



COLLOQUE  
**ATC**

ASSOCIATION DES TECHNICIENS  
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30  
SEPTEMBRE  
2022

Centre de Rencontres  
Internationales et de Séjour

**DIJON**



# Evolution de la prise en charge du myélome multiple au laboratoire Eurofins-Biomnis

Amandine ISSERT - Mercedes ROUMIGUIERES -  
Département d'Hématologie Cellulaire et de Cytogénétique Acquise

# Sommaire

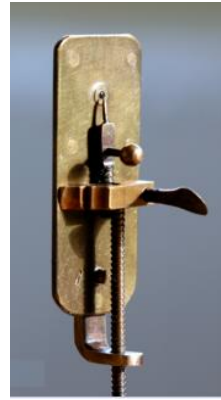
---

- Un peu d'histoire
- Le myélome multiple au laboratoire Eurofins-Biomnis
- Approche cytologique
- Approche cytogénétique conventionnelle
- Approche immunophénotypique
- Approche cytogénétique moléculaire
- Prise en charge de Mr Jay UNMYELOME au laboratoire en 2010 et 2022



# Un peu d'histoire

# Evolution de la microscopie



1867

1879

1960



**Zacharias Janssen**  
1588-1631



**Anton Van Leeuwenhoek**  
1632-1723



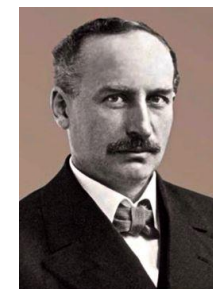
**Karl Zeiss**  
1816-1888



**Ernst Abbe**  
1840 -1905

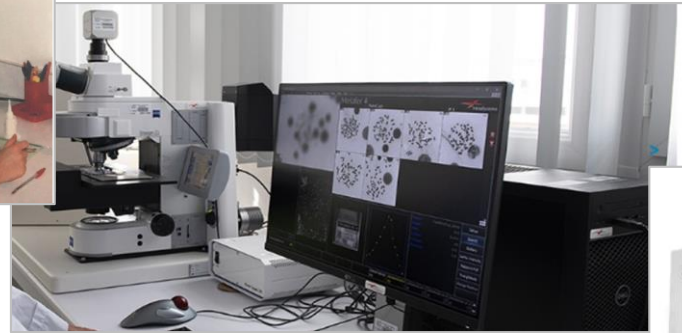


**Otto Schott**  
1851-1935



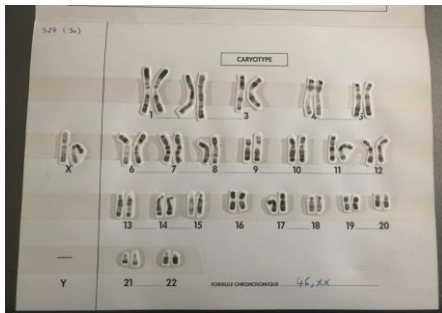
**Ernst Leitz**  
1871-1956

# Evolution de la microscopie en Cytogénétique



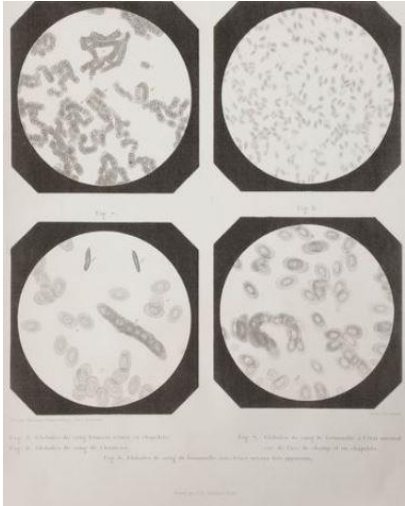
Microscope avec caméra  
reliée à une imprimante

MetaSystem  
Metafer



Leica  
GSL 120

# Quelques dates clés en cytologie



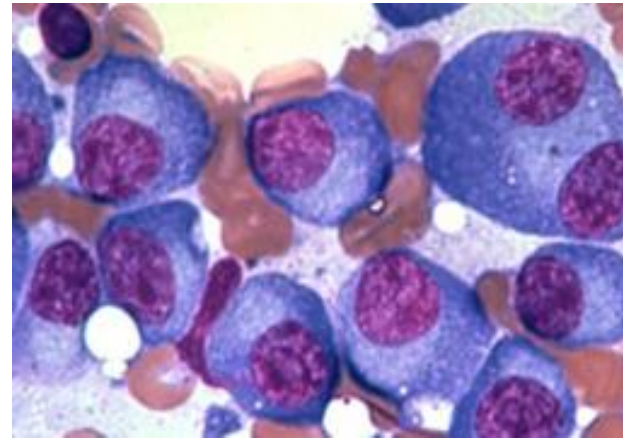
1<sup>er</sup> atlas de  
photomicrographies

Donné et Foucault  
1845



1<sup>er</sup> « myélogramme »  
d'un MM

Macintyre et Watson  
1848



Coloration en  
hématologie cellulaire

May – Grünwald - Giemsa  
1879- 1908



Trocart

Mallarmé  
1935

# Les grands noms du Myélome

---



**Otto KHALER**  
1849-1893

Description de la  
maladie de KHALER



**Sydney SALMON**  
1936-1999

Classification de Salmon et Durie



**Brian G.M. DURIE**  
1942



**Daniel E. BERGSAGEL**  
1925-2007

1<sup>er</sup> traitement :  
Melphalan + prédnisone

# Quelques sociétés savantes et associations



SFH en 1931



GFCH en 1978



ACLF en ?



CYTHEM



ATC en 1990



GFHC en 1990



# Quelques sociétés savantes et associations

---



- 1931 : Société française d'hématologie - SFH



- 1978 : Groupe Francophone de Cytogénétique Hématologique - GFCH



- Association des Cytogénéticiens de Langue Française – ACLF



- 1990 : Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire – GFHC



- 1990 : Association des Techniciens en Cytogénétique – ATC



- 1990 : Association Française de cytométrie - Cythem



# Le myélome multiple au laboratoire Eurofins-Biomnis

# Réception des échantillons au laboratoire

Lames étalées pour le myélogramme

Tube EDTA pour l'immunophénotypage

Tube héparine-lithium pour la cytogénétique

Renseignements cliniques + bilan biologique

Si nous recevons uniquement l'étude cytogénétique, le correspondant doit nous fournir à minima le résultat du myélogramme + bilan des protéines.



# Prescription type

## Analyses biologiques ce jour porte 6

- NFS plaquettes + reticulocytes
- Myelogramme + Cytogenetique Myelome et Cytométrie en Flux
- Créatinine, calcémie, acide urique
- LDH
- Electrophorèse des protéines sériques + IF
- Dosage de chaînes légères sériques K et L : freelite
- Dosage Ponderal des Ig A,G,M
- B2 microglobuline

## COMPLÉMENT D'INFORMATIONS CLINIQUES

- diagnostic de Myelome avec protéines de chaîne  $\lambda$   
et 6% de plasmocytes atypiques

- AEG et refait

(Bola Uygur SVP)

# Prescription type et renseignements cliniques

## Analyses biologiques ce jour porte 6

- NFS plaquettes + reticulocytes
- Myelogramme + Cytogenetique Myelome et Cytométrie en Flux
- Créatinine, calcémie, acide urique
- LDH
- Electrophorèse des protéines sériques + IF
- Dosage de chaînes légères sériques K et L : freelite
- Dosage Ponderal des Ig A,G,M
- B2 microglobuline

## COMPLÉMENT D'INFORMATIONS CLINIQUES

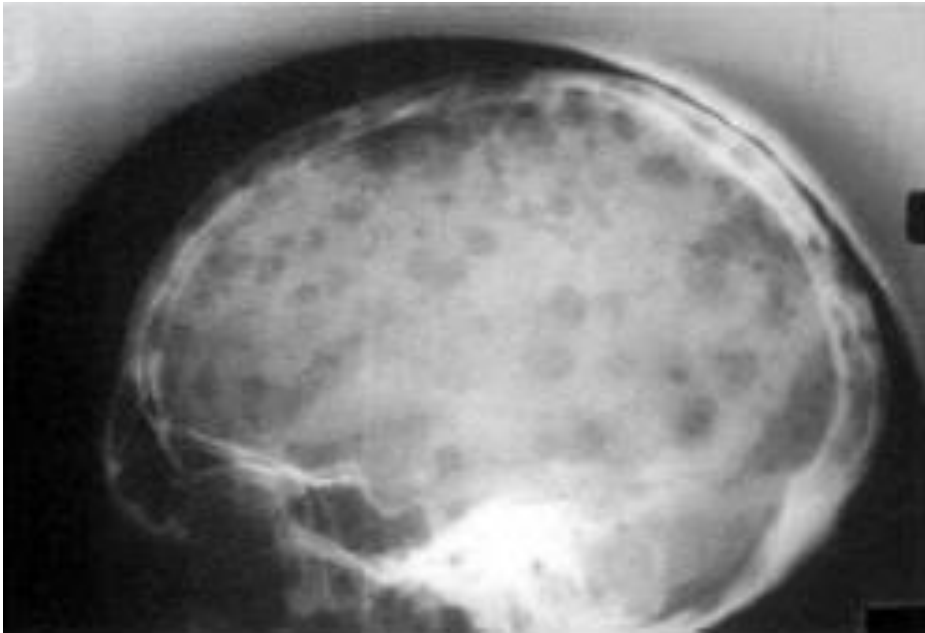
- diagnostic de Myelome avec protéines de chaîne  $\lambda$   
et 6% de plasmocytes atypiques.

- AEG et refait

(Bola Uygur SVP)

## Autres renseignements cliniques fréquents

# Prescription type et renseignements cliniques



**Autres renseignements cliniques fréquents :**

**lacunes osseuses, tassement vertébral**

**Suspicion de myélome ++**

# Numération formule plaquettes sanguine

## EXAMENS DE SANG

### NUMERATION GLOBULAIRE

(1)(SYSMEX - XM)

Validé techniquement sous la responsabilité d'un bio.

GLOBULES ROUGES	*	<b>3,68</b>	M/mm <sup>3</sup>	4,08	-	5,60
Hémoglobine	*	<b>12,3</b>	g/dl	12,9	-	16,7
Hématocrite	*	<b>36,6</b>	%	38,0	-	49,0
Volume Globulaire Moyen	*	<b>99,5</b>	fl	83,0	-	97,0
T.C.M.H.		<b>33,4</b>	pg	27,8	-	33,9
C.C.M.H.		<b>33,6</b>	g/dl	32,3	-	36,1
I.D.R. (RDW-CV)		<b>14,2</b>	%	INF. A	-	15,0
Morphologie des Hématies			Rouleaux des hématies			
GLOBULES BLANCS		<b>6320</b>	/mm <sup>3</sup>	3800	-	10000

### FORMULE LEUCOCYTAIRE

(1)(SYSMEX - XM)

Validé techniquement sous la responsabilité d'un bio.

Polynucléaires neutrophiles		<b>41,0</b>	%	2591		1600	-	5900
Polynucléaires éosinophiles		<b>2,0</b>	%	126		30	-	500
Polynucléaires basophiles		<b>1,0</b>	%	63		INF. A	-	90
Lymphocytes		<b>39,0</b>	%	2465		1070	-	4100
Monocytes	*	<b>13,0</b>	%	822		230	-	710
Plasmocytes	<b>rare</b>	*	<b>4,0</b>	%	253	INF. A	-	1

### \*\* COMMENTAIRE EXAMEN \*\*

Formule lue au microscope

### PLAQUETTES

(1)(SYSMEX - XM)

Validé techniquement sous la responsabilité d'un bio.

Numération des Plaquettes		<b>172</b>	x1000/mm <sup>3</sup>	140	-	385
Morphologie des Plaquettes			Normale			
VMP des Plaquettes		<b>10,6</b>	fl	7,4	-	10,8

### TAUX DE RETICULOCYTES

(1)(SYSMEX - XM)

Validé techniquement sous la responsabilité d'un bio.

	*	<b>19</b>	x1000/mm <sup>3</sup>	25	-	100
--	---	-----------	-----------------------	----	---	-----

# Exploration d'une gammopathie monoclonale

## ELECTROPHORESE DES PROTEINES

(1)(Capillarys - SEBIA)

PROTIDES TOTAUX	*	93 g/l	60	-	80
Albumine	*	37,3 g/l	40,2	-	47,6
Globulines	*	40,1 %	55,8	-	66,1
	*	55,7 g/l	20,9	-	35,4
	*	59,9 %	29,0	-	49,2
RAPPORT A/G	*	0,67	1,30	-	2,00
Alpha 1 globulines	*	3,8 g/l	2,1	-	3,5
		4,1 %	2,9	-	4,9
Alpha 2 globulines		7,8 g/l	5,1	-	8,5
		8,4 %	7,1	-	11,8
Béta 1 globulines		3,7 g/l	3,4	-	5,2
	*	4,0 %	4,7	-	7,2
Béta 2 globulines	*	37,9 g/l	2,3	-	4,7
	*	40,7 %	3,2	-	6,5
Gamma globulines	*	2,5 g/l	8,0	-	13,5
	*	2,7 %	11,1	-	18,8

### \*\* COMMENTAIRE EXAMEN \*\*

Présence d'un pic d'allure monoclonale en beta2 : cf immunoelectrophorèse (estimation du pic : 31,5 g/L)  
Effondrement des gammaglobulines.

## IMMUNOELECTROPHORESE (IME)

(1)(Immunotyping - SEBIA)

Présence d'une chaîne légère libre monoclonale de type Lambda

### \*\* COMMENTAIRE EXAMEN \*\*

Faire Bence Jones



# Exploration d'une gammopathie monoclonale

## IMMUNOFIXATION DES PROTEINES SERIQUES

Immunofixation sérique

Validée

PRESENCE DANS LE SERUM DE CE(TTE) PATIENT(E)  
D'UNE IgD LAMBDA MONOCLONALE  
ET  
DE CHAINES LEGERES LIBRES LAMBDA MONOCLONALES  
DE MEME MOBILITE ELECTROPHORETIQUE  
MIGRANT DANS LA ZONE DES BETA 2 GLOBULINES  
HYPO GAMMA-GLOBULINEMIE GLOBALE

Technique:

Immunofixation SEBIA

Commentaire Biologiste ESTIMATION DES ANOMALIES MONOCLONALES SERIQUES = 35,0 g/L

### Protéines

IgD - immunoglobulines D (Turbidimétrie-Optilite, Binding Site)

IgD 03 >16800,00 mg/L 7,70-132,10

### DOSAGE DE PROTEINES SERIQUES

Chaînes légères libres kappa 4,44 mg/L (3,30-19,40)

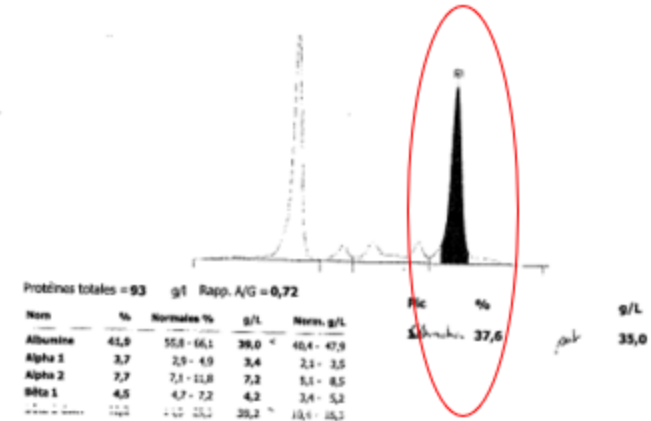
Chaînes légères libres lambda 2290,22 mg/L (5,70-26,30)

Rapport K/L libres 0,0019 (0,26-1,65)

Technique

Immunocardiémie - OptiVie - Test Fixe (The Binding Site)

En cas d'augmentation élevée les valeurs de référence du rapport sont comprises entre 0,3 et 3,33



# Exploration d'une gammapathie monoclonale

## Immunofixation des protéines sériques

(technique réalisée sur Hydragel II - Hydratys 2 scan SEBSA)



## IMMUNOFIXATION DES PROTEINES SERIQUES

Immunofixation sérique

Validée

PRESENCE DANS LE SERUM DE CE(TTE) PATIENT(E)  
D'UNE IgD LAMBDA MONOCLONALE  
ET  
DE CHAINES LEGERES LIBRES LAMBDA MONOCLONALES  
DE MEME MOBILITE ELECTROPHORETIQUE  
MIGRANT DANS LA ZONE DES BETA 2 GLOBULINES  
HYPO GAMMA-GLOBULINEMIE GLOBALE

Technique:

Immunofixation SEBIA

Commentaire Biologiste ESTIMATION DES ANOMALIES MONOCLONALES SERIQUES = 35,0 g/L

# Autres paramètres

<b>BÉTA 2 MICROGLOBULINE (B2M)</b> <small>(1)(Immunoturbidimétrie - COBAS ROCHE)</small>	*	<b>6,2</b> mg/l	0,8	-	2,2
PROTIDES TOTAUX	*	<b>93</b> g/l	60	-	80
Albumine	*	<b>37,3</b> g/l	40,2	-	47,6

Stade 1 = B2M <3,5mg/l, albumine = ou > 35g/l  
Stade 2 = B2M <3,5 mg/l et albumine <35g/l  
ou 3,5<B2M<5,5 qqs le taux d'albumine  
Stade 3 =B2M ≥ 5,5 mg/l qqs le taux d'albumine

## CALCIUM

(1)(Bichromates poivre final-Orthocrésolphosphatase-COBAS ROCHE)

\* **103** mg/l      88 - 102  
\* **2,58** mmol/l      2,20 - 2,55

Validé techniquement sous la responsabilité d'un bio.

## LACTICODESHYDROGENASE LDH

(1)(Cinélique bichromatique à 37°C - DGKC Oxydation du lactate)

**217** UI/L      135 - 225

Validé techniquement sous la responsabilité d'un bio.

# Critères CRAB



NEUROSMNEMONICS

Submit yours  
info@neuros.in



## MULTIPLE MYELOMA

MNEMONIC: OLD CRAB

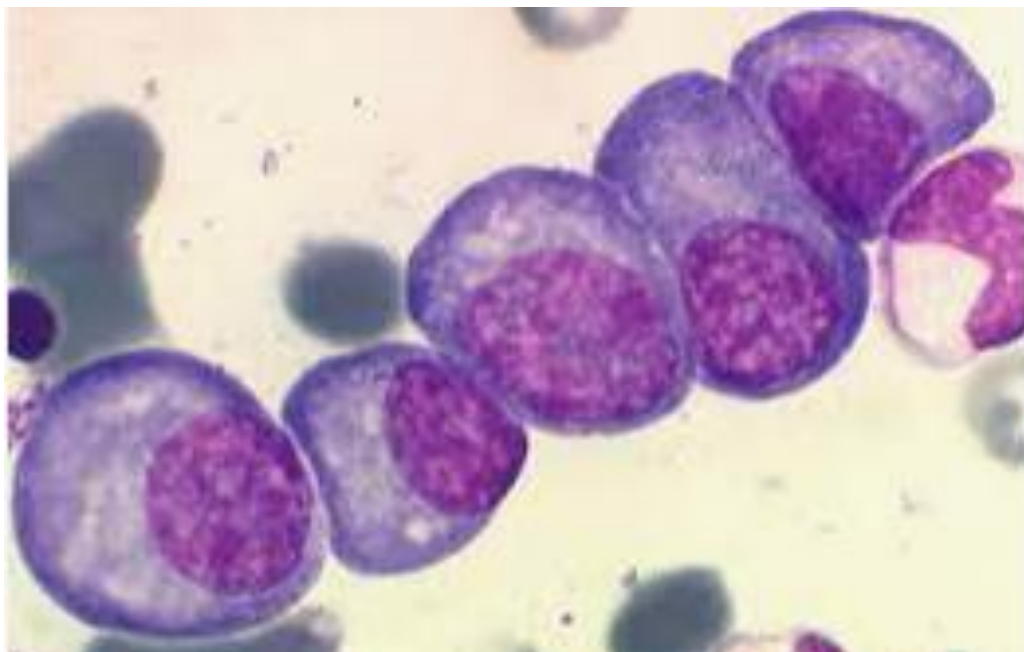
MULTIPLE MYELOMA

N<sup>+</sup>

- OLD** - Old Age
- C** - Calcium Elevated (Hypercalcemia)
- R** - Renal Failure
- A** - Anemia
- B** - Bone Lytic Lesions

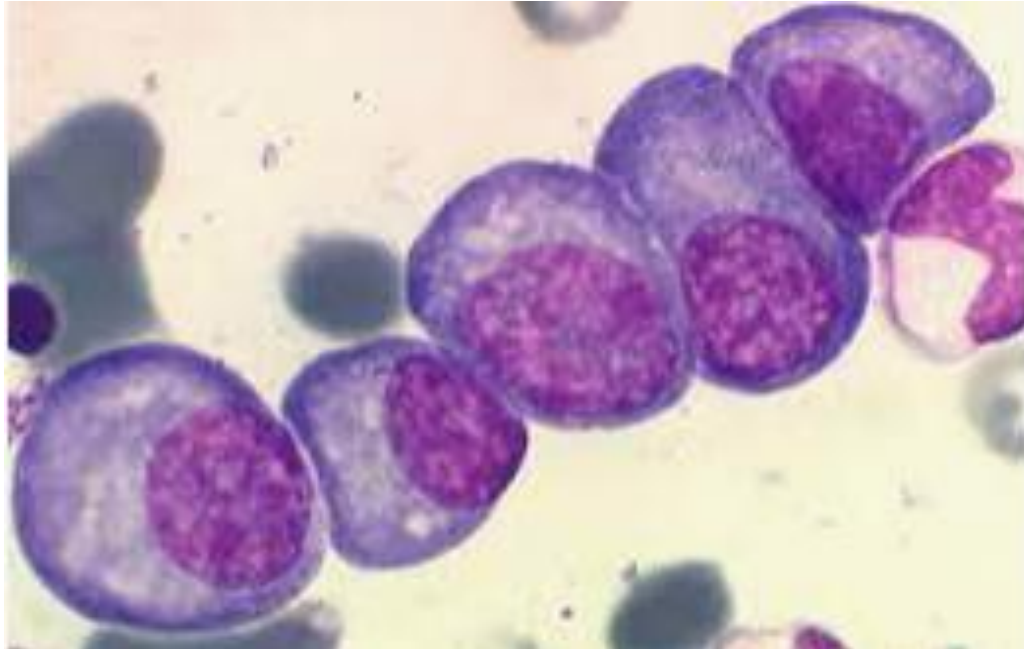
# Examens réalisés au laboratoire

Description cytologique  
et évaluation du % de  
plasmocytes par le  
**myélogramme**



# Examens réalisés au laboratoire

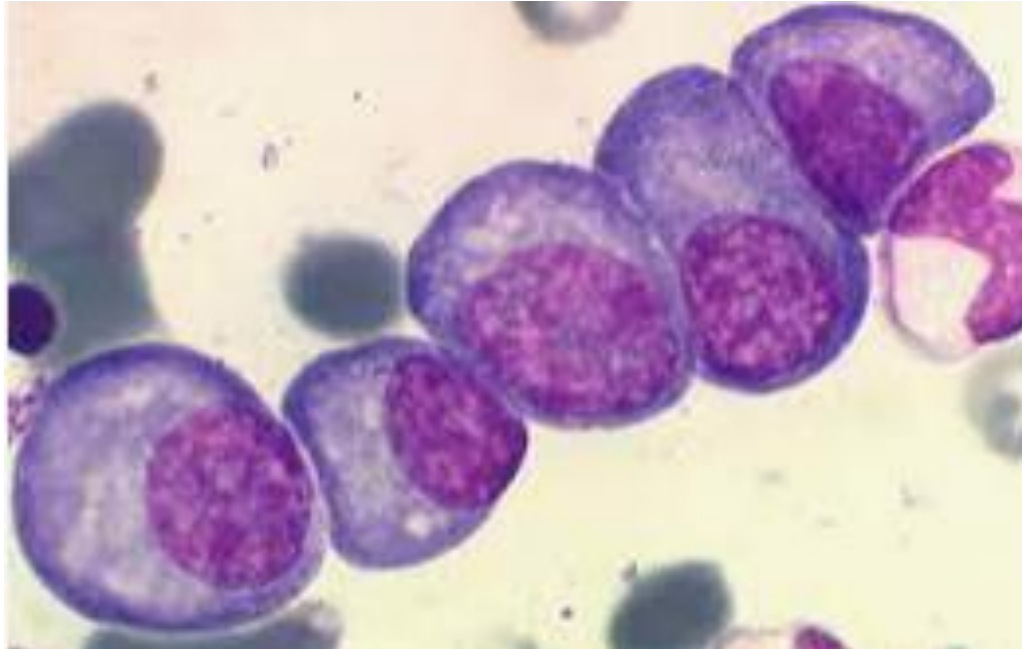
Description cytologique  
et évaluation du % de  
plasmocytes par le  
**myélogramme**



Réalisation du **caryotype**

# Examens réalisés au laboratoire sur de la moelle

Description cytologique  
et évaluation du % de  
plasmocytes par le  
**myélogramme**



Réalisation du **caryotype**

A la surface des plasmocytes : présence d'Ag spécifiques = CD qui permettent :

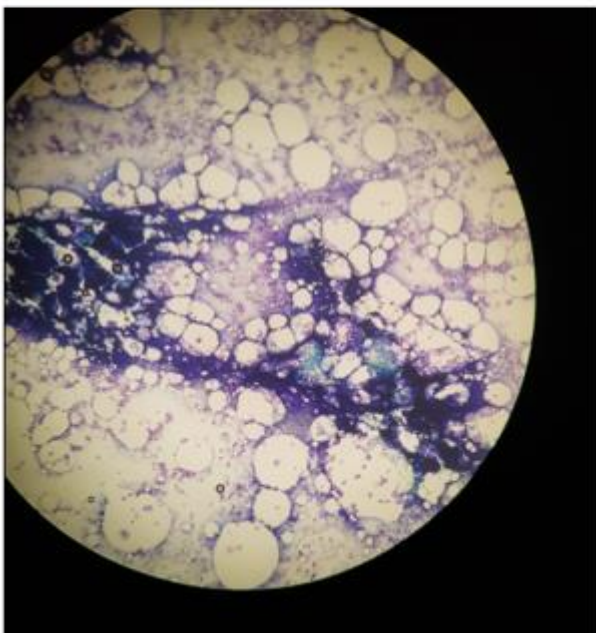
- d'établir leur profil immunologique : **immunophénotypage**
- de séparer les plasmocytes des autres cellules. Obtention d'une suspension cellulaire contenant un maximum de plasmocytes, permet de réaliser des **techniques de FISH sur plasmocytes triés**.



# Approche cytologique



# Le myélogramme



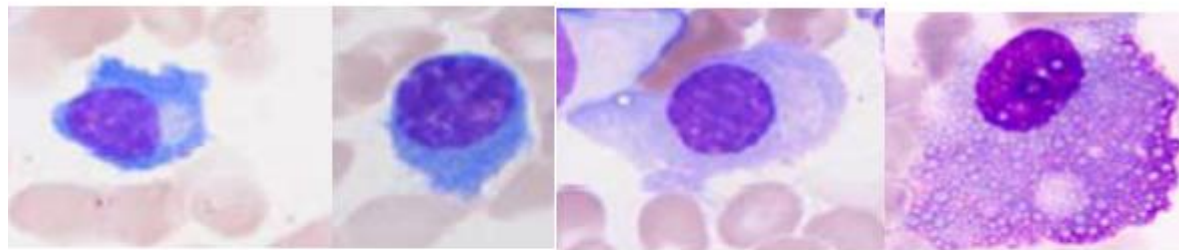
**Anomalie quantitative** = excès de plasmocytes,

<10% = MGUS

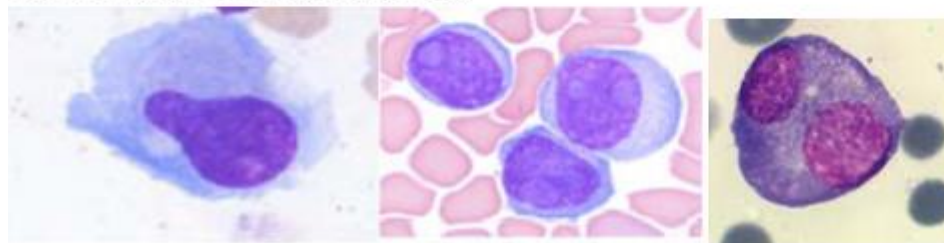
10 à 60% = sans critères Crab : MM indolent  
= avec critères CRAB: MM symptomatique

>60% = myélome agressif

**Anomalies qualitatives cytoplasmiques :**



**Anomalies nucléaires:**



# Le myélogramme de Mr Jay UNMYELOME

## Bilan en février 2018:

Evaluation M.H. à 3 mois post  
antiquelle. Marc

### CONCLUSION :

Moelle de richesse normale, légèrement déséquilibrée avec baisse de la lignée granuleuse.

Frottis médullaires ne présentant pas d'invasivité plasmocytaire.

A confronter au reste du bilan clinico-biologique et radiologique.

## Bilan septembre 2022

### MYELOGRAMME

MYELOGRAMME		EXAMENS DE MOELLE		
BLASTES (Total)	*	1,0 %	3,0	- 5,0
PROMYELOCYTES	*	1,5 %	4,0	- 8,0
MYELOCYTES NEUTROPHILES	*	7,0 %	10,0	- 15,0
MYELOCYTES EOSINOPHILES		0,5 %		
METAMYELOCYTES	*	9,5 %	15,0	- 20,0
POLYNUCLEAIRES NEUTROPHILES		21,5 %	20,0	- 30,0
POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES		1,5 %	1,0	- 4,0
POLYNUCLEAIRES BASOPHILES	*	0,0 %	0,5	- 1,0
ERYTHROBLASTES (Total)		24,5 %	15,0	- 30,0
Proérythroblastes		1,0 %	1,0	- 2,0
Erythro. Basophiles	*	1,0 %	4,0	- 8,0
Erythro. Polychromatophiles		7,0 %	6,0	- 10,0
Erythro. Acidophiles	*	15,5 %	4,0	- 10,0
LYMPHOCYTES		8,0 %	5,0	- 15,0
MONOCYTES		2,5 %	2,0	- 3,0
PLASMOCYTES	*	22,5 %	1,0	- 3,0

Richesse du frottis :

Densité cellulaire normale.

Présence de MK :

Nombreux MK, non dystrophiques.

### \*\* COMMENTAIRE EXAMEN \*\*

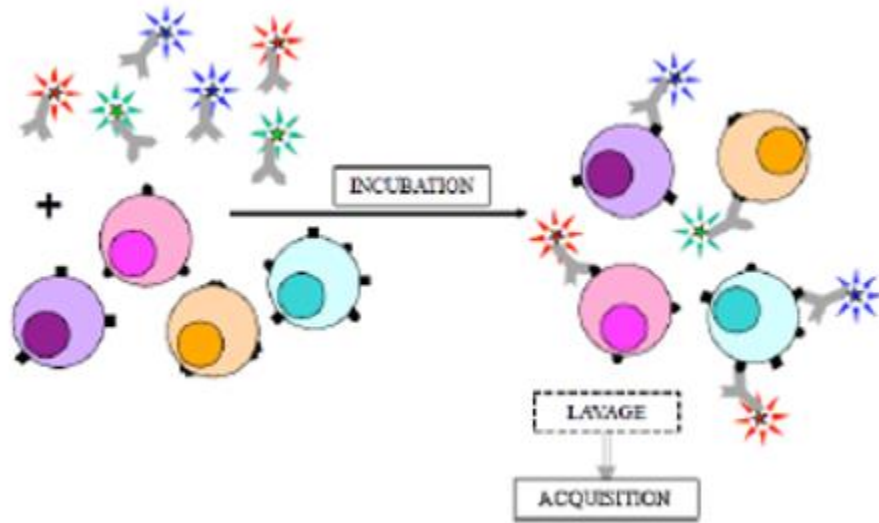
Moelle riche présentant un infiltrat de plasmocytes d'allure dystrophique (défaut de condensation de la chromatine, binucléarité, parfois un nucléole), en faveur d'une rechute du myélome. Pas d'anomalie morphologique majeure des autres lignées.

Myélogramme de Mr Jay Unmyélome, âgé de 70 ans



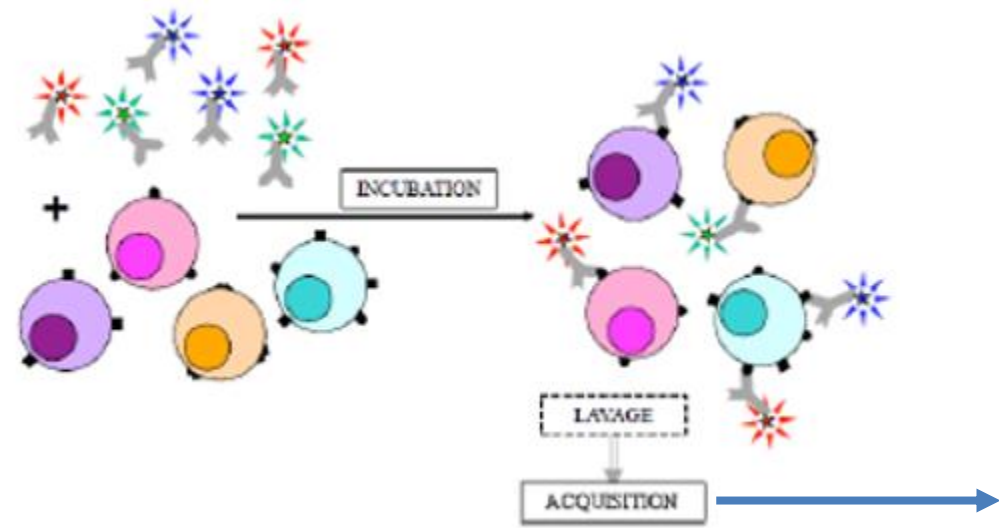
# Approche immunophénotypique

# Profil immunophénotypique : l'immunophénotypage



Marquage des cellules avec des Ac anti CD couplés à un fluorochrome

# Profil immunophénotypique : l'immunophénotypage



Marquage des cellules avec des Ac anti CD couplés à un fluorochrome

## Principe de fonctionnement d'un cytomètre en flux

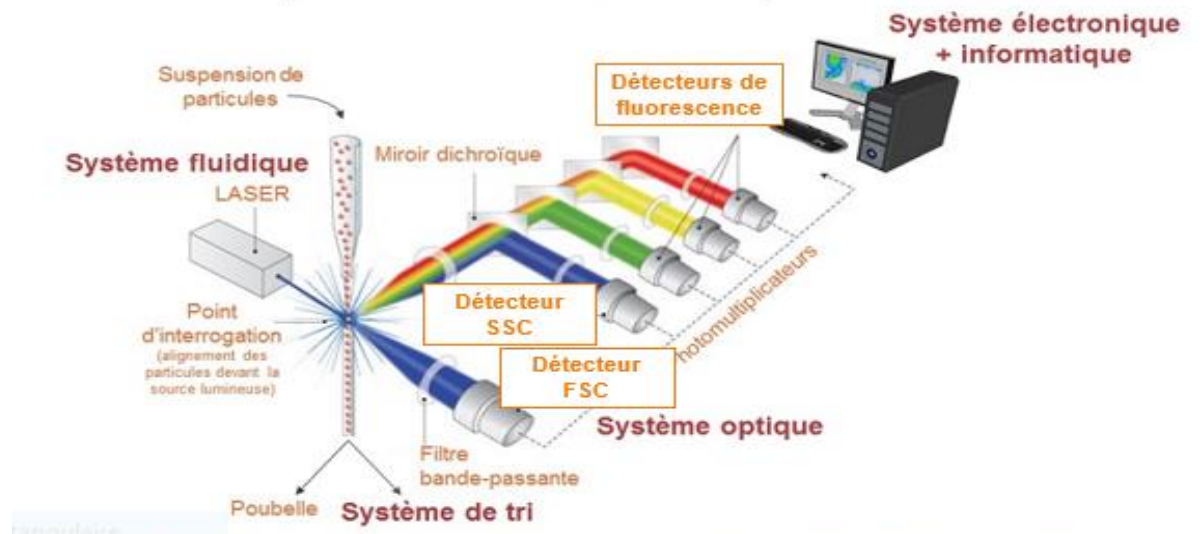
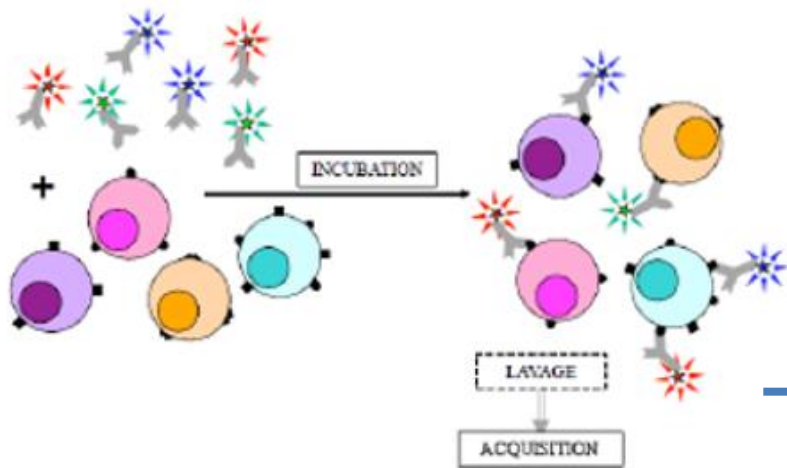


Figure 1 : Schéma descriptif du principe simplifié de la cytométrie de flux (Cytométrie en Flux – BICEL de l'université de Lille)

# Profil immunophénotypique : l'immunophénotypage



Marquage des cellules avec des Ac anti CD couplés à un fluorochrome

Principe de fonctionnement d'un cytomètre en flux

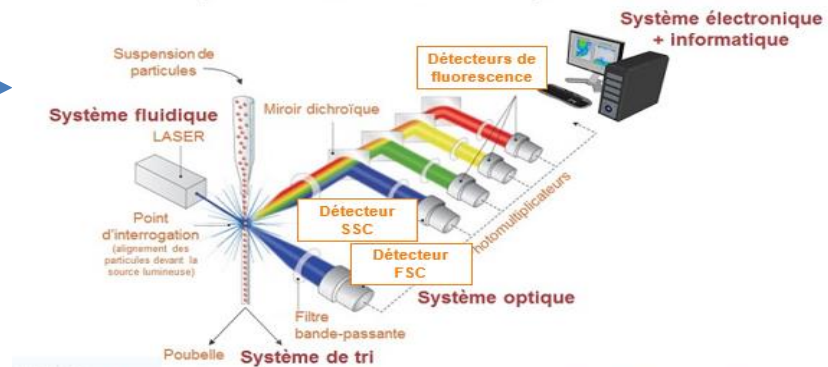


Figure 1 : Schéma descriptif du principe simplifié de la cytométrie de flux (Cytométrie en Flux – BICEL de l'université de Lille)

Mesure de la fluorescence émise et expression des résultats

# Profil immunophénotypique : but

## Aide diagnostique :

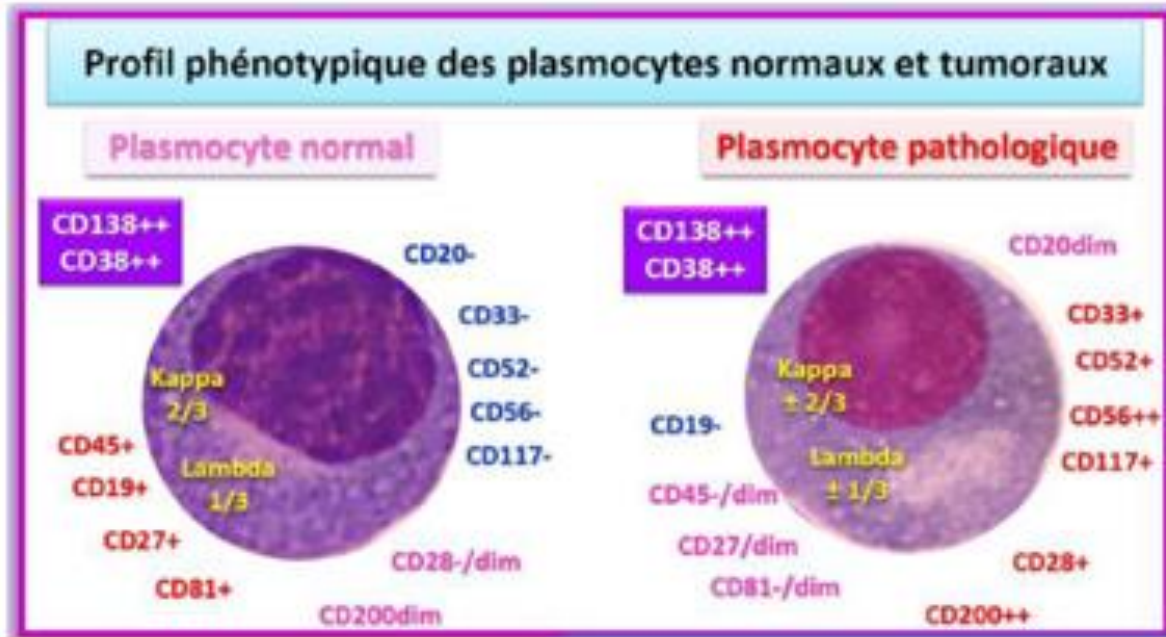
Dénombrer le % de plasmocytes dans l'échantillon  
Déterminer s'ils sont pathologiques ou non grâce à leur clonalité **Kappa/Lambda** et l'expression de marqueurs aberrants

Calcul du rapport Plasmocyte P/ plasmocytes totaux:

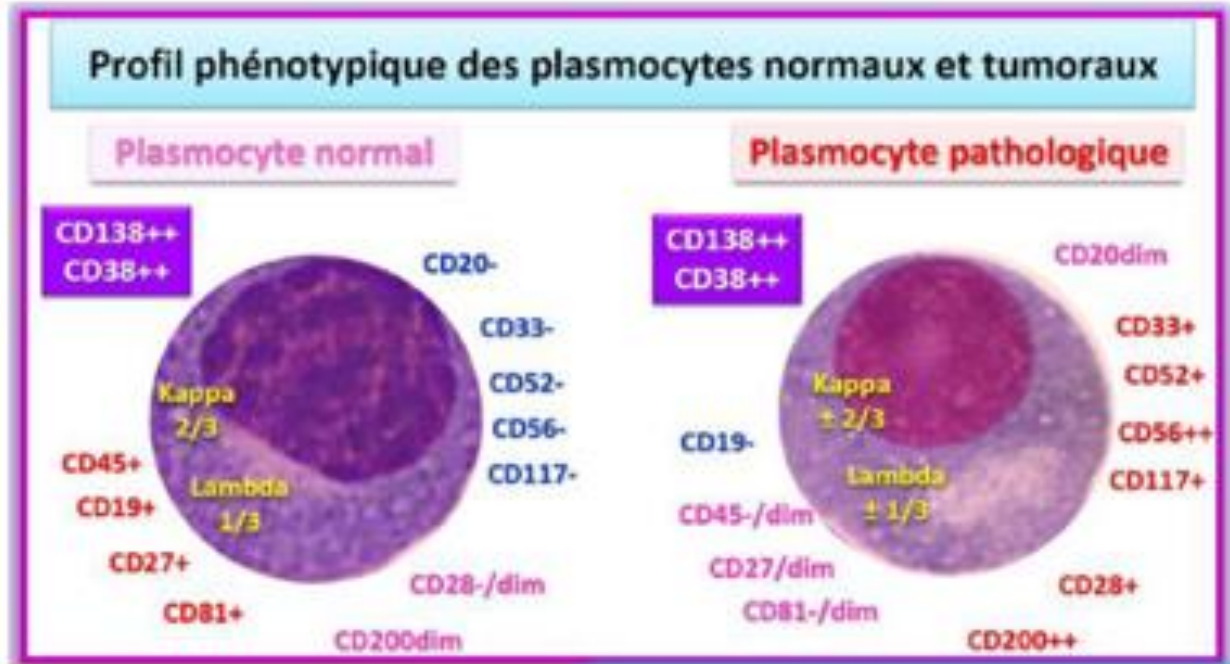
Si <97% = pas en faveur d'un myélome, MGUS

Si >97% et peu de plasmocytes au myélogramme <10%, un nouveau prélèvement est souhaitable

Phénotype des plasmocytes P stable au cours de l'évolution de la maladie.



# Profil immunophénotypique



## Aide diagnostique :

Dénombrer le % de plasmocytes dans l'échantillon  
Déterminer s'ils sont pathologiques ou non grâce à leur clonalité **Kappa/Lambda** et l'expression de marqueurs aberrants

Phénotype des plasmocytes P stable au cours de l'évolution de la maladie.

## Principe:

Marquage membranaire et intra-cytoplasmique avec des Ac-anti CD puis recherche de la fluorescence émise par les fluorochromes si CD présents:

**CD45** : marqueur panleucocytaire

**CD19**: marqueurs des lymphocytes B et plasmocytes N

**CD38 et CD138** : marqueurs spécifiques des plasmocytes  
=> identification

**CD56, CD27, CD200** : expression anormale sur plasmocytes P



# Profil immunophénotypique

## Aide diagnostique :

Dénombrer le % de plasmocytes dans l'échantillon  
 Déterminer s'ils sont pathologiques ou non grâce à leur clonalité **Kappa/Lambda** et l'expression de marqueurs aberrants  
 Phénotype des plasmocytes P stable au cours de l'évolution de la maladie.

## Principe :

Marquage membranaire et intra-cytoplasmique puis recherche de l'expression de CD spécifiques:

**CD45** : marqueur panleucocytaire

**CD19**: marqueurs B sur lymphocytes B et plasmocytes N

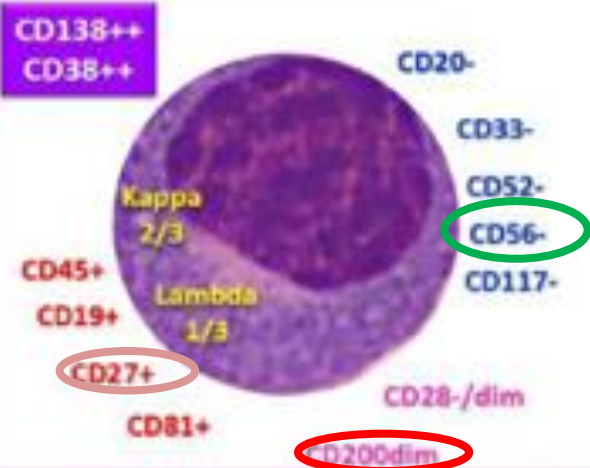
**CD38 et CD138** : marqueurs spécifiques des plasmocytes

=> identification

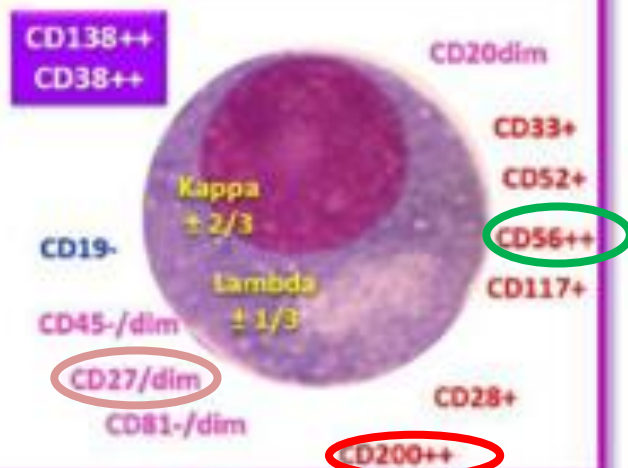
**CD56, CD27, CD200** : expression anormale sur plasmocytes P

### Profil phénotypique des plasmocytes normaux et tumoraux

#### Plasmocyte normal

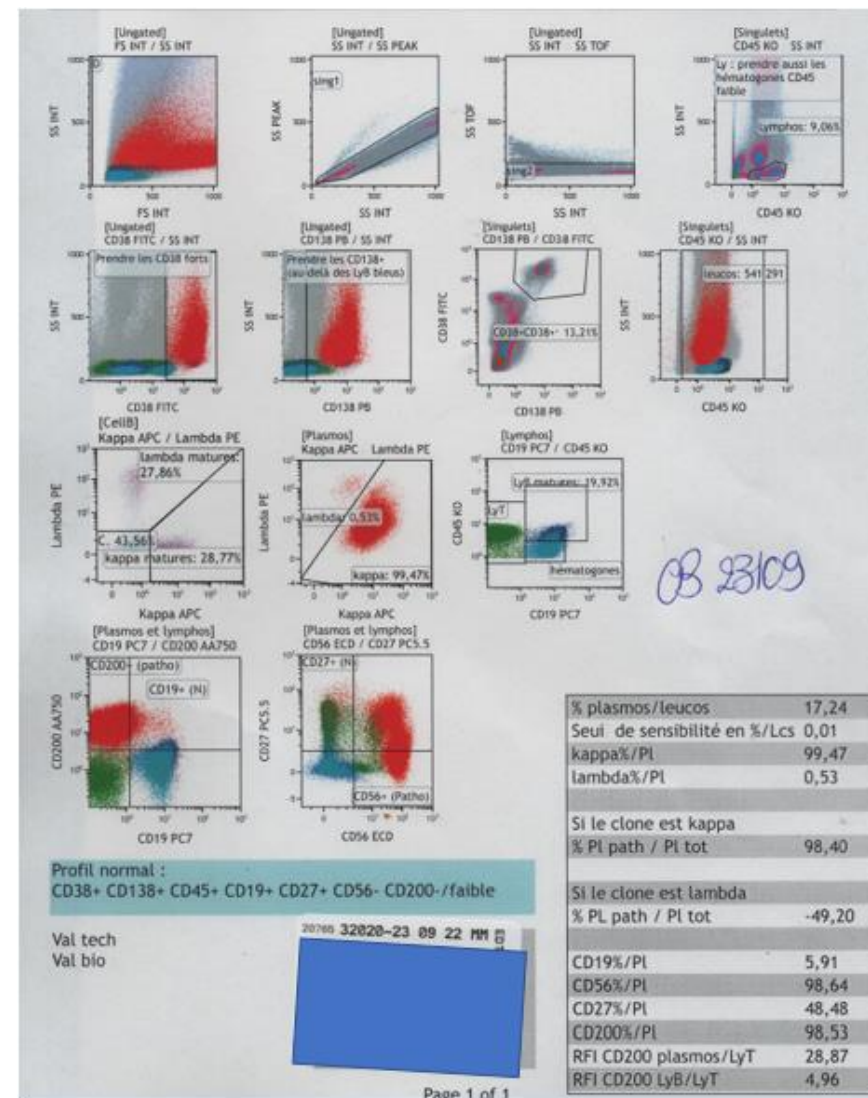
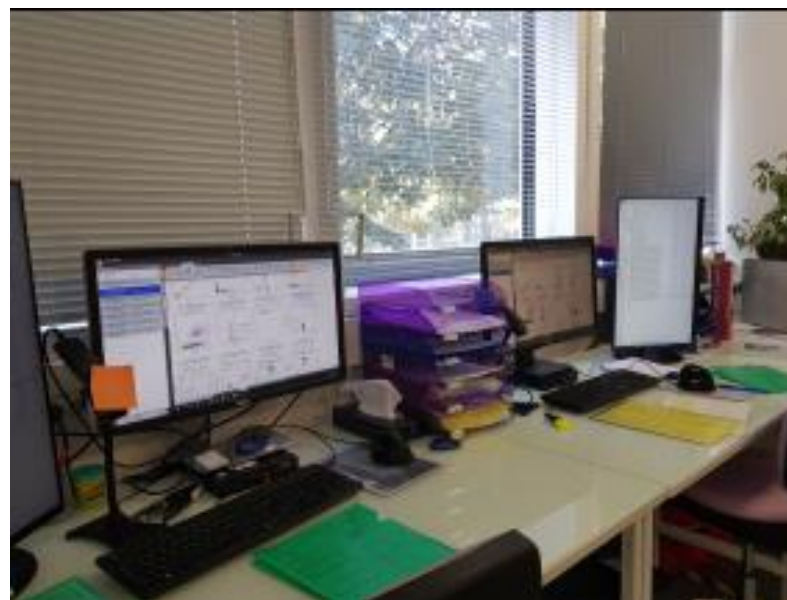


#### Plasmocyte pathologique

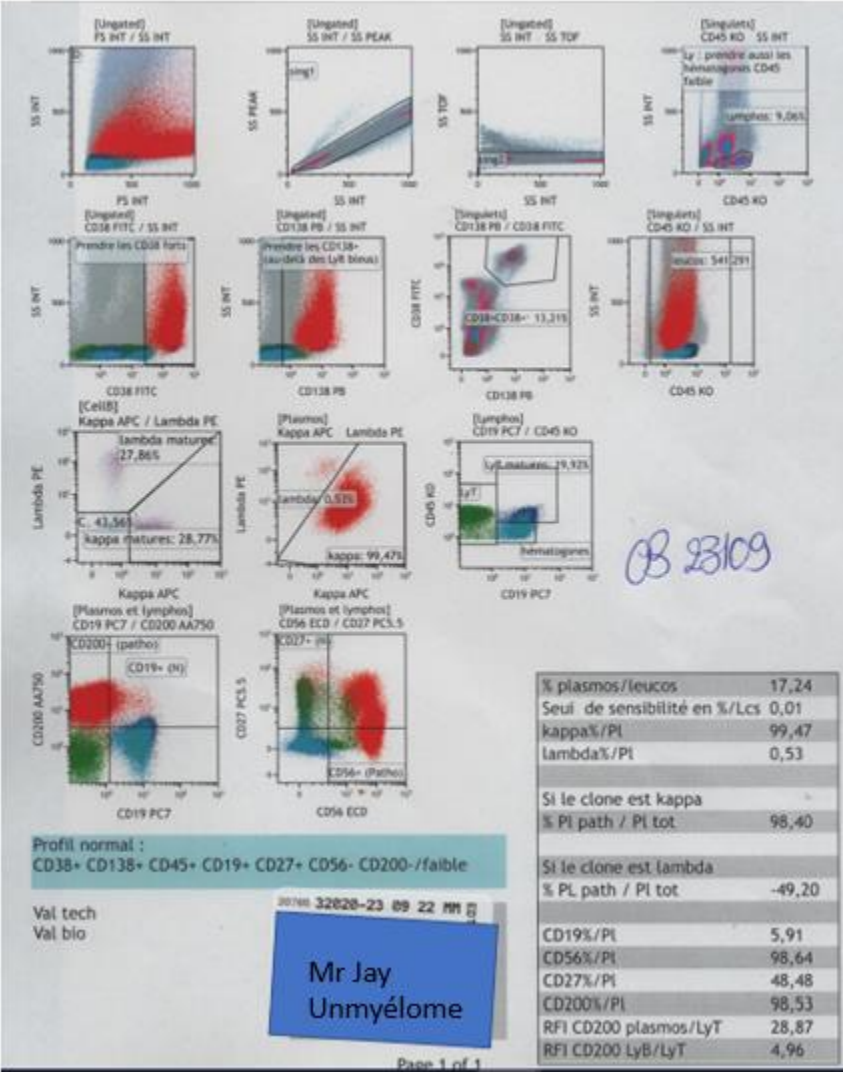


	CD 19	CD 56	CD 200	CD 27	CD 45	K/L
Normal	+	-	-/f	+	+	Polytypique
Patho (% cas de myélome)	- 95%	+ 75%	+F 75%	- 50-80%	-	Monotypique

# Profil immunophénotypique : Résultats

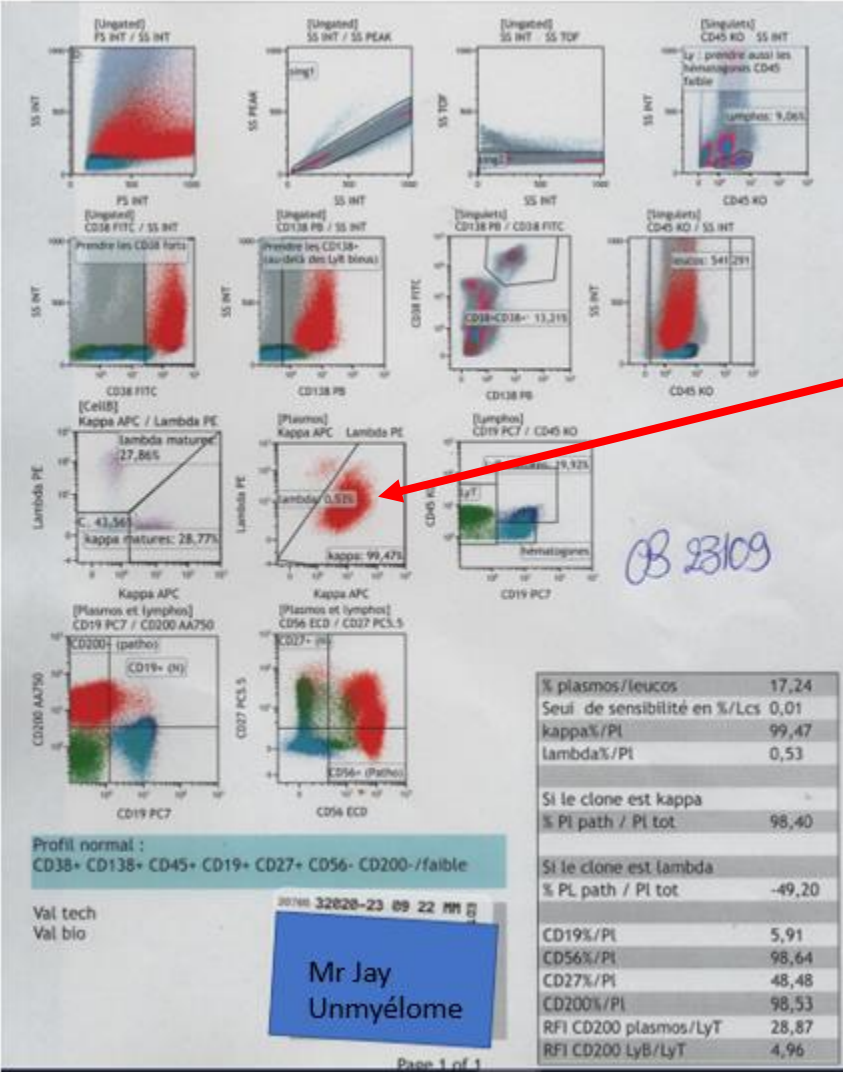


# Profil immunophénotypique : Résultats



← % de plasmocytes

# Profil immunophénotypique : Résultats



Monoclonalité  
Kappa

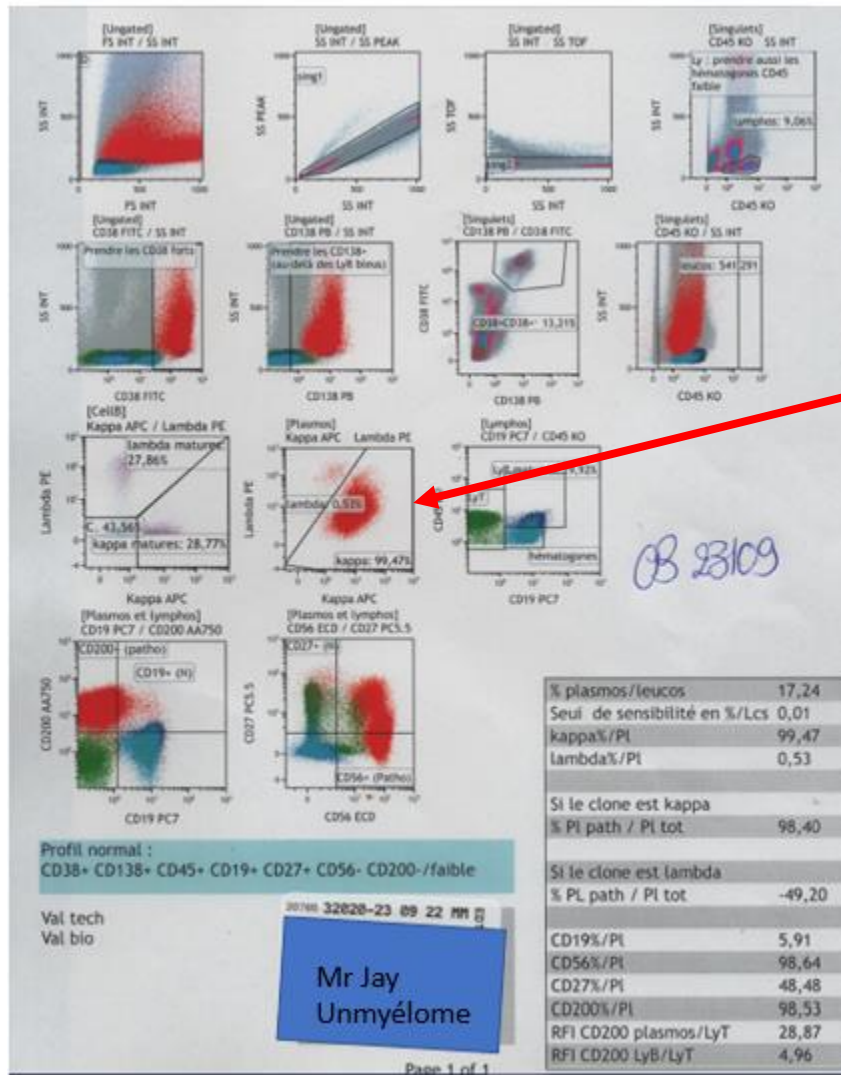
% de plasmocytes  
Clone Kappa

# Profil immunophénotypique : Résultats

## Profil phénotypique :

(20765 32020)

CD38+, CD138+,  
 CD45+f  
 CD19-  
 CD27+f  
 CD56+  
 CD200+f

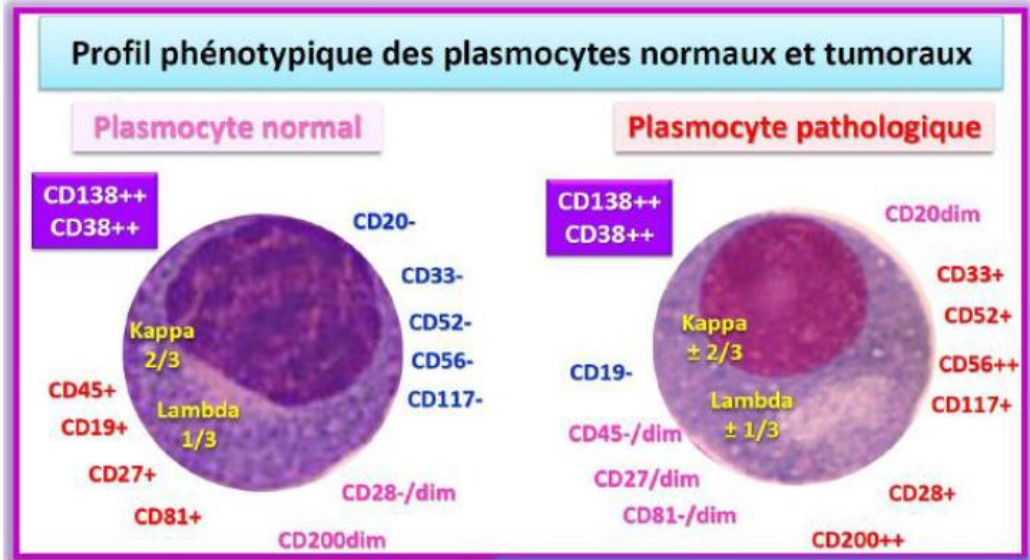


Monoclonalité  
 Kappa

% de plasmocytes  
 Clone Kappa

Rapport PP/PT > 97%

# Profil immunophénotypique : Résultats



Intérêt de l'immunophénotypage :

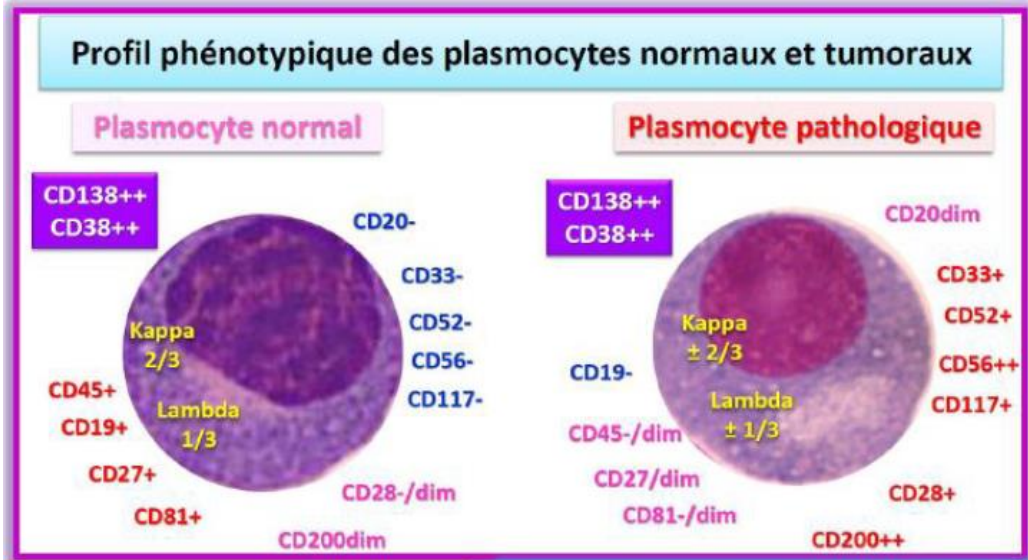
Permet d'orienter le clinicien sur un myélome même si peu de plasmocytes  
Profil phénotypique spécifique permettant le suivi de la maladie résiduelle (MRD) après traitement

**Profil phénotypique :**

(20765 32020)

**CD38+, CD138+, CD45+f, CD19-, CD27+f, CD56+, CD200+F**

# Profil immunophénotypique : Résultats



Intérêt de l'immunophénotypage :

Permet d'orienter sur un myélome même si peu de plasmocytes

Profil phénotypique spécifique permettant le suivi de la maladie résiduelle (MRD) après traitement

**MRD** : persistance de cellules tumorales dans l'organisme en nombre inférieur au seuil de détection des techniques conventionnelles : cytologie et cytogénétique/FISH = 1-5%

**Intérêt de la MRD** : étude de la réponse au traitement

recherche de rechute précoce

technique rapide, à réaliser rapidement après le prélèvement

# Le caryotype

Faible index mitotique  
Pas d'agent mitogène efficace  
Cellule capricieuse, très fragile





# Le caryotype

Faible index mitotique  
Pas d'agent mitogène efficace  
Cellule capricieuse, très fragile



Culture en 72h ou 96h

Faible % de caryotypes anormaux

Entre mai 2018 et le 1<sup>er</sup> Septembre 2022:

**3 401 dossiers reçus pour myélome**

**1 270 caryotypes réalisés et 160 caryotypes pathologiques soit 12%**

**2 131 dossiers avec uniquement de la FISH (technique prioritaire sur le caryotype)**

Les profils 45,X,-X ou -Y, ainsi que les translocations robertsoniennes n'ont pas été considérés comme pathologiques

# Le caryotype

## Caryotypes très souvent complexes :

49-50,XY,der(1)(1pter->1p33::1p12->1q11::?),+i(1)(q10),add(3)(p11),add(3)(p11),+3,-4,-6,+9,-10,+11,-13,+15,-17,+19,-21,+3-4mar,inc[cp15]/46,XY[5]

51,XY,+4,+5,t(8;22)(q24;q11),+15,+21+mar?der(1)[2]/46,XY[18]

47,XX,+12[3]/47,sl,dup(1)(q21q31)[4]/47,sdl,add(17)(q25)[4]/53,XX,+3,add(4)(q21),+5,+9,-10,+11,der(13)t(4;13)(q21;q21),+15,+19,+mar[cp5]/46,XX[4]

46,XX,del(13)(q13q14)[2]/46,XX[18]

53-55,XX,+5,+7,add(8)(p11),add(8)(p11),+9,+11,+11,add(12)(p12),-13,+15,+15,-16,add(17)(p11),+19,+21,+mar?der(3),inc[cp15]/46,XX[5]

50,XY,add(1)(q21),add(3)(q27),del(4)(q?25q?31),del(6)(q14q25),dup(7)(q31q33),del(7)(p13p15),+der(7)del(7)(p13p15)dup(7)(q31q33),del(8)(q?23q?24),+13,add(16)(q24),+18,?i(19)(q10),add(20)(q13),add(21)(p21),+add(22)(p11)[13]/46,XY[7]  
44,XY,der(2)add(2)(p11)del(2)(q3?2q3?6),?dup(3)(q22q26),add(5)(q22),del(8)(q21q23),-11,del(12)(p11),-13,-14,-16,-20,+3mar[5]/88,slx2[12]/46,XY[3]

42,X,-Y,i(1)(q10),-13,-14,del(17)(p12),-21[17]/46,XY[3]

46,XY,del(13)(q13q22)[12]/46,XY[8]

47-49,X,-Y,t(8;22)(q24;q11),add(9)(p23),-13,+15,-16,+19,-20,+2-3mar[3]/46,XY[17]

52,XY,+add(3)(q2?9),+5,-6,+9,+10,+11,-13,-14,+15,del(17)(p11),+21,+mar[cp13]/46,XY[7]

45,X,-Y[9]/52,XY,+3,+5,+9,+11,-12,+15,+19,+21,-22,+mar?der(12)[7]/46,XY[4]

45,X,-Y[12]/53,XY,+3,+5,+7,+9,-14,+15,+19,marx2[4]/46,XY[4]

51-58,X,-Y,+1,del(1)(q?q?),+3,+4,+?10,+?17,+?18,+19,+3-6mar,inc[cp5]/46,XY[15]

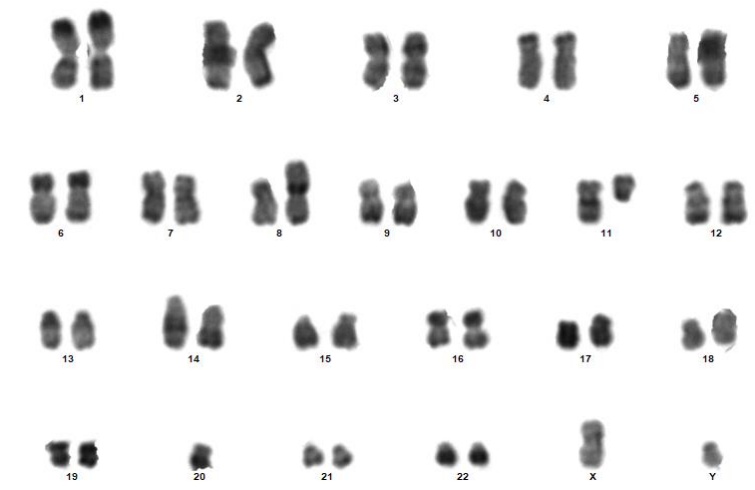
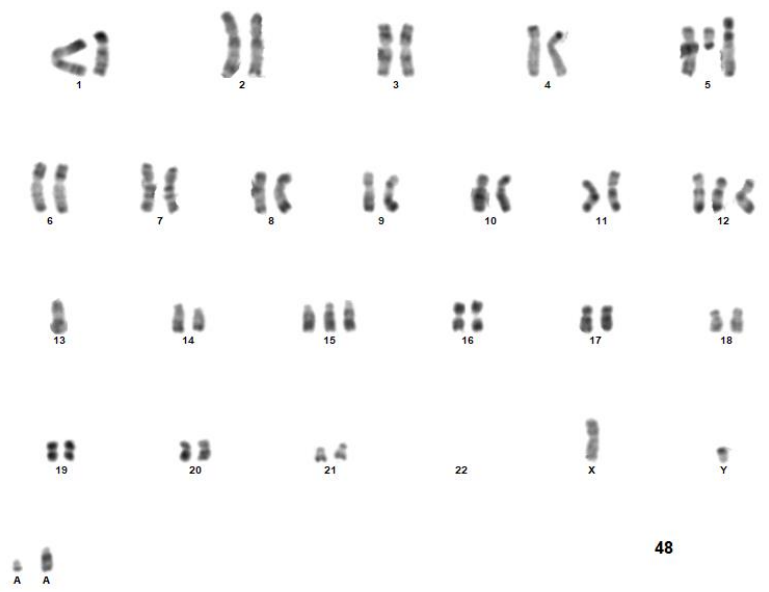
48,X,-X,add(3)(q2?7),+9,del(12)(p12),+?16,+mar,inc[2]/46,XX[18]

46,XY,del(20)(q11q13)[20]

56,XY,+3,+5,+7,+9,+9,+11,+15,+15,+19,+21[11]/46,XY[9]

43,X-X,der(1)(1pter->1p33::?:1p11->1q21::?:1q32),der(1)(1pter->1q21::?:1q21->1qter),del(3)(p21),-13,der(16)t(16;22)(p13;q11),-22[18]/46,XX[2]

# Le caryotype



# 160 caryotypes pathologiques

<b>Hypodiploïdes : 38 K soit 24 %</b>		
<b>100 % de K avec anomalies de structure</b>		
<b>24 K avec anomalies du chr1 soit 63%</b>		
<b>3 K avec t(11;14)(q13;q32) dont 1 impliquant cMYC t(8;14;11)(q24;q32;q13) soit 8%</b>		
<b>1 K avec réarrangement cMYC, K complexe</b>		

# 160 caryotypes pathologiques

<b>Hypodiploïdes : 38 K soit 24 %</b>	<b>46-47 chromosomes : 46 K soit 29%</b>	
<b>100 % de K avec anomalies de structure</b>	<b>69 % des K ont des anomalies de structure</b>	
<b>24 K avec anomalies du chr1 soit 63%</b>	<b>6 K avec ano du chr1 soit 13%</b>	
	<b>Trisomie des chr : 3 9 15 18 dans 11% des cas sans autre anomalie</b>	
<b>3 K avec t(11;14)(q13;q32) dont 1 impliquant cMYC t(8;14;11)(q24;q32;q13) soit 8%</b>	<b>7 K avec t(11;14)(q13;q32) souvent complexes 15%</b>	
<b>1k avec réarrangement cMYC, K complexe</b>		

# 160 caryotypes pathologiques

<b>Hypodiploïdes : 38 K soit 24 %</b>	<b>46-47 chromosomes : 46 K soit 29%</b>	<b>Hyperdiploïdes: 76 K soit 47%</b>
<b>100 % de K avec anomalies de structure</b>	<b>69 % des K ont des anomalies de structure</b>	<b>22% avec uniquement des chr surnuméraires 78 % avec anomalies de structures</b>
<b>24 K avec anomalies du chr1 soit 63%</b>	<b>6k avec ano du chr1 soit 13%</b>	<b>39 K avec ano du 1 soit 50%</b>
	<b>Trisomie des chr : 3 9 15 18 dans 11% des cas sans autre anomalie</b>	<b>Trisomie des chr : 3 9 15 18 soit 17% des cas sans autre anomalie</b>
<b>3 K avec t(11;14)(q13;q32) dont 1 impliquant cMYC t(8;14;11)(q24;q32;q13) soit 8%</b>	<b>7K avec t(11;14)(q13;q32) souvent complexes 15%</b>	<b>2 K avec t(11;14)(q13;q32) K complexes 3%</b>
<b>1k avec réarrangement cMYC, K complexe</b>		<b>3 K avec réarrangement cMYC , K complexes</b>

# 160 caryotypes pathologiques

<b>Hypodiploïdes : 38 K soit 24 %</b>	<b>46-47 chromosomes : 46 K soit 29%</b>	<b>Hyperdiploïdes: 76 K soit 47%</b>
<b>100 % de K avec anomalies de structure</b>	<b>69 % des K ont des anomalies de structure</b>	<b>22% avec uniquement des chr surnuméraires 78 % avec anomalies de structures</b>
<b>24 K avec anomalies du chr1 soit 63%</b>	<b>6k avec ano du chr1 soit 13%</b>	<b>39K avec ano du 1 soit 50%</b>
	<b>Trisomie des chr : 3 9 15 18 dans 11% des cas sans autre anomalie</b>	<b>Trisomie des chr : 3 9 15 18 soit 17% des cas sans autre anomalie</b>
<b>3 K avec t(11;14)(q13;q32) dont 1 impliquant cMYC t(8;14;11)(q24;q32;q13) soit 8%</b>	<b>7K avec t(11;14)(q13;q32) souvent complexes 15%</b>	<b>2K avec t(11;14)(q13;q32) K complexes 3%</b>
<b>1k avec réarrangement cMYC, K complexe</b>		<b>3 K avec réarrangement cMYC , K complexes</b>

**Sur les 160 caryo :43% des dossiers pathos présentent une anomalie du 1 (réarrangement, +1,-1,+1q,-1p)**

**Sur les 160 caryo : 8% des dossiers pathos présentent une t(11;14)**

# 160 caryotypes pathologiques

<p><b>Hypodiploïdes : 38 K</b> soit 24 %</p>	<p><b>46-47 chromosomes : 46 K</b> soit 29%</p>	<p><b>Hyperdiploïdes: 76 K</b> soit 47%</p>
<p><b>100 % de K avec anomalies de structure</b></p>	<p><b>69 % des K ont des anomalies de structure</b></p>	<p><b>22% avec uniquement des chr surnuméraires</b> <b>78 % avec anomalies de structures</b></p>
<p><b>24 K avec anomalies du chr1</b> soit 63%</p>	<p><b>6 K avec ano du chr1</b> soit 13%</p>	<p><b>39 K avec ano du 1</b> soit 50%</p>
	<p><b>Trisomie des chr : 3 9 15 18 dans 11% des cas sans autre anomalie</b></p>	<p><b>Trisomie des chr : 3 9 15 18 soit 17% des cas sans autre anomalie</b></p>
<p><b>3 K avec t(11;14)(q13;q32) dont 1 impliquant cMYC</b> <b>t(8;14;11)(q24;q32;q13)</b> soit 8%</p>	<p><b>7 K avec t(11;14)(q13;q32) souvent complexes</b> 15%</p>	<p><b>2 K avec t(11;14)(q13;q32) K complexes</b> 3%</p>
<p><b>1 K avec réarrangement cMYC, K complexe</b></p>		<p><b>3 K avec réarrangement cMYC, K complexes</b></p>
<p><b>43% des dossiers pathos présentent une anomalie du 1 (réarrangement, +1,-1,+1q,-1p)</b> <b>8% des dossiers pathos présentent une t(11;14)</b></p>		

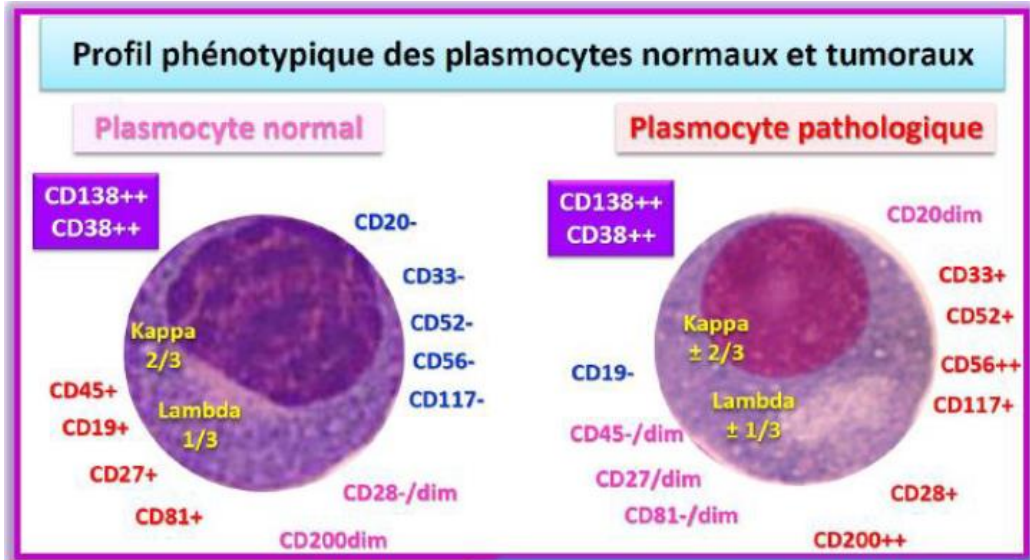
Données caryo ≠ FISH





# Approche cytogénétique moléculaire

# Tri des plasmocytes



Moelle osseuse + AC-anti CD138  
(lyse des GR)

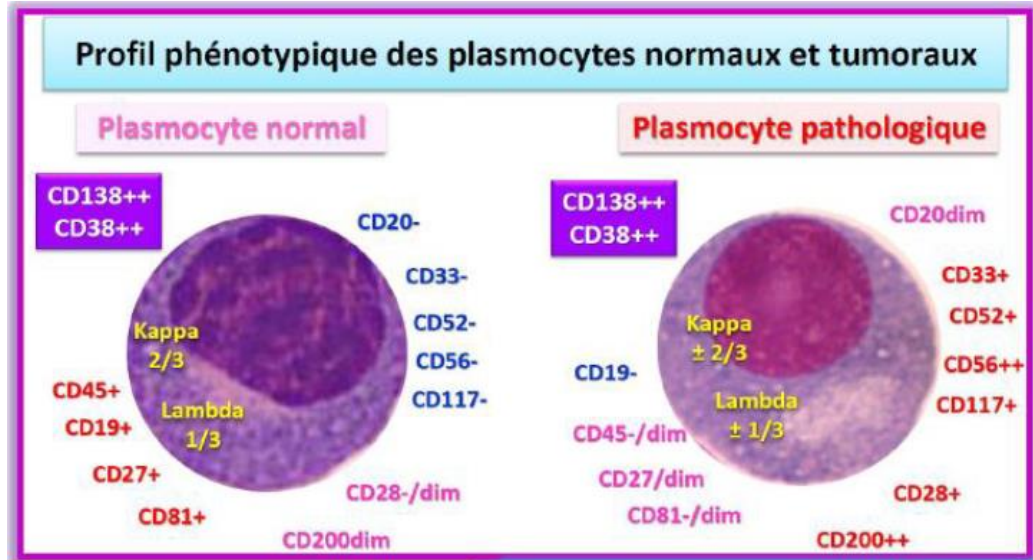
+

Particules magnétiques revêtues de Dextran

=

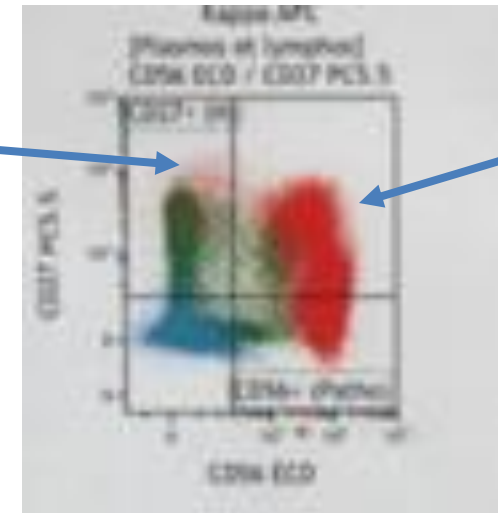
Complexe « tétrameric Antibody, TAC »  
Plasmocytes magnétisés

# Tri des plasmocytes



Moelle osseuse + AC-anti CD138  
(lyse des GR)  
+  
Particules magnétiques revêtues de Dextran  
=  
Complexe « tetrameric Antibody, TAC »  
Plasmocytes magnétisés

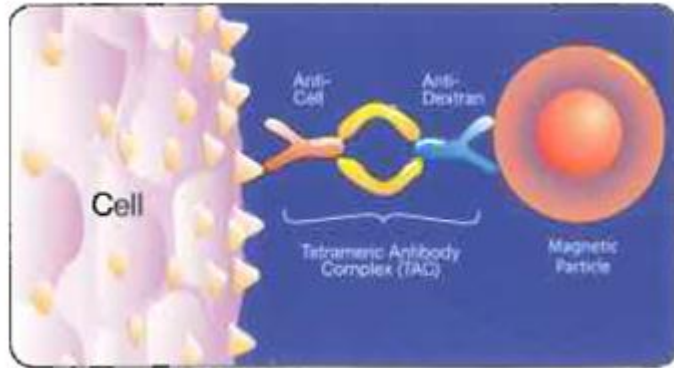
Plasmo  
N



Plasmo  
P

On aura un mélange de plasmocytes N et P car CD138 présent sur les 2

# Tri des plasmocytes



Moelle osseuse + AC-anti CD138  
(lyse des GR)

+

Particules magnétiques revêtues de Dextran

=

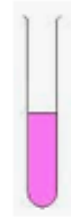
Complexe « tetrameric Antibody, TAC »  
Plasmocytes magnétisés

Les plasmocytes magnétisés sont retenus dans un champ magnétique et les autres cellules sont éliminées



# Tri des plasmocytes

Après récolte des plasmocytes :



-spin MGG pour évaluation du rendement,



choc + fixation

étalement de lames pour la FISH



# Tri des plasmocytes

Au laboratoire :

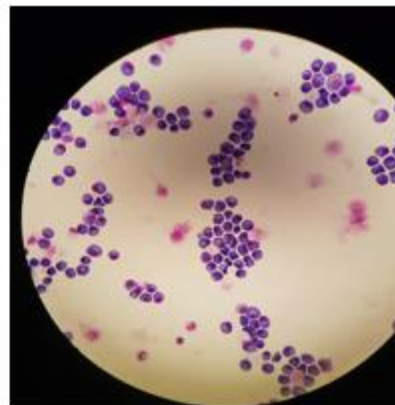
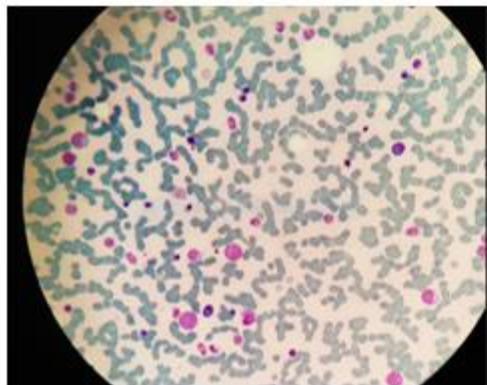
Pour chaque suspicion de myélome, MGUS ou anémie isolée, réalisation d'un frottis puis coloration au MGG , quelque soit le % de plasmocytes au MG :

- évaluer le taux de plasmocytes dans le tube
- déterminer le volume d'échantillon à trier

**Tri privilégié par rapport à la culture**

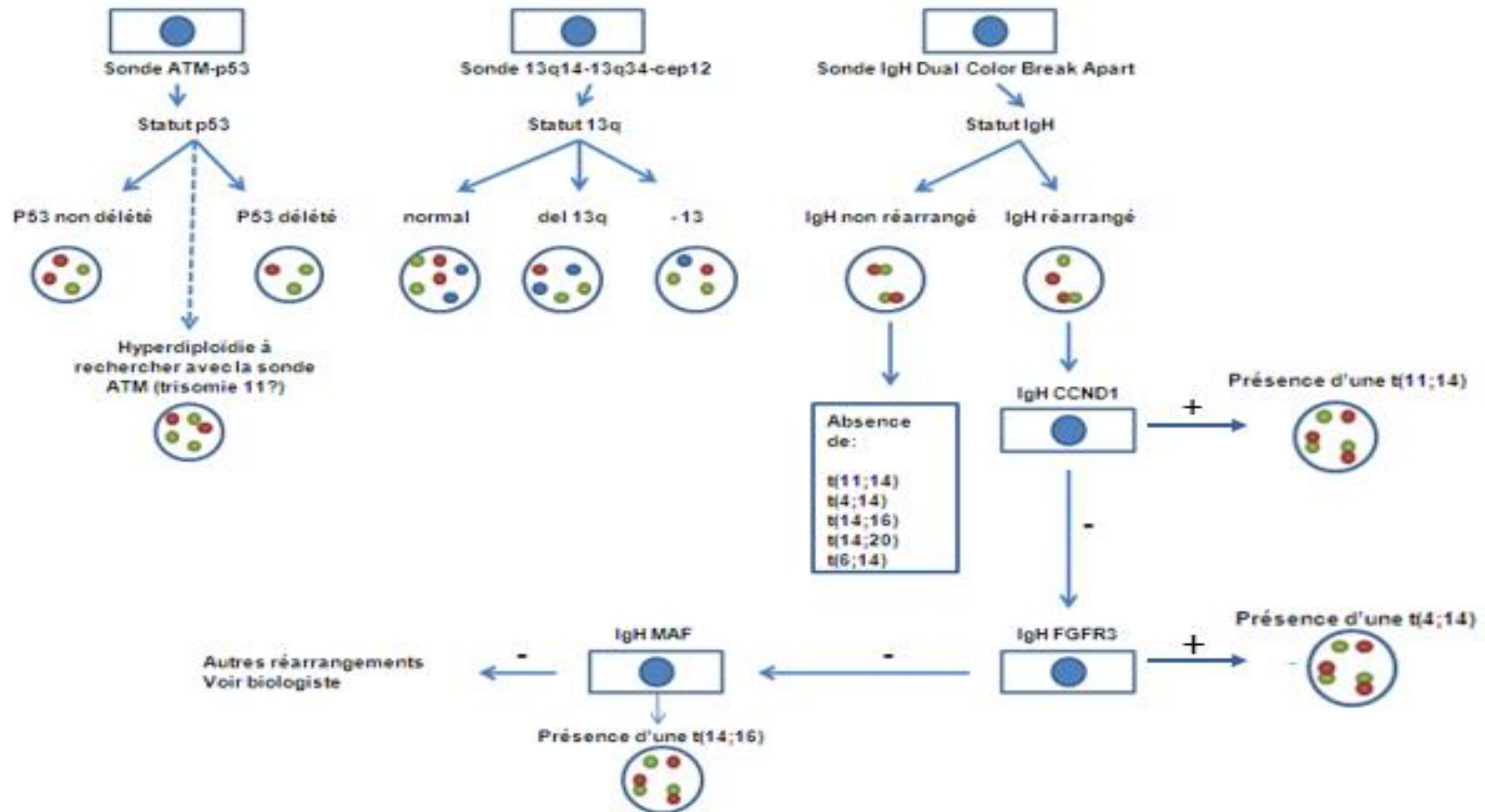


# Tri des plasmocytes





# Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Biomnis en 2010



# Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Biomnis en 2022



Sonde Tp53/CEP 17



sonde 1p 1q  
Délétion 1p36 CDKN2C (P18)  
Gain / Amplification 1q21 CKS1B



sonde IgH DC Break Apart

# Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Biomnis en 2022



Sonde Tp53/CEP 17



Normal

delp53

+17 avec delp53



sonde 1p 1q

Délétion 1p36 CDKN2C (P18)  
Gain / Amplification 1q21 CKS1B



sonde IgH DC Break Apart

# Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Biomnis en 2022



Sonde Tp53/CEP 17

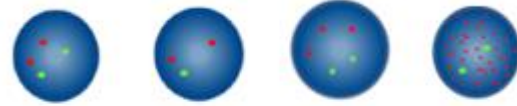


Normal    delp53    +17 avec delp53



sonde 1p 1q

Délétion 1p36 CDKN2C (P18)  
Gain / Amplification 1q21 CKS1B

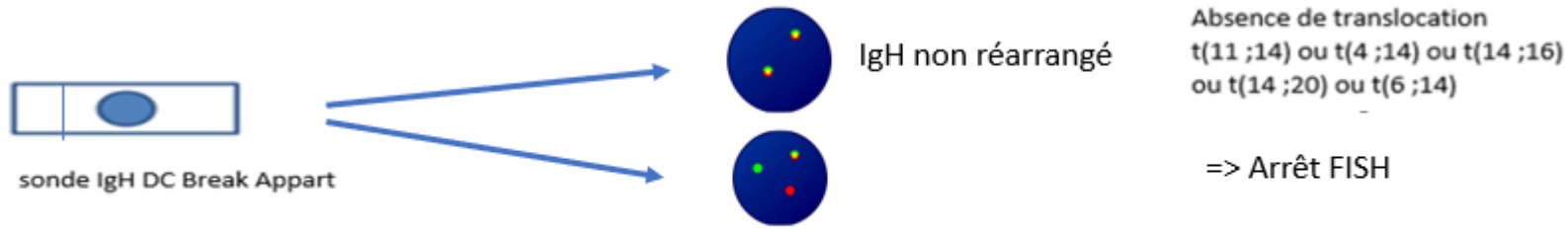


Normal    del 1p32.3    gain 1p21    amplification



sonde IgH DC Break Apart

# Arbre décisionnel en FISH, sonde IgH DC break Apart au laboratoire



**Split IgH : 1J,1R,1V**, profil souvent complexe : recherche d'un partenaire parmi les plus fréquemment identifiés

# Arbre décisionnel en FISH, sonde IgH DC break apart au laboratoire

 eurofins   Biomnis	<b>MYELOMES :</b> <b>CONDUITE A TENIR DEVANT UN IGH DC REARRANGE</b>	A-CYH-INT-065
		Version : 1

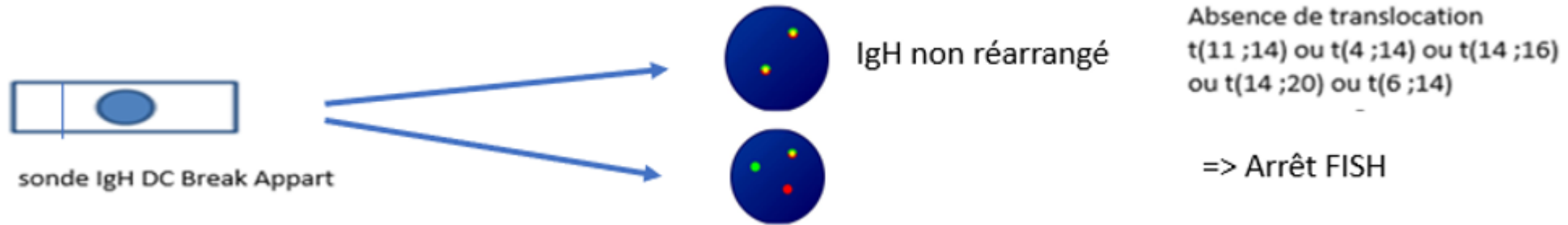
Résultat de l'IgH DC	commentaires	Conduite à tenir	
2J	Profil normal		
1J-1R-1V	Présence d'une translocation Profil classique	Lancer : IgH CCND1 puis IgH FGFR3 puis IgH MAF	
1J-1R = del 5'IgH perte du Vert coté télomérique,	-translocation déséquilibrée ? -perte d'un fragment d'IgH ?	Lancer IgH FGFR3 : cette translocation est très souvent déséquilibrée et donc ne pas être surpris d'avoir un profil atypique si positif : ex : 1J -2R -1V ou 1J-1R -1V etc...) Si IgH FGFR3 négatif (2R2V) lancer IGH-CCND1 puis IGH-MAF	Si 90% 1J1R1V pour IgH DC et 2R2V pour les 3 sondes, il ne s'agit pas d'une discordance mais : -soit d'une translocation déséquilibrée avec un partenaire non identifié, -soit d'une délétion 5'IgH. On ne peut affirmer l'un ou l'autre
1J-1V = del 3'IgH Perte du rouge coté centromérique	délétion del14q ? (délétion interstitielle) réarrangement atypique ?	Lancer IgH FGFR3 puis IgH MAF	Idem mais délétion 3'IgH
2R2V	Les 2 chromosomes 14 sont réarrangés	Lancer toutes les sondes	
1R1V	Un chr 14 réarrangé et perte d'un chr 14	Lancer IgH CCND1 puis IgH FGFR3 puis IgH MAF	
1J	-14		
3J	+14		

# Arbre décisionnel en FISH, sonde IgH DC break apart au laboratoire

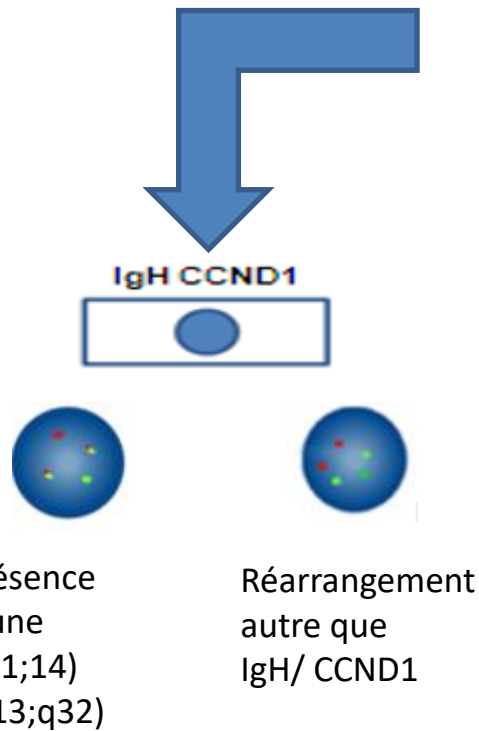
Résultat de l'IgH DC
2J
1J-1R-1V
1J-1R = del 5'IgH perte du Vert coté télomérique,
1J-1V = del 3'IgH Perte du rouge coté centromérique
2R2V
1R1V
1J
3J

Et bien d'autres encore : mélange de plusieurs clones

# Arbre décisionnel en FISH, sonde IgH DC break apart au laboratoire

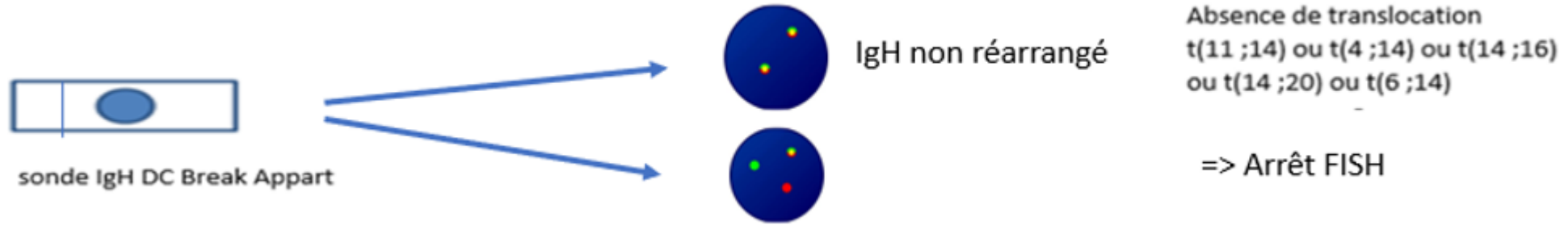


**Split IgH : 1J,1R,1V**, profil souvent complexe : recherche d'un partenaire parmi les plus fréquemment identifiés

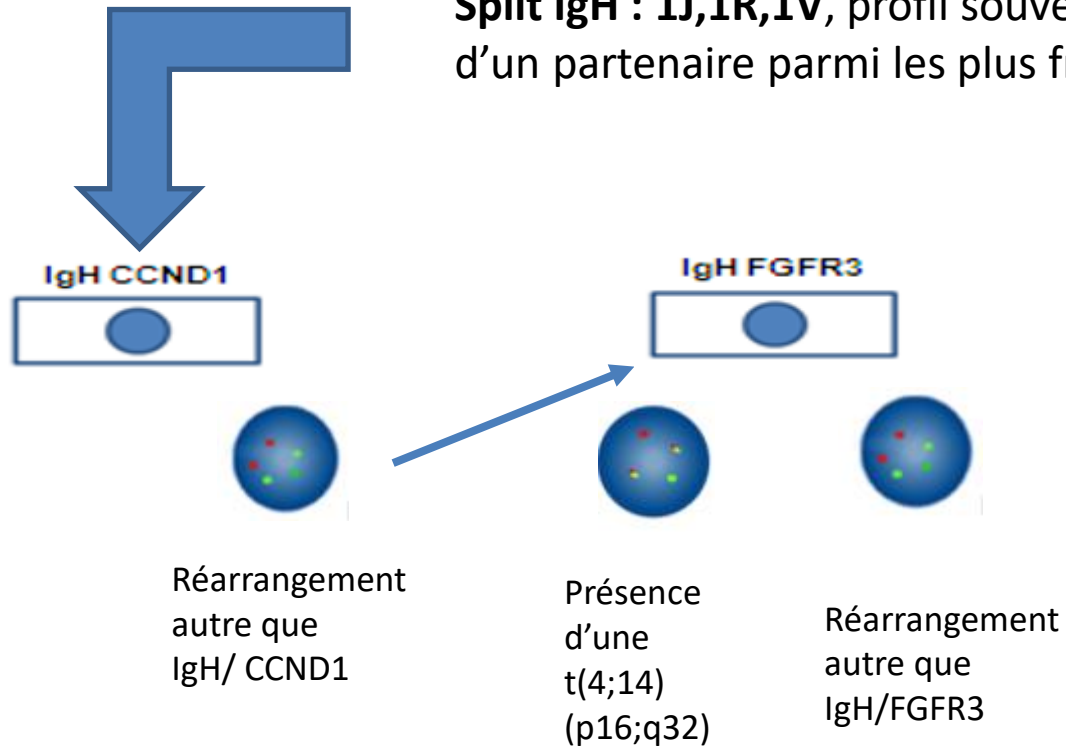




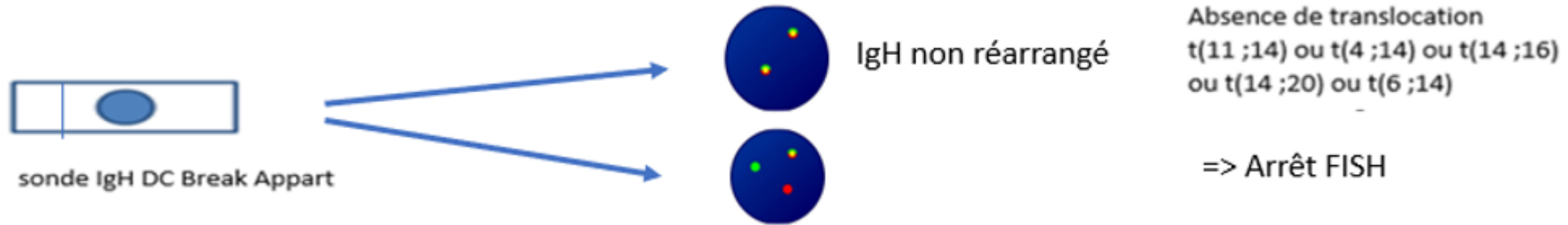
# Arbre décisionnel en FISH, sonde IgH DC, Bapart au laboratoire



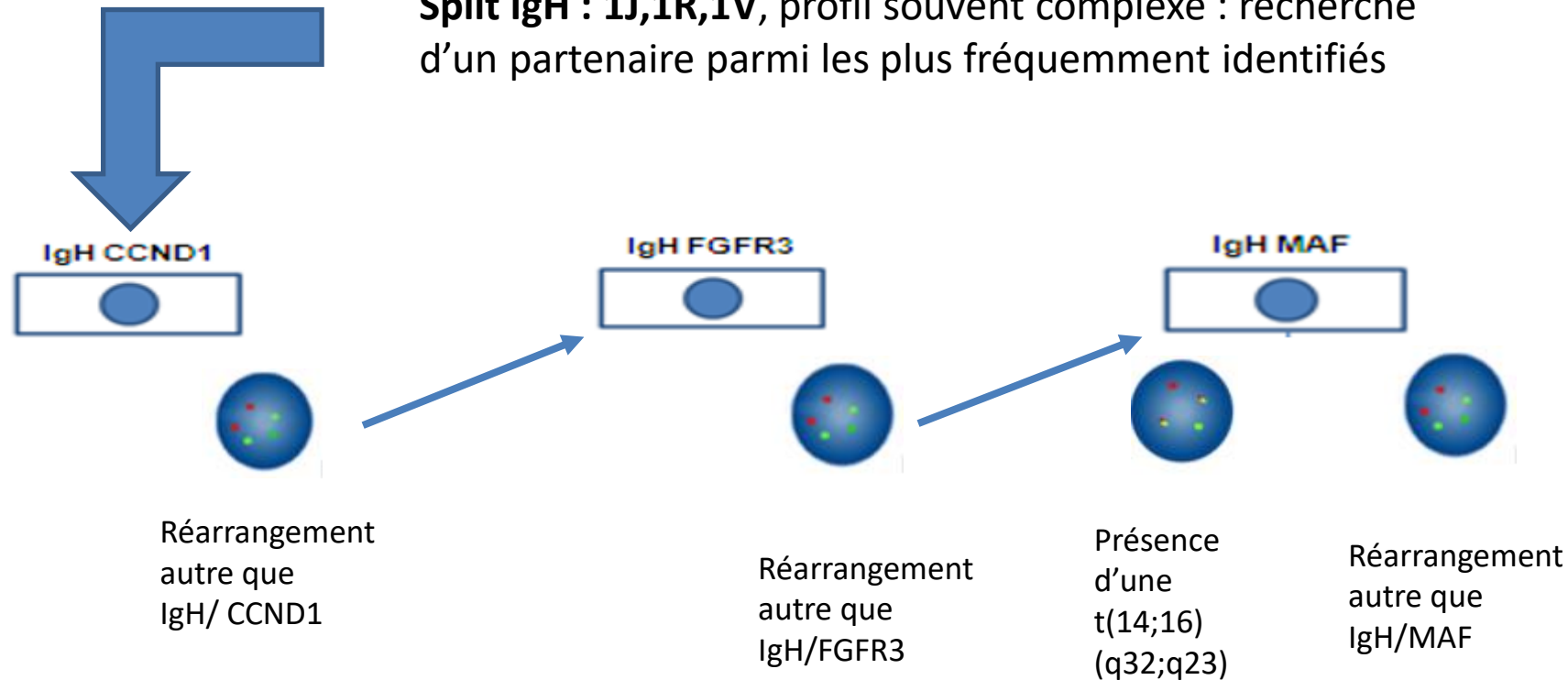
**Split IgH : 1J,1R,1V**, profil souvent complexe : recherche d'un partenaire parmi les plus fréquemment identifiés



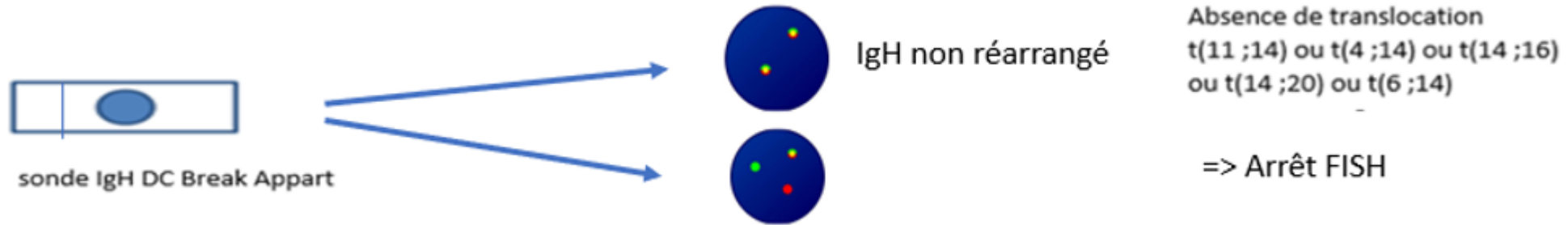
# Arbre décisionnel en FISH, sonde IgH DC, Bapart au laboratoire



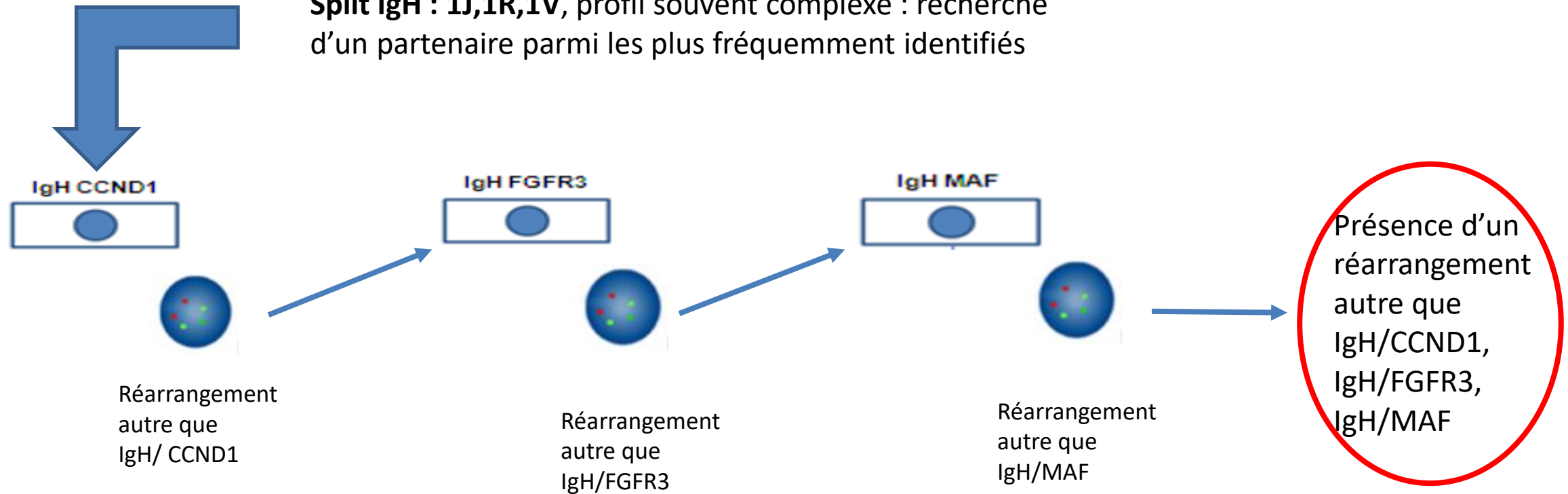
**Split IgH : 1J,1R,1V**, profil souvent complexe : recherche d'un partenaire parmi les plus fréquemment identifiés



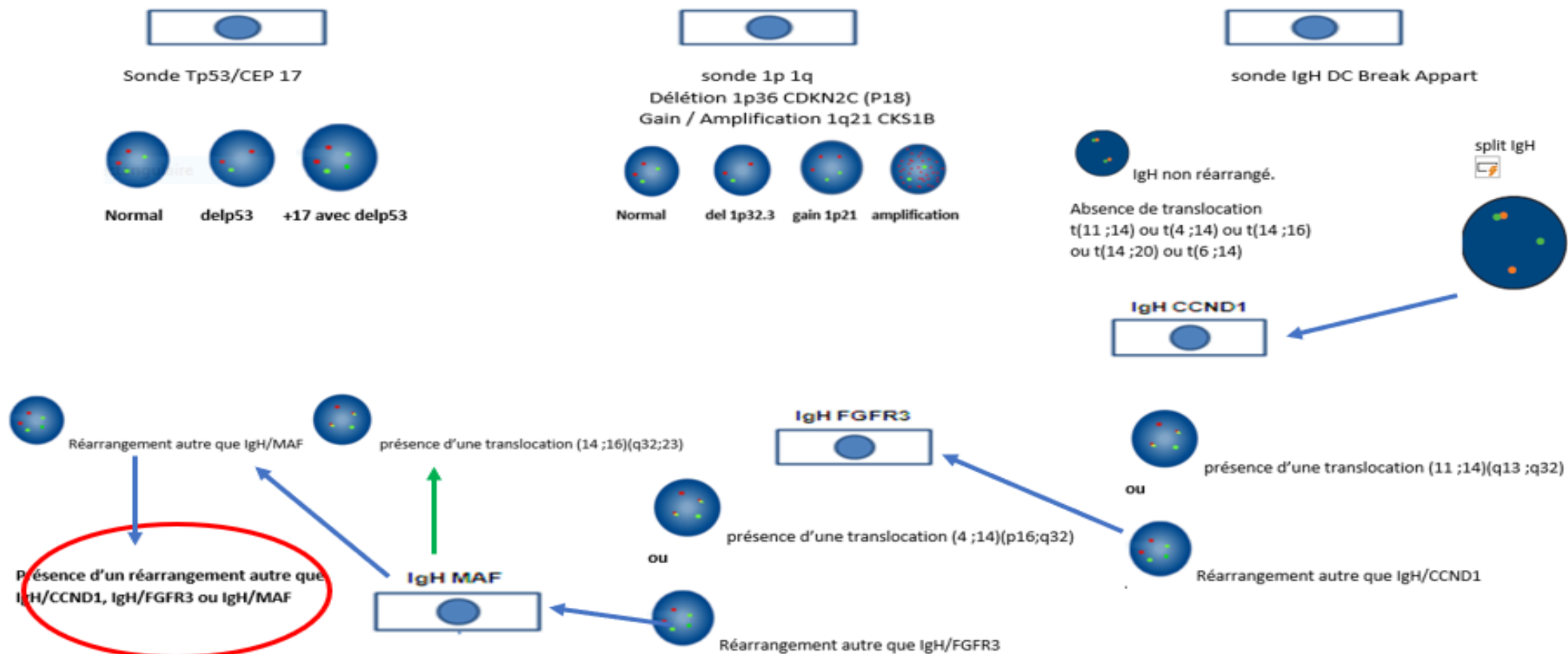
# Arbre décisionnel en FISH, sonde IgH DC, Bapart au laboratoire



**Split IgH : 1J,1R,1V**, profil souvent complexe : recherche d'un partenaire parmi les plus fréquemment identifiés



# Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Biomnis en 2022

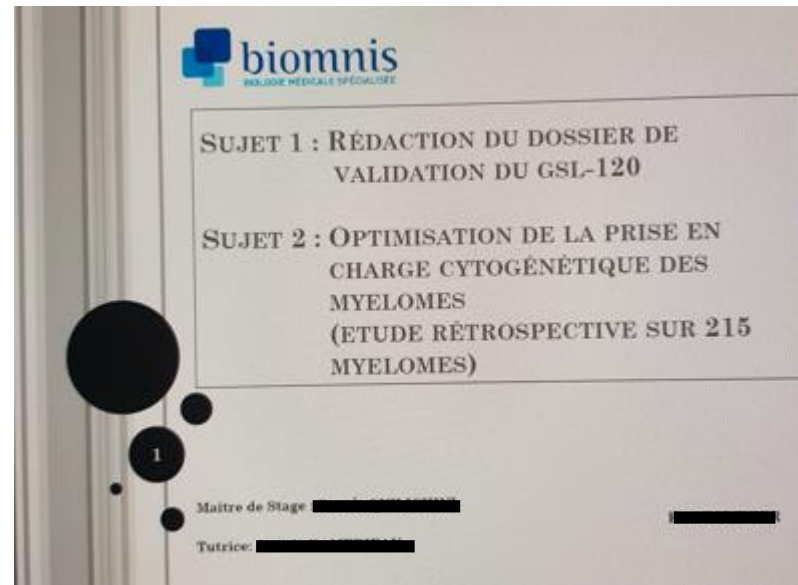
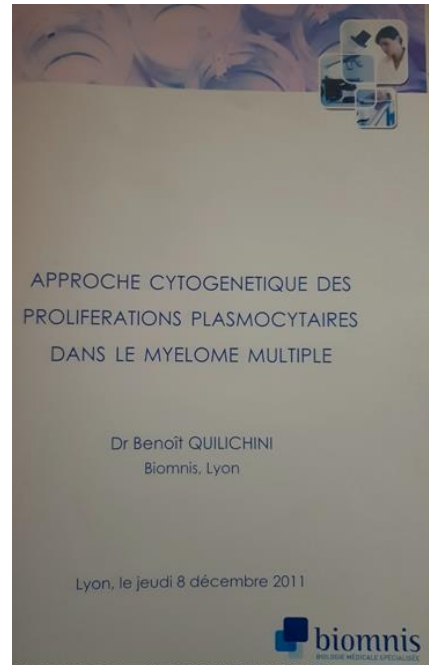


# Différences entre 2010 et 2022

**Pourquoi cette année ?**

# Différences entre 2010 et 2022

## Etudes sur nos myélomes



# Différences entre 2010 et 2022

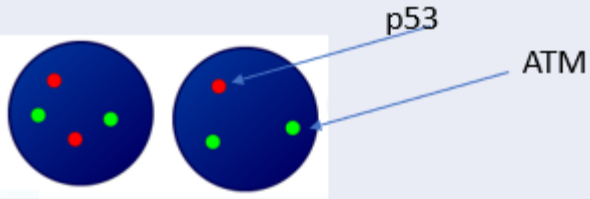
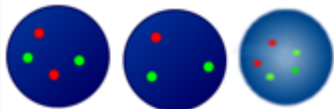
2010

Sonde p53/ATM

P53 en rouge et ATM (11q) en vert:  
Si 2 spots rouge,  
⇒ 2 p53 , sous entendu 2 chr 17  
Ou  
2 p53 mais 3 chr 17 avec délétion d'un p53 ?

**Information insuffisante**

# Différences entre 2010 et 2022

2010	2022
Sonde p53/ATM	Sonde Tp5317/CEP17
<p>P53 en rouge et ATM (11q) en vert: Si 2 spots rouge, ⇒ 2 p53 , sous entendu 2 chr 17 Ou 2 p53 mais 3 chr 17 avec délétion d'un p53 ?</p> <p><b>Information insuffisante</b></p> 	<p>TP53 en rouge, CEP17 en vert :</p> <p>2 rouge / 2 vert =&gt; chr 17 avec p53 non délétés</p> <p>2 rouge / 3 vert =&gt; 3 chr 17 avec une délétion p53</p> <p>2 rouge / 4 vert =&gt; clone del p53 dupliqué</p> <p>Statut p53 relié au chr 17 : <b>La sonde Tp53/CEP 17 permet de différencier les profils +17/del p53 : 3V/2R avec les profil 2R</b></p>  <p>⇒ <b>Pronostic défavorable</b></p>



# Différences entre 2010 et 2022

Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Biomnis en 2010



Sonde ATM-p53



Sonde 13q14-13q34-cep12



Sonde IgH Dual Color Break Apart

Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Eurofins-Biomnis en 2022



Sonde Tp53/CEP 17



sonde 1p 1q  
Déletion 1p36 CDKN2C (P18)  
Gain / Amplification 1q21 CKS1B



sonde IgH DC Break Apart

# Différences entre 2010 et 2022

2010
Sondes 13q/CEP 12 du kit LLC
Délétion 13q RB1 : facteur de mauvais pronostic

# Différences entre 2010 et 2022

2010	2022
Sondes 13q/CEP 12 du kit LLC	Plus recherché
Délétion 13q RB1 : facteur de mauvais pronostic	Plus considéré comme mauvais pronostic avec les thérapeutiques actuelles

# Différences entre 2010 et 2022

Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Biomnis en 2010



Sonde ATM-p53



Sonde 13q14-13q34-cep12



Sonde IgH Dual Color Break Apart

Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Eurofins-Biomnis en 2022



Sonde Tp53/CEP 17



sonde 1p 1q  
Déletion 1p36 CDKN2C (P18)  
Gain / Amplification 1q21 CKS1B



sonde IgH DC Break Apart

# Différences entre 2010 et 2022

2010	2022 (Depuis 2016)
Non recherché à cette époque	Sonde 1p 1q CDKN2 / CKSB1
	Recherche d'une délétion 1p36 CDKN2 Ou / et Gain/Amplification 1q21 CKSB1  => <b>Pronostic défavorable</b>

**HÉTÉROGÉNÉITÉ CLONALE ET ANOMALIES  
CYTOGÉNÉTIQUES DE MAUVAIS PRONOSTIQUE  
DÉTECTÉES PAR FISH INTERPHASIQUE DANS  
UNE SÉRIE DE 233 DIAGNOSTIQUES DE  
MYÉLOME MULTIPLE**

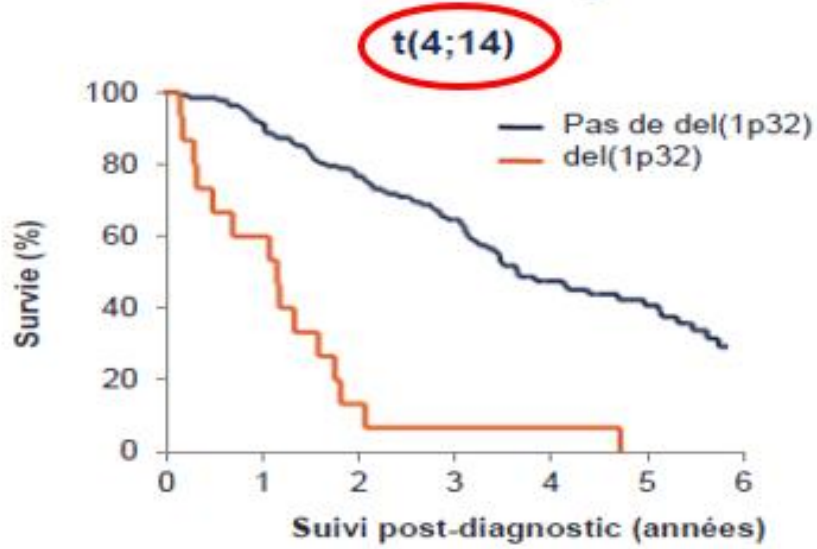
Thomas Smol, Annika Dufour, Christine Terré,  
Agnès Daudignon



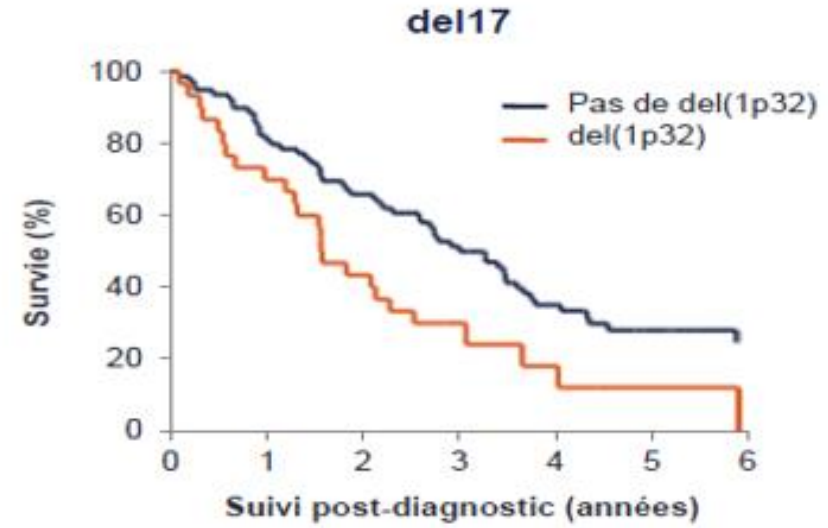
T. SMOL - SFH - 25 mars 2016

# Modulation des facteurs de haut risque cytogénétique dans le MM

## Modulation du risque par la del 1p32



Patients à risque							
—	142	130	109	76	40	26	12
—	15	9	2	1	1	0	0



Patients à risque							
—	79	64	52	37	22	12	7
—	31	21	13	5	3	1	0

Corre J, ASH 2016



# Différences entre 2010 et 2022



Sonde ATM-p53



Sonde 13q14-13q34-cep12



Sonde IgH Dual Color Break Apart

Pas de changements

## Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Eurofins-Biomnis en 2022



Sonde Tp53/CEP 17



sonde 1p 1q  
Délétion 1p36 CDKN2C (P18)  
Gain / Amplification 1q21 CKS1B



sonde IgH DC Break Apart



## Recommandations GFCH

Travail sur plasmocytes triés CD138+ : **FISH interphasique**

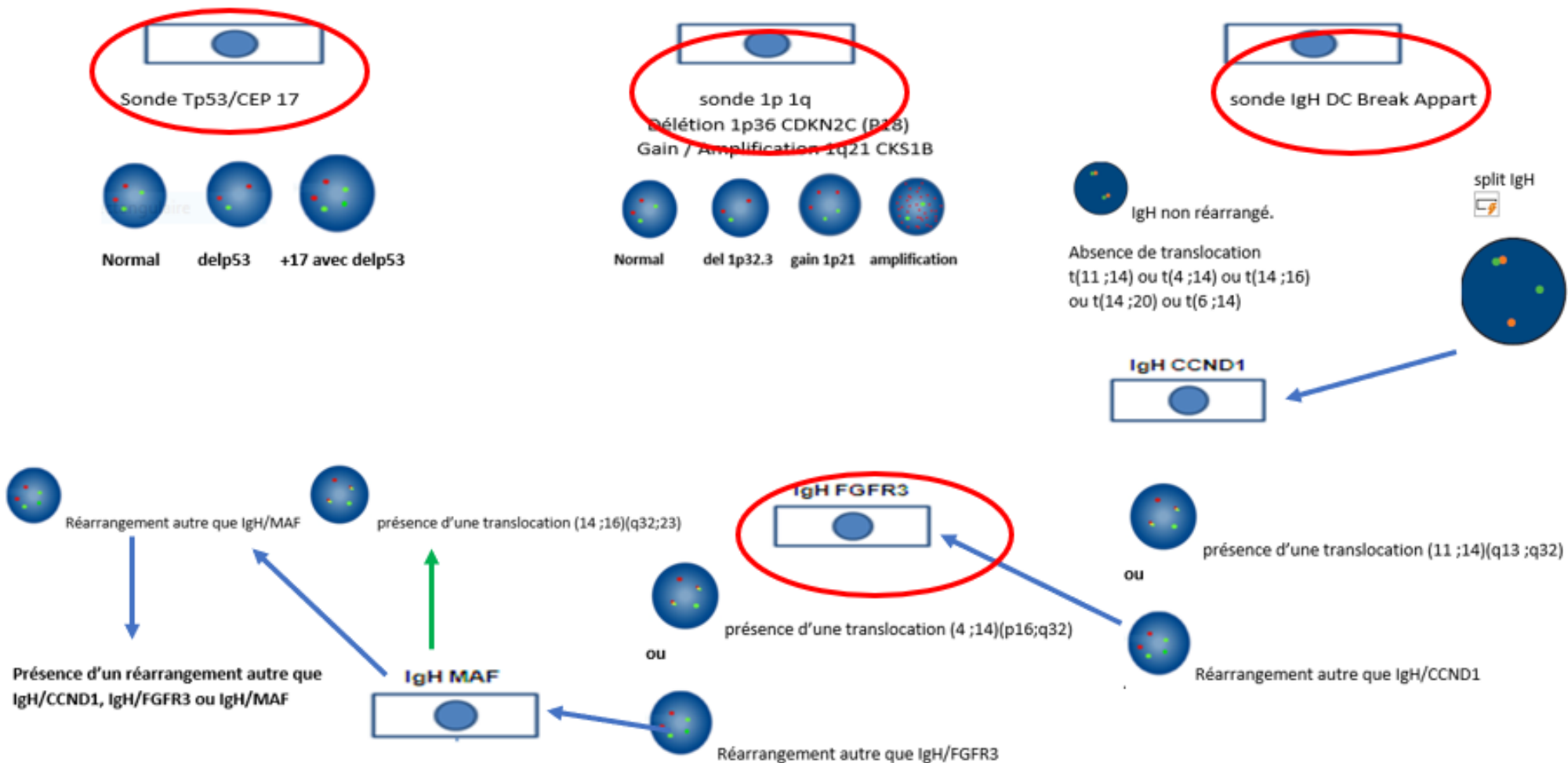
Nombreux marqueurs cytogénétiques étudiés

Recommandations 2016 GFCH : « prise en charge cytogénétique du MM »

Cibler les anomalies défavorables les plus fréquentes et pertinentes

	Marqueurs	Gènes ciblés
Panel minimum recommandé	del(17p13)	<i>TP53</i>
	t(4;14)(p13;q32)	<i>FGFR3-MMSET/IGH</i>
	gain 1q21	<i>CKS1B</i>
	del(1p32)	<i>CDKN2C-FAF1-FAM46C</i>

# Arbre décisionnel en FISH au laboratoire Biomnis en 2022



**Table 2: Scores and prognostic value of cytogenetic markers in MM**

Cytogenetic abnormality	Frequency	Working groups				
		ISS-R 2015	EMN 2018	EMN and IMWG 2019	Mayo Clinic 2020	IFM 2021
1p32 deletion <i>CDKN2C - FAF1</i>	7-17%		N	●		N (+ 0,8)
1q gain <i>CKS1B</i>	34-40%		N	●	N	N (+ 0,5)
t(4;14)(p16;q32) <i>IGH::TGFBR3</i>	15%	N	N	●	N	N (+ 0,4)
t(6;14)(p21;q32) <i>IGH::CCND3</i>	2%				S	
8q24 rearrangement <i>MYC</i>	15%			●		
t(11;14)(q13;q32) <i>IGH::CCND1</i>	20%		G	●	S	S
t(14;16)(q32;q23) <i>IGH::MAF</i>	2-3%	N	C	●	N	C
17p deletion <i>TP53</i>	5-15%	N	N	●	N	N (+ 1,2) (cut-off : 55%)
t(14;20)(q32;q12) <i>IGH::MAFB</i>	< 1%			●	N	
Hyperdiploidy +5/+9/+15/+21	55-60%		S	●	S	+5 : G : (- 0,3) +21 : N : (+ 0,3)
Additional data				Proposal of FISH targets to be analysed according to national recommendations in European countries	double/triple hits : N (any 2 or >=3 high risk factors)	cumulative cytogenetic impact value defines Low Risk ≤ 0 Intermediate Risk 0-1 High Risk > 1
References		Palumbo et al - JCO 2015	Caers et al - Haematologica 2018	Rack et al - Leukemia 2019	Rajkumar - Am J Hematol 2020	Perrot et al - JCO 2019 Corre et al - Blood 2021

N: Negative impact  
 G: Good prognosis  
 S: Standard prognosis  
 C: Controversial prognosis  
 IFM: Intergroupe Francophone du Myélome  
 EMN: European Myeloma Network  
 IMWG: International Myeloma Working Group

La version révisée du score de l'ISS est née d'un consensus de l'IMWG publié en 2016 et intègre en plus de la B2M sérique et de l'albuminémie, le dosage des LDH et les caractéristiques cytogénétiques des plasmocytes déterminées par technique FISH. Calcul du risque nul, intermédiaire ou élevé.



**Cas de Monsieur Jay UNMYELOME**  
**Prise en charge au laboratoire Eurofins-Biomnis**  
**en 2010 et en 2022**

**Que deviendrait Mr Jay Unmyélome diagnostiqué en 2010**



**s'il était diagnostiqué  
aujourd'hui ou demain ?**

# Mr Jay Unmyélome diagnostiqué en 2010

CYTOGENETIQUE HEMATOLOGIQUE #



## CARYOTYPE HEMATOLOGIQUE

Indication :	MYELOME
Prélèvement :	Moelle osseuse
Délai d'acheminement :	1 jour(s)
Volume de prélèvement :	T1 : 1250 µl
Numération des cellules totales :	T1 : 78 10 <sup>6</sup> /ml
Pourcentage de cellules mortes :	T1 : 2 %
Numération des cellules vivantes :	T1 : 76 10 <sup>6</sup> /ml
Culture :	96h / 72h
Technique de marquage :	RHG
Résolution (bph) :	400
Nombre de métaphases analysées :	20

## Résultat (selon l'ISCN 2016) :

90-92<4n>,XXYY,+der(1)add(1)(p11),del(6)(q21q26),i(8)(q10),dup(8)(q?q?t(11;14)(q13;q32)x2,13[cp6]/46,XY[14]

---

## Myélogramme (Microscopie optique) #

---

### Renseignements cliniques

Lésions osseuses + chaînes légères libres Kappa à 3351 mg/L.  
Absence de pic monoclonal à l'électrophorèse.

Hémogramme du 21/09/22 : Hb = 11,1 g/dL, VGM = 102 fL, plaquettes = 283 G/L, GB = 9,90 G/L, PNN = 5,77 G/L, lymphocytes = 3,01 G/L, monocytes = 1,05 G/L, PNE = 0,04 G/L, PNB = 0,03 G/L.

### Examen cytologique

Myélogramme constitué d'un sang médullaire de cellularité diminuée à correcte, sans réel grain de moelle permettant d'observer la trame conjonctive.

Présence d'exceptionnels mégacaryocytes sans anomalie morphologique.

On identifie surtout une infiltration diffuse par environ 75% de plasmocytes atypiques de petite taille au noyau rond et excentré, à la chromatine mottée parfois discrètement nucléolée et au cytoplasme modérément abondant et de basophilie intense avec un archoplasme bien conservé.

A côté, l'hématopoïèse résiduelle est composée de 15 à 20% granuleux essentiellement matures et de 5 à 10% de petits lymphocytes d'aspect banal.

Quasi absence d'érythroblastes.

### Conclusion

## ■ Myélogramme (Microscopie optique) # (suite)

---

Infiltration importante par environ 75% de plasmocytes évocateurs d'un Myélome Multiple à chaînes légères.

A confronter à l'ensemble du tableau clinique, radiologique et au reste du bilan biologique avec l'étude cytogénétique en cours afin d'évaluer les facteurs pronostiques.

**Conclusion :**

20 métaphases ont été analysées.

Pas d'anomalie clonale dans 14 métaphases.

6 métaphases présentent un caryotype complexe associant des anomalies de nombre (clone 4n avec perte d'un chromosome 13) et des anomalies de structure (dérivé de chromosome 1 surnuméraire, délétion del(6q), isochromosome des bras longs du chromosome 8, dérivé de chromosome 8 (duplication 8q?) et translocation t(11;14)(q13;q32)).

**HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE (FISH) HEMATOLOGIQUE**

L'analyse cytologique médullaire a mis en évidence la présence de 58% de plasmocytes (Compte Rendu transmis par le correspondant). La technique fish a été réalisée à partir de frottis médullaires. Le bilan FISH "Myélome Multiple" à visée pronostique réalisé au laboratoire biomnis détermine le statut du locus IgH en 14q32 et du locus p53 en 17p13.

Si un réarrangement du locus IgH est observé, les translocations les plus fréquemment décrites dans les Myélomes Multiples sont alors recherchées : t(11;14)(q13;q32)/IgH-CCND1, t(4;14)(p16;q32)/IgH-FGFR3 et t(14;16)(q32;q23)/IgH-MAF.

**Type de sondes utilisées :**

LSI TP53 Spectrum Orange / CEP17 Spectrum Green Probe (Abbott-Vysis)

LSI IGH@/CCND1 [t(11;14)(q13;q32)] Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe (Abbott-Vysis)

**Nombre de noyaux analysés : 100 seulement**



**Résultat (selon l'ISCN 2016) :**

nuc ish(TP53,D17Z1)x4[85/100]

nuc ish(CCND1x4)(IGHx5-6)(CCND1 con IGHx2)[21/100]

**Conclusion :**

L'hybridation in situ fluorescente réalisée à l'aide de la sonde TP53/CEP17 ne met pas en évidence de délétion du gène TP53 mais met en évidence la présence d'une tétrasomie 17 dans 85% des noyaux analysés (100 noyaux analysés) : clone 4n

L'hybridation in situ fluorescente réalisée à l'aide de la sonde IGH/CCND1 montre une fusion IGH/CCND1 dans 11% des noyaux analysés, équivalent moléculaire de la translocation t(11;14)(q13;q32) (100 noyaux analysés). A noter la présence d'un profil FISH atypique dans un clone 4n.

**AU TOTAL, ABSENCE DE FACTEUR PRONOSTIC PEJORATIF**

# Classification de Salmon & Durie

**Stade I** ⇒ médiane de survie : 62 mois

*Présence de tous ces critères :*

Hémoglobine >10 g/dl

Calcium sanguin normal : 2.1 à 2.5mmol/l

Radiographie osseuse normale ou une seule lésion

Pic monoclonal Ig faible :

IgG < 50 g/L, VN : 8-16g/l

IgA < 30 g/L : VN : 1.5-4g/l

Protéinurie de Bence-Jones < 4 g/24h

**Stade II** ⇒ médiane de survie: 44 mois

Ni stade I

Ni stade III

**Stade III** ⇒ médiane de survie : 29 mois

*Un ou plusieurs critères :*

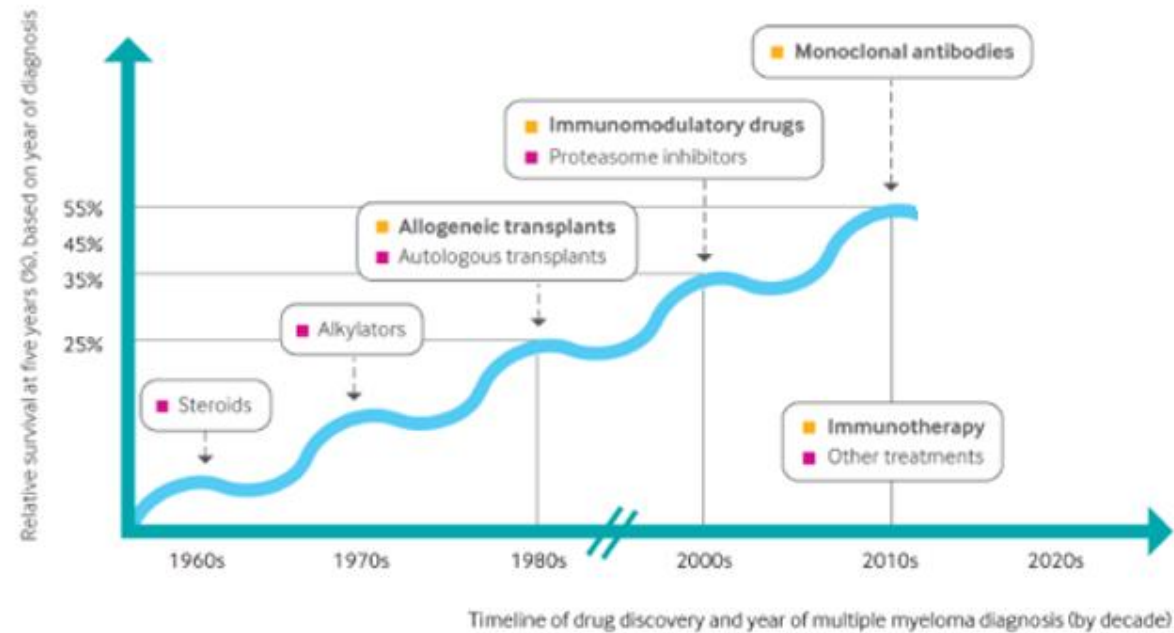
Hémoglobine < 8,5 g/dl

Calcium sanguin > 12 mg/dl ⇒ reflet de l'ostéolyse induite par la tumeur

# Traitements disponibles

90-92<4n>,XXYY,+der(1)add(1)(p11),del(6)(q21q26),i(8)(q10),dup(8)(q?q? .t(11;14)(q13;q32)x2, 13[cp6]/46,XY[14]

## Multiple Myeloma: Evolution of MM Treatment



# Traitements disponibles

90-92<4n>,XXYY,+der(1)add(1)(p11),del(6)(q21q26),i(8)(q10),dup(8)(q? q? **t(11;14)(q13;q32)x2**, 13[cp6]/46,XY[14]

Le CD20 peut être surexprimé par les MM (11;14) IgH/CCND1

Les MM CCND1 sont caractérisés par une dépendance à BCL2

Intérêt de l'identification de patients pouvant bénéficier d'inhibiteurs de BCL2  
VENETOCLAX (administré en cas de rechute)

# Mr Jay Unmyélome diagnostiqué aujourd'hui

CYTOGENETIQUE HEMATOLOGIQUE #



## CARYOTYPE HEMATOLOGIQUE

Indication :	MYELOME
Prélèvement :	Moelle osseuse
Délai d'acheminement :	1 jour(s)
Volume de prélèvement :	T1 : 1250 µl
Numération des cellules totales :	T1 : 78 10 <sup>6</sup> /ml
Pourcentage de cellules mortes :	T1 : 2 %
Numération des cellules vivantes :	T1 : 76 10 <sup>6</sup> /ml
Culture :	96h / 72h
Technique de marquage :	RHG
Résolution (bph) :	400
Nombre de métaphases analysées :	20

## Résultat (selon l'ISCN 2016) :

90-92<4n>,XXYY,+der(1)add(1)(p11),del(6)(q21q26),i(8)(q10),dup(8)(q?q?.t(11;14)(q13;q32)x2, 13[cp6]/46,XY[14]

### **Conclusion :**

20 métaphases ont été analysées.

Pas d'anomalie clonale dans 14 métaphases.

6 métaphases présentent un caryotype complexe associant des anomalies de nombre (clone 4n avec perte d'un chromosome 13) et des anomalies de structure (dérivé de chromosome 1 surnuméraire, délétion del(6q), isochromosome des bras longs du chromosome 8, dérivé de chromosome 8 (duplication 8q?) et translocation t(11;14)(q13;q32)).

### **HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE (FISH) HEMATOLOGIQUE**

L'analyse cytologique médullaire a mis en évidence la présence de 58% de plasmocytes (Compte Rendu transmis par le correspondant). La technique fish a été réalisée à partir de frottis médullaires. Le bilan FISH "Myélome Multiple" à visée pronostique réalisé au laboratoire biomnis détermine le statut du chromosome 1, du locus IgH en 14q32 et du locus p53 en 17p13. Si un réarrangement du locus IgH est observé, les translocations les plus fréquemment décrites dans les Myélomes Multiples sont alors recherchées : t(11;14)(q13;q32)/IgH-CCND1, t(4;14)(p16;q32)/IgH-FGFR3 et t(14;16)(q32;q23)/IgH-MAF.

### **Type de sondes utilisées :**

LSI TP53 Spectrum Orange / CEP17 Spectrum Green Probe (Abbott-Vysis)

**XL CDKN2C (P18) / CKS1B Amplification/Deletion Probe (MetaSystem)**

LSI IGH@/CCND1 [t(11;14)(q13;q32)] Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe (Abbott-Vysis)

**Nombre de noyaux analysés : 100 seulement**

**Résultat (selon l'ISCN 2016) :**

nuc ish(TP53,D17Z1)x4[85/100]

nuc ish(CDKN2Cx5),(CKS1Bx4)[85/100]

nuc ish(CCND1x4)(IGHx5-6)(CCND1 con IGHx2)[21/100]

**Conclusion :**

L'hybridation in situ fluorescente réalisée à l'aide de la sonde TP53/CEP17 ne met pas en évidence de délétion du gène TP53 mais met en évidence la présence d'une tétrasomie 17 dans 85% des noyaux analysés (100 noyaux analysés) : clone 4n

L'hybridation in situ fluorescente réalisée à l'aide de la sonde CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe (METASYSTEM) montre un gain 1q dans 85% des noyaux analysés (100 noyaux analysés) au sein du clone 4n.

L'hybridation in situ fluorescente réalisée à l'aide de la sonde IGH/CCND1 montre une fusion IGH/CCND1 dans 11% des noyaux analysés, équivalent moléculaire de la translocation t(11;14)(q13;q32) (100 noyaux analysés). A noter la présence d'un profil FISH atypique dans un clone 4n.

**AU TOTAL, PRESENCE D'UN SEUL FACTEUR CYTOGENETIQUE DE PRONOSTIC PEJORATIF (GAIN 1q).**

# Côté phéno :

## HEMATOLOGIE Onco-Hématologie

### Plasmocytes

Indications	Myélome?
Nature de prélèvement	Moëlle osseuse
Plasmocytes (%) par CMF	70 %
Plasmocytes (%) au contrôle cytologique	

Présence de très nombreux plasmocytes d'aspect pathologique.

### Profil antigénique

CD138+ CD38+ CD19- CD56+ CD27f CD200- CD45f  
f = expression faible, F = expression forte

Profil normal : CD38+ CD138+ CD19+ CD56- CD27+ CD200-/faible CD45+

Kappa	0	%
Lambda	100	%
Plasmocytes pathologiques/plasmocytes totaux	100	%

\* Si ratio >97%, en faveur d'un myélome

Lymphocytes B - cellules lymphoïdes totales	6	%
Kappa/lymphocytes B	46	%
Lambda/lymphocytes B	45	%

Conclusion

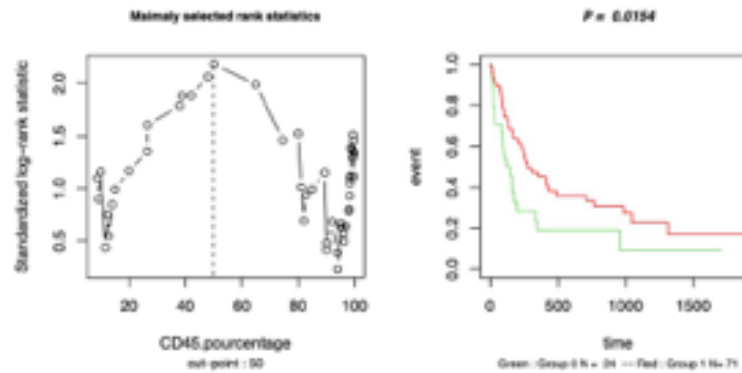
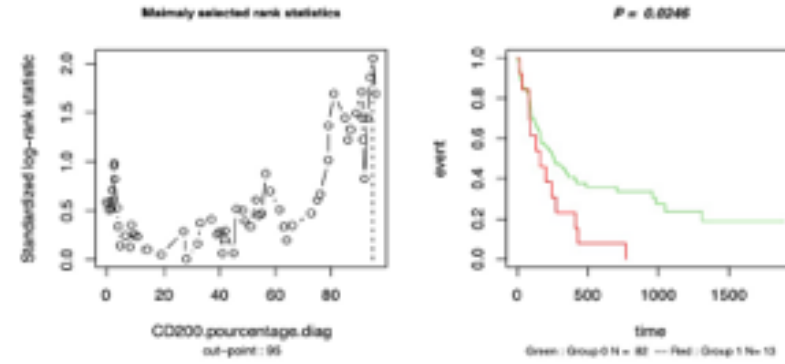
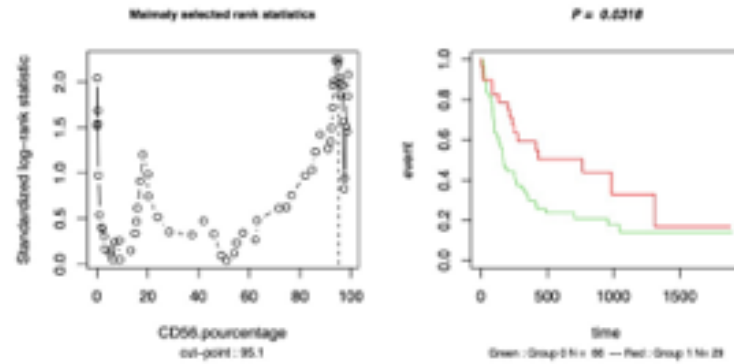
Présence de 70% de plasmocytes pathologiques : profil en faveur d'un myélome.

A confronter au reste du bilan, en particulier au myélogramme (technique de référence pour l'évaluation de la plasmocytose médullaire).



Côté phéno :

## CMF et réponse aux Acs Anti-CD38



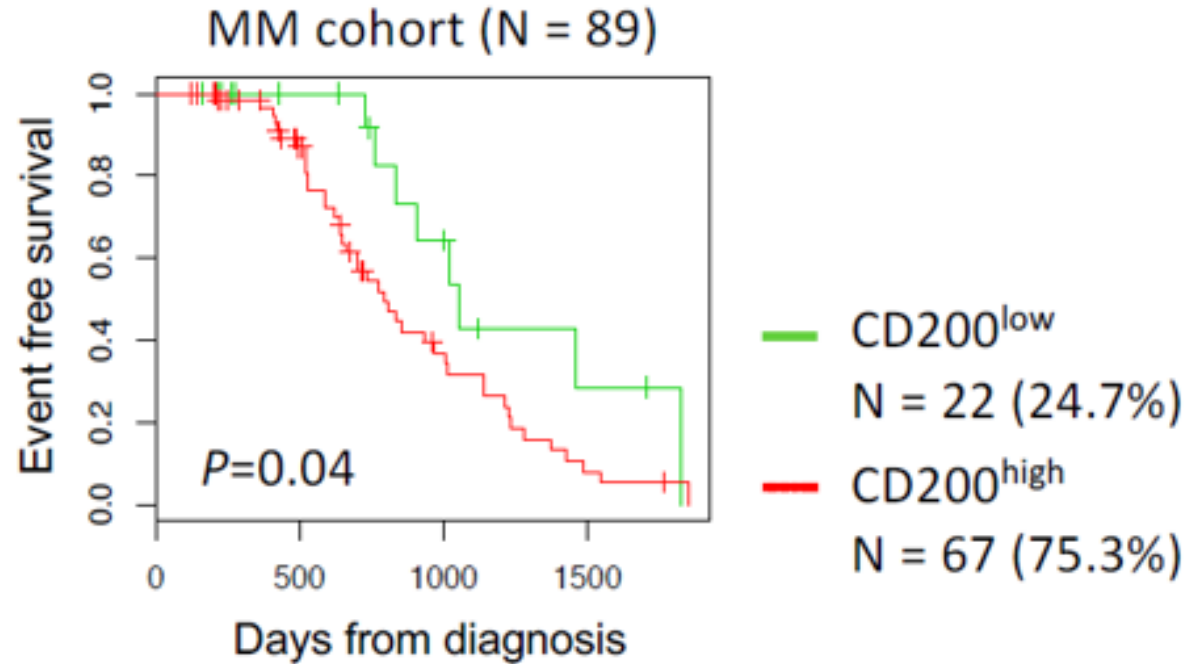
Forte expression de CD56 : Meilleure réponse au Dara. CD56+

Forte expression de CD45 : Meilleure réponse au Dara. CD45f

Forte expression de CD200 : Rechute plus rapide

DARA = DARATUMUMAB

## CD200 expression is associated with poor outcome

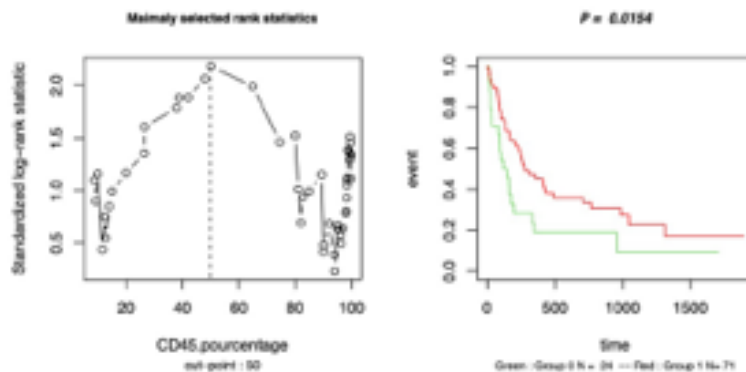
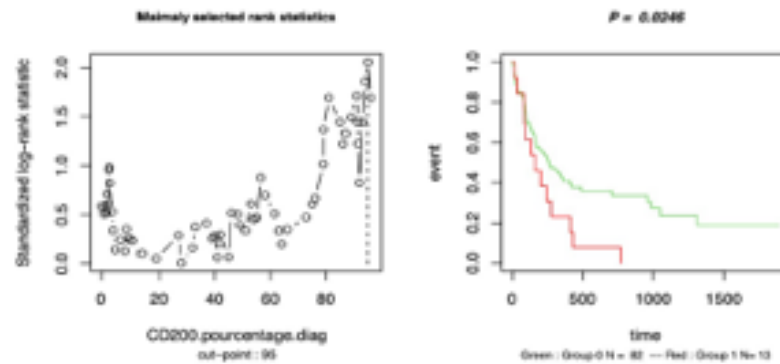
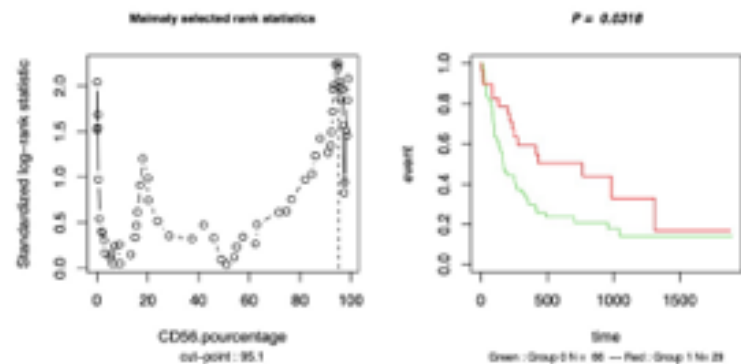


1 500 jours : environ 4 ans

L'expression du CD200 **F** est associée à un pronostic péjoratif

Côté phéno :

## CMF et réponse aux Acs Anti-CD38



Forte expression de CD56 : Meilleure réponse au Dara.

CD56+

Forte expression de CD45 : Meilleure réponse au Dara.

CD45f

Forte expression de CD200 : Rechute plus rapide

CD200- OUF un peu d'espoir !

MRD negativity: A predictor of superior clinical outcome in MM

# Traitements disponibles

Caryotype :

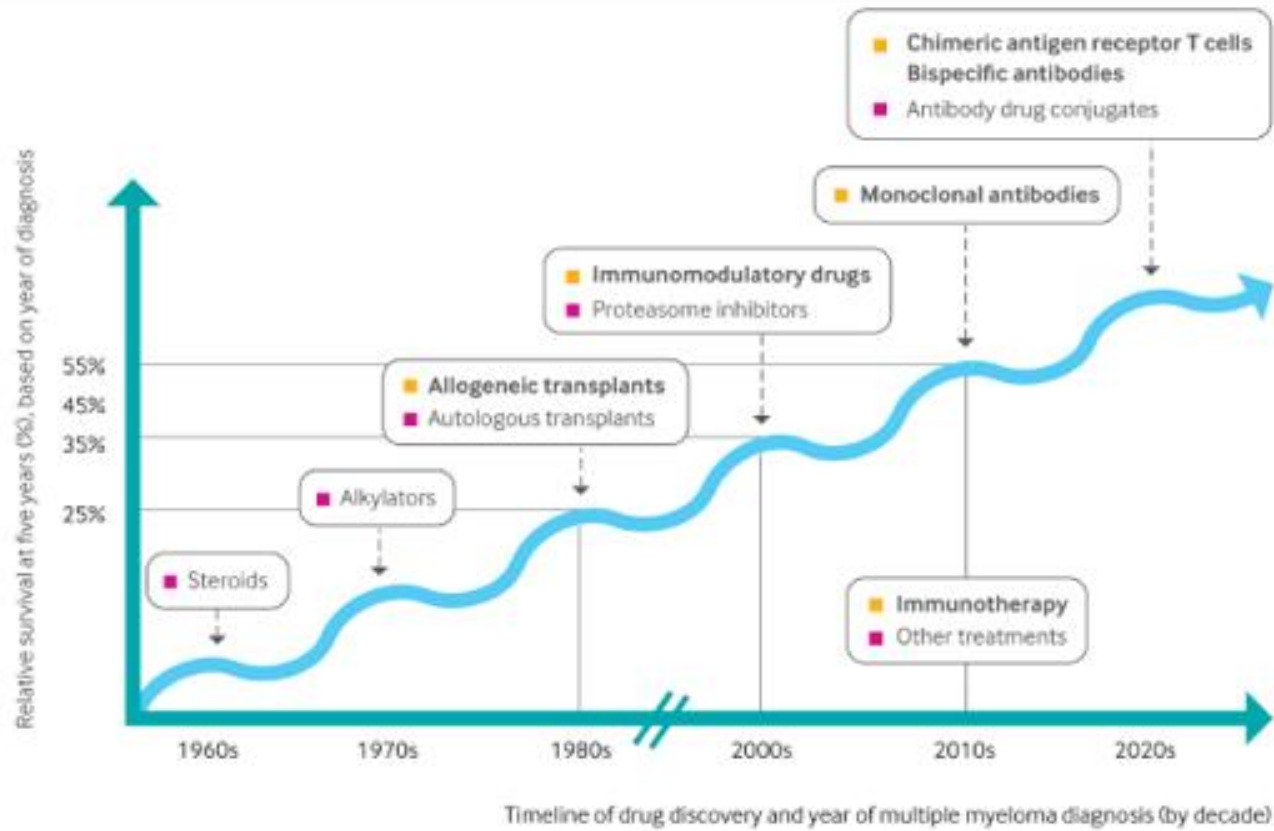
90-92<4n>,XXYY,+der(1)add(1)(p11),del(6)(q21q26),i(8)(q10),dup(8)(q? q? t(11;14)(q13;q32)x2, 13[cp6]/46,XY[14]

Immunophénotypage:

CD138+ CD38+ CD19- CD56+ CD27f CD200- CD45f  
f = expression faible, F = expression forte

# Traitements disponibles

## Multiple Myeloma: Evolution of MM Treatment

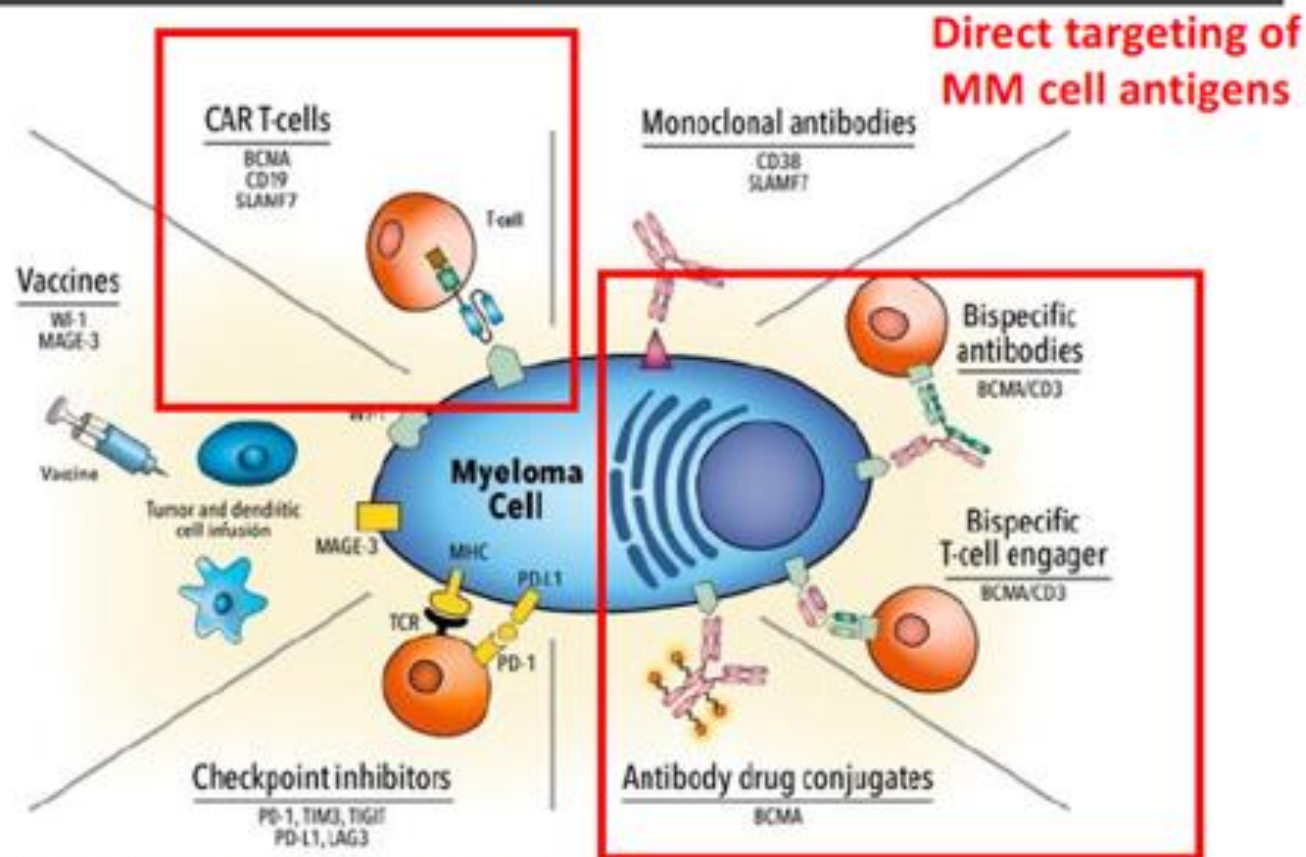


# Traitement du MM symptomatique en 2020 disponibles

- **Corticoïdes:** dexaméthasone, prednisone
- **Chimiothérapie antimétoprotéique « classique »**
  - Melphalan (low ou high dose), Cyclophosphamide, Bendamustine
  - Adriamycine (liposomiale, en association avec bortezomib)
- **Inhibiteurs du protéasome**
  - Bortezomib, Carfilzomib, Ixazomib
- **Immunomodulateurs IMiD**
  - Thalidomide, Lénalidomide, Pomalidomide
- **Inhibiteur d'histone déacétylase:** Panobinostat (en association avec bortezomib)
- **Anticorps monoclonaux monospécifiques**
  - Daratumumab Isatuximab (CD38)
  - Elotuzumab (SLAMF7)
- **Proapoptotique**
  - Anti-bcl-2 venetoclax
- **Anticorps bispécifiques**
  - CD3/CD38
  - CD3/BCMA
- **CART-cells**
  - CD38
  - BCMA

## Multiple Myeloma: Immunotherapy

BCMA = cible majeure des traitements par immunothérapies dans le MM



Direct targeting of MM cell antigens

Restoring immune response/ decrease immune suppression

Suivi au laboratoire des patients atteints de MM :

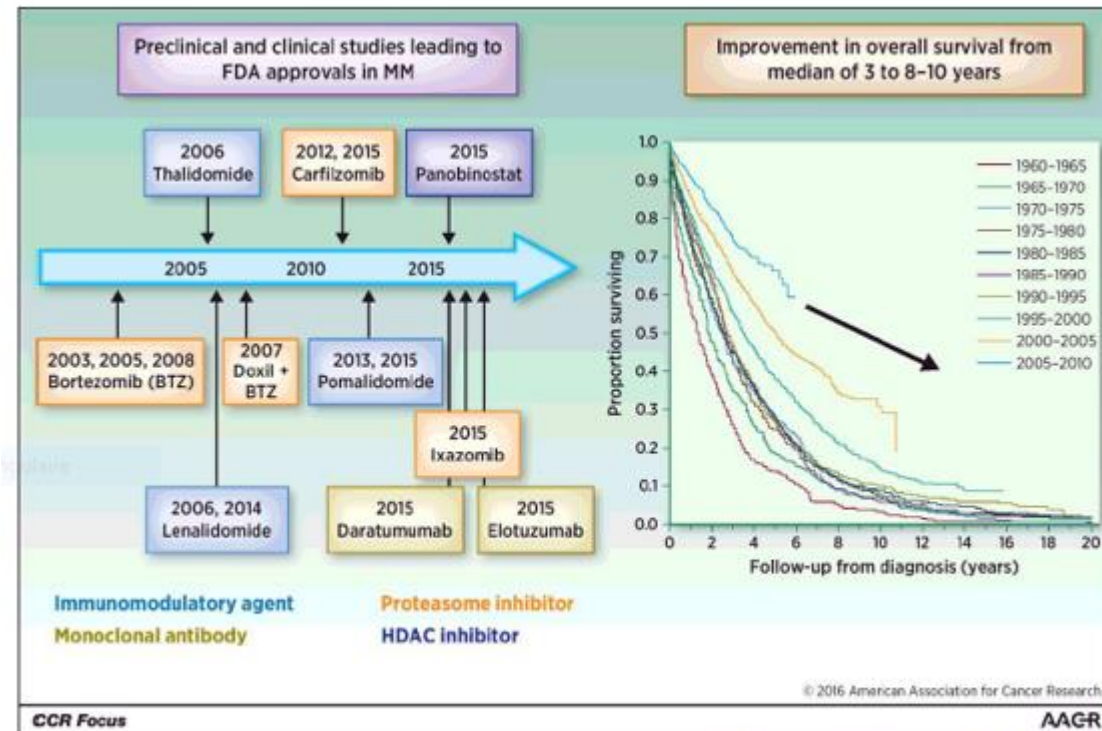
FISH : anomalie présente au diagnostic + si TP53 était négatif au diagnostic, recherche d'une délétion TP53

En cytométrie : recherche de la MRD avec lyse macrovolume pour traiter un très grand échantillon de cellules , pas réalisé dans notre laboratoire

Les examens de laboratoire évoluent très vite, quels seront les nouveaux tests dans un futur proche ?



# Le myélome est considéré comme une maladie chronique aujourd'hui grâce aux progrès diagnostiques et thérapeutiques



Anderson Clin cancer Res 2016



COLLOQUE  
**ATC**

ASSOCIATION DES TECHNICIENS  
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30  
SEPTEMBRE  
2022

Centre de Rencontres  
Internationales et de Séjour

**DIJON**

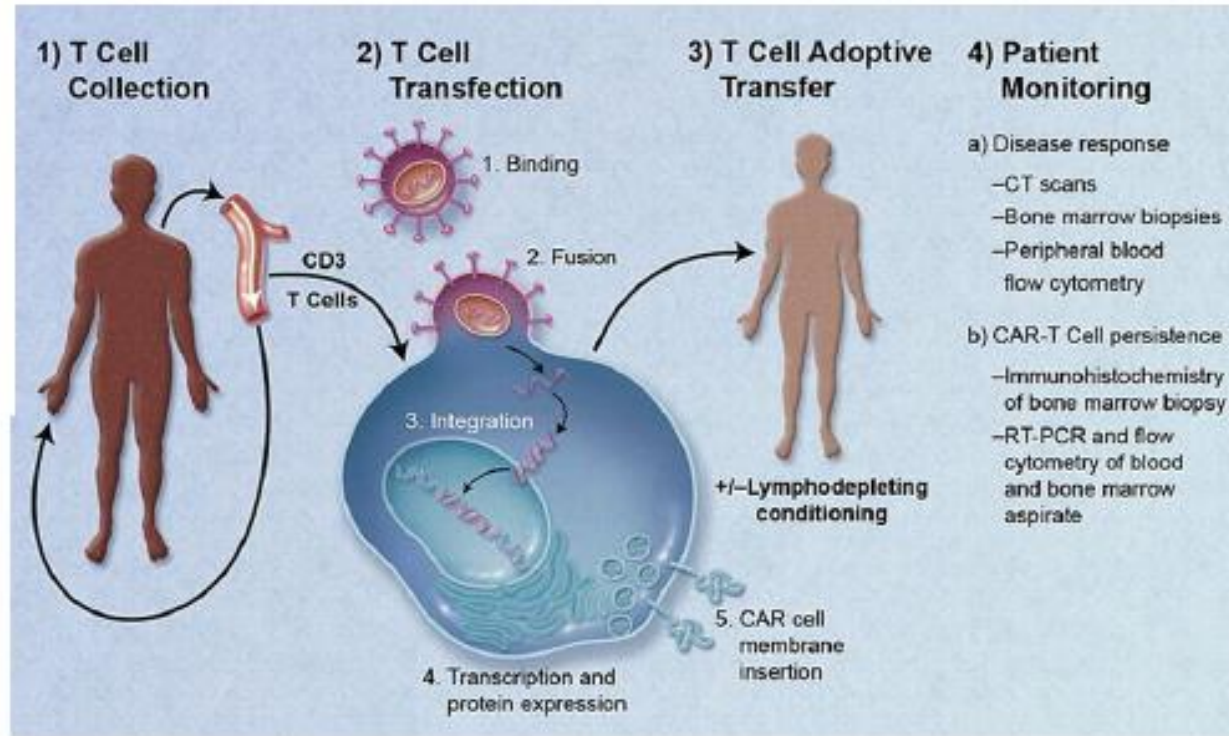
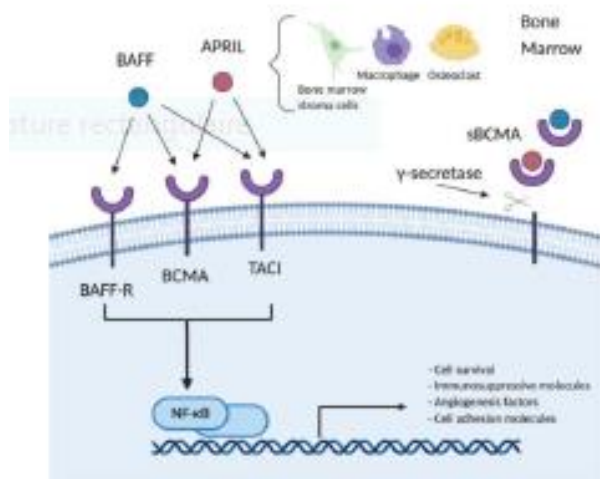
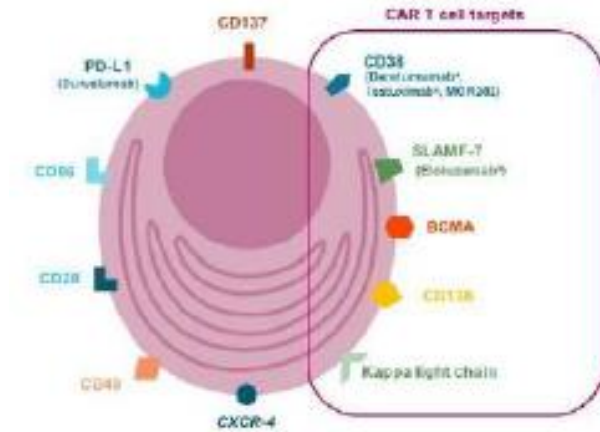


**Nous remercions tous nos collègues qui ont  
participé de près ou de loin à la réalisation de  
cette présentation**

**Et vous pour votre attention !**

# Nouvelles approches thérapeutiques

## CART - cells et anticorps bi-spécifiques

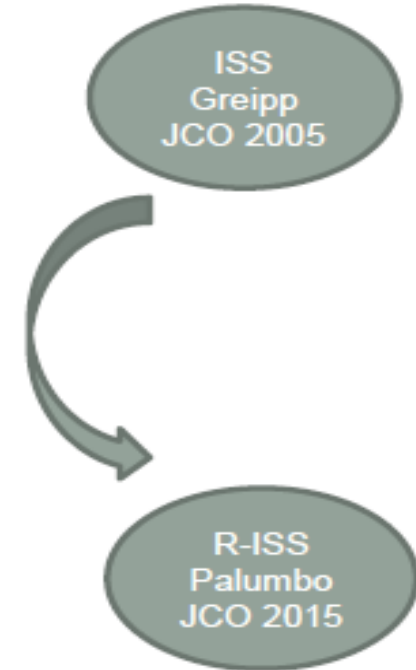


# Scores pronostiques

Stade	Critère	Survie médiane
I	$\beta 2$ -microglobuline < 3,5 mg/l ET Albumine $\geq 35$ g/l	62 mois
II	Ni I ni III	44 mois
III	$\beta 2$ -microglobuline $\geq 5,5$ mg/l	29 mois

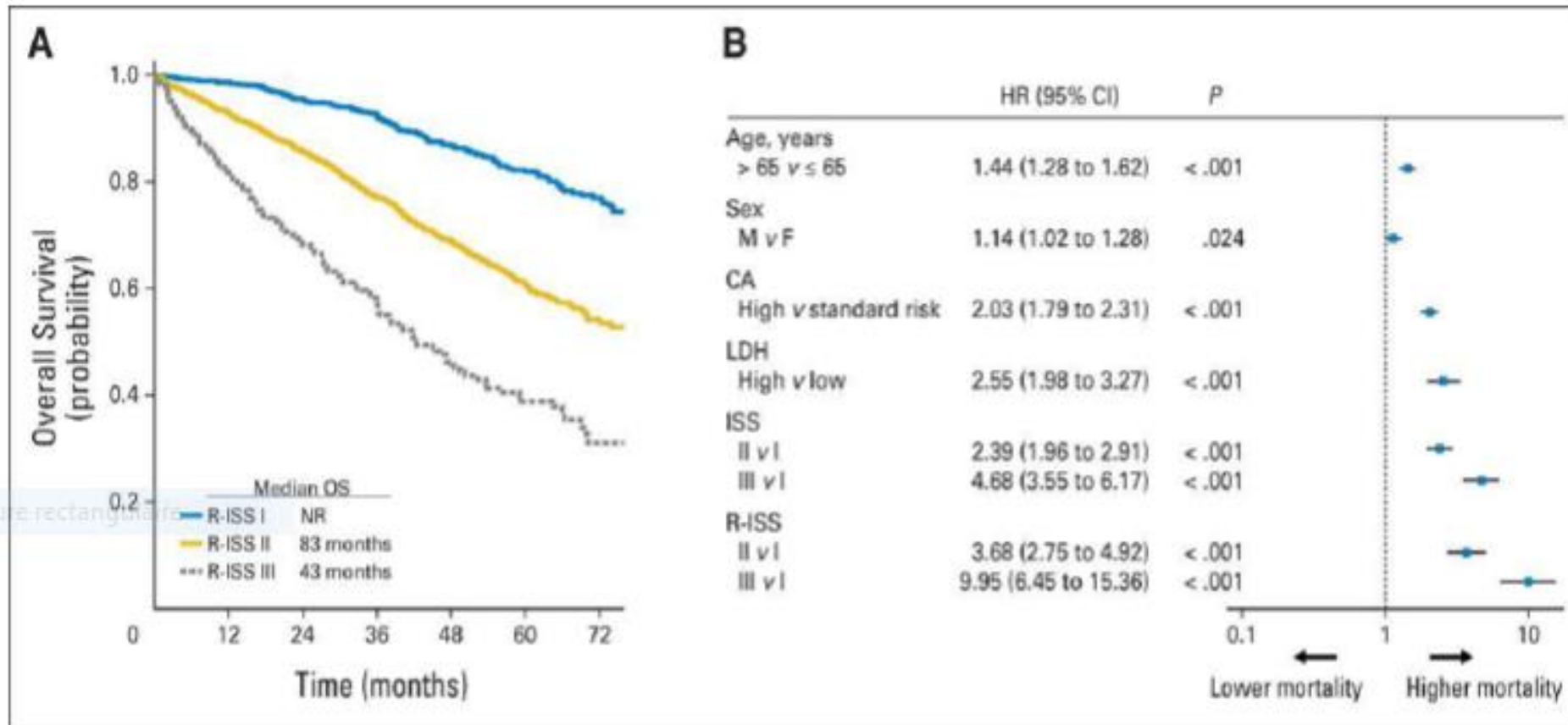
Stade	Critère	Survie à 5 ans
I	ISS I ET Risque cytogénétique standard LDH normal	82%
II	Ni I ni III	62%
III	ISS non I ET Risque cytogénétique élevé ou LDH > normal	40%



Risque cytogénétique élevé :

- Del(17p)
- t(4;14)
- t(14;16)

# Score ISS révisé



Palumbo JCO 2015

