

Lymphocytoses B monoclonales: de la littérature à la pratique de laboratoire

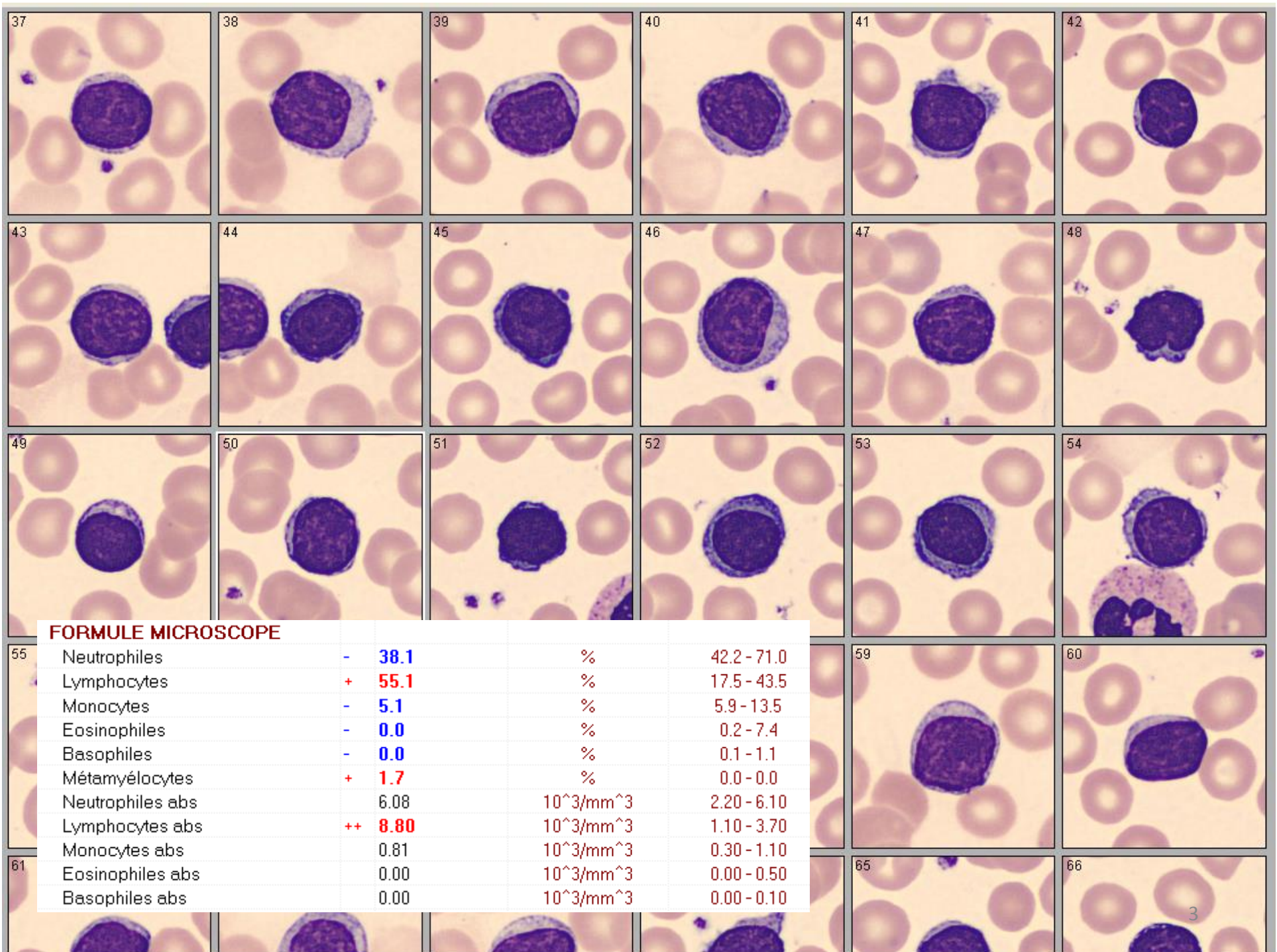
Tassin Françoise, MD PhD
Keutgens Aurore, PhD

Cas clinique

À Patiente née en 1947 (66 ans) consultant à l'hôpital pour suivi d'une polyneuropathie sensitivo-motrice démyélinisante symptomatique depuis 2009, se dégradant de manière rapidement progressive depuis juillet 2012

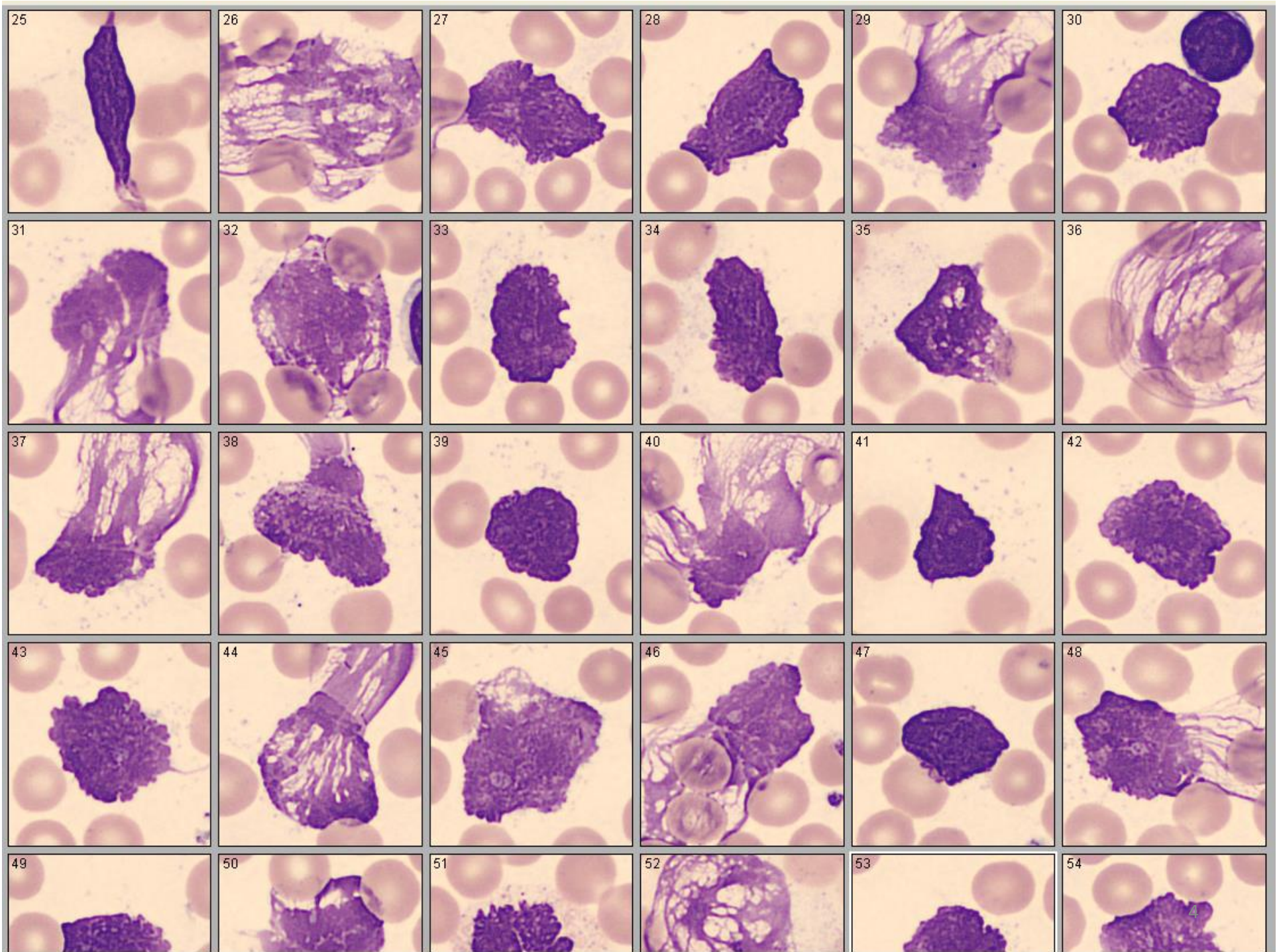
À Prise de sang de « routine »

CYTOLOGIE SANGUINE			
Globules rouges	4.20	$10^6/\text{mm}^3$	3.90 - 4.90
Hémoglobine	12.8	g/dL	11.7 - 15.0
Hématocrite	38.0	%	35.8 - 45.5
Volume globulaire	90.5	fL	83.7 - 100.8
Valeur globulaire	30.5	pg	27.9 - 33.3
Concentration moyenne Hb	33.7	g/dL	31.0 - 36.2
Réticulocytes	1.8	%	0.5 - 2.4
Réticulocytes abs	75.6	$10^3/\text{mm}^3$	24.8 - 110.3
Hémoglobine réticulocytaire	32.7	pg	28.0 - 35.0
Fraction réticulocytaire immature	5.3	%	1.1 - 15.9
Plaquettes	274	$10^3/\text{mm}^3$	150 - 353
Volume plaquettaire moyen	10.1	fL	9.4 - 12.5
Fraction plaquettaire immature	- 0.8	%	1.1 - 6.1
Globules blancs	+ 15.97	$10^3/\text{mm}^3$	4.60 - 10.10



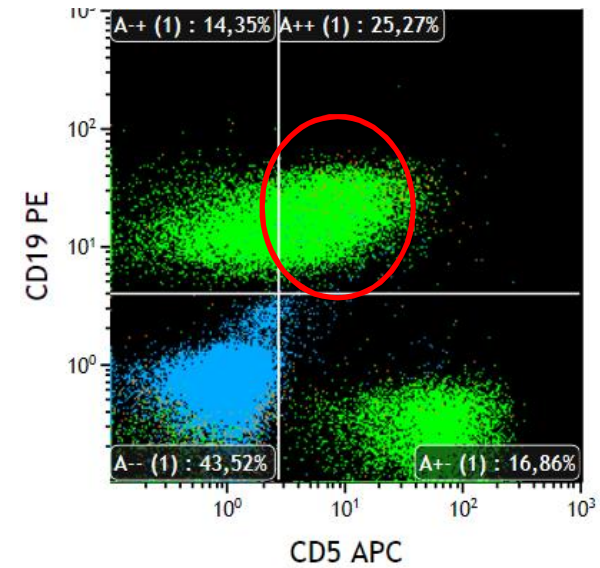
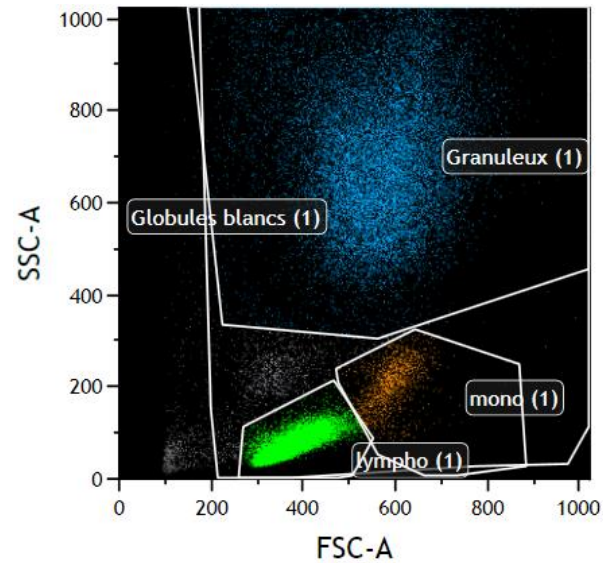
FORMULE MICROSCOPE

55	Neutrophiles	-	38.1	%	42.2 - 71.0
	Lymphocytes	+	55.1	%	17.5 - 43.5
	Monocytes	-	5.1	%	5.9 - 13.5
	Eosinophiles	-	0.0	%	0.2 - 7.4
	Basophiles	-	0.0	%	0.1 - 1.1
	Métamyélocytes	+	1.7	%	0.0 - 0.0
	Neutrophiles abs		6.08	10 ³ /mm ³	2.20 - 6.10
	Lymphocytes abs	++	8.80	10 ³ /mm ³	1.10 - 3.70
	Monocytes abs		0.81	10 ³ /mm ³	0.30 - 1.10
61	Eosinophiles abs		0.00	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.50
	Basophiles abs		0.00	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.10

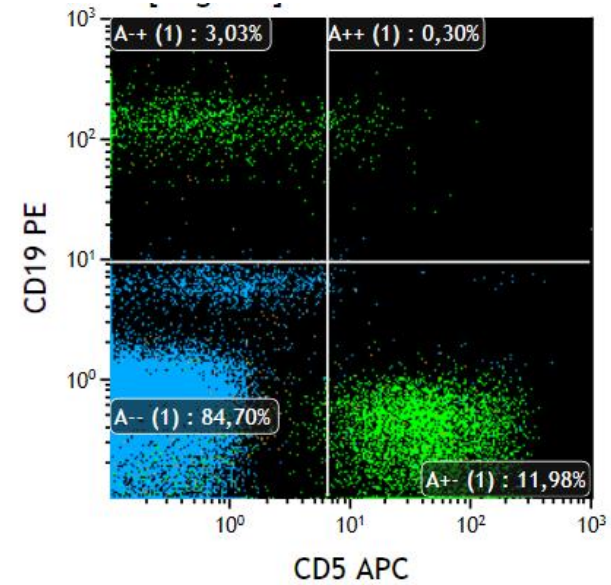
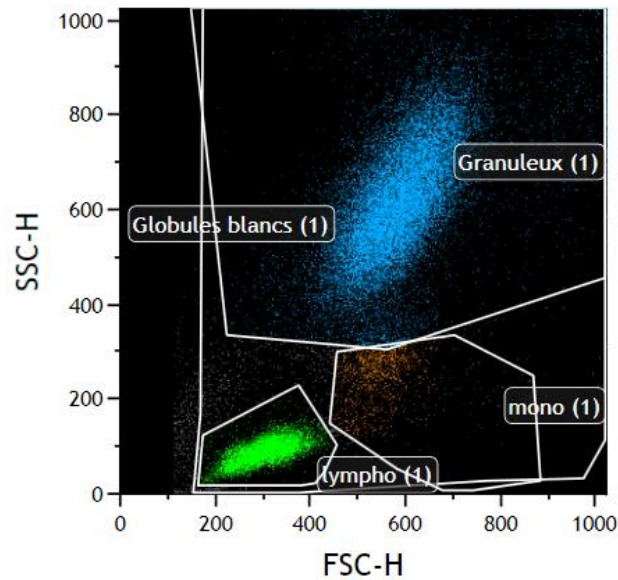


Cas clinique

Cas clinique



Normal



Immunophénotypage

Score de Catovsky/Matutes (5pts)- [Moreau \(6pts\)](#)

Distinction entre les LLC-B et les autres syndromes lymphoprolifératifs B CD5+

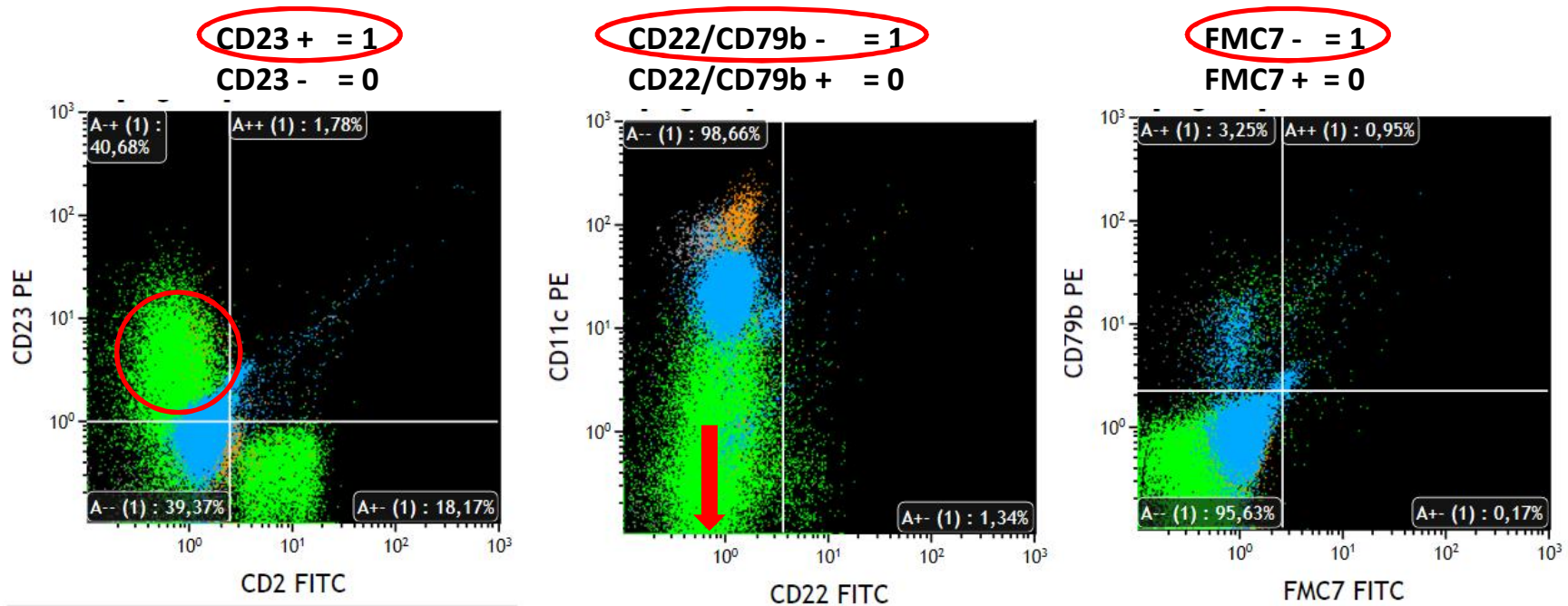
LLC : 3-5 points

Autres : 0-2 points

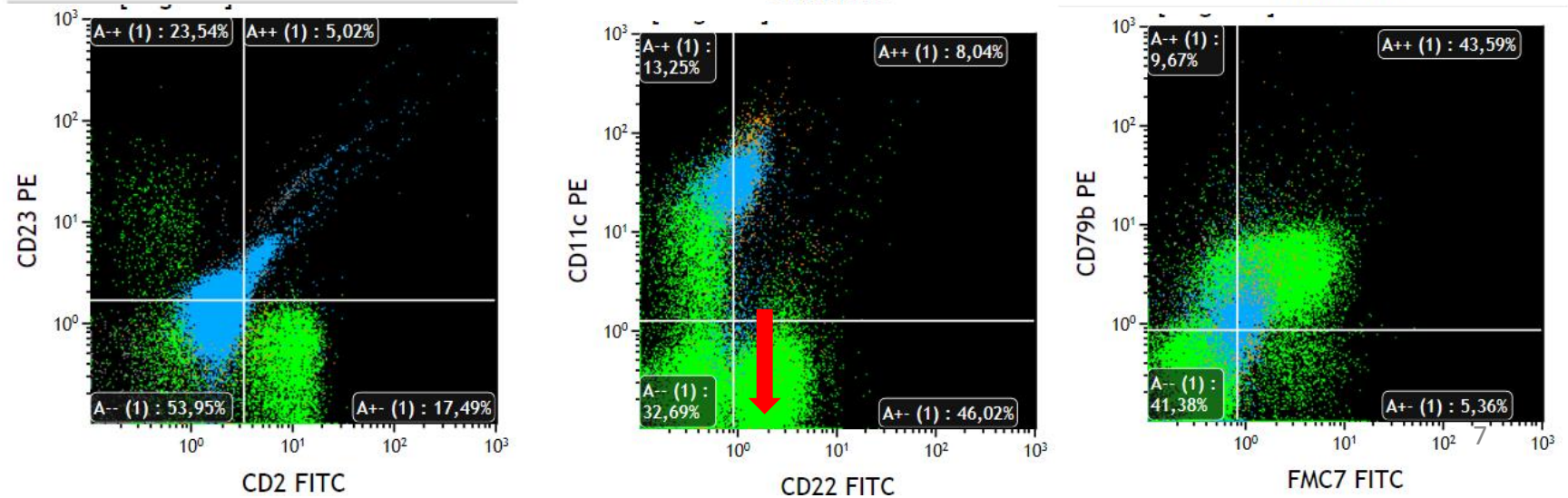
Marqueurs	Points	
	0	1
CD5	Négatif	Positif
CD23	Négatif	Positif
FMC7	Positif	Négatif
CD22/ CD79b	Positif	Négatif
IgS	Modéré/Intense	Faible

Cas clinique

Cas clinique

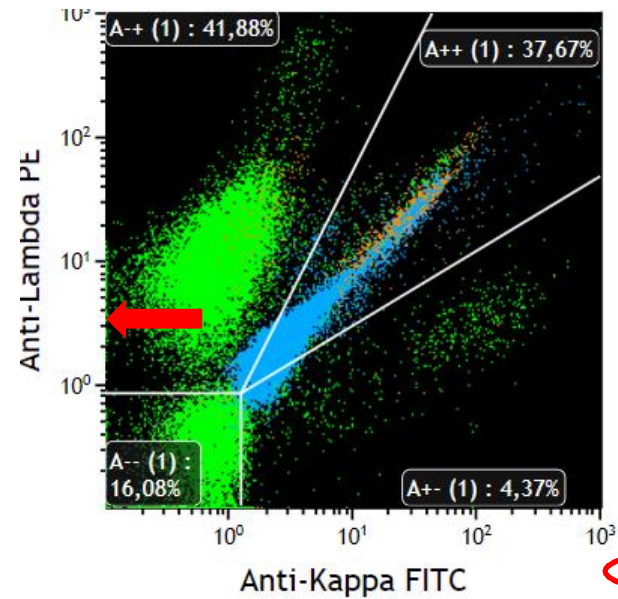
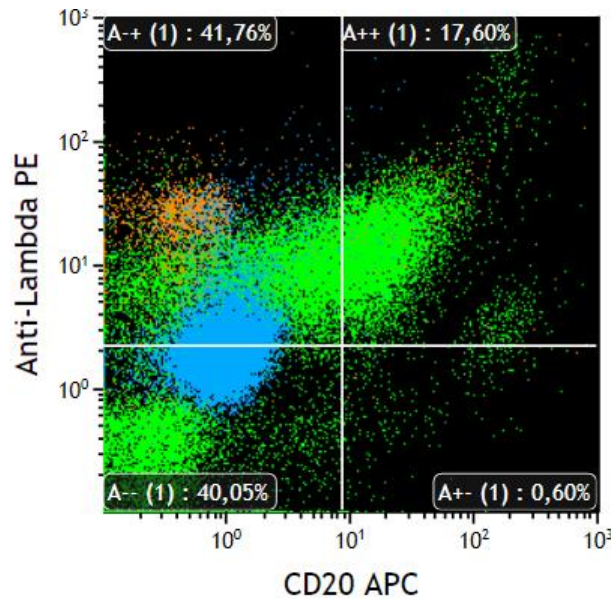


Normal

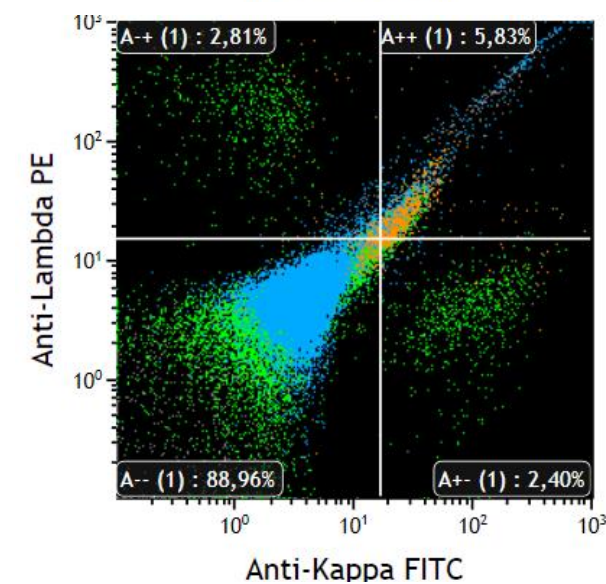
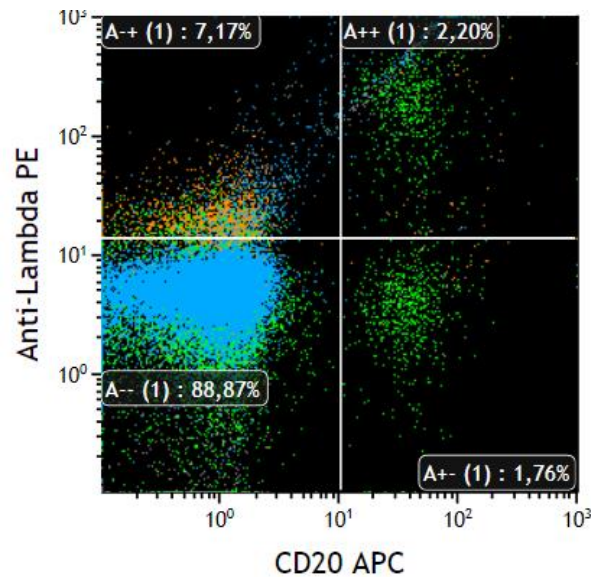


Cas clinique

Cas clinique



Normal



Ig faible = 1
Ig mod/intense = 0

Cas clinique

ÅRésultats Immunophénotypage:

Lymphocytes T : 17% ; pas d'expression phénotypique aberrante.

Rapport CD4/CD8 : 1.8

Lymphocytes T CD4+ : 11 %

Lymphocytes T CD8+ : 6%

Lymphocytes NK: 1%

Lymphocytes B : 40% (6388/ μ L) ; 38% monoclonaux (6068/ μ l)

Immunophénotype des cellules lymphomateuses B : CD19+ CD5+ CD20 faible IgS λ faible CD22- CD23+ FMC7- CD79b-

Score de Matutes : 5 points.

En conclusion, présence d'une population lymphomateuse B décelée dans ce prélèvement compatible avec un phénotype de **LLC-B**.

Un avis hématologique est recommandé.

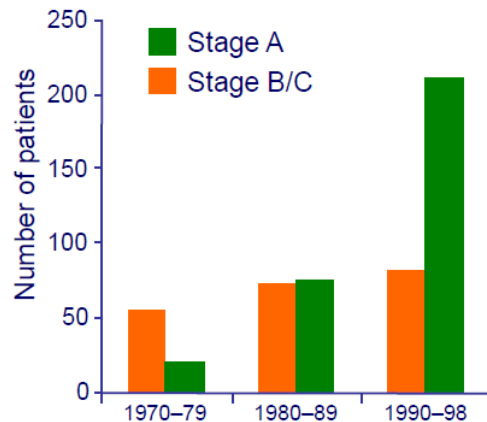
Ces résultats doivent être intégrés avec ceux de l'anatomopathologie, de la cytologie, de la génétique et de la clinique.

Critères diagnostic LLC

DATE		CRITERES
1975	Classification RAI	<u>Stade 0</u> : Lymphocytes $\geq 15\ 000/\text{mm}^3$
1996	IWCLL	Lymphocytes $\geq 10\ 000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B <i>ou</i> Infiltration Moelle Lymphocytes $< 10\ 000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B <i>et</i> Infiltration Moelle
1996	NCI	Lymphocytes $> 5000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B

Utilisation de la cytométrie en flux dans le diagnostic de LLC

Années 1990 Actuellement
Cytométrie en Flux : 2 couleurs Cytométrie en Flux : 3 à 8 couleurs



↓
**Recherche du minimal residual disease (MDR) (0.01%)
et
Faible pourcentage de cellules de phénotype LLC**

➡ **Guidelines IWCLL 2008**

Critères diagnostic LLC

DATE		CRITERES
1975	Classification RAI	<u>Stade 0</u> : Lymphocytes $\geq 15\ 000/\text{mm}^3$
1996	IWCLL	Lymphocytes $\geq 10\ 000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B <i>ou</i> Infiltration Moelle Lymphocytes $< 10\ 000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B <i>et</i> Infiltration Moelle
1996	NCI	Lymphocytes $> 5000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B
2008	IWCLL	Lymphocytes <u>B</u> $> 5000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B

Cas clinique

À l'immunophénotypage:

Lymphocytes T : 17% ; pas d'expression phénotypique aberrante.

Rapport CD4/CD8 : 1.8

Lymphocytes T CD4+ : 11 %

Lymphocytes T CD8+ : 6%

Lymphocytes NK: 1%

Lymphocytes B : 40% (**6388/μL**) ; 38% monoclonaux (**6068/μl**)

Immunophénotype des cellules lymphomateuses B : CD19+ CD5+ CD20 faible IgS λ faible CD22- CD23+ FMC7- CD79b-

Score de Matutes : 5 points.

En conclusion, présence d'une population lymphomateuse B décelée dans ce prélèvement compatible avec un phénotype de **LLC-B**.

Un avis hématologique est recommandé.

Ces résultats doivent être intégrés avec ceux de l'anatomopathologie, de la cytologie, de la génétique et de la clinique.

Critères diagnostic LLC

DATE		CRITERES
1975	Classification RAI	<u>Stade 0</u> : Lymphocytes $\geq 15\ 000/\text{mm}^3$
1996	IWCLL	Lymphocytes $\geq 10\ 000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B <i>ou</i> Infiltration Moelle Lymphocytes $< 10\ 000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B <i>et</i> Infiltration Moelle
1996	NCI	Lymphocytes $> 5000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B
2008	IWCLL	Lymphocytes <u>B</u> $> 5000/\text{mm}^3$ + Phénotype LLC-B

Lymphocytes B
Valeurs de réf: 100-500/mm³

Lymphocytoses B $< 5000/\text{mm}^3$ avec monoclonalité ??

Lymphocytoses B monoclonales

MBL

- À Condition asymptomatique caractérisée par la circulation d'une population lymphoïde B monoclonale $<5000/\text{mm}^3$ dans le sang périphérique, l'absence de signes cliniques ou de symptômes d'une pathologie lymphoproliférative B
- À Dans la majorité des cas, le phénotype des cellules B monoclonales est identique au phénotype d'une LLC

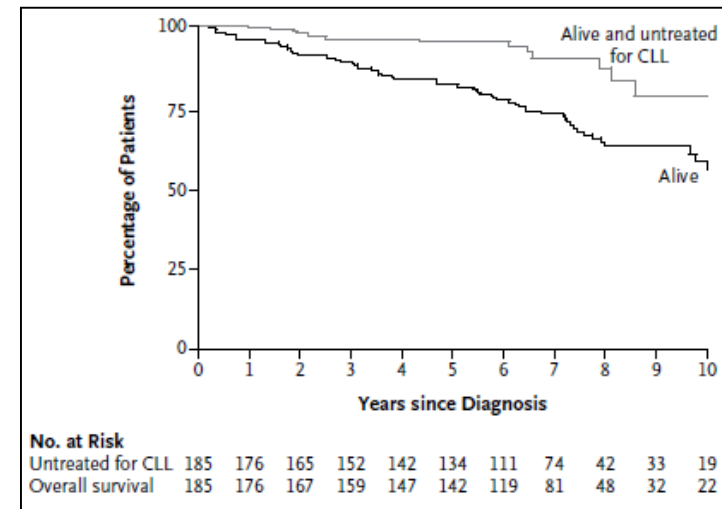


Changement de classification pour patients LLC selon les critères de 1996 !

Pourquoi ne pas parler de LLC dans tous les cas?

	Women	Men
General Population (n=1060)	19.4	20.5
Cancer patient (n=2235)	18.7	18.6
CLL patients (n=1482)	16.8	17.8

« Emotional Quality of Life » est moins bonne pour les patients atteints de LLC que pour les patients atteints d'un cancer (Shanafelt et al, 2007)



Risque de progression en LLC nécessitant un traitement est de 1 à 2%/ an (Rawstron et al, 2009)

MBL

Detection of a monoclonal B-cell population in the peripheral blood with :

- overall kappa:lambda ratio >3:1 or <0.3:1

or

- greater than 25% of B cells lacking or expressing low level surface immunoglobulin

or

- a disease-specific immunophenotype

Repeat assessment should demonstrate that the monoclonal B-cell population is stable over a 3-month period

Exclusion criteria :

- lymphadenopathy and organomegaly

or

- associated autoimmune/infectious disease

or

- B-lymphocyte count >5000/mm³ *Hiatus pendant 3ans....*

or

- any other feature diagnostic of a B-lymphoproliferative disorder. However, a paraprotein may be present or associated with MBL and should be evaluated independently

MBL

CLL-like phénotype = CLL-like MBL	CD5+ CD19+ CD20 faible CD23+ IgS faible	Majorité des cas
Atypical phénotype = Atypical MBL	CD5+ CD19+ CD20 intense CD23- IgS modérée/intense	
Non-CLL-like phénotype = Non-CLL-like MBL	CD5- CD20 intense IgS modérée/intense	15-30%

	Lymphocytes B dans sang périphérique	Lymphadénopathie ou hépatosplénomégalie
LLC	> 5000/mm ³	OUI ou NON
SLL	< 5000/mm ³	OUI
LLC-like MBL	< 5000/mm ³	NON

	Lymphocytes B dans sang périphérique	Lymphadénopathie, hépatosplénomégalie, Infiltration médullaire, CT scan positif
Lymphome non Hodgkinien	> 5000/mm ³	OUI ou NON
	< 5000/mm³	OUI
Atypical MBL	< 5000/mm ³	NON
Non-CLL-like MBL	< 5000/mm ³	NON

Prévalence

À LLC

À 11% des maladies hématologiques malignes

À 0.02 à 0.06%

À MBL

À 0.14% à 13.9% en fonction de la technique de détection utilisée et de la population étudiée

Study		Flow Cytometry Parameters			Prevalence	
Study	Population Characteristics	No. of Colors	Markers Assessed	No. of Events	CLL-Like MBL	Atypical CLL and/or Non-CLL-Type MBL
Shim et al ¹⁰ 2007	N = 1,926 General population, US Ages: 40–76 yrs	2	CD19 or CD20, CD45, CD3, CD5	NS	0.6%	NS
Rachel et al ¹¹ 2007	N = 5,141 Blood donors, US Ages: 17–70+ yrs	2	CD19, CD5; extended panel on select samples: CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD10, CD14, CD20, CD23, κ, λ	NS	0.14%, all ages; 0.93%, ≥ 65 yrs; 1.47%, ≥ 70 yrs	NS
Rawstron et al ³ 2008	N = 1,528 Healthy outpatients, UK Ages: 62–80 yrs	4	CD19, CD5, κ, λ	5 × 10 ⁶	5.1%	1.8%, non-CLL
Ghia et al ⁸ 2004	N = 500 Healthy outpatients, Italy Ages: > 65 yrs	4	CD5, CD19, κ, λ or CD5, CD20, CD79b, CD19	> 2 × 10 ⁶	5.4%	0.6%, atypical CLL; 1.4%, non-CLL
Dagklis et al ⁷ 2009	N = 1,725 General population, Italy Ages: 18–102 yrs	5	CD5, CD19, CD20, κ, λ	< 5 × 10 ⁶	5.2% 6.7%, ≥ 40 yrs	1.1%, atypical CLL; 1.2%, non-CLL
Nieto et al ⁹ 2009	N = 608 Healthy outpatients, Spain Ages: 40–97 yrs	8	CD3, CD5, CD8, CD10, CD19, CD20, CD23, CD45, CD56, κ, λ, Bcl2	≥ 5 × 10 ⁶	12% >20%, > 60 yrs	2.3%, non-CLL
Rawstron et al ² 2002	N = 910 Outpatients or ER patients with normal blood counts, UK Ages: > 40 yrs	4	CD5, CD19, CD20, CD79b or CD5, CD19, κ, λ	≥ 2 × 10 ⁶	3.5%, all ages; 5.0%, > 60 yrs	1.0%, non-CLL
Rawstron et al ³ 2008	N = 2,228 Outpatients with lymphocytosis, UK Ages: 39–99 yrs	4	CD19, CD5, κ, λ	5 × 10 ⁶	13.9%	NS

Mowery et al, 2012

À CLL-like MBL > atypical/non-CLL-like MBL



Prévalence 100x plus élevée pour MBL versus LLC

Prédisposition familiale

À Prévalence plus élevée chez individus issus de familles LLC

Study		Flow Cytometry Parameters			Prevalence	
Study	Population Characteristics	No. of Colors	Markers Assessed	No. of Events	CLL-Like MBL	Atypical CLL and/or Non-CLL-Type MBL
Rawstron et al ¹⁴ 2002	N = 59 First-degree relatives of patients with familial CLL, UK Ages: 23–86 yrs	4	CD5, CD19, CD20, CD22, CD79b, κ , λ , FMC7	NS	13.6%	1.7%
Rawstron et al ² 2002	N = 910 Outpatients or ER patients with normal blood counts, UK Ages: > 40 yrs	4	CD5, CD19, CD20, CD79b or CD5, CD19, κ , λ	$\geq 2 \times 10^5$	3.5%, all ages; 5.0%, > 60 yrs	1.0%, non-CLL

➡ Rapport 4x

Mowery et al, 2012

Prévalence augmente avec l'âge

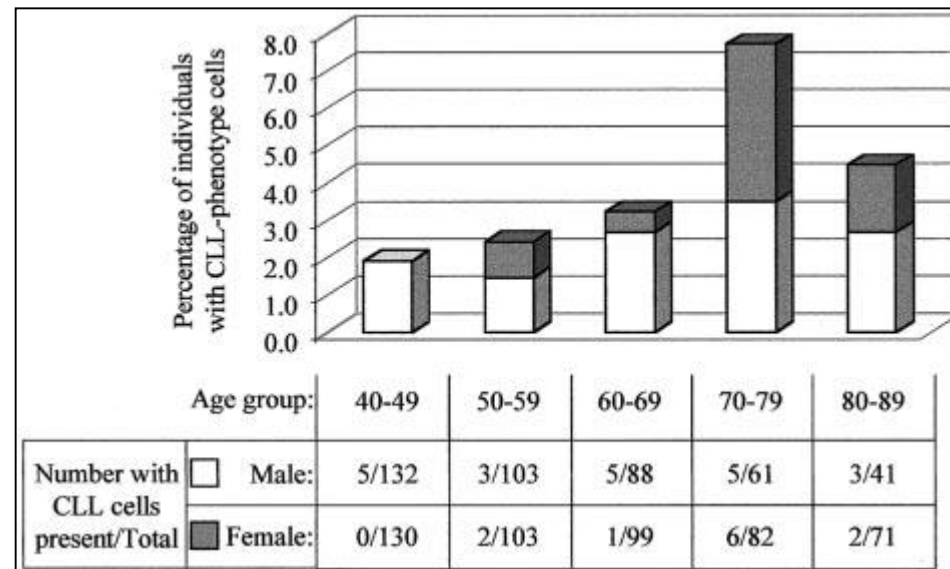
Table 1. Frequency of all types of MBL and of CLL-like MBL in different age groups

Age group, y	All individuals	All MBL (%)	CLL-like MBL (%)	Non-CLL-like MBL (%)*
<40	403	7 (1.7)	1 (0.2)	6 (1.5)
40-49	235	6 (2.5)	4 (1.7)	2 (0.9)
50-59	317	19 (6.0)	15 (4.7)	4 (1.3)
60-69	355	37 (10.4)	31 (8.7)	6 (1.7)
70-79	264	34 (12.9)	24 (9.1)	10 (3.8)
≥80	151	25 (16.5)	14 (9.3)	11 (7.3)
Total	1725	128 (7.4)	89 (5.2)	39 (2.3)

*Includes CD5⁻ and atypical CLL-MBL.

Dagklis et al., 2009

Prévalence 2X plus importante chez l'homme que chez la femme



Prévalence MBL : ho:fe = 2.2:1

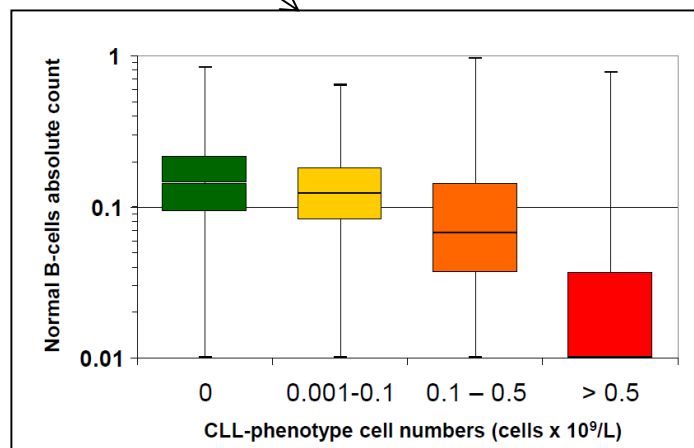
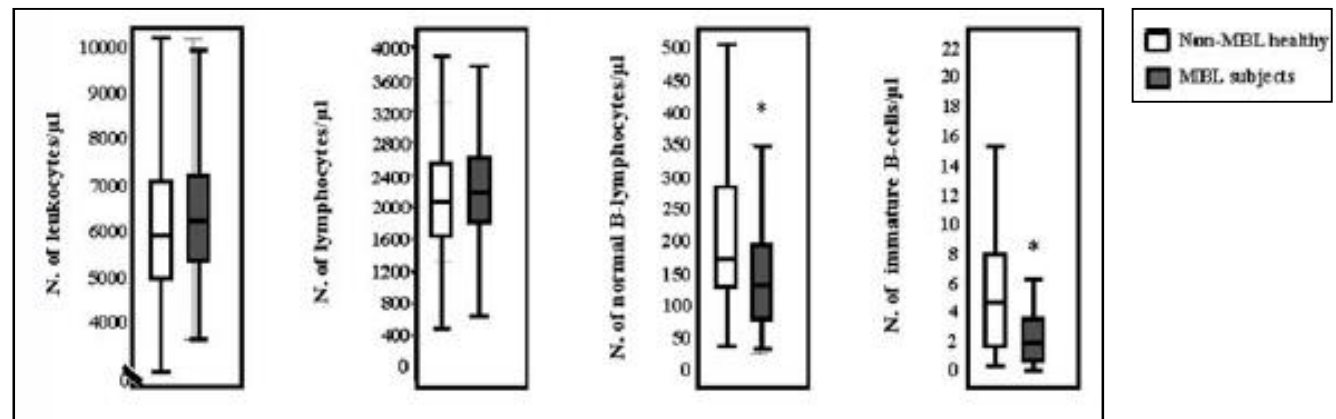
Rawstron et al., 2002

Prévalence MBL : 9.9% ho versus 5.5% fe

Prévalence CLL-like MBL : 6.7% ho versus 3.9% fe

Dagklis et al., 2009

Comparaison valeurs absolues des leucocytes - lymphocytes



Clinical MBL versus Low Count MBL

Après investigation d'une lymphocytose ou de lymphocytes atypiques au microscope:

- 15% des cas:
500-1900 cellules B monoclonales/ μ L
- 85% des cas:
> 1900 cellules B monoclonales/ μ L

Lors d'un screening de la population
(*ex Nieto et al, 2009*):

- 40% des cas:
<50 cellules B monoclonales/ μ L
- 45% des cas:
50-500 cellules B monoclonales/ μ L
- 15% des cas:
> 500 cellules B monoclonales / μ L

CLINICAL MBL:

- lymphocytose B absolue accrue
- >90% de cellules B monoclonales

LOW-COUNT MBL :

- lymphocytose B absolue normale
- < 10% de cellules B monoclonales

Anomalies chromosomiques dans les CLL-like MBL

La majorité des CLL-like MBL ont une délétion 13q (facteur de bon pronostic pour la LLC)

	B-cells with CLL-phenotype	Délétion 13q	Trisomie 12	Délétion 11q	Délétion 17p
LLC (Dohner et al, 2000)		55% (178/325)	16% (53/325)	18% (58/325)	7% (23/325)
MBL (Shanafelt et al, 2009)	100%	44% (56/126)	18% (23/126)	2% (2/126)	3% (4/126)
MBL (Rawstron et al, 2008)	100%	58% (19/33)	21% (7/33)	6% (2/33)	3% (1/33)
MBL without lymphocytosis (Rawstron et al, 2008)	80%	39% (15/38)	18% (4/22)	0% (0/21)	0% (0/10)
MBL in CLL families (Lanasa et al, 2008)	25%	67% (5/9)			
Low count MBL (Nieto et al, 2009)	0.4%	36% (16/45)	8% (4/45)	0% (0/45)	0% (0/45)

IGHV dans les CLL-like MBL

La majorité des CLL-like MBL sont hypermutés IGHV (facteur de bon pronostic pour la LLC)

	B-cells with CLL-phenotype	Cases with <98% IGHV homology	Predominant CLL-phenotype cell IGHV gene	Similar to CLL
MBL (Shanafelt et al, 2009)	100%	18/20 (90%)	3-07, 3-23, 4-34	YES
MBL (Rawstron et al, 2008)	100%	84/109 (77%)	3-07, 1-69, 4-34, 3-23	YES
MBL without lymphocytosis (Rawstron et al, 2008)	80%	18/20 (90%)	3-07, 3-23, 4-34	YES
MBL in CLL families (Lanasa et al, 2008)	25%	12/16 (75%)	3-07, 4-34	YES
Dagklis et al, 2009	7%	36/51 (70%)	4-59, 4-61	NO
Low count MBL (Nieto et al, 2009)	0.4%	2/7 (29%)	No CLL-associated	NO

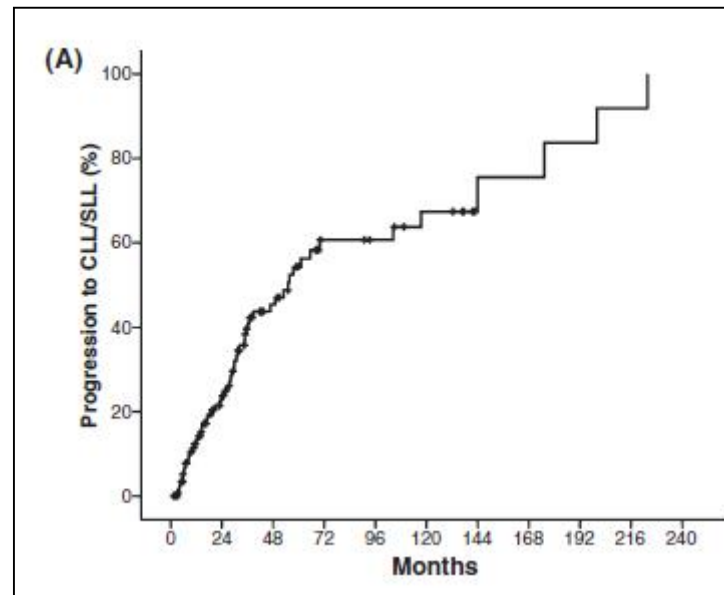
	CLL-like MBL Low Count	CLL-like MBL Clinical
IGHV	Répertoire différent à LLC	Répertoire similaire à LLC



Low Count MBL ne représenteraient pas un état préleucémique
contrairement aux Clinical MBL

Progression MBL en SLL/LLC

- À Le risque de progression d'une MBL en LLC/SLL est de 10% par an les 6 premières années et puis de 3% par an les années suivantes (median time to progression to LLC/SLL: 55 mois)



Rossi et al, 2009

- À Aucun plateau n'a été identifié, suggérant que toutes les MBL progresseraient en LLC si projection à long terme selon Rossi et al, 2009; alors que Marti et al, 2007 suggèrent que les MBL peuvent aussi disparaître spontanément ou rester stable à long terme (low-count MBL).

Progression MBL en SLL/LLC

nécessitant un traitement

	SLL	CLL-like MBL	Atypical MBL	Non-CLL like MBL
Risque de progression requérant un traitement	5-7% / an	Clinical: 1-2% / an Low Count : Négligeable	Non défini	Non défini

	Early stage CLL		CLL-type MBL (clinic MBL)	CLL-like B-cells (low-count MBL, population MBL)
	B-cell count >10 x 10 ⁹ /L (10000/μL)	B-cell count 5 -10 x 10 ⁹ /L (5-10,000/μL)		
Likely to require treatment for disease progression in 10 years	>50%	20-50%	~10%	Negligible

Facteurs prédictifs pour progression MBL en SLL/LLC asymptomatique

Rossi et al., 2009

Table III. Variables at clinical MBL diagnosis predicting progression to overt asymptomatic CLL/SLL.*

	Events/N	Median time to progression (months)	P
Biological variables at diagnosis			
<i>IGHV</i> homology < 98%	36/84	57.5	0.088
<i>IGHV</i> homology ≥ 98%	14/21	31.3	
Non stereotyped HCDR3	34/81	55.6	0.151
Stereotyped HCDR3	15/20	48.9	
FISH Döhner			
Normal/del13q14	37/82	57.5	0.117
+12/del17p13	14/23	29.8	
CD38 < 30%	41/92	55.0	0.359
CD38 ≥ 30%	13/27	48.9	
ZAP70 < 20%	28/58	48.9	0.328
ZAP70 ≥ 20%	18/39	69.8	
CD49d < 30%	21/39	55.6	0.607
CD49d ≥ 30%	11/24	55.0	
Clinical variables at diagnosis			
Age < 70 years	33/62	61.0	0.599
Age ≥ 70 years	23/61	38.7	
Female	27/63	52.2	0.398
Male	29/60	57.5	
CLL-phenotype lymphocyte count			
≤1.2 × 10 ⁹ /l	3/21	199.9	<0.001
1.2–3.7 × 10 ⁹ /l	24/62	65.4	
>3.7 × 10 ⁹ /l	29/40	31.3	
BM lymphocytes < 30%	20/54	36.7	0.586
BM lymphocytes ≥ 30%	21/32	52.8	
Hb ≥ 130 g/l	49/100	48.9	0.308
Hb < 130 g/l	7/23	57.5	
Platelet count ≥ 200 × 10 ⁹ /l	38/83	61.0	0.686
Platelet count < 200 × 10 ⁹ /l	18/40	55.0	
Beta-2-microglobulin ≤ 2.5 mg/l	40/79	55.0	0.945
Beta-2-microglobulin > 2.5 mg/l	11/25	46.7	
LDH ≤ 480 U/l	54/111	55.0	0.538
LDH > 480 U/l	2/9	58.9	

Facteurs prédictifs pour progression

MBL en LLC **nécessitant un traitement**

	Time to treatment			Difference in time to treatment, <i>P</i>
	n (events)	C-statistic (SE)	HR (95% CI)	
B-cell count ≥ 11 vs $< 11 \times 10^9/L$	456 (51)	0.64 (0.04)	3.02 (1.74-5.23)	<.001
ALC ≥ 12 vs $< 12 \times 10^9/L$	456 (51)	0.62 (0.04)	2.28 (1.31-3.97)	.003
CD38 / CD49d	435 (48)	0.64 (0.04)	3.21 (1.82-5.70)	<.001
ZAP-70	275 (22)	0.76 (0.05)	5.82 (2.48-13.66)	<.001
IGHV (unmutated)	274 (35)	0.72 (0.04)	6.25 (3.03-12.5)	<.001
FISH	297 (34)	0.58 (0.04)	3.48 (1.51-8.01)	.01
Favorable (normal, 13q-, +12)				
Unfavorable (17p-, 11q-)				

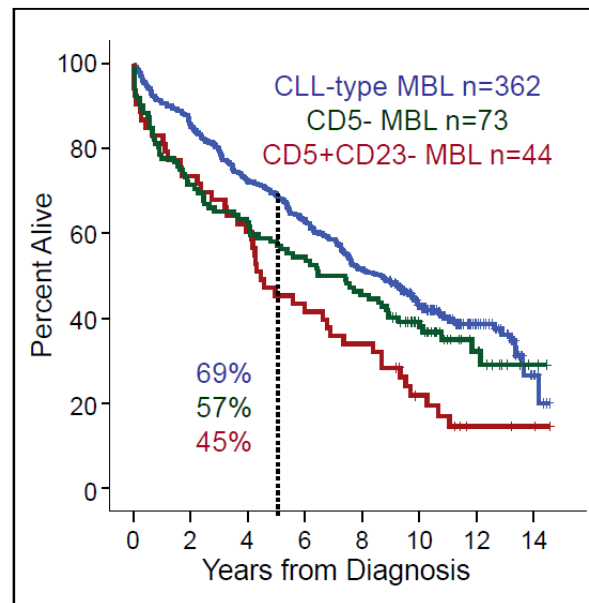
Shanafelt et al., 2009

Risque d'infection sévère

	Early stage CLL		CLL-type MBL (clinic MBL)	CLL-like B-cells (low-count MBL population MBL)
	B-cell count >10 x 10 ⁹ /L (10000/μL)	B-cell count 5 -10 x 10 ⁹ /L (5-10,000/μL)		
Increase in relative risk of severe infection	5-fold		3-fold	No increase in risk of infection

Risque de mortalité

	Early stage CLL		CLL-type MBL (clinic MBL)	CLL-like B-cells (low-count MBL, population MBL)
	B-cell count >10 x 10 ⁹ /L (10000/μL)	B-cell count 5 -10 x 10 ⁹ /L (5-10,000/μL)		
Overall survival relative to the general population	~20% reduction in ten-year survival		10-20% reduction in ten-year survival	No difference



Rawstron

Examens au diagnostic

Diagnostic	CLL-like MBL (Clinical/Low count)	Atypical MBL	Non-CLL like MBL
Anamnèse (symptômes?, histoire familiale?)	A faire	A faire	A faire
Examen physique (organomégalie?)	A faire	A faire	A faire
Hémogramme	A faire	A faire	A faire
Immunophénotypage	A faire	A faire	A faire
Translocation t(11,14)	/	A faire	/
CT scan	/	A faire	A faire
Biopsie moelle osseuse	/ (sauf si cytopénie)	A faire	A faire
Facteurs pronostics (IGHV, ...)	/	/	/



Si infiltration médullaire ou t(11,14):
Classification en Lymphome non-Hodgkinien

Suivi des MBL

	CLL-like MBL Low Count	CLL-like MBL Clinical	Atypical MBL / Non-CLL like MBL
Suivi	Médecin généraliste	Hématologue	Hématologue
Fréquence	Pas d'indication de monitoring	Annuel	3 à 6 mois (si phénotype LNH agressif) 12 mois (si phénotype LNH indolent)
Anamnèse (symptômes?) + Apprendre au patient à identifier la survenue de symptômes	A faire	A faire	A faire
Examen physique	A faire	A faire	A faire
Hémogramme	A faire (1x/an)	A faire (tous les 6-12 mois)	A faire (tous les 6-12 mois)
Immunophénotypage	/	A faire	A faire
CT scan	/	/	A faire (au moins tous les 6 mois si LNH agressif)
Facteurs pronostics	Pas assez de données	Pas assez de données	Pas assez de données

Classification WHO

- Å Pas de code actuellement; CLL-like MBL sont groupés dans le code LLC
- Å Problème éthique....
 - ï prêts bancaires-assurances: il vaut mieux classer en lymphocytose
 - ï remboursement du monitoring: il vaut mieux classer en LLC

 **Importance d'un code dans la classification WHO**

MBL en transfusion

À Transfusion

- ï Peu d'implication
 - ï Prévalence faible chez les donneurs de sang (population assez jeune)
 - ï Produits sanguins irradiés ou déplétés en leucocytes (Cerhan et al, 2001; Castillo et al, 2010)

Study		Flow Cytometry Parameters			Prevalence	
Study	Population Characteristics	No. of Colors	Markers Assessed	No. of Events	CLL-Like MBL	Atypical CLL and/or Non-CLL-Type MBL
Shim et al ¹⁰ 2007	N = 1,926 General population, US Ages: 40–76 yrs	2	CD19 or CD20, CD45, CD3, CD5	NS	0.6%	NS
Rachel et al ¹¹ 2007	N = 5,141 Blood donors, US Ages: 17–70+ yrs	2	CD19, CD5; extended panel on select samples: CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD10, CD14, CD20, CD23, κ , λ	NS	0.14%, all ages; 0.93%, ≥ 65 yrs; 1.47%, ≥ 70 yrs	NS

À Transplantation de cellules souches

- ï Implication plus compliquée en cas de transplantation d'un patient atteint de LLC (surtout si donneur issu d'une famille LLC)
- ï Exclure si possible donneurs avec clinical MBL pour minimiser le risque de transfert de cellules B monoclonales
- ï Ethique: Que faire en l'absence d'autres options thérapeutiques ou d'un autre donneur compatible???? Analyser le rapport risque/bénéfice d'utiliser un donneur MBL au cas par cas....

En pratique au laboratoire

À **Typage hématopoiétique à ajouter par le biologiste quand:**

- ï Lymphocytose > 5000 / mm³ non connue
- ï Lymphocytes atypiques à la formule microscopique
- ï Présence de débris cellulaires type ombres de Gumprecht
- ï Inversion de formule marquée sans contexte clinique (infection, chimio,...)
principalement chez une personne « âgée »



Feuille de travail « Lymphocytose suspecte »

• Indication : Lymphocytose suspecte / Typage lymphocytaire

• Prélèvement : SANG ☐ Hép. ☐ EDTA LyseWash OUI ☐

• Gl. Bl. : cell/μl Prescript. : Jour : / /

• Atcd / données complément. :

Tubes :

☒ DR (F) - CD8 (PE) - CD4(Percp) - CD56 (PC7) - CD3 (Apc)

☒ Kappa(F) - Lambda(PE) - CD... (Percp) - CD19(PC7) - CD5(Apc) - CD10(AH7) - CD20(V450) - CD45(V500)

Suite :

☐ CD¹⁵/₂₂(F) - CD¹³/_{11c} (PE) - CD34 (Percp) - CD117(PC7) - CD33 (Apc) - CD14 AH7 - CD2(V450) - CD45(V500)

☐ CD22(F) - CD11c(PE) - (Percp) - CD14 (Apc)

☐ FMC7(F) - CD79b(PE) ☐ CD2(F) - CD23 (PE)

T : CD1, CD2, CD3 + TCR αβ et γδ, CD4 + CD45RO / CD45RA, CD5, CD7, CD8, CD25 ... B : CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, FMC7, CD79b, CD24, CD200, CD180, CD43, HLADR, CD138 ... NK : CD16, CD56, CD57 ... Mvêlo / Mono : CD13, CD14, CD15, CD33 ... Progéniteurs : CD34, CD117 Autres : CD30, CDw65, CD11b, CD11c CD38, CD45, CD103 ... Fix&Perm : CD13, MPO, CD3, TDT, CD22, CD79a, IgM ...

Nom :
Prénom :
D.N. :

Origine :
Typage :
Lecture :

FHL (%) :

N : Eo :

Ly : B :

M : Autre :

Plt : *10³ Hb : g

Indication :

Ccl :

Σ Ac = 11

Ly. T : % ☐ OK

Ratio CD4/CD8 :

%CD4 : %CD8 :

%NK : ☐ OK

%Ly. B : ☐ OK

Ly*cytose B monoc : /μl

%CD14 :

%CD34/CD117 : ☐ OK

Pas d'anomalie phén : ☐ OK

Phén. Pop. Anormale :

Val. Ana. :

Val. Méd. :

Comment. Cytologie / autre :

En pratique au laboratoire

À **Typage hématopoiétique à ajouter par la biologiste quand:**

- ï Lymphocytose > 5000 / mm³
- ï Lymphocytes atypiques à la formule
- ï Présence de débris cellulaires type ombre de Gumprecht
- ï Inversion de formule marquée sans contexte clinique (infection, chimio,...) chez une personne « âgée »



Feuille de travail « Lymphocytose suspecte »

À **Typage hématopoiétique sur demande d'un médecin prescripteur**



Feuille de travail « Lymphome LNH »

Indication : **Lymphome / LNH MCL / LNH folliculaire / LLC**

Prélèvement : ☒ SAN ☐ Hép. EDTA Lyse Wash ☐ OUI

Gl. Bl. : cell./ μ l Prescript. : Jour : / /

Atcd / données complément. :

Nom :

Prénom :

D.N. :

Origine :

Typage :

Lecture :

☒ HLA-DR (F) – CD8 (PE) – CD4(Percp) – CD56 (PC7) – CD3 (Apc)

☒ Kappa(F) – Lambda(PE) – CD... (Percp) – CD19(PC7) – CD5(Apc) – CD10(AH7) – CD20(V450) – CD45(V500)

☒ CD22 (F) – CD11c(PE)

Surface	Matutes		Points
	0	1	
K / L	Mod / intense	Faible	
CD5	-	+	
CD23	-	+	
FMC7	+	-	
CD22/79 _b	+	Négatif / Faible	
Score ≥ 4 en faveur de LLC			

Scoring MATUTES:

☐ FMC7 (F) – CD23 (PE) – CD2 (V450)

☐ CD5 (F) – CD180 (PE) – CD79b (PcpCy5.5) – CD200 (APC) – CD19 (PC7) – CD43(AH7)

Facteurs pronostiques LLC:

☐ CD52 (FITC) – CD38 (PE) – CD19 (PC7) – CD5 (APC) – CD49d (AH7)

MRD LLC:

☐ CD5 (F) – CD81 (PE) – CD79b (PcpCy5.5) – CD19 (APC) – CD22(PC7) – CD43 (AH7) – CD2(V450) – CD45(V500)

FHL (%) :

N : Fo :

Ly : B :

M : Autre :

Plt : *10³ Hb : g

Indication:

Ccl :

Ly. T : % ☐ OK

Ratio CD4/CD8 :

%CD4 : %CD8 :

%NK : ☐ OK

%Ly. B : ☐ OK

Ly*cytose B monod : / μ l

%CD14 :

%CD34/CD117 : ☐

OK

Pas d'anomalie phén : ☐ OK

Phén. Pop. Anormale:

Val. Ana. :

Val. Méd. :

Comment. Cytologie / autre :

Σ Ac = **13**

En pratique au laboratoire

À En cas de population monoclonale, il faut caractériser la population:

ï Marqueurs supplémentaires

À Score de Matutes

À Nouveaux marqueurs (CD200, CD180, CD43)

$\Sigma Ac = 7$

Scoring MATUTES:

☐ FMC7 (F) – CD23 (PE) – CD2 (V450)

☐ CD5 (F) – CD180 (PE) – CD79b (PcpCy5.5) – CD200 (APC) – CD19 (PC7) – CD43(AH7)

Surface	Matutes		Points
	0	1	
K/L	Mod / Intense	Faible	
CD5	-	+	
CD23	-	+	
FMC7	+	-	
CD22/79b	+	Négatif / Faible	
Score ≥ 4 en faveur de LLC			

	CD20	CD5	CD10	CD23	FMC7 CD22	CD25 CD103 CD11c	Slg	Cycline D1	BCL6	CD43	CD180	CD200
CLL	+	+	-	+	Faible/-	-	faible	-	-	faible	faible	+
MCL	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	faible	-
FL	+	-	+	⁻¹	+	-	+	-	+	-		-
DLBCL	+	-	^{-/+2}	⁻³	+		+	-	⁺⁴	⁻⁵		⁻⁶
PLL	+	⁻⁷	-	-	+	-	+	-	-	⁻⁸	faible	^{+/-}
MZL	+	-	-	⁻⁹	+	^{+/-}	+	-	-	⁻¹⁰	+	-
HCL	+	-	-	-	+	+	+	faible ¹¹	-	-		+
HCLv	+	-	-	-	+	faible	+	faible ¹²	-	-		+

En pratique au laboratoire

Protocole Immunophénotypage:

Lymphocytes T : % ; pas d'expression phénotypique aberrante.

Rapport CD4/CD8 :

Lymphocytes T CD4+ : %

Lymphocytes T CD8+ : %

Lymphocytes NK: %

Lymphocytes B : % (...../μL) ; % monoclonaux (.../μl)

Immunophénotype des cellules lymphomateuses B :

Score de Matutes :

En conclusion, présence d'une population lymphomateuse B décelée dans ce prélèvement compatible avec un phénotype de

OU

En conclusion, présence d'une population lymphomateuse B décelée dans ce prélèvement compatible avec un phénotype de :

LLC-Like MBL versus SLL (cfr. clinique)

atypical MBL versus LNH (cfr. clinique)

non-LLC-Like MBL versus LNH (cfr. clinique)

Un avis hématologique est recommandé.

Ces résultats doivent être intégrés avec ceux de l'anatomopathologie, de la cytologie, de la génétique et de la clinique.

Merci pour votre attention...



	CD20	CD5	CD10	CD23	FMC7 CD22	CD25 CD103 CD11c	Sig	Cycline D1	BCL6	CD43	CD180	CD200	CD81	LAIR1	
CLL	+	+	-	+	Faible/-	-	faible	-	-	faible	faible	+	+= mauvais pronostic	+= bon pronostique	
MCL	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	faible	-			
FL	+	-	+	- ¹	+	-	+	-	+	-		-			
DLBCL	+	-	-/+ ²	- ³	+		+	-	+ ⁴	- ⁵		- ⁶			
PLL	+	- ⁷	-	-	+	-	+	-	-	- ⁸	faible	+/-			
MZL	+	-	-	- ⁹	+	+/-	+	-	-	- ¹⁰	+	-			
HCL	+	-	-	-	+	+	+	faible ¹¹	-	-		+			
HCLv	+	-	-	-	+	faible	+	faible ¹²	-	-		+			

¹ + dans 10-25%

² + =GCB et BCL6+

³ + dans 10-25%

⁴ >50% des cas

⁵ + dans <50% des cas, surtout non-GCB, associé à un pronostic défavorable

⁶ + dans médiastinal

⁷ + dans <25%

⁸ + dans <50% des cas

⁹ + dans 10-25%

¹⁰ - dans splénique mais parfois + dans nodal et extranodal

¹¹ >50% des cas

¹² >50% des cas

Code de remboursement	B500	B400	B200		
HEM	1	12	5		
LEUA	1	25	5		
Immunodéficience (cong/Acq) T_B_NK			5		
PNH	2				
CD34 (num cellules souches)	1				
	<i>Ambu/hosp</i>	<i>SS traitant</i>			
B500 (EUR)	4,08	16,31			
B400 (EUR)	3,26	13,05			
B200 (EUR)	1,63	6,52			
				<i>Ambu/hosp</i>	<i>SS traitant</i>
→ Ly suspecte 11 marqueurs =				36,68	146,81

Cas cliniques

1^{er} Exemple: Ho, 18/06/1952

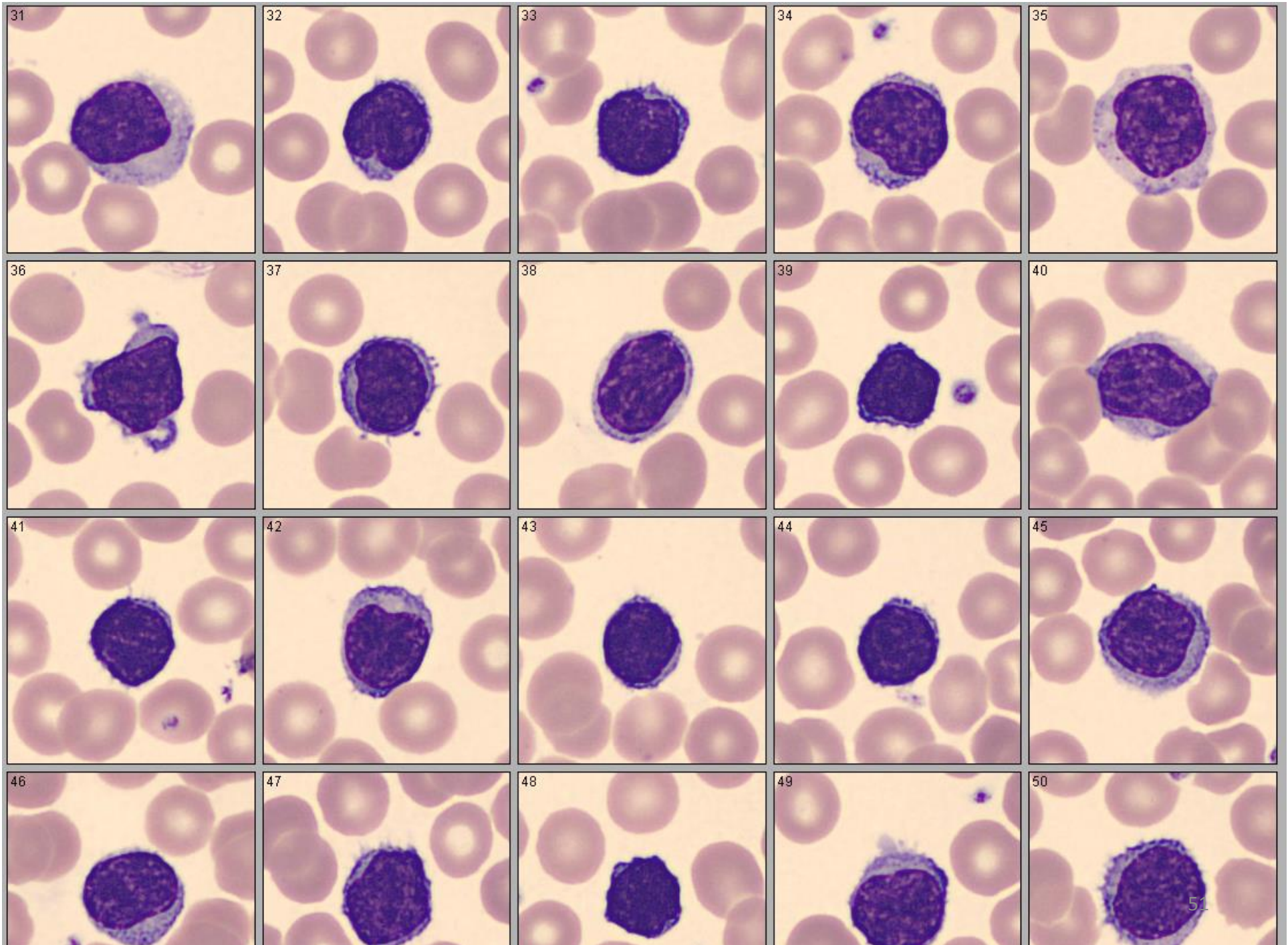
CYTOLOGIE SANGUINE

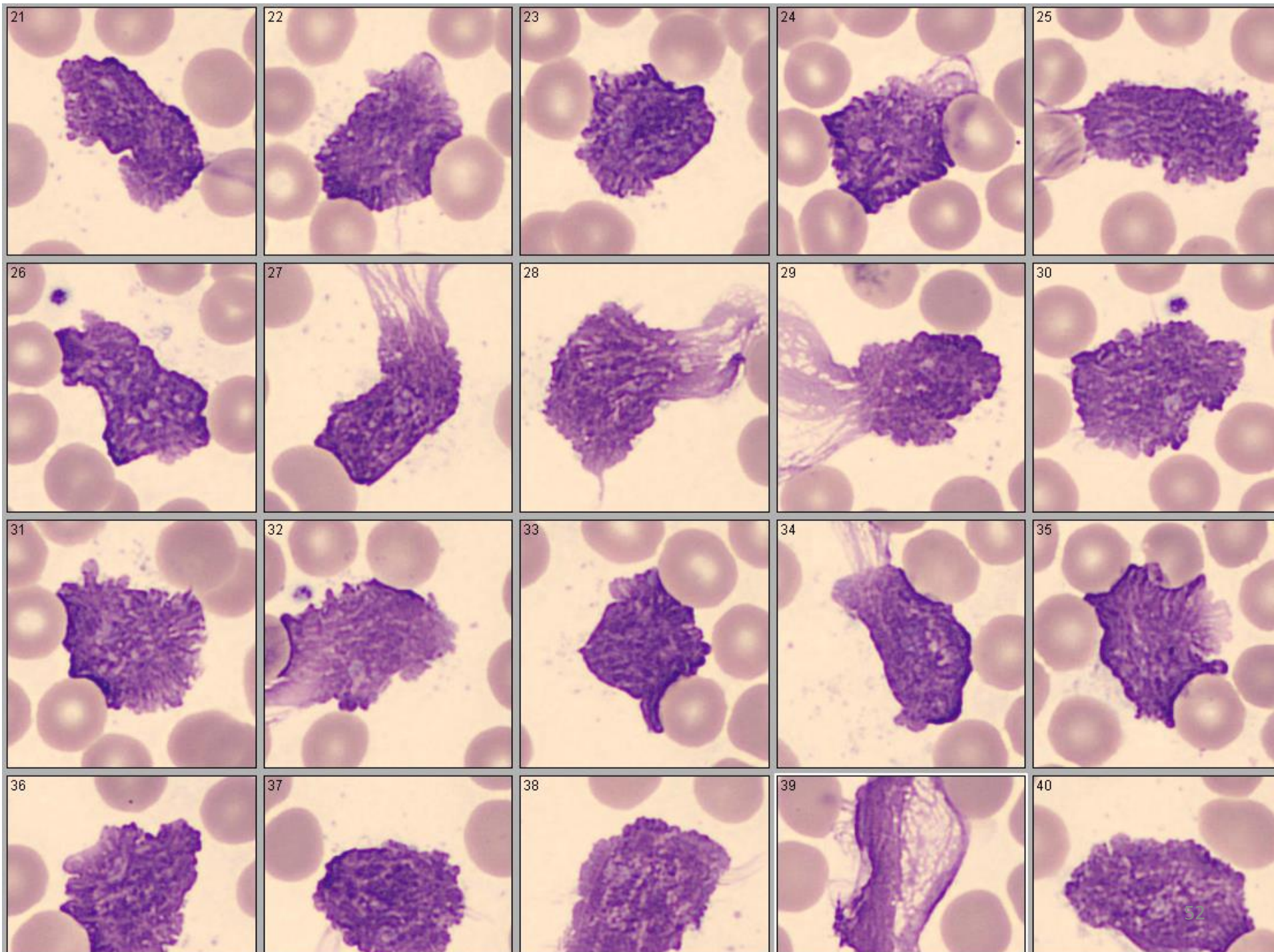
Globules rouges	4.98	$10^6/\text{mm}^3$	4.20 - 5.60
Hémoqlobine	14.5	g/dL	13.3 - 17.2
Hématocrite	42.9	%	39.5 - 50.0
Volume globulaire	86.1	fl	83.7 - 100.8
Valeur globulaire	29.1	pg	27.9 - 33.3
Concentration moyenne Hb	33.8	g/dL	31.0 - 36.2
Réticulocytes	0.7	%	0.5 - 2.4
Réticulocytes abs	34.4	$10^3/\text{mm}^3$	24.8 - 110.3
Hémoqlobine réticulocytaire	31.6	pg	28.0 - 35.0
Plaquettes	228	$10^3/\text{mm}^3$	150 - 353
Globules blancs	7.98	$10^3/\text{mm}^3$	4.60 - 10.10

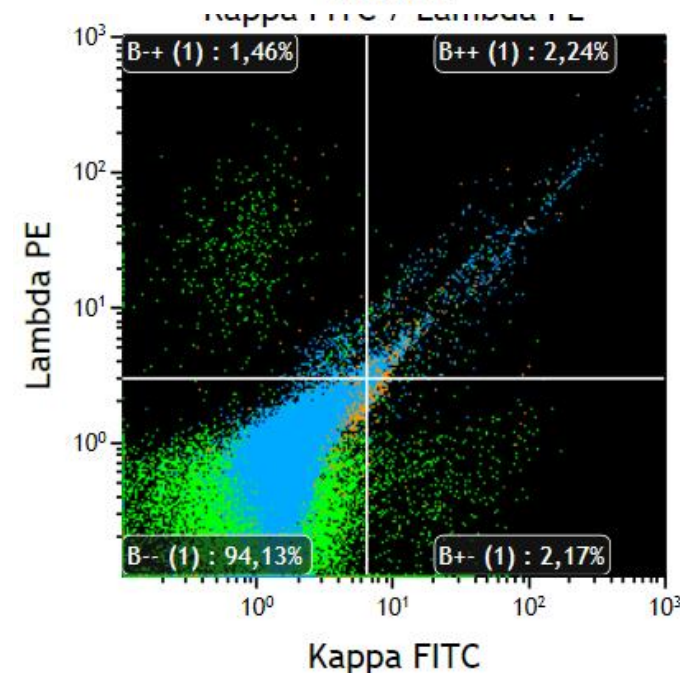
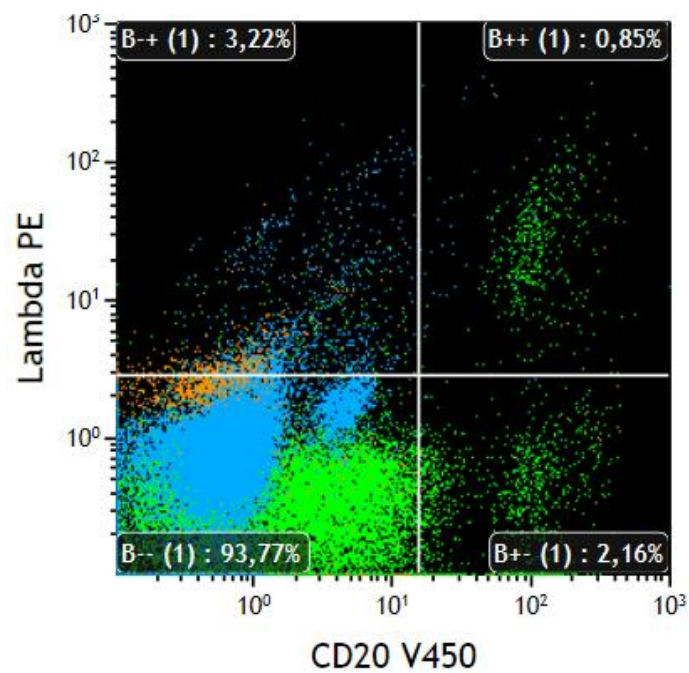
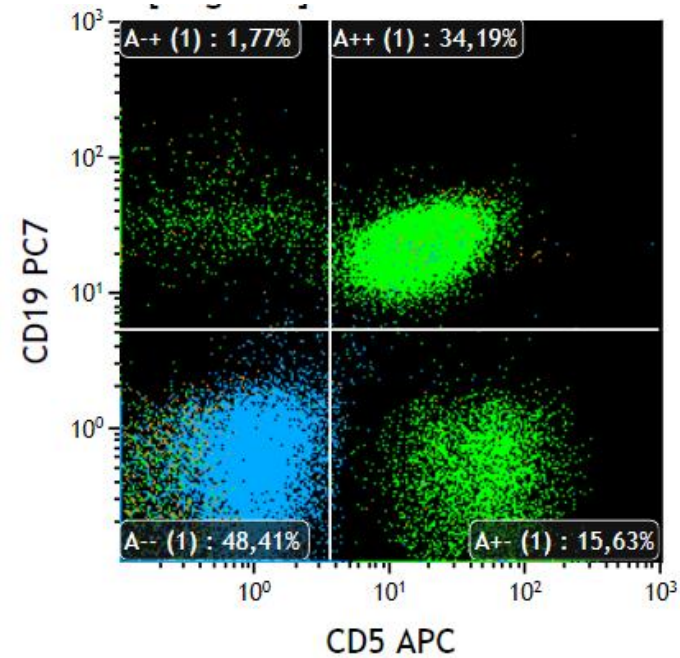
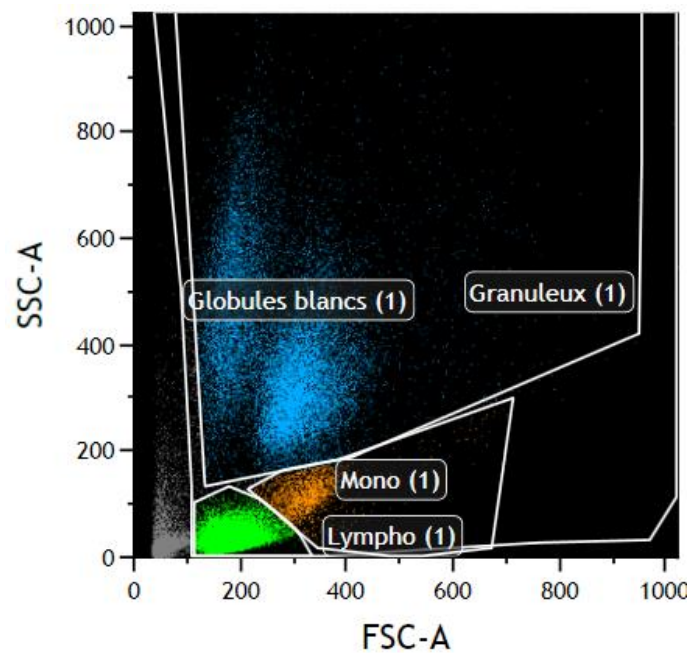
FORMULE LEUCOCYTAIRE

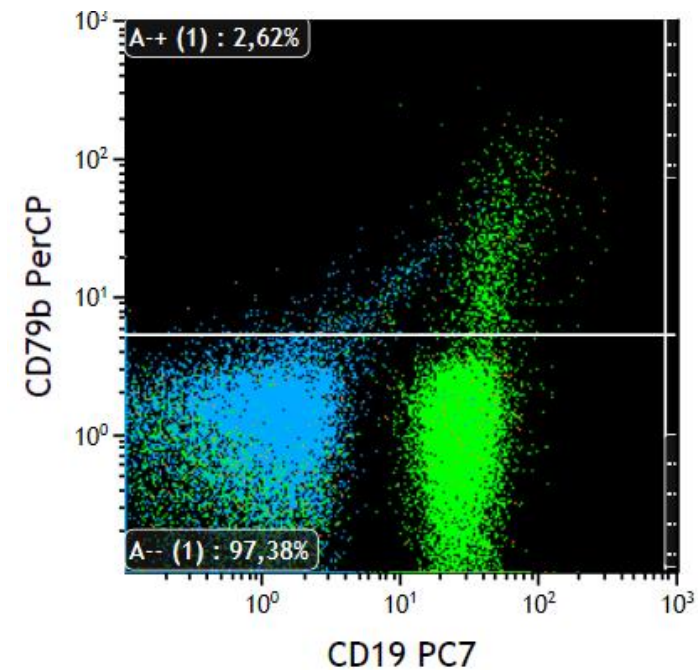
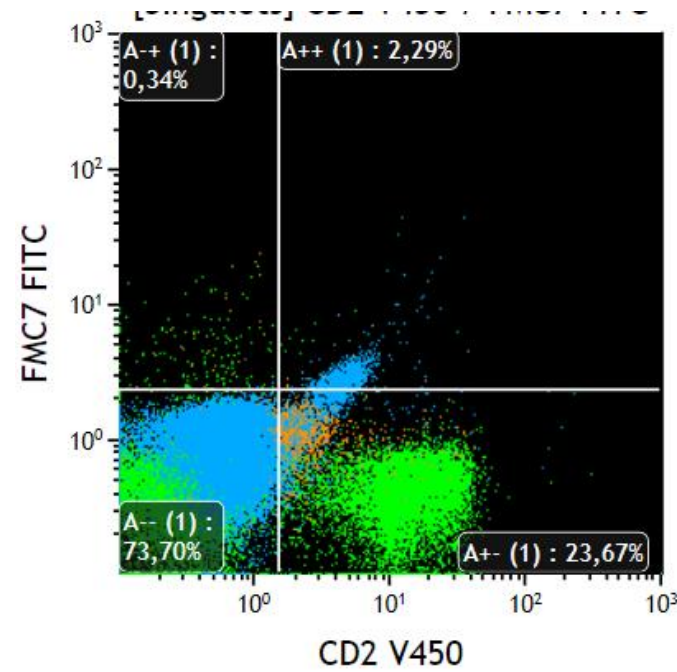
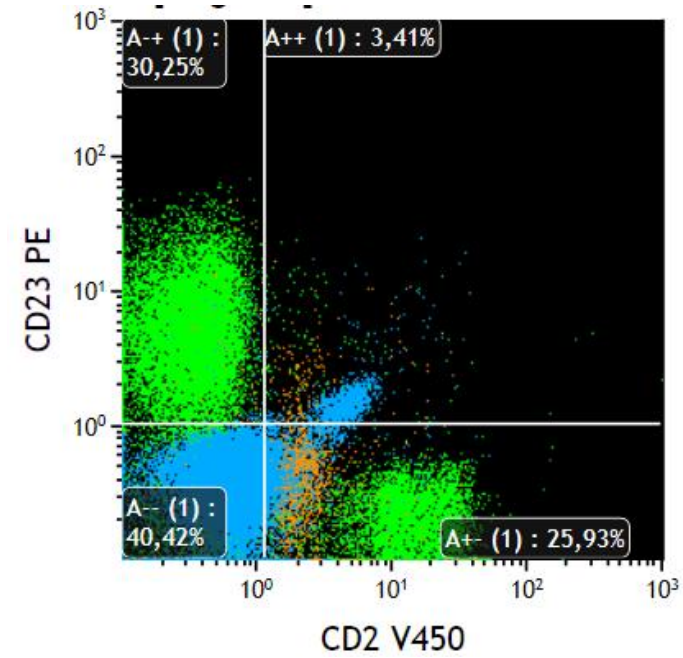
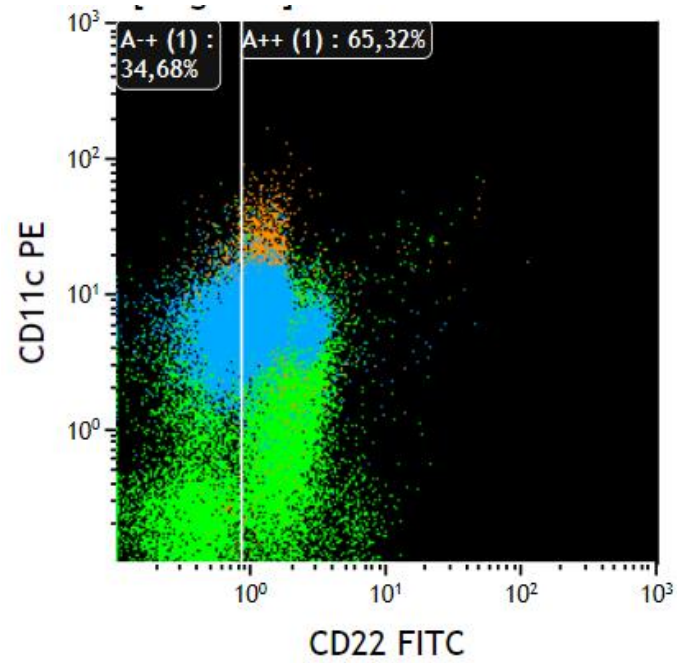
FORMULE MICROSCOPE

Neutrophiles	48.7	%	42.2 - 71.0
Lymphocytes	42.9	%	17.5 - 43.5
Présence de nombreux débris cellulaire. Cfr immunophénotypage.			
Monocytes	5.9	%	5.9 - 13.5
Eosinophiles	2.5	%	0.2 - 7.4
Basophiles	- 0.0	%	0.1 - 1.1
Neutrophiles abs	3.89	$10^3/\text{mm}^3$	2.20 - 6.10
Lymphocytes abs	3.42	$10^3/\text{mm}^3$	1.10 - 3.70
Monocytes abs	0.47	$10^3/\text{mm}^3$	0.30 - 1.10
Eosinophiles abs	0.20	$10^3/\text{mm}^3$	0.00 - 0.50
Basophiles abs	0.00	$10^3/\text{mm}^3$	0.00 - 0.10

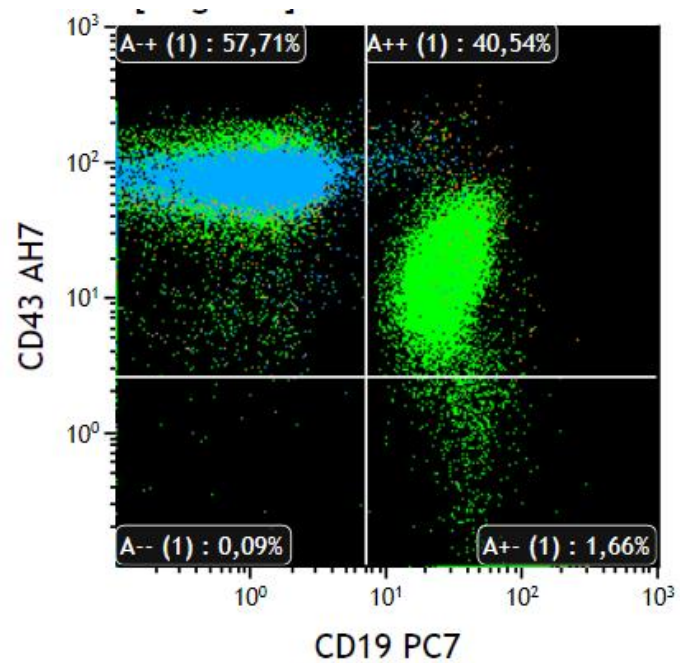
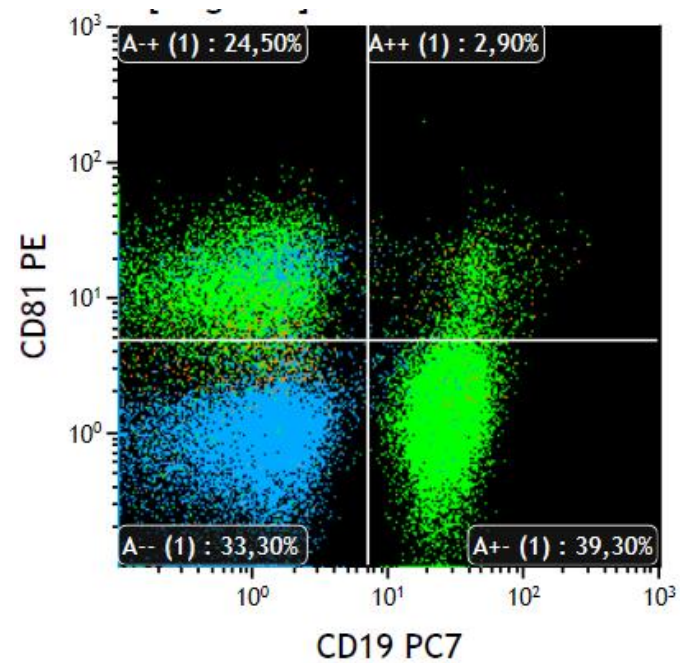
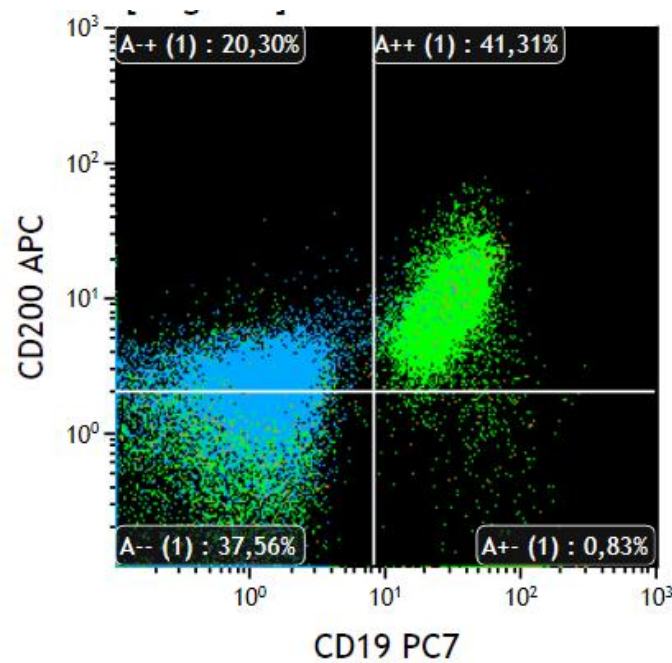






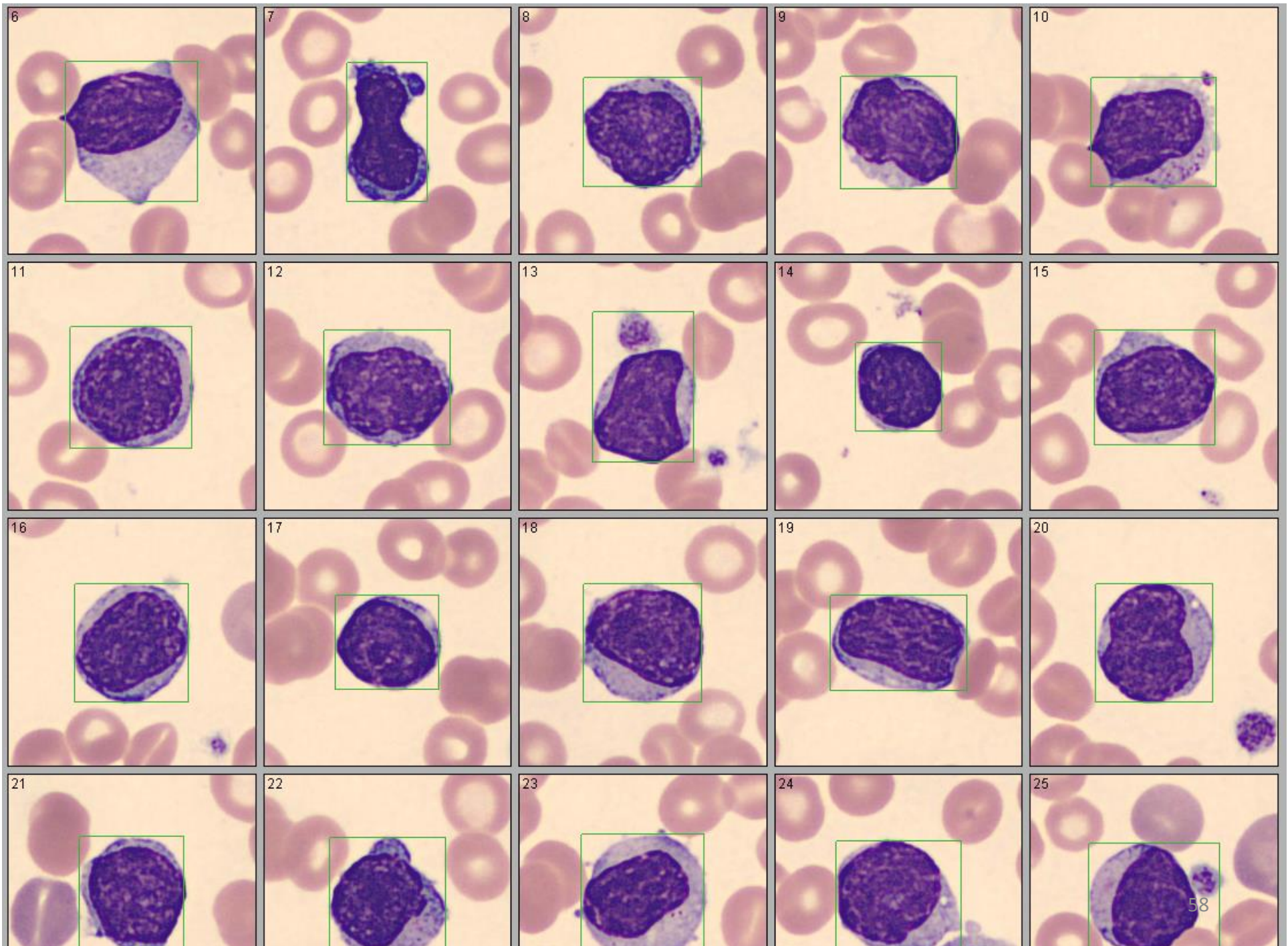


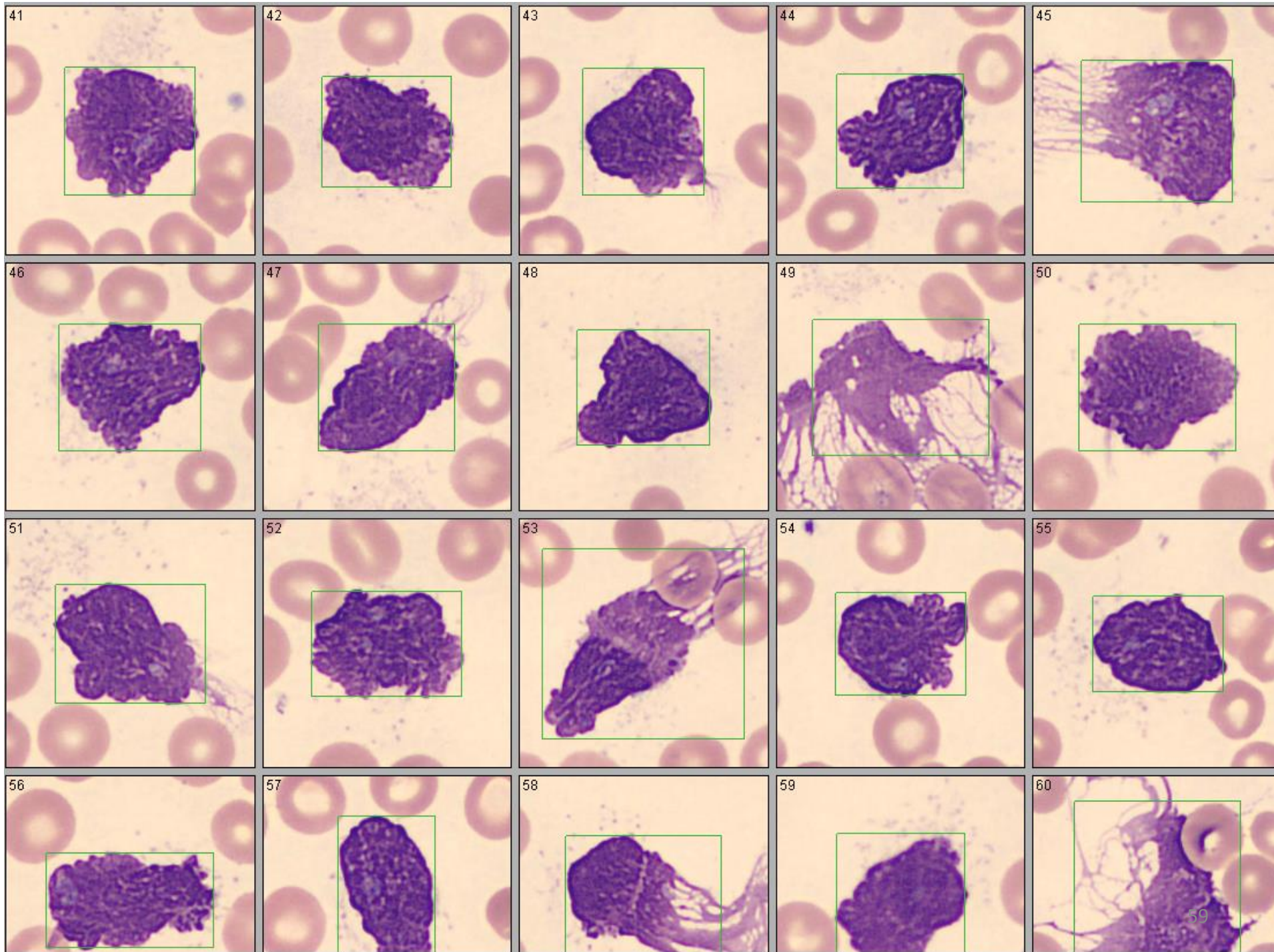
COMMENTAIRE	
Indication	Présence de débris cellulaire.
Antigènes recherchés	voir ci-dessous
	CD4, CD8, CD3, CD5, CD2, CD19, CD20, CD23, CD10, CD22, CD79b, FMC7, sIgKappa, sIgLambda, CD56, CD45, CD11c, HLADR, CD180, CD200, CD43
Conclusion	Lymphocytes T : 15 % ; pas d'expression phénotypique aberrante. Rapport CD4/CD8 : 2.00 Lymphocytes T CD4+ : 10 % Lymphocytes T CD8+ : 5 % Lymphocytes NK : 5 % Lymphocytes B : 36 %; 34 % monoclonaux. Lymphocytose des cellules lymphomateuses B : 2713 / µl L'immunophénotype des cellules lymphomateuses B : CD19+ CD5+ CD23+ CD200+ CD43+ CD20 faible CD22 faible IgS- FMC7- CD79b- CD81-. Score de Matutes : 5 points. En conclusion, présence d'une population lymphomateuse B décelée dans ce prélèvement compatible avec un phénotype LLC : LLC-like MBL versus SLL (cfr. clinique). Un avis hématologique est recommandé. Ces résultats doivent être intégrés avec ceux de l'anatomopathologie, de la cytologie, de la génétique et de la clinique.

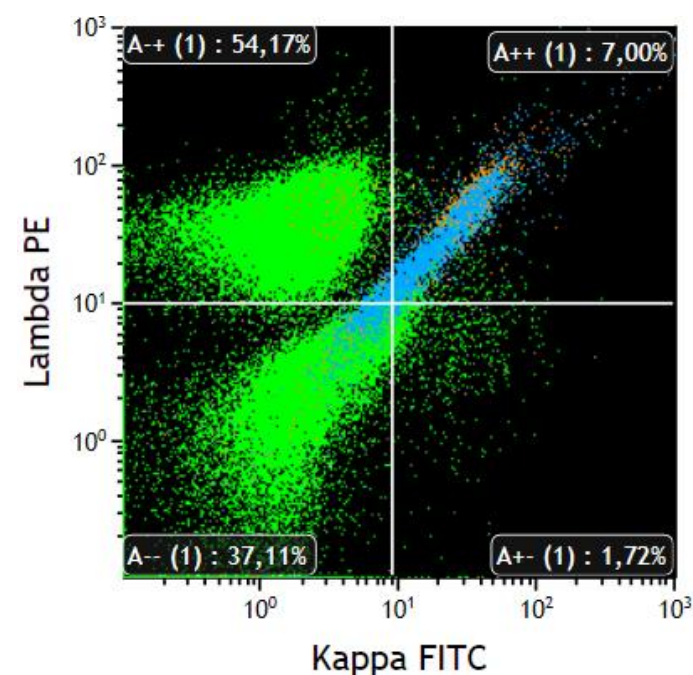
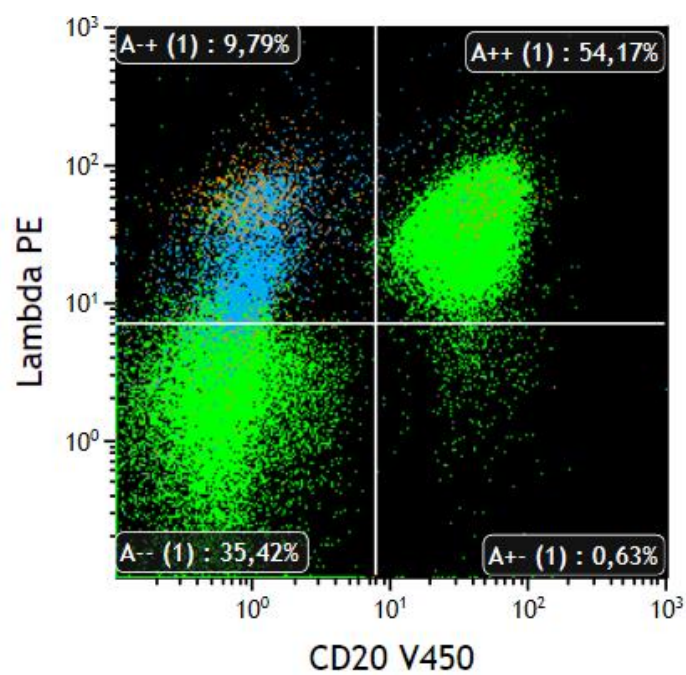
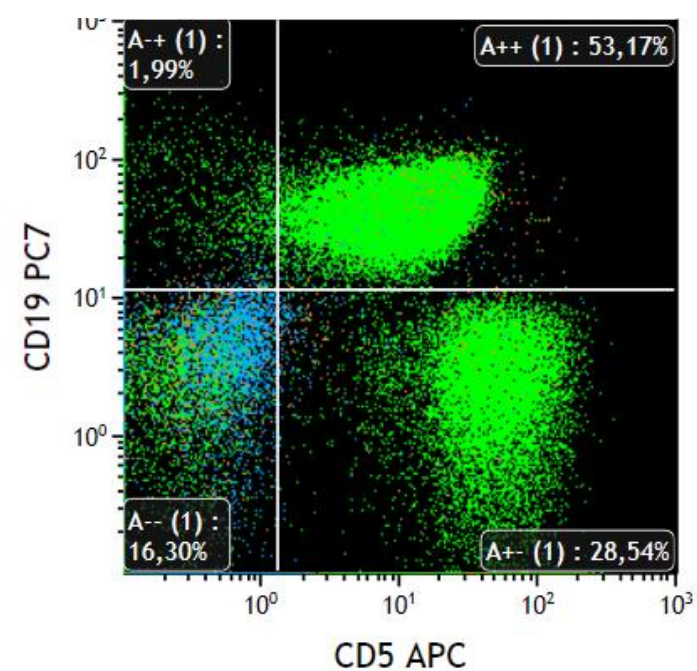
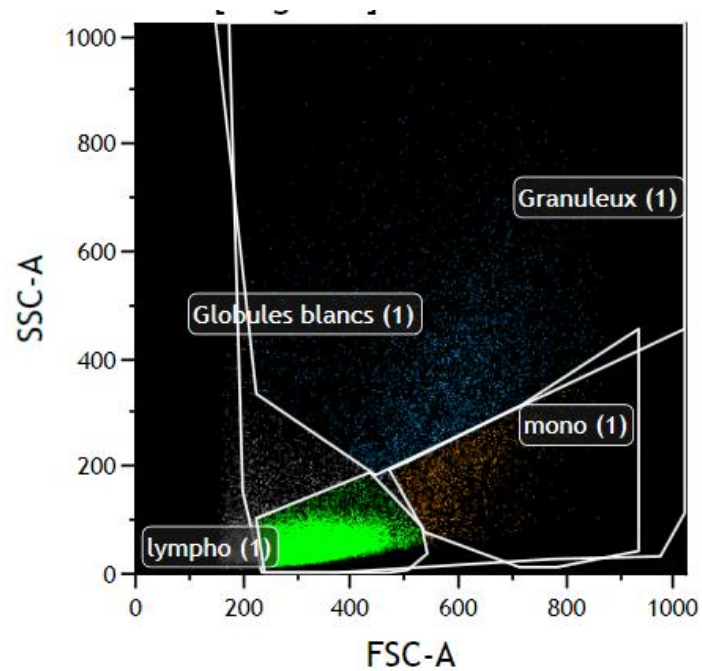


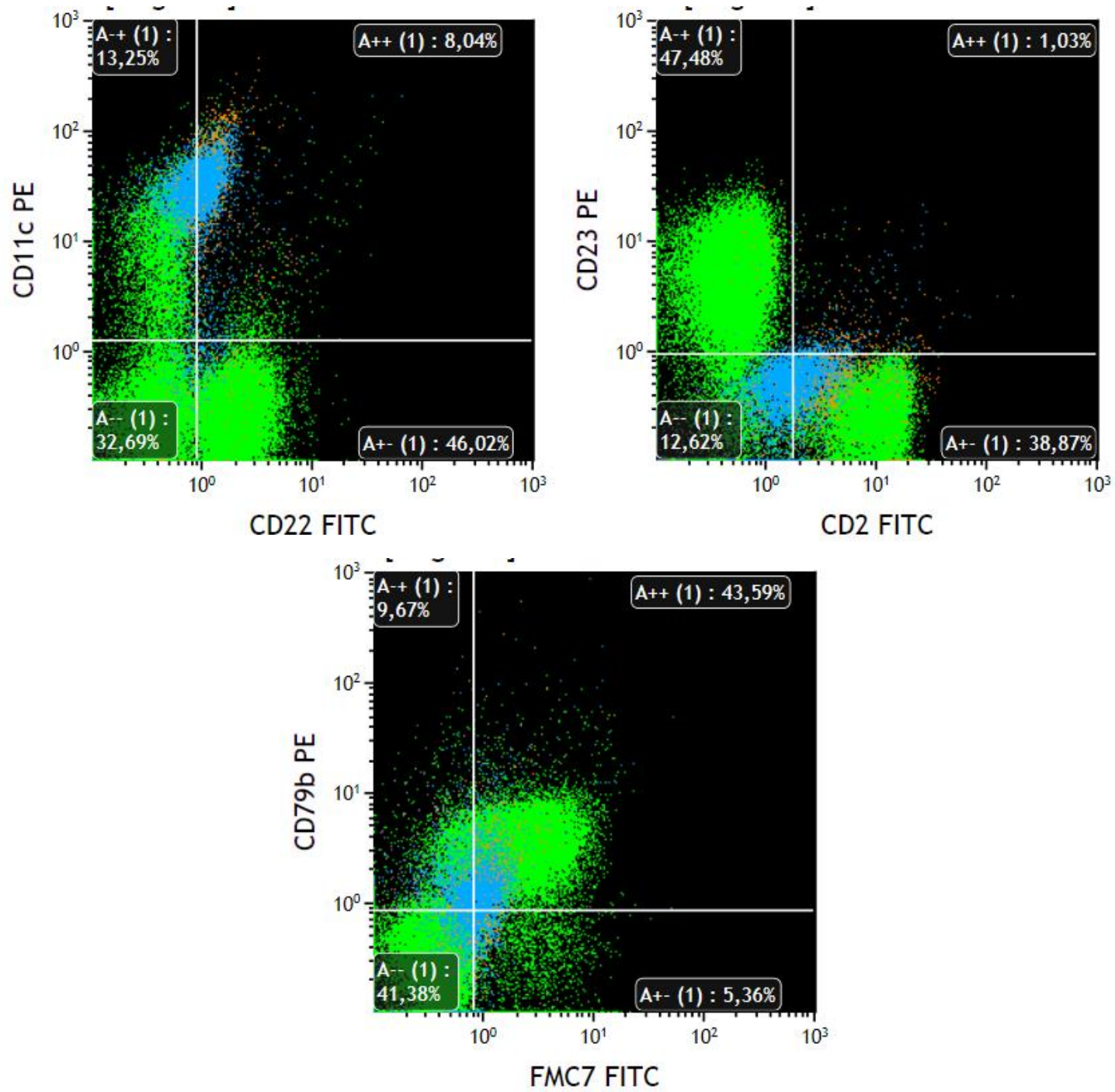
2^{ème} Exemple: Fe, 06/05/1930

CYTOLOGIE SANGUINE			
Globules rouges	4.10	$10^6/\text{mm}^3$	3.90 - 4.90
Hémoqlobine	- 11.4	g/dL	11.7 - 15.0
Hématocrite	- 34.5	%	35.8 - 45.5
Volume globulaire	84.1	fl	83.7 - 100.8
Valeur globulaire	- 27.8	pq	27.9 - 33.3
Concentration moyenne Hb	33.0	g/dL	31.0 - 36.2
Plaquettes	201	$10^3/\text{mm}^3$	150 - 353
Globules blancs	6.34	$10^3/\text{mm}^3$	4.60 - 10.10
FORMULE LEUCOCYTAIRE			
FORMULE MICROSCOPE			
Neutrophiles	- 17.3	%	42.2 - 71.0
Lymphocytes	+ 69.1	%	17.5 - 43.5
Présence de débris cellulaires, cf. immunophénotypage.			
Monocytes	10.0	%	5.9 - 13.5
Eosinophiles	- 0.0	%	0.2 - 7.4
Basophiles	+ 1.8	%	0.1 - 1.1
Lymphocytes activés	+ 1.8	%	0.0 - 0.0
Normoblastes	+ 0.9	%	0.0 - 0.0
Neutrophiles abs	- 1.10	$10^3/\text{mm}^3$	2.20 - 6.10
Lymphocytes abs	+ 4.38	$10^3/\text{mm}^3$	1.10 - 3.70
Monocytes abs	0.63	$10^3/\text{mm}^3$	0.30 - 1.10
Eosinophiles abs	0.00	$10^3/\text{mm}^3$	0.00 - 0.50
Basophiles abs	+ 0.11	$10^3/\text{mm}^3$	0.00 - 0.10









COMMENTAIRE

Indication

Inversion de FHL

Antigènes recherchés

voir ci-dessous

CD4, CD8, CD3, CD5, CD2, CD19, CD20, CD23, CD10, CD22, CD79b,
FMC7, sIgKappa, sIgLambda, CD56, CD45, CD11c, HLADR

Conclusion

Lymphocytes T : 27 % ; pas d'expression phénotypique aberrante.

Rapport CD4/CD8 : 2.00

Lymphocytes T CD4+ : 18 %

Lymphocytes T CD8+ : 9 %

Lymphocytes NK : 7 %

Lymphocytes B : 55 %; monoclonaux.

L'immunophénotype des cellules lymphomateuses B : CD19+ CD20
intense CD5+ CD22 faible FMC7+ CD79b+ CD23+

Lymphocytose des cellules lymphomateuses B : 3487 / μ l

Score de Matutes : 2 points.

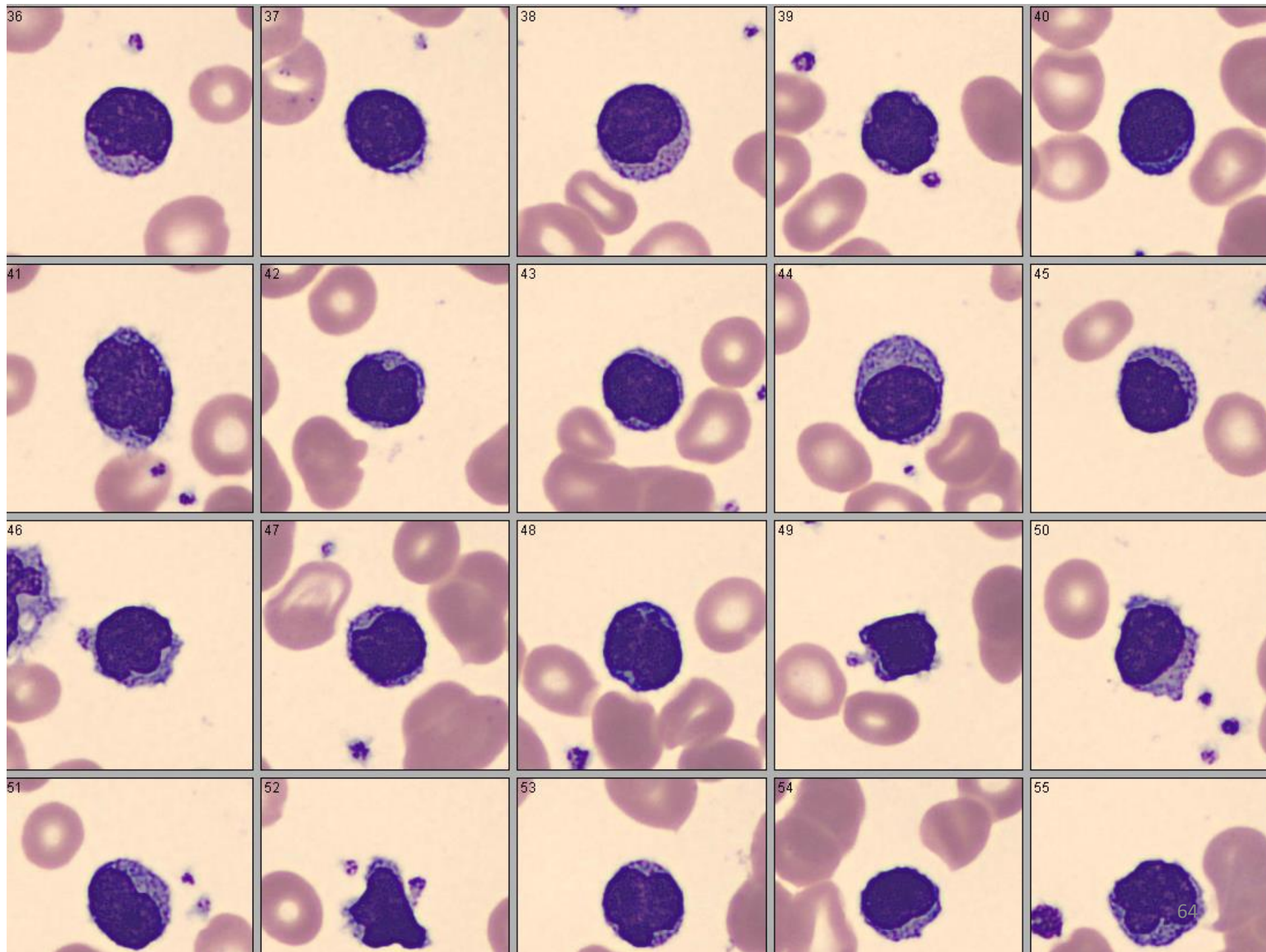
En conclusion, présence d'une population lymphomateuse B
détectée dans ce prélèvement compatible avec un phénotype de
lymphome de type manteau ou zone marginale : atypical MBL
versus LNH. (cfr. clinique).

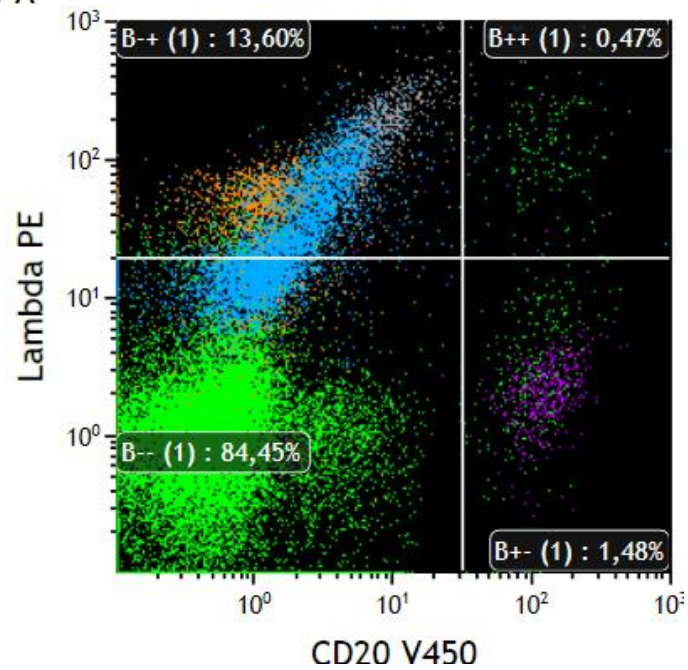
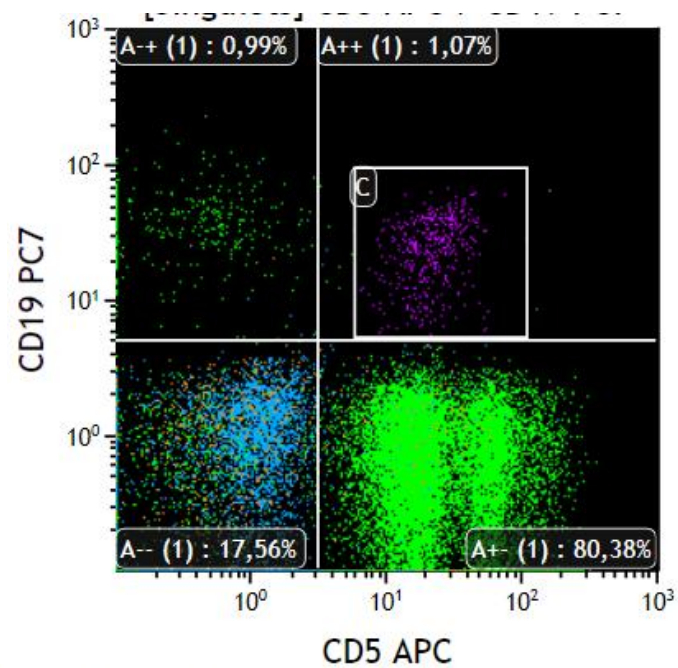
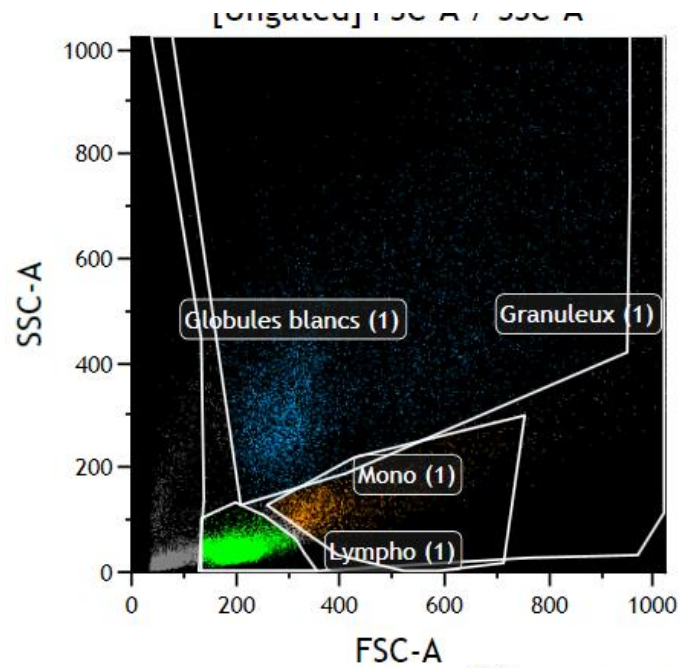
Un avis hématologique est recommandé.

Ces résultats doivent être intégrés avec ceux de
l'anatomopathologie, de la cytologie, de la génétique et de la
clinique.

3^{ème} Exemple: Ho, 09/02/1929

CYTOLOGIE SANGUINE			
Globules rouges	-	1.67	$10^6/\text{mm}^3$ 4.20 - 5.60
Hémoqlobine	-	6.4	g/dL 13.3 - 17.2
Hématocrite	-	18.4	% 39.5 - 50.0
Volume globulaire	+	110.2	fl 83.7 - 100.8
Valeur globulaire	+	38.3	pq 27.9 - 33.3
Concentration moyenne Hb		34.8	g/dL 31.0 - 36.2
Réticulocytes	+	3.0	% 0.5 - 2.4
Réticulocytes abs		49.7	$10^3/\text{mm}^3$ 24.8 - 110.3
Hémoqlobine réticulocytaire	+	39.3	pq 28.0 - 35.0
Plaquettes	+	460	$10^3/\text{mm}^3$ 150 - 353
Globules blancs	+	10.61	$10^3/\text{mm}^3$ 4.60 - 10.10
FORMULE LEUCOCYTAIRE			
FORMULE MICROSCOPE			
Neutrophiles	-	27.4	% 42.2 - 71.0
Lymphocytes	+	63.7	% 17.5 - 43.5
Cf. immunophénotypage.			
Monocytes		7.1	% 5.9 - 13.5
Eosinophiles	-	0.0	% 0.2 - 7.4
Basophiles	+	1.8	% 0.1 - 1.1
Neutrophiles abs		2.91	$10^3/\text{mm}^3$ 2.20 - 6.10
Lymphocytes abs	++	6.76	$10^3/\text{mm}^3$ 1.10 - 3.70
Monocytes abs		0.75	$10^3/\text{mm}^3$ 0.30 - 1.10
Eosinophiles abs		0.00	$10^3/\text{mm}^3$ 0.00 - 0.50
Basophiles abs	+	0.19	$10^3/\text{mm}^3$ 0.00 - 0.10





COMMENTAIRE

Indication Lymphocytose suspecte.

Antigènes recherchés voir ci-dessous

CD4, CD8, CD3, CD5, CD19, CD20, CD10, CD22, sIgKappa,
sIgLambda, CD56, CD45, CD11c, HLADR

Conclusion

Lymphocytes T : 75 % ; pas d'expression phénotypique aberrante.

Rapport CD4/CD8 inversé : 0.19

Lymphocytes T CD4+ : 12 %

Lymphocytes T CD8+ augmenté : 62 %

Lymphocytes NK : 2 %

Lymphocytes B : 2 %; 1 % monoclonaux.

L'immunophénotype des cellules lymphomateuses B : CD19+ CD20+
CD22+ CD5+ CD10-.

Lymphocytose des cellules lymphomateuses B : 106 / µl

En conclusion, Population lymphoïde T CD3+ CD8+ augmentée,
habituellement réactionnelle, et présence d'une population
lymphomateuse B décelée dans ce prélèvement non typique d'une
entité : atypical MBL versus LNH (cfr. clinique).

Ces résultats doivent donc être intégrés avec ceux de la
sérologie, de la cytologie et de la clinique.