



HAL
open science

Analyse des caractéristiques clinico-biologiques chez les patients ayant été explorés par un immunophénotypage des lymphocytes circulants dans le service de médecine interne : étude rétrospective sur 13 mois

Nicolas Blah

► To cite this version:

Nicolas Blah. Analyse des caractéristiques clinico-biologiques chez les patients ayant été explorés par un immunophénotypage des lymphocytes circulants dans le service de médecine interne : étude rétrospective sur 13 mois. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02418809

HAL Id: dumas-02418809

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02418809>

Submitted on 19 Dec 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UFR SANTE ROUEN NORMANDIE

ANNEE 2018-2019

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

DES DE MEDECINE INTERNE

Par Nicolas BLAH Né le 04 septembre 1990 à Mont-Saint-Aignan, France

Présentée et soutenue publiquement le 21 octobre 2019

**Analyse des caractéristiques clinico-biologiques chez les patients
ayant été explorés par un immunophénotypage des lymphocytes
circulants dans le service de médecine interne.**

Etude rétrospective sur 13 mois

DIRECTEUR DE THESE :

Dr SAUVETRE Gaétan

PRESIDENT DU JURY :

Pr LEVESQUE Hervé

MEMBRES DU JURY :

Pr JARDIN Fabrice

Dr BERA Elsa

Dr BUCHONNET Gérard

Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric DI FIORE	HCH-CB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
Mr Claude HOUDAYER	HCN	Génétique
Mr Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato – Vénérologie
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale

Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépto-gastro-entérologie
M. Benoit MISSET (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation Médicale Mr Jean-François
M. Jean-François MUIR (<i>urnombre</i>)	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace ROMAN (<i>disponibilité</i>)	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépto-gastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie

Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLEZ (<i>surnombre</i>)	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
M. Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre VANNIER (<i>surnombre</i>)	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	HB	Service Santé Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
Mme Marie-Laure WELTER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Neurophysiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire

Mr Thomas MOUREZ (<i>détachement</i>)	HCN	Virologie
Mr Gaël NICOLAS	HCN	Génétique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia ROLLIN	HCN	Médecine du Travail
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie
Mr Julien WILS	HCN	Pharmacologie

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mr Thierry WABLE	UFR	Communication
Mme Mélanie AUVRAY-HAMEL	UFR	Anglais

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

SJ – Saint Julien Rouen

Par la délibération en date du 3 Mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

Remerciements

Merci au président du Jury, Monsieur le Professeur LEVESQUE Hervé, de me faire l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail. Je vous témoigne ma profonde et respectueuse reconnaissance.

Merci à Monsieur le Professeur JARDIN Fabrice, Vous me faites l'honneur d'apporter votre expérience à la critique de ce travail en siégeant dans mon jury de thèse. Je vous prie de bien vouloir accepter ma respectueuse considération.

Merci à mon directeur de thèse, Monsieur le Dr SAUVETRE Gaétan, de m'avoir aidé durant ce travail, de la disponibilité et du contact bienveillant au cours de tout mon internat. Je vous témoigne un respect sincère et un grand merci pour votre patience.

Merci à Madame la Docteur BERA Elsa, pour votre aide prodiguée lors de l'élaboration de ce travail. Veuillez accepter mes remerciements.

Merci à Monsieur le Docteur BUCHONNET Gérard Je vous prie de recevoir mes sincères remerciements pour avoir accepté de juger mon travail. Veuillez croire en l'expression de ma respectueuse considération.

Remerciements Professionnels

J'aimerais remercier en plus du jury les gens qui ont participé à ma formation et qui m'ont apporté beaucoup par leur personnalité.

Merci au Pr BEKRI (Maladies métaboliques), pour toute sa bienveillance, son implication et son aide me concernant, sa maîtrise et sa dévotion aux autres. Et à toute son équipe. Si je devais refaire mes études à nouveau je passerais du temps avec vous tous et avec plaisir.

Merci au Dr LIDOVE (Médecine interne Paris) pour son accompagnement, son acuité, sa maîtrise, sa communication. Ce semestre était incroyable sur le plan personnel et professionnel. Vraiment merci pour tout.

Merci au Dr FRENOY (Réanimation, Le Havre) pour son intelligence interpersonnelle et ses valeurs. Un grand merci.

Merci au Dr ALCAIX (Rhumatologie) pour les visites inoubliables du mercredi après-midi, sa maîtrise et son humour.

Merci au Dr GIRSZYN (Médecine interne) pour sa compréhension et sa patience malgré mes difficultés d'organisation.

Merci au Pr COSTENTIN pour sa pédagogie et son humour lors des cours de neuropharmacologie.

Merci au Pr LEREBOURS (Gastroentérologie) pour m'avoir encouragé à continuer dans ma vision « physiopathologique » de la médecine.

Merci au Dr HERON François pour ses visites pharmacologiques et physiopathologiques.

Merci aux médecins de néphrologie de Bois-Guillaume Pr GODIN, Pr GUERROT et Dr BERTRAND pour leur temps consacré à la pédagogie pendant notre stage d'externat.

Merci au Dr FLAHAUT (pédiatrie) de m'avoir soutenu alors que la médecine me pesait pendant mon externat.

Merci à tous les autres médecins qui m'ont consacré temps et efforts pour m'enseigner et m'accompagner jusqu'ici.

Merci à tous les autres soignants et les autres professionnels qui sont nos mains, nos bras, nos yeux et nos oreilles, sans lesquels soigner les patients serait impossible.

Remerciements Personnels

Parce que tout ce que j'ai, je le dois à quelqu'un ou à plusieurs autres, je veux remercier tous ceux qui peuplent ma vie qui est juste merveilleuse.

J'aimerais exprimer ma chance, ma gratitude envers le monde dans lequel je vis, et ma thèse est un moyen de l'exprimer d'en garder une trace quelque part.

Pour ma Famille

Je veux remercier mes parents,

Votre ligne d'arrivée a été trop précoce mais vous êtes responsable de toute mon histoire. Souvent, j'espère que de là où vous êtes, vous avez comme principal regret de ne pas être parmi nous, regardant le bonheur de notre vie. Est passé le moment où je vous en voulais, maintenant j'honorerai au mieux ce que vous m'avez donné. Je vous imagine avec des popcorns fantomatiques en espérant que vous riez de temps en temps à mes blagues...

Je veux remercier mon Frère,

Ensemble, on a des histoires que personne ne pourra penser. Ensemble, on a des discussions que personne d'autre n'aura. On a des blagues qui ne signifient rien pour les autres mais qui continuent de nous faire rire. Et tu es le seul à comprendre notre histoire commune.

Tu es l'interlocuteur irremplaçable sur le plan intellectuel et émotionnel.

Tu es le plus beau cadeau que cette vie m'ait donné. Tu es dans tous les chapitres de mon journal intime. Il faudrait 500 000 000 MAJ pour te « nerf ».

Tu m'as tellement donné, les hobbies, les moments qu'on a passé ensemble, l'écoute que tu as eue, la considération que tu m'as donnée en tant que personne depuis toujours. On a tellement de références communes que pour faire une bibliographie il faudrait un Kick-Starter.

On a tellement voyagé sans même poser un pied par terre.

J'espère bien continuer tout ça, on a encore “quelques” univers à créer et “quelques” concepts à écrire.

Je veux remercier ma Grand-Mère,

Depuis le début, tu m'as toujours écouté, quoi qu'il arrive. Je peux te parler de tout, tu as toujours été de mon côté. Tu as toujours quelque chose à dire et nos bavardages n'avaient pas de fin. On a lu les fables de la Fontaine ensemble, et on jouait à deviner les mots du dictionnaire des synonymes. Tu donnais la réplique quand j'avais besoin de réviser mes pièces de théâtre. Tu commentais sans cesse la télévision tellement que le vrai spectacle était de notre côté de l'écran.

On a chacun nos principes et notre vision et tu as toujours été bienveillante malgré tous les désaccords et ma chambre désordonnée...

Un merci infini pour ce que tu m'as donné, je ne suis pas sûr qu'un jour je serais capable de rendre à quelqu'un tout ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivé ici c'est en grande partie grâce à toi.

Je veux remercier Michel, mon oncle

Quand mes parents sont partis, j'ai pu voir tes valeurs familiales, ta communication.

J'étais rassuré de savoir qu'il existe des adultes comme toi, capable de se battre pour offrir meilleur aux enfants, et qui ont vraiment le souci des autres. Tu m'as donné de la douceur malgré la violence des événements.

Je n'oublierai jamais la fois où tu m'as pris un livre en pensant qu'il aurait mauvaise influence sur moi, et que tu me l'as rendu avec le sourire en voyant qu'il n'y avait rien de sérieux, tu m'as prouvé que tu t'es vraiment intéressé à moi. Et j'ai beaucoup ri des moments passés ensemble avec Mémé.

J'ai hâte de voir grandir encore mes cousins avec ce que tu leur as donné.

Je veux remercier ma Sœur,

Malheureusement, on n'a jamais pu vraiment se comprendre car je ne peux pas apprendre ton langage. Je n'ai jamais su vraiment comment ça se passait dans ta tête mais tu m'as appris à tolérer bien des gens et bien des choses. Et grâce à toi j'ai appris toutes les répliques de Tintin avant même de pouvoir les comprendre.

Pour mes Amis,

Je veux remercier Kevin et Corinne.

Ils ont renversé la croyance que je devais toujours me protéger du monde autour de moi et m'ont offert tellement de confiance et d'ouverture. Au cours d'une première année de médecine (non sans quelques moments difficiles à passer), j'ai appris que l'on pouvait tomber sur de l'altruisme et de la droiture en condition de concours, ce qui me paraissait impossible.

Kévin, c'est grâce à toi que donne toujours une chance aux gens que je ne connais pas et que j'aurais évité. J'ai arrêté d'avoir peur des gens.

C'est grâce à toi que j'ai tout donné pour apprendre la biochimie et m'intéresser aux connaissances fondamentales.

Quand j'ai vu ton cabinet (je ne parle pas de tes toilettes rassure toi) j'ai senti encore à quel point tu pouvais penser aux autres. Comme un magicien, j'espère que tu continueras de mettre des couleurs sur des pages vierges ou en noir et blanc.

Corinne, j'ai noté bien des phrases récurrentes de la "radio positive" que tu nous allume à chaque fois que nous discutons ensemble, j'aime la franchise la spontanéité et l'énergie des discussions que nous avons.

Pour moi vous êtes à la fois des amis et des exemples.

Merci pour tout.

Je veux remercier Vincent,

On a "wipe", on a "fail" et on a carry, mais surtout on a partagé plein de moments dans ce monde et dans les autres. On a parlé de mémoire associative, de pédagogie, de Mind Map, de La Mian, de vision du monde, de gestion, et des cas cliniques du Massachusetts Hospital. La médecine m'a pris beaucoup mais m'a donné aussi beaucoup et tu redresses le bilan vers le positif. Déjà parce que je serais mort de froid quand mon chauffage était en panne. Et il y a toujours un phénix dans mes affaires pour me rappeler la chance que de t'avoir comme ami. Avec plus de temps libre et des projets j'espère que l'histoire ne fait que commencer. 私が来ている注意 (C'est google translate qui l'a dit).

Je ne sais pas si je dois te remercier Julie...

Dans les épreuves de mes études de médecine, on va dire que j'aurais pu trouver quelqu'un de plus sain pour mon équilibre mental... (« Et alors ? Tu comptes appeler la police ? »). On a parlé de tellement de choses, on a révisé l'ECN (Sous la surveillance de Angri Yoshi), les unités d'enseignement de M1 (« Autruuuu »), le stage de néphrologie (Tout t'y chaos)... tout ça entrecoupé de peluche de Hamster volant (Hamsteroïde !), de répliques de Shrek (“Un menu médiéval avec le jouet”), de parodie de musique jusqu'à 2 heures du matin (Vous saurez tout sur le Pilly), de partie de jeux vidéos avant les examens (Demon Fang !). Nos discussions pouvaient aller dans le sérieux aussi loin que dans la connerie... ce qui n'est pas négligeable du tout ! Mais maintenant on a grandi, on est plus mature (Aaaaaaaaaaaaaaaaaah).

Avec tout ce temps qu'on a passé ensemble je paierais vraiment très cher pour revivre ces années avec toi si je le pouvais. Et j'espère que, l'internat derrière nous, on va pouvoir passer à l'acte 2...

Je veux remercier Stéphanie,

Déjà tu es à la fois la combattante la plus impressionnante (Rwarw !) et la plus inoffensive.

Tu as une curiosité et un intérêt pour tout,

Tu comprends les émotions des gens et ils te le rendent bien (en chocolats notamment). J'espère que tu vas écrire des histoires en lettres et en dessins.

Quand je pense à toi tu es une source de motivation parce que tu as une attitude gagnante, toujours bienveillante et avec le sourire. Tu es un modèle pour moi.

Je veux remercier Margaux,

Je sais que je ne dois pas trop en dire, mais je veux quand même rendre hommage à ta loyauté et ton soutien. See you at the big one !

Je veux remercier Florian V.

C'est juste improbable qu'on se soit rencontré à l'autre bout du monde et qu'on ait tellement de trucs en commun. On a surfé sur le Bund en crue, écouté les « 2 minutes du peuple », pris toutes les photos possibles de Django. Ta culture, ton ouverture, toutes les histoires que l'on s'est raconté et les balades dans les villages de chine... et le reste. Merci pour tout cela.

J'aimerais remercier mes « co-internes » et les gens que j'ai rencontré lors de l'internat

- Franklin, Anaïs, Corina. Préparez-vous à sortir les cartes et jeter les dés encore et encore... Mais plus que les cartes et les pions, j'apprécie vraiment être avec vous.
- Les réanimateurs (Anna, Mathilde, Thibaut, Florence) ... ce semestre était « Wahou ».
- Isabelle « Troubagling » avec qui cela toujours été un plaisir de parler et de jouer.
- Mes Co-internes de la croix Saint Simon : Lisa, Héléna, Yousra, Sabine, Clément. Et Également Wladimir « Ja gut ». Vous avez été super, merci encore.
- Tanguy, Tania et leurs âmes d'artistes, vous êtes incroyables. Merci à Bénédicte pour ta bonne humeur et ta disponibilité constante.
- Caroline G. pour les petites discussions pas loin du Robec.
- Les co-internes de médecine interne et leur groupe « Whatsapp » complètement délirant.
- Merci à tous ces externes qui m'ont tant donné et qui ont supporté mes questions et mes schémas...

Je veux remercier plus largement les gens qui ont participé à mon développement, parce qu'il faudrait un pavé pour remercier tout le monde.

- Je veux remercier mes amis de Collège et Lycée. Le temps et les occupations nous ont séparé mais il est clair que vous m'avez beaucoup donné. Peter, Xavier, Steeve. Et Alexis cher voisin avec lequel je passais une grande partie de mon temps.
- Gaétan B. et Melissa C.
- Mes co-externes Alexis, Marine, Hélène, Helen, Esther.
- Melissa R.
- En cours de chant (Marie-Laure, Hubert, Iok-Son, sophie) ou musique jazz (Pascale)
- Sur les tatamis (Guillaume, Rédouane, François, Antoine...)
- En colonie de vacances (il y a trop de gens à remercier, mais plus particulièrement Antoine, Aurore et les « Gunzs »)

Serment d'Hippocrate

“Au moment d’être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d’être fidèle aux lois de l’honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J’interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l’humanité.

J’informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n’exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l’indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l’intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l’intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l’indépendance nécessaire à l’accomplissement de ma mission. Je n’entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J’apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu’à leurs familles dans l’adversité. Que les hommes et mes confrères m’accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j’y manque.”

Abréviations

AEG : Altération de l'état général.

AHAI : Anémie hémolytique auto-immune.

BCR : Récepteur du lymphocytes B

BOM : Biopsie ostéomédullaire

CD : Cluster de différenciation.

CIVD : Coagulation intravasculaire disséminée.

DICV : Déficit immunitaire commun variable.

EPP : Electrophorèse des Protéines Plasmatiques

HPN : Hémoglobinurie paroxystique nocturne.

Ig : Immunoglobuline.

ILC : Immunophénotypage des lymphocytes circulants.

MBL : Lymphocytose monoclonale B

MGUS : Gammopathie monoclonale de signification indéterminée.

NFS : Numération et Formule Sanguine.

NK : Natural Killer.

PTI : Purpura thrombopénique Immunologique.

PR : Polyarthrite Rhumatoïde

SAM : Syndrome d'activation macrophagique.

TCR : Récepteur du lymphocyte T.

TDM : Tomodensitométrie.

TEP-TDM : Tomographie par émission de positons – Tomodensitométrie.

VPN : Valeur prédictive négative.

VPP : Valeur prédictive positive.

Table des matières

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS	2
Remerciements.....	8
Serment d’Hippocrate	15
Abréviations.....	16
Introduction.....	20
Généralités	21
1) Les lymphocytes :	21
A) Les lymphocytes : Morphologie et marqueurs.	21
B) Les lymphocytes : différenciation et localisation.	23
C) Types et fonctions lymphocytaires :.....	23
a) Production d’anticorps.....	24
b) Production de cytokines et recrutements cellulaires.....	24
c) Présentation d’antigènes	24
d) Cytotoxicité.....	24
D) Activation lymphocytaire B :	24
2) Les Lymphomes :.....	27
A) Manifestations cliniques : Conséquences de la transformation des lymphocytes. 27	
a) Production d’anticorps :.....	27
b) Production de cytokines et recrutements cellulaires.....	27
c) Présentation d’antigènes	27
d) Cytotoxicité.....	27
e) Prolifération et syndrome tumoral :	28
B) Classification des lymphomes	29
C) Epidémiologie des lymphomes selon type :	30
D) Cas particulier de la Leucémie Lymphoïde chronique :.....	31
3) Immunophénotypage des lymphocytes circulants :	32
A) Description de l’examen.....	32
B) Diagnostic de la LLC, indication établie :.....	33
C) Interprétation d’un clone lymphocytaire circulant :	34
Méthode :	35
1) Population d’étude :	35
A) Critères d’inclusion ;	35
B) Critères d’exclusion :	35
C) Données recueillies :.....	35

a) Données cliniques :.....	35
b) Données biologiques :.....	35
2) Définition des termes :	36
3) Analyse statistique :	36
Résultats :.....	37
1) Nombre de patients inclus.....	37
2) Analyse des caractéristiques de la population totale de l'étude :.....	38
A) Caractéristiques de l'ensemble de la population.	38
B) Paramètres du test sur l'ensemble des patients de l'étude :.....	38
C) Analyse des sous-groupes d'unité de médecine interne.	39
a) Caractéristiques des populations Ambulatoire/Populations totale et unité à orientation hématologique :	39
b) Paramètres du test dans l'unité 5105.	40
c) Paramètre du test pour hospitalisation conventionnelle :	42
3) Analyse des caractéristiques des malades de l'étude :.....	43
A) Caractéristiques des malades de l'étude.	43
B) Type d'hémopathie parmi les malades de l'étude	44
C) Nombre de critères présents parmi les malades :	44
D) Délai de réalisation de la biopsie chez les malades :.....	45
4) Comparaison entre Malades et sains.....	46
A) Comparaison des caractéristiques entre malade et sains	46
B) Comparaison du nombre de critères pour indication de l'examen :.....	47
C) Analyse des caractéristiques significativement différentes entre malades et sains	48
a) Adénopathies :	48
b) Anémie :.....	50
5) Comparaison « clone positifs » et « clone négatifs » :	52
6) Hémopathies avec clone concordant.....	53
7) Examens médullaires :	54
8) Analyse des caractéristiques des patients avec protéines monoclonales	55
9) Anémies hémolytiques auto-immunes :.....	56
10) Situations de médecine interne ou antécédent de maladies de système :.....	57
DISCUSSION :.....	60
1) Indications du test et critères :	60
2) Données épidémiologiques :.....	61
3) Paramètres du test	62
4) Intérêts potentiels du test hors dépistage/ diagnostic en lui-même.....	62

5) Comparaison malades et non malades :	63
6) Adénopathies :	64
7) Patients avec AHAI :	64
8) Analyse des malades avec un clone concordant, examen médullaire :.....	64
9) Comparaison clone et non clone	66
10) Protéine monoclonale sanguine :.....	67
11) Maladies et contexte clinique médecine interne :	67
12) Sur le plan économique :.....	68
Conclusion :	69
Ouvertures :.....	70
Annexe 1 : Résumé de l’histoire clinique des malades :	72
Annexe 2 : Âge de découverte des hémopathies lymphoïdes en 2018	75

Introduction

Le lymphome est une maladie tumorale maligne clonale liée à la dérégulation d'un lymphocyte associée à des manifestations clinico-biologiques polymorphes : Pseudo-cancéreuse solide, pseudo-infectieuse, manifestations auto-immunes. Ces situations cliniques sont fréquemment rencontrées en médecine interne.

Le diagnostic de lymphome nécessite l'analyse anatomopathologique après biopsie de la masse tumorale, pouvant être représentée par des adénopathies ou une masse tissulaire. Obtenir cette information peut s'avérer invasif ou être responsable d'un délai de prise en charge important

Le lymphocyte est une cellule circulant à la fois dans le sang et les vaisseaux lymphatiques et le lymphome qui une expression majoritaire tissulaire peut également avoir un contingent sanguin. Dans les leucémies lymphocytaires chroniques (LLC), le clone est d'ailleurs diagnostiqué à partir de l'analyse sanguine de ses marqueurs de surface par immunophénotypage.

L'immunophénotypage par cytométrie de flux peut détecter de manière non invasive la présence d'une population lymphocytaire clonale ou évocatrice de clonalité et son résultat rapide peut potentiellement permettre l'amélioration de la prise en charge des patients, en orientant d'emblée ou secondairement par d'autres explorations (Réarrangement des récepteur BCR ou TCR lymphocytaires témoignant de la clonalité).

En revanche, la découverte d'un clone circulant quel que soit l'examen n'est pas synonyme de pathologie puisqu'un clone n'est pas nécessairement malin, tout comme les autres marqueurs de clonalité (Protéine monoclonale) ne signifient pas maladie maligne. De plus, l'absence de clone ne permet pas d'exclure le diagnostic de lymphome.

La recommandation de la réalisation de l'ILC implique actuellement la présence d'une hyperlymphocytose persistante depuis plus de 3 mois avec lymphocytes $> 5000/\text{mm}^3$ dont on veut déterminer le caractère clonalⁱ. Également il est recommandé dans le bilan des anémies hémolytiques auto-immunesⁱⁱ quand une cause infectieuse évidente n'est pas retrouvée.

Dans le service de médecine interne du Chu de ROUEN cet examen est aussi utilisé hors de ces indications dans des contextes aussi variés que les bilans de fièvre prolongée, de cytopénies auto-immunes ou non, d'adénopathies, de syndrome d'activation macrophagique (SAM)...

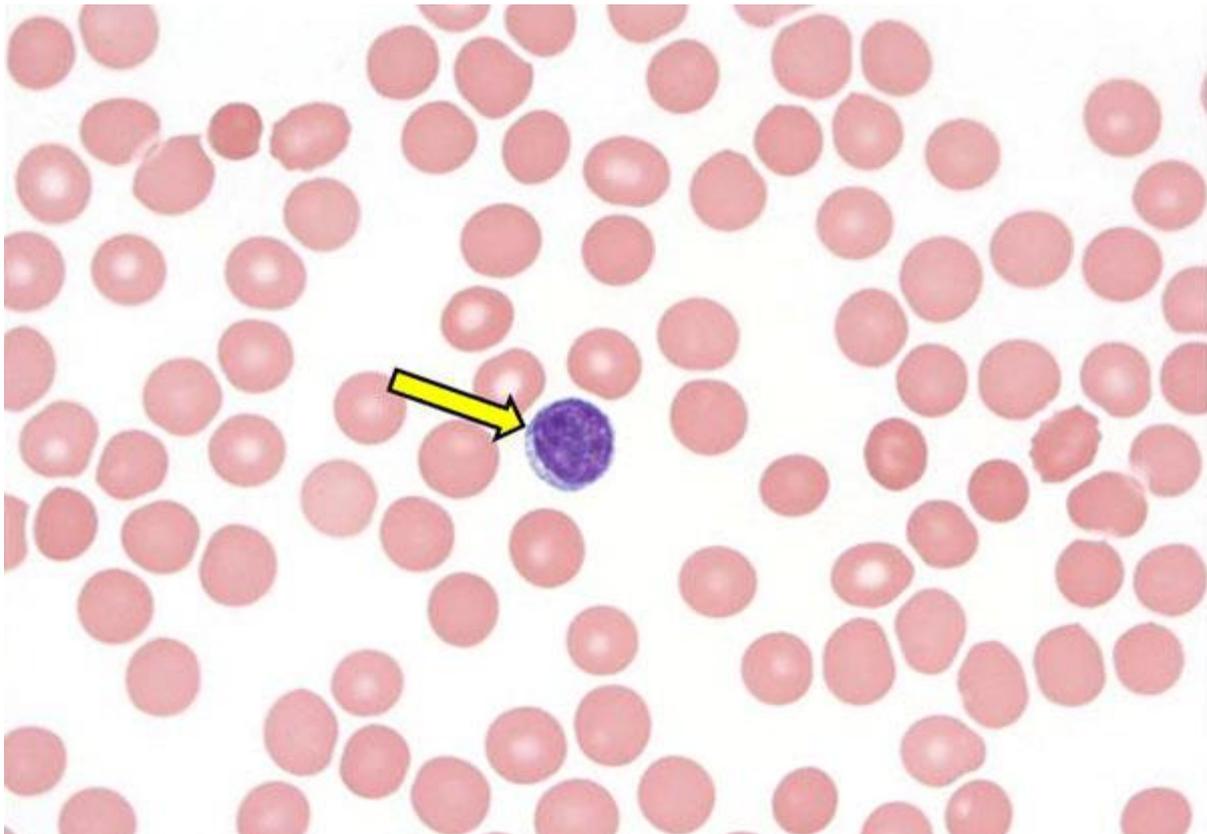
Du fait du coût lié à l'immunophénotypage (Biologistes, techniciens, réactifs, machines) et des examens qui en découlent (TDM PET, TDM, BOM), nous avons voulu explorer ses motifs de prescriptions et sa rentabilité dans notre service et permettre de déduire, le cas échéant, de nouvelles recommandations au niveau local (Nouvelle feuille de renseignement ?)

Généralités

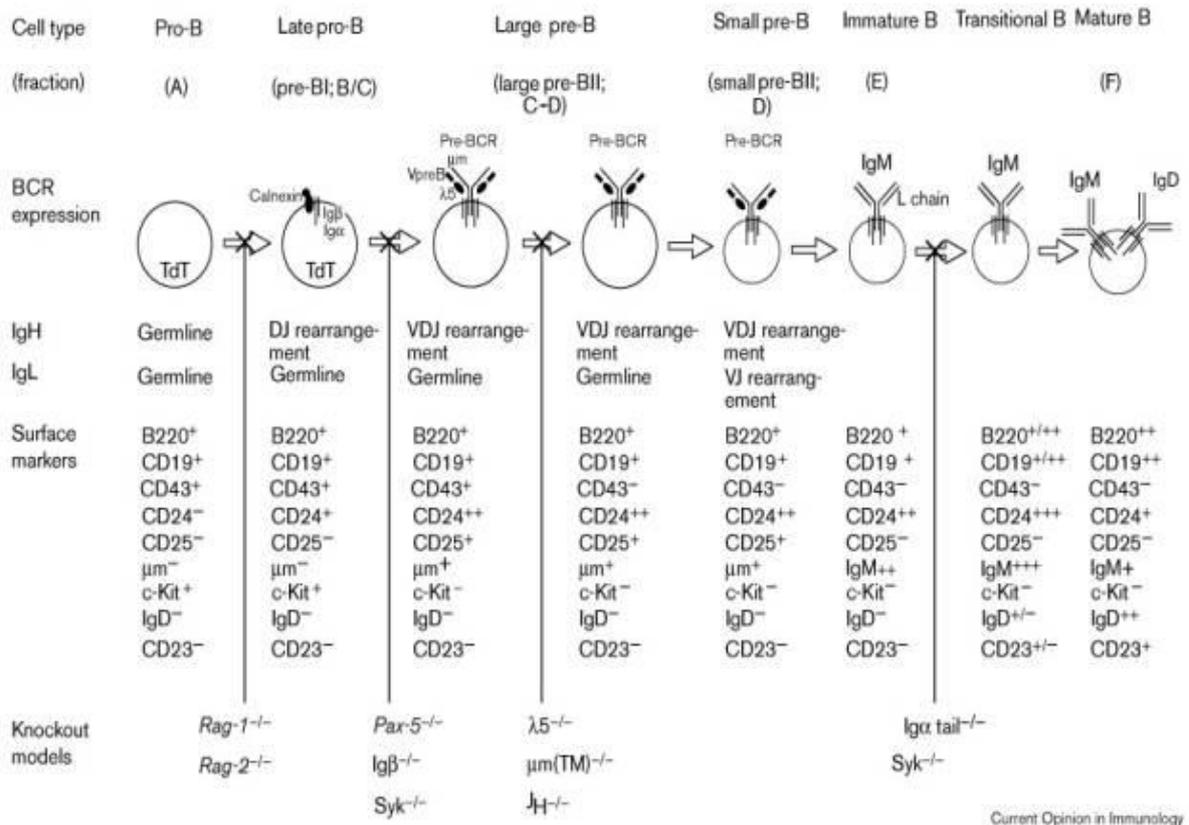
1) Les lymphocytes :

A) Les lymphocytes : Morphologie et marqueurs.

Le lymphocyte est une cellule dérivant de la cellule souche lymphoïde, elle-même dérivant des cellules souches hématopoïétiques. Le lymphocyte est une cellule d'une taille comprise entre 9µm et 15µm de diamètre, avec des variations de la morphologie cellulaire (Ronde ou quadrangulaire, cytoplasme plus ou moins granuleux) et de son noyau (Taille pouvant varier de 50% à 90% de la surface cellulaire) en fonction de son état d'activation immunitaireⁱⁱⁱ



Malgré les éléments caractéristiques morphologiques « visuels », la multiplicité des types lymphocytaires se caractérise mieux par le typage de ses molécules de surface par des anticorps, l'immunophénotypage.



Current Opinion in Immunology

Exemple des marqueurs cellulaires B : Changement des marqueurs de surface au cours de la différenciation de la cellule B à l'état physiologique. Les marqueurs de surface des lymphocytes sont fonction du type lymphocytaire et de son stade de maturation.

La connaissance de ces marqueurs présente également un intérêt pour les traitements. Par exemple, le traitement par RITUXIMAB (anticorps monoclonal) cible l'antigène CD20 et permet une élimination des lymphocytes B notamment lors des lymphomes.

B) Les lymphocytes : différenciation et localisation.

Le précurseur médullaire souche lymphocytaire peut se différencier en lymphocytes B, lymphocyte T et cellule NK principalement.

Né dans la moelle osseuse, le lymphocyte non-NK va subir une maturation centrale qui lui permettra d'obtenir une spécificité contre un antigène précis avant même de le rencontrer, c'est à dire un Lymphocyte Naïf mais spécifique.

Cette maturation centrale comporte une étape de création de récepteurs spécifiques qui ne sera pas détaillée ici. En revanche 2 informations paraissent importantes à être soulignées :

- La génération de la diversité des récepteurs spécifiques à de futurs antigènes est faite par réarrangement de gènes préexistant dont la combinaison donne lieu à un grand nombre de récepteurs différents associés à des mutations aléatoires (Hypermutations somatiques) dont les conséquences peuvent être la transformation maligne.
- En résulte pour un lymphocyte donné un gène unique codant pour le récepteur BCR ou TCR commun à toutes les cellules découlant de ce lymphocyte. On parle alors de « Clône » lymphocytaire la population entière de cellule possédant ce gène précisément réarrangé.

Une fois que les lymphocytes sont produits par la moelle (et après une étape de maturation par le thymus dans le cas des lymphocytes T) ils sont dits « naïfs » doivent rencontrer leur antigène spécifique.

Du fait de la multiplicité des sites infectieux, à tout moment de la vie, le système lymphoïde permet de les drainer en permanence et les organes lymphoïdes secondaires (Rate, Nœuds lymphatiques) permettent au mieux les interactions des lymphocytes avec leur antigène. Ce système lymphoïde est en communication avec le sang et les lymphocytes sont présents physiologiquement dans le sang (Normes habituelles pour un adulte : 1500/mm³ à 4500/mm³).

Les lymphocytes sont attirés par ces organes du fait d'un système de « homing » permettant aux cellules de se diriger grâce à des récepteurs reconnaissant les molécules sécrétées par ces organes lymphoïdes. Ce système d'Homing repose sur des intégrines qui sont impliquées dans la physiopathologie de certaines maladies.^{iv}

C) Types et fonctions lymphocytaires :

Les lymphocytes sont des cellules actrices de l'immunité acquise et innée (notamment les NK)

L'immunité permet de se prémunir des affections liées au non soi, qui comportent les agents extérieurs infectieux de tous types, les modifications pathologiques du soi lors des transformations cancéreuses. Le coût de cette immunité est la potentielle survenue de maladies auto-immunes et de cancer des cellules lymphocytaires (Lymphomes et leucémies)

Les fonctions lymphocytaires qui servent l'immunité sont multiples^v :

a) *Production d'anticorps.*

Un anticorps est une protéine complexe produite par les lymphocytes B et les plasmocytes en dérivant, qui possède la particularité de se fixer de manière spécifique et affine à une molécule désignée comme antigène. La fixation de l'antigène par l'anticorps est appelée complexe immun. Au sein du lymphocyte, l'anticorps est enchâssé à la membrane et a une fonction de récepteur. Le plasmocyte a un rôle de production en grande quantité et de sécrétion dans la circulation sanguine.

Cette production d'anticorps permet :

- De détruire des cellules sur lesquelles les anticorps sont fixés, notamment par l'intermédiaire du complément et des NK.
- De faciliter la phagocytose des éléments fixés par ses anticorps par le mécanisme de l'opsonisation.

b) *Production de cytokines et recrutements cellulaires.*

Les cellules lymphocytaires peuvent sécréter des molécules informatives multiples ayant pour rôle l'organisation de la réponse immunitaire. Les lymphocytes T CD4+ (ou « helper ») sont de puissants producteurs de ces molécules.

Ces cytokines (Littéralement : « Qui fait bouger les cellules ») peuvent entre autres :

- Avoir des effets métaboliques : Induction du catabolisme protéique, mobilisation des réserves énergétiques.
- Avoir un effet pyrogène, c'est-à-dire induire la fièvre.
- Avoir un effet inflammatoire avec amplification de la réaction immunitaire, ou bien anti-inflammatoire pour réguler cette réponse.
- Avoir un effet de recrutement des cellules associées à la défense immunitaire : Polynucléaires neutrophiles, monocytes/ macrophages mais aussi polynucléaires éosinophiles, cellules des tissus conjonctifs.

c) *Présentation d'antigènes*

Les antigènes digérés par l'intermédiaire de la phagocytose ou de l'internalisation par le BCR peuvent ensuite être présentés à d'autres cellules lymphocytaires T helper ce qui peut amplifier l'action inflammatoire et stimuler la réaction immunitaire. Cette présentation d'antigène est à l'origine d'une coopération entre lymphocytes B et T.

d) *Cytotoxicité.*

Les lymphocytes T CD8 et les NK peuvent détruire des cellules infectées par un virus ou cancéreuse par modifications des conditions de présentations de leurs antigènes internes par les molécules de CMH. Nous n'en détaillerons pas les mécanismes.

D) Activation lymphocytaire B :

Parce que le lymphome est d'origine B dans la grande majorité des cas (90%) et que sa survenue peut être en lien avec sa physiologie immunitaire, j'expose ici les principes de l'activation lymphocytaire B.

Après que le lymphocyte B ait rencontré l'antigène cible, il va maturer dans un ganglion et former dans le follicule un centre germinatif, endroit où les enjeux sont à la fois de créer une **réponse immune spécifique et efficace** contre l'antigène.

L'intérêt du centre germinatif est de faire cohabiter les lymphocytes B et les lymphocytes T ayant la même spécificité antigénique et la cellule dendritique folliculaire permettant la présentation des antigènes au lymphocyte B (voir schéma)

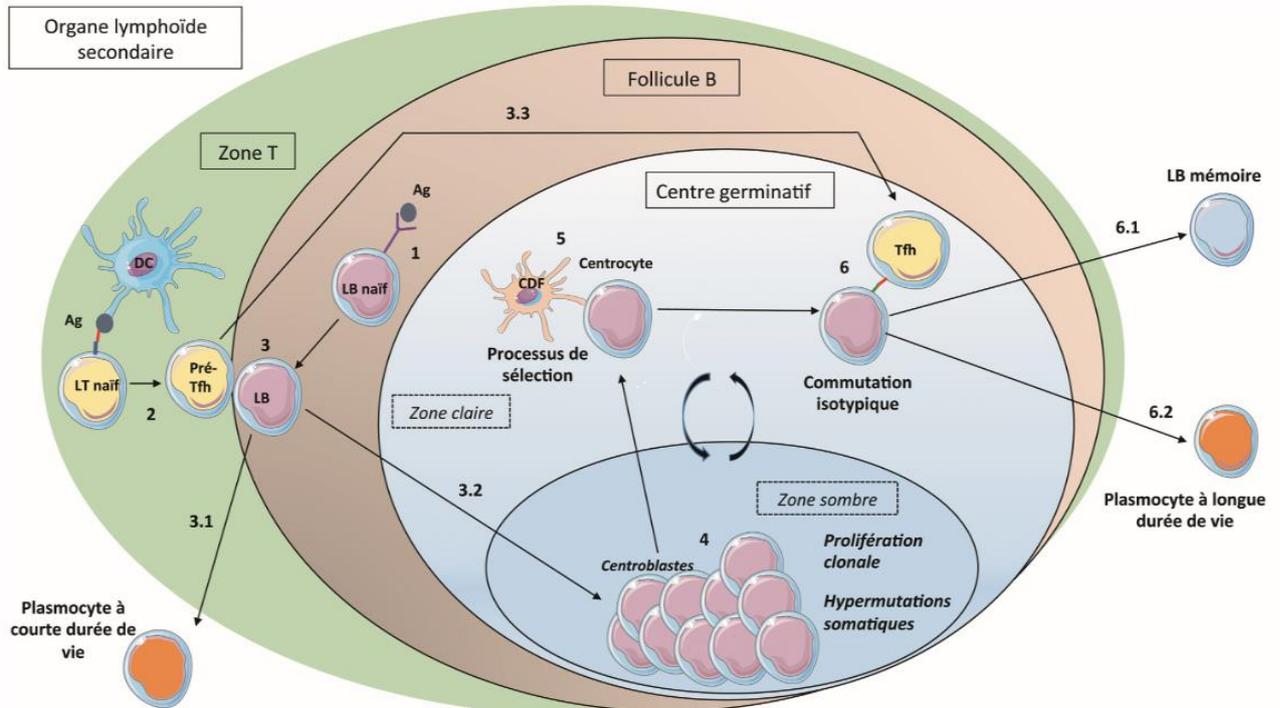


Schéma du centre germinatif^{vi}. Le lymphocyte B ayant rencontré son antigène spécifique va entrer dans une phase de prolifération importante puis de mutation de son ADN pour créer de multiples variations de récepteurs BCR de manière aléatoire qui seront ensuite sélectionnés.

- ➔ En cas de mutation avantageuse permettant une meilleure affinité de son récepteur pour l'antigène (présent en quantité limitée), le lymphocyte va continuer son expansion grâce à l'action du lymphocyte T et va pouvoir se différencier en plasmocyte, cellule sécrétrice d'anticorps ou en cellule B mémoire, permettant une réaction beaucoup plus rapide lors de l'apparition ultérieure de l'antigène.
- ➔ En cas de mutation désavantageuse, les lymphocytes B vont mourir par apoptose puisqu'incapable de présenter au lymphocyte T helper l'antigène qu'il n'a pas su internaliser.

Ce mécanisme très important pour l'efficacité de l'immunité comporte 2 risques majeurs et explique leur survenue :

- La reconnaissance accidentelle d'un antigène du soi après mutation et une expansion stimulée par le lymphocyte T, créant alors une auto-immunité. Les réactions auto-immunes sont d'ailleurs connues pour être développées préférentiellement après une infection ou aggravées par la survenue d'une infection. On peut citer parmi les manifestations post-infectieuses, les thrombopénies immunologiques, les anémies-hémolytiques auto-immunes, le syndrome de Guillain Barré, les thyroïdites auto-immunes...
- La prolifération et les mutations de l'ADN peuvent créer des anomalies de régulation de prolifération des lymphocytes et être responsable d'une transformation maligne lymphomateuse. Les lymphomes eux aussi peuvent être liés à la stimulation

antigénique chronique dans le cadre de certaines maladies avec persistance d'un auto-antigène (Infections virales chroniques, Maladie Coeliaque, Syndrome de Sjogren...)^{vii}

À la suite de cette étape a lieu la commutation des classes d'immunoglobulines passant de IgM/IgD à une IgG, IgA ou IgE. Les transformations lymphomateuses situées chronologiquement avant la commutation de classe d'immunoglobuline, cela explique l'association préférentielle des lymphomes à des IgM plutôt qu'à d'autres types et la recherche d'un syndrome tumoral ganglionnaire^{viii}

De plus, la différenciation en plasmocyte se faisant après commutation explique que les myélomes, pathologies tumorales plasmocytaires, portent des Immunoglobulines non-IgM dans la très grande majorité des cas.

Bien qu'une réponse contre un organisme extérieur soit polyclonale, c'est à dire dirigée contre plusieurs antigènes d'un même organisme pathogène, chaque lymphocyte ne possède qu'un seul anticorps, expliquant la « monoclonalité » de pathologies tumorales touchant la cellule lymphocytaire ou son évolution plasmocytaire. Le caractère tumoral d'une clonalité est suspectée par la prédominance ou l'expansion démesurée de la cellule clonale.

2) Les Lymphomes :

Le lymphome est une maladie tumorale maligne intéressant les cellules lymphocytaires. Il peut survenir sur des terrains génétiques favorisant avec notamment des susceptibilités familiales et/ou être causé par des facteurs environnementaux (Infectieux, exposition aux radiations et aux solvants organiques, iatrogène)^{ix}. Mais la majorité des cas de lymphome ce jour sont sans cause identifiée (Sporadiques).

Comme les autres pathologies malignes le lymphome peut engager le pronostic vital des patients, et la relative disparité des signes cliniques peut conduire à un important délai diagnostic.

A) Manifestations cliniques : Conséquences de la transformation des lymphocytes.

a) *Production d'anticorps :*

L'anticorps monoclonal du lymphocyte tumoral peut en lui-même être observé dans le sang ou être responsable de signes cliniques.

Une électrophorèse des protéines sanguines pourra alors voir une protéine monoclonale spécifique être augmentée et « dominer » le profil électrophorétique et être responsable d'un « pic monoclonal ». Pour les raisons expliquées ci-dessus, une IgM est plus évocatrice encore du diagnostic de lymphome.

Le caractère aberrant de certaines protéines monoclonales peut quelquefois être responsable manifestations cliniques. C'est le cas des Cryoglobulines de type 1 et 2 dont le contingent monoclonal peut précipiter au froid et être responsable de lésions de vascularite, de neuropathies anti-MAG...^x

b) *Production de cytokines et recrutements cellulaires.*

L'hypersécrétion cytokinique non régulée peut être responsable :

- D'effets métaboliques : Cachexie, participant à l'altération de l'état général.
- D'une fièvre prolongée et de sueurs avec notamment un caractère nocturne.
- D'effet inflammatoire pouvant créer un syndrome inflammatoire biologique, ou à l'extrême créer un syndrome d'activation macrophagique.
- D'un recrutement de cellules : Une hyper-éosinophilie sanguine peut être évocatrice. Une hyperlymphocytose dont la cause peut être cytokinique par recrutement lymphocytaire mais également une composante lymphomateuse/leucémique circulante.

En pratique clinique on ne dose les cytokines que pour des situations très spécifiques (par exemple lymphome cérébral et dosage cérébrospinal^{xi}) et on apprécie plutôt les conséquences clinico-biologiques de ces sécrétions.

c) *Présentation d'antigènes*

Elle pourrait participer à l'auto-immunité induite par les lymphomes et il existe des exemples d'hypothèses physiopathologiques notamment dans l'association entre LLC et anémie hémolytique auto-immune^{xii xiii},

d) *Cytotoxicité.*

La cytotoxicité d'organe induite par le lymphome contre un tissu a été peu observée dans la littérature, la plupart des publications faisant plutôt référence à la cytotoxicité du système

immunitaire physiologique dirigée contre le lymphome comme contre toute autre tumeur maligne.

e) Prolifération et syndrome tumoral :

La prolifération cellulaire excessive dans les lymphomes peut envahir les organes notamment les organes lymphoïdes (ganglions et rate) vers lesquels les lymphocytes sont attirés par le système de « homing ». La plupart des organes peuvent être également infiltrés par la masse tissulaire, ajoutant un caractère protéiforme à la symptomatologie clinique.

Cette prolifération peut aussi survenir dans la moelle, responsable d'une insuffisance médullaire aiguë, chronique, ou d'une sous-représentation des autres types lymphocytaires plasmocytaires, mécanisme invoqué pour expliquer la lymphopénie ou l'hypogammaglobulinémie associées aux lymphomes.

L'évaluation de cette prolifération peut être clinique mais nécessite un bilan par imagerie notamment TDM et TEP-TDM permettant de découvrir ou/et de classifier la maladie.

L'exploration de la moelle peut se faire par myélogramme lors des envahissements médullaire franc mais c'est la biopsie ostéomédullaire qui permet d'obtenir une histologie diagnostique.

B) Classification des lymphomes

Bien que les lymphomes dérivent tous de la même lignée, il existe de multiples entités qui sont définies par :

- L'aspect anatomopathologique standard.
- L'immunophénotypage lymphocytaire sur biopsie, donnant des informations par leurs marqueurs de surface.
- La biologie moléculaire.

Ces différents éléments sont associés à des pronostics et des traitements différents, et donc participent à la meilleure caractérisation de la maladie.

Classiquement les lymphomes malins ont été divisés en 2 grands types :

- Les lymphomes de Hodgkin caractérisés par la cellule de Reed-Sternberg, lymphocyte avec un phénotype de sécrétion cytokinique, où la majorité de la masse tumorale est composée de cellules accessoires non tumorales recrutées par les lymphocytes malins.
- Les lymphomes non hodgkiniens, ne présentant pas les caractéristiques des maladies de Hodgkin, classifiés selon leur phénotype Aggressif ou Indolent.

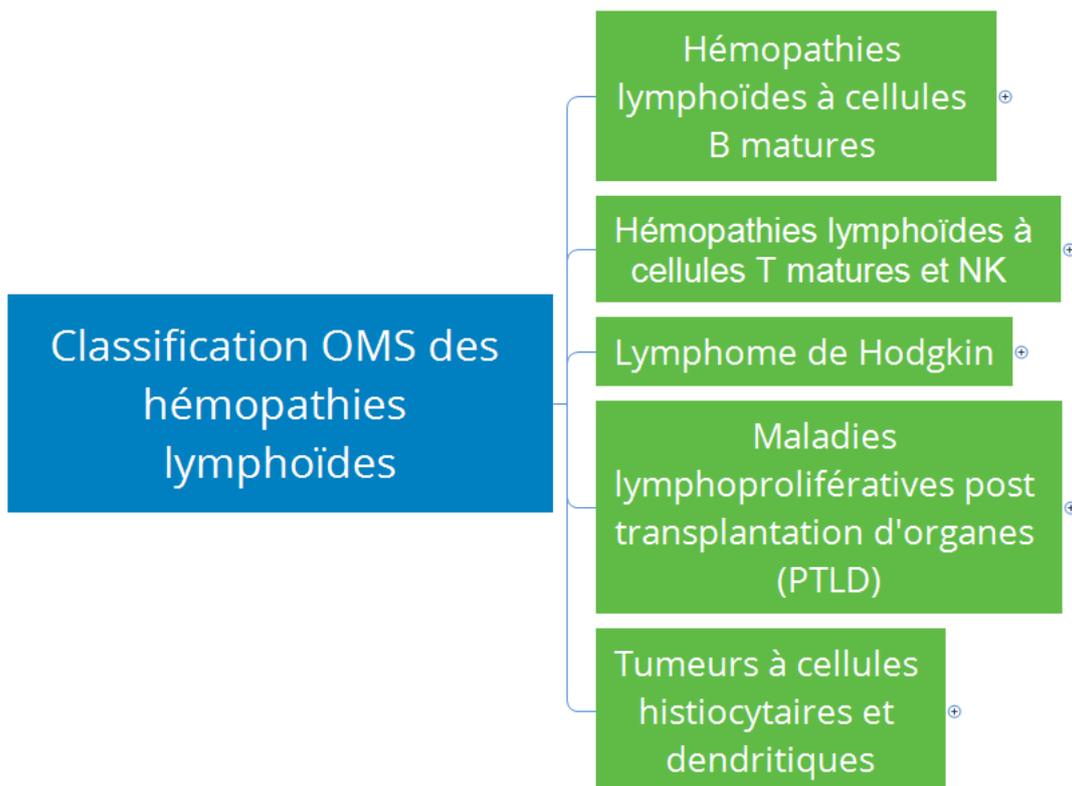


Schéma provenant du site « Lymphoma-care.fr », d'après ^{xiv}

La classification OMS 2016 des hémopathies est beaucoup plus complexe détaillant les différents types de lymphomes B matures, lymphomes T, Lymphomes de Hodgkin et lymphoproliférations liées à l'immunosuppression (voir schéma) la classification OMS comportant une multitude de différents lymphomes sur des arguments anatomopathologiques

et d'immunophénotypage.

C) Epidémiologie des lymphomes selon type :

Type de Lymphome	Cas en 2018 (22133)	Proportion par rapport aux cas totaux.
Lymphomes B diffus à grandes cellules.	5071	22,9%
LLC/Lymphome Lymphocytaire.	4674	21,1%
Lymphomes folliculaires.	3066	13,9%
Lymphomes de la zone marginale.	2790	12,6%
Lymphomes de Hodgkin.	2127	9,6%
Lymphomes Lymphoplasmocytaires.	1317	6,0%
Leucémie Aiguë Lymphoblastiques.	900	4,1%
Lymphomes du manteau.	887	4,0%
Lymphomes T/NK	777	3,5%
Leucémies à tricholeucocytes.	304	1,4%
Lymphomes de Burkitt.	220	1,0%

Incidence estimée des différents types de lymphome en France métropolitaine en 2018
d'après ^{xv}

D) Cas particulier de la Leucémie Lymphoïde chronique :

La leucémie Lymphoïde chronique est un type particulier de Lymphome, fréquent, et dont le pronostic peut être relativement bon (>10ans d'espérance de vie au diagnostic sans traitement) ce d'autant qu'il survient le plus souvent chez des patients âgés qui décèderont d'une autre cause.

Le terme « Leucémie » (Leuco “blanc” et émie “sang”) correspond à un contingent sanguin important, se manifestant par une hyperlymphocytose, un syndrome tumoral, et le diagnostic repose sur l'immunophénotypage sans nécessité d'autres examens pour le diagnostic positif. L'hyperlymphocytose chronique correspond une indication établie pour la réalisation d'un immunophénotypage des lymphocytes circulants en partie du fait de ce lymphome.

Le Score de MATUTES composé de 5 items correspondant à des éléments de l'immunophénotypage lymphocytaire et est détaillé dans la section consacrée.

Les complications classiques de la LLC sont l'envahissement médullaire, la transformation en lymphome de haut grade, une immunodépression prédisposant aux infections et des manifestations auto-immunes. Ces dernières peuvent être une atteinte d'organe mais également de manière fréquente des cytopénies auto-immunes.

3) Immunophénotypage des lymphocytes circulants :

A) Description de l'examen

L'immunophénotypage des lymphocytes circulants est un examen des lymphocytes du sang réalisés par un cytomètre de flux.

La cytométrie en flux est, comme son nom l'indique, une technique permettant la mesure des cellules (cytométrie) emportées par une gaine de liquide (flux). Chaque cellule d'un liquide biologique, ici le sang, passe de manière successive, traversée par un laser.

La cytométrie de flux est une analyse multiparamétrique, elle permet, d'une part, la détermination de 2 caractéristiques « morphologiques » :

- Le "Forward scatter" (FSC) mesure la taille de la cellule.
- Le "Side scatter" (SSC) permet l'étude de la granulosité de la cellule, sa composition intra-cellulaire.

Ces 2 paramètres permettent d'identifier les principaux types cellulaires par leurs caractéristiques physiques : Monocytes, polynucléaires, lymphocytes.

D'autre part elle permet l'analyse de paramètres de fluorescence grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux couplés à des fluorochromes et dirigés contre des antigènes membranaires ou intra cellulaires.

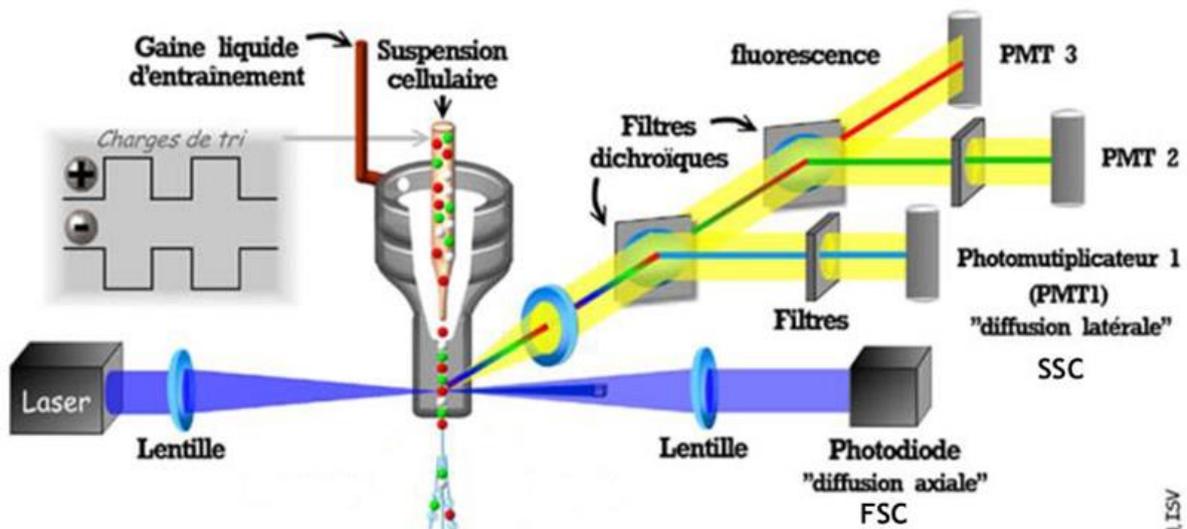


Schéma d'un cytomètre de flux.

Les cellules en suspension passent une à une devant un faisceau laser selon le principe de focalisation hydrodynamique, puis les signaux émis sont captés grâce à un système de filtres et miroirs par des photomultiplicateurs. Ils sont alors transformés en événements représentés sur des graphiques ou histogrammes, des statistiques peuvent être effectuées sur les populations cellulaires étudiées.

L'immunophénotypage lymphocytaire permet ainsi l'étude de l'ensemble de la population lymphocytaire : T, B, NK et permet de mettre en évidence des anomalies quantitatives et qualitatives, notamment la clonalité des lymphocytes B par l'étude des chaînes légères des immunoglobulines membranaires Kappa et Lambda.

Quelquefois, la clonalité ne peut être établie par l'immunophénotypage seul, et le recours à des techniques complémentaires peut être nécessaire si l'on suspecte une population monoclonale.

L'étude moléculaire du réarrangement monomorphe du gène à l'origine du récepteur BCR ou TCR d'une population lymphocytaire peut affirmer le caractère monoclonal d'une population dans ce cas (Etude du Locus Ig ou TCR)

B) Diagnostic de la LLC, indication établie :

La LLC est une prolifération monoclonale de petits lymphocytes matures dans le sang. Elle se manifeste biologiquement par une hyperlymphocytose supérieure à 5 Giga/L, dont le caractère clonal ne peut s'établir sur une NFS simple.

L'immunophénotypage des lymphocytes circulants permet de mettre en évidence la clonalité des lymphocytes B et de faire le diagnostic de LLC définie par le score de Matutes basé sur l'étude des marqueurs de surface suivant :

Tableau 6.
Score de Matutes.

Marqueurs	Points	
	0	1
Intensité des Ig de surface	Modérée/Forte	Faible
CD5	-	+
CD23	-	+
FMC7	+	Faible/-
CD22 ou CD79b	+	Faible/-

CD : cluster de différenciation ; Ig : immunoglobuline.

(EMC 2016 : Immunophénotypage des hémopathies malignes par cytométrie en flux)

Classiquement un score de Matutes égal à 4 ou 5 permet d'affirmer le diagnostic de LLC.

Un score inférieur peut être en lien avec des « LLC atypiques » ou d'autres syndromes lymphoprolifératifs. Un score inférieur à 3/5 exclut une LLC.

Par exemple, un lymphome du manteau se caractérise par l'absence d'expression du CD23 et la présence du CD79b ce qui permet de le distinguer de la LLC^{xvi}

C) Interprétation d'un clone lymphocytaire circulant :

A l'instar de la MGUS, témoin d'un clone plasmocytaire mais en l'absence de maladie déclarée, un clone circulant peut être retrouvé en l'absence de pathologie.

Quand le clone correspond à un phénotype « LLC » c'est-à-dire répondant aux critères du score de MATUTES (75% des cas) mais sans hyperlymphocytose, elle est nommée MBL et est divisée en HC (High count) si la valeur de lymphocytes monoclonaux $> 0.5\text{g/L}$ et LC (low count) si la valeur de lymphocytes monoclonaux est $< 0.5\text{G/L}$.

Une évolution possible en LLC est chiffrée à entre 1 et 2% par an pour les HC, et correspond à un état « Pré-LLC » en l'absence de manifestation clinique.

Tous les cas de LLC étant hypothétiquement précédés d'une phase « sans hyperleucocytose », et que la présence d'une monoclonalité de signification indéterminée est au moins 10 fois supérieure aux LLC, il existe beaucoup d'état pré-leucémique non évolutif, et potentiellement des monoclonalités qui ne sont pas associées aux manifestations cliniques actuelles du patient et ne seront jamais associées à des manifestations futures. Une revue donne les diagnostics différentiels et leurs caractéristiques immunophénotypiques, qui correspondent dans la majorité des cas à des maladies avec évolution indolente.^{xvii}

Il y a peu de données sur l'évolution à long terme de ces patients avec monoclonalité sans pathologie caractérisée et il n'y a pas de recommandation établie sur la surveillance des patients porteurs d'un clone hors LLC.

Méthode :

1) Population d'étude :

A) Critères d'inclusion :

Il s'agit d'une étude rétrospective sur les patients ayant eu une analyse par Immunophénotypage des lymphocytes circulants dans le service de médecine interne du CHU de Rouen entre le 1er Aout 2017 et le 31 aout 2018, soit une période de 13 mois.

La recherche des cas a été réalisée par le système informatique BioCare à la recherche des immunophénotypages des lymphocytes circulants associés aux unités 5104, 5105, 5124, 5122, 8130 soit les unités d'hospitalisation de médecine interne, d'hôpital de jour et de consultation de médecine interne. Les informations cliniques concernant les cas ont été recueillis par le logiciel CDP2.

L'immunophénotypage immunologique pour recherche de déficit immunitaire n'a pas été inclus.

B) Critères d'exclusion :

Les patients présentant une hyperlymphocytose ont été exclus, puisque l'indication de l'examen sur ces patients est établie.

Ont été exclus les patients ayant une exploration lymphocytaire dans le cadre de la surveillance d'un traitement par Rituximab sans volonté diagnostique ou des immunophénotypages réalisés pour recherche d'un clone HPN de manière isolée.

Les doublons de prescription ont également été exclus.

C) Données recueillies :

a) *Données cliniques :*

- Le ou les motifs de l'examen après parcours du dossier médical informatisé.
- Age et sexe
- Antécédent de clone ou d'hémopathie.
- Présence d'adénopathies.
- Le diagnostic final après la prise en charge hospitalière.
- AEG quand elle était décrite dans l'anamnèse (Perte de poids).
- Eventuelles maladies associées notamment auto-immune.
- Présence d'adénopathies « à priori » justifiant l'analyse, les types d'aires atteintes et le nombre d'aires ganglionnaires atteintes finalement au cours de l'exploration.

b) *Données biologiques :*

- Hyperéosinophilie ($> 500/\text{mm}^3$)
- Lymphocytémie (Lymphopénie < 1500 ou Hyperlymphocytose > 4500).
- Protéine monoclonale (EPP, Immunofixation, Cryoglobulinémie type 1 ou 2).
- Hypogammaglobulinémie ($< 8\text{g/L}$) sur l'électrophorèse des protides.
- Thrombopénie, anémie (Et informations quant à la cause).
- La conclusion de l'immunophénotypage médullaire et la conclusion du myélogramme ont été recueillis quand ils étaient réalisés

- Réarrangement IgH et TCR quand il a réalisé pour compléter l'étude de la monoclonalité.

2) Définition des termes :

- 1) Par le terme « **clone positif** » ont été décrits tous les patients dont l'immunophénotypage des lymphocytes circulants montrait soit une atypie soit une monoclonalité avérée d'emblée. Les autres patients étaient considérés comme « clone négatif ».
- 2) Par le terme « **Malade** » nous avons considéré les patients qui présentaient finalement un diagnostic de lymphome posé dans l'histoire du patient. Les patients porteurs d'un myélome n'ont pas été entrés dans cette définition car ils ne rentrent pas dans le même cadre nosologique et d'exploration diagnostique. Tous les autres patients ont été décrits comme « sains ».
- 3) La « **Concordance** » a été définie comme la présence d'un clone circulant sanguin de même nature (B ou T) que le lymphome présenté par les malades. Ainsi les patients ayant un clone T circulants mais un diagnostic de lymphome B étaient décrits comme ayant un clone circulant « Non concordant » avec la maladie.

3) Analyse statistique :

Les comparaisons de proportion pour les variables qualitatives ont été réalisées avec le test exact de Fisher, le nombre restreint de cas sous l'hypothèse nulle presque toujours inférieur à 5 dans l'un des groupes de comparaison, le test du Khi2 ne pouvait pas être utilisé.

Le seuil de différence significative alpha a été fixé à 5%.

Comme autre critère de significativité, l'intervalle de confiance 95% ne doit pas comprendre la valeur « 1 ».

Pour les variables quantitatives le Test de Student a été utilisé.

Les proportions ont été données avec 1 chiffre après la virgule.

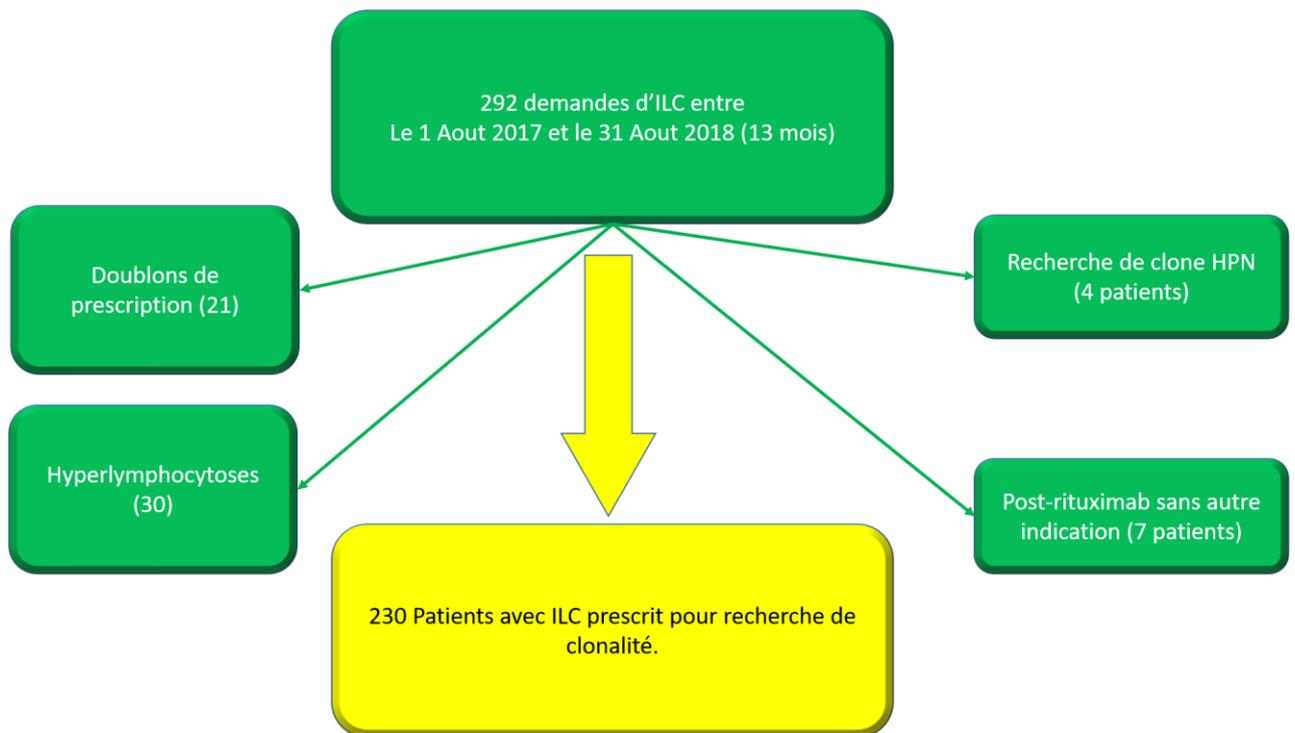
Résultats :

1) Nombre de patients inclus

Au total, 260 patients ont été inclus dans l'étude.

Parmi ces 260 patients 30 présentaient une hyperlymphocytose, la population d'intérêt de l'étude comportant donc 230 patients.

La suite des résultats ne portera que sur les patients ne présentant pas d'hyperlymphocytose.



La moyenne d'âge des patients était de 60.8ans.

Le sexe ratio H/F est de 0.96

78 de ces patients correspondaient à des patients de consultation, 33 patients à des patients vus en HDJ, soit finalement 119 patients en hospitalisation conventionnelle dans les différents services (51.7%).

2) Analyse des caractéristiques de la population totale de l'étude :

A) Caractéristiques de l'ensemble de la population.

<i>Population totale de l'étude</i>	Nombre	Proportions (%)
Antécédent hémopathie	9	3,9%
Antécédent de clone	5	2,2%
Fièvre	19	8,3%
Adénopathies	43	18,7%
Thrombopénie	44	19,1%
Hyperéosinophilie	21	9,1%
Lymphopénie	66	28,7%
Lymphocytose	0	0%
Hypogammaglobulinémie	26	11,3%
Protéine monoclonale	31	13,5%
Splénomégalie	16	7%
AEG	34	14,8%
Anémie	70	30,4%
Femmes	117	50,9%
Hommes	113	49,1%
Clone sanguin ou évocateur.	30	13%
Hémopathie lymphoïde.	19	8,3%
Clone sanguin + Hémopathie	11	4,8%
Clone + hémopathie avec concordance	8	3,5%
Individus sans hémopathies	211	91,7%
Hémopathie avec clone négatif	8	3,5%
Clone positif sans hémopathie	19	8,3%
Moyenne d'âge	60,8	

Sur l'ensemble de la population :

- Il y avait 19 patients avec une hémopathie lymphoïdes dont 8 sans clone circulant.
- 30 patients avec une clone circulant dont 19 n'avaient pas d'hémopathie.
- 11 patients avec une hémopathie lymphoïdes et un clone et parmi eux 8 avait un clone du même type que leur maladie, un clone B dans 100% des cas.

B) Paramètres du test sur l'ensemble des patients de l'étude :

Les paramètres du test si l'on considère tous les clones concordants ou non :

Sensibilité 57.9%

Spécificité : 91%

VPP : 36.8%

VPN : 95.9%

Si l'on prend seulement les clones concordants comme étant « positifs » pour ce test.

Sensibilité = 42,1% de sensibilité.

Spécificité = 91% de spécificité.

VPP = 29,6%

VPN = 94,6%

C) Analyse des sous-groupes d'unité de médecine interne.

a) *Caractéristiques des populations Ambulatoire/Populations totale et unité à orientation hématologique :*

Tous les services	Nombre (230)	Proportion
Hospitalisation conventionnelle	119	51,7%
Consultation et HDJ	111	48,3%
Clones positifs Consult/HDJ	10	9%
Clones positifs Hospitalisation	20	16,8%
Hémopathies Consultation/HDJ	1	0,9%
Hémopathie hospitalisation	18	15,1%

Unité 5105	Nombre (54)	Proportion
5105 + Clone	13	24,1%
5105 + Hémopathie	11	20,4%
5105 + Clone + hémopathie	9	16,7%
5105 + Clone + hémopathie concordante	7	13%

Hospitalisation conventionnelle	Nombre (119)	Proportion
Hospitalisation + clone	20	16,8%
Hospitalisation + malade	18	15,1%
Hospitalisation + Malade + clone	11	9,2%
Hospitalisation + Malade + clone concordant	8	6,7%

1) Presque la moitié des patients correspondent à des patients de consultation ou d'HDJ. Seulement 1 patient parmi eux avait finalement une hémopathie lymphoïde (0.9%) et 10 patients (9%) avaient un clone.

Le seul malade de consultation avait un clone sanguin négatif.

2) Pour les différentes unités d'hospitalisation (119 patients) :

La fréquence de la maladie et de la présence d'un clone étaient plus importantes :

- 20 clones soit 16.8%
- 18 malades pour 119 soit 15.1%
- 11 patients avec clone et maladie soit 9.2%
- Les 8 patients avec clones concordants étaient en hospitalisation.

3) Les fréquences de présence d'un clone en cas de réalisation de l'examen sont différentes dans chaque service avec :

→ Pour les clones :

Fréquence la plus élevée au 5105 avec 11 malades pour 54 patients soit 24,1%.
La plus faible en hôpital de jour (3% clone) et en consultation 11,5%.

→ Pour les hémopathies :

Faible fréquence en consultation (1 patient soit 1.3%) et HDJ (Aucun patient).
La plus forte avec 11 patients (20,4% des patients) en unité 5105 (représente 50% des lits d'hospitalisation).

b) Paramètres du test dans l'unité 5105.

Unité 5105 : 54 patients.	Nombre	Proportions (%)
Antécédent hémopathie	6	11,1%
Antécédent de clone	0	0,0%
Fièvre	7	13,0%
Adénopathies	12	22,2%
Thrombopénie	5	9,3%
Hyperéosinophilie	4	7,4%
Lymphopénie	20	37,0%
Lymphocytose	0	0,0%
Hypogammaglobulinémie	6	11,1%
Protéine monoclonale	7	13,0%
Splénomégalie	6	11,1%
AEG	12	22,2%
Anémie	30	55,6%
Femmes	26	48,1%
Hommes	28	51,9%
Clone sanguin ou évocateur.	13	24,1%
Hémopathie lymphoïde.	11	20,4%
Clone sanguin + Hémopathie	9	16,7%
Clone + hémopathie avec concordance	7	13,0%
Individus sans hémopathies	43	79,6%
Hémopathie avec clone négatif	2	3,7%
Clone positif sans hémopathie	4	7,4%
Clone - et sain	39	72%
Moyenne d'âge	69,74	

L'unité 5105 est l'unité où ont été diagnostiquées les hémopathies avec clone concordant dans 7/8 cas et 11 des 19 hémopathies de l'étude viennent de ce service.

Les paramètres du test si l'on considère les clones concordants ou non :

Sensibilité : 81.8%
Spécificité : 90,7%
VPP du test : 69.2%
VPN du test : 95.1%

Si l'on prend seulement les clones concordants comme étant « positifs » pour ce test :

Sensibilité : 63,6%
Spécificité : 90.7%
VPP : 63.6%
VPN : 90.7%

Ces chiffres correspondent à l'unité pour laquelle la prévalence de l'hémopathie lymphoïde était la plus forte et pour laquelle les chiffres de sensibilité et spécificité concernant la recherche de clones étaient les plus élevés.

c) Paramètre du test pour hospitalisation conventionnelle :

Hospitalisation conventionnelle	Nombre.	Proportion
Total	119	100,0%
Hospitalisation + malade	18	15,1%
Hospitalisation + clone	20	16,8%
Hospitalisation + Malade + clone	11	9,2%
Hospitalisation + Malade + clone concordant	8	6,7%
Clone sans hémopathie.	9	7,6%
Hémopathie sans clone.	7	5,9%
Pas de clone chez les sains.	92	77,3%

L'hospitalisation dite conventionnelle regroupe les différentes unités (5104, 5105, 5122).

Les paramètres du test si l'on considère les clones concordants ou non :

Sensibilité : 61.1%

Spécificité : 91,1%

VPP : 55.0%

VPN : 92.9%

Si l'on prend seulement les clones concordants comme étant « positifs » pour ce test :

Sensibilité 44.4%

Spécificité 91,1%

VPP = 47.1%

VPN = 90.2%

3) Analyse des caractéristiques des malades de l'étude :

A) Caractéristiques des malades de l'étude.

<i>Caractéristiques des Malades</i>	19	
Nombre d'hémopathie sans clone	8	42,1%
Nombre d'hémopathie avec clones positifs	11	57,9%
Concordance parmi hémopathies	8	42,1%
Antécédent hémopathie	3	15,8%
Antécédent de clone	0	0%
Fièvre	1	5,3%
Adénopathies	10	52,6%
Thrombopénie	7	36,8%
Hyperéosinophilie	0	0%
Lymphopénie	6	31,6%
Lymphocytose	0	0%
Hypogammaglobulinémie	3	15,8%
Protéine monoclonale	2	10,5%
Splénomégalie	2	10,5%
AEG	5	26,3%
Anémie	12	63,2%
Femmes	11	57,9%
Hommes	8	42,1%
Nombre de clone sanguin.	11	57,9%
Nombre de malades	19	100%
Concordance avec clone.	8	42,1%
Concordance + clone T	0	0%
Concordance + clone B	8	100%

B) Type d'hémopathie parmi les malades de l'étude

Types d'hémopathie :	Nombre	Pourcentage	Clone Positif	Clone Concordant
LBDGC	7	36,8%	3	2
Lymphome Hodgkin	2	10,5%	0	0
Lymphome folliculaire	1	5,3%	0	
Lymphome Lymphocytaire	1	5,3%	1	1
Leucémie à Tricholeucocytes	1	5,3%	1	1
Leucémie aiguë lymphoblastique	1	5,3%	1	1
Autre lymphome B	4	21,1%	4	3
Autre lymphome T	2	10,5%	1	0
Somme	19	%	11	8

Parmi les 19 patients qui avaient une hémopathie, 11 avaient un immunophénotypage pouvant évoquer une monoclonalité (58%). Finalement, le clone concordait avec la maladie dans 8 cas seulement (42%), un tableau des caractéristiques des hémopathies avec clone concordant a été réalisé pour étudier les critères discriminants qui pourraient faire comprendre chez quels patients utiliser le test.

C) Nombre de critères présents parmi les malades :

Les critères analysés étaient :

- Lors de l'analyse sans NFS (8) : Antécédent hémopathie, Antécédent de clone, Fièvre, Adénopathies, Hypogammaglobulinémie, Protéine monoclonale, Splénomégalie, AEG.
- Avec NFS, les éléments suivants (4) étaient également pris en compte : Thrombopénie, Hyperéosinophilie, Lymphopénie, Anémie.

Critères Avec NFS	19	
Malade avec 0 critère	0	
Malade avec 1 critères	3	15,8%
Malade avec 2 critères	9	47,4%
Malade avec 3 critères	0	0%
Malade avec 4 critères	5	26,3%
Malade avec 5 critères	2	10,5%
Critères sans NFS		
Malade avec 0 critères	3	15,8%
Malade avec 1 critère	8	42,1%
Malade avec 2 critères	6	31,6%
Malade avec 3 critères	2	10,5%
Malade avec 4 critères	0	0%
Malade avec 5 critères	0	0%

En prenant en compte la NFS aucun malade ne possédait 0 critères.

Si l'on ne prenait pas en compte la NFS, 3 patients (16%) possédaient 0 critère.

Il n'y a pas de corrélation linéaire entre nombre de critères et hémopathie même s'il y avait une différence très significative du nombre de critères entre malades et non malades.

D) Délai de réalisation de la biopsie chez les malades :

	Tous	Clone	Clone T	Clone B	Non Clone.	p (Comparaison B/sans clone)	intervalle 95%
Patients biopsiés	14	6	2	4	8		
Délai moyen de la biopsie (Jours)	44,21	83,6	231,5	9,75	14,625	0.51	[-21.2; 11.4]

En comparant les populations ayant eu une histologie (Par BOM ou par biopsie d'une adénopathie/syndrome tumoral) au nombre de 14 :

- Seulement 2 avaient des clones T circulant avec des délais beaucoup plus longs d'obtention de la réalisation de l'examen permettant d'obtenir l'histologie (363 jours et 100 jours). Puisque de plus ils ne correspondaient pas à l'hémopathie au final, nous avons décidé de ne pas les comparer avec le délai moyen en l'absence de clone.
- 8 n'avaient pas de clone circulant et le délai de l'obtention de l'examen permettant d'obtenir l'histologie était en moyenne de 14.6 jours
- Pour les 4 clones B le délai de réalisation moyen était de 9.75 jours.

Il n'y avait pas de différence significative entre les délais d'obtention de l'histologie entre présence de clone B ou absence de clone.

Parmi les 5 patients n'ayant pas eu de biopsies :

- Tous avaient un clone circulant.
- 2 patients avaient un antécédent de maladie hématologique (Leucémie à Tricholeucocytes et Lymphome Non Typé) et dont l'immunophénotypage sanguin a confirmé la récurrence.
- 1 patient présentait un clone T circulant et est décédé d'une CIVD avant tout examen histologique et cette CIVD a été attribuée à cette maladie.
- 1 patient non hyperleucocytaire avait une lymphocytose monoclonale MATUTES 4/5 et présentait une suspicion de transformation en syndrome de Richter.
- 1 patient présentait une leucémie aiguë lymphoblastique pour laquelle le myélogramme fait le même jour a fait le diagnostic.

Pour les 11 patients biopsiés pour laquelle l'information était disponible, les délais entre la réalisation de la biopsie et la signature définitive du compte rendu anapath sont variables :

Délais entre biopsie et signature définitive

	Jours
Moyenne de délai	32,7
Minimum	7
Maximum	113

4) Comparaison entre Malades et sains

A) Comparaison des caractéristiques entre malade et sains

	Malade	%	Sains	%	p	Intervalle 95%
Antécédent hémopathie	3	15,8%	6	2,8%	0.033	[0.889 ; 31.046]
Antécédent de clone	0	0%	5	2,4%	NC	NA
Fièvre	1	5,3%	18	8,5%	NC	[0.0136 ; 4.2494]
Adénopathies	10	52,6%	33	15,6%	< 0.0005	[1.9963 ; 17.904]
Thrombopénie	7	36,8%	37	17,5%	0.06	[0.85 ; 8.1331]
Hyperéosinophilie	0	0%	21	10%	0.23	NA
Lymphopénie	6	31,6%	60	28,4%	0.79	[0.3453 ; 3.4604]
Lymphocytose	0	0%	0	0%		
Hypogamma	3	15,8%	23	10,9%	0.46	[0.2657 ; 5.9604]
Pic monoclonal	2	10,5%	29	13,7%	NC	[0.0788 ; 3.3867]
Splénomégalie	2	10,5%	14	6,6%	0.63	[0.1686 ; 8.194]
AEG	5	26,3%	29	13,7%	0.17	[0.5845 ; 7.2104]
Anémie	12	63,2%	57	27%	< 0.003	[1.5772 ; 14.5051]
Femmes	11	57,9%	106	50,2%	0.63	[0.2461 ; 2.0988]
Homme	8	42,1%	105	49,8%	0.63	[0.2461 ; 2.0988]
Clone sanguin.	11	57,9%	19	9%	<0.000002	[4.3896 ; 44.2963]

NC : Non calculable.

Les populations « Malades » et « Sains » étaient significativement différentes sur 3 points, les 3 plus importantes en proportion chez les malades.

- La présence d'adénopathies.
- La présence d'une anémie
- La présence d'un clone sanguin

Pour le critère « antécédent d'hémopathie », l'indice p est significatif mais l'intervalle de confiance comprenant la valeur « 1 » il n'est pas possible de conclure à la significativité.

B) Comparaison du nombre de critères pour indication de l'examen :

Les critères analysés étaient :

- Lors de l'analyse sans NFS : Antécédent hémopathie, Antécédent de clone, Fièvre, Adénopathies, Hypogammaglobulinémie, Protéine monoclonale, Splénomégalie, AEG.

- Avec NFS, les éléments suivants étaient également pris en compte : Thrombopénie, Hyperéosinophilie, Lymphopénie, Anémie.

<i>Comparaison du nombre de critères Malades/sains</i>	Malades	Sains	p
Nombre de cas.	19	211	
Nombre moyen de critères hémopathie	2,63	1,55	0.0019
Moyenne critères sans NFS hémopathie	1,32	0,73	0.0065

Il y a une différence significative du nombre global de critères entre les malades et les sains, et cela que l'on prenne en compte la NFS ou non.

C) Analyse des caractéristiques significativement différentes entre malades et sains

a) *Adénopathies :*

i) Critère « Adénopathie » au moment du dosage (« A priori »)

<i>Adénopathies « à priori »</i>	Nombre (43)	Proportions (%)
Antécédent hémopathie	1	2,3%
Antécédent de clone	1	2,3%
Fièvre	2	4,7%
Thrombopénie	3	7,0%
Hyperéosinophilie	2	4,7%
Lymphopénie	16	37,2%
Hypogammaglobulinémie	4	9,3%
Protéine monoclonale	4	9,3%
Splénomégalie	4	9,3%
AEG	9	20,9%
Anémie	12	27,9%
Femmes	17	39,5%
Hommes	26	60,5%
Clone sanguin ou évocateur.	6	14%
Hémopathie lymphoïde.	10	23,3%
Clone sanguin + Hémopathie	2	4,7%
Clone + hémopathie avec concordance	1	2,3%
Individus sans hémopathies	33	76,7%
Hémopathie avec clone négatif	8	18,6%
Clone positif sans hémopathie	4	9,3%
Moyenne d'âge	59,7	

La majorité des patients avec adénopathies à priori n'avaient pas de maladie hématologique. Un seul patient avait un clone concordant parmi les patients avec adénopathie.

ii) Nombre d'aires ganglionnaires au cours de l'exploration.

Comparaison du nombre d'aires ganglionnaires entre malades et sains

Nombre d'aires Ganglionnaires	Malades (19)	Sains (211)	p	Intervalle 95%
0	7	179	< 0.00002	[0.0326 ; 0.317]
1	0	20	0.39	NA
2 et plus	12	12	< 0.00001	[8.29 ; 99.41]

Il n'existe pas « d'effet dose » caractérisable selon le nombre d'adénopathie bien que la présence d'adénopathie soit associée aux hémopathies.

Un nombre d'aires ganglionnaires égal à 2 ou 3 était plus significativement associé à une hémopathie mais pas à 4 ou à 5. Les malades n'avaient pas d'adénopathie unique.

iii) Localisation des aires ganglionnaires au cours de l'exploration.

Localisation des adénopathies	12 Malades	32 Sains	p	Intervalle 95%
Cervical/sus claviculaire	6	9	0.28	[0.5175 ; 12.37]
Médiastinale	9	18	0.32	[0.4541 ; 15.63]
Inguinale	3	6	0.69	[0.1918 ; 8.59]
Axillaire	5	4	0.087	[0.8 ; 31.46]
Intraabdominale	8	12	0.102	[0.6874 ; 18.06]

Entre les malades et les sains, aucune localisation ganglionnaire spécifique n'était significativement différente.

b) Anémie :

i) Caractéristiques des patients ayant une anémie.

Anémies	Nombre	Proportions (%)
Antécédent hémopathie	5	7,1%
Antécédent de clone	2	2,9%
Fièvre	5	7,1%
Adénopathies	12	17,1%
Thrombopénie	22	31,4%
Hyperéosinophilie	3	4,3%
Lymphopénie	24	34,3%
Lymphocytose	0	0%
Hypogammaglobulinémie	11	15,7%
Protéine monoclonale	14	20,0%
Splénomégalie	8	11,4%
AEG	14	20%
Anémie	70	100%
Femmes	41	58,6%
Hommes	29	41,4%
Clone sanguin ou évocateur.	18	25,7%
Hémopathie lymphoïde.	12	17,1%
Clone sanguin + Hémopathie	9	12,9%
Clone + hémopathie avec concordance	8	11,4%
Individus sans hémopathies	58	82,9%
Hémopathie avec clone négatif	3	4,3%
Clone positif sans hémopathie	9	12,9%
Moyenne d'âge	72,49	

ii) Comparaison sains/malades parmi les patients anémiés.

Types d'anémie	Malades (12)	%	Sains (58)	%	Tous (70)	%	p	Intervalle 95%
Inflammatoire	4	33,3%	14	20%	18	25,7%	0.49	[0.298 ; 6.98]
Inconnue	2	16,7%	11	15,7%	13	18,6%	NA	[0.0802 ; 4.95]
Centrale	4	33,3%	6	8,6%	10	14,3%	0.061	[0.7146 ; 22.9]
Mixte	0	0%	1	1,4%	1	1,4%	NA	NA
Carentielle	0	0%	3	4,3%	3	4,3%	NA	NA
SAM	1	8,3%	3	4,3%	4	5,7%	0.54	[0.029 ; 22.90]
AHAI	1	8,3%	6	8,6%	7	10,0%	NA	[0.0157 ; 7.62]
Thalassémie	0	0%	1	1,4%	1	1,4%	NA	NA
Toxique	0	0%	1	1,4%	1	1,4%	NA	NA
Carence martiale	0	0%	2	2,9%	2	2,9%	NA	NA
Insuffisance rénale	0	0%	2	2,9%	2	2,9%	NA	NA
Hémorragie	0	0%	4	5,7%	4	5,7%	NA	NA
Hémolyse non immune	0	0%	2	2,9%	2	2,9%	NA	NA
Absence	0	0%	2	2,9%	2	2,9%	NA	NA
Somme	12		58		70			

Il n'existe pas de différence significative entre les patients avec hémopathies et sans hémopathie concernant le type d'anémie, notamment pour les anémies hémolytiques auto-immunes et l'anémie centrale.

5) Comparaison « clone positifs » et « clone négatifs » :

<i>Comparaison clone +/-</i>	Clone (30)	%	Non clone (200)	%	p	Intervalle 95%
Antécédent hémopathie	4	13.3%	5	2,5%	0.019	[1.103 ; 29.51]
Antécédent de clone	4	13,3%	1	0,5%	0.0011	[2.80 ; 1499.9]
Fièvre	1	3,3%	18	9%	0.48	[0.0081 ; 2.39]
Adénopathies	6	20%	37	18,5%	0.80	[0.34 ; 3.02]
Thrombopénie	11	36,7%	33	16,5%	0.013	[1.14 ; 7.17]
Hyperéosinophilie	1	3,3%	20	10%	0.33	[0.0072 ; 2.10]
Lymphopénie	8	26,7%	58	29%	NC	[0.32 ; 2.22]
Lymphocytose	0	0%	0	0%		
Hypogamma	5	16,7%	21	10,5%	0.35	[0.45 ; 5.21]
Pic monoclonal	7	20%	24	12%	0.14	[0.72 ; 6.11]
Splénomégalie	4	13,3%	12	6%	0.14	[0.52 ; 8.71]
AEG	7	23,3%	27	13,5%	0.17	[0.64 ; 5.28]
Anémie	17	56,7%	52	26%	0.0012	[1.57 ; 8.90]
Femmes	12	40%	105	52,5%	0.24	[0.25 ; 1.40]
Homme	18	60%	95	47,5%	0.24	[0.25 ; 1.40]

La thrombopénie avait une proportion plus importante dans le groupe avec clone, comme l'anémie et l'antécédent d'hémopathie.

La présence d'une lymphopénie n'est pas significativement différente entre le groupe clone et non clone.

Il n'y avait pas de différence significative concernant la présence d'une protéine monoclonale.

Parmi les clones, le nombre de lymphocytes le plus bas retrouvé était de 230/mm³.

Le taux le plus bas avec hémopathie + clone concordant était de 460/mm³.

Types de clones.

Clones (30)	Nombre	Proportion
Monoclonalité affirmée d'emblée (Lymphocytes B)	14	46,7%
Clone T	11	36,7%
Clone B	19	63,3%

6) Hémopathies avec clone concordant

Les hémopathies avec clone concordant étaient des Hémopathies B avec un clone B circulant. Dans tous les cas de malade avec une hémopathie type « T » il n'y avait pas de clone circulant.

Hémopathie concordante	Nombre (8)	Proportions (%)
Antécédent hémopathie	3	37,5%
Antécédent de clone	0	0%
Fièvre	1	12,5%
Adénopathies	1	12,5%
Thrombopénie	5	62,5%
Hyperéosinophilie	0	0%
Lymphopénie	2	25%
Lymphocytose	0	0%
Hypogammaglobulinémie	1	12,5%
Protéine monoclonale	1	12,5%
Splénomégalie	1	12,5%
AEG	2	25%
Anémie	8	100%
Femmes	6	75%
Hommes	2	25%
Anémie et Thrombopénie	5	62,5%

L'anémie était constante et la thrombopénie l'accompagnait dans 62.5% des cas. Il n'y avait qu'un seul patient avec adénopathies.

7) Examens médullaires :

Tableau des examens malades et porteurs de clone avec examen médullaire.

Un examen médullaire « **informatif** » a été défini comme un myélogramme donnant au moins les mêmes données que l'examen sanguin.

	Malades (19)	Clones (30)	Malade + clone (11)	Malade + concordance (8)
Examens médullaires avec phénotypage	4	9	4	3
Phénotypage médullaire informatif	4	8	4	3
Myélogramme (avec ou sans phénotypage)	10	17	9	7

Parmi les patients ayant eu un examen médullaire (Myélogramme +/- immunophénotypage médullaire) :

- ➔ Pour les patients avec un clone, dans la grande majorité des cas (8/9 patients) l'immunophénotypage médullaire quand il était réalisé était autant informatif sur la clonalité que le phénotypage sanguin.
- ➔ Pour les malades, l'immunophénotypage médullaire donnait dans tous les cas (4/4) au moins la même information que le phénotypage sanguin.
- ➔ Chez les patients avec clone concordant, l'examen médullaire a été réalisé dans 7 cas parmi 8. L'exploration médullaire chez ces malades étaient :
 - A précédé l'ILC d'1 jour pour un patient.
 - A été réalisée le même jour pour 1 patient.
 - A été réalisée après l'ILC pour 5 patients (1jour, 4 jours, 4jours, 6jours et 31 jours plus tard).

8) Analyse des caractéristiques des patients avec protéines monoclonales

<i>Protéine monoclonale</i>	Nombre (31)	Proportions (%)
Antécédent hémopathie	2	6,5%
Antécédent de clone	2	6,5%
Fièvre	1	3,2%
Adénopathies	4	12,9%
Thrombopénie	5	16,1%
Hyperéosinophilie	2	6,5%
Lymphopénie	7	22,6%
Lymphocytose	0	0%
Hypogammaglobulinémie	4	12,9%
Protéine monoclonale	31	100%
Splénomégalie	2	6,5%
AEG	4	12,9%
Anémie	14	45,2%
Femmes	14	45,2%
Hommes	17	54,8%
Clone sanguin ou évocateur.	7	22,6%
Hémopathie lymphoïde.	2	6,5%
Clone sanguin + Hémopathie	2	6,5%
Clone + hémopathie avec concordance	1	3,2%
Individus sans hémopathies	29	93,5%
Hémopathie avec clone négatif	0	0%
Clone positif sans hémopathie	5	16,1%
Moyenne d'âge	71,58	

Il y avait présence de 7 clones et seulement 2 hémopathies parmi 31 patients avec protéine monoclonale.

Les 2 patients avec protéines monoclonales avaient des IgM.

Chez les patients sains, il s'agissait de 13 patients avec IgM, 10 avec IgG et 3 avec une IgA. Parmi les patients avec une IgM, seulement 2/15 étaient donc malades 13,3%. Ces 2 malades avaient un clone dont un clone T. Leurs âges étaient de 63 et 75ans.

La proportion de gammopathie monoclonale chez les malades était de 2/19 (10,5%) et chez les non malades de 29/211 (13,7%)

Il y avait 5 cryoglobulines (16%) dont 1 associée à une hémopathie (3,2%) qui était associée à un clone T circulant.

9) Anémies hémolytiques auto-immunes :

14 patients de cette étude avaient été explorés dans un contexte d'AHAI, d'agglutinine froide ou d'antécédent de ce type

Nombre de patients avec Antécédent hémopathie	1	7%
Nombre avec antécédent de clone	0	0%
Nombre de patients avec fièvre	0	0%
Nombre de patients avec adénopathies	0	0%
Nombre de patients avec thrombopénie	2	14%
Nombre de patients avec hyperéosinophilie	0	0%
Nombre de patients avec Lymphopénie	4	29%
Nombre de patients avec Lymphocytose	0	0%
Nombre de patients avec hypogamma	3	21%
Nombre de patients avec Pic monoclonal	3	21%
Nombre de patients avec Splénomégalie	3	21%
Nombre de patients avec AEG	1	7%
Nombre de patients avec anémie	10	71%
Nombre de femmes	5	36%
Nombre de d'homme	9	64%
Nombre de clone sanguin.	3	21%
Nombre d'hémopathie.	1	7%
Nombre de Clone sanguin + Hémopathie	1	7%
Nombre d'hémopathie avec clone négatif	0	0%
Hémopathies + Adénopathies + Clone	0	0%
Coombs disponible	12	
Coombs IgG	8	67%
Coombs Complément seul	4	33%
Clone parmi coombs IgG	0	0%
Clone parmi coombs Complément seul	3	25%
IgM K sanguine + Coombs complément seul	1	8%
IgM L sanguine + Coombs complément seul	1	8%
IgM sanguine + Coombs complément seul	2	17%

Une patiente avait un lymphome B de bas grade (Coombs complément sans IgG)

Une patiente avait une lymphocytose monoclonale MATUTES 5/5 sans maladie (coombs complément sans IgG). Elle n'a pas eu d'examen médullaire.

Un patient avait un clone sans hémopathie (Coombs complément sans IgG).

Le patient avec antécédent de lymphome n'avait ni clone ni hémopathie lymphoïde.

Aucun patient n'avait d'adénopathies au cours de l'exploration.

10) Situations de médecine interne ou antécédent de maladies de système :

<i>Maladie ou présentation systémique.</i>	Nombre (42)	Proportions (%)
Antécédent hémopathie	2	4,8%
Antécédent de clone	2	4,8%
Fièvre	1	2,4%
Adénopathies	5	11,9%
Thrombopénie	2	4,8%
Hyperéosinophilie	1	2,4%
Lymphopénie	11	26,2%
Lymphocytose	0	0,0%
Hypogammaglobulinémie	3	7,1%
Protéine monoclonale	7	16,7%
Splénomégalie	2	4,8%
AEG	9	21,4%
Anémie	15	35,7%
Femmes	23	54,8%
Hommes	19	45,2%
Clone sanguin ou évocateur.	6	14,3%
Hémopathie lymphoïde.	2	4,8%
Clone sanguin + Hémopathie	2	4,8%
Clone + hémopathie avec concordance	0	0,0%
Individus sans hémopathies	40	95,2%
Hémopathie avec clone négatif	0	0,0%
Clone positif sans hémopathie	4	9,5%
Moyenne d'âge	62,3	

<i>Clones et hémopathies pour chaque type de maladie ou présentation systémique.</i>	Nombre	Avec clone	Hémopathie	C+
Polyarthrite rhumatoïde	4	4	2	0
Sjögren.	10	2	1	0
Arthralgies	5	0	0	0
Lupus	5	1	0	0
Purpura vasculaire.	2	0	0	0
Sclérodermie	2	1	0	0
Myosite	1	0	0	0
Amylose	2	0	0	0
Vascularite à ANCA	3	0	0	0
Maladie de Still	2	0	0	0
PPR	1	0	0	0
Sarcoïdose	2	0	0	0
Hémophilie acquise	2	0	0	0
Autres	4	0	0	0

<i>Proportions malades et clones chez les patients Sjogren.</i>	Nombre	Proportion
Nombre de patients Sjogren.	10	100%
Sjogren et au moins 1 autre critère	6	60%
Sjogren sans autre critères	4	40%
Hémopathie dans les Sjögren sans critères	0	0%
Hémopathie dans les Sjogren et au moins 1 autre critère	1	10%
Clone dans les Sjögren sans critères	0	0%
Clone dans les Sjogren et au moins 1 autre critère	2	20%

<i>Proportions malades et clones chez les patients PR</i>	Nombre	Proportion
Polyarthrite Rhumatoïde	4	
Polyarthrite rhumatoïde et clone	4	100%
Polyarthrite rhumatoïde et clone T réarrangé	2	50%
PR et au moins 1 autre critère	4	100%
PR sans autre critères	0	0%
Polyarthrite rhumatoïde et hémopathie	1	25%

Parmi les patients avec présentation rhumatologique/maladie de médecine interne.

- La maladie la plus explorée par immunophénotypage était le syndrome de Sjögren.
- 2 seulement avaient une hémopathie lymphoïde (Un patient avec PR + Sjögren et un autre avec Polyarthrite Rhumatoïde).
- Dans aucun cas il y avait une hémopathie avec clone concordant.
- Les autres maladies ou présentations n'étaient pas associées à des hémopathies.

DISCUSSION :

1) Indications du test et critères :

La principale indication formelle de la réalisation de l'immunophénotypage des lymphocytes circulants est l'hyperlymphocytose prolongée pour le diagnostic des leucémies lymphoïdes chroniques ainsi que d'autres hémopathies hyperleucocytaires. Dans cette indication il a une valeur diagnostique établie et il est de ce fait recommandé^{xviii}.

Dans cette étude, sur l'étude des cas pendant 13 mois, seulement 30 correspondaient à une hyperlymphocytose soit 30/260 (13%)

La demande d'immunophénotypage des lymphocytes circulants est donc très majoritairement hors de cette recommandation (87%). Elle est citée comme faisant partie des examens complémentaires à réaliser lors de l'exploration des anémies hémolytiques auto-immunes en l'absence de cause évidente infectieuse^{xix}. En dehors de ce contexte, il n'existe pas de recommandations sur leur utilisation, et sur la concordance entre positivité et hémopathie notamment.

Dans le cadre des thrombopénies, l'immunophénotypage « immunologique » des lymphocytes circulants est recommandé en cas d'anomalie des gammaglobulines en lien avec un déficit immunitaire comme le DICV, puisque qu'il y a un lien entre thrombopénie et déficit immunitaire^{xx} mais pas le phénotypage dans le cadre d'une hémopathie maligne et il n'est pas recommandé en première intention selon le PNDS PTI^{xxi}

Les critères choisis dans cette étude sont en rapport avec les manifestations des hémopathies lymphoïdes et la présence d'une différence significative de ces critères entre les malades et les non malades confirme la pertinence d'au moins certains de ces critères, avec ou sans prise en compte des anomalies NFS.

L'analyse des critères « avec » et « sans NFS » a été réalisée du fait de la relative non-spécificité des anomalies de la NFS dans l'intention de voir le poids de données plus spécifiques notamment la protéines monoclonale, l'hypogammaglobulinémie, l'antécédent d'hémopathie.

La plupart des critères choisis n'ont pas été discriminants par eux même.

L'altération de l'état général ou la fièvre sont des signes, bien qu'évocateurs de lymphome, ne présentent pas de spécificité. De plus ces éléments n'ont pas été quantifiés (Perte de poids chiffrée, la température, la durée d'évolution). Ces éléments sont difficiles à obtenir car marqués de manière non systématiques et une part est liée aux informations déclarées par le patient. Les autres éléments n'ont pas été significativement différents entre malades et sains dans cette étude.

Les renseignements cliniques ne sont remplis que dans une minorité des cas (Information donnée par le laboratoire, pas de chiffres). La fiche de renseignement clinique demandée comporte des évidences de clonalité (Pic monoclonal ?) et des symptômes liés aux hémopathies (Splénomégalie, syndrome tumoral, AEG...) qui sont tous recensés par cette étude. Ces éléments retrouvés à posteriori dans les dossiers ne rendent pas nécessairement compte des véritables raisons qui ont poussé à la réalisation de l'examen et notamment de la temporalité quand les arguments apparaissent au cours de l'hospitalisation.

Le remplissage de ces renseignements cliniques pourrait être important dans la régulation des demandes, mais du fait de l'impossibilité de différer l'examen sur un échantillon donné (Cellules fraîches, nécessité de faire l'analyse rapidement) et de la gravité potentielle de méconnaître un diagnostic dans ce contexte, les analyses sont quand même réalisées en leur absence. Bien que dans la très grande majorité des cas un argument ait pu être retrouvé à posteriori pour la réalisation de l'immunophénotypage, il existe certains cas où il n'y avait aucun motif expliquant la demande.

Une étude française a antérieurement été réalisée pour connaître l'intérêt de l'immunophénotypage en médecine interne ^{xxii} dont seul l'abstract est disponible. L'étude également rétrospective fut réalisée dans le service de médecine interne de saint Antoine en 2009-2010 sur 21 mois de janvier 2009 à Septembre 2010 avait recensé 182 patients pour lesquels « l'utilité clinique » a été jugée si le traitement ou le diagnostic a été changé grâce à l'examen. L'immunophénotypage avait été élargi que pour une fraction des patients (105 cas) et la recherche de déficit immunitaire était le motif de prescription dans 61 cas, contrastant avec la présente étude basée uniquement sur la recherche d'hémopathie maligne. Dans 106 cas le motif de prescription était la recherche d'une hémopathie maligne et finalement il n'existait que 6 nouveaux diagnostics faits exclusivement par l'immunophénotypage dont un myélome, une LLC et 4 lymphomes leucémisés.

La conclusion de cette étude était une faible rentabilité de l'examen pour dépister une hémopathie maligne.

2) Données épidémiologiques :

Les données de l'étude étant recueillies sur la base de la prescription médicale, on ne peut pas en déduire des données de prévalence car il n'y a pas de certitude que le recueil de donnée soit exhaustif sur les 13 mois d'étude, les patients présentant les symptômes évocateurs (Adénopathies, hyperéosinophilie, cytopénie) n'ayant peut-être pas tous été explorés par cet examen. On ne peut pas faire de conclusion épidémiologique.

De plus, la prescription étant intuitive et non standardisée elle a pu être réalisée dans d'autres cas de la forte suspicion diagnostique, a visée « de débrouillage » lors d'une situation clinique avec plusieurs diagnostics différentiels ou même pour obtenir « un argument supplémentaire » pour exclure une hémopathie lymphoïde.

Du fait du caractère rétrospectif et de la multiplicité des critères comparés, une différence significative doit être interprétée dans ce contexte et peut également être liée aux fluctuations d'échantillonnage.

De plus, l'étude étant réalisée uniquement dans les services de médecine interne, les données de l'étude ne sont pas représentatives d'une population plus large. Près de la moitié des patients ont bénéficié de l'exploration d'un bilan réalisé en consultation ou en hôpital de jour ce qui ne correspond pas nécessairement à la réalité du recrutement de médecine interne.

Dans notre étude comme pour les estimations des types de lymphomes, le Lymphome B diffus à grandes cellules était le lymphome le plus fréquent, mais la population de notre étude était différente pour tous les autres éléments épidémiologiques.

3) Paramètres du test

Concernant les données descriptives, si l'on se permet de généraliser les résultats du test malgré le relatif faible effectif, l'apport de la recherche de clone sanguin circulant est, sur l'ensemble de la population étudiée, très médiocre, puisque les valeurs de sensibilité et de valeur prédictives positives correspondent à moins de 50% c'est-à-dire que finalement si le clone est positif, il y a plus de chances que le patient soit sain que malade et que si le patient est malade, il y a plus de chance que le test soit négatif que positif.

A l'échelle globale, ce test n'a objectivement pas d'utilité de dépistage ou de diagnostic rien que sur ces éléments.

Pour l'unité 5105, pour laquelle les valeurs autant de sensibilité et de valeur prédictive positive sont plus élevée et la spécificité plus forte que dans le reste de l'étude et que chaque unité, la sensibilité est de 81.8% ou 63.6% selon que l'on tienne compte des clones concordant avec les hémopathies ou non.

Du fait d'une VPN élevée de 95% en unité à recrutement hématologique, on pourrait attribuer une valeur « d'élimination diagnostique » à l'ILC mais le faible effectif de patients, le caractère particulier de ces hémopathies (Atteinte centrale avec cytopénies et peu d'adénopathies) et le risque de passer à côté d'un diagnostic grave cette valeur est à considérer avec parcimonie.

De plus, un résultat positif ne se substituera pas à une histologie même si on pourrait admettre sa valeur dans des cas très spécifiques discutés plus loin.

Ce test a montré de fortes disparités de rentabilité au sein des différentes unités de médecine interne.

Cela pourrait être expliqué par le fait que les critères clinico-biologiques amenant à le réaliser ne sont pas uniformes et dépendent probablement des médecins prescripteurs et de l'impression clinique générale. Les patients de consultation ou d'hôpital de jour (ambulatoires) ne sont probablement pas les mêmes que les patients d'hospitalisation. Le recrutement de l'unité 5105 plus « hématologique » peut expliquer en partie les meilleures performances du test (Meilleure caractérisation des cas, plus forte prévalence, expérience en diagnostic hématologique plus importante).

Du fait de ces disparités très importantes entre les unités et le terrain (Hospitalisés versus non hospitalisés) et du poids majeur des bilans de consultations, l'interprétation de la valeur du test est donc biaisée de manière importante.

4) Intérêts potentiels du test hors dépistage/ diagnostic en lui-même.

Hypothétiquement, l'apport d'un immunophénotypage des lymphocytes circulants dans la prise en charge d'un patient avec hémopathie serait :

- De permettre un diagnostic final plus rapide / raccourcir le délai jusqu'à l'obtention de l'histologie en fournissant des arguments supplémentaires, puisqu'un diagnostic précoce permet d'améliorer le pronostic.

L'analyse des délais de réalisation du prélèvement ne montrait pas de différence selon la positivité du clone. Pour les patients pour lesquels le diagnostic a été seulement sur l'immunophénotypage (Suspicion de récurrence d'une hémopathie existante) le délai est dans ce cas de l'ordre d'une journée.

- De permettre une prise en charge plus adaptée quand une situation mettant en jeu des diagnostics différentiels requiert des bilans multiples et larges (Recherche de tuberculose, hémocultures multiples, maladies auto-immunes...). Cependant la présence d'un clone dans 19 des 211 patients sans hémopathie (Soit 9%) et surtout l'absence de clone circulant chez 8 des 19 patients atteints de d'hémopathie lymphoïde (soit 42%) ne permet pas d'exclure un diagnostic d'hémopathie. De plus, la population des patients atteints de lymphome n'est pas exempte de diagnostics différentiels notamment infectieux.
- De permettre un diagnostic d'hémopathie malgré l'absence d'histologie et/ou de manière moins invasive (Notamment pour les sujets âgés), situation délicate car le diagnostic requiert par définition une analyse anatomopathologique du tissu. Chez les 8 patients pour lesquels il y avait une concordance entre clone circulant et maladie, 100% étaient des lymphocytes B. A part dans les situations où la maladie était antérieurement connue (3 patients dans cette étude), un clone circulant ne peut attester d'un lymphome en dehors des diagnostics de LLC.

5) Comparaison malades et non malades :

Entre malades et non malades, 3 critères étaient significativement différents.

- **L'anémie** toute cause confondue était une de ces différences. L'anémie étant une anomalie biologique fréquente et même parmi la population indemne d'hémopathie elle était présente dans un quart des cas. L'immunophénotypage n'est pas justifié par ce seul critère. Les types d'anémie ne différaient pas significativement entre les malades et les sains. Il y avait au final plus d'anémie attestée par la biologie que d'anémie en tant motif de prescription de l'immunophénotypage. Cela peut être dû en partie au fait qu'une anémie non marquée pourrait ne pas être prise en compte dans le raisonnement diagnostique (Dans le cas d'une anémie à 11,9g/dL par exemple très proche de la norme) ou que les autres manifestations cliniques suffisent à justifier l'examen et que l'anémie étant aspécifique elle ne soit pas mentionnée comme critère de choix.
- La présence d'**adénopathies** était très fortement associée à une hémopathie, mais il n'y a pas de corrélation linéaire retrouvée entre le nombre de types d'aires ganglionnaires atteintes et la fréquence des hémopathies mais l'effectif était faible. Aucun malade n'avait qu'une seule aire ganglionnaire atteinte pour 20 non malades dans ce même cas.
- Parmi ces critères figurait la **présence d'un clone sanguin**, basé sur le résultat de l'immunophénotypage. Il existe bien une association entre la présence d'un clone et la présence d'une hémopathie et cette association est très forte ($p < 2 \times 10^{-6}$). Le résultat inverse aurait d'emblée remis en question l'intérêt de l'examen. Bien que cette information ne permette pas de déterminer s'il faut réaliser l'examen, elle invite à plus considérer le diagnostic d'hémopathie quand il est positif (11 lymphomes sur les 30 clones de l'étude).

Au cours de l'étude, aucun des patients ayant eu finalement un diagnostic d'hémopathie n'avait d'antécédent de clone circulant au CHU ce qui est cohérent avec la population choisie de l'étude.

Le fait d'avoir un clone connu doit alerter sur la présence d'une potentielle hémopathie sous-

jacente et un nouveau dosage a peu d'intérêt. Il a en revanche été recherché chez 5 patients qui n'ont pas eu d'hémopathie finalement.

6) Adénopathies :

Parmi les malades il y avait toujours au moins 2 aires ganglionnaires atteintes quand il y avait des adénopathies. Aucune localisation n'était plus associée avec une hémopathie en comparaison avec les patients sains.

Les adénopathies sont un critère significativement plus présent chez les malades que les non malades mais dans cette étude la plupart des patients avec immunophénotypage concluant à un clone concordant avec la maladie n'avaient pas d'adénopathie, remettant en cause l'intérêt de la réalisation de cet examen dans cette indication. Une des hypothèses est que certaines maladies pourraient avoir un contingent leucémique plus importants et qu'en contrepartie, le syndrome tumoral tissulaire soit moins important. Il peut cependant exister un biais lié au diagnostic rapide des patients pour lesquels la recherche de syndrome tumoral a été faite seulement après diagnostic par un autre moyen.

Pour les malades biopsiés, le délai moyen du compte rendu anapath définitif était d'environ 1 mois. Ce chiffre n'est probablement pas représentatif de la réalité de la prise en charge des services, les informations diagnostiques pouvant être transmises aux cliniciens avant le compte rendu définitif et les analyses complémentaires.

7) Patients avec AHAI :

En cas d'Anémie hémolytique auto-immune sans contexte infectieux l'immunophénotypage lymphocytaire sanguine est recommandé comme déjà énoncé plus haut.

La question de la classification en tant que « malade » ou « non malade » se pose pour une patiente qui a une AHAI à anticorps froids, ce d'autant que l'âge de la patiente (91ans) est associé à une plus forte prévalence d'un clone circulant, qui évoluera peut-être vers une LLC mais dont le traitement ne changera pas fondamentalement et qui décèdera peut-être d'autre chose. Elle n'avait pas de syndrome tumoral. Dans cette étude, elle a été classée comme « non malade ».

8) Analyse des malades avec un clone concordant, examen médullaire :

C'est la population de l'étude qui pourrait permettre de justifier l'intérêt de l'examen en dépistage. Elle représente 8 cas sur l'ensemble des patients de l'étude, 7 étant issus de l'unité 5105.

Dans la majorité des cas de concordance entre clone et maladie, il n'y avait pas d'adénopathie (7/8). Le corolaire est qu'un seul patient parmi ceux qui avaient des adénopathies était atteint d'une hémopathie lymphoïde avec un clone concordant (2.3% des cas d'adénopathies). La présence d'adénopathies ne paraît pas être un critère intéressant pour la réalisation d'un immunophénotypage des lymphocytes circulants si l'on regarde ce chiffre.

Une des explications possibles est que dans les cas où l'hémopathie était suspectée avec un

examen rapide disponible pour l'attester (Diagnostic de récurrence par immunophénotypage positif dans 2 cas, pancytopenie avec examen médullaire dans 3 cas) le diagnostic était réalisé avant même que le syndrome tumoral n'ait pu être exploré.

Pour 4 patients avec concordance, le manque d'intérêt de l'examen était prévisible d'emblée :

- Un des patients présentait un lymphome lymphocytaire avec antécédent de clone type LLC sans hyperlymphocytose, et le diagnostic final était établi sans l'examen. Le diagnostic de monoclonalité étant déjà fait, la réalisation de l'examen ne semble pas pertinente même en cas d'apparition de nouveaux symptômes pouvant évoquer une évolution de la maladie. Il s'agit d'ailleurs du seul patient parmi les 8 qui n'a pas eu d'exploration médullaire.

- Trois de ces patients avaient comme indication de l'examen une pancytopenie, qui de toute façon justifiait la réalisation d'un examen médullaire avec immunophénotypage lymphocytaire en cas de représentation lymphocytaire. Dans les 3 cas l'examen médullaire donnait l'information avec un délai de 4 jours dans un cas (Lymphome à grande cellule), le jour même (Lymphome B agressif) et même un jour avant l'immunophénotypage sanguin (Leucémie aiguë lymphoblastique). Le patient avec le lymphome B à grandes cellules a bénéficié d'un premier myélogramme non concluant. La deuxième exploration médullaire par Biopsie Ostéomédullaire a permis le diagnostic.

Il ne paraît pas raisonnable de réaliser l'immunophénotypage sanguin quand un examen médullaire est indiqué d'emblée comme dans le cas de la pancytopenie et un immunophénotypage sanguin ne changera pas l'indication du myélogramme quel que soit son résultat.

Un patient a bénéficié d'un immunophénotypage des lymphocytes circulants dans le cadre d'une AHAI avec coombs CD3+, une cryoglobulinémie avec protéine monoclonale IgM Lambda. Le diagnostic a été réalisé sur une Biopsie ostéo-médullaire réalisée 4 jours après l'immunophénotypage. Dans cette situation, l'immunophénotypage des lymphocytes circulants est recommandé en l'absence de contexte infectieux évident^{xxiii} et la démarche diagnostique est globalement plus « agressive » dans le cadre des AHAI avec réalisation de la biopsie ostéo-médullaire recommandée en cas d'argument de monoclonalité.

Pour le seul patient avec hémopathie concordante avec le clone circulant qui possédait des adénopathies, la biopsie d'une adénopathie sus-claviculaire réalisée 6 jours après l'immunophénotypage a montré un lymphome B diffus à grandes cellules. L'impact de l'immunophénotypage sanguin sur le délai de réalisation de la biopsie ganglionnaire n'est pas évalué par cette étude.

Pour deux des patients de l'étude (correspondant à 22% des patients de l'étude avec antécédent d'hémopathie), le diagnostic a été posé sur le résultat de l'immunophénotypage dans un contexte de maladie ancienne considérée en rémission, avec une prise en charge directement impactée par le résultat le tout en l'absence d'adénopathie d'emblée. Un des 2 patients avait une leucémie à tricholeucocytes et l'autre une hémopathie non classée. Ces éléments peuvent permettre de proposer ce test en cas de suspicion de récurrence d'une hémopathie en rémission, indication pour le moment non recommandée. Toutefois, nous devons noter que pour ces 2

patients il existait une bicytopénie avec anémie et thrombopénie qui ont conduit à la réalisation d'une exploration médullaire qui aurait probablement également fait le diagnostic. « L'absence » d'adénopathie avant réalisation peut également être due au fait que la situation clinique pouvait se passer de cette information et que l'examen TDM rentrait plutôt dans le cadre d'une démarche de stadification de la maladie plus que de diagnostic et a pu être faite à distance.

Il y a une grande représentation de l'anémie (Les 8 patients, soit 100% des cas) et souvent associée à une thrombopénie (5 patients soit 62.5%), ce qui explique la réalisation très fréquente de l'exploration médullaire.

Avec 7 patients sur 8 patients avec concordance qui ont eu une exploration médullaire par myélogramme, on peut se poser la question de l'intérêt de la recherche de clone sanguin même sur la population pour laquelle le clone sanguin aurait été finalement le plus informatif.

9) Comparaison clone et non clone

La comparaison des populations « Clone positif » et « Clone négatif » montre une différence significative dans les critères « thrombopénie »,

Cependant, en l'absence de différence entre « Malade » et « sains » sur ce critère, cette donnée ne peut servir d'argument pour rechercher un clone dans le cadre d'une thrombopénie puisqu'elle ne signifie pas nécessairement la présence d'une maladie.

Les thrombopénies peuvent être d'origine périphérique ou centrale et l'examen médullaire reste un examen clef dans l'évaluation d'une thrombopénie. Parmi les patients avec clone et hémopathie concordante, 5 avaient une thrombopénie et 3 d'entre eux ont eu une exploration médullaire donnant également le diagnostic.

La réalisation d'un immunophénotypage affirmant une clonalité chez un patient et le diagnostic final d'hémopathie peuvent hypothétiquement être éloignée (Clone précédent la maladie), et cette étude ne bénéficie pas de beaucoup de recul.

De plus la connaissance d'un clone circulant même si elle ne doit probablement pas amener pas au contrôle itératif de ce clone, pourrait changer l'attitude diagnostique future du clinicien en cas d'apparition de symptômes nouveaux pouvant témoigner de la transformation du clone en maladie lymphoïde. Cette étude ne permet pas de confirmer cette hypothèse et cette donnée n'existe pas dans la littérature.

Un point important à préciser sur l'immunophénotypage est qu'il n'est pas possible de déduire à l'aide d'un seul immunophénotypage la clonalité de lymphocytes T, qui nécessite l'étude du réarrangement du TCR. La présence d'un réarrangement monoclonal d'un BCR peut être liée à la prolifération tumorale d'un clone mais la présence d'un clone T avec le TCR réarrangé ne présage pas nécessairement d'une pathologie clonale, et pourrait être réactionnel à une stimulation spécifique. L'analyse de la concordance entre le clone circulant et l'hémopathie finale de 42% et correspondait toujours à un clone B. Les clones T n'ont jamais été confirmés comme faisant partie de la maladie lymphomateuse des patients. Cette étude ne permet donc pas de donner d'information quant à leur interprétation, notamment du faible effectif d'hémopathie T avec clone positif. Un point important à préciser est que cette « concordance » ne se base que sur ce critère « B » et « T » même si l'évaluation des marqueurs portés par la tumeur et le contingent circulants n'ont pas été comparés pour en connaître la véritable similarité.

L'antécédent d'un clone circulant ne semble pas être une indication à un contrôle de l'immunophénotypage, puisque probablement l'immunophénotypage amènerait au même résultat, et du fait de son caractère non quantitatif ne changerait pas l'attitude principale à avoir face à un clone, c'est-à-dire de redouter l'évolution vers une hémopathie en cas de manifestations cliniques ou biologiques évocatrices.

La proportion de lymphopénie n'était pas significativement différente entre les patients porteurs d'un clone et ceux qui n'en n'avaient pas. La lymphopénie n'était pas non plus associée aux malades plutôt qu'aux patients non malades. Il semble dans cette étude que la lymphopénie n'a pas d'impact sur la décision de réaliser ou non l'immunophénotypage.

10) Protéine monoclonale sanguine :

Pour les patients ayant une protéine monoclonale sanguine, La grande majorité n'avait pas de clone sanguin circulant et pas d'hémopathie même parmi les patients avec une IgM monoclonale, la plus associée aux hémopathies lymphoïdes autres que le myélome.

Cette association est d'ailleurs ce qui recommande de réaliser un bilan de recherche d'hémopathie lymphoïde en cas d'IgM monoclonale^{xxiv}

En proportion il y avait plus de gammopathie monoclonale chez les patients sans hémopathie qu'avec même si cette différence n'était pas significative. Sur les 5 patients avec une cryoglobulinémie, 1 seul avait une hémopathie et le clone circulant n'était pas concordant. Sur ces éléments, la protéine monoclonale n'a pas montré être un bon argument pour réaliser un immunophénotypage des lymphocytes circulants dans cette étude.

11) Maladies et contexte clinique médecine interne :

Les effectifs des maladies de médecine interne sont faibles ce pourquoi nous n'avons pas réalisé d'analyse statistique.

Dans cette étude, 10 patients avaient une maladie de Sjögren avant de réaliser l'immunophénotypage, ce qui peut être en rapport avec le recrutement particulier de médecine interne mais surtout avec le fait que le lymphome est une maladie associée au Sjögren avec une incidence estimée à 5 à 10% des patients.^{xxv} Dans 4 cas sur 10, il n'y avait pas d'autre critère de l'étude que le Sjögren pour la réalisation de l'immunophénotypage.

Le patient ayant une maladie de Sjögren et une hémopathie présentait un clone circulant T avec réarrangement mais le lymphome diagnostiqué était un lymphome B.

De manière intéressante, les 3 patients avec une polyarthrite rhumatoïdes de l'étude présentaient un clone circulant, 2 clones T réarrangé et un clone B. Ils présentaient toujours au moins 1 autre critère que leur maladie. Le lymphocyte T reste impliqué dans la physiopathologie de cette maladie et notamment la présence de clone T auto-réactifs dont le caractère tumoral n'est pas établi^{xxvi}. Pour autant, le Rituximab est un traitement de choix et notamment recommandé en cas d'insuffisance d'efficacité des traitements de première ligne et pathologie lymphomateuse^{xxvii}.

Un patient porteur d'une polyarthrite rhumatoïde et d'un clone T avec réarrangement prouvé présentait finalement un lymphome mais de type B.

Nous n'avons pas dans cette étude de syndrome de Felty ni d'arguments pour une leucémie à grands lymphocytes granuleux. La leucémie à grands lymphocytes granuleux est une hémopathie lymphoïde clonale composée de lymphocytes T ou NK qui peut se présenter par des cytopénies (anémie, thrombopénie, neutropénie), une hyperlymphocytose et une splénomégalie. A noter que les manifestations auto-immunes sont associées préférentiellement aux GLG de type T. Le nombre de PR étant faible en médecine interne car suivies essentiellement en rhumatologie et en prenant en compte le fait que les syndromes de Felty et Pseudo Felty concernent moins de 1% des PR au cours de leur évolution il est attendu que cette étude ne comporte pas de cas.

12) Sur le plan économique :

Du fait de la réalisation non recommandée de l'immunophénotypage des lymphocytes dans la majorité des cas, la question du prix est importante, surtout que le service rendu au patient est modeste.

Pour une valeur de B à 0.27euros, l'examen biologique est un B300 c'est-à-dire environ 80euros

A titre indicatif, le dosage d'une CRP B9 (2.43), l'électrophorèse de des protides est B53 (14,31euros), recherche d'anticorps anti-nucléaires B40 (10.8euros), immunofixation B160 (43 euros).

Dans une optique de dépistage, c'est-à-dire en ne comptant que la première analyse, sur ces chiffres, l'analyse sur 13 mois a couté en termes de facturation à l'assurance maladie 18 854euros, mais le prix réel est plus élevé et difficilement quantifiable avec précision. Pour chaque caractérisation supplémentaire de clone, le prix est plus élevé et peut être doublé. De plus, il existait des doublons de prescription (21) dont certains pour les patients avec recherche de clonalité.

Ce prix n'inclut pas le temps de travail des techniciens (42euros par heure) et le temps de travail biologiste (prix horaire non quantifiable) qui varie beaucoup d'une situation à l'autre, ainsi que les réactifs utilisés.

Conclusion :

Le but de ce travail était de partir d'une habitude de service, en l'occurrence la médecine interne du Chu de Rouen, pour déterminer la rentabilité diagnostic d'un test sanguin rapide (24 à 48h) et peu invasif pour l'aide au diagnostic d'une pathologie grave potentiellement et très polymorphe sur le plan clinique que sont les hémopathies lymphoïdes.

La rentabilité apparaît très faible dans cette étude pris dans l'ensemble avec beaucoup de « faux positifs » et de « faux négatifs ».

Il faut toutefois souligner plusieurs biais :

- Tout d'abord, du fait du caractère rétrospectif et de la difficulté de récupérer les motivations initiales de l'examen **les critères ne reflètent pas exactement le raisonnement clinique**. La population testée n'était pas homogène et les critères amenant à la réalisation étaient différents également du point de vue des médecins des différentes unités.

- Deuxièmement, le diagnostic recherché, à savoir une hémopathie lymphoïde, regroupe là aussi un ensemble hétérogène de pathologies dont les caractéristiques cliniques et biologiques sont très différentes entre des formes plutôt tumorales et peu de forme circulante comparés à d'autres lymphomes plus « circulants ».

- Troisièmement, la présence d'un clone circulant n'a pas systématiquement abouti à une biopsie médullaire ou ganglionnaire et même si un autre diagnostic a pu être trouvé pour les symptômes ayant déclenchés la recherche, **rien ne certifie que le patient ne soit pas porteur d'une hémopathie lymphoïde indolente parmi les clones**. En effet, nous n'avons retenu que le diagnostic final. Le suivi court de ces patients (étude commencé en 2017) ne permet pas d'être sûr de l'absence de critères malin à ces clones détectés ou de leur évolutivité potentielle.

-Enfin le lieu de prélèvement des patients joue un impact majeur pour la prévalence des hémopathies car avec une seule hémopathie parmi les 111 patients ambulatoires, on peut se poser la question de **l'association entre hospitalisation et maladie du fait de son retentissement plus important**.

Nous pouvons néanmoins, à la suite de cette étude apporter les recommandations suivantes à l'utilisation de l'immunophénotypage des lymphocytes circulants :

Parmi les patients pour lesquels le diagnostic d'hémopathie lymphoïde est évoqué cliniquement ou biologique, un état général altéré nécessitant une hospitalisation est un critère important à considérer, puisque la rentabilité en ambulatoire est nulle.

S'il existe une indication formelle à la réalisation d'un myélogramme mais pas nécessairement dans un premier temps d'une BOM, préférer la réalisation de l'immunophénotypage sur la moelle pour éviter une double prescription « sang-moelle » qui n'apporterait pas de précisions supplémentaires. Sur la feuille de renseignement pour la demande d'immunophénotypage devrait figurer la question de l'occurrence de l'exploration médullaire.

En cas d'antécédents d'hémopathies lymphoïdes en rémission, à fortiori si celle-ci présentait déjà un clone circulant qui a disparu à la rémission, ce test permet de prouver la rechute très rapidement, même si celui-ci n'éviterait probablement pas une nouvelle exploration médullaire dans la majorité des cas.

Les clones pouvant être trouvés en cas de lymphopénie ou de nombre de lymphocyte normal, l'absence d'hyperlymphocytose n'est pas un critère de rejet de la recherche d'un clone circulant si c'est l'objectif.

Ouvertures :

Même si l'impact de cette étude sur la pratique clinique est modeste, des perspectives de recherche peuvent être envisagées :

Pour limiter les biais, une étude prospective avec une détermination claire des indications selon les critères amènerait probablement à une meilleure rentabilité du test et peut être à d'autres conclusions diagnostiques.

L'immunophénotypage des lymphocytes circulants réalisé avec d'autres marqueurs que ceux utilisés pour le diagnostic de la LLC pourrait potentiellement changer la rentabilité diagnostique de l'examen pour la recherche des lymphomes.

L'évaluation des marqueurs retrouvés sur les biopsies des tumeurs pourrait amener à une meilleure évaluation de la similarité entre clone circulant et maladie. Elle pourrait également aider à l'exploration d'autres marqueurs sanguins plus intéressants pour le dépistage ou le diagnostic.

L'étude systématique des immunophénotypes sanguins sur des patients atteints de lymphomes permettrait d'en déduire des informations épidémiologiques, notamment la fréquence des maladies avec contingent leucémiques au diagnostic. Cette étude serait au mieux réalisée conjointement avec le service d'hématologie clinique.

L'étude de l'évolution des patients porteurs de clones lymphocytaires et de leurs caractéristiques pourrait permettre de connaître le réel risque d'hémopathie, d'autres pathologies et les facteurs prédictifs associés.

L'étude des examens complémentaires réalisés en cas de clones positifs pourrait être intéressante pour apprécier le retentissement de cette information sur la prise en charge des malades, et notamment concernant le caractère invasif d'examens pour ne pas conclure à une hémopathie.

Dans les situations mettant en jeu le pronostic vital comme les SAM, les syndromes de masses menaçantes ou les cas où l'hémostase ne permet pas d'avoir une biopsie sans risque, cet examen pourrait apporter une information capitale pour le choix d'un traitement de sauvetage et pourrait être évalué dans d'autres circonstances et d'autres services (Par exemple la réanimation médicale).

L'étude de la présence de clones dans les Polyarthrites Rhumatoïdes et de leur association avec des hémopathies pourrait potentiellement trouver un lien plus fréquent entre clonalité et auto-immunité.

Annexe 1 : Résumé de l'histoire clinique des malades :

Patient 1 : Homme de 41 ans. Masse et adénopathies. La biopsie a été réalisée 3 jours après la réalisation de l'immunophénotypage des lymphocytes circulants qui n'exposait pas de monoclonalité ou d'atypie, posant le diagnostic de Lymphome B diffus à grandes cellules.

Patient 2 : Femme de 80ans. Patiente présentant une altération de l'état général avec syndrome tumoral adénopathies multiples, anémie régénérative en hôpital de jour sans critère d'urgence, patiente reprogrammée en hospitalisation. L'immunophénotypage circulant était normal à ce moment. Puis pancytopenie profonde avec myélogramme réalisé ne montrant pas d'envahissement médullaire mais un blocage de maturation neutrophile associée à une hypermégacaryocytose médullaire, tableau compatible avec une atteinte immune. Biopsie ostéomédullaire réalisée montrant un lymphome T angio-immunoblastique. Décès rapide de la patiente.

Patient 3 : Homme de 81ans. Le patient présente une polyarthrite rhumatoïde séropositive et érosive associée à un clone lymphocytaire T avec réarrangement du Locus TCR avec un syndrome tumoral objectivé (adénopathies cervicales, sus-claviculaires), et l'on peut se poser la question d'un lien entre ces deux pathologies, alors même qu'il n'existait pas de biopsie contributive (première biopsie en regard d'une lésion manubrium sternal non contributive, 2ème biopsie adénopathie axillaire mais contexte de corticothérapie pour le rhumatisme avec disparition de la cible axillaire) pour prouver l'existence ou non d'une hémopathie caractérisée et ce malgré l'existence d'adénopathies. Le patient bénéficie actuellement d'un traitement par RITUXIMAB. La biopsie réalisée le 25/07/2019, soit quasiment un an après l'immunophénotypage, montre un Lymphome B diffus à grandes cellules.

Dans le cadre de ce patient, le clone circulant T n'est pas concordant avec le lymphome.

Patient 4 : Femme de 87ans. Patiente présentant une pancytopenie, ILC réalisé dès l'entrée de la patiente montrait des Lymphocytes B n'exprimant pas le BCR (Atypique) et le premier myélogramme réalisé le lendemain était décrit comme dilué. 4 jours plus tard, réalisation d'une biopsie ostéomédullaire permettant de porter le diagnostic de lymphome B Diffus stade IV.

La patiente ne présentait pas d'autre cible biopsiable (TDM TAP obtenu 8 jours après l'ILC sans adénopathie ni lésion biopsiable). L'immunophénotypage a peut-être orienté la réalisation d'emblée d'une biopsie ostéomédullaire plutôt qu'un nouveau myélogramme précocement faisant hypothétiquement gagner quelques jours de délai diagnostique.

Patient 5 : Femme de 63ans. Anémie hémolytique auto-immune nécessitant transfusion avec test à l'antiglobuline positive C3+ et cryoglobuline de type 1, IgM monoclonale.

L'ILC concluant à une hémopathie matutes 0/5 et la preuve histologique du lymphome B de bas grade sur une biopsie ostéo-médullaire 4 jours après. Hypermétabolismes nodulaires pulmonaires francs gauche et ganglions axillaires bilatéraux à la limite de la significativité. Les lésions pulmonaires ont été biopsiées 26 jours plus tard pour confirmer le caractère lymphomateux avant traitement par chimiothérapie.

Patient 6 : Femme de 79ans. Le patient présente une pancytopénie, dont l'examen médullaire effectué avant immunophénotypage circulant donne le diagnostic de leucémie aiguë.

Patient 7 : Femme de 72ans. Immunophénotypage normal dans un contexte de polyadénopathies et l'analyse histologique des adénopathies réalisée 1 mois et 5 jours après objectivait un lymphome B diffus à grandes cellules.

Patient 8 : Homme de 65ans. Splénomégalie avec des adénopathies multiples, et l'ILC concluait à une prédominance Kappa, évocateur sans affirmation possible d'une clonalité. Le diagnostic final de Lymphome B diffus à grandes cellules a été fait sur biopsie ganglionnaire, datant de 6 jours plus tard.

Patient 9 : Femme de 75ans. Symptomatologie auto-immune floride (Sjögren, Polyarthrite rhumatoïde séropositive, Sclérodermie) avec notamment une cryoglobulinémie type 2. L'ILC réalisé montre un contingent CD8+ atypique et augmenté. Le Locus TCR montrera une clonalité T.

En revanche le diagnostic final porte correspond à une hémopathie B obtenu 100 jours après immunophénotypage.

Patient 10 : Homme de 86ans. CIVD avec décès précoce. L'analyse de l'ILC a permis de suspecter un clone lymphoïde concomitant à la CIVD (population T) sans l'affirmer outre mesure du fait du décès du patient. Le myélogramme réalisé le jour précédent retrouve le clone T sur immunophénotypage. Le diagnostic final retenu était « CIVD sur lymphome T ».

Patient 11 : Homme de 71ans. Atteinte rachidienne évoquant une hémopathie dans un contexte de pancytopénie notamment thrombopénie profonde (< 16 000). La réalisation de l'ILC a permis de détecter un clone MATUTES 3/5, diagnostic que le myélogramme réalisé le même jour a également fait. L'histologie a été obtenue avec un délai de 25 jours en lien avec l'impossibilité d'une histologie du fait de la thrombopénie importante avec BOM montrant un lymphome agressif B.

Patient 12 : Homme de 34ans. ADP abdominale, syndrome inflammatoire, prurit, sueurs nocturnes. L'ILC était normal mais la biopsie réalisée 7 jours après l'ILC objective un lymphome de Hodgkin.

Patient 13 : Homme de 76ans. Altération de l'état général et adénopathies. ILC normal et Biopsie réalisée à 6 jours montrant un lymphome B diffus à grande cellule.

Patient 14 : Homme de 39ans. Adénopathies. Pas de monoclonalité à l'ILC. L'histologie réalisée 7 jours plus tard objective un lymphome de hodgkin

Patient 15 : Femme de 50ans. La patiente présentait des adénopathies de découverte fortuite et une hypogammaglobulinémie avec contexte pouvant évoquer une hémopathie lymphoïde, pas de monoclonalité ou d'atypie sur l'immunophénotypage. L'analyse histologique sur BOM faite un jour plus tard retrouve des follicules lymphocytaires pouvant évoquer un lymphome.

Patient 16 : Femme de 89ans. Patiente avec syndrome lympho-prolifératif non typé avec un score de Matutes 1/5, rémission juin 2017 connu. Cytopénies multiples avec Anémie, thrombopénie, lymphopénie, hypogamma 4g/L. L'ILC réalisée en novembre 2017 objective une lymphopénie profonde avec monoclonalité B MATUTES 1/5 similaire à l'hémopathie diagnostiquée un an auparavant. Pas de syndrome tumoral.

Patient 17 : Femme de 71ans. Leucémie à tricholeucocytes en rémission depuis 10ans, AEG, Anémie, thrombopénie, neutropénie. Population monoclonale à l'ILC. Exploration médullaire montrant une infiltration tumorale à tricholeucocytes. Pas de syndrome tumoral. Récidive de la leucémie.

Patient 18 : Femme de 83ans. Patient avec Monoclonalité lymphocytaire MATUTES 4/5 sans hyperleucocytose, avec apparition d'un syndrome tumoral. Le clone circulant était déjà connu. Dans ce contexte est évoqué la transformation en Lymphome de haut grade (Syndrome de Richter). Le diagnostic était en réalité déjà connu.

Patient 19 : Femme de 70ans. Adénopathies abdominales. ILC normal. Hypogammaglobulinémie. Lymphome B diffus à grandes cellules sur biopsie d'adénopathies rétropéritonéales.

Annexe 2 : Âge de découverte des hémopathies lymphoïdes en 2018

TABLEAU A1.4. | Âge moyen au diagnostic en 2018

Sous-entité	Homme	Femme
	Âge moyen au diagnostic	Âge moyen au diagnostic
Lymphome de Hodgkin	42	40
LLC / Lymphome lymphocytaire	71	73
Lymphome folliculaire	65	67
Lymph. diffus B	67	68
Lymphome à cellules du manteau	70	73
Lymphome de Burkitt	39	52
Myélome multiple	70	73
Lymphome lymphoplasmo. / M. de Waldenström	73	73
Lymphome T/NK à cellules matures	64	64
Leucémie / Lymphome lymphoblas. (B, T, SAI)	29	31
Leucémie à tricholeucocytes	63	61
Lymphome de la zone marginale	69	71
Leucémies aiguës myéloïdes	66	69
Leucémie myéloïde chronique (LMC)	60	61
Syndromes myéloprolifératifs chroniques autres que LMC	68	70
Syndromes myélodysplasiques	77	78
Leucémie myélomonocytaire chronique et autres SMM	75	78

-
- ⁱ ‘Immunophénotypage des hémopathies malignes, Précis de biopathologie, analyses médicales spécialisées. 2013 Biomnis.’
- ⁱⁱ ‘PNDS 2017 : Anémie Hémolytique Auto-Immune de l’enfant et de l’adulte.’
- ⁱⁱⁱ ‘Hématocell.Fr Laboratoire d’Hématologie Cellulaire Du CHU d’Angers’.
- ^{iv} Pandolfi et al., ‘Integrins’.
- ^v Xavier Mariette, ‘CRI-Net : Immunopathologie Pour Le Praticien’.
- ^{vi} Patrick Blanco, ‘Genèse Des Anticorps, Schéma Du Centre Germinatif. Revue Du Rhumatisme, Novembre 2016’.
- ^{vii} Jachiet et al., ‘Autoimmune Manifestations Associated with Lymphoma’.
- ^{viii} Touzeau and Moreau, ‘Gammopathie monoclonale de signification indéterminée’.
- ^{ix} M. Ponzoni, ‘The Aetiology of B-cell Lymphoid Malignancies with a Focus on Chronic Inflammation and Infections - Smedby - 2017 - Journal of Internal Medicine - Wiley Online Library’.
- ^x Touzeau and Moreau, ‘Gammopathie monoclonale de signification indéterminée’.
- ^{xi} Sasayama et al., ‘Cerebrospinal Fluid Interleukin-10 Is a Potentially Useful Biomarker in Immunocompetent Primary Central Nervous System Lymphoma (PCNSL). Neuro-Oncology. Mars 2012’.
- ^{xii} Galletti et al., ‘Chronic Lymphocytic Leukemia Cells Bind and Present the Erythrocyte Protein Band 3’.
- ^{xiii} Hall et al., ‘Rh Autoantigen Presentation to Helper T Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia by Malignant B Cells. Blood. Mars 2005’.
- ^{xiv} Swerdlow et al., ‘The 2016 Revision of the World Health Organization Classification of Lymphoid Neoplasms. Blood. Mai 2016’.
- ^{xv} Monnereau A., ‘Estimations Nationales de l’incidence et de La Mortalité Par Cancer En France Métropolitaine Entre 1990 et 2018 - Volume 2 : Hémopathies Malignes : Étude à Partir Des Registres Des Cancers Du Réseau Francim’.
- ^{xvi} ‘Immunophénotypage des hémopathies malignes, Précis de biopathologie, analyses médicales spécialisées. 2013 Biomnis.’
- ^{xvii} Angelillo et al., ‘Monoclonal B-Cell Lymphocytosis’.
- ^{xviii} ‘ALD n° 30 - Leucémie lymphoïde chronique. Juin 2011.’
- ^{xix} ‘PNDS 2017 : Anémie Hémolytique Auto-Immune de l’enfant et de l’adulte.’
- ^{xx} C.Fieschi, ‘Déficit Immunitaire Commun Variable’.
- ^{xxi} ‘Pnds-purpura_thrombopenique_immunologique.Pdf’.
- ^{xxii} L.Gilardin, ‘Apport de l’immunophénotypage En Médecine Interne St Antoine’.
- ^{xxiii} ‘PNDS 2017 : Anémie Hémolytique Auto-Immune de l’enfant et de l’adulte.’
- ^{xxiv} Touzeau and Moreau, ‘Gammopathie monoclonale de signification indéterminée’.

Résumé de la thèse :

Introduction :

Le lymphome est une maladie tumorale maligne clonale liée à la dérégulation d'un lymphocyte associée à des manifestations clinico-biologiques polymorphes. Le lymphocyte est une cellule circulant à la fois dans le sang et les vaisseaux lymphatiques et le lymphome ayant une expression majoritaire tissulaire peut également avoir un contingent sanguin. L'immunophénotypage par cytométrie de flux peut détecter dans le sang la présence d'une population lymphocytaire clonale ou évocatrice de clonalité. Nous avons voulu explorer les prescriptions de l'ILC et sa rentabilité diagnostique dans notre service pour les hémopathies lymphoïdes.

Méthode :

Il s'agit d'une étude rétrospective sur les patients ayant eu une analyse par Immunophénotypage des lymphocytes circulants pour recherche d'hémopathie dans le service de médecine interne du CHU de Rouen entre le 1er Aout 2017 et le 31 aout 2018, soit une période de 13 mois, patients explorés en unité d'hospitalisation et ambulatoire. Les patients avec hyperlymphocytose ont été exclus. Les données cliniques (Antécédents, adénopathies, altération de l'état général) et biologiques (anomalies de la NFS, anomalies de l'électrophorèse) ont été recueillies, ainsi que les données concernant les explorations médullaires et le diagnostic final.

Résultats et discussion :

Au total, 260 patients ont été explorés dans l'étude dont 30 ayant une hyperlymphocytose et 230 patients sur lesquels porte l'analyse. La moyenne d'âge des patients était de 60.8ans et le sexe ratio H/F de 0.96. 78 de ces patients correspondaient à des patients de consultation, 33 patients à des patients vus en HDJ, soit finalement 119 patients en hospitalisation conventionnelle dans les différents services (51.7%). Parmi les patients ambulatoires, 1 seul était atteint d'une hémopathie lymphoïde et l'exploration sanguine était négative, contre 18 patients atteints en hospitalisation. Les paramètres du test étaient globalement faibles (Sensibilité 57.9%, Spécificité : 91%, VPP : 36.8%, VPN : 95.9%) mais étaient variables selon les unités. Les patients ayant une hémopathie étaient différents des non atteints sur 3 points : La présence d'adénopathie, d'une anémie et d'une clone sanguin circulant. Parmi les patients avec une hémopathie (19/230), 8 seulement avaient un clone circulant de même nature (B ou T) que l'hémopathie diagnostiquée au final. Parmi les patients avec une hémopathie et un clone de même nature, 1 seul n'avait pas eu d'exploration médullaire. Parmi les patients ayant eu une exploration médullaire, cet examen avait été au moins aussi informatif que l'examen sanguin. Les patients pour lesquels l'analyse sanguine était positive et avec un clone de même nature avaient des maladies à expression hématologique prédominante. Les indications des examens, déduites rétrospectivement à partir du dossier médical, représentent un biais majeur de cette étude.

Conclusion :

L'ILC n'a pas prouvé son intérêt dans cette étude. Du fait de son bénéfice modeste et de son coût, il convient de restreindre les indications de cet examen hors hyperlymphocytose, notamment ne pas le réaliser en cas d'exploration médullaire envisagée d'emblée ou pour les patients ambulatoires. Une étude prospective serait intéressante pour évaluer au mieux les indications et le réel impact de cet examen sur le diagnostic et la prise en charge des patients.

Mots-clefs : Immunophénotypage sanguin, Lymphome. Médecine interne.