

# Diagnostic différentiel d'une lymphocytose : nouvelle approche basée sur des paramètres de l'analyseur d'hématologie Sysmex série XN

# Table des matières

## I. Introduction

- Généralités sur les lymphocytoses
- Paramètres structuraux de recherche des analyseurs XN de Sysmex®
- Objectifs de l'étude

## II. Matériels et méthodes

- Cohorte et recueil des données
- Méthodologie
- Statistiques

### III. Résultats

- Etablissement d'un lymphoscore
  - Sélection des paramètres d'intérêt
  - Formule mathématique du lymphoscore
  - Courbe ROC et visualisation des différents seuils

### IV. Conclusion et perspectives

# I. Introduction

- **Généralités sur les lymphocytoses:**

## Définition

Lymphocytose : Lymphocytes  $> 4000 /\mu\text{L}$  chez les adultes

Anomalie hématologique courante

## Etiologies



Réactionnelle



Maligne

## Principales causes de lymphocytoses réactionnelles

<b>Etiologies infectieuses</b>	Virales	Epstein-Barr virus (EBV)
		Cytomégalovirus (CMV)
		Virus de l'Herpès (HSV)
		Virus de l'immunodéficience Humaine (HIV)
		Adénovirus
		Virus ourlien
		Virus varicelle-zoster
		Virus de la grippe
		Virus de l'hépatite
		Virus de la rubéole
		Entérovirus
		Bactériennes
	Maladie des griffes du chat (Bartonella henselae)	
	Brucellose	
	Syphilis (Treponema pallidum)	
	Tuberculose	
	Parasitaires	Toxoplasmose
		Babésiose

<b>Maladies auto-immunes</b>	Polyarthrite rhumatoïde (PR)
	Lupus érythémateux disséminé (LED)
<b>Hypersensibilité médicamenteuse</b>	
<b>Troubles endocriniens</b>	Hypo/hyperthyroïdisme
	Maladie d'Addison
<b>Lymphocytose de stress</b>	Crises drépanocytaires
	Urgences cardiaques, chirurgicales ou obstétriques
	Mal épileptique
	Post-traumatisme
	Exercice physique intense
<b>Tabagisme</b>	
<b>Splénectomie</b>	

# Principales conditions sous-jacentes des lymphocytoses monoclonales

<b>MBL</b>	
<b>CLL/SLL</b>	
<b>HCL</b>	
<b>Lymphome/leucémie splénique à cellules B avec nucléoles proéminents</b>	Y compris les leucémies/lymphomes anciennement appelés : - variante de HCL - et certains cas de PLL-B
<b>MZL</b>	
<b>LPL</b>	
<b>FL</b>	
<b>MCL</b>	
<b>DLBCL</b>	
<b>BL</b>	

<b>Leucémie/lymphome lymphoblastique T</b>	
<b>Leucémies matures à cellules T et à cellules Natural Killer (cellules NK)</b>	T-PLL
	Syndrome de Sézary
	ATCL
	T-LGL
	Leucémie lymphoïde granuleuse à cellules NK
	Leucémie agressive à cellules NK

# Outils de diagnostic

## - Cliniques:

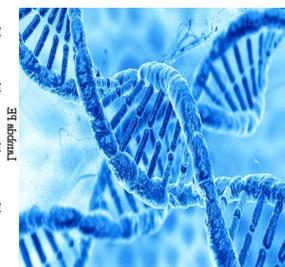
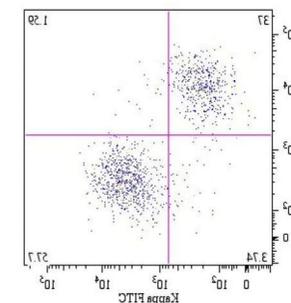
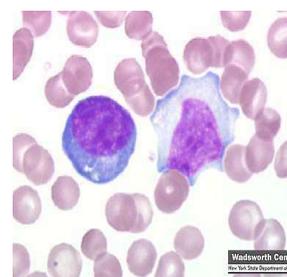
- Anamnèse détaillée



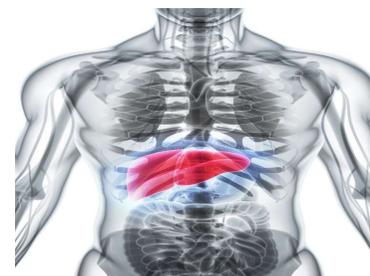
## - Biologiques:

WBC	5.88	[10 <sup>9</sup> /L]
RBC	4.45	[10 <sup>12</sup> /L]
HGB	136	[g/L]
HCT	0.396	[L/L]
MCV	89.0	[fL]
MCH	30.6	[pg]
MCHC	343	[g/dL]
RDW-CV	12.7	[%]
PLT	1.1	[10 <sup>9</sup> /L]
MPV	1.1	[fL]
P	1.1	[10 <sup>9</sup> /L]
NEUT	3.47	[10 <sup>9</sup> /L]
LYMPH	1.96	[10 <sup>9</sup> /L]

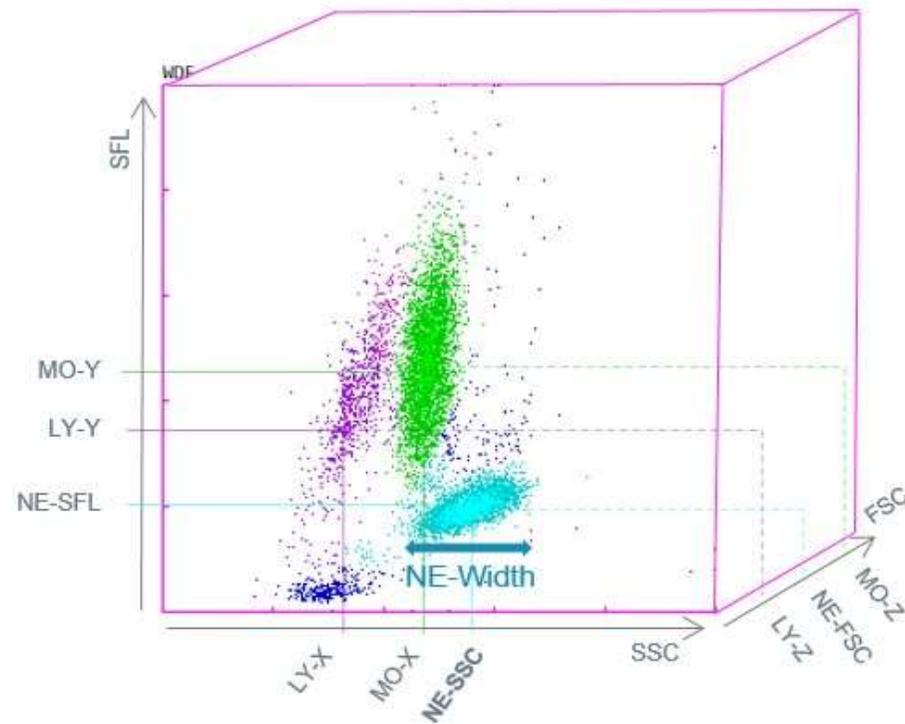
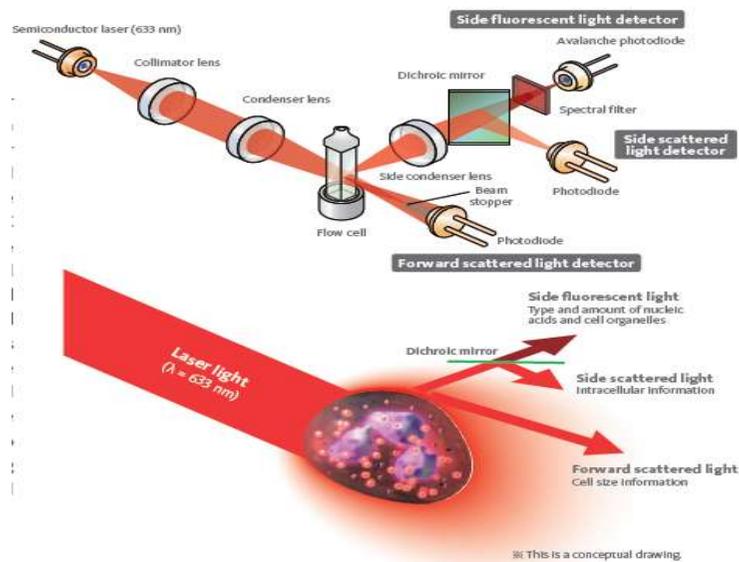
**Differential**



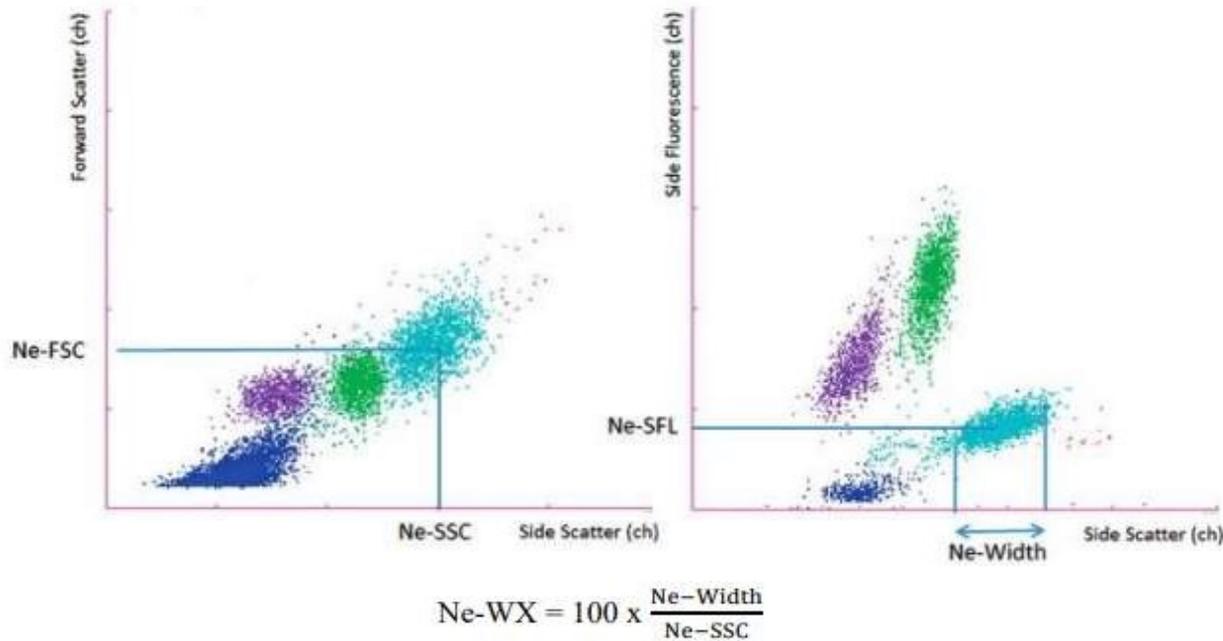
- Examen physique complet



# Paramètres structuraux de recherche des analyseurs XN Sysmex®

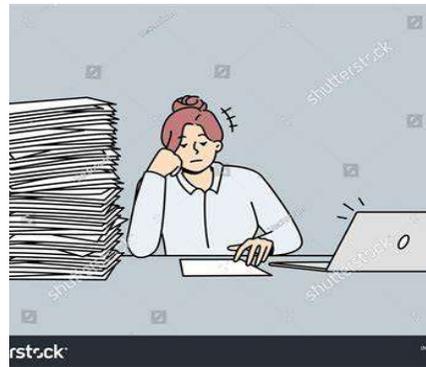
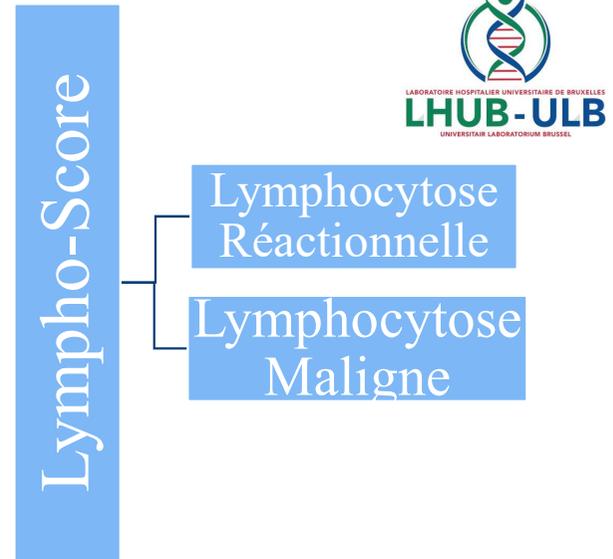
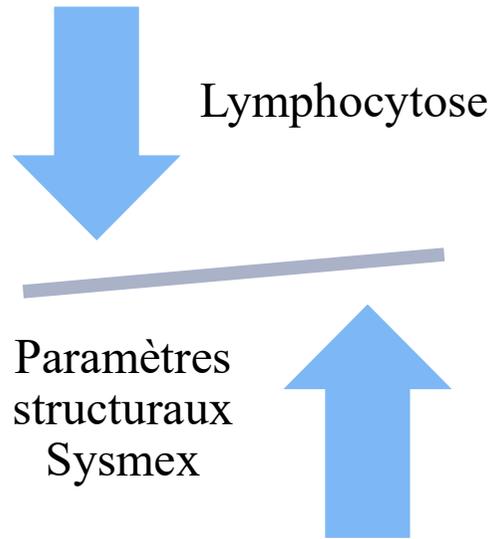
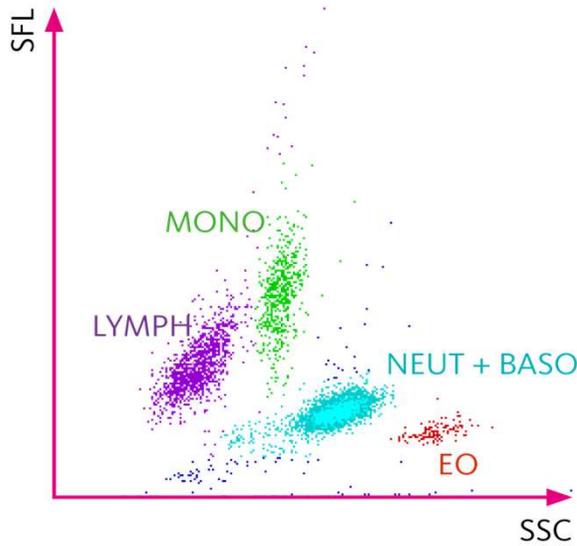


# Paramètres Sysmex®



Paramètres	Définition
X	Complexité structurale
WX	Degré de dispersion de la complexité structurale
Y	Intensité de la fluorescence (teneur cellulaire en ADN/ARN)
WY	Degré de dispersion de l'intensité de fluorescence
Z	Taille
WZ	Degré de dispersion de la taille

# Objectifs de l'étude



## Recommandations actuelles

### Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC)

Tableau III - Indications d'examen du frottis sanguin relatives aux résultats de la formule leucocytaire.

Résultat précédent	Adulte/Enfant	Présence de cellules malignes sur le résultat précédent Présence d'érythroblastes sur le résultat précédent (si non énumérés automatiquement par l'analyseur)
Érythroblastes	Adulte/Enfant	Présence d'érythroblastes détectée par l'analyseur, en situation initiale ou à chaque fois si non énumérés automatiquement par l'analyseur
Polynucléaires neutrophiles	Adulte/Enfant	< 1,5 G/l, en situation initiale
Polynucléaires éosinophiles	Adulte/Enfant	> 1,5 G/l, en situation initiale
Polynucléaires basophiles	Adulte/Enfant	> 0,3 G/l et/ou > 3 % en situation initiale
Lymphocytes	Adulte	> 5 G/l, en situation initiale
	Enfant	> 9 G/l (2 à 6 ans), > 6 G/l (6 à 12 ans), > 4 G/l (> 12 ans), en situation initiale
Monocytes	Adulte/Enfant	> 1,5 G/l, en situation initiale > 1,5 G/l, persistant plus de 30 jours > seuil à définir par chaque laboratoire en cas de monocytose survenant en cours d'hospitalisation

- 14 -

feuilles de Biologie  
VCL LVN° 317 - MARS 2014

# II. Matériels et méthodes

## Cohortes et recueil de données



### Etablissement du lymphoscore

### Cohorte d'étude – 85 patients

Période de 3 mois

- âge > 16 ans
- $4 \times 10^9/L \leq Ly \leq 30 \times 10^9/L$

# Choix des populations étudiées

Lymphocytoses  
réactionnelles

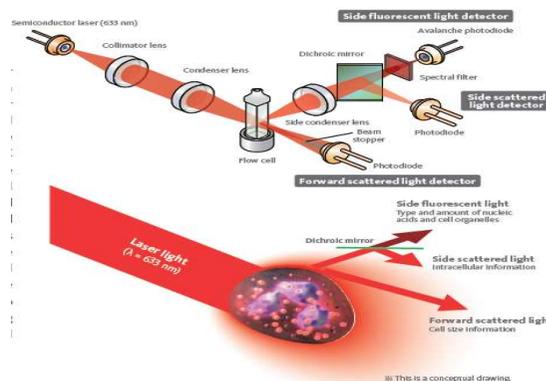
Leucémie lymphoïde  
chronique

Malin hors LLC  
(Lymphome, ...) ???

# • Méthodologie



## Automates d'hématologie cellulaire



### Formule leucocytaire:

- Complexité structurale (axe X)
- Intensité de fluorescence (axe Y)
- Taille (axe Z)

### Paramètres structuraux:

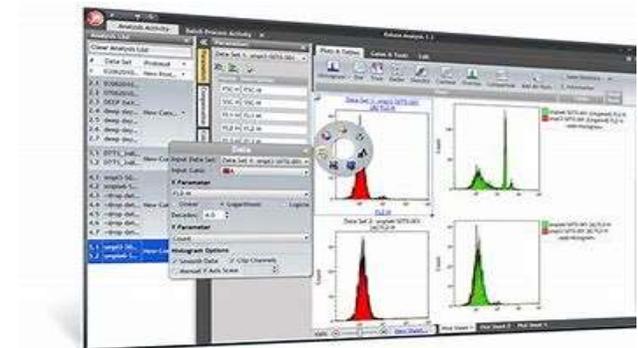
- Positions médianes des Ne, Ly et Mo sur les trois axes
- Leur dispersion

## Cytologie microscopique



## Cytométrie en Flux

- Endéans les 24 H
- T° ambiante



## • Statistiques

### Tests de normalité (test de D'Agostino-Pearson) et de comparaison (t-test/ test de Mann-Whitney)

Analyse statistique pour chaque paramètre structural de positionnement et de dispersion recueilli.

Résultats sous forme de moyenne et écart-type.

Logiciel GraphPad Prism software version 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, US).

Valeurs statistiquement significatives si la  $p < 0,05$  selon la loi de Student.

## Lymphoscore – régression binomiale multiparamétrique

La population ne peut être que dans deux « états » :



«réactionnel»  
valeur 0



«pathologique»  
valeur 1

Pour les paramètres avec  $p < 0,05$ :

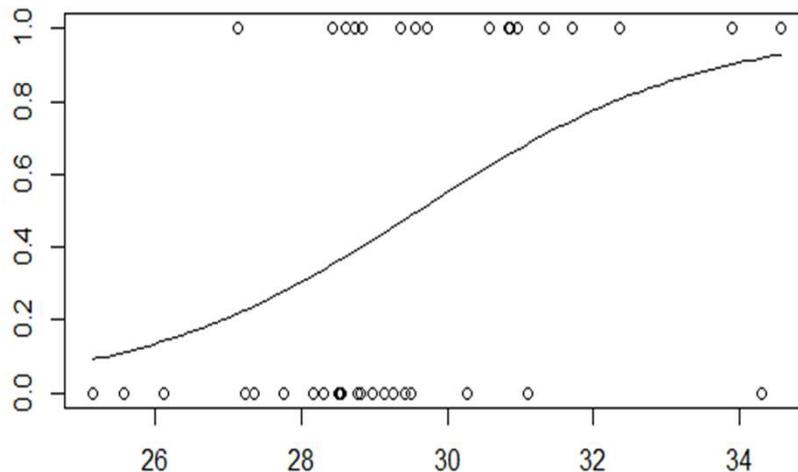
→ Régression binomiale multiparamétrique

*(+/- régression linéaire lorsque le paramètre mesuré peut prendre n'importe quelle valeur)*

→ Formule mathématique du lymphoscore

## Lymphoscore – régression binomiale multiparamétrique

La courbe qui permet le mieux de représenter cette population est une courbe dite « sigmoïde »



Si nous appelons  $x_1, x_2, \dots, x_n$ , les  $n$  paramètres d'intérêt, l'équation de la courbe sigmoïde s'écrit alors comme suite :

$$y = \frac{e^{(\alpha_0 + \alpha_1 x_1 + \alpha_2 x_2 + \dots + \alpha_n x_n)}}{1 + e^{(\alpha_0 + \alpha_1 x_1 + \alpha_2 x_2 + \dots + \alpha_n x_n)}}$$

ou

$$y = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha_0 + \alpha_1 x_1 + \alpha_2 x_2 + \dots + \alpha_n x_n)}}$$

Il est possible de montrer que, dans cette fonction,  $y \in [0,1]$

## Lymphoscore – régression binomiale multiparamétrique

Analyses et coefficients  $\alpha_0, \alpha_1, \dots, \alpha_n$  effectués et déterminés à l'aide du:

Logiciel statistique R version 4.3.2 et l'IDE R Studio (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche, <http://www.r-project.org>)

## Courbe ROC

→ Une courbe ROC a été créée

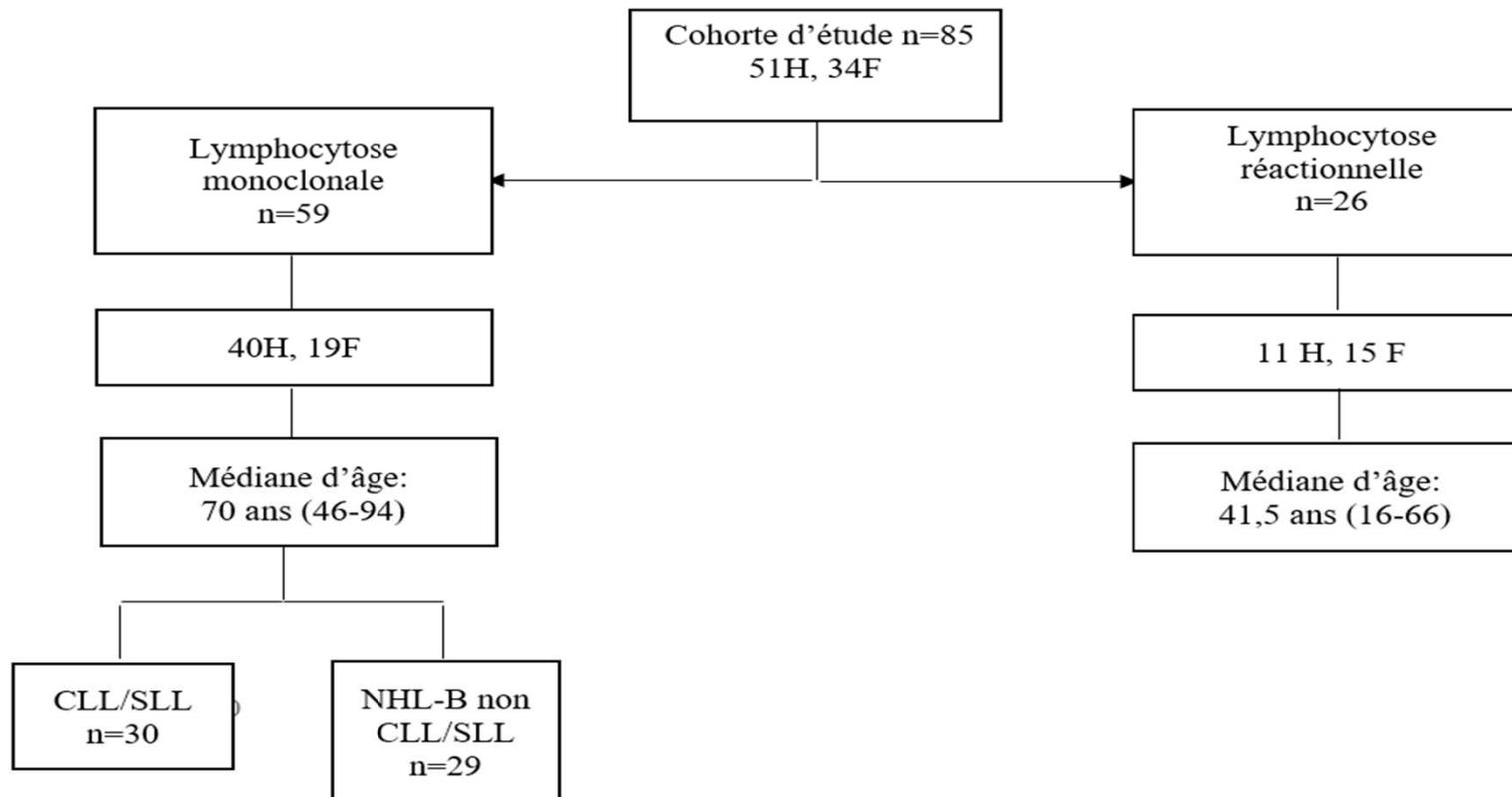
Modèle bon :  $AUC > 0.7$

Modèle excellent:  $AUC > 0.9$

# III. Résultats

## Etablissement du score - cohorte d'étude

### Caractéristiques démographiques et biologiques



## Lymphocytoses réactionnelles

8 infections virales	5 mononucléoses
	2 HIV
	1 cas d'hépatite B
8 troubles endocriniens	3 hypothyroïdies
	3 syndrome métabolique
	1 hypogonadisme
	1 hyperandrogénémie
7 lymphocytoses de stress	3 crises drépanocytaires
	2 maux épileptiques
	1 urgence cardiaque
	1 post traumatique
3 maladies auto-immunes	2 spondylarthrites ankylosantes
	1 PR

## NHL-B non CLL/SLL

- 13 MZL
- 6 MBL-non CLL/SLL
- 4 MCL
- 3 HCL
- 1 LPL
- 1 FL
- 1 DLBCL

## • Sélection des paramètres d'intérêt

Exploitation des paramètres récoltés sur le Sysmex pour chacun des groupes



[NE-SSC(ch)]	[NE-SFL(ch)]	[NE-FSC(ch)]	[LY-X(ch)]	[LY-Y(ch)]	[LY-Z(ch)]	[MO-X(ch)]	[MO-Y(ch)]	[MO-Z(ch)]	[NE-WX]	[NE-WY]	[NE-WZ]	[LY-WX]	[LY-WY]	[LY-WZ]	[MO-WX]	[MO-WY]	[MO-WZ]
148,8	51,0	85,3	82,7	80,1	61,7	123,1	119,2	63,5	282,0	588,0	657,0	665,0	1498,0	729,0	252,0	797,0	693,0
153,7	45,4	91,6	80,2	65,3	61,8	121,2	107,6	68,6	312,0	617,0	655,0	624,0	1072,0	598,0	256,0	725,0	642,0
151,1	47,8	89,9	82,2	64,2	58,3	117,8	110,0	66,9	318,0	586,0	656,0	462,0	966,0	567,0	255,0	618,0	613,0
149,4	47,1	88,0	83,2	66,3	58,6	121,3	117,1	70,5	294,0	594,0	648,0	409,0	920,0	563,0	223,0	734,0	639,0
156,2	44,6	91,1	80,0	62,2	58,2	120,5	106,2	67,0	314,0	628,0	702,0	488,0	948,0	498,0	241,0	546,0	701,0
154,2	47,5	91,8	74,4	64,7	59,6	118,2	115,3	67,5	298,0	568,0	621,0	619,0	850,0	537,0	228,0	676,0	608,0
148,3	47,9	86,8	80,6	71,2	59,5	123,9	121,1	68,0	310,0	564,0	657,0	459,0	842,0	538,0	218,0	644,0	588,0
152,3	48,5	88,4	82,2	70,8	59,7	121,0	110,3	70,0	296,0	599,0	622,0	475,0	862,0	570,0	231,0	662,0	600,0
156,7	50,5	92,8	77,3	68,4	60,0	122,2	120,0	70,7	300,0	595,0	636,0	531,0	819,0	550,0	295,0	658,0	552,0

		Ly-X	Ly-Y	Ly-Z	MO-X	LY-WZ
<b>Syndrome Lymphoprolifératif</b>	Moyenne	82	78	60	116	424
	Ecart-type	4,2	9,3	2,5	5,3	34,8
<b>Lymphocytose Réactionnelle</b>	Moyenne	79	74	59	119	473
	Ecart-type	1,6	6,5	1,3	2	71
<b>Statistiques</b>	p	0,0003	0,0438	0,0016	0,02	0,0073

- **Etablissement de la formule mathématique du lymphoscore**

### Régression binomiale multiparamétrique

```
glm(formula = CLIN ~ LYX + LYY + LYZ + MOX + LYWZ, family = binomial,  
    data = data_reglo)  
Coefficients:  
            Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)  
(Intercept) -11.391038   14.684133  -0.776   0.438  
LYX           0.170821    0.119944   1.424   0.154  
LYY           0.024117    0.036206   0.666   0.505  
LYZ           0.276814    0.193930   1.427   0.153  
MOX          -0.160460    0.098365  -1.631   0.103  
LYWZ         -0.001654    0.003281  -0.504   0.614  
  
(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)  
  
Null deviance: 104.680 on 84 degrees of freedom  
Residual deviance: 83.194 on 79 degrees of freedom  
AIC: 95.194  
  
Number of Fisher Scoring iterations: 5
```

## Paramètres d'intérêts :

LY-X

LY-Y

LY-Z

MO-X

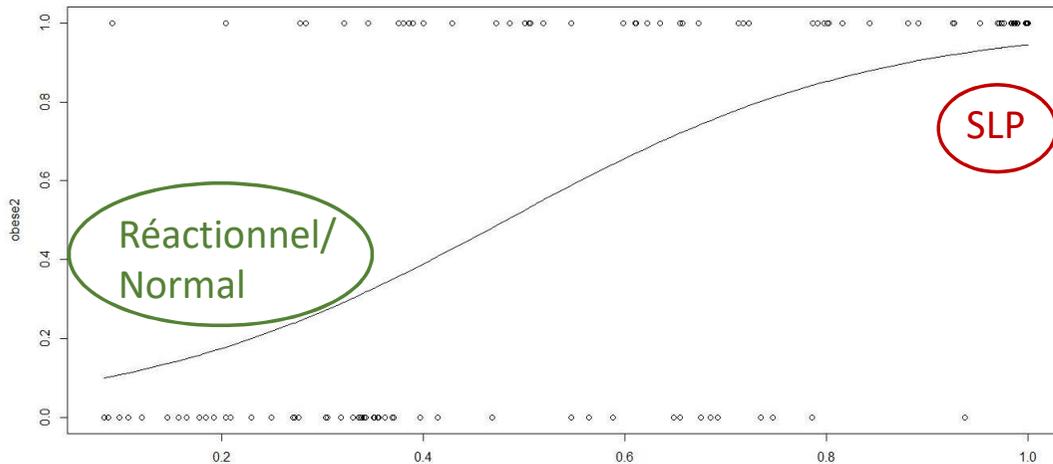
LY-WZ



Paramètres	Définition
X	Complexité structurale
Y	Intensité de la fluorescence
Z	Taille
WZ	Degré de dispersion de la taille



$$y = \frac{1}{1 + e^{(-(-11.391038 + 0.170821 \times LY-X + 0.024117 \times LY-Y + .276814 \times LY-Z - .160460 \times MO-X - 0.001654 \times LY-WZ))}}$$



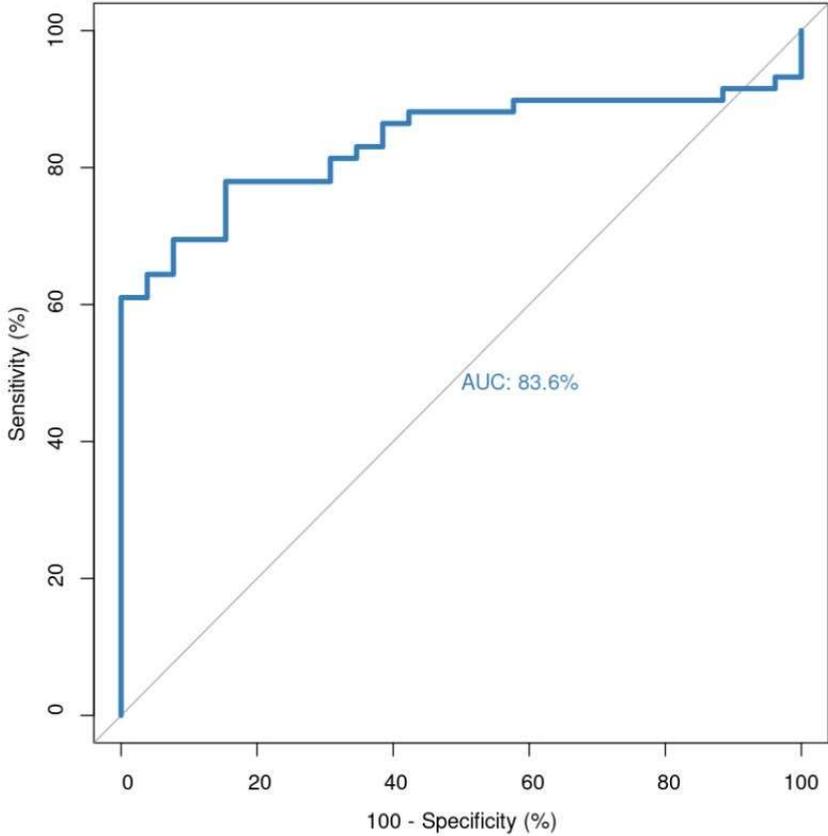
25 September 2024

**Lympho-score** compris entre 0 et 1

- Réactionnels/normaux → 0
- SLP → 1

→ Représente la probabilité (entre 0 et 1) que le patient aura un SLP

# Courbe ROC et visualisation des différents seuils



	tpp	tpp	thresholds
2	98.30508	100.00000	0.1334032
3	96.61017	100.00000	0.1590830
4	94.91525	100.00000	0.1916192
5	93.22034	100.00000	0.2650997
6	93.22034	96.15385	0.3156485
7	91.52542	96.15385	0.3252180
8	91.52542	92.30769	0.3477807
9	91.52542	88.46154	0.3751666
10	89.83051	88.46154	0.3950723
11	89.83051	84.61538	0.4157478
12	89.83051	80.76923	0.4317279
13	89.83051	76.92308	0.4431241
14	89.83051	73.07692	0.4514024
15	89.83051	69.23077	0.4650777
16	89.83051	65.38462	0.4820372
17	89.83051	61.53846	0.4916605
18	89.83051	57.69231	0.4978819
19	88.13559	57.69231	0.5051541
20	88.13559	53.84615	0.5127980
21	88.13559	50.00000	0.5255276
22	88.13559	46.15385	0.5362110
23	88.13559	42.30769	0.5399705
24	86.44068	42.30769	0.5446289
25	86.44068	38.46154	0.5465581
26	84.74576	38.46154	0.5574367
27	83.05085	38.46154	0.5735864
28	83.05085	34.61538	0.5852022
29	81.35593	34.61538	0.5920700
30	81.35593	30.76923	0.6065176
31	79.66102	30.76923	0.6373648
32	77.96610	30.76923	0.6616008
33	77.96610	26.92308	0.6788361
34	77.96610	23.07692	0.6913717
35	77.96610	19.23077	0.6941320
36	77.96610	15.38462	0.6946346
37	76.27119	15.38462	0.7016561
38	74.57627	15.38462	0.7101988
39	72.88136	15.38462	0.7174206
40	71.18644	15.38462	0.7231587

tpp = Sensibilité %  
fpp = 100- Spécificité %

# Sélection et analyse des performances de différents seuils du lymphoscore en prospectif

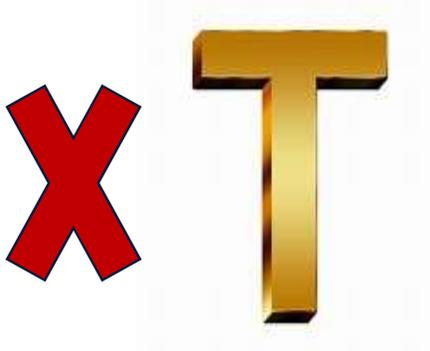
Analyse des performances du lymphoscore



	tpp	tpp	thresholds
2	98.30508	100.00000	0.1334032
3	96.61017	100.00000	0.1590830
4	94.91525	100.00000	0.1916192
5	93.22034	100.00000	0.2650997
6	93.22034	96.15385	0.3156485
7	91.52542	96.15385	0.3252180
8	91.52542	92.30769	0.3477807
9	91.52542	88.46154	0.3751666
10	89.83051	88.46154	0.3950723
11	89.83051	84.61538	0.4157478
12	89.83051	80.76923	0.4317279
13	89.83051	76.92308	0.4431241
14	89.83051	73.07692	0.4514024
15	89.83051	69.23077	0.4650777
16	89.83051	65.38462	0.4820372
17	89.83051	61.53846	0.4916605
18	89.83051	57.69231	0.4978819
19	88.13559	57.69231	0.5051541
20	88.13559	53.84615	0.5127980
21	88.13559	50.00000	0.5255276
22	88.13559	46.15385	0.5362110
23	88.13559	42.30769	0.5399705
24	86.44068	42.30769	0.5446289
25	86.44068	38.46154	0.5465581
26	84.74576	38.46154	0.5574367
27	83.05085	38.46154	0.5735864
28	83.05085	34.61538	0.5852022
29	81.35593	34.61538	0.5920700
30	81.35593	30.76923	0.6065176
31	79.66102	30.76923	0.6373648
32	77.96610	30.76923	0.6616008
33	77.96610	26.92308	0.6788361
34	77.96610	23.07692	0.6913717
35	77.96610	19.23077	0.6941320
36	77.96610	15.38462	0.6946346
37	76.27119	15.38462	0.7016561
38	74.57627	15.38462	0.7101988
39	72.88136	15.38462	0.7174206
40	71.18644	15.38462	0.7231587

		Lymphoscore	
Cohortes	Performances	< 0,13	> 0,5
Etude	Sensibilité (%)	98	88
	Spécificité (%)	-	42

# Limites de l'étude



## IV. Conclusions & Perspectives

**Objectif** Insertion du “Lympho-score” dans l’IPU Sysmex

**Résultat** Aide face à une lymphocytose

Nouvelles études statistiques en cours

→ Intégrant l’ « ALC »

→ Seulement paramètres structuraux lymphoïdes



# Merci pour votre attention

## Remerciements

- Dr. Valéry DAUBIE
- Dr. Danaï POUTAKIDOU
- Pr Béatrice GULBIS

