

Septembre 2019



DIAGNOSTIC DES MICI* ET DU LYMPHOME

Challenge au quotidien

* MICI : maladies inflammatoires chroniques intestinales

Suzy Valentin et Jean-Charles Husson

Le lymphome est la première néoplasie digestive rapportée chez le chat. Son incidence est en progression depuis plusieurs années. Elle correspond à une infiltration intestinale lymphoïde, monomorphe, majoritairement de type « T ». Histologiquement, on différencie plusieurs types de lymphomes digestifs, et il existe plusieurs classifications utilisées actuellement. La classification la plus utilisée actuellement est celle différenciant 3 grades de lymphome digestif : bas (LBG), intermédiaire (LGI) et haut (LHG). On parle également de types (T, B, non B non T, à grands lymphocytes granuleux). Le pronostic est bon pour le LBG, réservé pour le LGI, et mauvais pour le LHG mais d'autres critères influencent le pronostic comme les répercussions clinique du lymphome ou sa localisation et son étendue au sein du tractus digestif et de la paroi digestif.

Il est souvent difficile, voire impossible, avec des données cliniques et paracliniques seules, de faire la différence entre le lymphome digestif (en particulier de bas grade) des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI). Cet article a pour objectif de faciliter au clinicien d'établir une suspicion de l'un ou de l'autre, puis d'aboutir au diagnostic, étape fondamentale afin de mettre en place un traitement approprié et de connaître le pronostic de son patient.



ÉTIOGÉNIE

A ce jour, l'état des connaissances concernant les facteurs pré-disposant les deux entités (MICI et lymphome), sont majoritairement extrapolées de données humaines. Le microbiote en lien avec le statut immunitaire de l'hôte, certains facteurs environnementaux et diététiques ont des influences diverses et majeures sur les maladies digestives.

En effet, le pool génétique microbien intestinal est plus de cent fois supérieur à celui de l'hôte, et la production de métabolites en interaction avec l'hôte est à la fois un facteur physiologique et pathogénique, à l'origine du développement ou de la progression de nombreuses maladies digestives. Ce qui déterminera le développement de toute néoplasie, relève de la pression des facteurs oncogènes sur le milieu digestif (statut rétroviral chez l'homme mais aussi chez le chat : FIV, et non FeLV), perte partielle ou totale de l'immunité anti-tumorale, et stimulations antigéniques chroniques.

Par exemple, la présence de bactéries entéro-invasives dans les vaisseaux sanguins et la séreuse de la paroi digestive lors de lymphome de haut-grade à grandes cellules était de 57 % vs 11 % lors de lymphome de bas grade et 8 % lors de MICI. (Hoene et al., 2017)

DÉMARCHE DIAGNOSTIQUE ET EXAMENS COMPLÉMENTAIRES

C'est ce tableau clinique qui guide la première ligne d'examen complémentaires : un patient présentant une diarrhée chronique avec perte de poids bénéficiera d'une coproscopie avant tout autre examen ; si cette coproscopie est négative, un changement d'alimentation est à suggérer (hyperdigestible ou hypoallergénique). Il en est de même pour les animaux présentant des vomissements chroniques. La mise en place d'une antibiothérapie est actuellement très discutée chez ces patients.

Par la suite, en l'absence d'amélioration, un bilan hématobiochimique, associé à un dosage de cobalamine et d'une thyroïdémie sont indiqués, avant de prescrire une échographie abdominale qui sera la pierre angulaire de technique de prise de biopsies digestives, permettant d'aboutir au diagnostic. On recommande également une analyse d'urines, en particulier chez les chats âgés.

- **Hématologie** : Dans un peu moins de 50 % des cas de lymphome digestif, une anémie arégénérative est présente au moment du diagnostic. Celle-ci peut être une anémie secondaire à la chronicité de la maladie, mais également une infiltration néoplasique de la moelle osseuse, des saignements digestifs ou encore une atteinte par le FeLV.
- **Biochimie** : l'hypoalbuminémie est rapportée plus fréquemment chez les patients atteints de lymphome que de MICI, c'est-à-dire dans plus de 50 % des cas
- Sont aussi parfois présents : une hypocobalamine ; une hypo ou hyperfolatémie, une hypercalcémie ionisée paranéoplasique

Malheureusement, si certaines de ces anomalies sont plus fréquentes chez les patients atteints de lymphome (hypoalbuminémie, anémie, hypofolatémie, hypocobalamine dans 70 % des cas dans une étude), elles manquent de spécificité.

Encadré 1 : Tableau clinique

L'âge moyen de diagnostic du lymphome digestif est de dix à treize ans, alors que la MICI peut se déclarer plus tôt, et touche les chats de tout âge.

Les signes cliniques de deux entités souvent présents depuis plusieurs mois et sont similaires : amaigrissement, vomissements, dysorexie, diarrhée et parfois ictère, splénomégalie, léthargie (plus fréquentes lors de lymphome). Il est à noter que la dysorexie et la perte de poids sont parfois les seuls signes cliniques rapportés. Peuvent également être rapportés du pica, un poil terne et piqué, de la polyuro-polydipsie ou un gonflement abdominal.

L'examen clinique peut, dans les deux cas, évoquer l'une ou l'autre des deux entités. Cependant, lors de palpation abdominale mettant en évidence une masse, voire même une hépato- ou splénomégalie, on pensera en priorité LGI, LHG, mastocytome, ou carcinome. En revanche, une MICI n'est pas à exclure complètement du diagnostic différentiel. A l'inverse, une palpation abdominale dite « normale » ou un épaissement intestinal diffus dans un contexte clinique évocateur est en faveur d'un LBG au même titre qu'une MICI.

- **Echographie abdominale** : certains critères peuvent, de manière non spécifique, et si l'échographie est réalisée avec une sonde à haute fréquence, orienter le diagnostic MICI versus Lymphome. Ces critères décisionnels, encore en cours d'exploration, sont : la stratification pariétale digestive, le contenu endo-luminal digestif, le péristaltisme, la présence de nœuds lymphatiques de drainage mésentérique et iléo colique de plus de 4,5 - 5mm d'épaisseur.
- **CEPENDANT !** Une échographie abdominale normale ne permet **JAMAIS** d'exclure un lymphome de bas grade !! Tout comme un épaissement diffus intestinal ne permet pas de différencier lymphome de MICI (cf. photo 1).

La répartition des lésions digestives objectivées lors de l'échographie abdominale dicte donc la technique de prélèvement des biopsies digestives : étagées *via* laparotomie exploratrice, ou per-endoscopiques. En effet, la présence de lésions échogra-



Photo 1 : Image échographique d'une lésion intestinale généralisée marquée, se manifestant par un épaissement pariétal généralisé régulier, symétrique associé à une conservation des couches échographiques et proéminence de la couche musculuse : MICI ou lymphome ?

Crédit : Suzy Valentin ?

phiques diffuses, touchant le duodénum, estomac et/ou colon oriente vers la prise de biopsies per-endoscopiques (cf. [tableau 1](#)). Il en est de même chez les patients hypoalbuminémiques chez qui la cicatrisation est considérée comme étant compromise en cas de laparotomie. Il est important de noter que lors de prise de biopsies per-endoscopiques, la WSAVA (World Small Animal Veterinary Association), et l'ACVIM (American College of Veterinary Internal Medicine) recommandent de prendre neuf à quinze biopsies par site prélevé.

En revanche, la présence de lésions localisées à la région iléo-jéjunale, et/ou une adénopathie et/ou des lésions spléniques, hépatiques ou encore l'absence de lésion échographique (ce qui n'exclut ni la présence d'une MICI, ni celle d'un lymphome, en particulier T, dont la localisation jéjunale est fréquente) oriente vers la prise de biopsies étagées par laparotomie.

Les lésions visualisées lors de la laparotomie ou de la gastroduodéno-coloscopie ne sont malheureusement pas pathognomoniques, mais peuvent être évocatrices d'un processus néoplasique. Une muqueuse gravement oedématiée, associée des fractures muqueuses est en faveur d'un lymphome, mais une MICI ne peut pas être totalement exclue (cf. [photo 2](#)).

PRÉLÈVEMENT ET TRAITEMENT DES BIOPSIES

Les biopsies digestives sont des prélèvements fragiles. Elles sont très sensibles à l'autolyse et à la dessiccation et, parfois, la simple exposition de la biopsie à la chaleur du scialytique suffit à la détériorer. C'est pourquoi il est important de procéder le plus rapidement possible à leur immersion dans le formol. L'usage de cassettes à compartiments est recommandé pour faciliter le travail de l'histotechnicien et du pathologiste. L'usage de mousses fines est conseillé avec les cassettes standards. En cas d'endoscopie par voie haute et voie basse il est impératif de séparer les biopsies du duodénum et les biopsies de l'iléon car la distinction entre ces deux territoires par le pathologiste peut être ardue. Comme pour tout prélèvement biologique une identification correcte des prélèvements et un recueil des commentaires pertinents sont attendus.

Une fois reçues par le laboratoire d'anatomie pathologique, les biopsies fixées par le formol pendant le transport sont triées, mises en cassettes puis déshydratées et incluses en paraffine.

TABLEAU 1 : Avantages, inconvénients et indications des biopsies recueillies par laparotomie versus per-endoscopiques.

INDICATIONS DES BIOPSIES RECUEILLIES PAR LAPAROTOMIE VERSUS PER-ENDOSCOPIQUES	
LAPAROTOMIE	PER-ENDOSCOPIQUES
Visualisation de la séreuse	Voie haute : œsophage / estomac / duodénum
Biopsies d'épaisseur de paroi complète	Voie basse : colon / iléon
Localisation iléo-jéjunale accessible	Visualisation de la muqueuse
Biopsies de colon non réalisables (ou peu) Biopsie d'autres organes (NL, foie, pancréas – notamment dans les hypothèses de triades)	Biopsies plus nombreuses, mais partielles (muqueuse, sous-muqueuse), ne permettant que rarement d'évaluer l'infiltration de la musculuse dont la valeur est pronostique

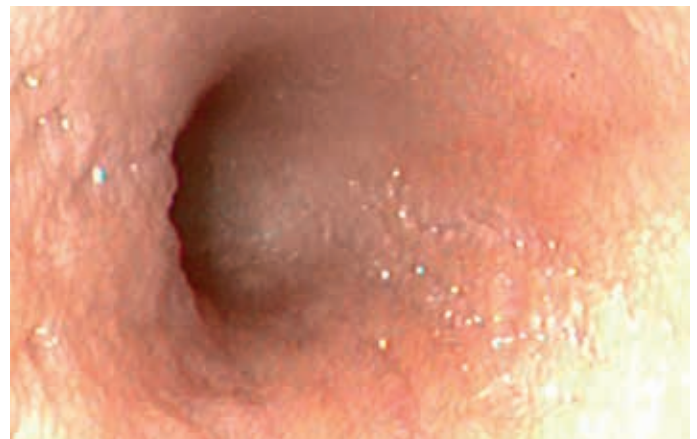


Photo 2 : Endoscopie duodénale : notez les fractures muqueuses, les abrasions villositaires et l'œdème muqueux, qui peuvent être le reflet d'une MICI ou d'un lymphome.

Crédit : **Suzy Valentin ?**

C'est à partir du bloc de paraffine qu'il est possible réaliser des sections de 4 µm qui seront ensuite déposées sur des lames de verre puis colorées. (cf. [encadré 2](#))

Encadré 2 : Traitement des biopsies

De gauche à droite et de haut en bas : biopsies réceptionnées dans une cassette simple posées sur une mousse fine, biopsies déshydratées dans une cassette à double alvéole juste avant l'inclusion en paraffine, biopsies enfermées dans le bloc de paraffine solidifié juste avant la coupe au microtome, lame histologique colorée (le produit final du processus).





LE TRAVAIL DU PATHOLOGISTE

LES CAS SIMPLES

Le travail du pathologiste repose sur l'observation et la compilation des anomalies architecturales et cellulaires et dépend du nombre, de l'origine et de la qualité des prélèvements fournis (qualité technique et représentativité). Le relevé exhaustif et systématique de toutes les lésions est un prérequis à la rédaction du compte-rendu.

Il est possible de poser des diagnostics immédiats de lymphome digestif en présence d'un lymphome à grandes cellules et/ou de haut grade (généralement B), d'un lymphome à grands lymphocytes granuleux et d'un lymphome massif ou transmural (infiltrant la sous muqueuse, voire la musculuse et au-delà) qu'il soit à grandes ou petites cellules. Cette dernière situation nécessite toutefois de disposer au moins de biopsies transpariétales.

Le pathologiste peut également s'aider d'éléments indirects sur la base de biopsies de nœuds lymphatiques mésentériques ou de biopsies hépatiques si celles-ci montrent une infiltration lymphomateuse univoque. Ces situations ne seront pas détaillées ici.

QUAND ÇA SE COMPLIQUE

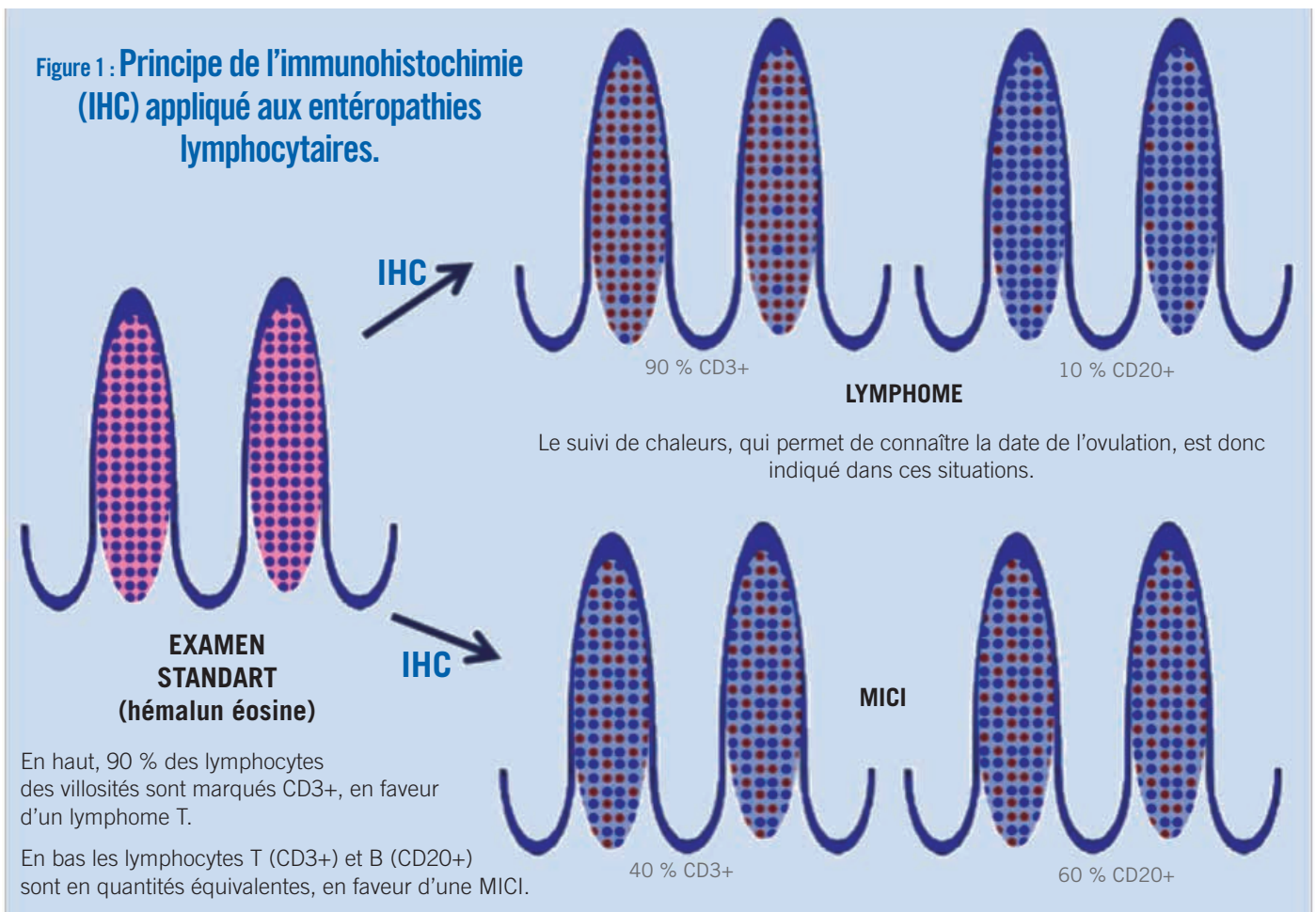
Le diagnostic se complique considérablement en présence d'une infiltration de petits lymphocytes cantonnée à la muqueuse qui relève du différentiel problématique entre LBG muqueux et MICI. Les critères de distinctions entre LBG muqueux

et MICI ont fait l'objet de plusieurs publications faisant consensus mais qui n'ont toutefois dessiné que des tendances et établi des critères à la sensibilité et à la spécificité imparfaites, laissant encore aujourd'hui la part belle à la subjectivité et à l'expérience du pathologiste. Un pathologiste sera toutefois conduit à poser un diagnostic présomptif de LBG face à une infiltration lymphocytaire diffuse de la muqueuse ou paradoxalement hétérogène en « patches » (Moore, 2012) ou selon un gradient vertical dans la muqueuse (Freiche, 2018). Le monomorphisme de l'infiltrat lymphocytaire oriente vers un lymphome alors qu'une population panachée de lymphocytes, plasmocytes et granulocytes neutrophiles et éosinophiles est plutôt évocateur d'une MICI. L'épithéliotropisme des lymphocytes est également important à relever : un épithéliotropisme soutenu ou sous la forme de nids et de plaques est un critère fort mais non absolu en faveur d'un lymphome. L'absence d'épithéliotropisme n'est en revanche pas du tout un critère d'exclusion de lymphome (Moore, 2012).

INTÉRÊT DE L'IMMUNOHISTOCHEMIE

L'immunohistochimie est la première arme du pathologiste pour asseoir de manière plus robuste un diagnostic de LBG. Dans certain cas, elle peut même contredire le diagnostic initial.

Cet examen morphologique repose sur l'application et la révélation d'anticorps ciblant spécifiquement un antigène présent dans les tissus. En l'occurrence l'utilisation d'anticorps anti CD3 et anti CD20 permet de distinguer les lymphocytes T des lymphocytes B sur une biopsie intestinale (cf. fig. 1) et ainsi,



d'apprécier leur prévalence respective au sein de la muqueuse. La présence de populations homogènes et/ou dominantes de lymphocytes T CD3+ dans la muqueuse (épithélium comme lamina propria) est un critère fort en faveur d'un LBG. Un mélange de cellules T CD3+ et de cellules B CD20+ est plutôt en faveur d'une MICI. Le schéma de la [fig. 1](#) illustre cet examen de manière très simplifiée.

Des données récentes indiquent que l'indice de prolifération Ki67 des lymphocytes peut être mesuré dans l'épithélium villositaire et la lamina propria et qu'il serait plus élevé à ces deux localisations en cas de LBG par rapport à une MICI (*Freiche, 2018*).

TEST DE CLONALITÉ

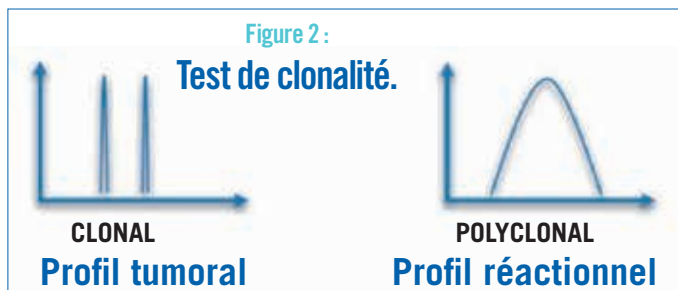
PRINCIPE DU TEST

Le test de clonalité par PCR (polymerase chain reaction) ou PARR pour « *PCR for antigen receptor rearrangement assay* » est une technique de biologie moléculaire en vogue depuis une dizaine d'année en pathologie vétérinaire mais éprouvée depuis plus longtemps en pathologie médicale.

Brièvement, il s'agit d'une PCR qui amplifie un gène spécifique aux lymphocytes T et un gène spécifique aux lymphocytes B et qui varient physiologiquement d'un lymphocyte à l'autre. La mesure de la taille des amplicons obtenus par électrophorèse permet d'obtenir un profil d'expression avec, aux deux extrêmes, des amplicons tous identiques (deux pics) ou des amplicons totalement hétérogènes (courbe en cloche) pour les deux sous-populations T et B.

Dans la première situation la population lymphocytaire est qualifiée de clonale donc, en théorie, lymphomateuse, et dans la seconde situation, elle est qualifiée de polyclonale et traduit une inflammation. Il existe évidemment des situations ambiguës !

En cas de lymphome mis en évidence par le PARR, il est en général possible d'utiliser le résultat de la clonalité pour typer le lymphome : par exemple, une population lymphocytaire clonale en T et polyclonale en B a une forte probabilité d'être un lymphome T (cf. [fig.2](#)).



SUPPORT MATÉRIEL DU TEST

En théorie un test de clonalité peut être réalisé sur tout support tissulaire, fixé ou non par le formol, qu'il s'agisse d'étalements cytologiques fixés et colorés ou de biopsies formolées et incluses en paraffine. En pratique les auteurs travaillent en collaboration avec un laboratoire de biologie moléculaire capable de réaliser le test de clonalité à partir des lames histologiques colorées envoyée directement par le laboratoire d'anatomie pathologique.

Les lames histologiques renferment en effet une fine pellicule de tissus qu'il est possible de gratter pour obtenir le matériel nécessaire à la réalisation de la PCR. Il n'existe donc pas de précautions particulières à prendre par le clinicien concernant les prélèvements eux-même. Toutefois il est conseillé au clinicien de bien indiquer dans les commémoratifs si l'animal est sous corticoïdes ou sous anti-mitotiques au moment des prélèvements car ces molécules sont susceptibles de modifier la réalisation et l'interprétation du test de clonalité.

LIMITES DU TEST

En théorie, le test de clonalité par PCR est prometteur mais en pratique, il n'est pas sans défaut. Une étude récente a en effet confirmé ce que les médecins savaient déjà depuis longtemps, à savoir que cette technique souffre d'un manque de spécificité problématique (*Marsilio, 2019*). Dans cette étude, vingt chats tout venant sans signes digestifs ont été soumis à des biopsies endoscopiques avec analyse histologique, immunohistochimie et PARR. Pour douze d'entre eux, le test de clonalité est revenu en faveur d'une population lymphocytaire clonale ! A moins de supposer que la majorité des chats asymptomatiques était atteint d'un lymphome digestif, l'étude permet d'estimer la spécificité du test à environ 50 %...

Le PARR reste toutefois intéressante mais, vu sa faible spécificité, elle ne devrait être réalisée qu'à la suite des examens morphologiques (histologie standard et immunohistochimie) en cas de forte suspicion de lymphome pour optimiser la valeur prédictive positive. *A contrario*, son excellente sensibilité le rendrait idéal dans un cadre d'une démarche d'exclusion (forte valeur prédictive négative), ce qui est toutefois rarement réalisé en pratique. On notera enfin qu'en pathologie médicale, il existe des entéropathies lymphocytaires clonales non lymphomateuses (sprue réfractaire de type II), encore non décrite en médecine vétérinaire, de quoi faire tourner la tête aux internistes et aux pathologistes !

LIMITES DES BIOPSIES ENDOSCOPIQUES

Dans le cadre d'une recherche d'un LBG, surtout chez le chat, il existe un risque important de faux négatif (ne pas détecter un lymphome alors qu'il y en a un malgré tout).

En effet, les LBG du chat se localisant préférentiellement au jéjunum, la valeur prédictive négative des biopsies endoscopiques, qui n'accèdent pas à ce segment, est imparfaite. C'est pourquoi chez le chat les recommandations sont de réaliser prioritairement des biopsies transpariétales par laparoscopie, pour éviter cet écueil. De plus les biopsies transpariétales permettent de réaliser un examen histologique et immunohistochimique dans de meilleures conditions, tant sur le plan technique que diagnostique.

Enfin, à part pour des biopsies de taille très réduite, un test de clonalité PARR est par contre toujours possible sur des biopsies endoscopiques. Le PARR peut alors constituer une solution de repli lorsque l'examen immunohistochimique ne peut (ou ne devrait) pas être réalisé pour des raisons techniques. Ce scénario implique toutefois des précautions concernant l'interprétation des résultats.



CONCLUSION

En conclusion un diagnostic histologique de LBD/MICI repose sur une étroite collaboration entre l'interniste et son pathologiste afin d'évaluer la robustesse du diagnostic présomptif après l'examen standard et la pertinence des examens complémentaires (en gardant en mémoire que ces examens impliquent des frais supplémentaires à la charge du propriétaire).

Le praticien reste quoi qu'il en soit le seul maître à bord pour confronter le résultat de l'histologie aux données clinique et adapter son traitement à chaque situation clinique (cf. fig. 3).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Freiche V et al. Histopathological and molecular characterisation of feline low-grade alimentary lymphoma vs inflammatory bowel disease : a prospective analysis of 43 cases. Communication aux Congrès Oncodays d'Alfort. Maisons-Alfort. Septembre 2018.

Kiupel M, Smedley RC, Pfent C, Xie Y, Xue Y, Wise AG, DeVaul JM, Maes RK. Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. Vet Pathol. 2011 Jan;48(1):212-22.

Marsilio S, Ackermann MR, Lidbury JA, Suchodolski JS, Steiner JM. Results of histopathology, immunohistochemistry, and molecular clonality testing of small intestinal biopsy specimens from clinically healthy client-owned cats. J Vet Intern Med. 2019 Mar;33(2):551-558.

Moore PF, Rodriguez-Bertos A, Kass PH. Feline gastrointestinal lymphoma: mucosal architecture, immunophenotype, and molecular clonality. Vet Pathol. 2012 Jul;49(4):658-68.

Figure 3 : Algorithme diagnostique pour différencier un lymphome intestinal félin d'une maladie inflammatoire chronique de l'intestin sur des biopsies chirurgicales de l'intestin grêle (Kiupel, 2011)

