

HUG: Hôpital cantonal de Genève
Les outils diagnostiques en hématologie
Dre A. Green

mardi 14 septembre 2021

Aujourd'hui, petit tour de présentation des différents examens disponibles en hématologie.

L'hémogramme

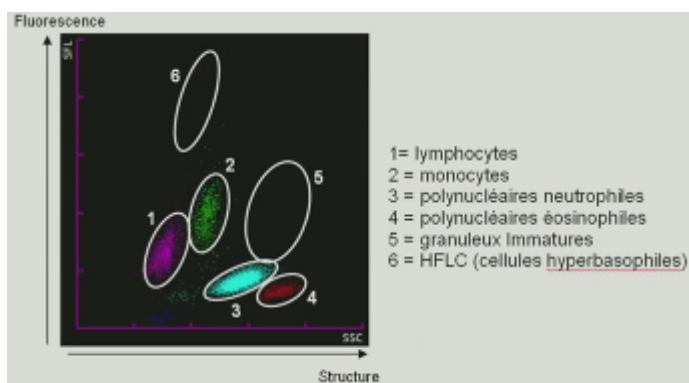
C'est l'examen le plus demandé, de routine ou ciblé selon la clinique.

La machine qui s'occupe de l'analyse peut faire jusqu'à 900 échantillons par heure. Elle donne un rapport qualitatif de tous les éléments figurés du sang: compte de globules rouges, plaquettes, globules blancs...

C'est donc très rapide, sauf s'il faut ajouter un frottis sanguin (alarme de l'automate):
Il est alors lu par le microscope qui fait des photos et trie les cellules pour faciliter l'analyse humaine.
Cela génère une 100aine de photos par prélèvement, qui sont ensuite utilisables pour l'enseignement.

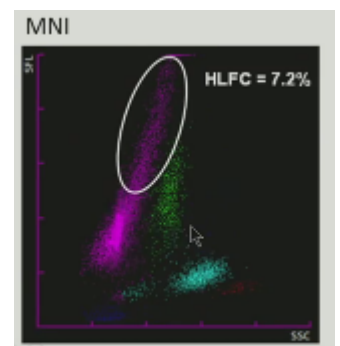
Répartition leucocytaire

L'analyse compte et différencie les différents globules blanc présents dans le sang à travers une technique de cytométrie de flux couplée à une fluorescence.



On retrouve un graphique comme suit, avec en (x) la quantité de fluorescence et en (y) la complexité de la structure.

Si l'automate ne voit aucune alarme, tout est normal et il n'y a pas de frottis.

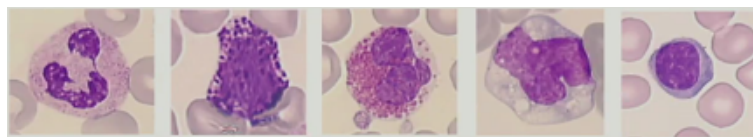


mononucléose infectieuse (→)

Analyse du frottis sanguin = cytologie

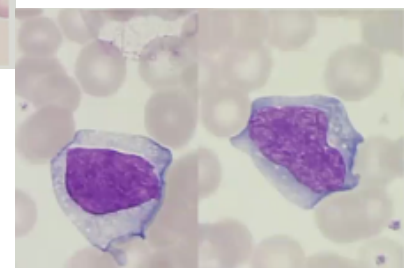
Détection visuelle de cellules anormales.

(Ici normal →)



Anormaux: grands lymphocytes hyperbasophile : cellule mononuclée → syndrome mononucléosique (→)

Si les cellules sont trop anormales pour être identifiées on pourra passer à l'immunophénotypage.



Immunophénotypage

Un peu comme la répartition leucocytaire mais en plus poussé et précis: Cytométrie de flux + anticorps + fluorochrome. ne concerne que les globules blancs.

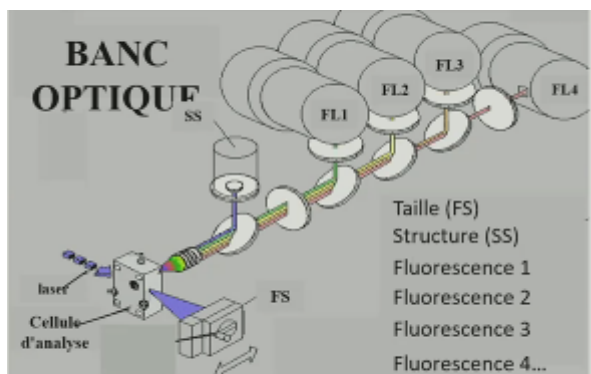
Elle sert entre autres au diagnostic de leucémies et lymphomes: leucémies aiguës, syndromes lymphoprolifératifs T et B, lymphomes non-hodgkiniens et hémoglobinurie paroxystique nocturne.

Indications: cellules anormales, lymphocytose (trop de globules blancs)

NB:

- Bien savoir ce que l'on cherche et l'indiquer sur la prescription.
- Les renseignements cliniques sont impératifs.
- Le résultat est toujours à corréliser avec la cytologie!

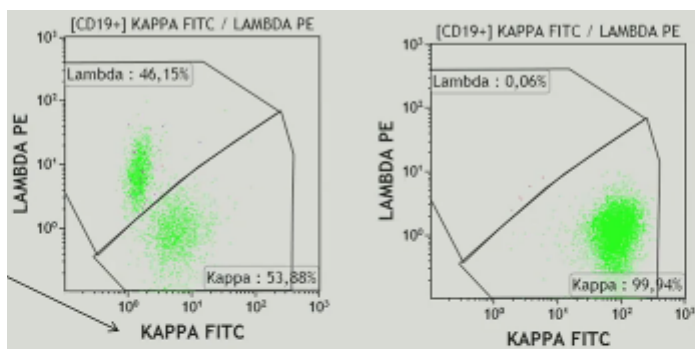
Technique



analyse de la taille en FS, en face de la cellule puis le premier arrêt nous donne la structure et les suivants la fluorescence.

L'analyse se base sur la diffraction pour la taille et la structure, et sur la fluorescence pour le type d'anticorps rattaché et donc les récepteurs présents sur la cellule.

Exemple: lymphocytose B



Chaines légères des anticorps qui sont portés par les lymphocytes B → on devrait voir des kappa et des lambda (image 1)

2ème image, seul les kappa sont visibles = monoclonal

Un tableau récapitulatif des variations des antigènes est utilisé pour effectuer un score de Matutes:

LLC	Manteau	Folliculaire	Zone marginale
CD19+	CD19+	CD19+f	CD19+
CD5+	CD5+	CD5-	CD5-/+
CD79b- ou f	CD79b+	CD79b+	CD79b+
CD22- ou f	CD22+	CD22+	CD22+
CD23+	CD23-	CD23-	CD23-
CD20+f	CD20+	CD20+	CD20+
CD43+	CD43-	CD43-	CD43-
	CD200-	CD10+	CD180+F

f = faible F = fort

	1 point	0 point
CD5	+	-
CD22 ou CD79b	- ou faible	Moy/Fort
FMC7	-	+
CD23	+	-
K/L intensité	Faible	Moy/Fort

Score de Matutes

- >3 LLC
- = 3 LLC ?
- < 3 pas LLC

CLL Flow score (CD5/CD23/CD200/CD79b) <0 non LLC, >0 probable LLC

on fait aussi un CLL flow score....dont je ne sais vous donner les détails.

LLC = CLL = leucémie lymphoïde chronique

NB: toujours corréliser une cytométrie avec l'analyse du frottis sanguin.

Focus clones B de type LLC

La LLC est une lymphocytose B avec > 5000 cellules / µl

- entre 500 et 5000 → très probable passage en LLC
- Low count <500 → en général ne bouge pas et ne se transforme pas en LLC. Pas besoin de les suivre. l'incidence des low count augmente vers 40 ans.

Caryotype hématologique

C'est une analyse du génome entier, mais uniquement pour les anomalies de nombre et de structure des chromosomes, pas des gènes.

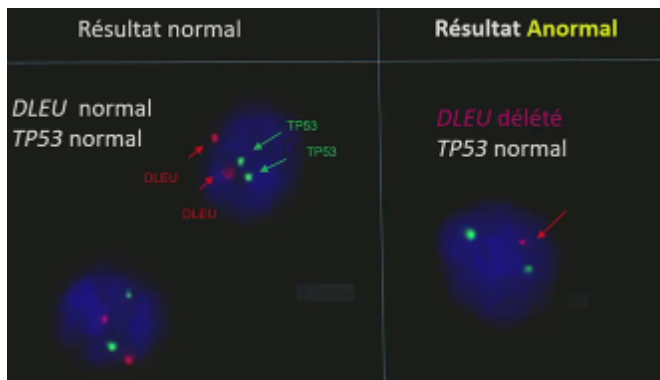
(C'est comme regarder les différentes étagères et catégories d'une bibliothèque...une planche s'est peut-être effondrée à l'étage du dessous...)

Par exemple, lors d'un échange entre le chromosome 9 et le chromosome 22, on peut déterminer, par connaissance des gènes qui s'y trouvent, une atteinte du gène du BCR-ABL, le récepteur des lymphocytes B.

FISH: Fluorescence in situ hybridization

Cette technique est utilisée en complément du caryotype si nécessaire. Elle analyse des régions spécifiques et ciblées des chromosomes grâce à une sonde fluorescente.

(là, on regarde les livres et leurs caractéristiques sans encore lire ce qu'ils renferment, on peut voir s'il manque des volumes, une partie de votre encyclopédie préférée est restée dans le salon...)



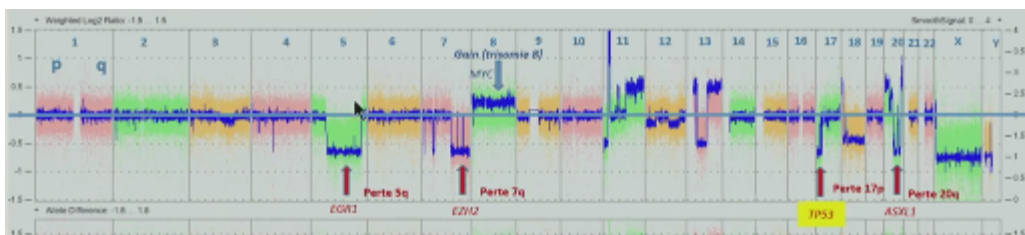
Cible une partie spécifique du chromosome, Ici on voit que la partie qui code le P53 est normale mais il manque la partie qui code pour DLEU.

C'est une LLC dont la délétion de DLEU est à pronostic favorable.

SNP array - puces à ADN

Analyse des pertes et gains sur le génome entier.

La puce est une collection de puits microscopiques avec dans chaque puits des sondes d'ADN simple brin complémentaire d'un fragment ciblé. (On regarde s' il y a des chapitres ou des phrases qui manquent dans chaque livre, quelqu'un a écrit une fin alternative à 1984...)



Ici exemple de plusieurs pertes: et gain sur le chr8 → trisomie 8 avec perte du P53: pronostic défavorable..

NGS: le séquençage de nouvelle génération

(Finalement, au plus détaillé, c'est les fautes de frappe et d'orthographe qui sont analysées)

C'est une analyse simultanée de nombreuses séquences génétiques, qui permet de choisir un panel lymphoïde ou myéloïde.

Permet d'identifier des mutations récurrentes dans la leucémie myéloïde aigue, dont certaines ont un impact pronostic important; d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques, et de suivre la maladie résiduelle.

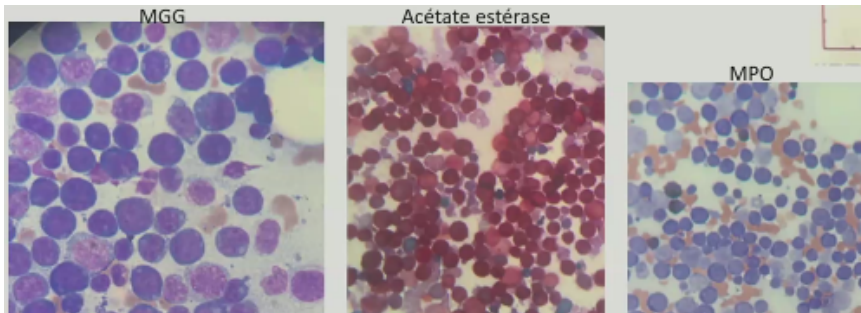
C'est cher, 2 à 5 mille par analyse, donc c'est l'hématologue qui pose l'indication.

Cas clinique

Femme de 46 ans avec suspicion de leucémie aiguë.

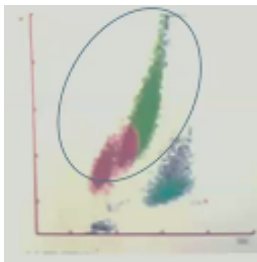
Elle présente une hyperleucocytose et thrombopénie à l'hémogramme.

Au médullogramme: tapis de cellules monomorphes, grandes, rondes, blastiques.

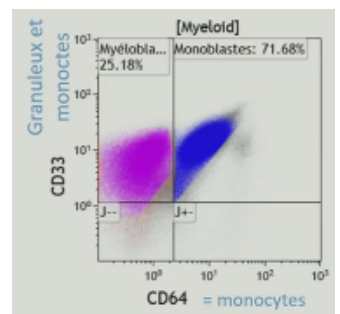


Acétate estérase: confirme aspect monoblastiques.

Pas de réaction au MPO= confirme la LMA



A la cytométrie de flux, il y a une grosse population hétérogène, que la machine coupe en deux avec une partie rose et une autre verte, mais il s'agit de la même population de cellules.



On voit à l'immunophénotypage, en rose des myéloblastes et en bleu les monoblastes. → C'est donc une leucémie myélo-monocytaire.

En pathologie et histologie, sont présentés les résultats d'une biopsie:

- La coloration GEMSA montre des monocytes. Il y a des mégacaryocytes = signe de dystrophie
- Coloration du CD48: montre monoblastes
- Conclusion: LMA type monoblastique avec des modifications liées à la myélodysplasie, ce qui est de mauvais pronostic.

Du coup on va faire un NGS pour un diagnostic final.

- Mutation NPM1: pronostic favorable, souvent présence de monoblastes CD34 nég.
→ présente des signes de dysplasie qui ne sont pas un mauvais pronostic!
(on note ici l'importance de compléter tous les examens afin d'avoir un diagnostic complet!)
- Mutation FLT3:ITD: présente avec un ratio allélique < 0.5 → pronostic intermédiaire
→ Le pronostic favorable d'une mutation peut être influencé par d'autres mutations.



Compte-rendu de Valentine Borcic
valentine.borcic@gmail.com
transmis par le laboratoire MGD

