

# Atlas d'images de cytométrie en flux : Les syndromes lymphoprolifératifs

## Atlas of flow cytometry images: Lymphoproliferative syndromes

Caroline Mayeur-Rousse<sup>1,5</sup>

Sabrina Bouyer<sup>2,5</sup>

Lucile Baseggio<sup>3,4,5</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire d'hématologie,  
CHU de Strasbourg, France

<sup>2</sup> Laboratoire d'hématologie,  
CHU La Milétrie, Poitiers, France

<sup>3</sup> Laboratoire d'hématologie cellulaire,  
GHS/Hospices civils de Lyon, Pierre  
Bénite, France

<sup>4</sup> Équipe Lymphoma Immuno-Biology,  
Faculté de médecine Lyon-Sud,  
Pierre-Bénite, France

<sup>5</sup> Groupe CytHem-SLP

Article, accepté le 20 octobre 2021

L'immunophénotypage par cytométrie en flux (CMF) est devenue une analyse incontournable dans la démarche diagnostique multidisciplinaire des syndromes lymphoprolifératifs chroniques (SLP) B, T et NK. Chaque SLP se caractérise par des profils immunologiques amplement décrits dans la littérature (*tableaux 1 et 2*). Une meilleure connaissance de la physiopathologie des SLP, grâce en particulier aux avancées en biologie moléculaire, a permis de mieux en préciser les contours, de définir la cellule d'origine (correspondant plus ou moins à la contrepartie normale dont dérive un SLP), et notamment d'enrichir ces premiers profils immunologiques de nouveaux marqueurs tant diagnostiques que pronostiques ou thérapeutiques. À la spécificité et sensibilité de la CMF, s'ajoute à présent un intérêt dans la quantification de molécules cibles utilisées en immunothérapie.

Actuellement, l'offre du marché des anticorps (Acs) monoclonaux (clones et fluorochromes) ne cesse de croître en réponse notamment à l'évolution des cytomètres en flux, les plus récents utilisés dans un laboratoire de routine (hospitalière ou non-hospitalière) permettant de réaliser à ce jour

des marquages intégrant jusqu'à 14/18 paramètres en une seule analyse. Le choix des Acs (et en particulier le clone) est généralement guidé par la littérature et les recommandations de groupes d'experts nationaux ou internationaux. En revanche, une part de subjectivité lors de l'interprétation des résultats (en particulier le fenêtrage et placement des seuils de positivité) persiste toujours, et pourrait être réduite par l'uniformisation des techniques et l'utilisation notamment de nouveaux logiciels permettant des analyses non supervisées. L'uniformisation de ces procédures est l'un des futurs défis pour les cytométristes.

Le but de cet atlas est de proposer des images de CMF « caractéristiques » des principaux SLP-B et SLP-T. Les profils immunologiques présentés ont été obtenus dans 3 centres hospitaliers différents avec chacun sa propre démarche diagnostique, sur 3 cytomètres différents (FACS Canto II BD Biosciences®, LYRIC BD Biosciences® et NAVIOS, Beckman Coulter®), avec des clones d'Acs et combinaisons d'Acs différents. Les panels d'Acs utilisés dans ces exemples sont des panels de routine et propres à chaque centre (cf. annexe). Ils ne comportent pas forcément tous les Acs décrits dans la littérature mais ceux qui sont les plus fréquemment utilisés dans la routine des laboratoires (cf. enquête menée par le groupe SLP-CYTHem [1]) et qui paraissent les plus pertinents. Ainsi, même si les profils

**Correspondance** : L. Baseggio  
<Lucile.baseggio@chu-lyon.fr>

**Tableau 1.** Profils immunologiques de syndromes lymphoprolifératifs B.

	LLC	LCM	LZM	HCL	SDRPL	LF
CD19	+	+	+	+	+	+ faible
CD5	+	+	-/+ (25 %)	-	-/+ (25 %)	-
CD23	+	-	-/+ (25 %)	-	-	-/+
sIg	+ faible/-	+	+	+	+	+
FMC7	+ faible/-	+	+	+	+	+
CD22	+ faible/-	+	+	+++	++	+
CD79b	+ faible/-	+	+	+	+	+
CD10	-	-	-	-/+ (10 %)	-	+
CD20	+ faible	+	+	+++	++	+
CD43	++	-/+	-	-	-	-
CD38	-/+	+/-	-/+	-	-	+
CD103	-	-	-	++	-/+	-
CD123	-	-	-	++	-	-
CD25	-/+	-	+/-	++	-	-
CD11c	-	-	-/+	+++	++	-
CD180	-/+ faible	-	+	+++	++	+
CD200	++	-	+	+++	+	+

+ : généralement positif (++ = intensité d'expression modérée, +++ = intensité d'expression forte), - : généralement négatif, +/- : habituellement positif mais peut être négatif, -/+ : habituellement négatif mais peut être positif. sIg : immunoglobulines de surface (évaluées par l'expression des chaînes légères kappa ou lambda). LLC : leucémie lymphoïde chronique, LCM : lymphome des cellules du manteau, LZM : lymphome des cellules de la zone marginale, HCL : leucémie à tricholeucocytes, SDRPL : lymphome B splénique diffus de la pulpe rouge, LF : lymphome folliculaire.

**Tableau 2.** Profils immunologiques des syndromes lymphoprolifératifs T.

	LPL-T	SS	LTAI	LGL	LLTA
CD3	+	+	+	+	+
CD4	+	+	+	-/+ (15 %)	+
CD8	-	-	-	+	-
CD2	+	+	+	+	+
CD5	+	+	+	+ faible/-	+
CD7	+++	-/+	+	+	+
CD16	-	-	-	+	-
CD56	-	-	-	-/+	-
CD57	-	-	-	+	-
TIA/perforine/GrB7	-	-	-	+	-
CD10	-	-	+/-	-	-
CD25	-	-	-	-	+
CD26	+	-	+	+	+
CD158k	-	+/-	-	-	-

+ : généralement positif (++ = intensité d'expression modérée, +++ = intensité d'expression forte), - : généralement négatif, +/- : habituellement positif mais peut être négatif, -/+ : habituellement négatif mais peut être positif. LPL-T : leucémie proliférative T, SS : syndrome de Sézary, LTAI : lymphome T angio-immunoblastique, LGL : leucémie à grand lymphocytes à grains, LLTA : leucémie/lymphome T de l'adulte HTLV-1+.

immunologiques sont identiques/superposables (*tableaux 1 et 2*), cet atlas illustre l'hétérogénéité possible des images obtenues qui est liée à la technologie propre du cytomètre, au logiciel d'analyse, aux combinaisons d'Acs différentes (clone, fluorochrome). L'interprétation finale requiert la bonne connaissance des images obtenues/attendues dans

un SLP-B ou T donné mais également des populations lymphoïdes normales à titre de comparaison.

Les *tableaux 1 et 2* reprennent de façon synthétique les différentes caractéristiques immunologiques des SLP-B et T. Ils représentent une aide quotidienne à l'interprétation des immunophénotypages, cependant, ils doivent tenir

compte de l'expérience de chaque laboratoire, et en cas d'interprétation délicate, des valeurs d'intensité moyenne de fluorescence des différentes populations lymphoïdes quand celles-ci ont été déterminées.

## Figure 1. Leucémie lymphoïde chronique (LLC)

Le profil immunologique typique des cellules de LLC (*tableau 1*) est CD5+, CD23+, CD22-/+,<sup>faible</sup>, FMC7-/+,<sup>faible</sup>, sIG+<sup>faible</sup> (score de Matutes 5/5), ou CD79b -/+,<sup>faible</sup> à la place du CD22 (score RHM 5/5) [2, 3]. Les cellules de LLC expriment faiblement le CD20, fortement les CD43 et CD200, et n'expriment pas ou faiblement le CD180. L'expression du CD38 peut être positive ou négative.

À noter que le profil immunologique des cellules B de LLC est superposable à celui de cellules B de la lymphocytose B monoclonale de type LLC (MBL de type LLC), et que c'est le taux de cellules B clonales détectées au niveau du sang périphérique associé aux données clinico-biologiques qui permettra de faire la distinction [4].

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC]) : cellules lymphoïdes B [en bleu], cellules lymphoïdes T/NK [en gris]. Le graphique kappa/lambda est lui conditionné sur la population CD19 positive.

*Figure 1a. Acquisition : LYRIC, analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)*

Dans cet exemple, il persiste un petit contingent de cellules lymphoïdes B polytypiques dont le profil immunologique est bien distinct de celui des cellules de LLC. Dans le panel en 12 couleurs utilisé (cf. annexe), il n'y a pas d'anti-CD22 ; le profil de LLC est déterminé sur les paramètres suivants : CD5+/CD23+/FMC7-/CD79b+<sup>faible</sup>/sIG+<sup>faible</sup>/CD43+ (panel B1 en complément, cf. annexe). En V450, il y a de l'anti-CD20 et de l'anti-CD4 : les cellules B de LLC sont faiblement CD20 positives avec une intensité plus faible celle du CD4 exprimé sur les cellules T (inférieur à 10<sup>4</sup>) contrairement aux cellules B normales ou à d'autres SLP-B dont l'expression du CD20 est superposable ou plus forte que celle du CD4 des cellules T (supérieur ou égal à 10<sup>4</sup>). En BV711, il y a de l'anti-CD7 et anti-CD23 : les cellules B de LLC sont CD23 positives et l'intensité d'expression attendue est superposable à celle du CD7 exprimé par les cellules T (supérieur ou égal à 10<sup>4</sup>, flèche rouge). Les cellules B de LLC peuvent être partiellement CD38 positives (*figure 1a*' cas (1)), faiblement CD38 positives (*figure 1a*' cas (2)) ou CD38 négatives (*figure 1a*'

cas (3)) : pour placer le seuil de positivité, il peut être utile de faire apparaître les monocytes qui sont CD38 positifs.

*Figure 1b. Acquisition : FACsCanto II, analyse : logiciel FACSDIVA (version 8)*

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (cf annexe). Les cellules B sont monotypiques lambda (faible intensité, inférieure à 10<sup>4</sup>) de score de Matutes/Moreau à 5/5 : CD5+, CD23+, CD79b-, CD22<sup>faible</sup>, FMC7-, sIG<sup>faible</sup>. Ce profil est typique d'une LLC. Le CD20 est faiblement exprimé. Il n'y a pas de cellules B polytypiques résiduelles, dans les conditions d'acquisition de ce tube. Le CD200 est fortement exprimé et le CD180 est faiblement exprimé.

Les cellules B de LLC peuvent être CD38 négatives (*figure 1b*' cas (1)), partiellement CD38 positives (*figure 1b*' cas (2)) ou CD38 positives (*figure 1b*' cas (3)). À noter que différents seuils de positivité ont été proposés dans la littérature. Ici, le seuil de 20 % est appliqué [5, 6].

*Figure 1c. Acquisition : NAVIOS, analyse : logiciel (version 2.1)*

Dans cet exemple, il persiste un petit contingent de cellules lymphoïdes B polytypiques (en rouge) dont le profil immunologique est bien distinct de celui des cellules de LLC. Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (cf. annexe). Les cellules B sont monotypiques kappa<sup>faible</sup> (MFI < 30) de score de Matutes/Moreau à 5/5 : CD5+, CD23+, CD79b+<sup>faible</sup> (MFI<10), CD22+<sup>faible</sup>, FMC7-. Ce profil est typique d'une LLC. Le CD20 est faiblement exprimé, le CD43 positif et le CD200 positif fort par rapport aux lymphocytes B polytypiques résiduels.

Les cellules B de LLC peuvent être partiellement CD38 négatives (*figure 1c*' cas (1)), faiblement CD38 positives (*figure 1c*' cas (2)) ou CD38 positives (*figure 1c*' cas (3)) : pour placer le seuil de positivité, il peut être utile de faire apparaître les monocytes qui sont CD38 positifs. Dans notre centre, nous utilisons un seuil de positivité à 30 % [7].

## Figure 2. Lymphome des cellules de la zone du manteau (LCM)

Le profil immunologique typique des cellules du LCM (*tableau 1*) est CD5+, CD23-, CD22+<sup>fort</sup>, FMC7+<sup>fort</sup>, sIG+<sup>fort</sup> (score de Matutes 1/5) ou CD79b+<sup>fort</sup> à la place du CD22 (score RHM 1/5), il peut néanmoins avoir des variations d'expression des CD22, CD79b et FMC7 mais les scores Matutes/RHM sont toujours inférieurs à 3. Une négativité du CD5 a été rapportée [8, 9]. Les cellules de LCM expriment fortement le CD20, et n'expriment pas les CD200 ou CD180 [10-12]. Une expression faible du CD43

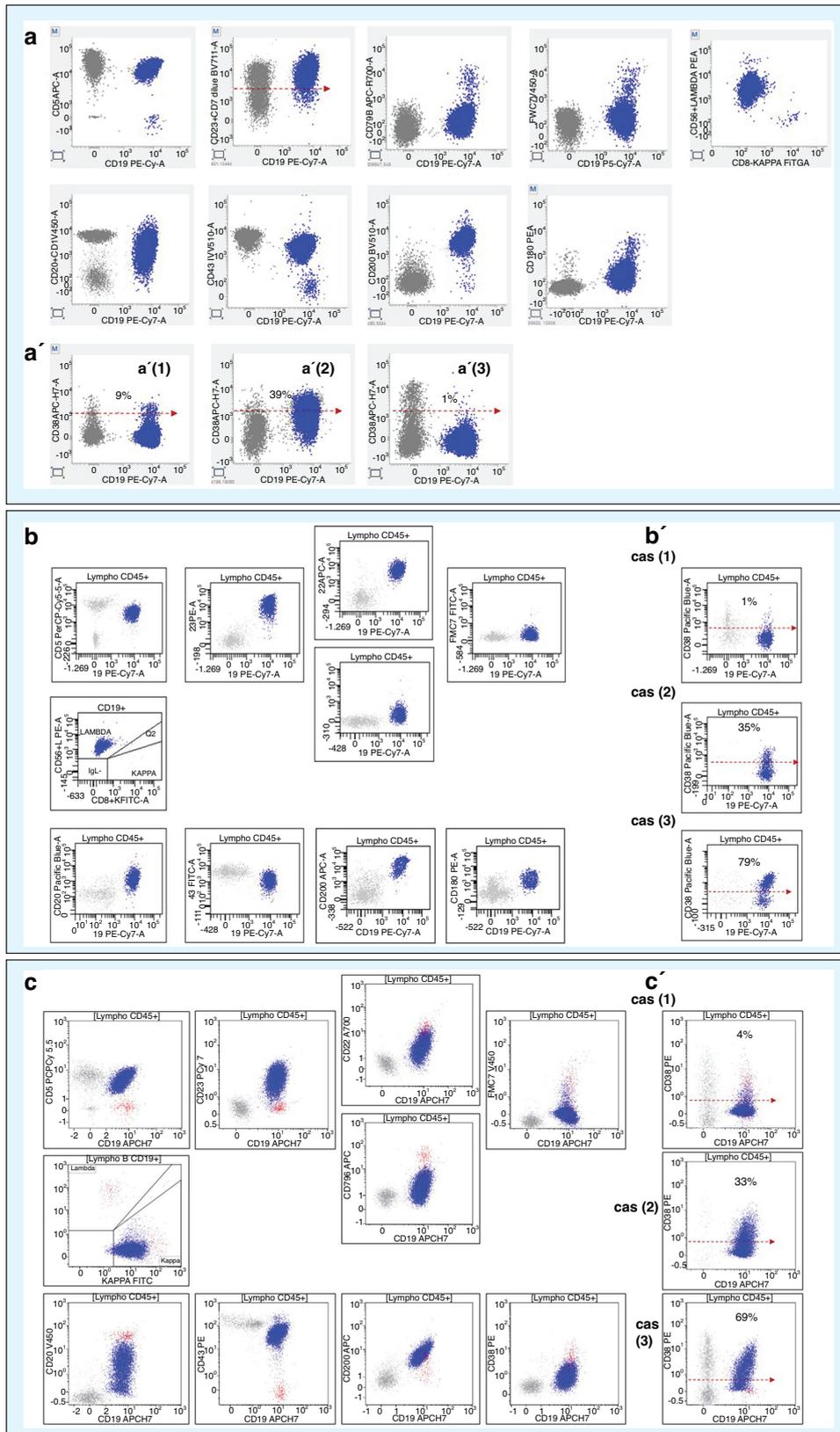
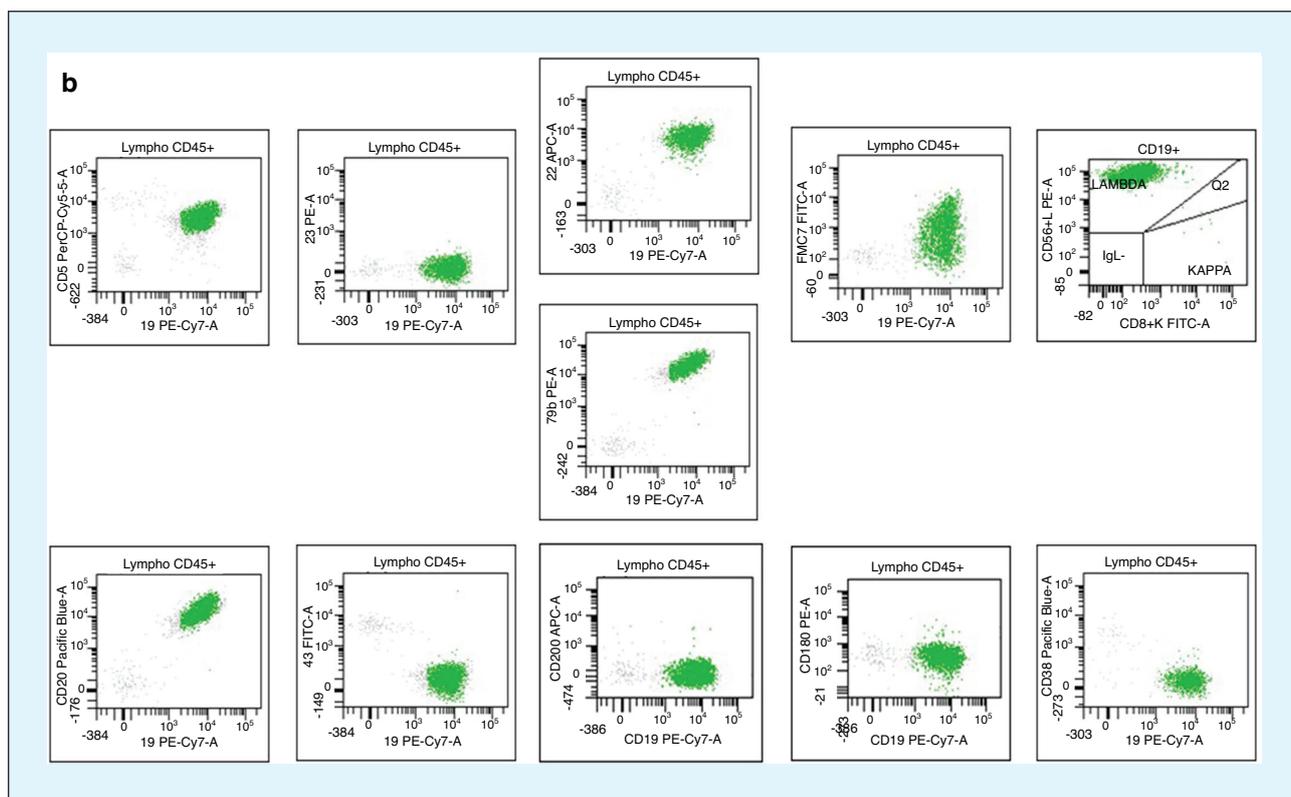
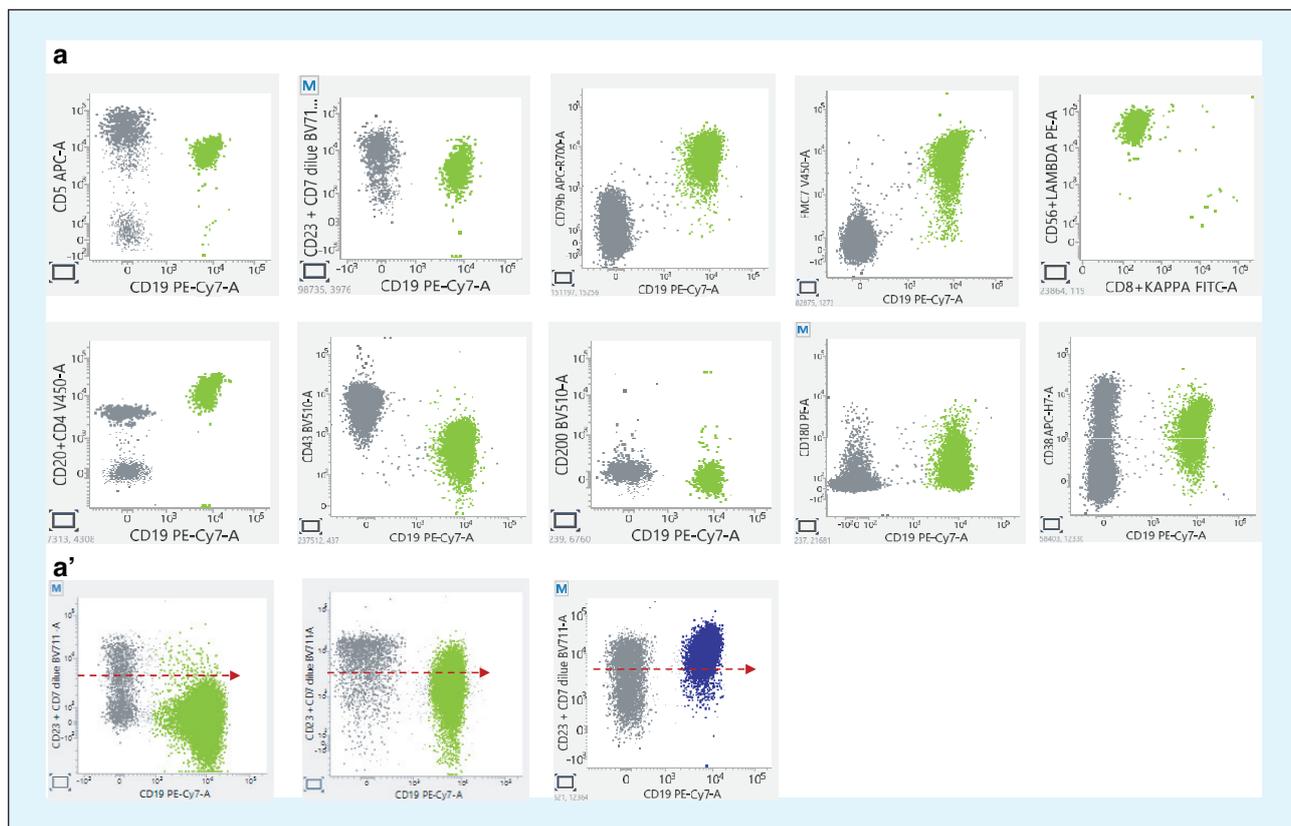
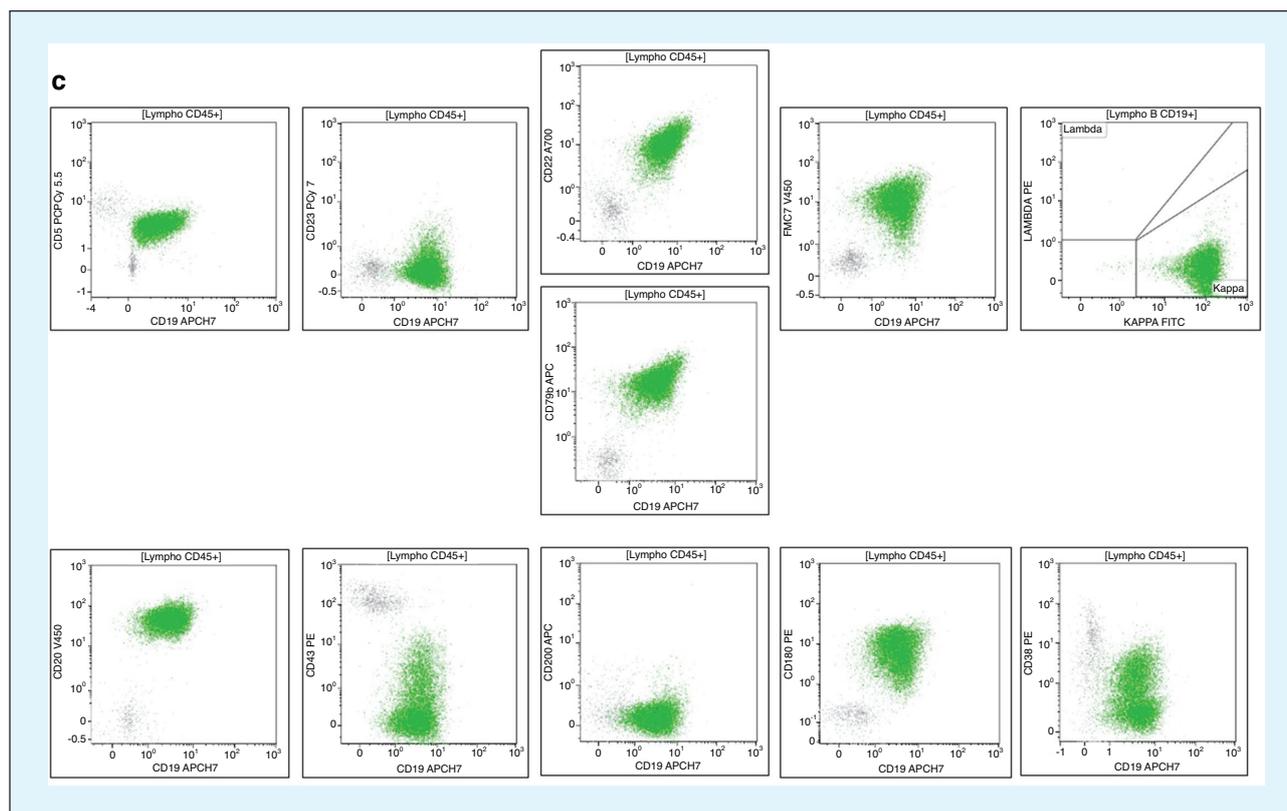


Figure 1. Leucémie lymphoïde chronique (LLC).



**Figure 2.** Lymphome des cellules de la zone du manteau (LCM).



**Figure 2.** Lymphome des cellules de la zone du manteau (LCM). (Suite)

peut être observée. L'expression du CD38 est habituellement forte.

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC]) : cellules lymphoïdes B [en vert], cellules lymphoïdes T/NK [en gris]. Le graphique kappa/lambda est lui conditionné sur la population CD19 positive.

**Figure 2a.** Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)

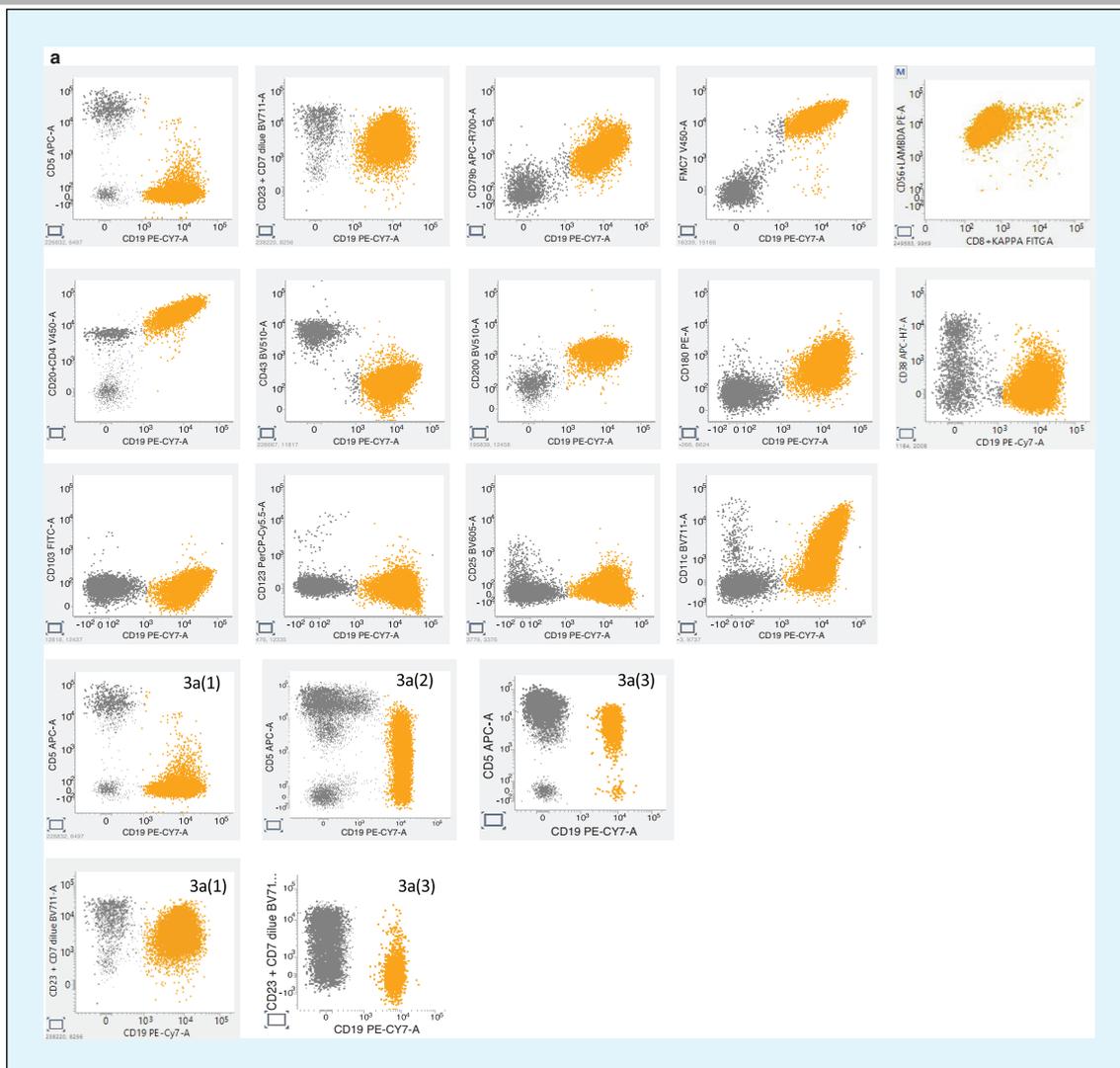
Dans le panel en 12 couleurs utilisé (cf. annexe), il n'y a pas d'anti-CD22 : le profil de LCM est déterminé sur les paramètres du score de Moreau/RH (panel B1 en complément cf annexe). En V450, il y a de l'anti-CD20 et de l'anti-CD4 : les cellules B de LCM sont fortement CD20 positives avec une intensité égale ou plus forte que celle du CD4 exprimé par les cellules T (supérieur ou égal à  $10^4$ ) contrairement aux cellules B de LLC. En BV711, il y a de l'anti-CD7 et anti-CD23 : les cellules B de LCM sont CD23 négatives et l'intensité d'expression attendue est plus faible que celle du CD7 exprimée par les cellules T (flèche rouge) ou que celle des cellules B de LLC (en bleu (figure 2a)).

**Figure 2b.** Acquisition : FACsCanto II, Analyse : logiciel FACSDIVA (version 8)

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (cf. annexe). Les cellules B sont monotypiques lambda (forte intensité, supérieure à  $10^4$ ) de score de Matutes/Moreau à 1/5 : CD5+, CD23-, CD79b+<sup>fort</sup>, CD22+<sup>fort</sup>, FMC7+. Le CD20 est fortement exprimé et le CD200 est négatif, contrairement à la plupart des autres SLP-B qui l'exprime faiblement ou fortement. Ce profil est typique d'un LCM. Dans cet exemple, le CD38 et le CD43 sont négatifs.

**Figure 2c.** Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)

Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (cf. annexe). Les cellules B sont monotypiques kappa (forte intensité, MFI > 100) de score de Matutes/Moreau à 1/5 : CD5+, CD23-, CD79b+<sup>fort</sup> (MFI > 50), CD22+<sup>fort</sup>, FMC7+. Le CD20 est fortement exprimé, le CD43 et le CD38 sont exprimés partiellement et le CD200 négatif, contrairement à la plupart des autres SLP-B qui l'exprime faiblement ou fortement. Ce profil est typique d'un LCM.



**Figure 3.** Lymphome des cellules de la zone marginale (LZM).

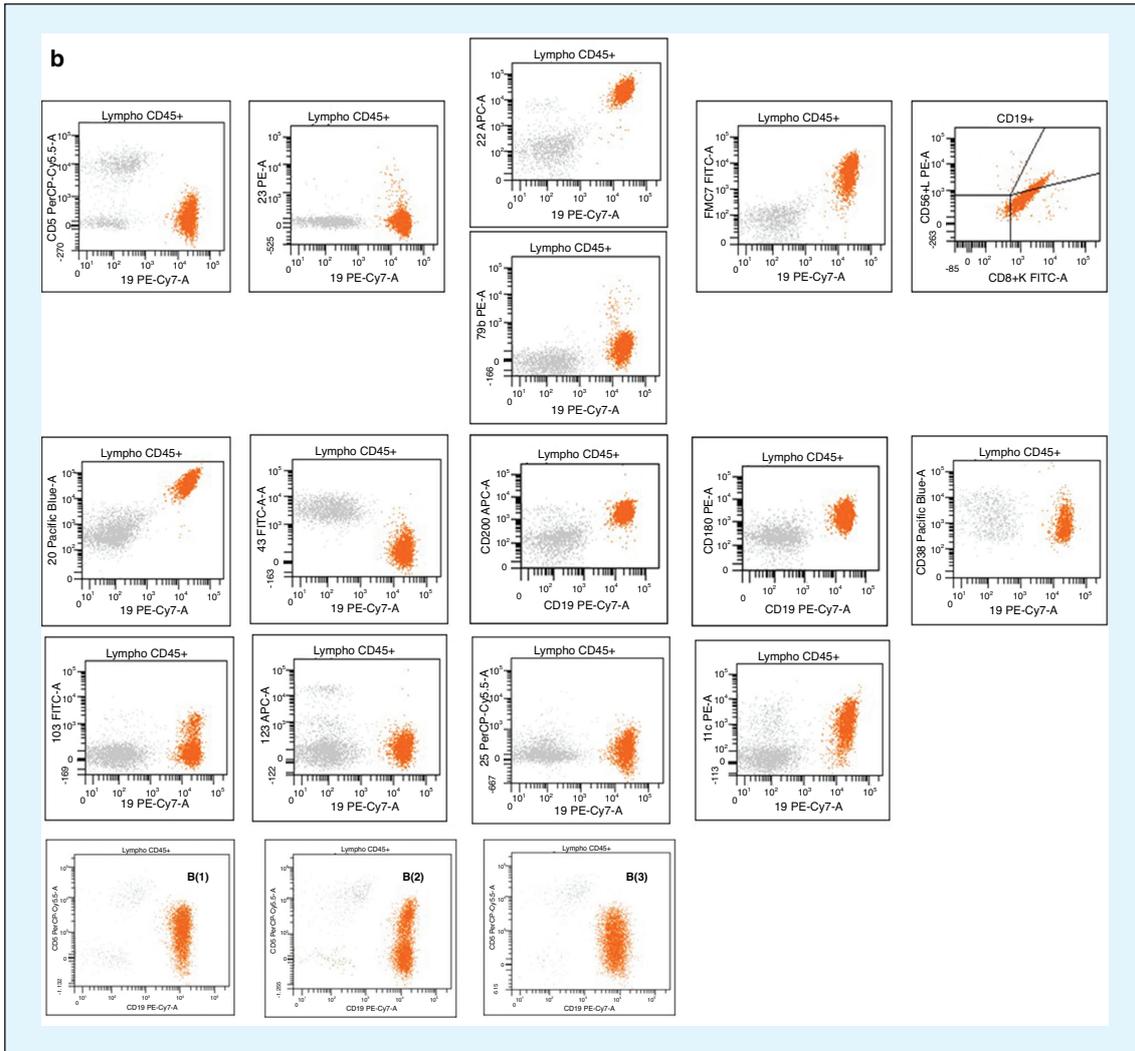
### Figure 3. Lymphome des cellules de la zone marginale (LZM)

Le profil immunologique des cellules du LZM (*tableau 1*) est habituellement CD5<sup>-</sup>, CD23<sup>-</sup>, CD22<sup>+fort</sup>, FMC7<sup>+fort</sup>, sIg<sup>+fort</sup> (score de Matutes 0/5) ou CD79b<sup>+fort</sup> à la place du CD22 (score RHM 0/5), il peut néanmoins avoir des variations d'expression des CD22, CD79b et FMC7 mais les scores Matutes/RHM restent inférieurs à 3. Les cellules de LZM expriment fortement les CD20, CD200 et CD180, n'expriment pas le CD43 [12-14]. Les marqueurs CD103, CD123 sont habituellement négatifs. Une positivité faible des CD25 et CD11c peut être observée. Dans 20-25 % des cas, ces cellules peuvent exprimer le CD5 et/ou le CD23 [15].

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC] : cellules lymphoïdes B [en orange], cellules lymphoïdes T/NK [en gris]. Le graphique kappa/lambda est lui conditionné sur la population CD19 positive.

*Figure 3a. Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACSuite (version V1.3)*

Dans le panel en 12 couleurs utilisé (*cf. annexe*), il n'y a pas d'anti-CD22 : le profil de LZM est déterminé sur les paramètres du score de Moreau/RHM (panel B2 en complément, *cf. annexe*), et présente un score habituellement décrit comme « nul ». En V450, il y a de l'anti-CD20



**Figure 3.** Lymphome des cellules de la zone marginale (LZM). (Suite)

et de l'anti-CD4 : les cellules B de LZM sont fortement CD20 positives avec une intensité égale ou plus forte que celle du CD4 exprimé par les cellules T (supérieur ou égal à  $10^4$ ) contrairement aux cellules B de LLC. En BV711, il y a de l'anti-CD7 et anti-CD23, les cellules B de LZM sont dans ce cas (1) CD23 positives (figure 3a cas (1)), mais le plus souvent elles sont CD23 négatives avec une intensité d'expression plus faible que celle du CD7 exprimé par les cellules T (figure 3a cas (3)). Le CD5 est positif dans 20-25 % des cas, et cette positivité peut être faible ou forte (figure 3a cas (2) ou cas (3), respectivement).

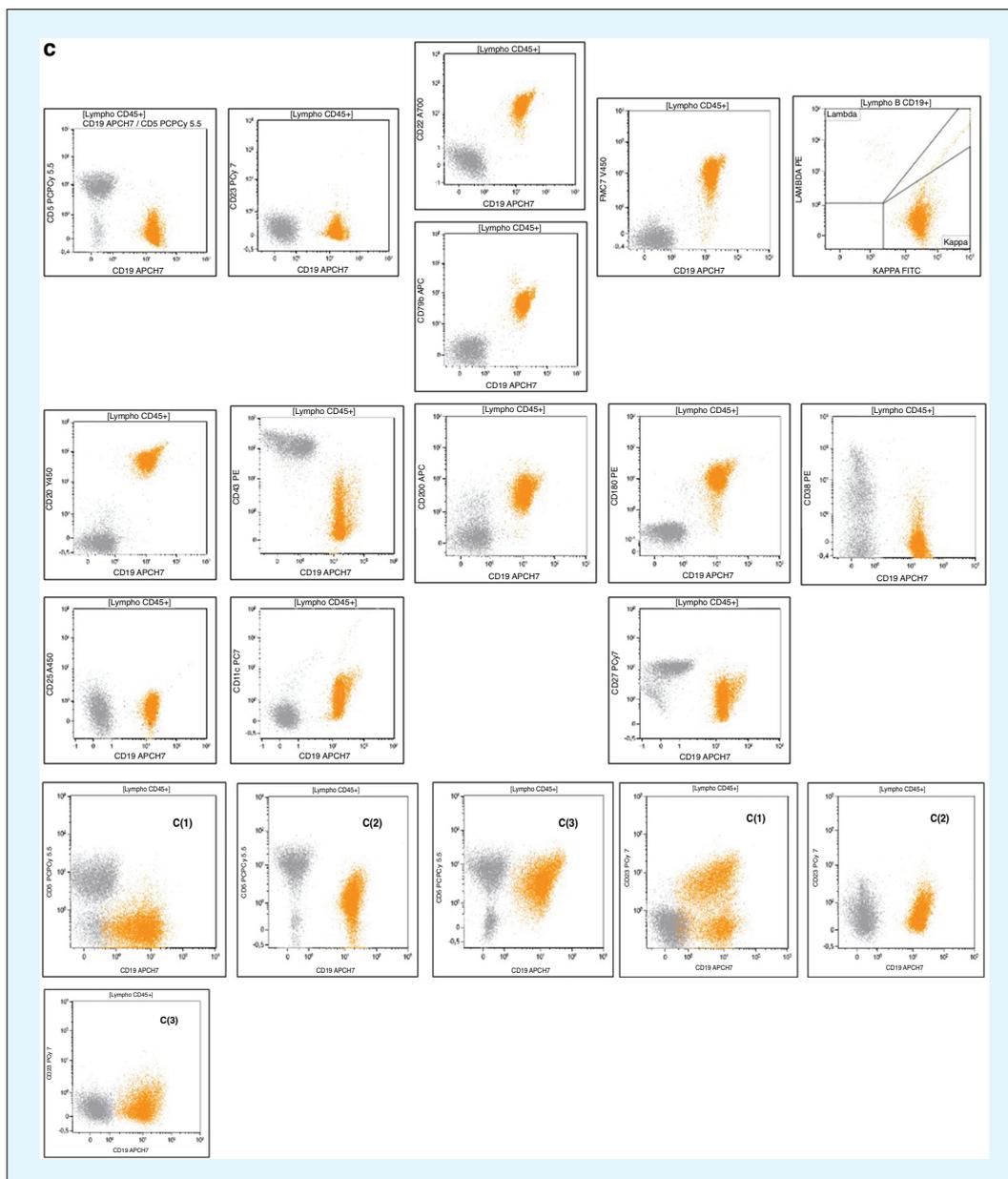
*Figure 3b. Acquisition : FACScanto II, Analyse : logiciel FACSDIVA (version 8)*

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (cf. annexe). Les cellules B sont monotypiques kappa (intensité modé-

rée), CD5-, CD23-, CD79b+faible, CD22+forte, FMC7+, de score de Moreau à 1/5 du fait de la faible positivité du CD79b. Le CD20 et le CD180 sont fortement positifs. Parmi les paramètres du score tricholeucocytes (CD11c/CD25/CD103/CD123), le CD11c est fortement positif, ce qui est souvent le cas dans les LZM, et une partie des cellules expriment faiblement le CD103. Le CD5 est classiquement négatif mais peut être positif, positif partiel ou faible (figure 3b(1), (2) et (3) respectivement), en général d'intensité intermédiaire entre les lymphocytes T CD5+ et les NK CD5-.

*Figure 3c. Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)*

Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (cf. annexe). Les cellules B sont monotypiques kappa (intensité modé-



**Figure 3.** Lymphome des cellules de la zone marginale (LZM). (Suite)

rée) de score de Matutes/Moreau à 0/5 : CD5-, CD23-, CD79b+, CD22+, FMC7+. Le CD20 et le CD180 sont classiquement fortement exprimés, le CD43 est partiel et le CD200 positif. Dans notre centre, les marqueurs tricholeucocytaires CD103 et CD123 ne sont pas réalisés de façon systématique. Le CD11c est positif, ce qui est souvent le cas dans les LZM et le CD25 est négatif. Le CD27 est faiblement exprimé. Le CD5 est classiquement négatif mais peut être positif, partiel ou faible (*figure 3c* cas (1), (2) et (3) respectivement), en général d'intensité intermédiaire entre les lymphocytes T CD5+ et les NK CD5-. Le CD23 peut

être partiellement exprimé (*figure 3c* cas (1)) mais il est généralement négatif (*figure 3c* cas (2)(3)).

#### Figure 4. Leucémie à tricholeucocytes (HCL)

Le profil immunologique typique des cellules de la leucémie à tricholeucocytes (*tableau 1*) est CD5-, CD23-, CD22+<sup>fort</sup>, FMC7+<sup>fort</sup>, sIg+<sup>fort</sup> (score de Matutes 0/5) ou CD79b+<sup>fort</sup> à la place du CD22 (score RHM 0/5),

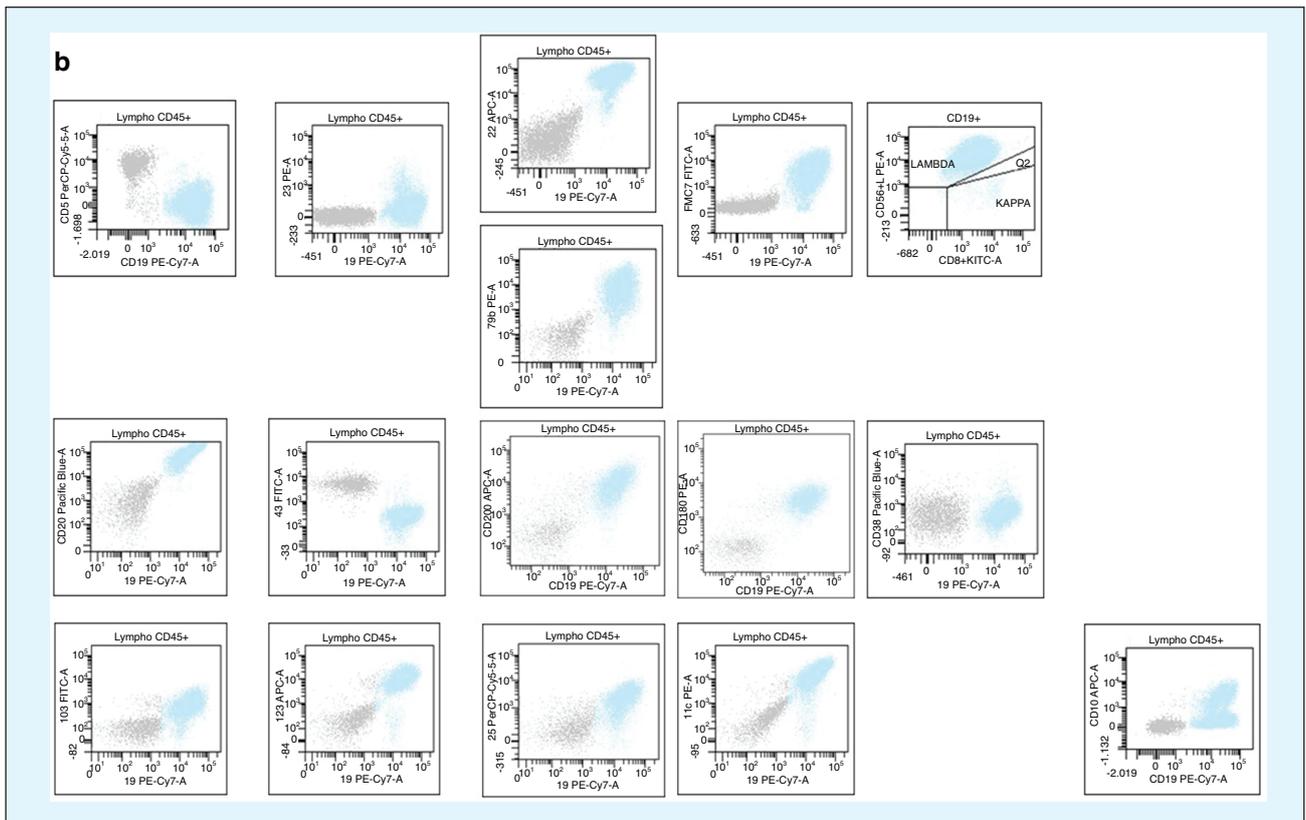
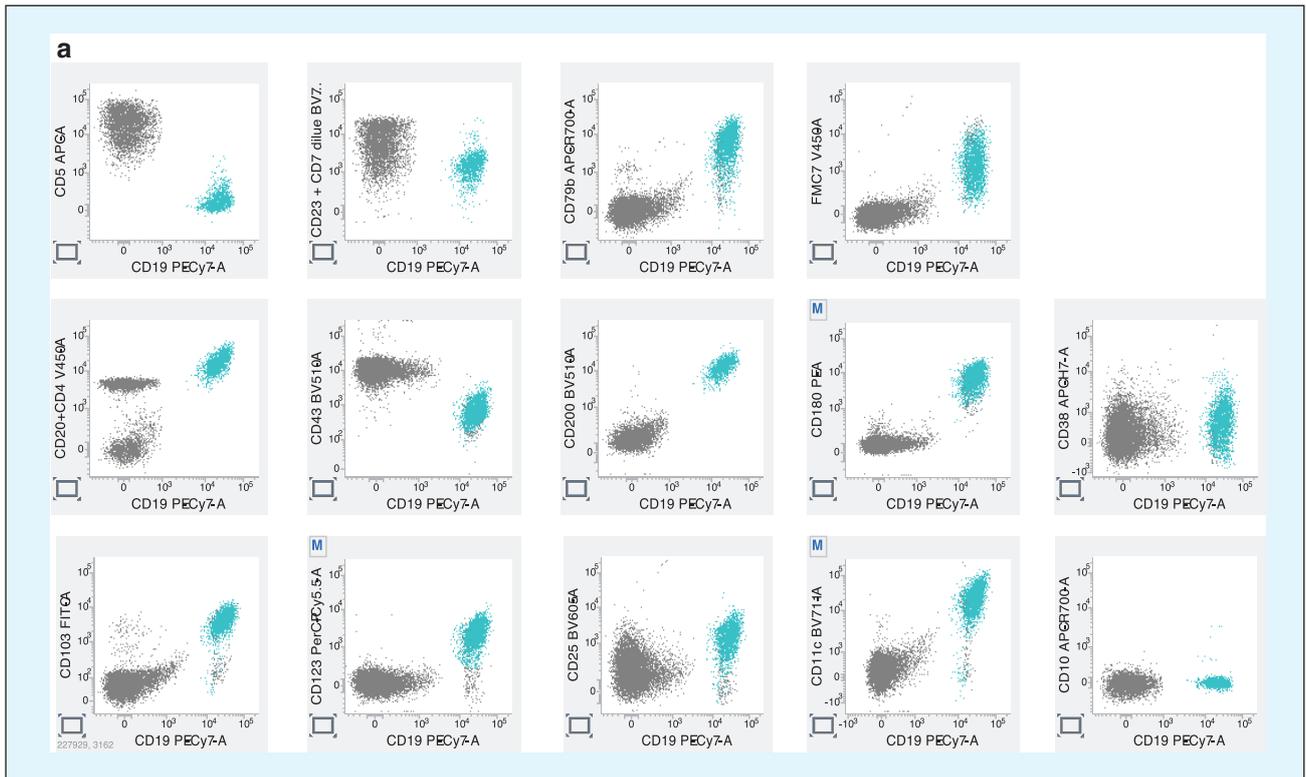
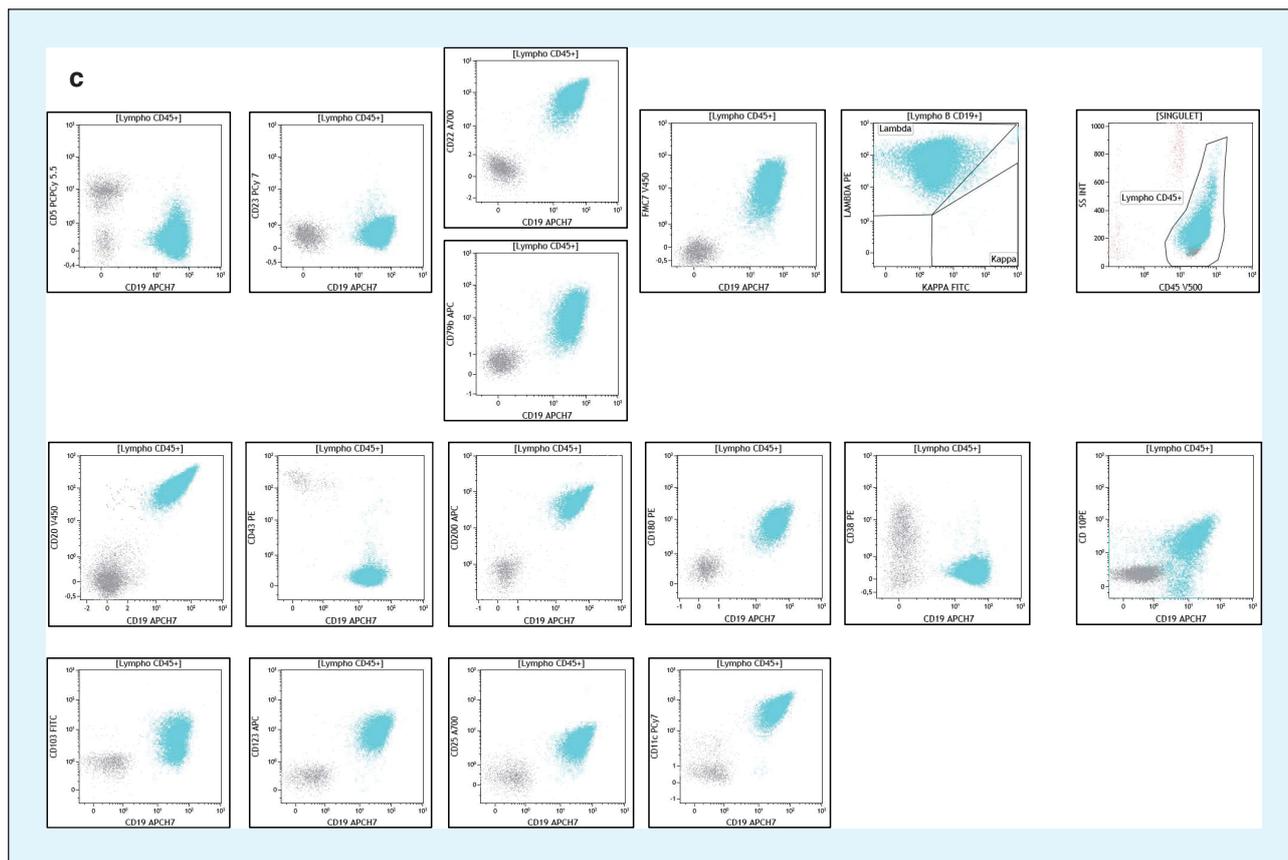


Figure 4. Leucémie à tricholeucocytes (HCL).



**Figure 4.** Leucémie à tricholeucocytes (HCL). (Suite)

il peut néanmoins avoir des variations d'expression des CD22, CD79b et FMC7 mais les scores Matutes/RHM restent inférieurs à 3. Les cellules de HCL expriment très fortement les CD20, CD200 et CD180, et n'expriment pas le CD43. L'intensité d'expression du CD200 est d'ailleurs la plus forte de tous les SLP-B [10, 13]. La caractéristique de cellules de HCL est la forte co-expression des CD103, CD123, CD25 et CD11c [16]. Le CD10 est habituellement négatif, mais une positivité (totale ou partielle) est rapportée dans 10 % des cas [17].

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC]) : cellules lymphoïdes B [en bleu turquoise], cellules lymphoïdes T/NK [en gris]. Le graphique kappa/lambda est lui conditionné sur la population CD19 positive.

**Figure 4a.** Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)

Dans le panel en 12 couleurs utilisé (cf. annexe), il n'y a pas d'anti-CD22 : le profil de HCL est déterminé sur les

paramètres du score de Moreau/RHM (panel B2 en complément, cf. annexe). En V450, il y a de l'anti-CD20 et de l'anti-CD4 : les cellules B de HCL sont très fortement CD20 positives avec une intensité plus forte que celle du CD4 exprimé par les cellules T (supérieur à  $10^4$ ). Les cellules de tricholeucocytes expriment fortement les 4 marqueurs du score de Del Giudice (CD103/CD123/CD11c/CD25) [16].

**Figure 4b.** Acquisition : FACsCanto II, Analyse : logiciel FACsDIVA (version 8)

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (cf. annexe). Les cellules B sont monotypiques lambda<sup>fort</sup> CD5-, CD23-, CD79b<sup>fort</sup>, CD22<sup>fort</sup>, FMC7+, de score de Matutes/Moreau à 0/5. Le CD20 est fortement exprimé, et les CD180 et CD200 sont tous les deux fortement positifs. Cette forte intensité de co-expression est très évocatrice du diagnostic d'HCL. Les 4 paramètres du score tricholeucocytes de Del Giudice [16] (CD11c/CD25/CD103/CD123) sont positifs et une partie des cellules expriment le CD10, comme rapporté [17].

### Figure 4c. Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)

Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (*cf. annexe*). Le profil du graphique SSC/CD45 est assez typique et retrouve un nuage de cellules de HCL présentant un SSC augmenté avec un aspect « en virgule ». Les cellules B sont monotypiques lambda<sup>fort</sup> de score de Matutes/Moreau à 0/5 : CD5-, CD23-, CD79b<sup>fort</sup>, CD22<sup>fort</sup>, FMC7+. Le CD20 et le CD200 sont classiquement très fortement exprimés, le CD43 est négatif et le CD180 positif. Le CD10 est le plus souvent négatif mais peut être positif comme dans notre exemple. Les marqueurs tricholeucocytaires (*figure 4c*) permettent de calculer le score tricholeucocytes de Del Giudice [16] (4/4 dans cet exemple) : CD11c<sup>fort</sup> CD25+ CD103+ CD123+.

### Figure 5. Lymphome B splénique diffus de la pulpe rouge (SDRPL)

Le profil immunologique typique des cellules du SDRPL (*tableau 1*) est habituellement CD5-, CD23-, CD22<sup>fort</sup>, FMC7<sup>fort</sup>, sIG<sup>fort</sup> (score de Matutes 0/5) ou CD79b<sup>fort</sup> à la place du CD22 (score RHM 0/5), il peut néanmoins avoir des variations d'expression des CD79b et FMC7 mais les scores Matutes/RHM restent inférieurs à 3. Les cellules de SDRPL expriment fortement les CD20 et CD22 et n'expriment pas les CD27, CD38 et CD43 [18]. Un système de score basé sur 5 marqueurs (CD11c<sup>fort</sup>, CD22<sup>fort</sup>/CD38-/CD27-/CD76-) a été proposé et permet de distinguer SDRPL (score de 3 à 5) du LZM (score de 0 à 2) [19]. Ces cellules sont fortement CD180 positives et expriment plus faiblement le CD200 avec un rapport d'intensité CD200/CD180 habituellement inférieur à 0,5 contrairement aux cellules de LZM qui présentent généralement un rapport CD200/CD180 supérieur à 0,5 [13]. L'expression des CD103 et CD123 est habituellement négative [18].

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC]) : cellules lymphoïdes B [en rose], cellules lymphoïdes T/NK [en gris]. Le graphique kappa/lambda est lui conditionné sur la population CD19 positive.

### Figure 5a. Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)

Dans le panel en 12 couleurs utilisé (*cf. annexe*), il n'y a pas d'anti-CD22 : le profil de SDRPL est déterminé sur les paramètres du score de Moreau/RHM (panel B2 en complément, *cf. annexe*). En V450, il y a de l'anti-CD20

et de l'anti-CD4 : les cellules B de SDRPL sont fortement CD20 positives avec une intensité plus forte ou égale à celle du CD4 exprimé par les cellules T (supérieur à 10<sup>4</sup>). Les CD11c et CD180 présentent une intensité d'expression forte supérieure à celle observée sur les cellules B de LZM mais inférieure à celle observée sur les cellules de HCL.

### Figure 5b. Acquisition : FACsCanto II, Analyse : logiciel FACsDIVA (version 8)

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (*cf. annexe*). Les cellules B sont monotypiques lambda<sup>fort</sup> CD5-, CD23-, CD79b<sup>fort</sup>, CD22<sup>fort</sup>, FMC7+, de score de Matutes/Moreau à 0/5. Le CD20 est fortement exprimé. Le CD180 est très fortement exprimé, plus fortement que sur les cellules d'un LZM et le CD200 est faiblement exprimé, ce qui différencie ce profil de celui d'un HCL. Parmi les paramètres du score tricholeucocytes de Del Giudice [16] (CD11c/CD25/CD103/CD123), une partie des cellules expriment ici le CD11c, plus fortement que dans les LZM.

### Figure 5c. Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)

Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (*cf. annexe*). Le profil du graphique SSC/CD45 est assez typique comme dans le HCL (LNH au cytoplasme « chevelu ») et retrouve un nuage de cellules lymphomateuses présentant un SSC augmenté avec un aspect « en virgule ».

Les cellules B sont monotypiques lambda (intensité modérée) de score de Matutes/Moreau à 0/5 : CD5-, CD23-, CD79b+, CD22<sup>fort</sup>, FMC7+. Les CD22, CD11c et CD180 présentent une intensité d'expression forte supérieure à celle observée sur les cellules B de LZM mais inférieure à celle observée sur les cellules de HCL. Le CD200 est faiblement exprimé, ce qui différencie ce profil de celui d'un HCL. Le CD76 n'est pas utilisé dans notre laboratoire mais la présence d'un CD22<sup>fort</sup>, CD11c<sup>fort</sup>, CD38- et CD27- permettent de calculer un score SDRPL à au moins 4 [19].

### Figure 6. Lymphome folliculaire (LF)

Le profil immunologique typique des cellules du LF (*tableau 1*) est habituellement CD5-, CD23-, CD22<sup>fort</sup>, FMC7<sup>fort</sup>, sIG<sup>fort</sup> (score de Matutes 1/5) ou CD79b<sup>fort</sup> à la place du CD22 (score RHM 1/5), il peut néanmoins avoir des variations d'expression des CD22, CD79b et FMC7 mais les scores Matutes/RHM restent inférieurs à 3. Les cellules de LF sont caractérisées par l'expression du CD10. Le CD38 est généralement positif.

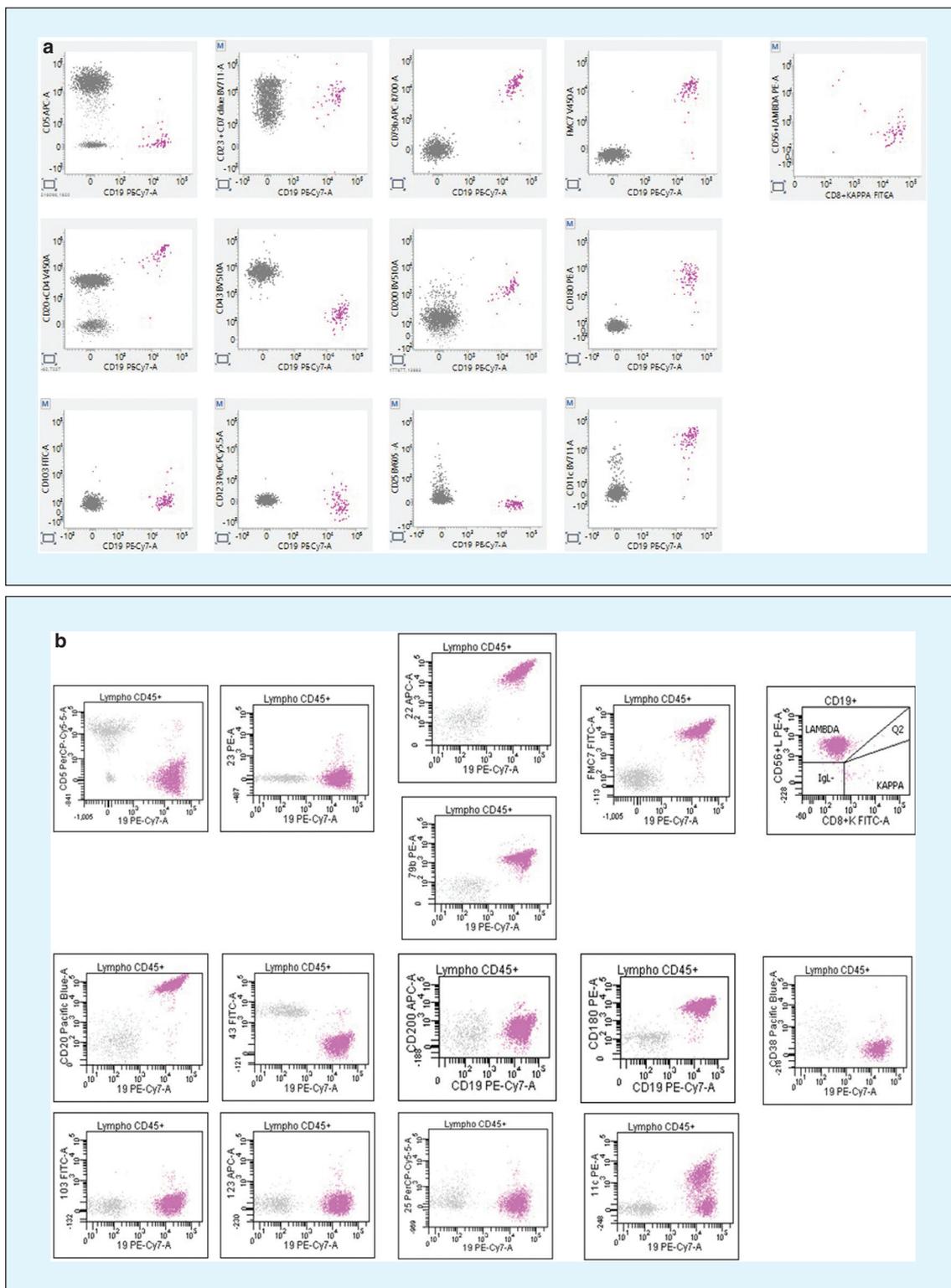
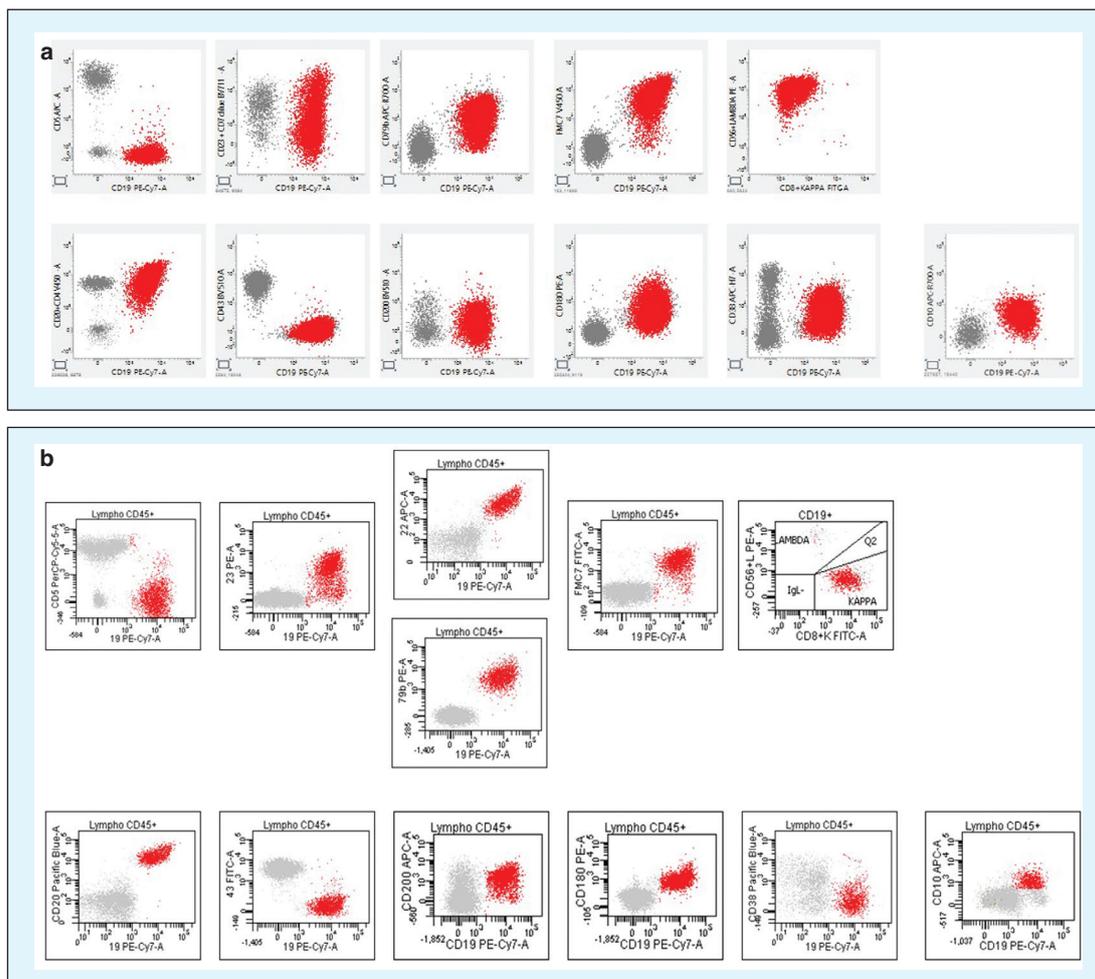


Figure 5. Lymphome B splénique diffus de la pulpe rouge (SDRPL).



**Figure 6.** Lymphome folliculaire (LF).

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC]) : cellules lymphoïdes B [en rouge], cellules lymphoïdes T/NK [en gris]. Le graphique kappa/lambda est lui sélectionné sur la population CD19 positive.

*Figure 6a. Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)*

Dans le panel en 12 couleurs utilisé (*cf. annexe*), il n'y a pas d'anti-CD22 : le profil de LF est déterminé sur les paramètres du score de Moreau/RHM (panel B1 en complément, *cf. annexe*). En V450, il y a de l'anti-CD20 et de l'anti-CD4 : les cellules B de LF sont fortement CD20 positives avec une intensité plus forte ou égale à celle du CD4 exprimé par les cellules T (supérieur à  $10^4$ ). Le CD19 est habituellement faible (intensité inférieure ou égale à  $10^4$ ). Dans le sang périphérique, les cellules de LF sont

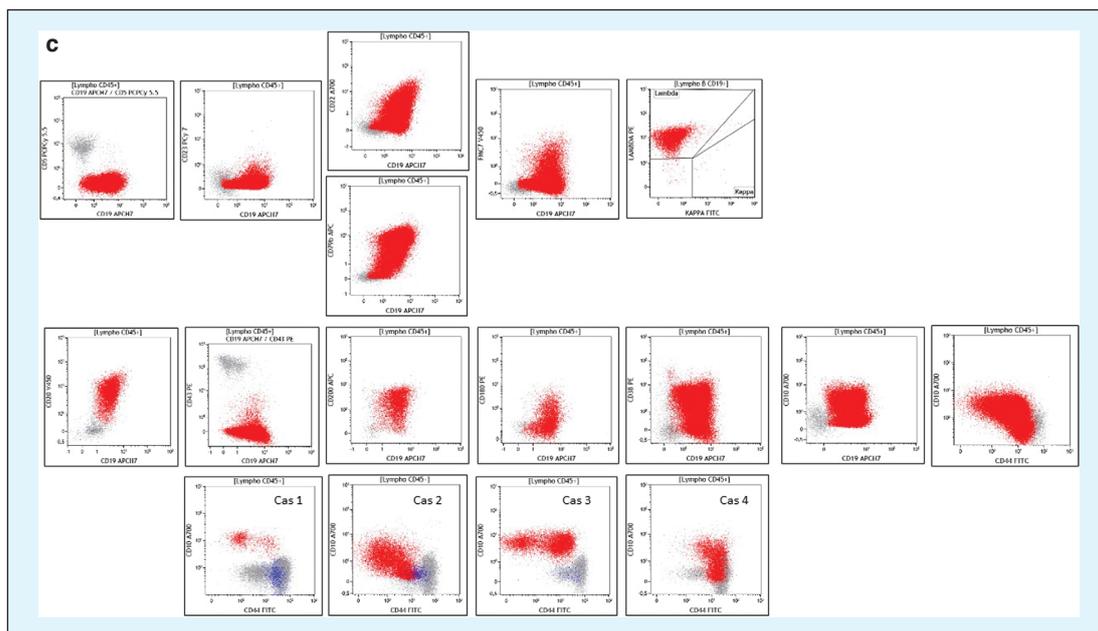
faiblement CD180, avec une expression plus faible que celle observée sur les cellules de LF au niveau ganglionnaire [20].

*Figure 6b. Acquisition : FACScanto II, Analyse : logiciel FACSDIVA (version 8)*

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (*cf. annexe*). Les cellules B sont monotypiques kappa (intensité modérée) CD5-, CD23-, CD79b<sup>fort</sup>, CD22<sup>fort</sup>, FMC7+, de score de Matutes/Moreau à 0/5. Le CD10 est dans cet exemple partiellement exprimé. Le CD180 et le CD200 sont faiblement exprimés.

*Figure 6c. Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)*

Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (*cf. annexe*). Les cellules B sont monotypiques lambda (intensité modérée) de score de Matutes/Moreau à 0/5 : CD5-, CD23-, CD79b+, CD22+, FMC7+. Le CD10 est partiellement



**Figure 6.** Lymphome folliculaire (LF). (Suite)

exprimé dans cet exemple, et on retrouve une expression du CD44 diminuée, ce qui est souvent le cas dans notre expérience du LF. Le CD180 et le CD200 sont faiblement exprimés.

D'autres exemples d'expression variable du CD44 sont représentés sur la *figure 6c'* : CD44<sup>-</sup> cas (1), CD44<sup>+faible</sup> cas (2), CD44<sup>+partiel</sup> cas (3) et CD44<sup>+fort</sup> cas (4).

## Figure 7. Leucémie polymphocytaire T

Les cellules de la leucémie polymphocytaire T (*tableau 2*) correspondent à des cellules T CD4 caractérisées par une expression forte et homogène du CD7, habituellement CD2/CD3/CD5 positives avec néanmoins des modulations d'expression possibles de ces marqueurs, sans expression de marqueurs de cytotoxicité et du CD25.

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes T totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC]) : cellules lymphoïdes T CD4+ [en bleu foncé], cellules lymphoïdes T CD8/NK [en gris].

*Figure 7a. Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)*

Dans le panel en 12 couleurs utilisé (*cf. annexe*), en plus des différents marqueurs pan-T (CD3/CD2/CD5/CD7) classiques, les Acs anti-CD26 et anti-CD158k (KIR3DL2)

ont été ajoutés ainsi que l'Acs anti-TRCβ1. Dans ce cas, les cellules de la LPL-T sont CD4 positives avec une expression forte et homogène du CD7 (intensité supérieure ou égale à  $10^4$  [flèche rouge], et sans cellules T CD4/CD7 négatives [en dessous du seuil représenté par la flèche bleue]). Par ailleurs les cellules leucémiques sont CD26 positives et CD158k négatives. Elles sont TRCβ1 négatives (seulement 10 % de cellules T CD4 TRCβ1 positives [ronde bleue \*]) ce qui renforce le caractère malin de ce contingent [21, 22].

*Figure 7b. Acquisition : FACScanto II, Analyse : logiciel FACSDIVA (version 8)*

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (*cf. annexe*). Il existe un net excès de cellules T CD4+ CD5+ CD2+ et CD7+. Ces cellules de LPL-T sont par ailleurs CD25- et CD45RO- et donc a priori CD45RA+.

*Figure 7c. Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)*

Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (*cf. annexe*). Il existe un net excès de cellules T CD3+ (95 %) qui sont majoritairement CD4+ (98%), sans trou phénotypique (CD2+ CD5+ CD7+). Ces cellules de LPL-T sont CD25- HLA-DR- CD45RO+ et CD26+ hétérogène. Elles expriment un TCR αβ et n'expriment pas le CD56.

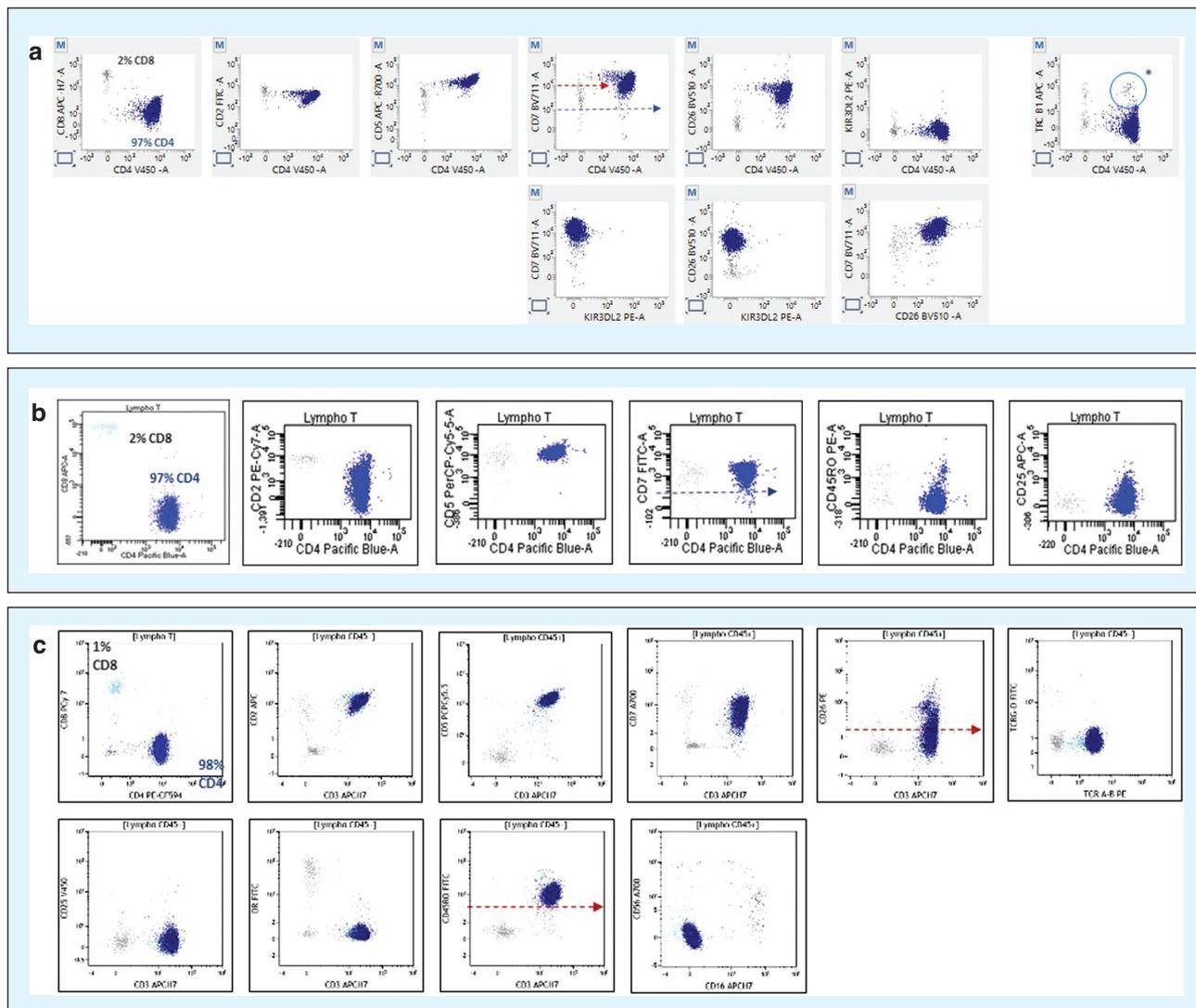


Figure 7. Leucémie proliférative T.

### Figure 8. Syndrome de Sézary (SS)/lymphome T épidermotrope

Les cellules du syndrome de Sézary (*tableau 2*) correspondent à des cellules T CD4 caractérisées par la perte d'expression des CD7 et/ou CD26, et une expression aberrante du CD158k [23-25], habituellement CD2/CD3/CD5 positives avec néanmoins des modulations d'expression possibles de ces marqueurs, sans expression de marqueurs de cytotoxicité et du CD25.

À noter que le profil immunologique des cellules T du SS est superposable à celui de cellules T de lymphome T épidermotrope ; et que c'est le taux de cellules détectées au niveau du sang périphérique associé aux données clinico-biologiques qui permettra de faire la distinction

et le classement en grade selon les recommandations EORTC/ISCL [24, 25].

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes T totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC]) : cellules lymphoïdes T CD4+ [en bleu foncé].

Figure 8a. Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)

Dans le panel en 12 couleurs utilisé (*cf. annexe*), en plus des différents marqueurs pan-T (CD3/CD2/CD5/CD7) classiques, les Acs anti-CD26 et anti-CD158k (KIR3DL2) ont été ajoutés ainsi que l'Acs anti-TRCβ1. Dans ce cas (1), les cellules de SS sont CD4 positives avec une perte

d'expression du CD7 et du CD26 et une expression aberrante du CD158k par un petit contingent (population T CD4 bleue foncée, seuil = flèche rouge). Il persiste un petit contingent de cellules T CD4 CD7+/CD26+ (population T CD4 grise). Les graphiques CD158k/CD7 et CD158k/CD26 mettent bien en évidence l'expression aberrante du CD158k par les populations T CD4 CD7-/CD26-, les cellules T CD4 CD7+/CD26+ résiduelles en gris étant CD158k négatives. Dans cet exemple, il n'y a pas de modulation d'expression des CD2/CD3/CD5 par les cellules tumorales. Par ailleurs 95 % des éléments T CD4+/CD7-/CD26-/CD158k+ sont TRC $\beta$ 1 positifs (flèche bleue \*) ce qui renforce le caractère malin de ce contingent. Dans le cas (2), les cellules de SS présentent un profil immunologique caractéristique (CD7-/CD26-/CD158k+) avec en plus une perte d'expression partielle du CD2.

**Figure 8b. Acquisition : FACsCanto II, Analyse : logiciel FACsDIVA (version 8)**

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (*cf. annexe*). Dans cet exemple, les cellules de Sézary sont CD4+ d'intensité diminuée par rapport aux lymphocytes T CD4+ résiduels. Elles sont CD7- CD26- et expriment le CD158k/e (flèche bleue). Le CD2 est un peu plus faiblement exprimé que les lymphocytes T résiduels et le CD5 l'est un peu plus fortement.

**Figure 8c. Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)**

Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (*cf. annexe*). Il existe un net excès de cellules T CD3+ (97 %) qui sont majoritairement CD4+ (93 %). On observe la persistance de cellules CD3+ CD8+ [en turquoise] et CD4+ [en vert] normales résiduelles CD2+ CD5+ CD7+. Les cellules de SS [en bleu foncé] sont CD2+ CD5+ CD7- HLA-DR- CD45RO+ CD25- et CD26-.

## Figure 9. Lymphome T angio-immunoblastique (LTAI)

Les cellules du lymphome T angio-immunoblastique (*tableau 2*) correspondent à des cellules T CD4 dérivées des cellules T folliculaires helper (TFH = PD1+/CXCL13+/CXCR5+/ICOS+/bcl6+) [26, 27] exprimant de façon aberrante le CD10 (dans 85 % des cas) [28, 29], habituellement CD2/CD3/CD5/CD7 positives avec néanmoins des modulations d'expression possibles, sans expression de marqueurs de cytotoxicité et du CD25. Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes T totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et

lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur les LYRIC]) : cellules lymphoïdes T CD4+ [en bleu foncé].

**Figure 9a. Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)**

Le panel en 12 couleurs prescrit correspond à celui utilisé pour orienter le diagnostic de syndrome lymphoprolifératif T : il comporte les différents marqueurs pan-T (CD3/CD2/CD5/CD7) classiques et le CD10 ; auquel a été ajouté dans ce contexte de suspicion de LTAI un panel comportant des marqueurs permettant de caractériser les cellules TFH. Dans ce cas, les cellules T CD4 ne présentent pas de modulation d'expression des marqueurs pan-T testés (CD2/CD3/CD5/CD7), expriment de façon aberrante le CD10, sont quasi-exclusivement CD45RO et présentent un profil TFH (PD1+/ICOS+/CXCR5+ [histogrammes courbes bleues foncées]).

**Figure 9b. Acquisition : FACsCanto II, Analyse : logiciel FACsDIVA (version 8)**

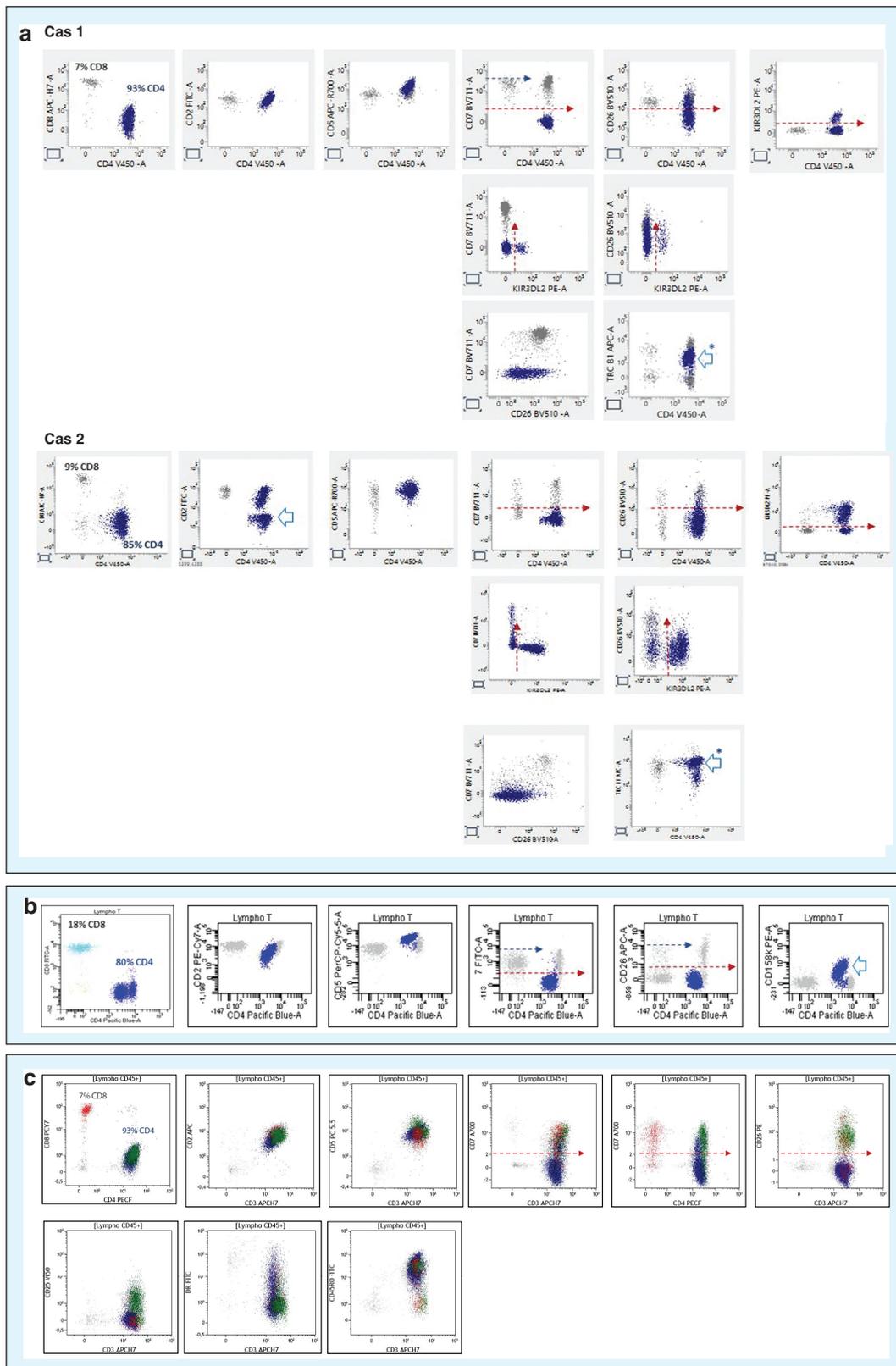
Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (*cf. annexe*). Dans cet exemple, les cellules de LTAI sont CD4+ CD5+ et CD2+ d'intensité identique aux lymphocytes T résiduels mais CD7-. Elles sont par ailleurs CD45RO+ et expriment le CD10, caractéristique de l'entité bien que des cas CD10- aient été décrits.

**Figure 9c. Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)**

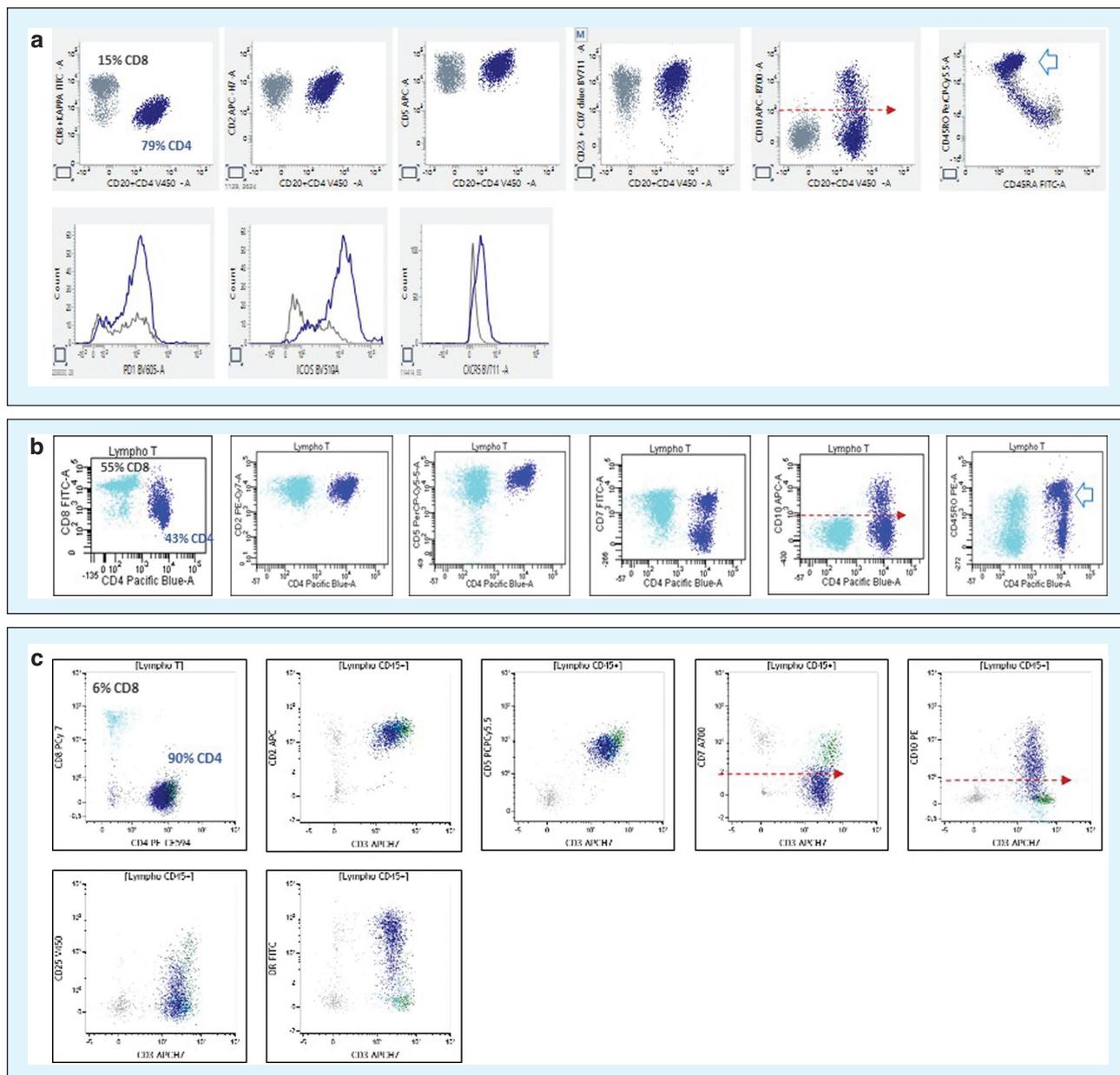
Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (*cf. annexe*). Il existe un net excès de cellules T CD3+ (95 %) qui sont majoritairement CD4+ (90 %). On observe la persistance de cellules CD3+ CD8+ [en turquoise] et CD4+ [en vert] normales résiduelles CD2+ CD5+ CD7+. Ces cellules de LTAI [en bleu foncé] sont CD3+<sup>faible</sup> CD2+ CD5+ CD7- HLA-DR+ et expriment de façon nette le CD10.

## Figure 10. Leucémie à grands lymphocytes à grains (LGL)

Les cellules de leucémie à grands lymphocytes à grains (*tableau 2*) correspondent dans la majorité des cas à des cellules T CD8 cytotoxiques (TCR $\alpha\beta$ ), CD16 et CD57 positives, parfois CD56 positives, et TIA1/Perforine/granzyme B7 positives en intracytoplasmique, exclusivement CD45RA et atypiques par la perte ou la diminution de l'expression du CD5. Elles sont habituellement CD2/CD3/CD7 positives avec néanmoins des modulations d'expression possibles de ces marqueurs.



**Figure 8.** Syndrome de Sézary (SS)/lymphome T épidermotrope.



**Figure 9.** Lymphome T angio-immunoblastique (LTAI).

Il existe de plus rares cas qui dérivent des cellules T CD4 (LGL à cellules T CD4) : les cellules sont CD56/CD57 positives, d'autres des cellules T TCR $\alpha\beta$  : les cellules T CD3 CD4-/CD8- sont CD16/CD56/CD57 positives, et également des LGL à cellules NK.

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes T totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC]) : cellules lymphoïdes T CD8+ [en bleu turquoise].

**Figure 10a.** Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)

Le panel en 12 couleurs prescrit correspond à celui utilisé dans l'orientation du diagnostic de syndrome lymphoprolifératif T : il comporte notamment les différents marqueurs pan-T (CD3/CD2/CD5/CD7) classiques ; auxquels ont été ajoutés, dans ce contexte de suspicion de LGL, des panels comportant des marqueurs de cytotoxicité membranaires et intracytoplasmiques (*cf. annexe*). Dans ce cas, il s'agit de cellules T CD8 atypiques par la perte d'expression





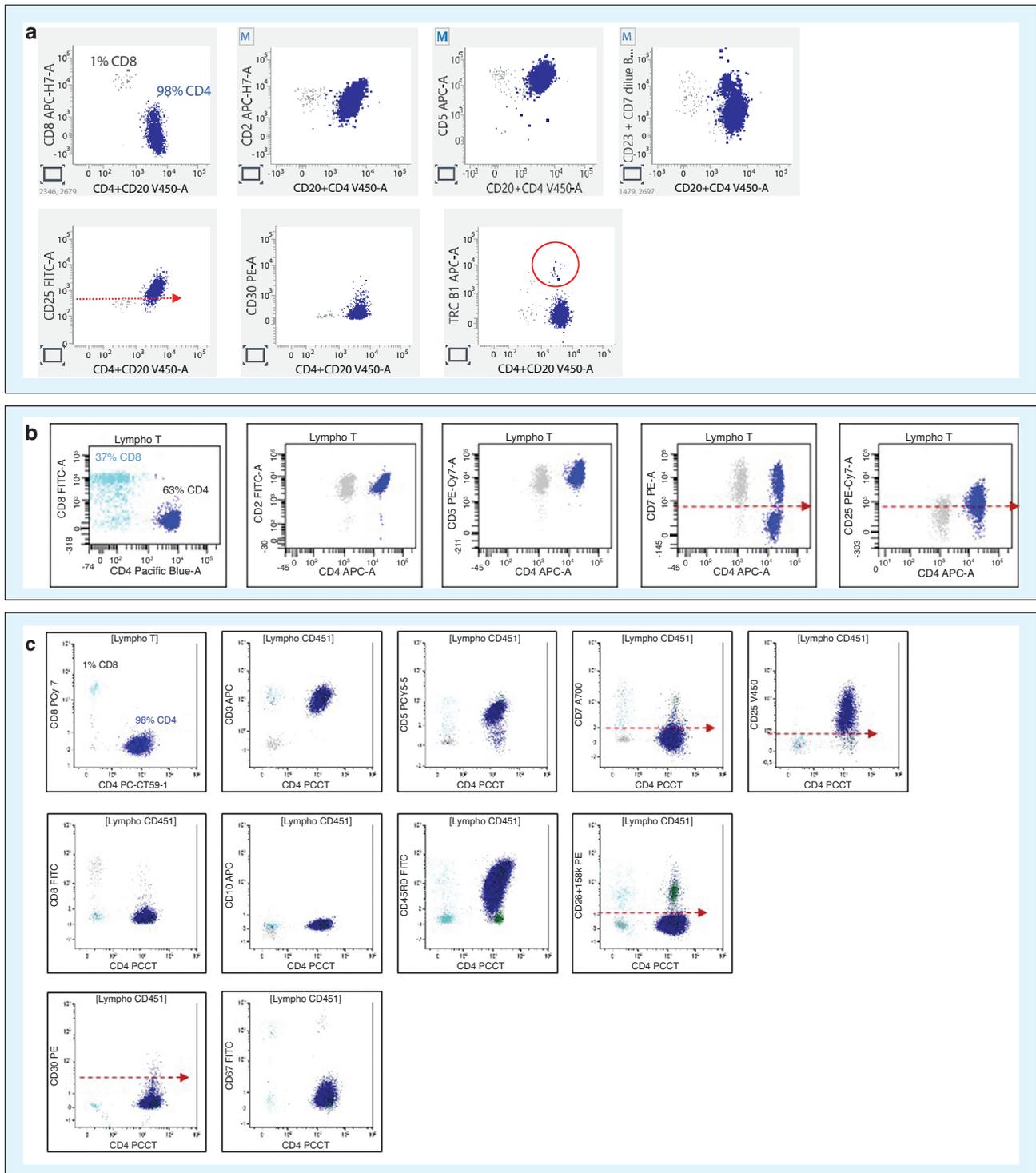


Figure 11. Lymphome/leucémie T de l'adulte HTLV1 (LLTA).

Figure 10b. Acquisition : FACScanto II, Analyse : logiciel FACSDIVA (version 8)

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (cf. annexe). Dans cet exemple, on observe un excès de lympho-

cytes T CD8+. Les cellules LGL-T présentent deux aberrations phénotypiques avec perte d'expression du CD5 et du CD7. Elles sont CD2 positives. Elles expriment le CD16 et le CD57 et sont dans ce cas

CD56-, ce qui est le cas de la majorité des proliférations LGL-T.

Dans le cas 10b', on observe une lymphoprolifération LGL-NK [en bleu turquoise], dont les cellules sont CD2+ CD3- CD5- CD7+ CD16+ CD56- CD57+partiel CD94+ CD45RO- donc a priori CD45RA+. Il persiste des lymphocytes B [en rouge] et des lymphocytes T [en bleu foncé] résiduels.

**Figure 10c. Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)**

Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (*cf. annexe*). Il existe un net excès de cellules T CD3+ (97 %) qui sont majoritairement CD8+ (91 %). On observe la persistance de cellules CD3+ CD4+ [en gris] et CD8+ [en vert] normales résiduelles CD2+ CD5+ CD7+. Ces cellules de LGL-T [en bleu turquoise] sont CD3+ CD2+ CD5- CD7- CD25- HLA-DR+ CD10- et n'expriment pas le CD16, le CD56 mais expriment partiellement le marqueur cytotoxique CD57.

Le cas de la *figure 10c'* correspond à un LGL-NK [en bleu turquoise] dont les cellules sont CD2+ CD3- CD5- CD7+<sup>faible</sup> CD16+ CD56- CD57+ CD4- CD8-.

## Figure 11 . Lymphome/leucémie T de l'adulte HTLV1 (LLTA)

Les cellules du lymphome/leucémie T de l'adulte HTLV1 (*tableau 2*) correspondent à des cellules T matures CD4+ caractérisées par l'expression du CD25 dans plus de 95 % des cas, et fréquemment par une perte du CD7. Plus rarement, les cellules sont T CD8+, ou doublement positives CD4+/CD8+.

Chaque graphique est conditionné sur les lymphocytes T totaux (sélectionnés sur un graphique CD45/structure, et lui-même conditionné sur les singulets [uniquement pour l'analyse sur LYRIC]) : cellules lymphoïdes T CD4+ [en bleu foncé].

**Figure 11a. Acquisition : LYRIC, Analyse : logiciel FACsuite (version V1.3)**

Le panel en 12 couleurs prescrit correspond à celui utilisé pour orienter le diagnostic de syndrome lymphoprolifératif T : il comporte les différents marqueurs pan-T (CD3/CD2/CD5/CD7) classiques ; auquel a été ajouté dans ce contexte de suspicion de LLTA un second panel comportant en particulier le CD25. Dans ce cas (suivi d'un LLTA traité), il existe un net contingent T CD4 avec une nette expression du CD25 (seuil de positivité par rapport aux cellules T CD8 [flèche pointillée rouge]), et une perte partielle d'expression du CD7. Ces cellules sont

CD2+/CD5+/CD30-. De plus ces cellules T CD4 tumorales, n'expriment pas le TRCβ1 (matérialisé par le cercle rouge) ce qui renforce le caractère malin de ce contingent.

**Figure 11b. Acquisition : FACsCanto II, Analyse : logiciel FACsDIVA (version 8)**

Le panel utilisé dans ce cas est en 8 couleurs (*cf. annexe*). Dans cet exemple, on observe des cellules T CD4+ CD2+ CD5+ avec perte d'expression partiel du CD7. Elles sont CD25+ positives. La co-expression CD4 et CD25 est très évocatrice d'un lymphome T HTLV1+.

**Figure 11c. Acquisition : NAVIOS, Analyse : logiciel (version 2.1)**

Le panel utilisé dans ce cas est en 10 couleurs (*cf. annexe*). Il existe un net excès de cellules T CD3+ (96%) qui sont majoritairement CD4+ (98 %). On observe la persistance de cellules CD3+ CD4+ [en vert] et CD8+ [en turquoise] normales résiduelles CD2+ CD5+ CD7+. Ces cellules de LLTA [en bleu foncé] sont CD3+ CD2+ CD5+ CD7- CD10- HLA-DR- CD45RO+ CD26/CD158k- CD30- CD56- CD57- et expriment fortement le marqueur CD25 de manière caractéristique.

**Liens d'intérêt :** Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec l'article.

## Références

1. Enquête Site CYTHEM (*en soumission*).
2. Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Garcia Marco J, Houlihan A, Que TH, *et al*. The immunological profile of B cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994 ; 8 : 1640-5.
3. Moreau EJ, Matutes E, A'Hern RP, Morilla AM, Morilla RM, Owusu-Ankomah KA, Seon BK, Catovsky D. Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). *Am J Clin Pathol* 1997 ; 108 : 378-82.
4. WHO. *Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Edited by Swerdlow SH, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J. Revised 4th edition ed. Lyon, France : IARC, 2017.
5. Domingo-Domènech E, Domingo-Clarós A, González-Barca E, Benítez D, Alonso E, Romagosa V, *et al*. CD38 expression in B-chronic lymphocytic leukemia: association with clinical presentation and outcome in 155 patients. *Haematologica* 2002 ; 87 : 1021-7.
6. Ghia P, Guida G, Stella S, Gottardi D, Geuna M, Strola G, *et al*. The pattern of CD38 expression defines a distinct subset of chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients at risk of disease progression. *Blood* 2003 ; 101 : 1262-9.

7. Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, *et al.* Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999 ; 94 : 1840-7.
8. Yamada T, Goto N, Tsurumi H, Takata K, Sato Y, Yoshino T, *et al.* Mantle cell lymphoma with a unique pattern of CD5 expression : a case report with review of the literatures. *Med Mol Morphol* 2014 ; 47 : 169-75.
9. Yamamoto N, Maeshima AM, Taniguchi H, Makita S, Fukuhara S, Munakata W, *et al.* CD5-negative blastoid variant mantle cell lymphoma: a diagnostic dilemma. *Hum Pathol* 2021 ; 111 : 84-91.
10. Rahman K, Kumar P, Gupta R, Singh MK, Nityanand S. Role of CD200 in differential diagnosis of mature B cell neoplasm. *Int J Lab Hematol* 2017 ; 39 : 384-91.
11. Palumbo GA, Parrinello N, Fargione G, Cardillo K, Chiarenza A, Berretta S, *et al.* CD200 expression may help in differential diagnosis between mantle cell lymphoma and B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia Res* 2009 ; 33 : 1212-6.
12. Miguet L, Lennon S, Baseggio L, Berger F, Perrusson N, Chenard M-P, *et al.* Cell-surface expression of the TLR homolog CD180 in circulating cells from splenic and nodal marginal zone lymphomas. *Leukemia* 2013 ; 27 : 1748-50.
13. Favre R, Manzoni D, Traverse-Glehen A, Verney A, Jallades L, Callet-Bauchu E, *et al.* Usefulness of CD200 in the differential diagnosis of SDRPL, SMZL, and HCL. *Int J Lab Hematol* 2018 ; 40 : e59-62.
14. Mayeur-Rousse C, Guy J, Miguet L, Bouyer S, Geneviève F, Robillard N, *et al.* GEIL (Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies). CD180 expression in B cell lymphomas: a multicenter GEIL study. *Cytometry B Clin Cytom* 2016 ; 90 : 462-6.
15. Baseggio L, Traverse-Glehen A, Petinataud F, Callet-Bauchu E, Berger F, French M, *et al.* CD5 expression identifies a subset of splenic marginal zone lymphomas with higher lymphocytosis: a clinicopathological, cytogenetic and molecular study of 24 cases. *Haematologica* 2010 ; 95 : 604-12.
16. Del Giudice I, Matutes E, Morilla R, Morilla A, Owusu-Ankomah K, Rafiq F, *et al.* The diagnostic value of CD123 in B cell disorders with hairy or villous lymphocytes. *Haematologica* 2004 ; 89 : 303-8.
17. Chen YH, Tallman MS, Goolsby C, Peterson L. Immunophenotypic variations in hairy cell leukemia. *Am J Clin Pathol* 2006 ; 125 : 251-9.
18. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Callet-Bauchu E, Gazzo S, French M, Verney A, *et al.* Splenic red pulp lymphoma with numerous basophilic villous lymphocytes: a distinct clinicopathologic and molecular entity? *Blood* 2008 ; 111 : 2253-60.
19. Baseggio L, Traverse-Glehen A, Callet-Bauchu E, Morel D, Magaud JP, Berger F, *et al.* Relevance of a scoring system including CD11c expression in the identification of splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma (SRPL). *Hematol Oncol* 2011 ; 29 : 47-51.
20. Mestrallet F, Sujobert P, Sarkozy C, Traverse-Glehen A, Callet-Bauchu E, Magaud JP, *et al.* CD180 overexpression in follicular lymphoma is restricted to the lymph node compartment. *Cytometry B Clin Cytom* 2016 ; 90 : 433-9.
21. Berg H, Otteson GE, Corley H, Shi M, Horna P, Jevremovic D, Olteanu H. Flow cytometric evaluation of TRBC1 expression in tissue specimens and body fluids is a novel and specific method for assessment of T cell clonality and diagnosis of T cell neoplasms. *Cytometry B Clin Cytom* 2021 ; 100 : 361-9.
22. Novikov ND, Griffin GK, Dudley G, Drew M, Rojas-Rudilla V, Lindeman NI, *et al.* Utility of a simple and robust flow cytometry assay for rapid clonality testing in mature peripheral T cell lymphomas. *Am J Clin Pathol* 2019 ; 151 : 494-503.
23. Jamal S, Picker LJ, Aquino DB, McKenna RW, Dawson DB, Kroft SH. Immunophenotypic analysis of peripheral T cell neoplasms. A multiparameter flow cytometric approach. *Am J Clin Pathol* 2001 ; 116 : 512-26.
24. Bahler DW, Hartung L, Hill S, Bowen GM, Vonderheid EC. CD158k/KIR3DL2 is a useful marker for identifying neoplastic T cells in Sezary syndrome by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2008 ; 74 : 156-62.
25. Ortonne N, Le Gouvello S, Mansour H, Poillet C, Martin N, Delfau-Larue MH, *et al.* CD158K/KIR3DL2 transcript detection in lesional skin of patients with erythroderma is a tool for the diagnosis of Sezary syndrome. *J Invest Dermatol* 2008 ; 128 : 465-72.
26. de Leval L, Rickman DS, Thielen C, Reynies Ad C, Huang YL, Delsol G, *et al.* The gene expression profile of nodal peripheral T-cell lymphoma demonstrates a molecular link between angioimmunoblastic T cell lymphoma (AITL) and follicular helper T (TFH) cells. *Blood* 2007 ; 109 : 4952-63.
27. Baseggio L, Traverse-Glehen A, Berger F, French M, Jallades L, Morel D, *et al.* CD10 and ICOS expression by multiparametric flow cytometry in angioimmunoblastic T cell lymphoma. *Mod Pathol* 2011 ; 24 : 993-1003.
28. Attygalle A, Al-Jehani R, Diss TC, Munson P, Liu H, Du MQ, *et al.* Neoplastic T cells in angioimmunoblastic T cell lymphoma express CD10. *Blood* 2002 ; 99 : 627-33.
29. Baseggio L, Berger F, Morel D, Delfau-Larue MH, Goedert G, Salles G, *et al.* Identification of circulating CD10 positive T cells in angioimmunoblastic T cell lymphoma. *Leukemia* 2006 ; 20 : 296-303.

## Annexe A. Panels d'Acs utilisés pour le LYRIC

LST = lymphoid screening tube

La conception des différents panels a été réalisé avec le Dr Richard Veyrat-Masson.

LST=lymphoid screening tube

Tube SS=Tube syndrome de Sézary

Syndromes lymphoprolifératifs B

	FITC	PE	PerCP Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-R700	APC-H7	V450	BV510	BV605	BV711	BV786
LST	8+k	56+λ	3	19	5	10	2	20+4	200	DR	7+23	45
clone	SK1	NCAM16.2	SK7	SJ25C1	L17F12	HI10a	RPA-2-10	L27+RPA-T4	MFC OX-104	G46-6	M-T701+M-L233	HI30
Tube B1		180		19	5	79b	38	FMC7	43			45
clone		G28-2		SJ25C1	LF17F12	3A2-2E7	HB7	fmc7	1G10			HI30
Tube B2	103	180	123	19	5	79b	38	FMC7	43	25	11c	45
clone	Ber ACT8	G28-2	7G3	SJ25C1	LF17F12	3A2-2E7	HB7	fmc7	1G10	2A3	S-HCL3	HI30

## Syndromes lymphoprolifératifs T

	<b>FITC</b>	<b>PE</b>	<b>PerCP Cy5.5</b>	<b>PE-Cy7</b>	<b>APC</b>	<b>APC-R700</b>	<b>APC-H7</b>	<b>V450</b>	<b>BV510</b>	<b>BV605</b>	<b>BV711</b>	<b>BV786</b>
Tube T1	2	KIR3DL2	19	3	TRCβ1	5	8	4	26	TCRαβ	7	45
clone	S5.2	SJ25C1	SJ25C1	SK7	Jov-1	UCHT-2	SK1	RPA-T4	L272	IP26	M-T701	HI30
Tube T2	45RA	57	45RO	3	TRCβ1	56	8	4+20	16	TCRαβ	TCRγδ	45
clone	2A3	NK1	UCHL-1	SK7	Jov-1	NCAM6,2	SK1	RPA-T4+L27	3G8	IP26	11F2	HI30
Tube T3	25	30	5	3	TRCβ1	10	8	4+20	CD278/ICOS	CD279/PD1	CXCR5	45
clone	2A3	H-NK1	L17F12	SK7	Jov-1	N901	SK1	RPA-T4+L27	DX29	EH12.1	RF8B2	HI30
Tube T4	Perf (IC)	TIA1(IC)	19	3	57	56	8	4	GrB7 (IC)	16	TCRγδ	45
clone	<b>delta G9</b>	<b>2G9A10F5</b>	SJ25C1	SK7	NK.1	NCAM6.2	SK1	RPA-T4	<b>GB11</b>	B73.1	11F2	HI30

## Panels d'Acs utilisés pour le FACS-Canto II Syndromes lymphoprolifératifs B

	<b>FITC</b>	<b>PE</b>	<b>PerCP-Cy5</b>	<b>PE-Cy7</b>	<b>APC</b>	<b>APC-H7</b>	<b>V450/PB</b>	<b>V500</b>
LST	8+k	56+λ	5	19	10	3	20+4	45
clone	RPA T8	NCAM16.2	L17F12	SJ25C1	HI10a	SK7	L27/RPAT4	HI30
Tube 2	FMC7	23	5	19	22		38	45
clone	FMC7	EBVCS-5	L17F12	SJ25C1	S HCL-1		HB7	HI30
Tube 3	43	79b	5	19	81		20	45
clone	IG10	SN8	L17F12	SJ25C1	JS81		L27	HI30
Tube 4	148	180	5	19	200			45
clone	143-41	G28.8	L17F12	SJ25C1	OX104			HI30

## Syndromes lymphoprolifératifs T

	FITC	PE	PerCP-Cy5	PE-Cy7	APC	APC-H7	V450	V500
Tube T 17	7	45RO	5	2	8	3	4	45
clone	MT701	UCHL1	L17F12	S5.2	SK1	SK7	RPAT4	HI30
Tube T 18	TCR $\alpha\beta$	TCR $\gamma\delta$	8	56	10	3	4	45
clone	WT31	11F2	RPA T8	NCAM 16.2	HI10a	SK7	RPAT4	HI30
Tube T 19	103	16	8	52	57	3	4	45
clone	Ber ACT8	3G8	RPA T8		NK1	SK7	RPAT4	HI30
Tube T 20	8	94	DR	45RA	25	3	4	45
clone	SK1	HP3D9	G46.6	5H9	MA251	SK7	RPAT4	HI30

Panels d'Acs utilisés pour le NAVIOS  
Syndromes lymphoprolifératifs B

	FITC	PE	PE-CF594	PerCP Cy5.5	PE-Cy7	APC/AF647	A700	APC-H7/AF750	V450/V421	V500
Dépistage	$\kappa$	$\lambda$	4	5	8	3	56	19	20	45
clone	IS11-24D5	IS7-24C7	RPA-T4	L17F12	SK1	SK7	N901	SJ25C1	L27	HI30
Tube B1	81	38		5	23	79b	22	19	FMC7	45
clone	JS-81	HB-7		L17F12	ML233	SN8	SJ10.1H11	SJ25C1	fmc7	HI30
Tube B2	44	43		5	27		10	19	38	45
clone	L178	1G10		L17F12	M-T271		ALB1	SJ25C1	HB7	HI30
Tube B3	103	10		5	11c	123	25	19	20	45
clone	Ber-ACT8	HI10a		L17F12	B-Ly6	9F5	M-A251	SJ25C1	L27	HI30

## Syndromes lymphoprolifératifs T

	FITC	PE	PE-CF594	PerCP Cy5.5	PE-Cy7	APC/AF647	A700	APC-H7/AF750	V450/V421	V500
Tube T1	DR	10	4	5	8	2	7	3	25	45
clone	L243	HI10a	RPA-T4	L17F12	ML233	SN8	SJ10.1H11	SK7	fmc7	HI30
Tube T2	45RO	26 ou CD158k	4	5	27	28	7	3		45
clone	L178	1G10	RPA-T4	L17F12	M-T271	CD28.2	M-T701	SK7		HI30
Tube T3	CD57 ou TCR $\gamma\delta$	TCR $\alpha\beta$	4	5	8	2	56	16	3	45
clone	HNK-1 ou 11F2	T10B9	RPA-T4	L17F12	ML233	SN8	N901	3G8	UCHT1	HI30
Tube T4	57	30	4	5	11c	2	7	3	cCD3	45
clone	HNK-1	Ber-H83	RPA-T4	L17F12	B-Ly6	SN8	M-T701	SK7	UCHT1	HI30