

REPUBLICUE ALGERIENNE  
DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE CONSTANTINE III  
FACULTE DE MEDECINE  
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**Projet de fin d'étude**

**En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie**

Thème

**L'intérêt de l'immunophénotypage dans les syndromes  
lymphoprolifératifs B**

**Réalisé par :**

- MANSOURI Radja
- MERABET Sara
- NEKHLA Ahlam
- OTMANI Radja

**Encadré par :**

**Dr. ZOITENE.R**

**Membres de jury :**

**Dr. BOUDJEMELINE**

**Dr. MILOUDI**

**Promotion 2018**

# TABLE DE MATIERES

TABLE DE MATIERES

REMERCIEMENT

DEDICACES

*LISTE DES FIGURES*

*LISTE DES TABLEAUX*

LISTE DES ABREVIATIONS

<i>INTRODUCTION</i> .....	1
<i>SECTION A : PARTIE THEORIQUE</i> .....	4
<i>CHAPITRE I : LES SYNDROMES LYMPHOPROLIFERATIFS B</i> .....	5
<i>I.1 Lymphopoïèse</i> .....	6
<i>I.1.1 Lymphopoïèse B</i> .....	6
<i>I.2 Les tumeurs lymphoïdes B</i> .....	7
<i>I.2.1 La leucémie lymphoïde chronique</i> .....	7
<i>I.2.2 La leucémie prolymphocytaire B</i> .....	11
<i>I.2.3 Le lymphome du manteau</i> .....	12
<i>I.2.4 . Le lymphome folliculaire</i> .....	14
<i>I.2.5 La leucémie à tricholeucocytes</i> .....	15
<i>I.2.6 Lymphome de la zone marginale</i> .....	16
<i>I.2.7 Myélome multiple</i> .....	17
<i>I.2.8 Maladie de Waldenström</i> .....	19
<i>CHAPITRE II : LA CYTOMETRIE EN FLUX</i> .....	21
<i>II.1 Historique</i> .....	22
<i>II.2 Définition</i> .....	22
<i>II.3 Principe de la cytométrie en flux</i> .....	23
<i>II.4 Les systèmes</i> .....	24
<i>II.4.1 Le système fluide</i> .....	24
<i>II.4.2 Le système optique</i> .....	25
<i>II.4.3 Le système électronique :</i> .....	27
<i>II.5 Le fonctionnement du flux</i> .....	28

## TABLE DE MATIERES

<i>II.6 Présentation des résultats</i> .....	29
<i>II.6.1 Histogramme</i> .....	29
<i>II.6.2 Dot Plot (Taille et Granulosité)</i> .....	30
<i>II.6.3 Density Plot :</i> .....	30
<i>II.6.4 Contour plot</i> .....	31
<i>II.6.5 Représentation des résultats en 3 dimensions</i> .....	31
<i>II.7 Application de la cytométrie en flux</i> .....	32
<i>II.7.1 Applications en routine</i> .....	32
<i>II.7.2 Applications en recherche :</i> .....	34
<b>CHAPITRE III : L'INTERET DE L'IMMUNOPHENOTYPAGE DANS LES SYNDROMES LYMPHOPROLIFERATIFS B</b> .....	35
<i>III.1 Intérêt général</i> .....	36
<i>III.2 L'intérêt de l'immunophénotypage au diagnostic de LLC</i> .....	36
<i>III.3 L'intérêt de l'immunophénotypage au diagnostic de LPL</i> .....	37
<i>III.4 Intérêt de l'immunophénotypage dans le lymphome du manteau</i> .....	38
<i>III.5 Intérêt de l'immunophénotypage dans le lymphome folliculaire</i> .....	39
<i>III.6 Intérêt de l'immunophénotypage dans la leucémie à tricholeucocytes</i> .....	40
<i>III.7 Intérêt de l'immunophénotypage dans le lymphome de la zone marginale</i> .....	41
<i>III.8 Intérêt de l'immunophénotypage dans le myélome multiple</i> .....	41
<i>III.9 Intérêt de l'immunophénotypage dans la maladie de Waldenström :</i> .....	43
<b>SECTION B : PARTIE PRATIQUE</b> .....	44
<b>I. PRESENTATION DU LABORATOIRE</b> .....	45
<b>II. OBJECTIF DE L'ETUDE</b> .....	45
<b>III. DEVELOPPEMENT : MATERIELS, PRINCIPES ET METHODES</b> .....	46
<i>III.1 Matériels</i> .....	46
<i>III.1.1 Attune® NxT Acoustic Focusing Cytometer:</i> .....	46
<i>III.1.2 Instruments de laboratoire :</i> .....	51
<i>III.1.3 Réactifs</i> .....	51
<i>III.2 Méthodes</i> .....	52
<i>III.2.1 Population d'étude :</i> .....	52
<i>III.2.2 Prélèvement :</i> .....	53

## TABLE DE MATIERES

<i>III.2.3 Hémogramme</i> : .....	53
<i>III.2.4 Le choix des panels</i> : .....	55
<i>III.2.5 Préparation des cellules</i> : .....	56
<i>III.2.5.1 Immunomarquage</i> : .....	56
<i>III.2.5.2 Lyse érythrocytaire</i> .....	58
<i>III.2.6 Analyse cytométrique</i> .....	59
<i>III.2.7 L'interprétation des histogrammes</i> .....	63
<i>IV . RESULTATS</i> .....	68
<i>IV.1 la représentation des cas dans la population générale</i> .....	68
<i>IV.2 La leucémie lymphoïde chronique</i> .....	68
<i>IV.2.1 Répartition selon l'âge</i> .....	68
<i>IV.2.2 Répartition selon le sexe</i> .....	69
<i>IV.2.3 Données cliniques</i> .....	69
<i>IV.2.4 Données biologique</i> .....	69
<i>IV.3 La leucémie prolymphocytaire</i> .....	76
<i>IV.4 Lymphome du manteau</i> .....	85
<i>V . DISCUSSION</i> : .....	93
<i>CONCLUSION</i> .....	97
<i>ANNEXES</i> .....	99
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	

## Résumé :

La cytométrie en flux (CMF) est devenue une étape incontournable au diagnostic des syndromes lymphoprolifératifs B (SLP B). Elle offre la possibilité de l'identification de la lignée à partir de laquelle dérive la prolifération lymphomateuse, la classification de la pathologie et l'évaluation du pronostic.

Nous avons réalisé une étude rétrospective sur vingt patients pour lesquels L'immunophénotypage effectué entre Janvier 2017-Mai 2018 était en faveur d'un SLP B. Pour ces patients, nous avons étudié les données cliniques, les résultats de la cytologie et le profil immunophénotypique. Le SLP B le plus fréquent et le mieux caractérisé phénotypiquement était la leucémie lymphoïde chronique dont le diagnostic est porté par la détermination du score de **Matutes/Moreau**. Le diagnostic des autres SLP B a été orienté ou confirmé par une analyse comparative de l'expression d'autres marqueurs permettant de définir des profils phénotypiques spécifiques, l'exemple type était la leucémie prolymphocytaire B et le lymphome du manteau.

A la suite de notre travail, grâce aux systèmes très perfectionnés de CMF **Attune™ NxT Acoustic Focusing**, nous avons pu avoir une caractérisation quantitative, qualitative et multiparamétrique des différents leucocytes et surtout les lymphocytes, dans des prélèvements sanguins et médullaires ou dans des liquides de ponction ; ce qui nous a prouvé la place indiscutable de l'immunophénotypage lymphocytaire, étant réalisé en complément de l'examen morphologique des cellules au microscope, pour confirmer une LLC. Pour les autres SLP B, l'immunophénotypage par CMF était très utile mais avec certaines limites.

**Mot-clés :** cytométrie en flux, syndromes lymphoprolifératifs B, leucémie lymphoïde chronique, Attune™ NxT Acoustic Focusing, immunophénotypage lymphocytaire.

## Abstract :

Flow cytometry has become a mandatory step in the diagnosis of B Lymphoproliferative Disorders. It makes possible a determination of the cellular lineage which the lymphoma population originates from, the classification of the pathology, the evaluation of the prognosis.

We carried out a retrospective study of 20 patients for whom an immunophenotype performed between January 2017 and May 2018 was in favour of a B Lymphoproliferative Disorder. For these patients we studied the clinical datas, the results from cytology and immunophenotype. The most frequent and better characterized by flow cytometry was the Chronic Lymphocytic Leukemia, the diagnosis of which is performed by the establishment of the Matutes/Moreau score based on the expression of 5 markers. A comparative analysis of other markers allows to orient or confirm the diagnosis of the other B-cell disorders such as mantle cell lymphoma, B prolymphocytic leukemia.

As a result of our work, because of the perfect systems of **Attune™ NxT Acoustic Focusing** cytometer, we were able to have a quantitative, qualitative and multiparametric characterization of different leucocytes, specially lymphocytes, in blood, bone marrow samples as well as in biological fluids. All of these approve the indisputable place of lymphocyte immunophenotype, together with cytomorphologic microscopic examination, to confirm a CLL. For the other B-cell disorders, the immunophenotype with flow cytometry is very helpful with some limits.

**Key words:** flow cytometry, B-cell disorders, Chronic Lymphocytic Leukemia, Attune™ NxT Acoustic Focusing, lymphocyte immunophenotype.