

EEQ Hématologie 2021

47 inscriptions
47 participants (*44 en 2020*)
sur ~50 labos francophones (88%)

Geneviève Ameye
Sophie Cotteret
Nathalie Douet-Guilbert
Steven Richebourg
Isabelle Luquet

Visioconférence, GFCH

3 février 2022

Cas clinique

- **Clinique**

Homme de 87 ans adressé pour suspicion de lymphome.

- **NFS :**

GB: 10 G/L, Hb : 9.2 g/dL, VGM: 94 fL, Plq: 86 G/L

PNN: 2.73 G/L, PNE : 0.26 G/L, PNB : 0 G/L, lymphocytes: 1,54 G/L, monocytes: 0.35 G/L

- **Myélogramme :**

Densité cellulaire grade 3, présence mégacaryocytes non dystrophiques.

Lignée érythroblastique: 27%, lignée granuleuse neutrophile: 41%, lymphocytes: 28%, monocytes : 3%.

Commentaires : Absence de dysplasie sur les lignées myéloïdes. On note la présence de lymphocytes atypiques de taille moyenne, avec un rapport nucléocytoplasmique élevé, un noyau très irrégulier cabossé ou parfois encoché et une chromatine mature légèrement décondensée présentant parfois un nucléole.

Conclusion : aspect morphologique en faveur d'un infiltrat lymphomateux.

- **Immunophénotypage sur moelle:**

CD3 : 51% (CD3/CD4 28%, CD3/CD8 23%), CD3-/CD56+(NK) : 20%, CD19 : 29%, CD19/CD5 : 28%, CD19/CD10 : 1%, CD19/CD20 : 29%, CD19/CD23: 3%, CD19/CD43 : 4%, CD19/CD79 : 29%, CD19/FMC7 : 29%, CD19/Kappa : 29%, CD19/Lambda : 0%.

Score = 1, élément positif du score = CD5

Conclusion : Prolifération B d'allure monoclonale dont le phénotype est en faveur d'un lymphome.

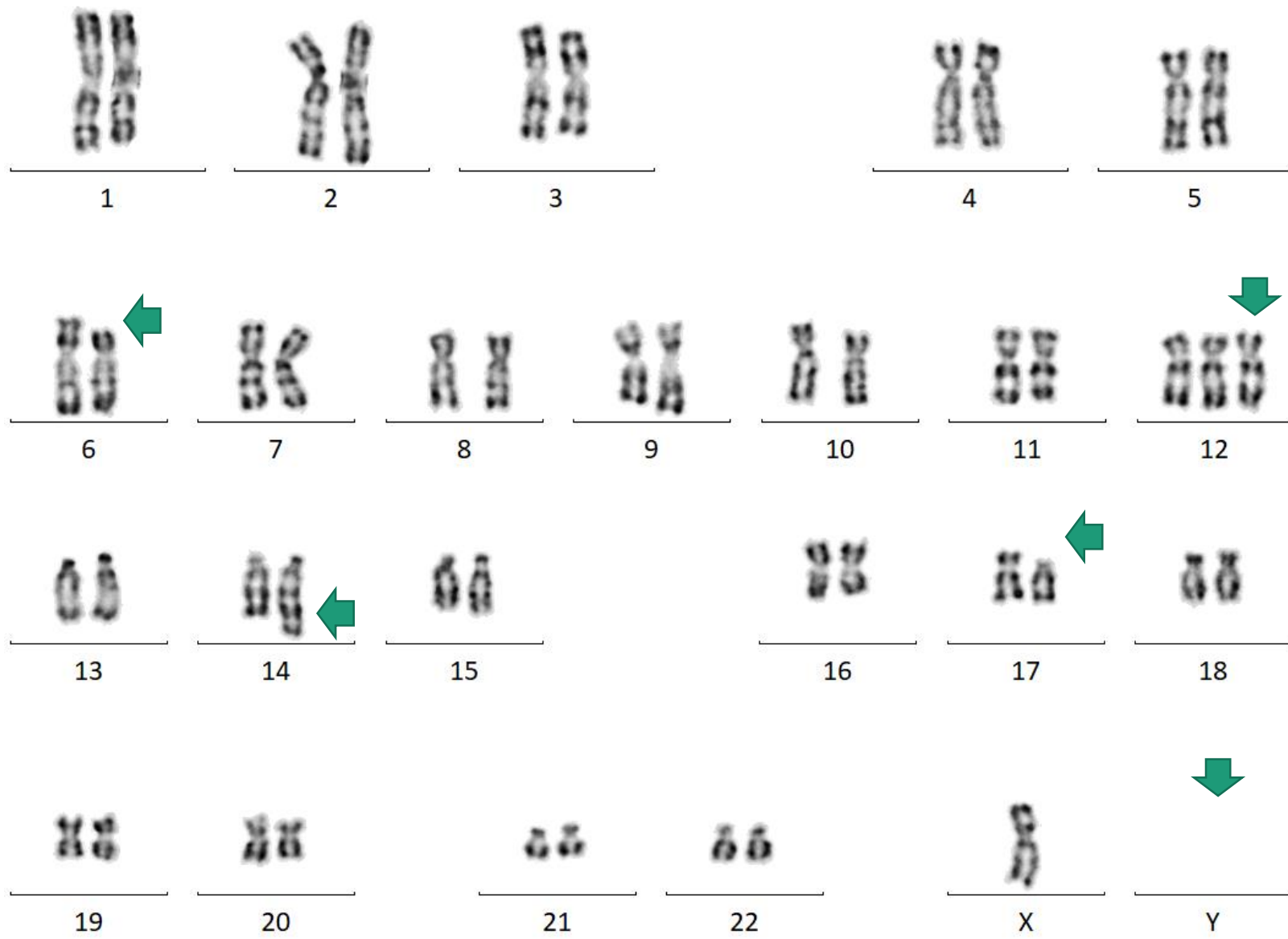
- **Caryotype :**

Tissu : moelle

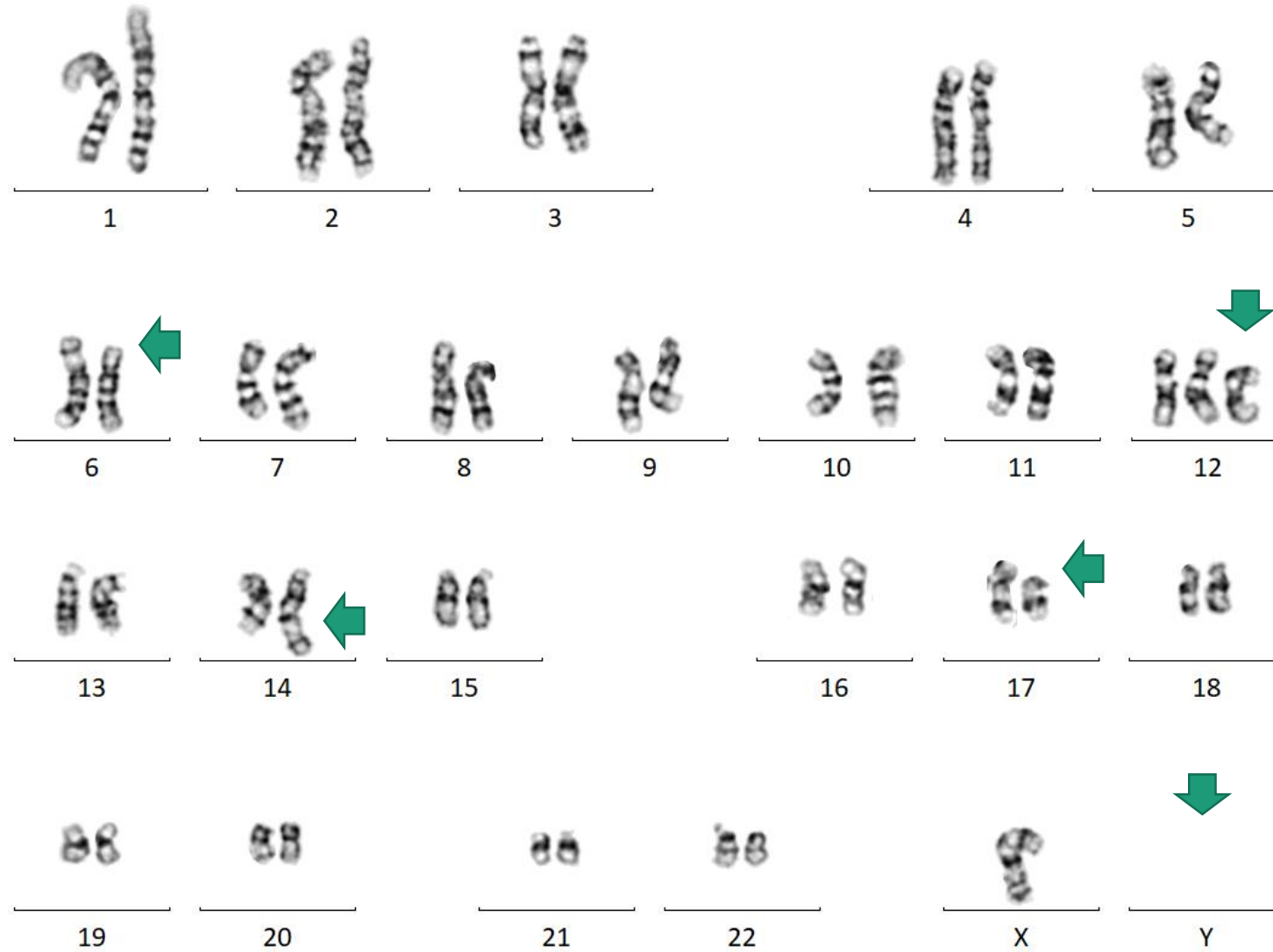
Culture : 72h avec prémix

Dénaturation : RHG et GTL

Mitose R



Mitose G



Grille de notation

Points sur 20 :

Partie FISH	2,00
malus si choix sonde inapproprié	
Partie descriptive	6,25
formule juste et bien écrite (ISCN 2020)	4,00
description (conclusion)	2,25
Partie analytique	5,00
détection des anomalies	
Interprétation	3,75
possibilité de malus sur le pronostic	
Classement	3,00
malus si non respect des consignes	

Questionnaire :

Informations générales (non notées)

Difficultés à importer les images :

2/47 labos

Difficultés à exporter les images :

0/47 labos

Nombre mitoses analysées :

10 pour 46/47 centres

5 pour 1 centre

Nombre de caryotypes établis :

10 pour 46/47 labos

5 pour 1 centre (pratique limitée aux bandes R mais envoi de 3 fois le même caryotype en bandes G ???)

Rappel : création en 2018 d'un

malus de -0,5 au cas où moins de 10 mitoses sont analysées

(pas forcément caryotypées)

→ TOUJOURS analyser les 10 mitoses !

Partie FISH (2 points)

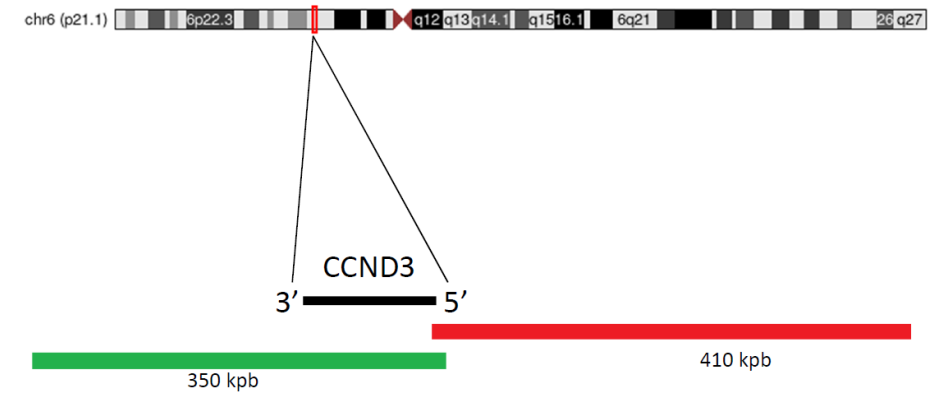
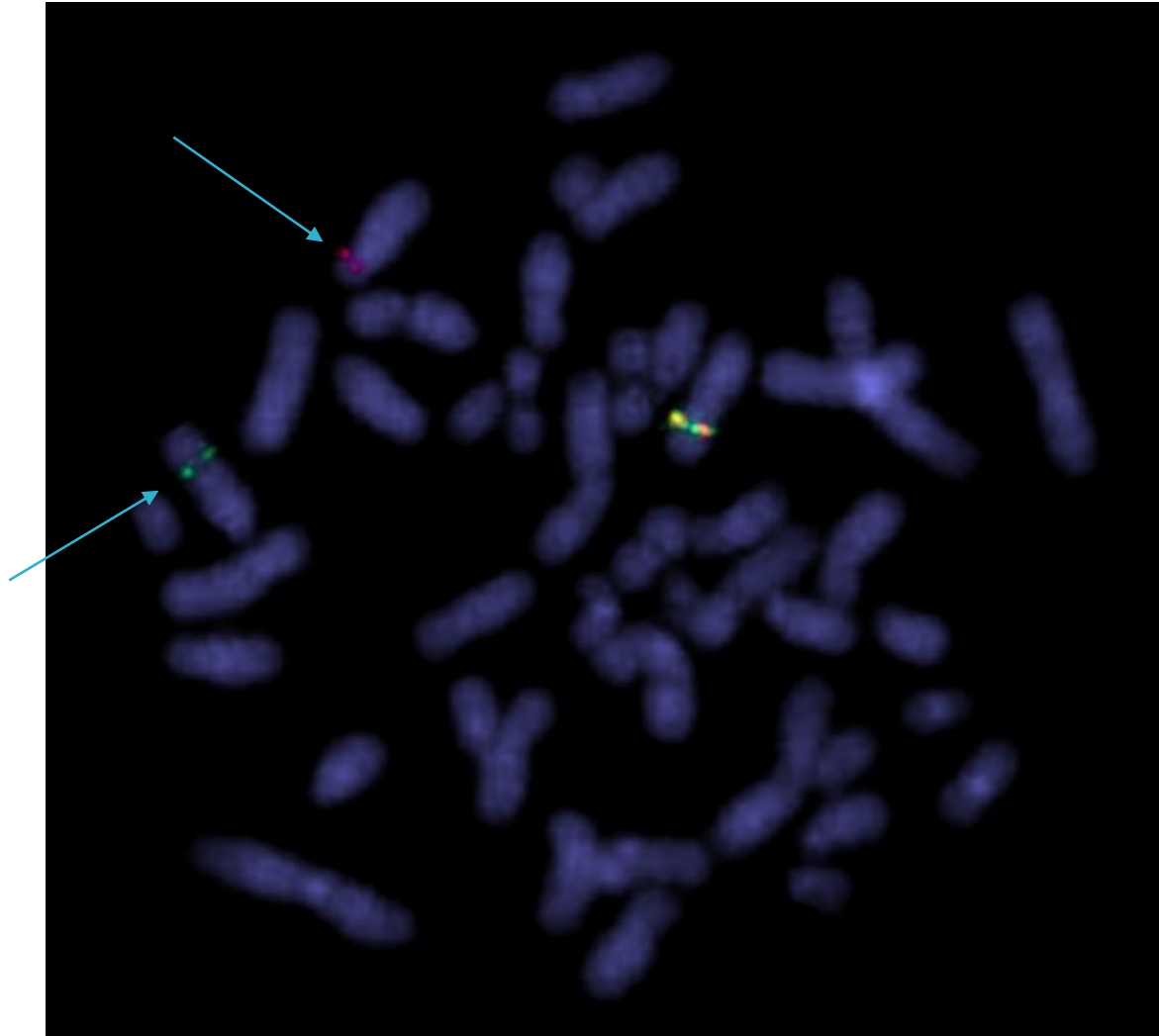
FISH nécessaire (non noté)

- Oui 44/47
- Non 3/47

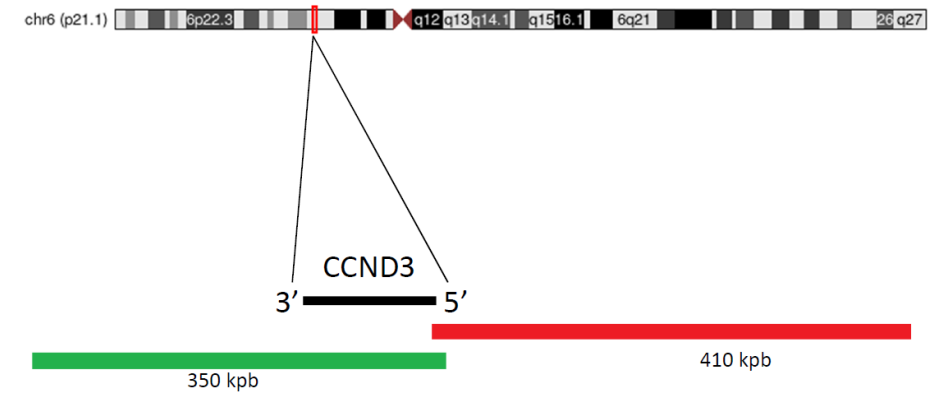
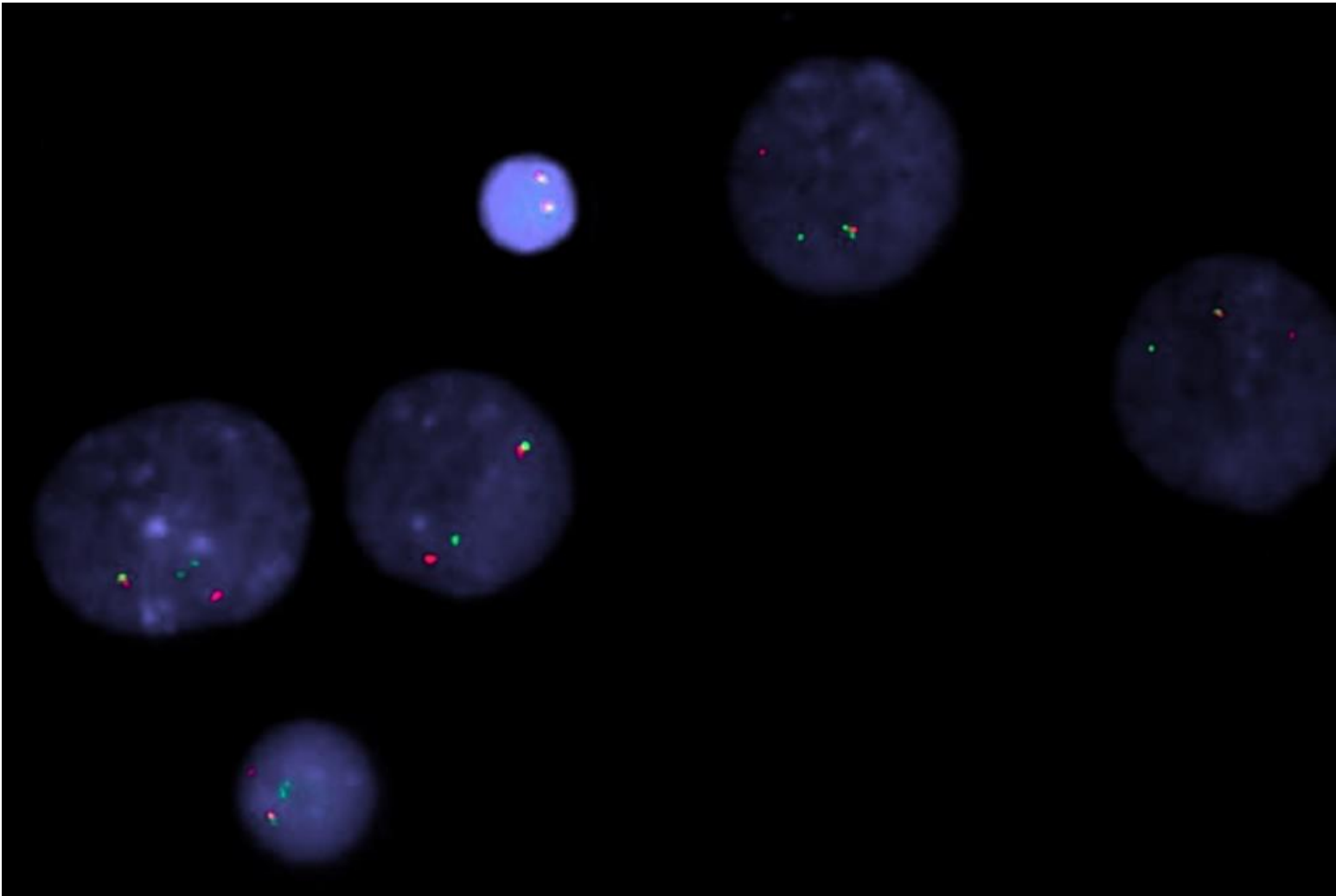
Choix de la sonde (1 point) (*malus possible : -0,5*)

- **CCND3** 20/47
- **CCND3** et TP53 10/47
- **CCND3**, IGH et TP53 8/47
- **CCND3** et IGH 6/47
- CCND2, TP53 et **CCND3** 1/47
- **CCND3**, TP53 et peinture 6 & 17 1/47
- **CCND3**, TP53 et MYC 1/47

FISH



FISH



Justification FISH cohérente (1 point)

FISH nécessaire « OUI » :

- Nécessité de préciser l'anomalie observée
- Préciser l'anomalie + Absence d'anomalie spécifique
- Valeur pronostique
- Discordance avec la présentation clinico-biologique

44/47

41/44

1/44

1/44

1/44

FISH nécessaire « NON » :

- Anomalie spécifique
- Anomalie spécifique + qualité suffisante pour conclure

3/47

2/3

1/3

Au total cohérence pour : 45/47

Formule attendue

46,X,-Y,t(6;14)(p21;q32),+12,del(17)(p11)[10].ish t(6;14)(5'CCND3+;3'CCND3+)
[2].nuc ish(CCND3x2)(3'CCND3 sep 5'CCND3x1)[11/17]

ou

46,X,-Y,t(6;14)(p21;q32),+12,add(17)(p11)[10].ish t(6;14)(5'CCND3+;3'CCND3+)
[2].nuc ish(CCND3x2)(3'CCND3 sep 5'CCND3x1)[11/17]

ISCN 2020 écriture alternative :

46,X,-Y,t(6;14)(p21;q32),+12,del(17)(p11)[10]
ish t(6;14)(5'CCND3+;3'CCND3+)[2]
nuc ish(CCND3x2)(3'CCND3 sep 5'CCND3x1)[11/17]

Partie descriptive

(6,25 points)

Justesse de la formule

(3 points)

Caryotype

(1 point)

FISH métaphasique

(1 point)

FISH interphasique

(1 point)

Ecriture de la formule

(1 point)

Règles ISCN 2020

Conclusion : partie descriptive

(2,25 points)

Justesse (/3 points)

Caryotype (1 point) :

-Y :	0,25 point
t(6;14) :	0,25 point
+12 :	0,25 point
del(17)(p11) ou add(17)(p11) (<i>idem p11.2</i>) :	0,25 point

OK : 41/47

translocation variante avec matériel suspecté en 6p <u>et</u> perte 17p (non pénalisé) :	1/47
translocation variante avec matériel suspecté en 6p <u>sans</u> perte 17p (-0,25) :	2/47
del(17)(p10) ou del(17)(p1?0) (-0,25) :	2/47
del(17)(q11.1) (-0,25) :	1/47

Justesse (/3 points)

FISH métagasique (1 point) :

Erreur 5'/3' : -0,5

Pas noté 5'/3' : -1

OK :

44/47

5'CCND3+ non mentionné dans la formule (-0,5)

1/47

ish écrit de la même façon que nuc ish (sepx1) (-1)

1/47

3' et 5' renseignés après le gène (au lieu de 5'CCND1...) (-0,5)

1/47

Justesse (/3 points)

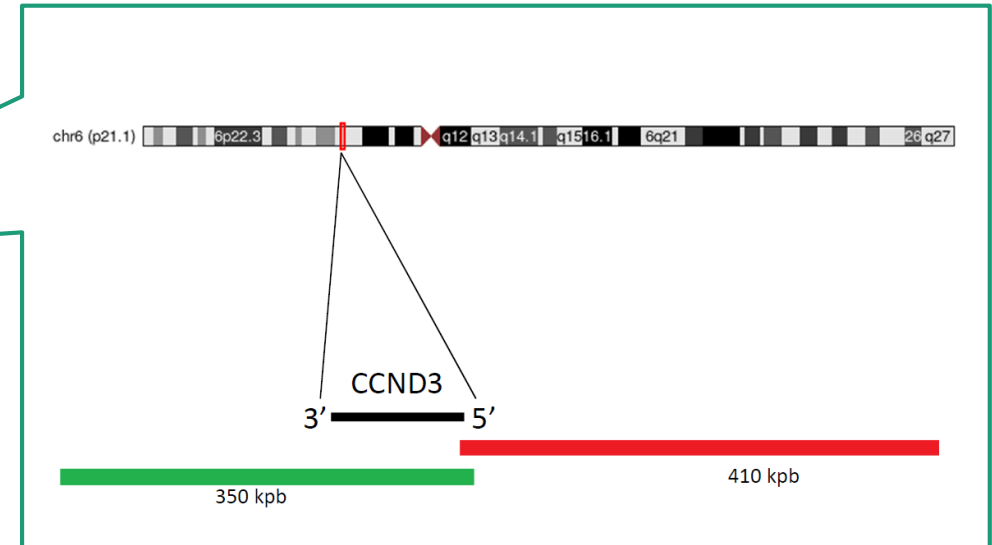
FISH interphasique (1 point) :

OK :

36/47

erreur sens 5'/3' = -0,5

10/47



Ecriture (/1point)

Erreurs remarquées

Caryotype :

- Formule longue incorrecte 2/47
- 1/10 mitose non décrite 1/47
- del interstitielle : points de cassure intervertis 4/47
- pter (ne s'utilise qu'en formule longue) 1/47
- 47 chromosomes 1/47
- Nombre de mitoses non renseigné 1/47

pter vers qter cf. ISCN 2020 p61

FISH métaphasique :

- Hypothèse t variante avec FISH décrite sur 2 des 3 der 2/47

FISH interphasique :

- con au lieu de sep 1/47
- Espace surnuméraire après nuc ish 2/47
- x1 manquant 3/47

cf. ISCN 2020 p121

cf. ISCN 2020 p121

Partie analytique (5 points)

Anomalie critique détectée (3 points) : 47/47

Autres anomalies détectées (2 points) : 43/47

t à 3 voies équilibrée (pas de perte 17p) (-1) 2/47

del(17) autre que p11 ou p11.2 1/47

add(6)(q25) 1/47

Conclusion

Partie descriptive selon les principes notation CQE (2,25 points)

La conclusion devait comporter :

Pour le caryotype :

- Nombre de mitoses analysées (0,25) : 44/47
- Nombre de mitoses anormales par clone (0,25) : 44/47
- Nombre modal de chaque clone (0,25) : 45/47
- Description en toutes lettres des anomalies avec points de cassure et bras courts ou longs (0,5) : 43/47

Pour la FISH :

- Type de sonde utilisée (0,5) : 41/47
- Nombre de métaphases analysées (0,25) : 43/47
- Nombre de noyaux analysés (0,25) : 43/47

Partie interprétation (3,75 points)

✓ Conclusion claire (1 point) :	45/47
✓ Gènes impliqués (1 point) :	47/47
CCND3 cité mais pas toujours IGH	2/47
✓ Diagnostic et compatibilité (1 point) :	46/47
✓ Pronostic correct (0,75 point) :	31/47
ne peut être établi	2/47
complexité non évoquée (TP53 péjoratif)	6/47
complexité évoquée mais pronostic non déterminé (articles)	2/47
pronostic manquant	4/47
pronostic intermédiaire en raison de la t(6;14)	1/47
pronostic sans rapport avec la complexité (diagnostic de LZM)	1/47

Pronostic (/0,75)

« **Défavorable** » = 0,5

« défavorable » en lien avec **complexité** (ou article acceptable) = 0,25

Caryotype complexe = translocation t(11;14) + ≥ 3 anomalies

La valeur pronostique de la complexité associée à une translocation n'impliquant pas CCND1 n'est pas clairement établie dans la littérature.

Aucun point n'a été retiré si la discussion était assortie d'un raisonnement cohérent ou de références ad hoc.

Voir:

[Sarkozy et al., Genes Chromosomes Cancer 2014](#)

Nombreuses anomalies associées à la t(11;14) (60% des patients > 3 anomalies)

Caryotype complexe associé à une survie globale inférieure ainsi qu'une survie sans traitement inférieure indépendamment du sous-type morphologique et du score MIPI.

[Greenwell et al., Cancer, 2018](#)

Caryotype complexe associé à une survie globale inférieure

Valeur pronostique indépendante des autres paramètres (MIPI, Ki67)

[Martin-Garcia et al., Blood, 2019](#)

suggère un profil d'expression et des survies globales identiques au groupe à t(11;14) classique (95% des MCL)

Dans les MCL CCND1-négatifs = **93%** sont CCND2+ (70%) ou CCND3+ (23%) – **7%** : CCNE1+ ou CCNE2+

CCND2+ (IGK 55%, IGL 13%) / CCND3+ (IGK – IGL identiques – 50%)

Ex. Conclusion

Toutes les mitoses analysées (n=10) présentent un caryotype pseudodiploïde sous forme d'un seul clone avec 4 anomalies clonales :

- une perte de l'Y
- une translocation entre les bras courts d'un 6 (bande 6p21) et les bras longs d'un 14 (bande 14q32) : t(6;14)(p21;q32)
- une trisomie 12
- une délétion des bras courts d'un 17 : del(17)(p13p11)

La translocation t(6;14)(p21;q32) qui implique les gènes *IGH* (14q32) et *CCND3* (6p21) est caractéristique des lymphomes B à cellules du manteau (LCM), ce qui est compatible avec les données clinico-biologiques (lymphome B score 1 de Matutes CD5+/CD23-).

L'implication du gène *CCND3* a été confirmée par FISH avec une sonde de séparation *CCND3* dans 2/2 mitoses analysées et dans 11/17 noyaux analysés.

La juxtaposition de l'enhancer du gène *IGH* à proximité du gène *CCND3* (*IGH::CCND3*) entraîne l'hyperexpression du gène *CCND3*.

De plus, ce caryotype est complexe (4 anomalies clonales), ce qui est un facteur de pronostic défavorable dans les LCM. La délétion 17p, anomalie fréquemment associée aux caryotypes complexes dans les LCM, pourrait entraîner une délétion du gène *TP53*, ce qui pourrait influencer la prise en charge thérapeutique.

Classement de caryotypes (3 points)

Consignes :

- ✓ 2 caryotypes de chaque clone anormal
- ✓ 1 caryotype sans anomalie (s'il y en a)

Ici : clone anormal dans 10/10 → 2 caryotypes

Soit 1,5 point/caryotype

La phrase visible sur le site était source d'ambiguïté.
Elle sera modifiée.

Rappel :

2 caryotypes par clone anormal,
même si le clone comporte une monosomie (clonale si ≥ 3 mitoses)

Classement de caryotypes (3 points)

Non respect consignes :

13/47 (malus -0,5)

3 caryotypes envoyés : 10/13

10 caryotypes envoyés : 1/13

4 caryotypes envoyés : 1/13

1 caryotype envoyé : 1/13

La phrase visible sur le site était source d'ambiguïté.
Elle sera modifiée.

nb de caryotypes envoyés $\neq$ 2

- Si >2 , seuls 2 premiers regardés (risque de non respect des consignes)
- Si nombre de caryotypes envoyés $\neq$ 2 mais en cohérence avec la formule chromosomique, tous les caryotypes sont regardés et pas de malus

Classements justes (1,5 point / caryo)

46/47

un centre avec 3x la même mitose et sur cette mitose inversion du sens des 1 et des 20

Notes (/20)

✓ Moyenne globale : **18,84**

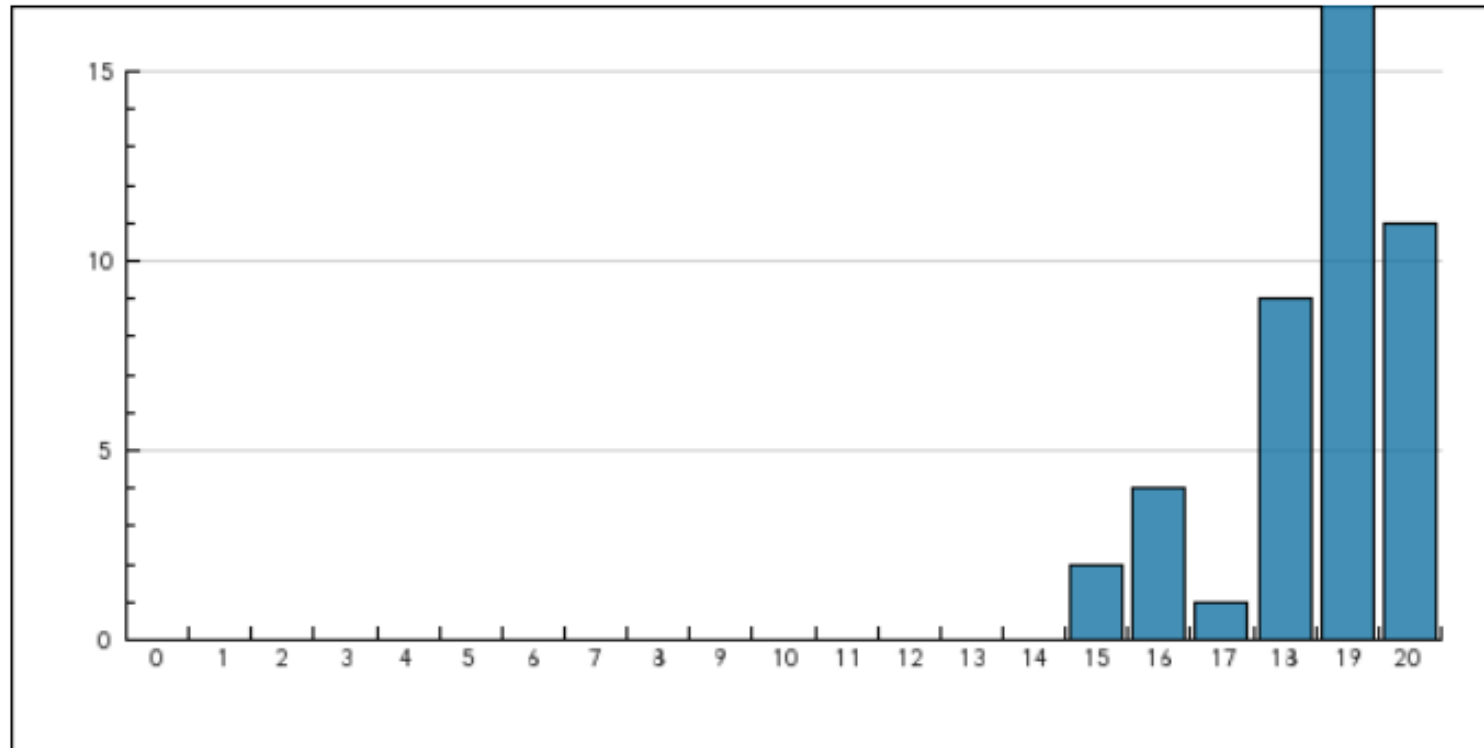
Groupe 1 : **18,91** Groupe 2 : **18,76**

✓ Médiane : **19,25**

✓ Min : **15,25**

✓ Max : **20**

Répartition des notes



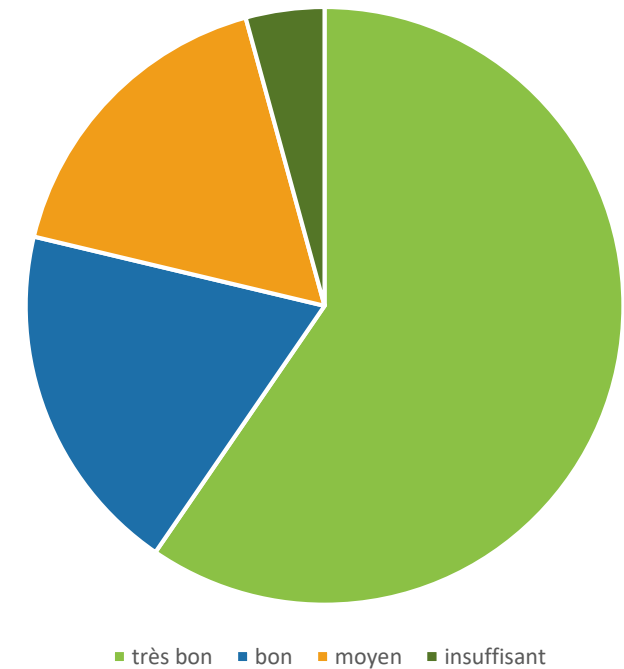
Synthèse Globale

Appréciation :

Catégories établies par les experts en fonction de la distribution des notes :

Très bon	>19	28 dossiers
Bon	>18 ≤19	9 dossiers
Correct	>16 ≤18	8 dossiers
Insuffisant	≤16	2 dossiers

Notes EEQ 2021



Justification de l'interprétation des notes

Très bons dossiers : >19 (28 dossiers)

Critères : identification de toutes les anomalies, diagnostic et pronostics conformes, absence d'erreur majeure dans la formule

Bons dossiers : $>18 \leq 19$ (9 dossiers)

Critères : identification de toutes les anomalies, diagnostic et pronostic conformes, présence d'erreur(s) dans la formule

Dossiers corrects : $>16 \leq 18$ (8 dossiers)

Critères : erreur sur la formule et/ou conclusion incomplète ou comportant une erreur sur le diagnostic ou le pronostic

Dossiers insuffisants : ≤ 16 (2 dossiers)

Critères : conclusion très incomplète et malus sur les caryotypes

N.B.:

Catégorie « **très insuffisants** » réservée aux cas où l'anomalie primaire n'est pas vue

Rappel : Critères de mauvaise performance

Alertes de performance :

- inscription mais non soumission
- ou dossier noté très insuffisant (critères déterminés pour chaque EEQ)

Mauvaise performance :

= 2 alertes sur 3 années consécutives → mail du COPIL

N.B.: Chaque laboratoire est sensé faire l'analyse de son résultat et juger s'il est en conformité avec la norme ISO 15189.

Droits de réponse

4 droits de réponses ont été examinés

✓ Note : 16.25

t(6;14;?17) → perte de points en cascade + malus caryotype (3)

Le malus sera enlevé mais les autres points ne seront pas modifiés car si doute sur l'interprétation d'une anomalie possibilité de formule avec les 2 interprétations possibles

✓ Note : 17.25

t(6;14;17) → droit de réponse expliquant les doutes en l'absence de FISH avec sonde TP53

Les points ne seront pas modifiés car si doute sur l'interprétation d'un' anomalie possibilité de formule avec les 2 interprétations possibles

✓ Notes : 19,5 et 16,5

Droits de réponse en lien avec le malus concernant le nombre de caryotypes envoyés

Le malus sera retiré en raison de l'ambiguïté de la phrase présente sur le site de l'EEQ

Recommandations pour établir le caryotype

Le dossier-image à analyser comporte 10 mitoses (5 RHG et 5 GTG). Après avoir établi le caryotype de ce dossier, vous devez remplir le formulaire de réponse en ligne et envoyer les caryotypes choisis **au format JPEG**.

Vous devez envoyer des caryotypes pour chaque clone détecté (2 caryotypes si anomalie de structure ou gain chromosomique, 3 caryotypes si perte chromosomique) et 1 caryotype sans anomalie, si il y en a.

Le non respect de ces consignes sera pénalisé

Intérêt du cas

- ✓ Importance de se référer aux données cytologiques et immunologiques
- ✓ Translocation variante dans le cadre du lymphome du manteau
(environ 95% CCND1/11q13, environ 2% (55-70% des CCND1 négatifs) CCND2/12p13, environ 1% (23% des cas CCND1 négatifs) CCND3/6p21)
pourcentage variable en fonction de la technique utilisée (FISH, Immunohistochimie, RT-PCR, profil d'expression génique)
Swerdlow SH et al, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues Revised 4th Edition, Volume 2
Martín-García D et al, CCND2 and CCND3 hijack immunoglobulin light-chain enhancers in cyclin D1⁻ mantle cell lymphoma
Blood. 2019 Feb 28; 133(9): 940–951.
Salaverria et al, CCND2 rearrangements are the most frequent genetic events in cyclin D1(-) mantle cell lymphoma. Blood. 2013 Feb 21;121(8):1394-402
- ✓ ISCN
Sens d'écriture de la FISH interphasique (pter→qter) : attention à l'**orientation du gène sens ou antisens**
- ✓ Valeur pronostique doit être précisée avec références biblio si non consensuelle

BILAN 2021

0 alerte de performance par rapport aux notes (anomalie critique non identifiée).

2021 Très bons résultats dans l'ensemble :

- 37 bons et très bons dossiers (soit 78,7% des participants)
- 8 dossiers jugés corrects (17%)
- 2 dossiers jugés insuffisants (4,3%)

Grille de correction bien préparée puis révisée à partir de la phase préliminaire de correction (notamment concernant le détail de points pour l'évaluation du pronostic)

Présence de dossiers avec translocation variante non anticipée lors de la préparation de la grille de correction (application de la grille en l'état avec discussion entre experts pour "décortiquer" les points à soustraire)

Nombre inhabituel de centres ayant soumis 3 caryotypes, probablement en raison de consignes ambiguës (révision prévue)

Rappels de consignes (1)

EEQ Onco-Hématologie = Caryotype + FISH

→ Il doit y avoir une sonde ou des sondes avec des images à analyser

- ✓ Répondre sur les 10 mitoses, qu'elles soient classées ou analysées
- ✓ Possibilité de sélectionner plusieurs sondes FISH (cf. mode d'emploi)
- ✓ Après le choix par OUI ou par NON de la réalisation de la FISH, ne justifier que votre choix par un ou plusieurs items
- ✓ Répondre sur toutes les images FISH (mitoses et noyaux)

Rappels de consignes (2)

Consignes du nombre de caryotypes à envoyer pour l'EEQ :

→ 2 par clone pathologique

→ 1 normal s'il y en a

Ex : 45,XY,-7[3]/46,XY[17]

= 2 caryotypes -7 + 1 caryotype sans anomalie à envoyer

Possibilité d'envoyer des caryotypes en bandes R et/ou G

Experts pour l'EEQ annuel

- 2021 : Geneviève Ameye - Sophie Cotteret
+ Nathalie Douet-Guilbert - Steven Richebourg
- 2022 : Nathalie Douet-Guilbert - Steven Richebourg
+ Emilie Klein - Nassera Abermil ou JB Gaillard
- 2023 : Emilie Klein -Nassera Abermil ou JB Gaillard
+ Nassera Abermil ou JB Gaillard + ?