



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Aspects Epidémiologiques et Anatomopathologiques des
Lymphomes Non Hodgkiniens B**

Présenté par : Rukiya Majid Hassan

Encadré par : Pr. El Abida K (FST Fès)

Pr. Hammas Nawal (Laboratoire CHU- Fès)

Soutenu le : 7/06 /2018

Devant le jury composé de :

- **Pr. El Abida K**
- **Pr. Bahafid W**
- **Pr. Hammas Nawal**

Stage effectué à : CHU Hassan II- Fès (service d'Anatomie pathologique).
Année universitaire 2017-2018

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents ;

Ma mère qui a ouvert pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider dans la vie. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mes frères et sœurs pour le dévouement et leur encouragement

Aux tous les membres de ma famille ; Aucun mot ne pourrait exprimer ma reconnaissance et ma gratitude pour le soutien et l'amour que vous n'avez cessé de me prodiguer.

Enfin à mes très chères amies Naima Mohammed et Salwa Mohammed qui n'ont jamais cessé de me soutenir.

REMERCIEMENT

Après avoir rendu grâce à DIEU, le Tout puissant, qui m'aide et me donne la patience et le courage durant mes études, Je tiens à remercier vivement tous ceux qui de près ou de loi participé à l'exécution de ce travail, en particulier ;

Madame Hammas Nawal, Professeur agrégé en anatomie pathologique pour son encadrement, pour m'avoir guidée durant toute la période du stage malgré ses nombreuses préoccupations.

Mon encadrante Madame le professeur Kaouakib ELABIDA pour tout le soutien, pour ses précieux conseils, son caractère bienveillant et l'encadrement qu'elle m'a donnée tout au long de mon stage.

Merci à tous le corps professoral de la FST et à tous les agents du CHU Hassan II qui ont contribué directement ou indirectement à l'aboutissement de mon projet.

Mes remerciements s'adressent également au Pr. Bahafid W, d'avoir accepté de faire partir du membre du jury.

Enfin, Je tiens à témoigner tout ma gratitude à tous mes amis pour leur confiance et leur soutien inestimable.

Liste des abréviations

Ac : Anticorps

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ag: Antigène

ARN: Acide Ribonucléique

BCL : B Cell Lymphoma

CB : Centroblaste

CC : Centrocyte

CD : Cluster de Différenciation

CFD : Cellule Folliculaire Dendritique

FISH : Hybridation In Situ Fluorescent

HES : Hématoxyline Eosine Safran

IB : Immunoblaste

IgM : Immunoglobuline M

IHC : Immunohistochimie

LAL : Leucémie Aigue Lymphoblastique

LB : Lymphome de Burkitt

LBDGC : Lymphome B Diffus a Grandes Cellules

LBm : Lymphoblaste B mémoire

LDH: Lactate Déshydrogénase

LF : Lymphome Folliculaire

LLC : Lymphome Lymphocytaire

LLP : Lymphoma Lymphoplasmocytaire

LM : Lymphome du Manteau

LNH : Lymphome Non Hodgkinien

LpréB : Lymphocytes pré B

LZM : Lymphome de la Zone Marginale

MALT: Mucosa Associated Lymphoid Tissue

MGG: May Grunwald Giemsa

MO: Moelle Osseuse

NFS : Numération Formule Sanguine

NK : Natural Killer

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PBS: Phosphate Buffered Saline

PCR: Polymerase Chain Reaction

PL : Plasmocyte

SNC: Système Nerveux Central

Tdt : Désoxynucleotidyl transférase

TD : Tube Digestif

VIH : Virus d'Immunodéficience Humaine

Liste des figures

Figure 1 : Schéma du système lymphatique

Figure 2 : Structure du ganglion lymphatique

Figure 3 : Coupe histologique montrant l'histologie normale d'un ganglion

Figure 4 : Composition d'un follicule secondaire avec type du lymphome correspondant à chaque cellule d'origine.

Figure 5 : Destruction de l'architecture ganglionnaire par une prolifération

Figure 6 : Principe de la technique d'immunohistochimie

Figure 7 : Automate Histokinette

Figure 8 : Image détaillée d'un appareil d'enrobage

Figure 9 : Image détaillée d'un microtome

Figure 10 : Automate de coloration

Figure 11 : Automate d'immunohistochimie

Figure 12 : Les étapes de la déshydratation

Figure 13 : Les étapes de l'enrobage et microtomie

Figure 14 : Répartition des cas selon les Années

Figure 15 : Répartition des cas selon le type de population adulte ou pédiatrique

Figure 16 : Répartition des cas selon les tranches d'âge

Figure 17 : Répartition des cas selon le sexe

Figure 18 : Répartition des cas selon la localisation ganglionnaire

Figure 19 : Répartition des cas selon le sous-type histologique

Figure 20 : Résultats de lecture microscopique de Lymphome de Burkitt

Figure 21 : Résultats de lecture microscopique de Lymphome Lymphoblastique

Figure 22 : Résultats de lecture microscopique de Lymphome B Diffus à Grandes Cellule

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Classification OMS 2017.

Tableau 2 : Les étapes de la coloration

Tableau 3 : Répartition des cas selon la localisation.

Tableau 4 : Répartition des localisations dans chaque type histologique.

Tableau 5 : Répartition des types histologiques des LNH B dans la littérature.

Présentation de la structure d'accueil

Le Centre Hospitalière Universitaire (CHU) Hassan II Fès est un établissement créé en Novembre 2001. Cet édifice sanitaire, a pour objectif d'améliorer le taux de couverture médicale, de décongestionner les structures sanitaires déjà existantes et d'installer un esprit de qualité et une satisfaction des patients

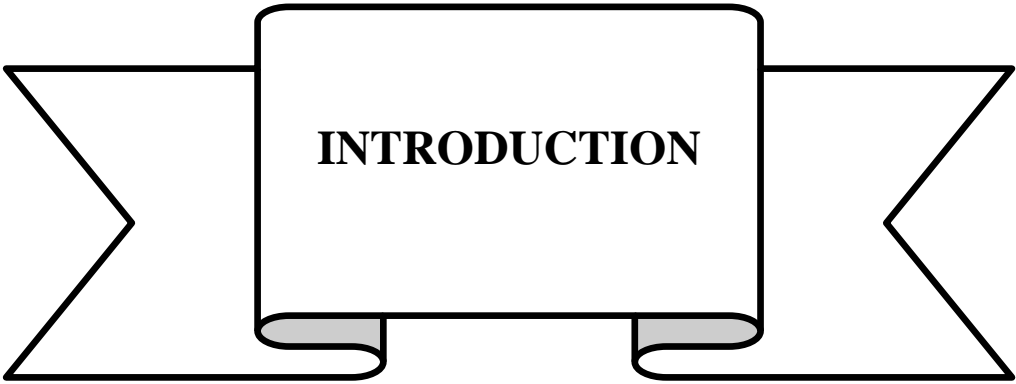
Ce complexe hospitalo-universitaire comprend ; un hôpital spécialisé, un hôpital mère enfant, un laboratoire centrale d'analyses médicales, un pavillon de consultations externes, l'administration (Direction du CHU), ainsi que des centres d'oncologie et médecine nucléaire.

Le laboratoire Centrale d'analyses médicales situé au bâtiment J est conçu comme un pôle d'activités hospitalières comportant plusieurs spécialités d'analyses médicales ; service d'anatomie pathologie, service de biochimie, service d'hématologie, service de bactériologie/ immunologie, service de génétique médicale et biologie moléculaire et service de parasitologie.

Le service d'anatomie pathologie où j'ai effectué mon stage est composé de l'unité macroscopie, l'unité technique, l'unité de lecture microscopique, l'unité d'immunohistochimie et l'unité de stock. Il est sous la responsabilité d'un Professeur chef de service, des Professeurs assistants, des techniciens et des médecins résidents.

Sommaire

I. INTRODUCTION	8
II. GENERALITES :	13
1) Rappels sur le système lymphatique	13
2) Epidémiologie	16
3) Classifications selon l’OMS 2017.....	16
4) Diagnostic des Lymphomes Non Hodgkiniens	18
4.1) Clinique	18
4.2) Biologique	18
4.3) Anatomico-pathologique	19
III. MATERIEL ET METHODES.....	26
1) Matériel :	26
1-1) Population étudiée	26
1-2) Appareils utilisés	26
2) Méthodes	28
2.1) Type de prélèvement	28
2.2) Etude macroscopique.....	28
2.3) Technique d’étude histologique.....	29
2.4) Technique d’étude immunohistochimique	32
3) Méthode statistiques.....	32
IV. RESULTATS.....	34
1) Données épidémiologique	34
1.1) Répartition des cas touchés par LNH B selon les années.....	34
1.2) Répartition des cas touchées par LNH B selon l’âge	34
1.3) Répartition des cas touchées par LNH B selon le sexe	35
2) Localisation.	36
3) Sous type histologiques.....	37
V. DISCUSSION	41
VI. CONCLUSION.....	43

A decorative banner with a central rectangular box containing the word "INTRODUCTION". The banner has a ribbon-like shape with pointed ends and a slight shadow at the bottom.

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

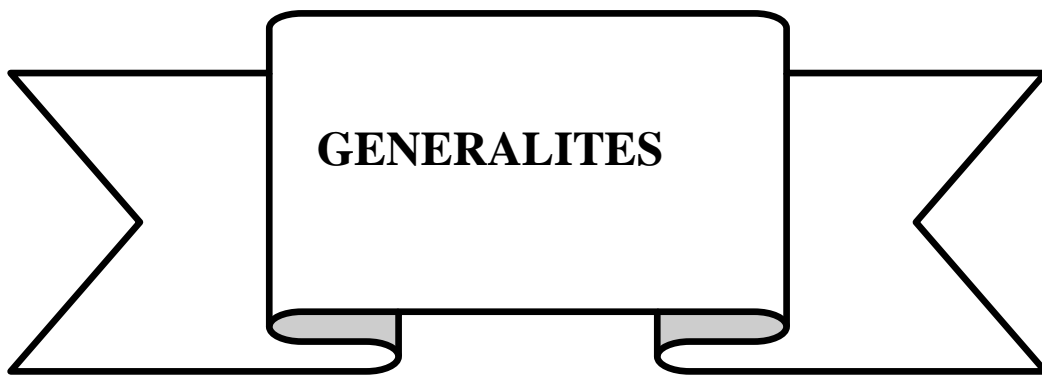
Les lymphomes forment un groupe hétérogène de pathologies malignes caractérisées par l'existence d'une prolifération de lymphocytes anormaux dans les organes lymphoïdes (ganglions, rate, thymus) ou plus rarement dans d'autres tissus.

On distingue classiquement les lymphomes de Hodgkin, et les lymphomes non hodgkiniens (LNH). [1]

Les LNH sont des hémopathies malignes, développées à partir des cellules lymphocytaires B ou T rarement NK, entraînant une hypertrophie des organes lymphoïdes ; les ganglions, la rate, la moelle osseuse (MO), mais aussi les organes non lymphoïdes (Tube digestif (TD), peau, foie, poumons...). Ils représentent environ 80% de l'ensemble des lymphomes. Les lymphomes à cellules B sont beaucoup plus fréquents (85%) que les lymphomes à cellules T (15%). [2]

Le diagnostic est basé sur une étude histologique complétée par une étude Immunohistochimique et éventuellement moléculaire.

L'objectif de ce travail est d'étudier les aspects épidémiologiques et anatomopathologiques des LNH de phénotype B au sein de service d'Anatomie pathologique de l'hôpital-CHU Hassan II Fès.



II. GENERALITES :

1) Rappels sur le système lymphatique

a. Rappels anatomique

Le système lymphatique fait partie du système de défense de l'organisme. Il est constitué de :

- Ganglions lymphatiques : de petits organes en forme de haricot qu'on trouve dans tout le corps.
- Vaisseaux lymphatiques : des vaisseaux qui permettent au liquide lymphatique de circuler dans tout le corps.
- Autres organes : moelle osseuse, thymus, amygdales, rate, foie, tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. [3] (Figure 1)

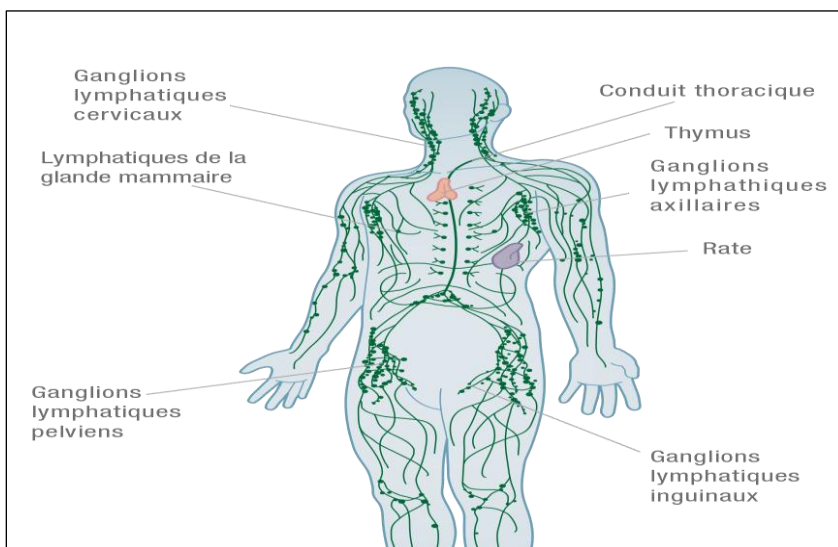


Figure 1 :Schème du système lymphatique.[4]

b) Rappels histologique : tissu ganglionnaire

Les ganglions lymphatique sont entourés d'une capsule fibreuse et divisés par des travées de tissu conjonctif qui naissent de la capsule et se réunissent au niveau du hile. Ils sont constitués d'un cortex superficiel, d'une médulla centrale et d'un cortex profond (ou paracortex) à l'interface des deux. [5]

- Le cortex superficiel est constitué de lymphocytes essentiellement disposés en follicules lymphoïdes sphériques ; ceux-ci sont les principaux sites de localisation et de prolifération des lymphocytes B.

On classe les follicules lymphoïdes en «**follicules primaires**», s'ils ne comportent pas de centre clair, et en «**follicules secondaires**», s'ils en comportent un. Les follicules primaires sont constitués essentiellement de lymphocytes B, ils se transforment en follicules secondaires après stimulation antigénique. Ces dernières sont composés de la périphérie vers le centre de :

- ✓ La zone marginale : entourant la zone du manteau, non visible à l'état normal dans les ganglions.
- ✓ La zone du manteau : située à la périphérie du follicule, constituée de petits lymphocytes naïfs.
- ✓ Centres germinatifs : lieu de prolifération de lymphocytes B, caractérisés par la présence d'un réseau dense et complexe de cellules folliculaires dendritiques (CFD), centroblastes & centrocytes, des lymphocytes T et quelques macrophages.
- Les cordons médullaires contiennent essentiellement les lymphocytes B et les plasmocytes impliqués dans la synthèse des immunoglobulines.

La zone corticale profonde ou paracortex, est essentiellement constituée de lymphocytes T qui ne sont jamais groupés sous forme de follicules. [6] (figures 2 et 3)

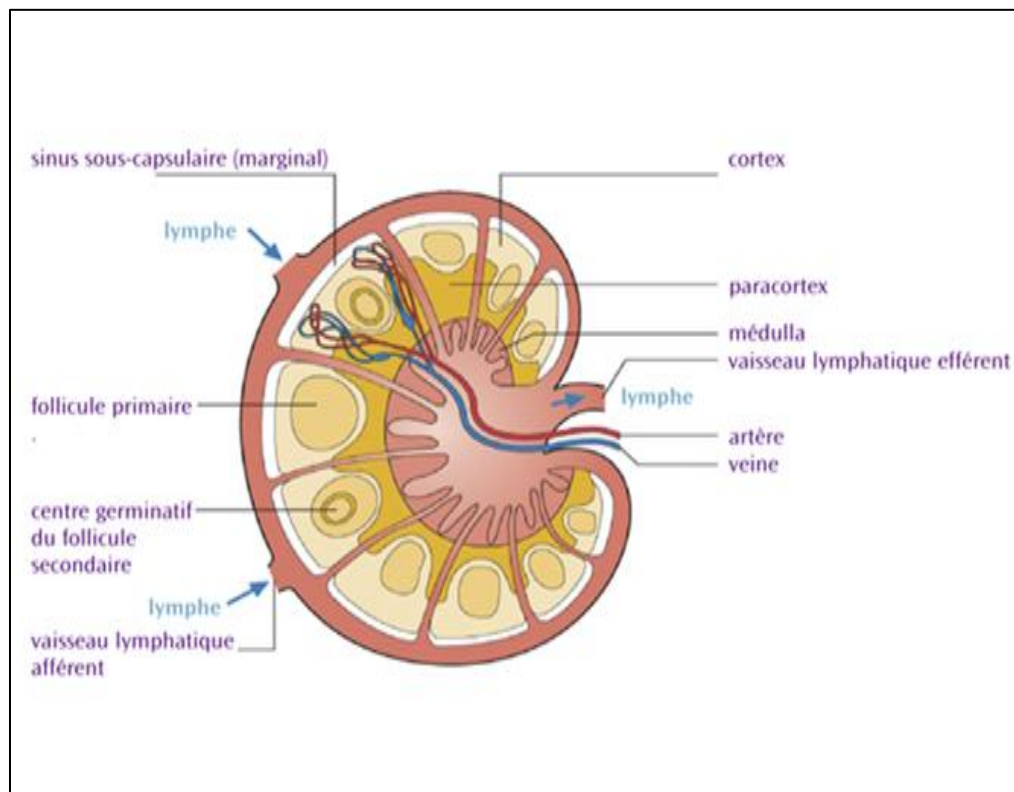


Figure2 : Structure du ganglion lymphatique [7]

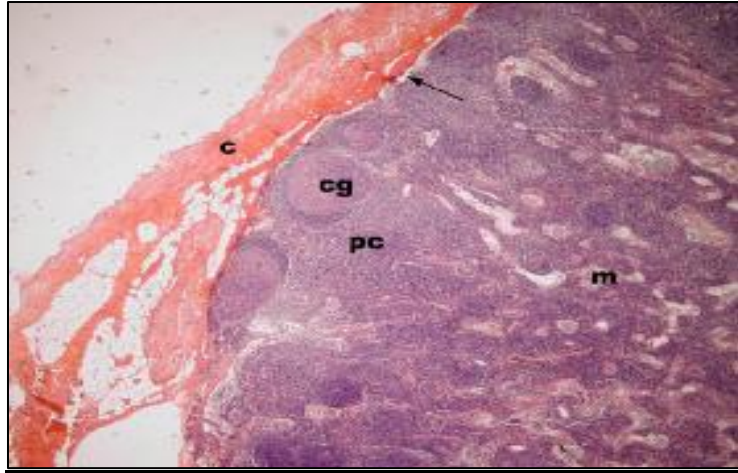


Figure 3 : coupe histologique montrant l'histologie normale d'un ganglion. C : Capsule, cg : Centre germinatif, m : Médullaire, pc : Para cortex. [8]

A partir de chaque partie du follicule, on peut avoir un type particulier de lymphome. (Figure 4)

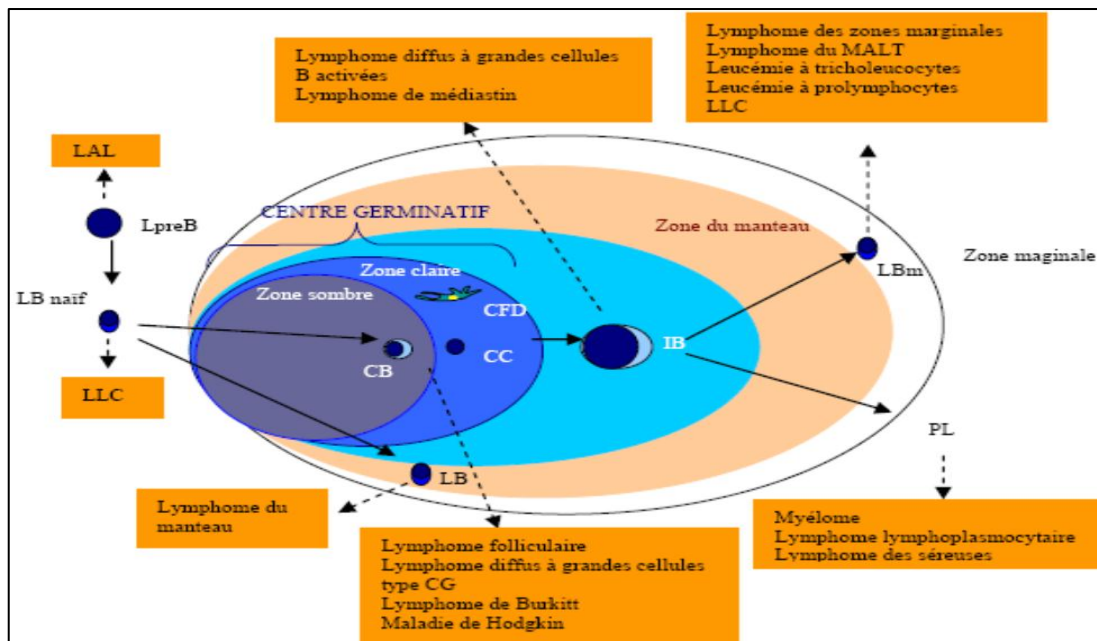


Figure 4: Composition d'un follicule secondaire avec type de lymphome correspondant à chaque cellule d'origine [9] LAL : Leucémie aiguë lymphoblastique ; LLC : Leucémie lymphoïde chronique ; LpreB : lymphocyte pré B ; LB : Lymphocyte B ; CB : Centroblaste ; CC : Centrocyte ; CFD : Cellule folliculaire dendritique ; IB : Immunoblaste ; LBm : Lymphocyte B mémoire ; PL : Plasmocyte

2) Epidémiologie

Les LNH représentent un groupe de tumeurs malignes dont le taux d'incidence est en forte hausse dans tous les pays du monde depuis les dernières décennies avec une augmentation de l'incidence de l'ordre 60% depuis le début des années soixante-dix aux Etats-Unis et une élévation de l'incidence annuelle d'environ 3 à 4%. C'est l'un des cancers dont l'accroissement est le plus important. [10]

Ces lymphomes s'observent dans tous les groupes d'âge mais leur fréquence augmente avec l'âge en particulier après 60ans. Ils sont fréquents dans les pays développés, où ils sont responsables de 3 à 5% des décès par cancer et de près de 1% du total des décès. Selon des données françaises, ils occupent la 6ème place par incidence chez l'homme et la 8ème chez la femme et se situent au 10ème rang pour la mortalité chez l'homme, au 6ème rang chez la femme. [11]

Aux Maroc, le taux d'incidence standardisé sur la population marocaine entre 2008-2012 était 4.8 pour 100000 habitants (3.6 pour 100000 chez les femmes contre 6.0 pour 100000 chez les hommes). [12]

Le lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC) est le type le plus fréquemment rencontré ; il représente (30 à 40%) des LNH, suivi par le lymphome folliculaire (LF) qui représente (20 à 30%), le lymphome B de la zone marginale (LZM) (7%), le lymphome B lymphocytaire (LLC) (5à 10%) , le lymphome B dérivé des cellules du manteau (5 à 6%), lymphome lymphoplasmocytaire (LLP) (1à 2%) alors que le lymphome de burkitt (LB) (0.8%). [13]

3) Classifications selon l'OMS 2017

La classification de référence des hémopathies malignes actuellement utilisée est celle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) 2017 qui est basée sur la cellule d'origine, l'architecture, l'aspect de la cellule, les aspects immunohistochimiques et les anomalies moléculaires de chaque hémopathie. [14](Tableau 1)

Tableau 1 : Classification OMS 2017

<u>Néoplasies développées à partir des précurseurs</u>	<u>Néoplasies développées à partir des lymphocytes B matures.</u>
Leucémies/ lymphomes lymphoblastiques B	Lymphome lymphocytaire (LLC) Leucémie polylmphocytaire B Lymphome splénique de la zone marginale Leucémie à tricholeucocytes Lymphome lymphoplasmocytaire Tumeurs plasmocytaires Lymphome de la zone marginale extra-ganglionnaire du MALT (lymphome du MALT) Lymphome de la zone marginale ganglionnaire (LZM) Lymphome folliculaire(LF) Lymphome primitif cutané centro-folliculaire Lymphome à cellules du manteau (LM) Lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC) Lymphome B à grandes cellules riche en cell T/histiocytes Lymphome B à grandes cellules du SNC (Système Nerveux Central) Lymphome B à grandes cellules primitif cutané de type jambe Granulomatose lymphomatoïde Lymphome B à grandes cellules du médiastin (thymique)

Lymphome B à grandes cellules intravasculaire

Lymphome B à grandes cellules ALK+

Lymphome plasmoblastique

Lymphome B à grandes cellules associé à une maladie de Castelman multicentrique

Lymphome de Burkitt (LM)

Lymphome B, inclassable, avec aspects intermédiaires entre un lymphome diffus à grandes cellules B et un lymphome de Hodgkin

4) Diagnostic des Lymphomes Non Hodgkiniens

4.1) Clinique

Les manifestations cliniques révélatrices des lymphomes sont assez caractéristiques. Dans la plupart des cas, on observe des adénopathies ; le plus souvent superficiels mais parfois profondes, uniques ou multiples. Les ganglions superficiels les plus atteints sont cervicaux, para-cervicaux et sus-claviculaire. Les ganglions profonds sont essentiellement les ganglions médiastinaux et rétropéritonéaux.

Les signes généraux sont représentés par une: anémie, une fièvre inexpliquée, des sueurs nocturnes, une asthénie, une perte progressive de poids. D'autres localisations sont possibles notamment amygdaliennes, gastro-intestinales... [15]

4.2) Biologique

Le bilan biologique est basé sur une Numération Formule Sanguine (NFS) à la recherche d'une phase leucémique ou d'une cytopénie évocatrice d'un envahissement médullaire. Le dosage des Lactate Déshydrogénase (LDH) sériques est le reflet de la masse tumorale et de l'agressivité de la maladie. L'électrophorèse des protéines permet de doser le taux de l'albumine et de chercher une gammopathie monoclonale. Il est systématiquement proposé de réaliser des sérologies des hépatites B et C et du Virus d'Immunodéficienc Human (VIH).

D'autres anomalies ne sont pas spécifiques, mais il est préférable de les rechercher comme la thrombopénie et l'augmentation des phosphatases alcalines. [16]

4.3) Anatomico-pathologique

4.3.1) Prélèvements

Type de prélèvements ;

a) Prélèvement cytologique

Les cellules isolées, ou les petits amas cellulaires, peuvent être obtenus par ponction à l'aiguille soit d'un liquide (liquide céphalo-rachidien) soit d'un organe ou d'une tumeur (ganglion). [17]

b) Prélèvement tissulaire

✓ Biopsie

Le type de biopsie pratiquée par le médecin dépend de l'emplacement des ganglions lymphatiques.

Différentes modalités peuvent être réalisées :

- Par ponction à l'aide d'une aiguille coupante ou d'un trocart.
- Par biopsie chirurgicale. Il en existe 2 types ;
 - La **biopsie excisionnelle**, où le ganglion lymphatique ou la masse est enlevé en entier
 - La **biopsie incisionnelle** où un échantillon du tissu ganglionnaire ou d'une autre partie du corps est prélevé. [18]
- Ponction de la moelle osseuse : Il consiste à prélever un petit échantillon de la moelle osseuse au niveau de la crête iliaque antérieure ou postérieure. La biopsie ostéo-médullaire est indispensable, quel que soit le type histologique du lymphome, et doit figurer dans tout bilan de LNH. [15]

4.3.2) Techniques

a) Colorations

Coloration May-Gründwald-Giemsa (MGG) pour les prélèvements cytologiques

Coloration Hématoxyline Eosine Safran (HES)

La coloration HES est composée d'**Hématoxyline** (qui colore en violet foncé les noyaux), d'**Eosine** (qui colore en rose le cytoplasme) et **Safran** (qui colore les fibres de collagène en jaune. [17]

b) Histologie

L'histologie est l'étude microscopique de la composition et de la structure des tissus organiques et des cellules. Elle permet d'analyser l'architecture du ganglion (diffuse ou folliculaire) et l'aspect des cellules tumorales (petites ou grandes).

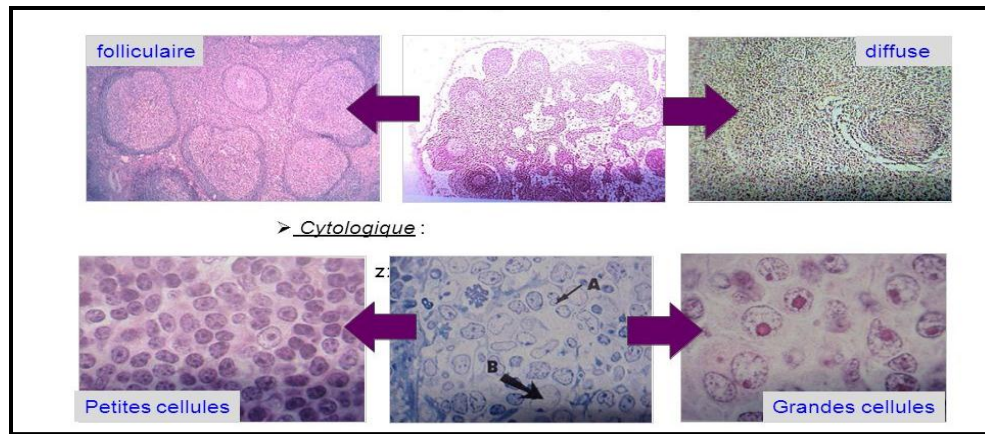


Figure 5 : destruction de l'architecture ganglionnaire par une prolifération [19]

c) Immunohistochimie (IHC)

Le principe de cette technique est de mettre en évidence certaines protéines cellulaires, qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire, à l'aide d'une réaction antigène – anticorps. Le complexe formé étant rendu visible, donc localisable, par un marqueur coloré. Elle permet de mieux caractériser une population lymphoïde et de différencier les lymphomes des autres proliférations néoplasiques ganglionnaires.

Les techniques directes utilisent des anticorps couplés à un marqueur coloré et sont employées surtout sur tissus congelés, pour la recherche de dépôts extra cellulaires. Dans la méthode indirecte, l'Ac spécifique primaire est déposé sur le tissu puis, il est révélé par un anticorps secondaire couplé à un marqueur coloré. Le produit coloré de la réaction enzymatique apparait au niveau du site des complexe Ag-Ac. [20]

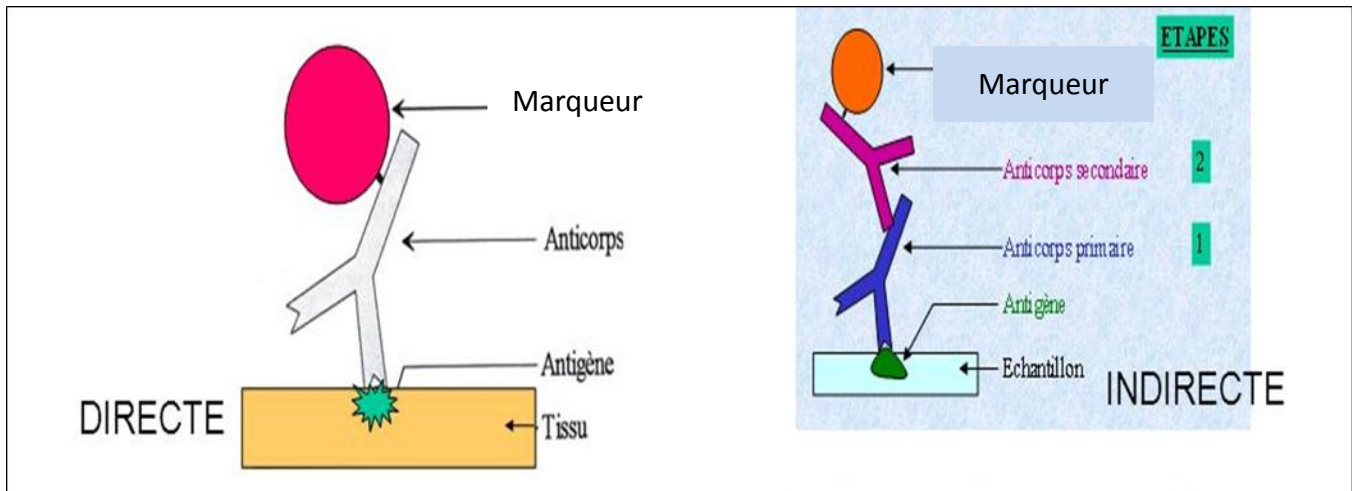


Figure 6 : Principe de la technique d'immunohistochimie [21]

Marqueurs utilisés :

- ✓ **CD 20** : Il marque toutes les cellules à différenciation B à l'exception du plasmocyte.
- ✓ **CD79a** : Il reconnaît les lymphocytes B depuis les stades les plus immatures et certains plasmocytes.
- ✓ **CD23** : Il reconnaît les lymphocytes B des lymphomes lymphocytiques.
- ✓ **CD5** : Il est exprimé dans certains types de lymphomes B à petites cellules, le LLC et le lymphome du manteau.
- ✓ **CD10** : Il reconnaît les cellules B immatures et les cellules normales B et T du centre germinatif. Il est exprimé dans le LF (le seul lymphome B à petite cellule CD10+).
- ✓ **BCL6** : C'est un facteur de différenciation lymphoïde B dans le centre germinatif et les lymphocytes T helper folliculaires (TFT).
- ✓ **BCL2** : Il est exprimé par tous les lymphocytes du ganglion sauf ceux du centre germinatif. [22]

d) Biologie moléculaire :

L'étude des caractères génétiques d'un lymphome se fait préférentiellement sur les tissus congelés où l'ARN et l'ADN ne sont pas dégradés ou sur des prélèvements fixés par le formol et inclus en paraffine. Cette technique permet de mettre en évidence sur des coupes tissulaires la localisation sur des chromosomes métaphasiques la ou les séquences géniques grâce à des sondes d'acides nucléique complémentaire et couplés à un traceur radioactif ou à une enzyme ou à un fluorochrome. [23] [24]

La biologie moléculaire permet :

- D'étudier la clonalité d'une population lymphoïde grâce aux techniques de Southern- Blot et de Polymerase Chain Reaction (PCR).

- La recherche de translocations spécifiques de certaines proliférations lymphoïdes par Hybridation In Situ Fluorescente (FISH) ou par PCR.
- La recherche de mutations d'oncogènes ou de gènes suppresseurs de tumeur par PCR.
- La mise en évidence de génomes viraux au sein des cellules tumorales comme le génome du virus d'Epstein-Barr. [25]

4.3.3) Aspects Anatomopathologiques

4.3.3.1) Lymphomes Folliculaires

Le lymphome folliculaire est une prolifération des cellules B du centre germinatif des follicules (centrocytes et centroblastes). L'architecture ganglionnaire normale est effacée par une prolifération tumorale conservant le plus souvent une architecture folliculaire.

La proportion des centroblastes permet d'établir le grade, les proliférations de grade 1-2 contenant moins de 15 centroblastes par champ, le grade 3 est subdivisé en fonction de la présence (grade 3a) ou non (grade 3b) de centrocytes. [26]

Immuno-phénotype : Le LNH de type folliculaire exprime le CD20, le CD10, le BCL6, le BCL 2, avec une négativité du CD5 et du CD23.

Biologie moléculaire : translocation t (14 ; 18) impliquant BCL2. [27]

4.3.3.2) Lymphome du manteau

Le lymphome du manteau résulte de la prolifération de lymphocytes de la zone du manteau.

L'architecture tumorale correspond à une prolifération diffuse ou nodulaire, faite de cellules de petite taille à noyaux clivés.

Immuno-phénotype : les LNH à cellules du manteau expriment le CD 20, le CD 5, la cycline D1 avec négativité du CD10 et du CD23

Biologie moléculaire : translocation t (11 ; 14) entraînant un réarrangement du gène BCL-1.

5.3.3.3) Lymphome de la zone marginale (LZM)

Le LZM est caractérisé par la prolifération des cellules B matures de la zone marginale. Il est caractérisé par une prolifération diffuse ou nodulaire de cellules monocytoïdes de taille moyenne avec un noyau réniforme et un cytoplasme assez abondant.

Le LZM est reparti en trois sous-groupes distincts en fonction de la localisation : les lymphomes extra-ganglionnaire de la ZM ou lymphomes du MALT (*Mucosa Associated Lymphoïde Tissue*), les lymphomes

spléniques de la zone marginale (avec ou sans lymphocytes villeux), les lymphomes de la ZM ganglionnaires.

Immuno-phénotype : Ces lymphomes expriment le CD 20 avec une négativité du CD5, CD10, et CD23

Biologie moléculaire : Trisomie 13, Trisomie 18.

4.3.3.4) Lymphome B diffus à grandes cellules

Le lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) représente un des plus fréquents sous-types histologiques. Il est caractérisé par une prolifération diffuse de grandes cellules de type immunoblastique ou centroblastique effaçant l'architecture ganglionnaire normale. Ces cellules possèdent un noyau de taille égale ou excédant celle du noyau de macrophages ou encore, de taille 2 fois supérieure à celle d'un noyau de lymphocyte normal.

Immunophénotype : les lymphocytes tumoraux expriment plusieurs marqueurs B (CD 19, CD20, CD22, CD79a).

Biologie moléculaire : réarrangement de BCL6 (en 3q27) (30%), réarrangement de BCL2 (20-30%), réarrangement C-MYC (5-20%), mutations p53 (20%).

4.3.3.5) Lymphome de burkitt

Le lymphome de Burkitt est un lymphome à cellules B matures. Histologiquement, il est fait d'une prolifération monotone, faite de cellules de taille moyenne et au cytoplasme assez basophile contenant des vacuoles lipidiques bien visibles sur les empreintes. Le noyau est rond et renferme de deux à cinq nucléoles. Les mitoses sont nombreuses et la prolifération est parsemée de macrophages contenant des corps apoptotiques donnant un aspect en « ciel étoilé ».

Le virus d'Epstein-Barr (EBV) est un facteur de risque connu dans les formes endémiques.

Immuno-phénotype : Ce lymphome exprime les antigènes B (CD19, CD20, CD22, CD79a) associés au CD10 (mais non à CD5) et BCL6.

Biologie moléculaire : Il exprime la translocation t (8 ; 14), t (2 ; 8) ou t (8 ; 22) intéressant le gène C-MYC.

4.3.3.6) Lymphome lymphoplasmocytaire

Le LLP est un lymphome rare, provenant de cellules B matures. Il se caractérise par une prolifération diffuse ou localisée dans la zone interfolliculaire, faite de petits lymphocytes B, lympho-plasmocytes et plasmocytes avec un cytoplasme variable.

Immuno-phénotype : Ces lymphomes expriment le CD79a, le BCL-2, l'IgM intra-cytoplasmique, le CD20 avec une négativité de CD10, CD23 et CD5.

4.3.3.7) Lymphome lymphocytaire (LLC)

Le LL est caractérisée par la prolifération diffuse de petits lymphocytes B avec pseudo-nodules (centres de prolifération riches en para-immunoblastes).

Immuno-phénotype : Ces lymphomes expriment le CD2, le CD5, le CD23, le BCL-2 avec une négativité du CD10 et de la cycline D1.

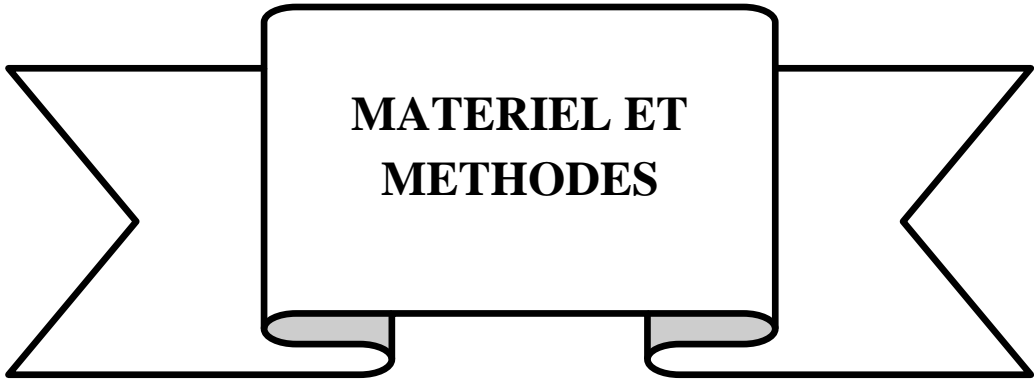
Biologie moléculaire : Il exprime la trisomie 12 (30%) et les délétions en 13q (1/4).

4.3.3.8) Lymphome lymphoblastique B

Le lymphome lymphoblastique est caractérisé par une prolifération d'architecture diffuse de cellules de taille petite à moyenne avec un cytoplasme basophile peu abondant, une chromatine fine poussiéreuse sans nucléole.

Immuno-phénotype : Ces lymphomes expriment le CD19, CD79a, le CD20, le CD10 et le tdt avec une négativité du CD5.

Biologie moléculaire : Il exprime les délétions : del (6q), del (9p), del (12p). [27]



**MATERIEL ET
METHODES**

III. MATERIEL ET METHODES

1) Matériel :

1-1) Population étudiée

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive, anatomopathologique et épidémiologique portant sur 181 cas de LNH de phénotype B colligés au service d'anatomopathologie du CHU Hassan II de Fès sur une période de 5 ans (Janvier 2013- Mars 2018).

1-2) Appareils utilisés

- ✓ **Histokinette (Tissue-Tek^R SRMTM)**: C'est un appareil qui permet d'effectuer automatiquement toutes les opérations de traitement de prélèvement tissulaires ; déshydratation (par l'alcool), éclaircissement (par le toluène) et l'enrobage dans la paraffine liquide.



Figure 7 : Automate Histokinette

- ✓ **Appareil d'enrobage avec plaque réfrigérante (Tissue-Tek TECTM 5)** : C'est un appareil pour enrober les coupes histologiques en paraffine liquide pour obtenir des blocs de paraffine, en les mettant dans la moule métallique rempli de paraffine, qui se solidifie sur la plaque de réfrigérante (-10°C)

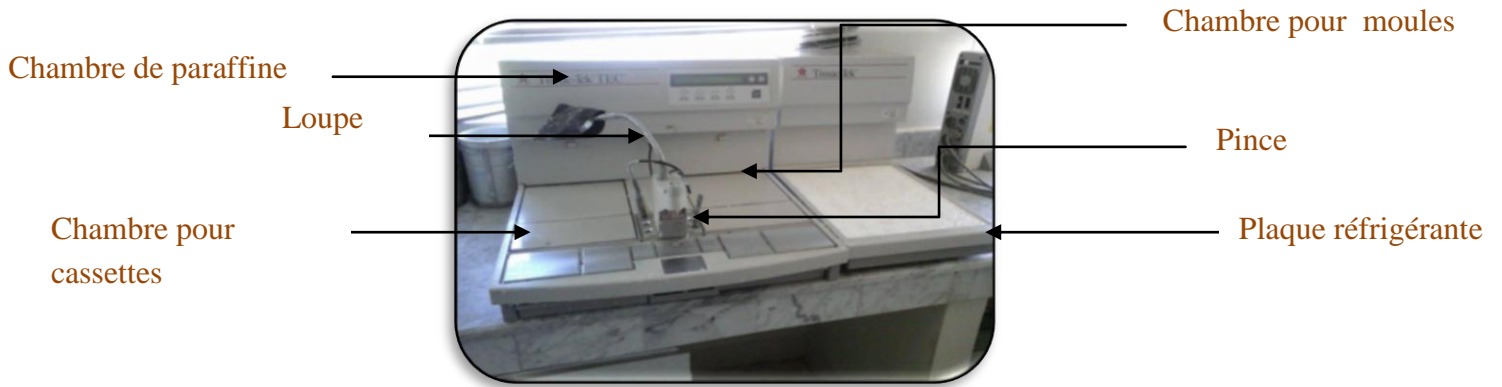


Figure 8 : Image détaillée d'un appareil d'enrobage

- ✓ **Microtome (Accu-Cut^R SRMTM)** : C'est un appareil qui permet de faire des coupes minces en opérant un mouvement vertical alternatif, à l'aide d'une lame rasoir fixée sur une partie mobile et placée perpendiculaire au bloc de paraffine

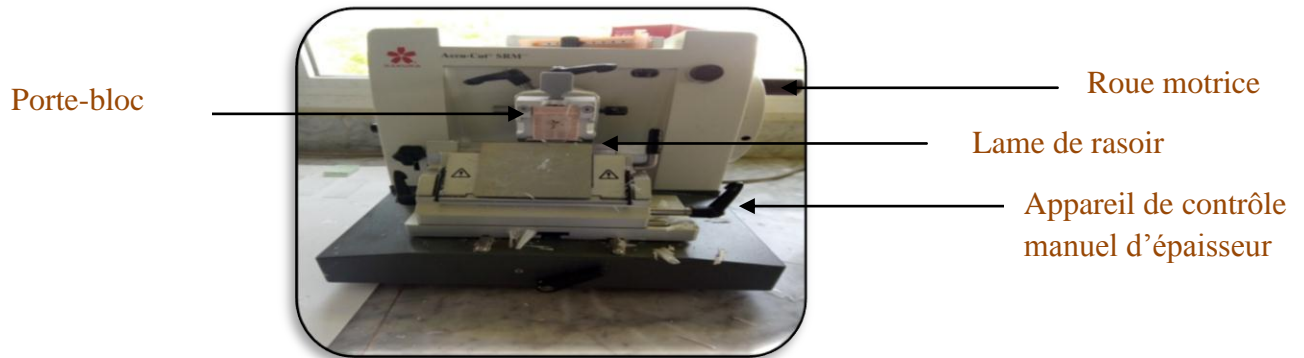


Figure 9 : Image détaillée d'un microtome

- ✓ **Automate de coloration (Tissue-Tek^R DRSTM)** : C'est un appareil de coloration automatique contenant des bains de colorants



Figure 10: Automate de coloration

- ✓ **Automate d'Immunohistochimie (Ventana benchmark LT)** : C'est un appareil qui permet d'effectuer toutes des étapes d'immunohistochimie.



Figure 11 : Automate d'immunohistochimie

2) Méthodes

2.1) Type de prélèvement

Le diagnostic de lymphome non Hodgkinien a été porté sur différents types de prélèvements (biopsie ou exérèse) intéressant du tissu ganglionnaire, ostéo-médullaire, digestif...

2.2) Etude macroscopique

Les prélèvements reçus sont fixés dans le formol 10%. La durée de fixation est de 24h. Pour les biopsies ostéo-médullaire, une décalcification est réalisée après fixation en mettant la carotte biopsique dans l'acide nitrique pendant 1h à 2h.

Après la fixation :

- ✓ Les biopsies sont mesurées et mises en cassettes en totalité.
- ✓ La prise en charge des exérèses ganglionnaires se déroule selon les étapes suivantes :
 - ✓ Mesure de pièce dans les 3 dimensions (longueur, largeur, et tumeur).
 - ✓ Coupe et description du parenchyme ganglionnaire.
 - ✓ Inclusion des prélèvements dans une ou plusieurs cassettes

2.3) Technique d'étude histologique

2.3.1) Déshydratation

Après la disposition des biopsies et /ou des pièces opératoires dans les cassettes, elles sont mises dans l'automate Histokinette contenant des liquides. Les étapes de la déshydratation sont décrits ci-dessous ; (Figure 12)

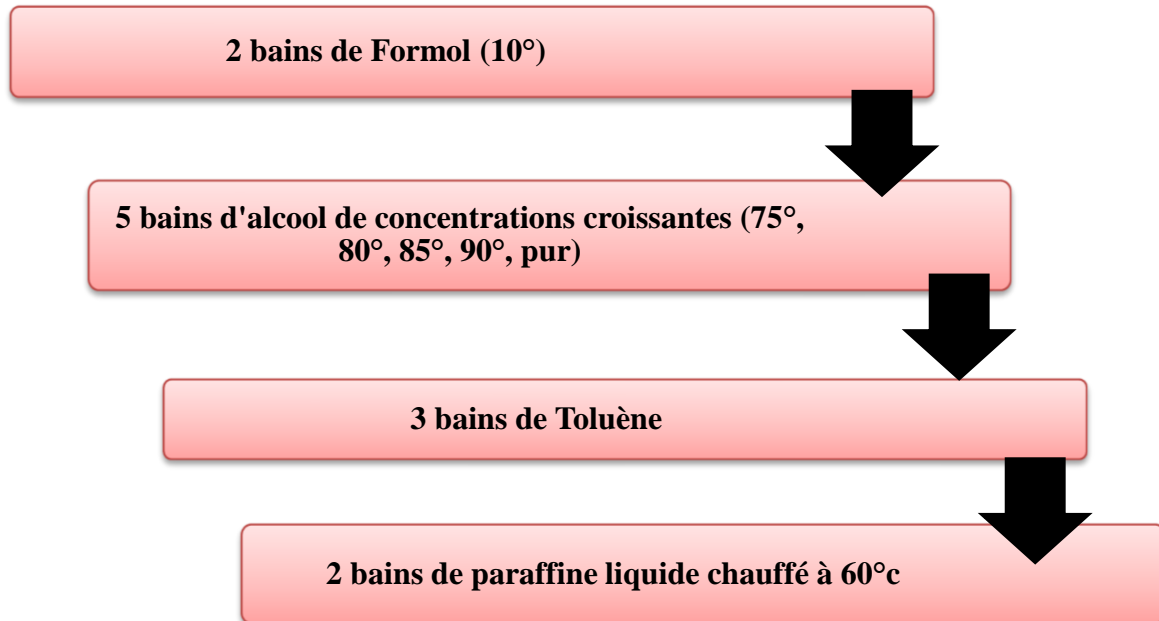


Figure 12 : Les étapes de la déshydratation

2.3.2) Enrobage et microtomie

Une fois que l'échantillon est bien imprégné dans la paraffine, on le met dans une moule rempli de paraffine chauffé qui se solidifie à température ambiante permettant d'avoir un bloc de paraffine. Les blocs sont coupés par la suite à l'aide d'un microtome avec épaisseurs allant de 3 à 5 microns, les rubans obtenus sont déposés dans un bain contenant de la gélatine qui permet l'adhésion des coupes sur les lames. Ces dernières sont enfin mises dans l'étuve à 56° pour le déparaffinage.

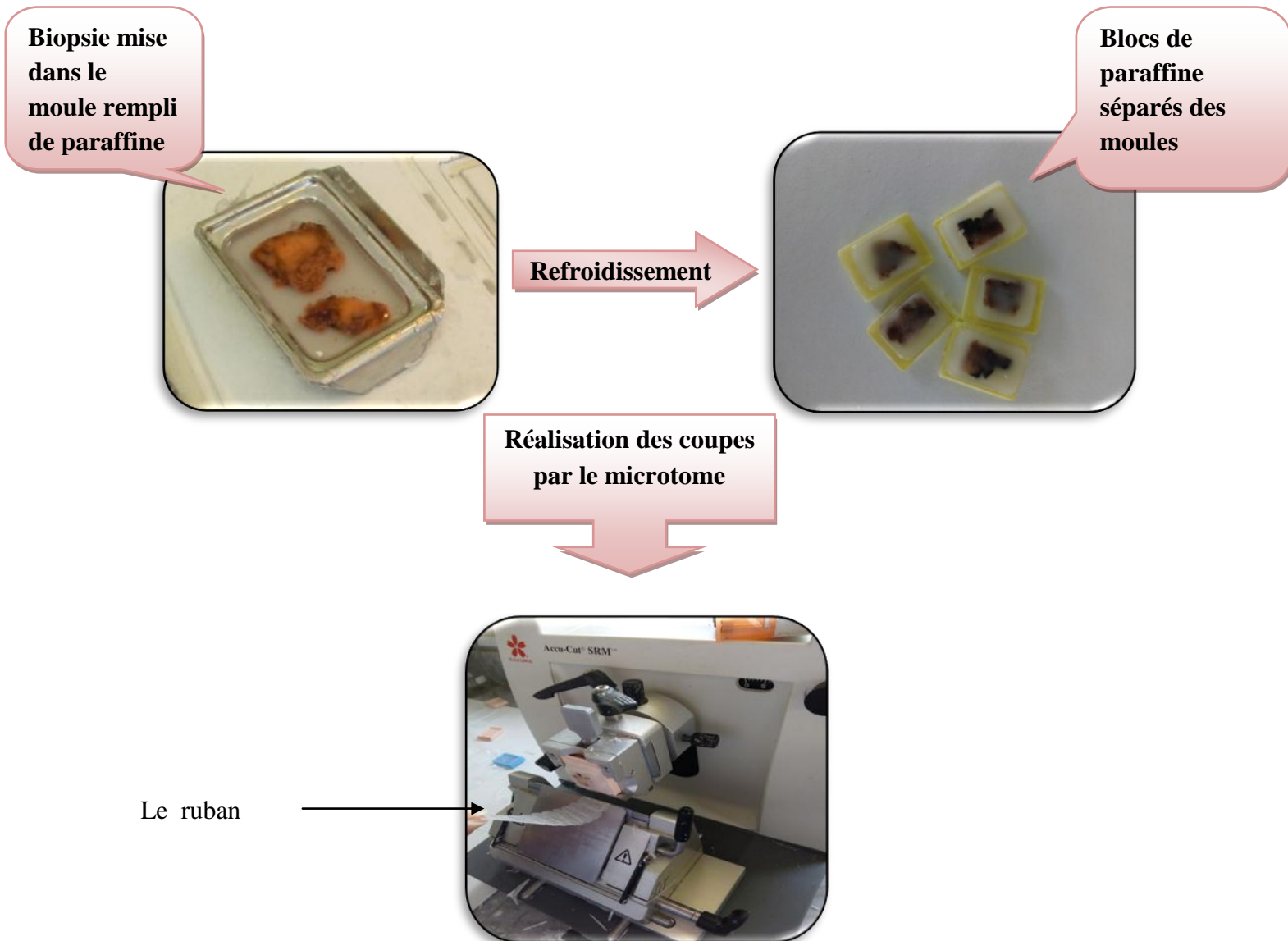


Figure 13 : Les étapes de l'enrobage et microtomie

2.3.3) Coloration des coupes

La coloration la plus utilisée est l'HES, Les lames doivent être préparées, afin de pouvoir recevoir les colorants. La coloration est précédée de déparaffinage et d'hydratation, Elle s'effectue en plusieurs étapes ;

Tableau 2 : Les étapes de la coloration HES

Etapes	Temps	Solutions
1	4 min	Toluène
2	4 min	Toluène
3	5 min	Alcool (95°)
4	2 min	Eau
5	2 min	Hématoxyline
6	2 s	Alcool acide
7	1 min	Eau
8	2 s	Ammoniac
9	1 min	Eau
10	3 min	Eosine
11	2 min	Eau
12	1 min	Alcool 90%
13	1 min	Alcool pur
14	4 min	Safran
15	1 min	Ethanol-Methanol
16	1 min	Alcool 95%
17	1 min	Alcool pur
18	1 min	Toluène

2.3.4) Montage et examen microscopique

La coupe, ainsi colorée est alors protégée par une lamelle de verre collée à l'aide d'un produit synthétique transparent. Après le montage, les lames sont classées dans des portoirs accompagnées de leurs fiches d'identification.

Elles sont prêtes à l'examen au microscope par les pathologistes responsables. L'examen se fait au microscope optique.

2.4) Technique d'étude immunohistochimique

Les différents anticorps utilisés dans cette série sont les anticorps : *anti CD20*, *anti CD5*, *anti CD10*, *anti CD23*, *anti CD79a*, *anti BCL-2* et *anti BCL-6*, *anti cycline D1*, *anti CD3*, *anti tdt* et *anti ki67*.

La technique d'immunohistochimie est réalisée à l'aide de l'automate **ventana benchmark LT**. Après coupe des blocs de paraffine et déparaffinage, l'automate est utilisée pour réaliser tout le reste des étapes décrites ci-dessous :

- Déparaffinage dans l'étuve à 56°C pendant une nuit.
- Démasquage antigénique avec un tampon Tris-EDTA (PH 9), ou un tampon de citrate (PH 6), et à pression 2 bar, et incubé à 95°C pendant 20 min.
- Blocage des peroxydases endogènes pour éviter le faux positif.
- Application de l'anticorps primaire.
- Lavage avec 3 bains PBS
- Révélation : fixation de l'anticorps secondaire sur l'anticorps primaires, puis la reconnaissance de l'anticorps secondaire par la peroxydase, et ensuite la liaison de chromogène-substrat.
- Lavage par le PBS dans chaque étape.
- Contre coloration par hématoxyline.
- Post contre coloration dans lequel on utilise le carbonate de lithium.

3) Méthode statistiques

3.1) Recueil des données

Nous avons collecté les données d'une façon rétrospective sur une durée de 5 ans, à partir des comptes rendus anatomopathologiques et des observations cliniques informatisées des patients du CHU Hassan II Fès.

❖ Variables étudiées

- Année
- Localisation
- Age
- Sous-type histologique
- Sexe

3.2) Analyse statistiques

L'archivage des données et analyse statistique a été réalisé en utilisant l'Excel 2010.



RESULTATS

IV. RESULTATS

Cette étude a été effectuée au laboratoire d'anatomopathologie du CHU Hassan II- Fès, nous avons obtenu 181 cas répondant aux critères d'inclusion de notre étude. L'analyse des données a abouti à des résultats qui seront présentés ci-dessous.

1) Données épidémiologique

1.1) Répartition des cas touchés par LNH B selon les années

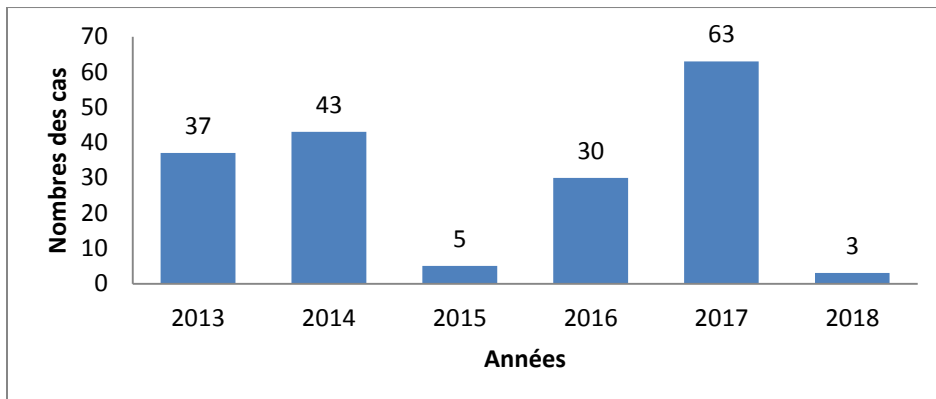


Figure 14 : Répartition des cas selon les Années

L'étude de la répartition des cas selon les années montre un pic de fréquence des patients atteints de LNH B notée en 2017, 63 cas sont touchés par cette pathologie ce qui représente 34.8% des cas (Figure 14)

1.2) Répartition des cas touchés par LNH B selon l'âge

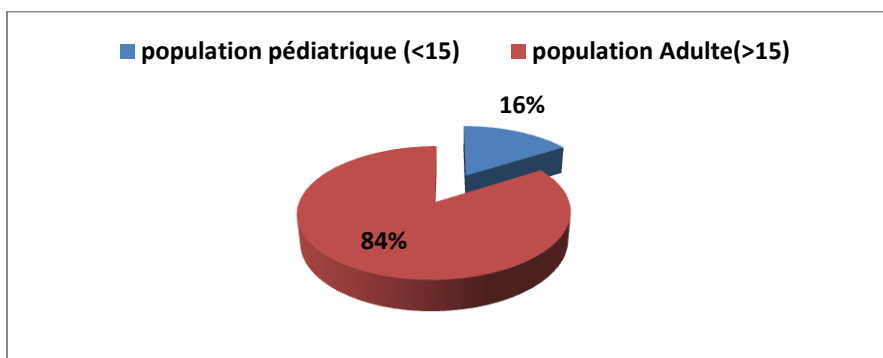


Figure 15 : Répartition des cas selon le type de population adulte ou pédiatrique

La moyenne d'âge de nos patients est de 49 ans, avec des extrêmes de 2 ans et 90 ans. La population pédiatrique (<15 ans) représente 16% avec 29 des cas, alors que la population adulte représente 84% avec 152 des cas. (Figure 15).

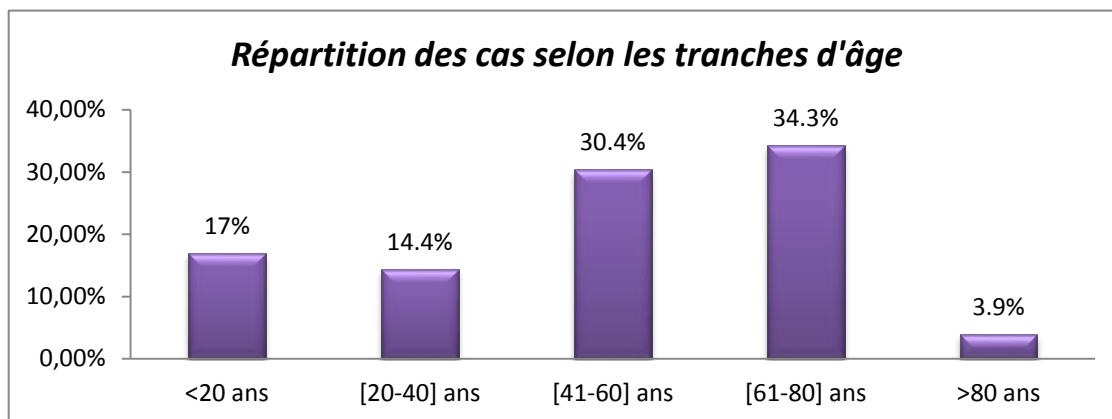


Figure 16 : Répartition des cas selon les tranches d'âge

Dans notre étude, les cas ont été répartis par tranches d'âge. Le pic de fréquence est noté entre l'âge 61-80 ans 34.3% (62 cas). (Figure 16)

D'après ces résultats, on peut émettre l'hypothèse que LNH B touche plus les adultes que les enfants.

1.3) Répartition des cas touchés par LNH B selon le sexe

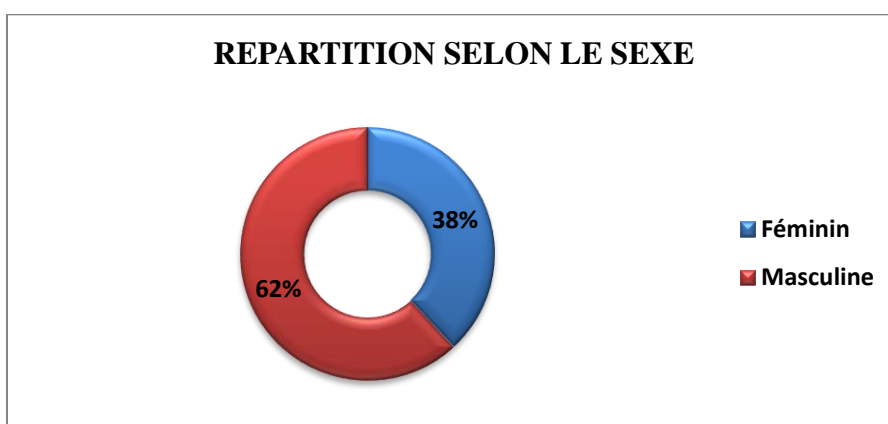


Figure 17 : Répartition des cas selon le sexe

La répartition des cas selon le sexe a montré une prédominance masculine 112 cas ce qui représente 62% hommes touchés par le LNH B, par contre 69 des femmes sont touchées par cette maladie ce qui représente 38% avec une sex-ratio de 1.63. (Figure 17)

2) Localisation.

Tableau 3 : Répartition selon la localisation

Localisation	Nombre de cas	%
GANGLIONNAIRE	73	40.3
TUBE DIGESTIF	37	20.4
MO	18	9.9
PULMONAIRE	8	4.4
AMYGDALE	7	3.8
MEDIASTIN	5	2.7
NASOSINUSIENNE	5	2.7
PEAU	5	2.7
OSSEUSE	4	2.2
CEREBRALE	3	1.7
ABDOMINALE	2	1.1
HEPATIQUE	2	1.1
PHARYNX	1	0.6
UTERUS	1	0.6
GLANDE LACRYMALE	1	0.6
RATE	1	0.6
SEIN	1	0.6
TESTICULE	1	0.6
THYROIDIENNE	1	0.6
SPLENIQUE	1	0.6
INCONNUE	4	2.2
TOTAL	181	100

L'étude de la localisation montre une prédominance de la localisation ganglionnaire notée chez 73 cas (40.3%) suivie par la localisation digestives dans 37 cas (20.4%), alors que les autres localisations sont plus rares (tableau 3)

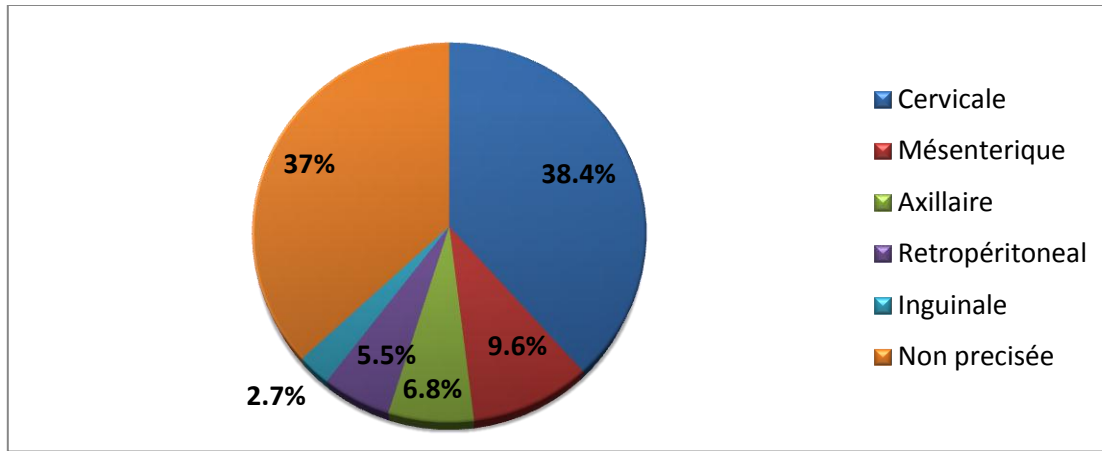


Figure 18 : Répartition selon la localisation ganglionnaire

Pour les localisations ganglionnaires, les ganglions cervicaux sont les plus fréquents (38.4% ; 28 cas), suivis par les ganglions mésentériques (9.6% ; 7 cas). La localisation ganglionnaire n'était pas précisée dans 27 cas (37%). (Figure 18)

3) Sous type histologiques

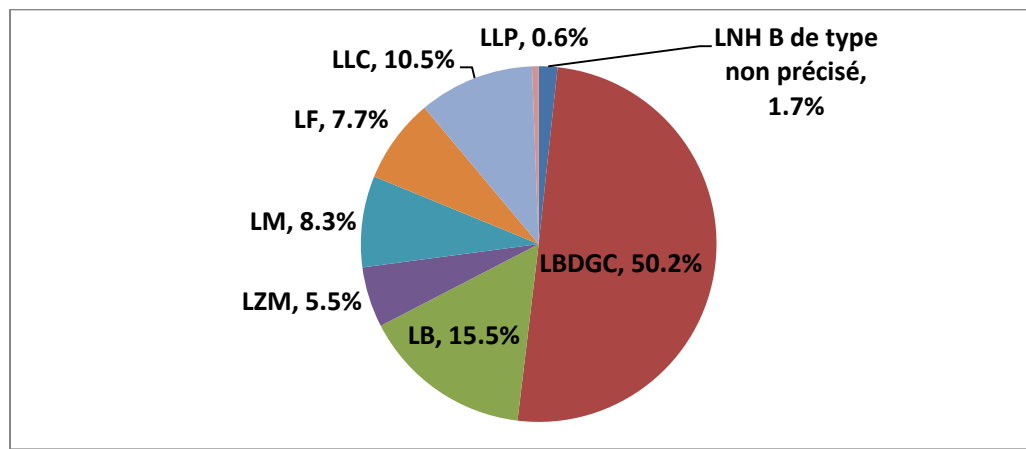


Figure 19 : Répartition des cas selon le sous-type histologique de LNH

La répartition des cas selon le type histologique montre une prédominance du Lymphome B diffus à Grandes Cellules (LBDGC) avec 91 cas représentant 50.2% des patients atteints de LNH B, suivi par le Lymphome de Burkitt (LB) avec 28 cas représentant 15.5% , le Lymphome Lymphocytaire (LLC) avec 19 cas représentant 10.5%. Les autres sous types de LNH sont rares (Figure 19).

Résultats de lecture microscopique (Figure 20-22)

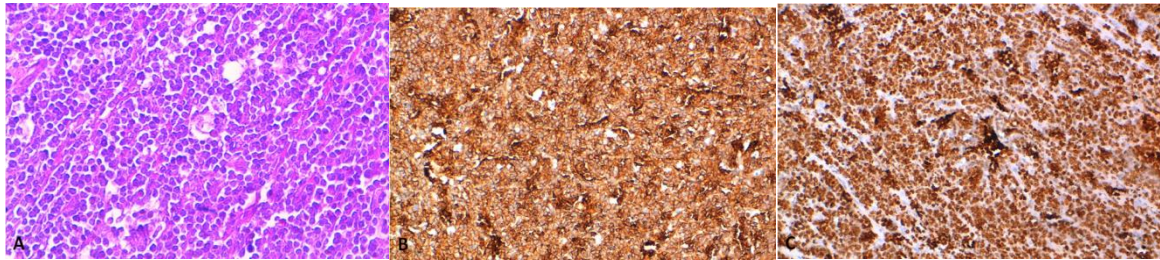


Figure 20 : Lymphome de Burkitt. A: prolifération lymphomateuse disposée en nappe, faite de cellules monomorphes, de taille moyenne (HESx400). B: expression du CD20. C: Ki67 avoisinant 100%

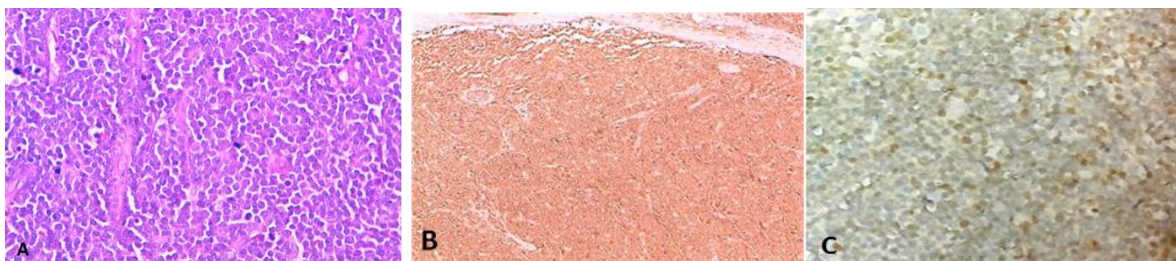


Figure 21 : lymphome lymphoblastique B. A : prolifération lymphomateuse disposée en nappe, faite de cellules monomorphes, de taille petite à moyenne, d'aspect blastique (HESx400). B: expression du CD20. C : expression du tdt.

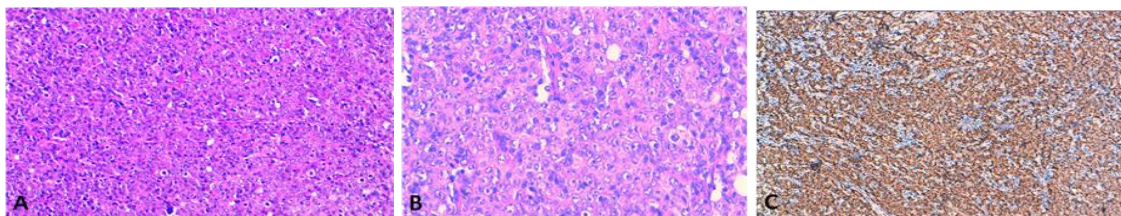
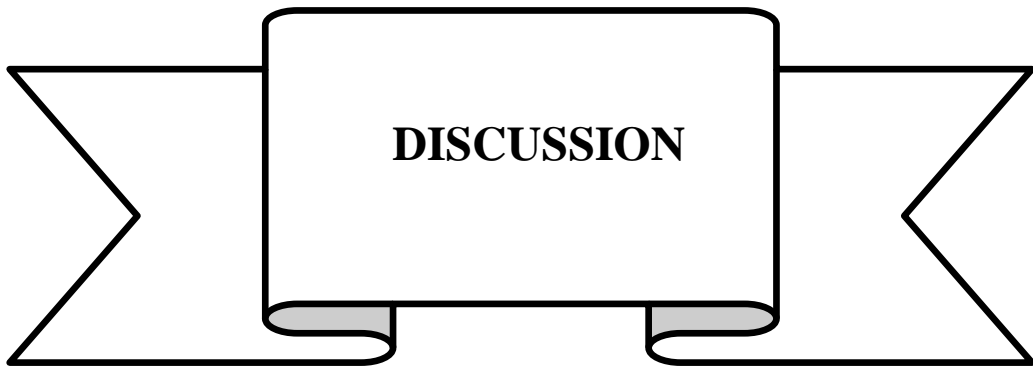


Figure 22: LBDGC. A : prolifération disposée en nappe (HESx200). B: cellules tumorales de grande taille (HESx400). C : expression CD 20.

Les résultats montrent une diversité des localisations des LNH B selon le type histologique, où on note que la localisation ganglionnaire reste la plus fréquente dans chaque sous-type histologique des Lymphomes Non Hodgkiniens B présentée dans le tableau 4.

Tableau 4 : Répartition des localisations dans chaque type histologique.

LOCALISATION	NOMBRE DE CAS	%	Localisation	NOMBRE DE CAS	%
<u>LBDGC :</u>	<u>91</u>	<u>100%</u>	<u>LF</u>	<u>14</u>	<u>100%</u>
Ganglion	29	31.9%	Ganglion	6	43.0%
Tube digestif	26	28.6%	Peau	3	21.4%
MO	5	5.5%	MO	2	14.3%
Amygdale	5	5.5%	Os	1	7.1%
Nasopharynx	6	6.6%	Médiastin	1	7.1%
Médiastin	3	3.3%	Testicule	1	7.1%
Os	2	2.2%			
Peau	2	2.2%	<u>LZM</u>	<u>10</u>	<u>100%</u>
Cerveau	2	2.2%	Ganglion	4	40%
Foie	1	1.1%	Amygdale	3	30%
Plèvre	1	1.1%	MO	1	10%
Poumon	1	1.1%	Plèvre	1	10%
Thyroïde	1	1.1%	Testicule	1	10%
Rate	1	1.1%			
sein	1	1.1%	<u>LLP</u>	<u>1</u>	<u>100%</u>
Spleen	1	1.1%	MO	1	100%
Bronche	1	1.1%			
Non précise	3	3.3%			
<u>LB</u>	<u>28</u>	100%			
Ganglion	10	35.7%			
Tube digestif	9	32.1%			
Abdomen	2	7.1%			
Cerveau	1	3.6%			
Foie	1	3.6%			
Médiastin	1	3.6%			
MO	1	3.6%			
Utérus	1	3.6%			
Plèvre	1	3.6%			
Non précise	1	3.6%			
<u>LLC</u>	<u>19</u>				
Ganglion	16	84.2%			
MO	2	10.5%			
Bronche	1	5.3%			
<u>LM</u>	<u>15</u>	<u>100%</u>			
ganglion	8	53.3%			
Amygdale	2	13.3%			
MO	2	13.3%			
Plèvre	2	13.3%			
Tube digestif	1	6.7%			

A decorative banner with a central rectangular box containing the word "DISCUSSION". The banner has a ribbon-like shape with pointed ends and a slight shadow at the bottom.

DISCUSSION

V. DISCUSSION

Cette étude rétrospective descriptive est réalisée au niveau du service d'Anatomie Pathologique CHU Hassan II –Fès. Son but est de présenter et discuter les données épidémiologiques et anatomopathologiques des LNH B en comparant nos résultats avec ceux de la littérature.

L'étude de la fréquence des LNH B montre une augmentation avec l'âge avec un pic de fréquence de 34.3% entre 61-80 ans. Ces résultats sont comparables à ceux de l'étude du LNH de **Sennour Taha Wasim [28]** qui a montré un pic de 53.77% au cours de la même tranche d'âge.

Des études d'**Achour Bouakaz [29]** sur LNH en fonction de l'âge montrent une concordance avec nos résultats avec une moyenne d'âge de 51.5 ans.

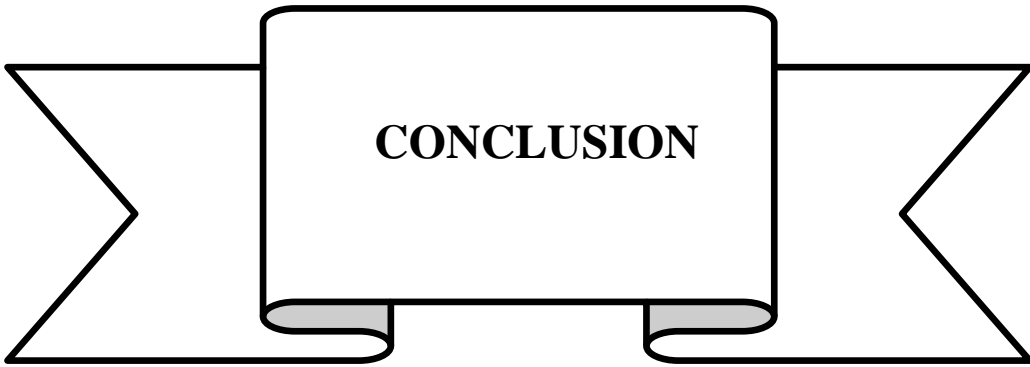
L'analyse de la répartition du LNH B selon le sexe montre une prédominance masculine avec une sex-ratio de 1.63, ce qui est en rapport avec les études d'**Achour Bouakaz [29]** et **Reena Nair [30]**, où on note respectivement un sexe ratio de 1.63 et 1.6.

Comme pour ce qui est rapporté dans la littérature, nous avons noté une prédominance des localisations ganglionnaires. Parmi ces dernières, les adénopathies cervicales sont les plus touchées (38.9%), suivies par les adénopathies mésentériques (9.6%), axillaires (6.8%) et inguinales (2.7%). L'étude d'**Achour Bouakaz [29]** de LNH a montré une prédominance des localisations cervicales (50%) suivies par les localisations axillaires 32%.

Nous avons également noté une prédominance du LBDGC avec 50.2% des cas, suivi par le lymphome de burkitt (15.5%). D'autres travaux de LNH ont montré que le LBDGC reste toujours le sous type le plus fréquent. (Tableau 4)

Tableau 5 : Répartition des types histologiques des LNH B dans la littérature

	LBDGC	LB	LLC	LM	LF	LZM	LBPC	LLP
CHU Hassan II-Fès	50.2%	15.5%	10.5%	8.3%	7.7%	5.5%	1.7%	0.6%
Aminata Coulibaly [22]	40.8%	0%	18.2%	4.5%	9.1%	9.1%	0%	0%
Achour Bouakaz [29]	40%	1%	0%	2%	10%	12%	29%	0%
Mohamed Hamidou [31]	35%	5%	5%	0%	5%	10%	0%	0%



VI. CONCLUSION

Les LNH B représentent un groupe de tumeurs dont le taux d'incidence est élevé dans tous les pays du monde depuis les dernières décennies, ils sont observés dans tous les tranches d'âge mais son incidence croît après 60 ans.

Les résultats montrent que ces lymphomes affectent la population plus âgée notamment entre 61 et 80 ans, la moyenne d'âge de nos patients est 49 ans avec une prédominance masculine de 62% des cas et une diversité des localisations des LNH B avec une prédominance de localisation ganglionnaire suivie par le tube digestif.

Les techniques d'histologie et d'immunohistochimie jouent un rôle très important dans le diagnostic des LNH B, ce qui nous a permis de classer nos patients selon le type histologique de LNH B où on a conclu que la majorité des cas sont atteints d'un LBDGC.

Dangereux et pourtant mal connu. Le lymphome non hodgkinien est un cancer qui se développe d'une manière rapide, mais qui se cache derrière des symptômes banals et assez courants. Il est essentiel donc de sensibiliser les gens sur le lymphome par les médias, et les affiches et assurer à tous les patients les mêmes chances, pour un diagnostic précis et un traitement adapté.



**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE**

- [1] **Lymphomes Malins hodgkiniens et non hodgkinien, Méga Guide STAGES IFSI (2e édition), 2015, Pages 108-113**
- [2] **Amal BOUKHRISSA, Lymphomes Non Hodgkinien, Expérience du service de médecine interne-centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès, 2013**
- [3] **Association France Lymphome Espoir, Comprendre les lymphomes Non Hodgkinien**
- [4] **Lymph Communauté-Jobs Canada medical compression stockings**
- [5] **Coujard R., Poirier J., Racadot J. Précis d'histologie humaine.1980 ; 4 : 381-385.**
- [6] **Histologie du système immunitaire –épathologies**
- [7] **Lymphome Canada-Système lymphatique**
- [8] **Ikram Badioui, Les lymphomes non Hodgkiniens de phénotype B de Bas grade ganglionnaire expérience du service d'anatomie et cytologie pathologiques, centre hospitalier Universitaire Hassan II de Fès- 2012**
- [9] **Blasco H, Facteurs pharmacocinétiques et variabilité de réponse aux médicaments utilisés dans le traitement des lymphomes. Thèse Med ; Université de Toulouse 2008, 180p**
- [10] **Epidémiologie des lymphomes non Hodgkinien : données actualisées -Volume 86, numero 16 Juin 1999**
- [11] **Bosly A, Coiffier B. Données récentes concernant l'épidémiologie des lymphomes non hodgkiniens. Pathol. 1997;45:449-452.**
- [12] **Registres des cancers de la région du Grande Casablanca 2008-2012**
- [13] **Camilo Adem et Thomas Petit, Mémento de pathologie 3eme édition**
- [14] **Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jurgen Thiele, Daniel A. Arber, Robert P. Hasserjizn, Michelle M. Le Beau, Attilio Orazi, Reiner Siebert, WHO Classifications of Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues -2017 revised edition**
- [15] **DeKerviler E., Tassy D., Solal-CELIGNY P .Bilan d'extension des lymphomes non hodgkiniens in lymphomes. Troisième édition. Ed. Frison-Roche, Paris .1997 ; 152- 61.**
- [16] **Mohamed Arjdali, Lymphomes Malins Non Hodgkiniens : Rôle particulier du Virus Epstein Barr .Thèse N° 17,2016**
- [17] **Collège Français des Pathologistes (CoPath), Moyens et objectifs de l'anatomie pathologique en médecine, 2012.**
- [18] **Société Canadienne de cancer, lymphomes non hodgkiniens.**
- [19] **Christelle Gamache, Les lymphomes (H & NH).**

- [20] **L'IMMUNOHISTOCHIMIE : Son principe, ses applications et ses limites. Clin Mother Child Health 2006; Vol 3, N° 1 : 477-481**
- [21] **P. Levillain, Principe d'immunohistochimie et d'immunofluorescence**
- [22] **Aminata Coulibaly, Aspects épidémiologiques et anatomopathologiques des lymphomes au service d'anatomie et cytologie pathologiques à l'université des sciences, des techniques et des technologies du Bamako-Mali, Thèse ; 2015**
- [23] **P.Brousset, Techniques d'hybridation in situ fluorescente (FISH)**
- [24] **Marie-Geneviève Mattei, Jean-François Mattei, L'hybridation in situ en cytogénétique**
- [25] **DELABESSE, E. and MacINTYRE, E., Méthode d'étude par biologie moléculaire, in Lymphomes : lymphomes non hodgkiniens et maladie de Hodgkin, P. Solal-Céligny, et al. Editors. 1997, Frison-Riche: Paris. p. 114-124**
- [26] **C. Doyen a, M. Delos b, L. Michaux c, A. Bosly a, Lymphomes folliculaires -Follicular lymphoma**
- [27] **Camilo Adem et Thomas Petit, Mémento de pathologie 3eme édition**
- [28] **Sennour Taha Wasim, étude rétrospective sur les lymphomes ; aspect épidémiologique et clinique et biologique- Faculté des sciences de la nature et de la vie, Algérie 2017**
- [29] **Achour Bouakaz, Blarouci Ikram, Investigation des lymphomes non Hodgkiniens par la technique d'immunohistochimie au sein du service d'anatomo- pathologie de l'hôpital militaire de Constantine, Algérie-Thèse ; 2016**
- [30] **Reena Nair, Neera Arora, Mohandas K.Mallath, Epidemiology of Non-Hodgkin's Lymphoma in India-Department of clinical hematology Tata medical Centre, Kolkata-India, 2016.**
- [31] **Mohamed Hamidou, Aspects épidémiologiques et immunohistochimiques des lymphomes au service d'anatomie et de cytologie pathologiques au CHU du Point-G, Faculté de Médecine et d'onto Stomatologie -Mali, Thèse ; 2013.**