

Moelle osseuse

1. Introduction

Les biopsies de la moelle osseuse, habituellement pratiquées dans la *partie supérieure de la crête iliaque postérieure*, sont effectuées pour la stadification du lymphome, la dyskrasie plasmocytaire, y compris le diagnostic des gradients M, cytopénies, anémies, cytoses, leucémies myéloblastiques, ainsi que dans le cadre d'investigations en cas de suspicion de splénomégalie, d'infections chroniques suspectes et de fièvre d'origine indéterminée, pour le traitement et le contrôle de l'évolution de néoplasies hématologiques et après une greffe de moelle osseuse ou de cellules souches, lors de la stadification de tumeurs solides, particulièrement chez les enfants (p. ex. neuroblastome) ainsi que pour certains autres problèmes cliniques (Bain, 2001 ; Campbell et al, 2003 ; Cotelingam, 2003 ; Diebold et al, 2000 ; Fend, 2013 ; Foucar et al, 2010 ; Weinzierl et al, 2013).

2. Données cliniques

Les informations cliniques suivantes sont primordiales pour un diagnostic histopathologique intégratif des biopsies de moelle osseuse :

- Diagnostic clinique (de suspicion)
 - Motif de la biopsie (p. ex. stadification du lymphome, diagnostic d'une leucocytose, pancytopénie, etc.)
- Hémogramme actuel avec numération différentielle
 - Informations sur les néoplasies (hématologiques) connues, y compris les chimiothérapies / radiothérapies / immunothérapies réalisées
 - Informations sur d'autres maladies systémiques (p. ex. inflammations granulomateuses, maladies auto-immunes, maladies de surcharge, etc.)
 - Informations sur les traitements actuels ou antérieurs, en particulier tout traitement myélotoxique/myélosuppresseur (azathioprine, arsenic, etc.), toute exposition aux facteurs de croissance hématopoïétiques (érythropoïétine, facteurs Colonie-stimulants (CSF) G ou GM, agonistes du récepteur de la thrombopoïétine, interféron, etc.)
 - Informations sur les greffes autologues/syngéniques ou allogéniques de cellules souches (moelle osseuse) ou les greffes d'organes antérieures
 - Informations sur les maladies virales aiguës ou chroniques (EBV, HBV, HCV, HHV8, Parvo-B19, etc.) ou toute autre infection
 - Informations sur la présence d'organomégalies
 - Tout autre résultat/information pertinent (p. ex. résultats de l'aspiration cytologique, des analyses en flux/FACS, de la cytogénétique, etc.).

3. Macroscopie

- Nombre
- Longueur

- Diamètre du ou des perforateurs de moelle osseuse et de tout caillot de sang.

Une longueur ≥ 20 mm chez les adultes et ≥ 5 mm chez les enfants est généralement considérée comme adéquate pour le diagnostic (Campbell et al., 2003 ; Foucar et al., 2010 ; Reid et Roald, 1996).

- Les parties cartilagineuses peuvent être enlevées avant la décalcification au cours du traitement macroscopique.

4. Traitement du tissu

- Fixation de routine dans une solution de formol tamponnée à 10 % pendant 24 à 72 heures au minimum.
- Décalcification principalement par l'EDTA (éthylènediaminetétraacétique) à 14 % pendant 8 à 48 heures au maximum
 - Possibilité de l'accélérer par l'utilisation d'équipement de laboratoire
 - Éliminer tout résidu de solution décalcifiante avant de poursuivre la déshydratation afin d'éviter d'endommager de manière permanente les macromolécules (en particulier l'ADN)

5. Colorations

Au moins 5 lames pour l'évaluation optique conventionnelle, colorées avec/selon (Stuart-Smith et al., 2005) :

- Hématoxyline et éosine [1^{re} et 5^e coupe pour augmenter la probabilité de détection de lésions focales (Brynes et al., 1978)]
- PAS (2^e coupe)
- Giemsa (3^e coupe)
- Gomori (4^e coupe).

5.1. Coloration **PAS** :

- 5.1.1. Meilleure analyse quantitative et qualitative de la myélopoïèse et de la mégacaryopoïèse, et détection des formes pathologiques des mégacaryocytes (taille réduite ou forme typique de la LMC)
- 5.1.2. Détection des corps de Russel et de Dutcher dans le plasma et les cellules plasmacytoïdes
- 5.1.3. Caractérisation des éventuelles inclusions dans les histiocytes
- 5.1.4. Détection, p. ex., de microorganismes mycotiques (Diebold et al., 2000).

5.2. Afin de standardiser la classification de la myélofibrose (Thiele et al., 2005 ; voir ci-dessous), préférer l'argenteure par la méthode de **Gomori** aux autres techniques d'argenteure (p. ex. Gordon Sweet). Comme les fibres de collagène ne peuvent pas être détectées dans le revêtement argent de **Gomori** produit à la machine, une coloration au trichrome de Masson doit être effectuée le cas échéant (Kvasnicka et al., 2016).

5.3. Il est possible d'effectuer facilement, et en fonction du problème rencontré, des colorations spéciales (p. ex. coloration au rouge Congo, coloration de Grocott, de Gram, de Ziehl-Neelsen, PAS-D, de Von Kossa, etc.) sur des biopsies qui ont été traitées d'une manière standardisée.

6. Informations diagnostiques (compte-rendu des résultats)

Sur le plan formel, le compte-rendu des résultats doit être composé des parties suivantes :

- Description macroscopique et microscopique
- Diagnostic
- Commentaire
- Partie portant sur d'éventuelles questions aux collègues cliniciens référents.

6.1 Description microscopique :

6.1.1 Évaluabilité de la biopsie :

1. Représentative / non représentative
2. Nombre et emplacement (profondeur sous-corticale) des canaux médullaires

6.1.2 Déclaration sur la cellularité

1. Hématopoïèse : rapport de moelle osseuse en %
2. Données liées à l'âge (% normal d'hématopoïèse = 100 ans ; p. ex. cellularité normale de la moelle osseuse chez les patients âgés de 80 ans : 20 %)

6.1.3 Lignées de maturation hématopoïétique

1. Mégacaryopoïèse
 - i. Quantité
 - ii. Répartition
 - iii. Atypies (nucléaires)
2. Érythroïèse
 - i. Quantité
 - ii. Répartition
 - iii. Qualité (p. ex. des macroblastes, synchronisée, etc.)
3. Myéloïèse
 - i. Quantité
 - ii. Répartition
 - iii. Maturité/qualité
4. Érythroïèse : indice de myéloïèse (norme : 1:2-4) normal / accru / réduit

6.1.4 Cellules immatures (blastés)

1. Quantité
2. Localisation anormale (ALIP)
3. Caractéristiques cytologiques (p. ex. positivité PAS, métachromasie)

6.1.5 Lymphocytes et plasmocytes

1. Quantité
2. Modèles d'infiltration (p. ex. intrasinusoïdale, pérित्रabéculaire, nodulaire, diffus)
3. Caractéristiques cytologiques

6.1.6 Cellules histiocytaires

1. Quantité
2. Propriétés spécifiques (p. ex. formation de granulomes, aspect bleu marine, cellules de Gaucher, empéripolèse ou hémophagocytose, etc.)
3. Inclusions anormales (p. ex. leishmania, champignons, etc.)

6.1.7 Éléments étrangers à la moelle : néoplasiques ou réactifs, éventuellement infectieux

6.1.8 Teneur en fibres de réticuline et informations sur le degré de myélofibrose (Thiele et al., 2005)

6.1.9 Substance osseuse : qualité/quantité, signes de transformation, ostéosclérose, etc.

6.2 Diagnostic :

Bref

• Précis

• Orientation selon les termes et les formulations des classifications actuelles de l’OMS (Swerdlow et al., 2017)

Le cas échéant, dresser la liste des 2 ou 3 diagnostics différentiels possibles :

P. ex. : « néoplasie myéloproliférative sans myélofibrose, diagnostic différentiel de la forme précoce de la myélofibrose primitive par rapport à une thrombocytémie essentielle ».

• Les diagnostics descriptifs doivent au moins mentionner la cellularité, la composition et la maturation de l'hématopoïèse :

P. ex. « moelle osseuse hématopoïétique altérée, hypocellulaire, à maturation trilineaire, réactive de manière non spécifique ».

6.3 Commentaire :

• Éventuelles corrélations cliniques et pathologiques

• Valeur des résultats obtenus dans le contexte de la présentation globale

• Commentaires sur les éventuelles divergences entre les examens complémentaires sur les aspirats de moelle osseuse et les biopsies au poinçon de moelle osseuse (Dirnhofer et al., 2007)

Recommandations du pathologiste ayant posé le diagnostic :

P. ex., renvoi aux résultats en attente ou recommandation de procéder à des examens complémentaires.

7 Examens moléculaires complémentaires

Les biopsies de moelle osseuse fixées au formol et décalcifiées par EDTA peuvent être utilisées pour des examens anatomopathologiques et de biologie moléculaire complémentaires (immunohistochimie, hybridation *in situ* , examens basés sur la réaction en chaîne par polymérase, le NGS). En ce qui concerne ces examens complémentaires, nous vous renvoyons à la littérature scientifique pertinente (Bartels et al., 2016 ; Fend et al., 2005 ; Fend et al., 2008 ; Kremer et al., 2005 ; Torlakovich et al., 2015).

Références

Bain BJ. Bone marrow trephine biopsy. J Clin Pathol. 2001;54:737-42.

Bartels S, Schipper E, Hasemeier B, Kreipe H, Lehmann U. Routine clinical mutation profiling using next generation sequencing and a customized gene panel improves diagnostic precision in myeloid

- neoplasms. *Oncotarget*. 2016;7:30084-93.
- Brynes RK, McKenna RW, Sundberg RD. Bone marrow aspiration and trephine biopsy. An approach to a thorough study. *Am J Clin Pathol*. 1978;70:753-9.
 - Campbell JK, Matthews JP, Seymour JF, Wolf MM, Juneja SK; Australasian Leukaemia Lymphoma Group. Optimum trephine length in the assessment of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma. *Ann Oncol*. 2003;14:273-6.
 - Cotelingam JD. Bone marrow biopsy: interpretive guidelines for the surgical pathologist. *Adv Anat Pathol*. 2003;10:8-26.
 - Diebold J, Molina T, Camilleri-Broët S, Le Tourneau A, Audouin J. Bone marrow manifestations of infections and systemic diseases observed in bone marrow trephine biopsy review. *Histopathology*. 2000;37:199-211.
 - Dirnhofer S, Went P, Tichelli A. Diagnostic problems in follow-up bone marrow biopsies of patients treated for acute and chronic leukaemias and MDS. *Pathobiology*. 2007;74:115-20.
 - Fend F (Hrsg.). Knochenmarkdiagnostik. *Der Pathologe*. 2013;33:479-552.
 - Fend F, Bock O, Kremer M, Specht K, Quintanilla-Martinez L. Ancillary techniques in bone marrow pathology: molecular diagnostics on bone marrow trephine biopsies. *Virchows Arch*. 2005;447:909-19.
 - Fend F, Tzankov A, Bink K, Seidl S, Quintanilla-Martinez L, Kremer M, Dirnhofer S. Modern techniques for the diagnostic evaluation of the trephine bone marrow biopsy: Methodological aspects and applications. *Prog Histochem Cytochem* 2008;42:203-52.
 - Foucar K, Reichard K, Czuchlewski D. Bone marrow pathology. 3rd ed. Chicago, ASCP Press; 2010.
 - Kremer M, Quintanilla-Martínez L, Nährig J, von Schilling C, Fend F. Immunohistochemistry in bone marrow pathology: a useful adjunct for morphologic diagnosis. *Virchows Arch*. 2005;447:920-37.
 - Kvasnicka HM, Beham-Schmid C, Bob R, Dirnhofer S, Hussein K, et al. Problems and pitfalls in grading of bone marrow fibrosis, collagen deposition and osteosclerosis - a consensus-based study. *Histopathology*. 2016;68:905-15.
 - Reid MM, Roald B. Adequacy of bone marrow trephine biopsy specimens in children. *J Clin Pathol*. 1996;49:226-9.
 - Stuart-Smith SE, Hughes DA, Bain BJ. Are routine iron stains on bone marrow trephine biopsy specimens necessary? *J Clin Pathol*. 2005;58:269-72.
 - Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, van der Walt J, Orazi A. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica*. 2005;90:1128-32.
 - Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. (eds.). WHO Classification of Tumours of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon. IARC Press, 2017.
 - Torlakovic EE, Brynes RK, Hyjek E, Lee SH, Kreipe H, Kremer M, McKenna R, Sadahira Y, Tzankov A, Reis M, Porwit A; International Council for Standardization in Haematology. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow immunohistochemistry. *Int J Lab Hematol*. 2015;37:431-49.
 - Weinzierl EP, Arber DA. The differential diagnosis and bone marrow evaluation of new-onset pancytopenia. *Am J Clin Pathol*. 2013;139:9-29.
-

Auteurs :

A. Tzankov, S. Dirnhofer
Octobre 2018