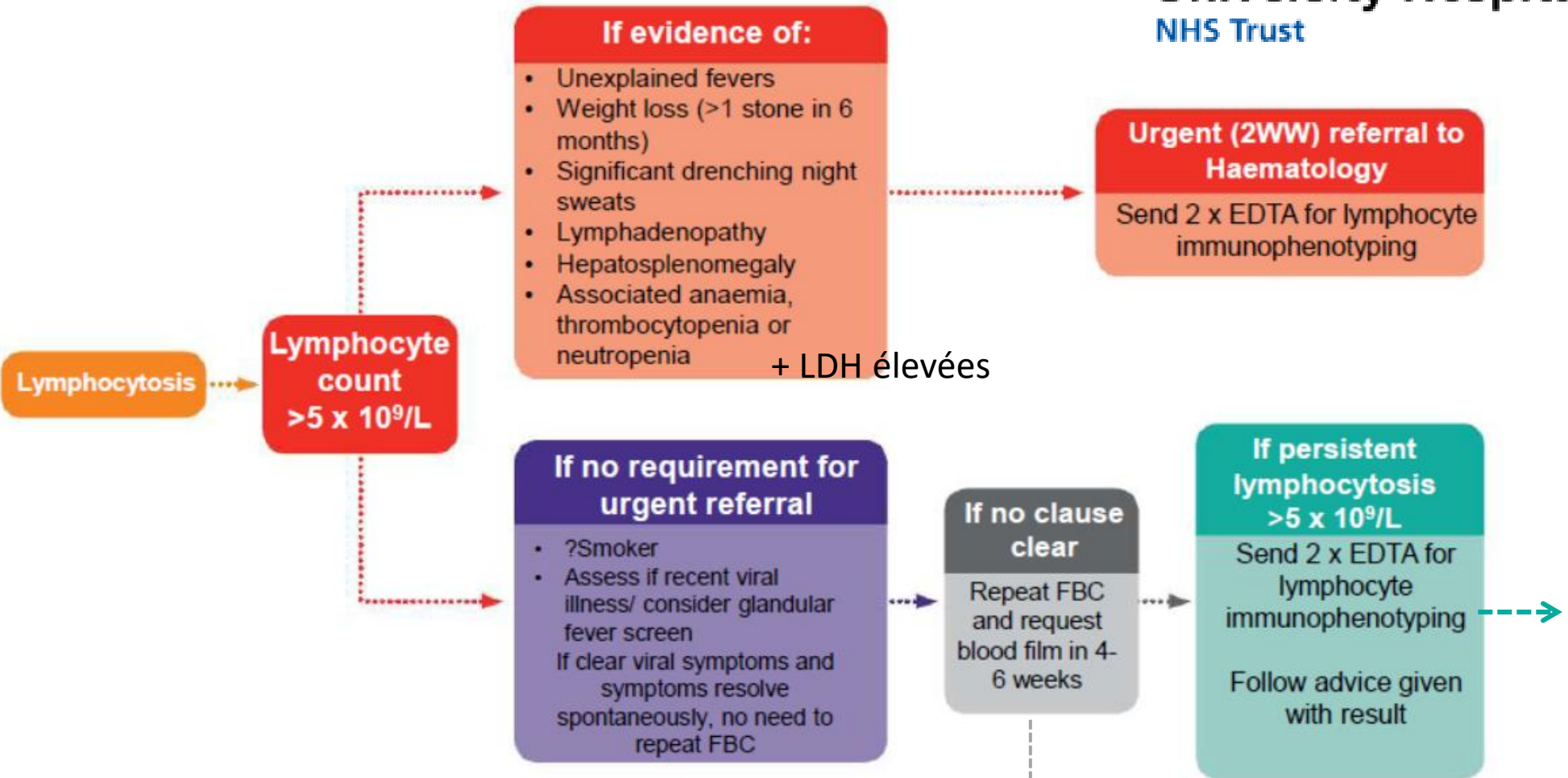


- 25-30% de toutes les leucémies
- Âge médian au diagnostic : 70 ans
- M:F ratio: 1.5:1 à 2:1
- Majorité des cas : aucun symptôme
- 5-10 % : symptômes B

- +/- 5% des adultes > 40 ans
- Faible risque de progression

- État pré-LLC
- Risque de progression : 1-2 %/an
- Survie globale inchangée
- Risque plus élevé d'hospitalisation et de cancers

# Quand référer à l'hématologue?



Confirmation de la présence d'une population monoclonale par immunophénotypage (LLC, MBL)

**RÉFÉRER À L'HÉMATOLOGUE**

Lymphocytose persistante (> 3 mois)

**RÉFÉRER À L'HÉMATOLOGUE**

☎ 02/543.00.00 LABO IBC'LAB

☎ 02/555.55.93 PERMANENCE HÉMATOLOGUE CLINICIEN SÉNIOR HUB

# Take-home messages

- **Lymphocytose** :  $> 4 (5) \times 10^3/\mu\text{L}$  (adultes)
- Transitoire / **chronique**
- Anamnèse / examen clinique / hémogramme & frottis sanguin
- **Syndrome mononucléosique**
  - **EBV** / CMV / HIV / Hépatites / Toxoplasmose
- Causes bénignes non infectieuses ?
  - Splénectomie / Réaction d'hypersensibilité / Lymphocytose polyclonale B
- **Processus clonal** ?
  - **Red flags** (cytopénies, symptômes B, adénopathies, hépatosplénomégalie, LDH  $\uparrow\uparrow\uparrow$ ) : **référer à l'hématologue**
  - Cytométrie en flux

# Merci

