

EEQ Hématologie 2020

45 inscriptions

44 participants (un oubli de validation sur le site) (*44 en 2019*)
sur ~50 labos francophones (88%)

Geneviève Ameye
Sophie Cotteret
Matthieu Decamp
Isabelle Tigaud

Visioconférence, GFCH
1
3 février 2021

Cas clinique

- **Clinique**

Enfant de 5 ans ½ adressée pour nouveau diagnostic de LAM

- **NFS :**

GB: 107 G/L, Hb : 9.2 g/dL, VGM: 82 fL, Plq: 77 G/L

PNN: 6,5 G/L, PNE : 3,2 G/L, PNB : 1,1 G/L, lymphocytes: 8 G/L , monocytes: 45 G/L (42%), blastes: 42G/L (39%)

- **Myélogramme :**

Densité cellulaire grade 4, présence de rares mégacaryocytes.

Lignée érythroblastique = 1%, lignée granuleuse neutrophile : 8%, lignée granuleuse éosinophile : 19%, lymphocytes 6%, monocytes : 13%, blastes : 53%,

Commentaires :

Présence de blastes myéloïdes, granuleux de taille moyenne à grande, rapport N/C élevé à intermédiaire, noyau irrégulier, à chromatine fine, cytoplasme abondant. Présence de promonocytes comptés parmi les blastes et de monocytes atypiques. Présence de nombreux PNE avec des précurseurs présentant des anomalies morphologiques. Présence de macrophages activés.

Aspect morphologique en faveur d'un LAM4 Eo

- **Immunophénotypage sur moelle:**

CD19 : 0%, CD7 : 31%, CD13 : 99%, CD33, 97%, CD117 : 94%, CD34+/13+ : 99%, CD34+/117+ : 91%, CD34 : 100%, HLA-DR : 95%, MPOc : 98%

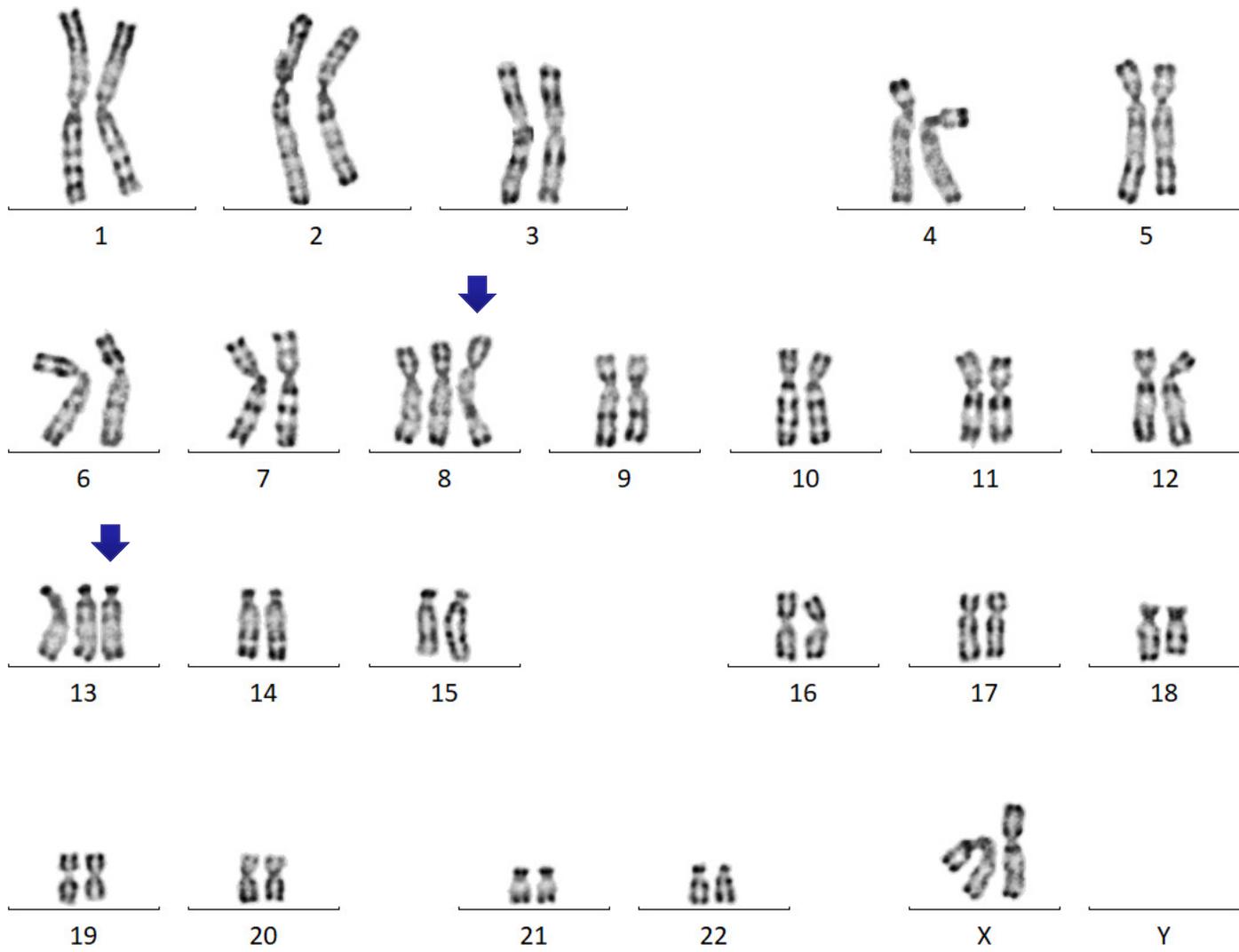
Conclusion : Immunophénotype compatible avec une LAM4

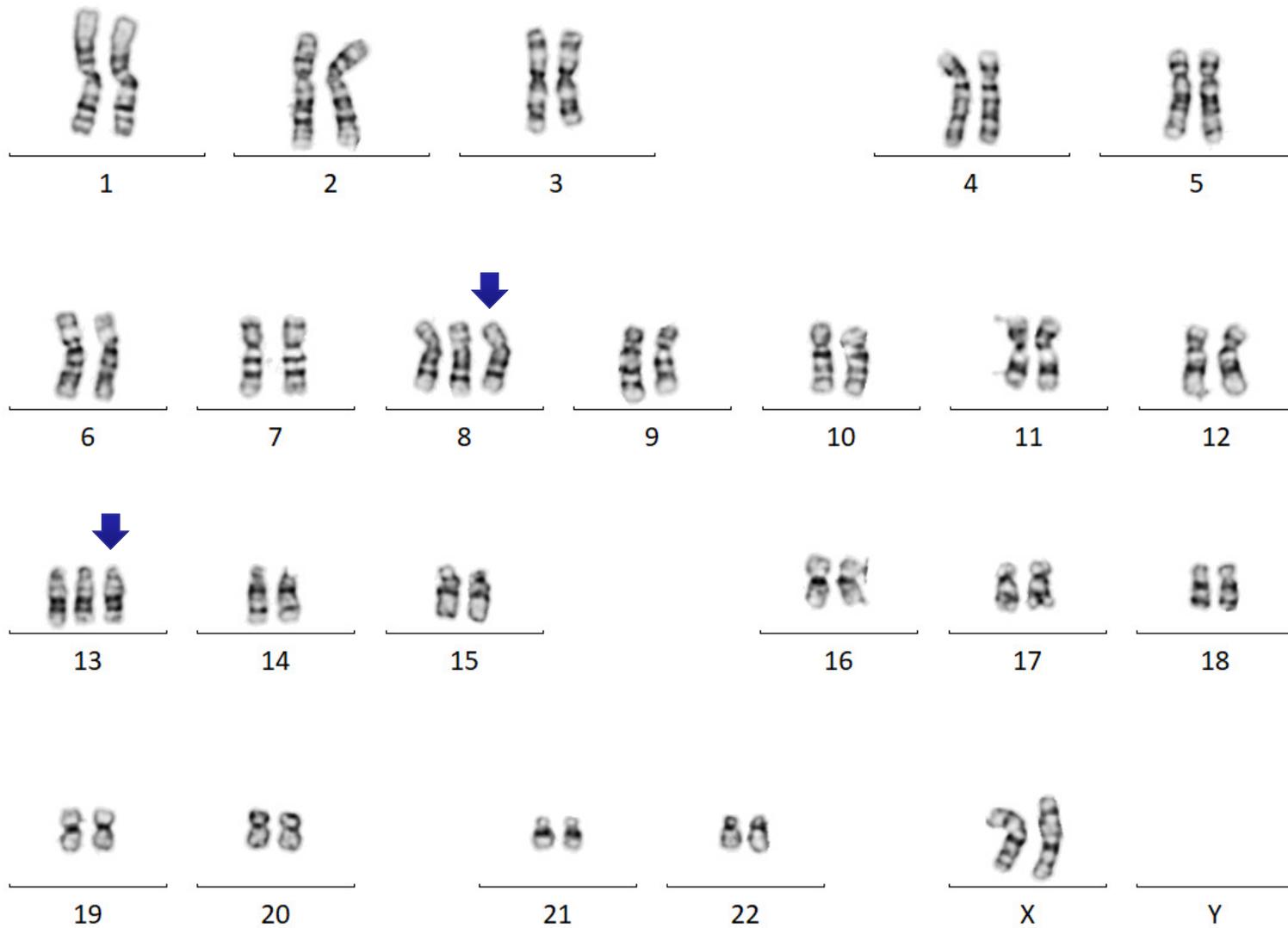
Caryotype :

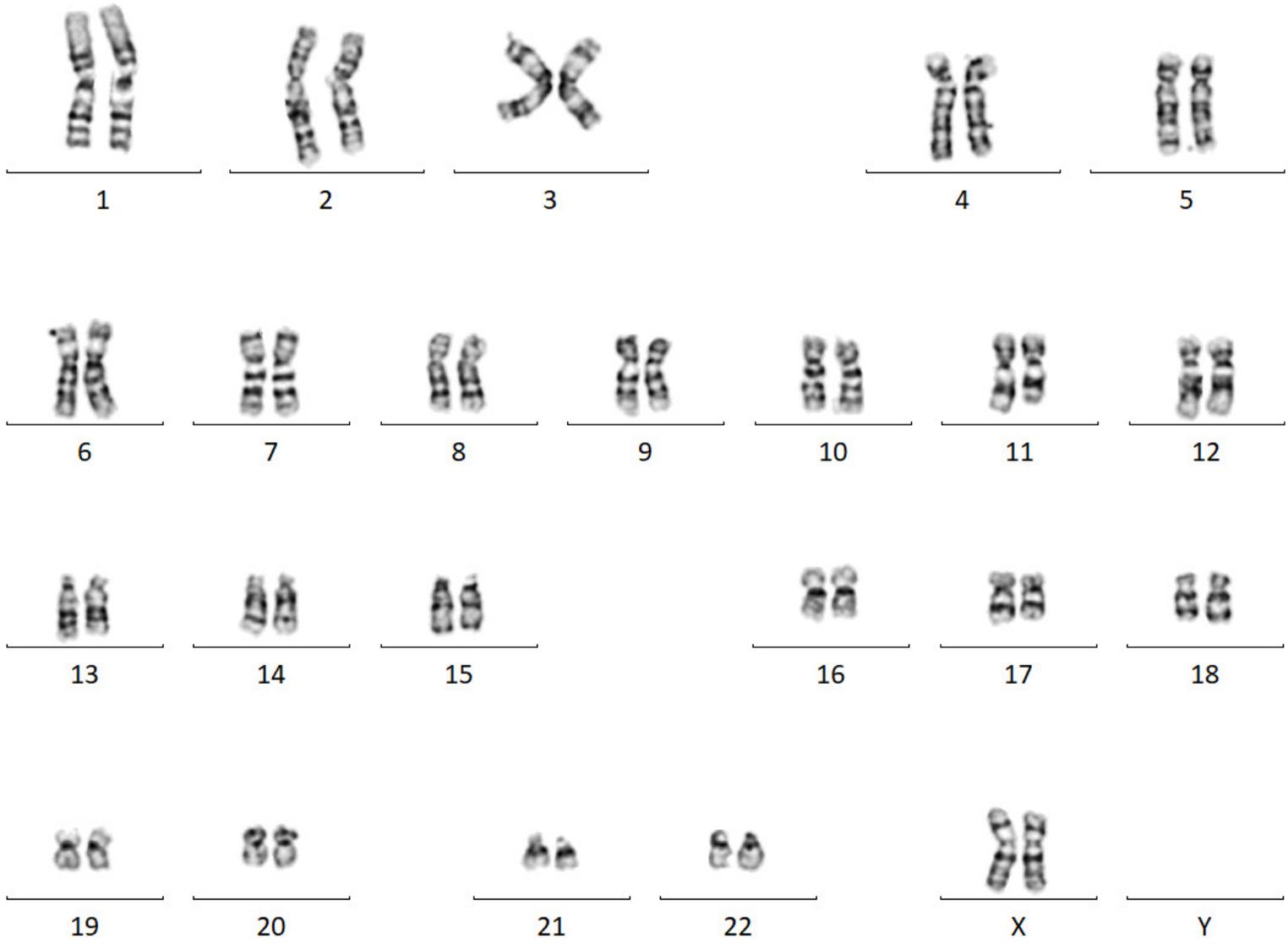
Tissu : moelle

Culture : 24h avec synchronisation

Dénaturation : RHG et GTL







Grille de notation

Partie FISH (**2 points**)

malus si choix sonde inapproprié

Partie descriptive (**6,25 points**)

formule juste et bien écrite (ISCN 2016) 4pts

description (conclusion) 2,25 pts

Partie analytique (**5 points**)

détection des anomalies

Interprétation (**3,75 points**)

possibilité de malus sur le pronostic

Classement (**3 points**)

malus si non respect des consignes

Notation sur 20

Questionnaire :

Informations générales (non notées)

Difficulté à importer les images:

0/44 labos

Difficultés à exporter les images :

0/44 labos

Nombre mitoses analysées :

10 pour 43/44 centres

5 pour 1 centre (malus)

Nombre de caryotypes établis :

10 pour 43/44 labos

5 pour 1 centre (méconnaissance du fonctionnement de l'EEQ ?
nouveau centre ?
pratique limitée aux bandes R ou G ?)

Rappel: création en 2018 d'un malus de -0,5 si les 10 mitoses ne sont pas analysées (pas forcément caryotypées)

Partie FISH (2 points)

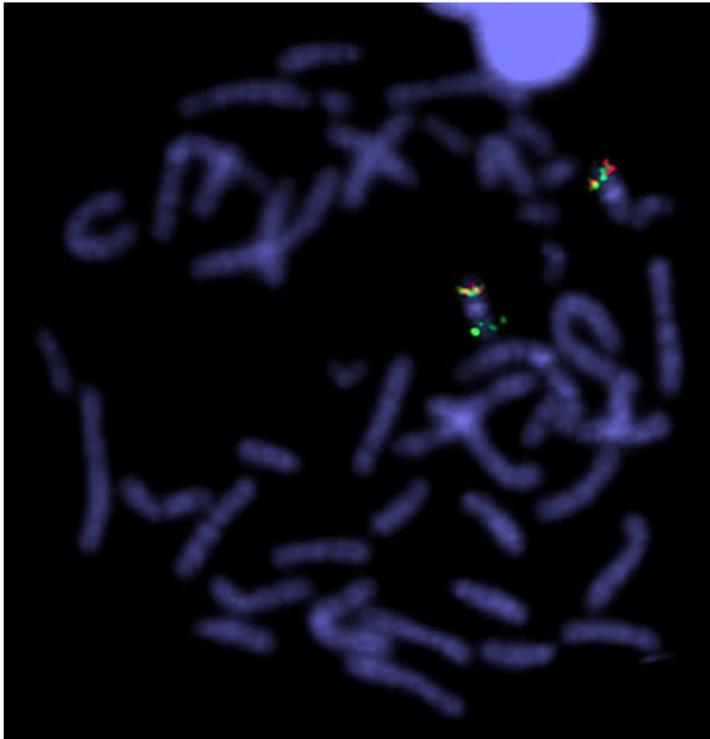
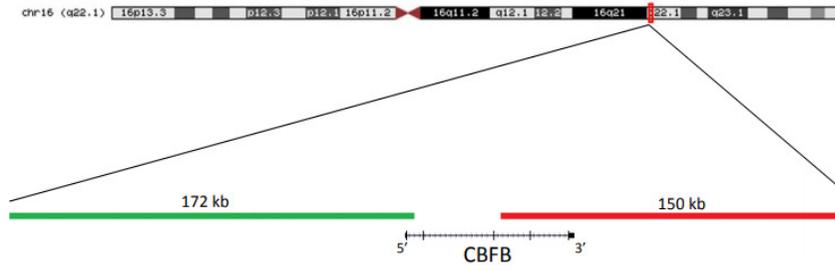
FISH nécessaire (non noté)

- Oui 44 /44
- Non 0/44

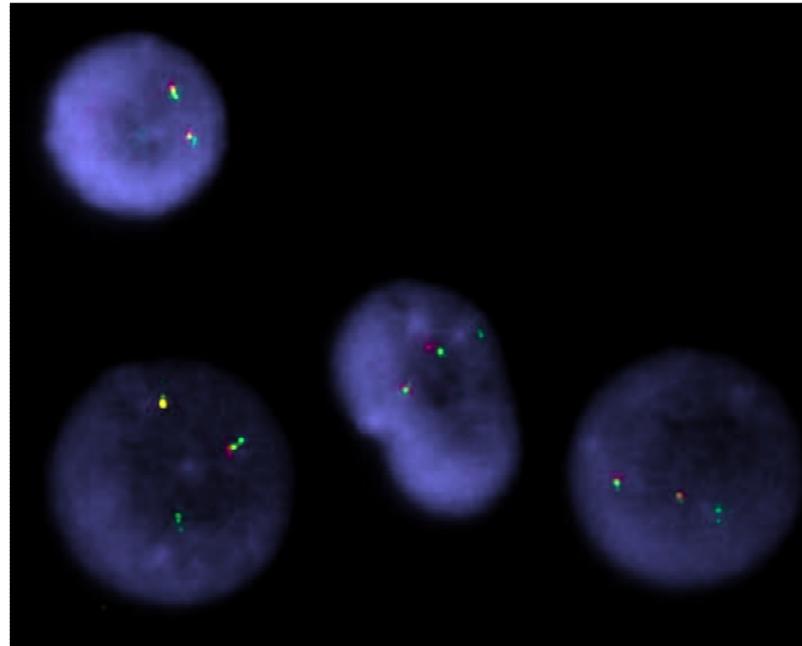
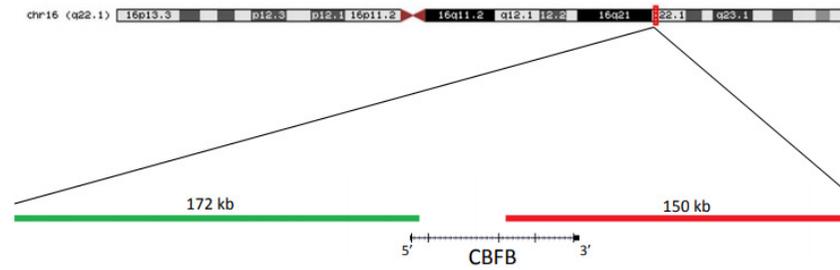
Choix de la sonde (1 point) (*malus possible , -0,5*)

- CBFB : 44/44
- MLL et NUP98: 4/44
- MLL: 2/44
- NUP98: 1/44
- MLL, NUP98 et ETV6: 1/44
- Peinture 16: 1/44

FISH

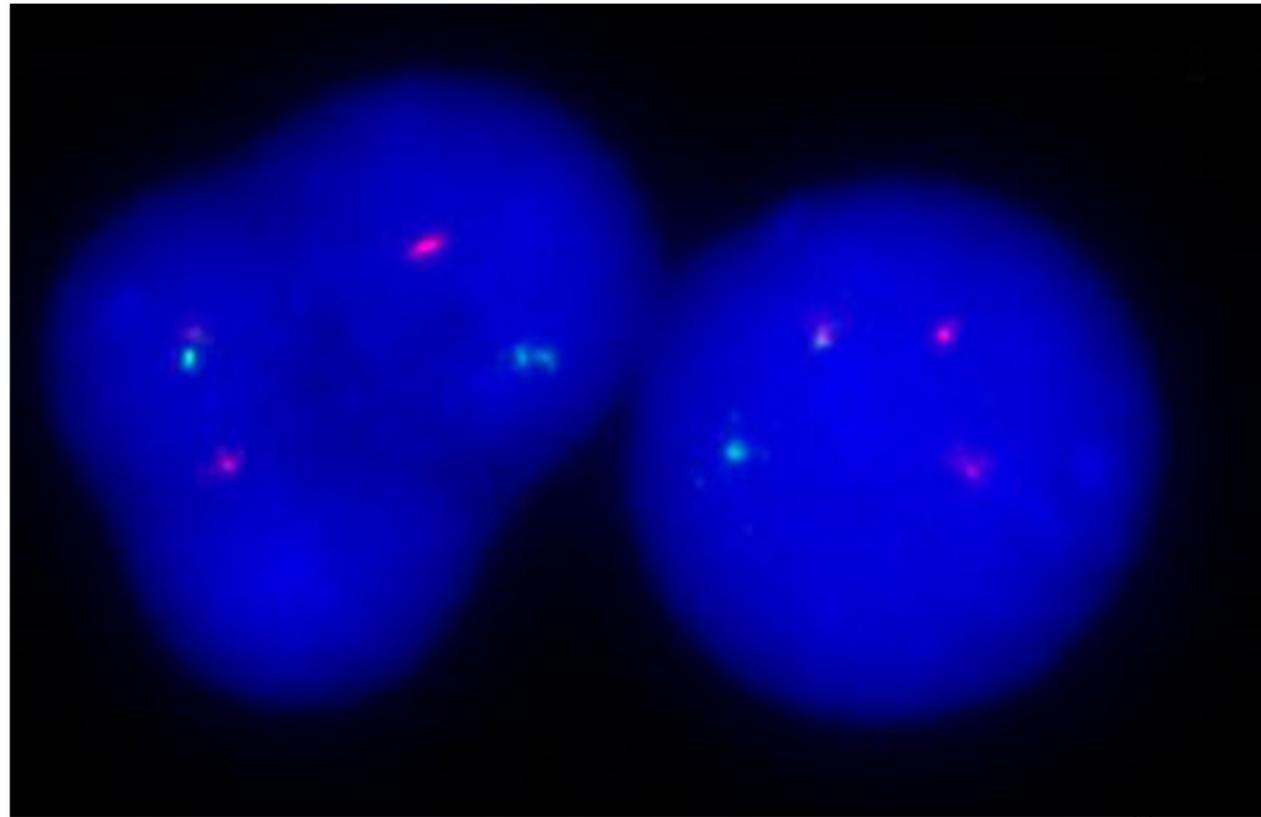
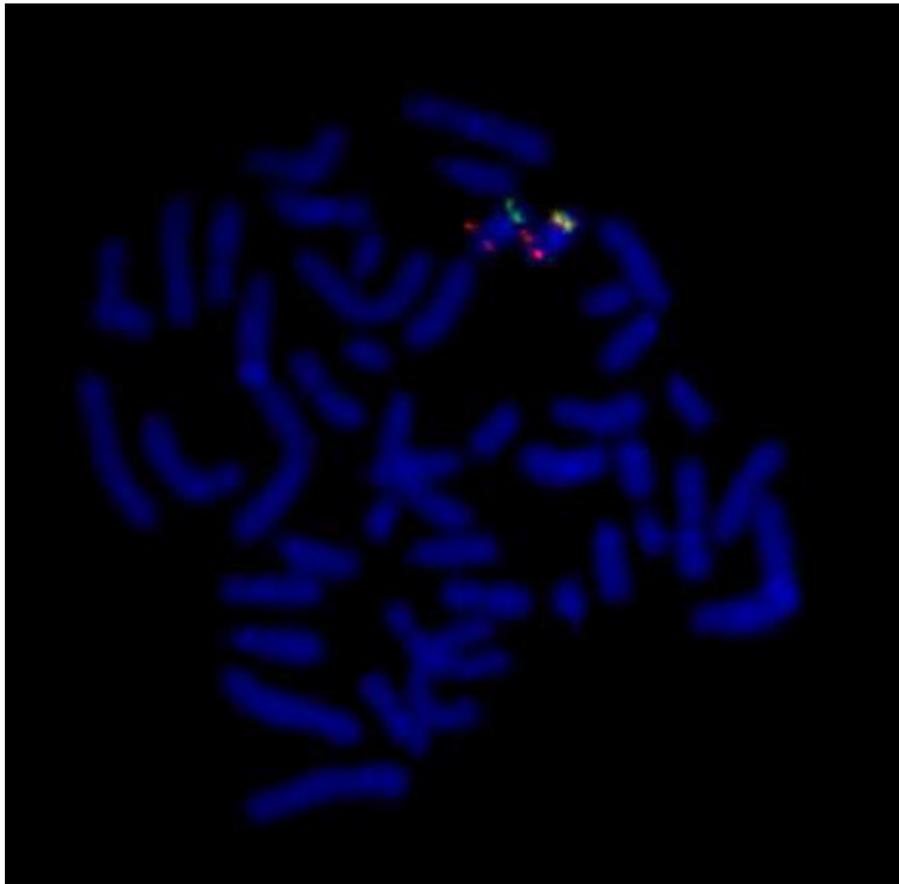


FISH



Complément FISH

sonde maison CBF3(rouge)/MYH11(vert): DC, DF



Justification FISH cohérente (1 point)

Cohérence pour 43 /44

1 centre avec « préciser l'anomalie » alors que pas de ?inv(16) ou de der(16) ou autre équivalent; il aurait fallu mettre absence d'anomalie spécifique et/ou discordance avec la présentation clinico-biologique

OUI (44 labos)

- Discordance avec la présentation clinico-biologique : 10/44
- Nécessité de préciser l'anomalie observée : 8/44
- Absence d'anomalie spécifique : 7/44
- Absence d'anomalie spécifique + Discordance avec la présentation clinico-biologique + Valeur pronostique : 6/44
- Discordance avec la présentation clinico-biologique + Valeur pronostique : 5/44
- Valeur pronostique : 4/44
- Absence d'anomalie spécifique + Valeur pronostique : 2/44
- Nécessité de préciser l'anomalie observée + Valeur pronostique : 2/44

Formule attendue

**48,XX,+8,+13[7]/46,XX[3].ish ins(16)(p13)(5'CBFB+)(q22q22)(5'CBFB+,3'CBFB+)[2].nuc
ish(5'CBFBx3,3'CBFBx2)(5'CBFB con 3'CBFBx2)[23/25]**

ou

**48,XX,+8,+13[7]/46,XX[3].ish ins(16)(p13q22q22)(5'CBFB++,3'CBFB+)[2].nuc
ish(5'CBFBx3,3'CBFBx2)(5'CBFB con 3'CBFBx2)[23/25]**

Acceptés: caryotype avec ?inv(16) ou ?ins(16) ou ?ins(16;16)

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 2016

Conclusion: partie descriptive (2,25 points)

Justesse (/3 points)

Caryotype (1 point) :

16 normaux ou douteux : 0,5 point

16 normaux	32/44	}	0,5
?inv(16)	4/44		
?ins(16)	1/44		
?add(16)	1/44		
?der(16)	1/44		0,25
inv(16)	3/44	}	0
ins(16)	2/44		

Trisomies 8 et 13 : 0,5 point

+8	(0,25 point)	44/44
+13	(0,25 point)	44/44

Justesse (/3 points)

FISH métaphasique (1 point) :

10/44	inv au lieu d'ins	}	0
2/44	Absence/erreur 5'/3'		
2/44	erreur 16p/16q		
1/44	sondes 5'/3' inversées		
1/44	anomalie non décrite		
1/44	Formule FISH interphasique au lieu de métaphasique : .ish(CBFX2)(5'CBFB sep 3'CBFB)[2]		
1/44	der(16) sans préciser le mécanisme	= 0,5	
1/44	sondes 5'/3' erronément interprétées (signal 3' en p)	= 0,75	

Justesse (/3 points)

FISH interphasique (1 point) :

absence 5'/3' = 0
5/44 sep au lieu de con = 0

erreur sens 5'/3' = 0,5

1/44 (5'CBFBx1, CBFBx2) = 0,75
2/44 dim = 0,75

Écriture (/1 point)

Erreurs principales

Caryotype :

- pas de « der » tout seul : « der » de quelque chose ou alors dérouler
- Ne pas indiquer d'anomalie cryptique révélée par la FISH

FISH métaphasique :

- (5'CBFB+,5'CBFB+,3'CBFB+) : plutôt (5'CBFB++,3'CBFB+) = 0,75 (5/44) cf. ISCN 2016 pp 102 et 105

FISH interphasique :

- **erreur avec sep au lieu de con (5/44)**

Principe d'écriture d'une anomalie déséquilibrée avec une sonde de séparation (cf. ISCN 2016 page 112) : on décrit par rapport aux signaux qui restent en colocalisation et non pas par rapport aux signaux qui se séparent :

Ex. (5'CBFBx3,3'CBFBx2)(5'CBFB con 3'CBFBx2) et non pas (CBFBx2)(5'CBFB sep 3'CBFBx1)

- **nomenclature HUGO** : écrire **KMT2A** et non MLL

Partie analytique (5 points)

Anomalie critique détectée (4 points) : **44 /44**

ins(16) ou ins(16;16) (4 points) : 29/44

?inv(16) ou ?der(16) (2 points) : 6/44

inv(16) (2 points) : 9/44

Autres anomalies détectées (1 points) : **44/44**

Conclusion

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

La conclusion devait comporter :

Pour le caryotype :

Nombre de mitoses analysées (0,25) : 44/44

Nombre de mitoses anormales par clone (0,25) : 44/44^a

Nombre modal de chaque clone (0,25) : 43/44

Description en toutes lettres des anomalies avec points de cassure et bras courts ou longs (0,5) : 43/44^b

Pour la FISH :

Type de sonde utilisée (0,5) : 41/44

Nombre de métaphases analysées (0,25) : 41/44

Nombre de noyaux analysés (0,25) : 41/44^c

^a discordance entre nb de mitoses anormales entre formule et texte (1 centre), ^b 4 description partielle, ^c 5 noyaux (1centre)

Partie interprétation (3,75 points)

- ✓ **Conclusion claire** (1 point) : 43/44

- ✓ **Gènes impliqués** (1 point) : 44 /44
 - CBFB cité mais pas toujours MYH11 3/44

- ✓ **Diagnostic et compatibilité** (1 point) : 44/44

- ✓ **Pronostic correct** (0,75 point) : 42/44
 - Pronostic favorable : parfois modulé avec réf.* de l'article sur la trisomie 8 (accepté) ou **sans ref (pénalisé) :** 1/44
 - Pronostic défavorable en raison de la trisomie 8 (malus) 1/44

[*Paschka P et al, Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv\(16\) or t\(16;16\): a study of the German-Austrian AML Study Group \(AMLSG\), Blood 2013](#)

À propos du pronostic :

Jahn et al. Blood Advances 2020.

REGULAR ARTICLE

 blood advances

Genomic heterogeneity in core-binding factor acute myeloid leukemia and its clinical implication

Nikolaus Jahn,¹ Tobias Terzer,² Eric Sträng,³ Anna Dolnik,³ Sibylle Cocciardi,¹ Ekaterina Panina,¹ Andrea Corbacioglu,¹ Julia Herzig,¹ Daniela Weber,¹ Anika Schrade,¹ Katharina Götzke,⁴ Thomas Schröder,⁵ Michael Lübbert,⁶ Dominique Wellnitz,⁷ Elisabeth Koller,⁸ Richard F. Schlenk,^{9,10} Verena I. Gaidzik,¹ Peter Paschka,¹ Frank G. Rücker,¹ Michael Heuser,¹¹ Felicitas Thol,¹¹ Arnold Ganser,¹¹ Axel Benner,² Hartmut Döhner,¹ Lars Bullinger,^{3,*} and Konstanze Döhner^{1,*}

¹Department of Internal Medicine III, University Hospital of Ulm, Ulm, Germany; ²Division of Biostatistics, German Cancer Research Center Heidelberg, Heidelberg, Germany; ³Department of Hematology, Oncology, Tumor Immunology, Charité University Medicine, Berlin, Germany; ⁴Department of Internal Medicine III, University Hospital Klinikum Rechts der Isar, Munich, Germany; ⁵Department of Hematology, Oncology, and Clinical Immunology, University of Duesseldorf, Medical Faculty, Duesseldorf, Germany; ⁶Department of Internal Medicine I, Faculty of Medicine, University Hospital of Freiburg, Freiburg, Germany; ⁷Department of Internal Medicine II, University Hospital of Schleswig-Holstein, Kiel, Germany; ⁸Department of Internal Medicine III, Hanuschkrankenhaus Wien, Wien, Austria; ⁹National Center of Tumor Diseases-Trial Center, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany; ¹⁰Department of Internal Medicine V, Heidelberg University Hospital, Heidelberg, Germany; and ¹¹Department of Hematology, Hemostasis, Oncology, and Stem Cell Transplantation, Hannover Medical School, Hannover, Germany

Key Points

- t(8;21) AML and inv(16) AML are characterized by remarkably different molecular patterns and distinct clonal compositions.
- In CBF-AML, t(8;21), trisomy 8, *FLT3*, and *KIT* exon 17 mutations confer poor outcome, whereas *NRAS* and *WT1* mutations confer good outcome.

Core-binding factor (CBF) acute myeloid leukemia (AML) encompasses AML with inv(16)(p13.1q22) and AML with t(8;21)(q22;q22.1). Despite sharing a common pathogenic mechanism involving rearrangements of the CBF transcriptional complex, there is growing evidence for considerable genotypic heterogeneity. We comprehensively characterized the mutational landscape of 350 adult CBF-AML [inv(16): n = 160, t(8;21): n = 190] performing targeted sequencing of 230 myeloid cancer-associated genes. Apart from common mutations in signaling genes, mainly *NRAS*, *KIT*, and *FLT3*, both CBF-AML entities demonstrated a remarkably diverse pattern with respect to the underlying cooperating molecular events, in particular in genes encoding for epigenetic modifiers and the cohesin complex. In addition, recurrent mutations in novel collaborating candidate genes such as *SRCA*P (5% overall) and *DNM2* (6% of t(8;21) AML) were identified. Moreover, aberrations altering transcription and differentiation occurred at earlier leukemic stages and preceded mutations impairing proliferation. Lasso-penalized models revealed an inferior prognosis for t(8;21) AML, trisomy 8, as well as *FLT3* and *KIT* exon 17 mutations, whereas *NRAS* and *WT1* mutations conferred superior prognosis. Interestingly, clonal heterogeneity was associated with a favorable prognosis. When entering mutations by functional groups in the model, mutations in genes of the methylation group (ie, *DNMT3A*, *TET2*) had a strong negative prognostic impact.

Prudence quand dans une conclusion : un pronostic bien établi est modulé par un article ! Ex. la trisomie 8 dans les cas de LAM CBF.

Il faut moduler l'information et donner la référence bibliographique afin de ne pas induire le clinicien en erreur.

En pratique en 2020, les LAM CBF sont considérées de bon pronostic et seul le monitoring de la maladie résiduelle permettra d'adapter la prise en charge du patient, en aucun cas les anomalies chromosomiques secondaires et/ou les mutations.

Grille pronostique (/0,75)

Anomalie principale (/0,5) :

fusion CBFB/MYH11:

44/44

Anomalies secondaires (/0,25) :

+8,+13

Point « pronostic » accordé si réponse appuyée d'une réf. biblio

Classification ELN mentionnée (adulte !) (-0,25) :

5/44

au lieu de MyeChild01 ou Creutzig et al*

*Creutzig U et al, Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel, Blood 2012

Ex. Conclusion

L'analyse de 10 métaphases montre un clone anormal hyperdiploïde à 48 chromosomes dans 7 métaphases incluant une trisomie 8 et 13. Compte tenu de la morphologie "M4éo", une analyse FISH à l'aide d'une sonde bicouleur de séparation CBFB a été effectuée et montre un réarrangement de CBFB dans 23/25 noyaux interphasiques et 2/2 métaphases : en plus des signaux de colocalisation situés sur le bras long de chaque chromosome 16 en q22, un signal 5' centromérique (surnuméraire) est observé sur le bras court d'un des chromosomes 16 probablement en p13, évoquant une insertion cryptique.

Les constatations cytogénétiques sont compatibles avec les données cliniques et biologiques (leucémie aiguë myélomonocytaire à composante éosinophile). Une analyse moléculaire complémentaire devrait confirmer la présence d'un transcrit CBFB-MYH11.

Dans ce cas, l'entité OMS correspondante est la "leucémie aiguë avec inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22) CBFB-MYH11" (code ICDO 9871/3) et est associée à un pronostic favorable (stratification "Myechild").

La présence d'anomalies additionnelles est récurrente et ne modifie pas le pronostic selon la classification en vigueur.

Classement de caryotypes (3 points)

Consignes :

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

lci : clone anormal dans 7/10 → 3 caryotypes (2 an et 1 n)
soit 1 point/caryotype

Classement de caryotypes (3 points)

Non respect consignes : **1/44** (malus -0,5) (10 caryotypes envoyés)

nb de caryotypes envoyés \neq 3

- Si >3 , seuls 3 premiers regardés (risque de non respect des consignes)
- Si nombre de caryotypes envoyés \neq 3 mais en cohérence avec la formule chromosomique, tous les caryotypes sont regardés et pas de malus

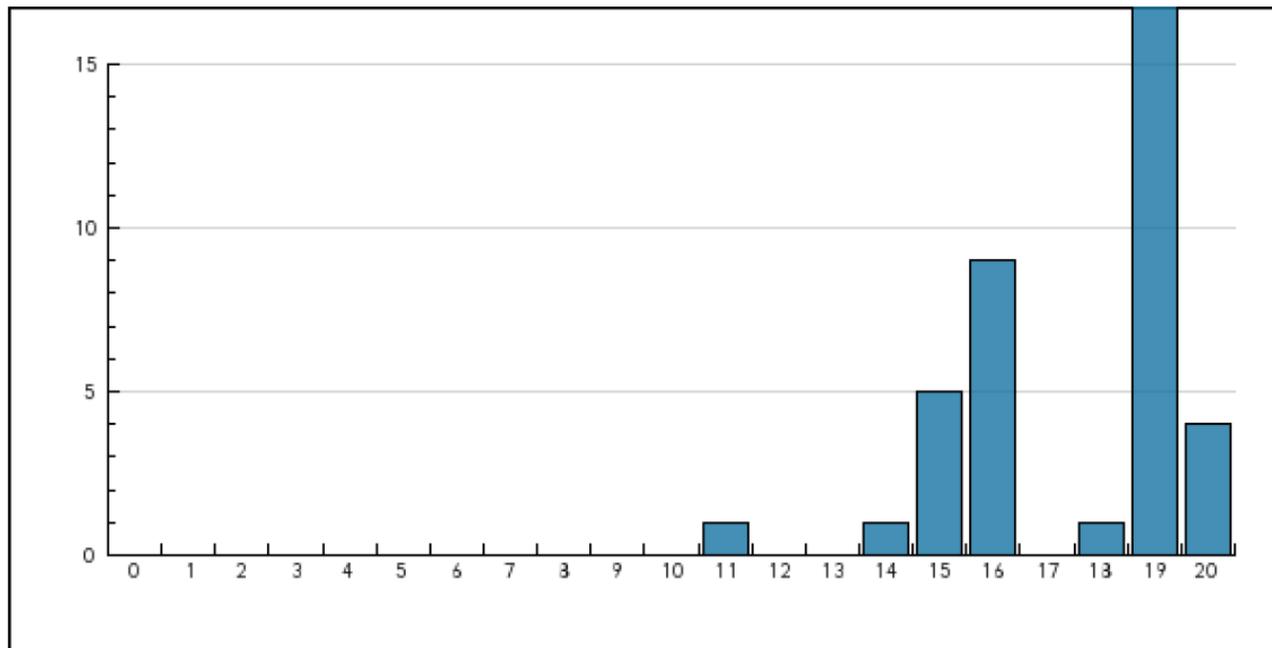
Classements justes (1 point / caryo) **40/44**

- un 16 classé à l'envers pour faire une inversion, pénalisé sur 1 seul des 2 caryotypes anormaux (1/44)
- Inversion 21 et 22
- Un 22 manquant
- Un 1 à l'envers

Notes (/20)

- ✓ Moyenne globale : **18,04**
 Groupe 1 : 18,25 Groupe 2 : 17,85
- ✓ Médiane : **19,00**
- ✓ Min : **11,75**
- ✓ Max : **20**

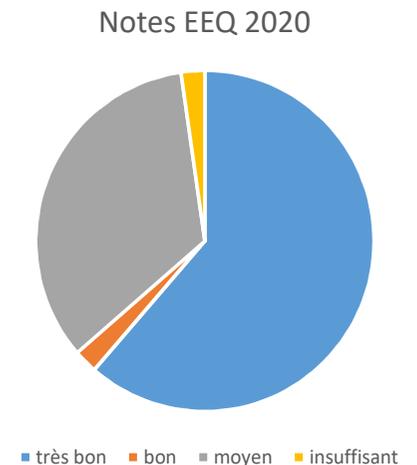
Répartition des notes



Synthèse Globale

Appréciation : intervalle des notes variable selon le cas (décidé par les experts) :

Très bon	$\geq 19-20$ (27)
Bon	$16,75 > n < 19$ (1)
Moyen	$14,25 \leq n \leq 16,75$ (15)
Insuffisant	$10 \leq n < 14,25$ (1)
Très insuffisant	< 10 (0)



Justification de l'interprétation des notes

Très bon dossiers : $\geq 19-20$ (27 dossiers)

critères : insertion d'un chromosome 16 en FISH

Bon dossier: 1 dossier à 18

ins(16) mais justification de la FISH incohérente

Dossiers moyens: $14,25 \leq n \leq 16,75$ (15 dossiers)

critères : inv(16) ou der(16) en FISH métaphasique voire dès le caryotype

Dossier jugé insuffisant: 1 dossier à 11,75

inv(16) et non-respect des consignes de l'EEQ dans le rapport

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.

Intérêt du cas

- ✓ Importance de se référer aux données cytologiques
 - FISH indispensable en cas de discordance (cf. recommandations du GFCH): anomalie cryptique

- ✓ ISCN:
 - ✓ Sens d'écriture de la FISH interphasique (pter→qter)
 - ✓ Écriture de la FISH interphasique quand anomalie déséquilibrée avec une sonde de séparation

- ✓ Valeur pronostique doit être précisée avec références biblio si non consensuelle

Droits de réponse

4 droits de réponse ont été examinés :

1/4 a abouti à une révision de la note (+0,5 point restitué au niveau de “formule bien écrite”)

BILAN 2020

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

2020 Bons résultats dans l'ensemble :

- 28 bons et très bons dossiers (soit 63% des participants)
- 15 dossiers jugés moyens (34%)
- 1 dossier jugé insuffisant

Proposition de renommer les dossiers « moyens » en « corrects » à partir de l'EEQ 2021.

Grille de correction bien préparée



Suggestion : point nomenclature avec 2 ou 3 cas envoyés en sondage avant la réunion GFCH ?
(cf. diversité des formules reçues)

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

2020 : Isabelle Tigaud + Matthieu Decamp
+ Geneviève Ameye - Sophie Cotteret

← Merci à eux !

2021 : Geneviève Ameye - Sophie Cotteret
+ Nathalie Douet-Guilbert - Steven Richebourg

2022 : Nathalie Douet-Guilbert - Steven Richebourg
+ ?