

EEQ Hématologie 2022

42 inscriptions
41 participants (*47 en 2021*)(1 centre oubli de date)
sur ~50 labos francophones (82%)

Nasséra Abermil
Nathalie Douet-Guilbert
Emilie Klein
Steven Richebourg
Isabelle Luquet

Visioconférence, GFCH

1er février 2023

Cas clinique

Femme de 68 ans, exploration d'une thrombopénie persistante (cancer du sein il y a un an).

• NFS

- GB: 3.57 G/L, Hb : 11.7 g/dL, VGM: 97.5 fL, Plq: 58 G/L
- PNN: 2,5 G/L, PNE : 0 G/L, PNB : 0 G/L, lymphocytes: 1 G/L, monocytes: 0 G/L, Métamyélocytes neutrophiles : 1%, blastes: 1%

• Myélogramme

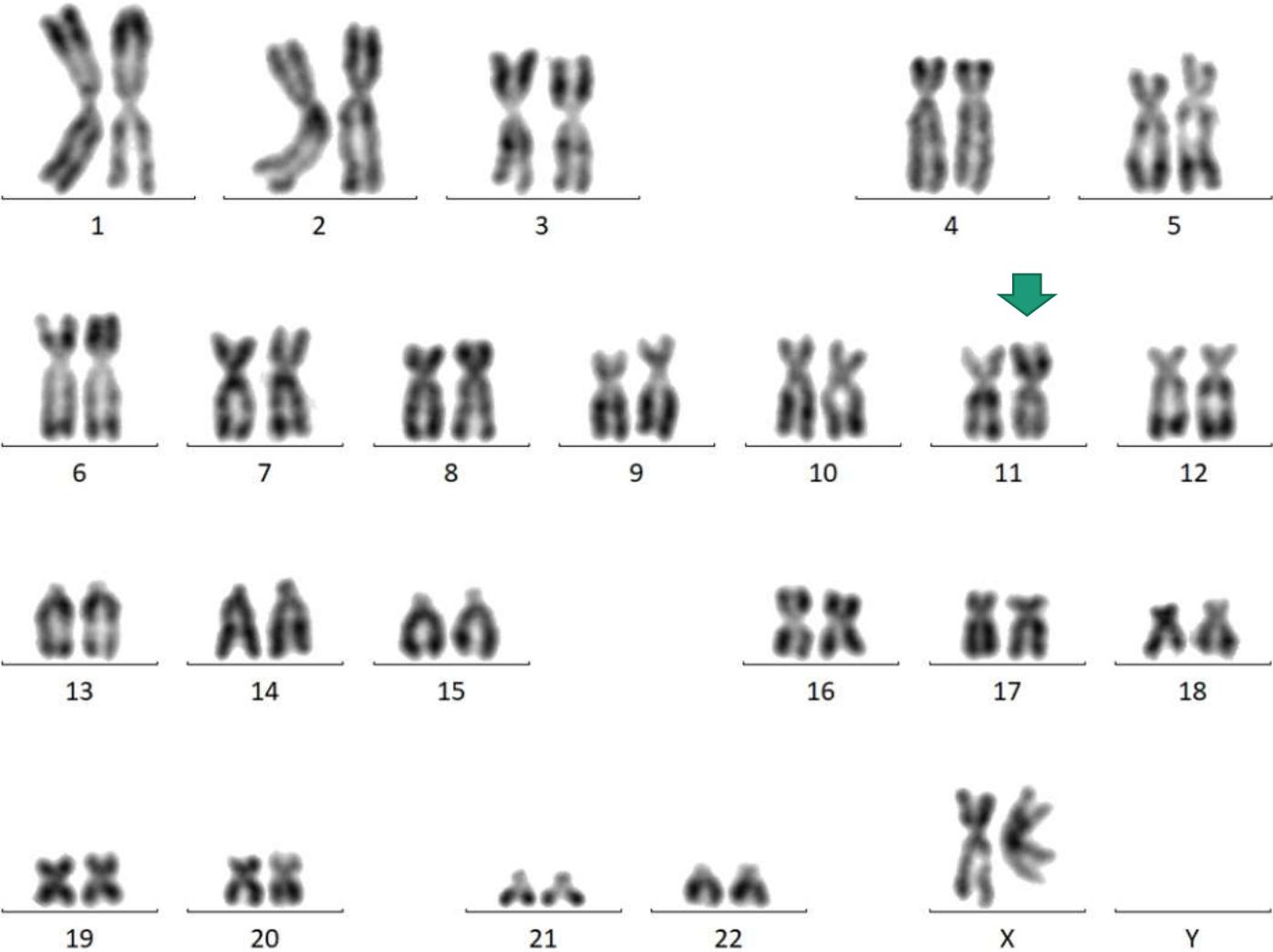
- Densité cellulaire grade 3, présence de mégacaryocytes.
- Lignée érythroblastique = 21%, lignée granuleuse neutrophile : 35%, lignée granuleuse éosinophile : 2%, lignée granuleuse basophile : 1%, lymphocytes : 6%, monocytes : 10%, blastes : 25%,
- Commentaires : moelle riche. Les 3 lignées myéloïdes sont bien représentées.
- Présence d'un excès de blastes myéloïdes estimé à 25% des cellules (taille petite à moyenne, noyau régulier, souvent nucléolé, cytoplasme basophile souvent granuleux), associé à un excès de monocytes (10%)
- Conclusion : aspect cytologique en faveur d'une leucémie aiguë myéloïde avec contingent monocyttaire, LAM secondaire dans ce contexte.

• Immunophénotypage sur moelle:

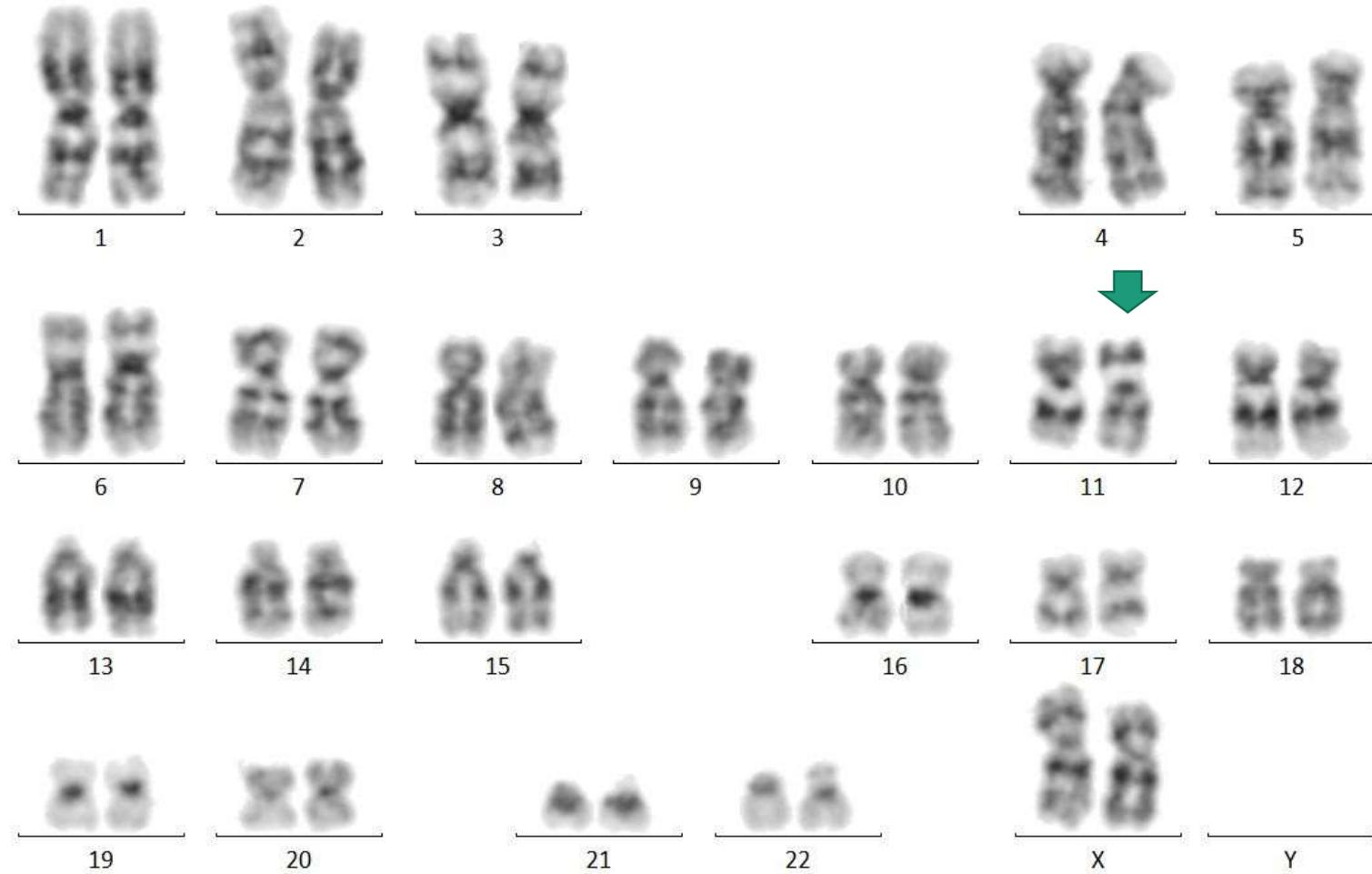
- CD34 : 1%, CD13 : 10%, HLA-DR : 100%, CD36 : 19%, CD56 : 10%, CD64: 100%, CD41 : 1%, CD71 : 34%, CD19 : 0%, CD10 : 0%, CD7 : 1%, CD5 : 0%, CD4 : 96%, MPO Intra : ininterprétable
- Conclusion : présence d'une population CD45+ d'intensité modérée, de grande « taille » et de « structure » complexe, CD34-, CD33/HLADR+, CD38+, CD13/CD117/CD56-, positives pour les marqueurs monocytaires immatures et représentant 38% des cellules totales.
- Phénotype compatible avec une leucémie aiguë monoblastique secondaire

• Cytogénétique: moelle en culture 24h avec synchronisation ; dénaturation en RHG et GTL

Mitose R



Mitose G



Grille de notation

Points sur 20 :

Partie analytique	5,00
détection de l'anomalie	
Partie FISH	2,00
Choix de la sonde (1 point) et justification de la FISH (1 point)	
malus si FISH KMT2A non choisie (-0,5 point)	
Partie descriptive	6,25
formule juste et bien écrite (ISCN 2020)	4,00
description (conclusion)	2,25
Interprétation (diagnostic, pronostic, gènes impliqués)	3,75
possibilité de malus sur le pronostic	
Classement	3,00
malus si non respect des consignes	

Questionnaire :

Informations générales (non notées)

Difficulté à importer les images :

1/41 labos, 1/41 sans réponse

Difficultés à exporter les images :

0/41 labos, 1/41 sans réponse

Nombre mitoses analysées :

10 pour 41 centres

Nombre de caryotypes établis:

10 pour 40/41 labos

2 pour 1 centre

Rappel : création en 2018 d'un **malus de -0,5** au cas où moins de 10 mitoses sont analysées (pas forcément caryotypées)

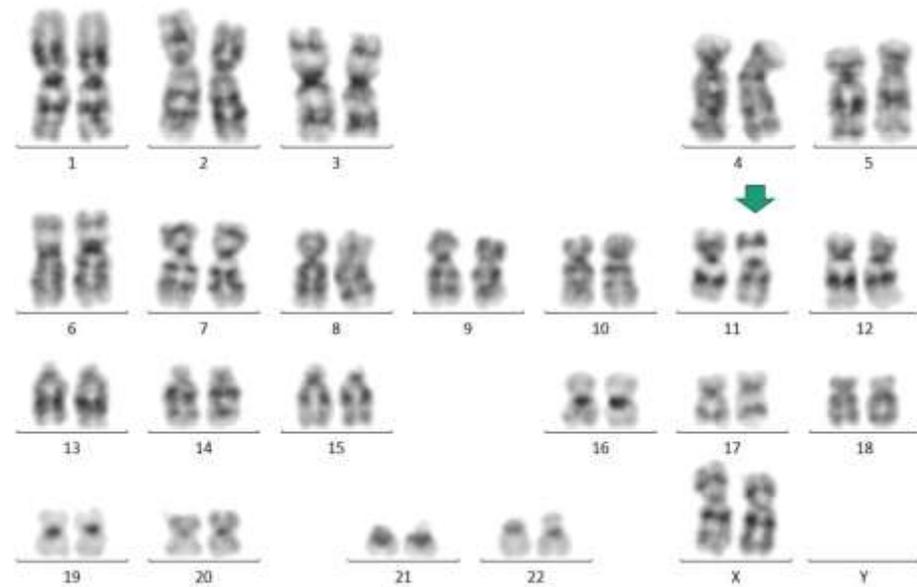
→ **TOUJOURS analyser les 10 mitoses !**

Partie analytique (5 points)

Anomalie critique détectée (5 points) :

41/41

inv(11)(p15q22)



Partie FISH (2 points)

FISH nécessaire (non noté)

- Oui 41/41
- Non 0/41

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

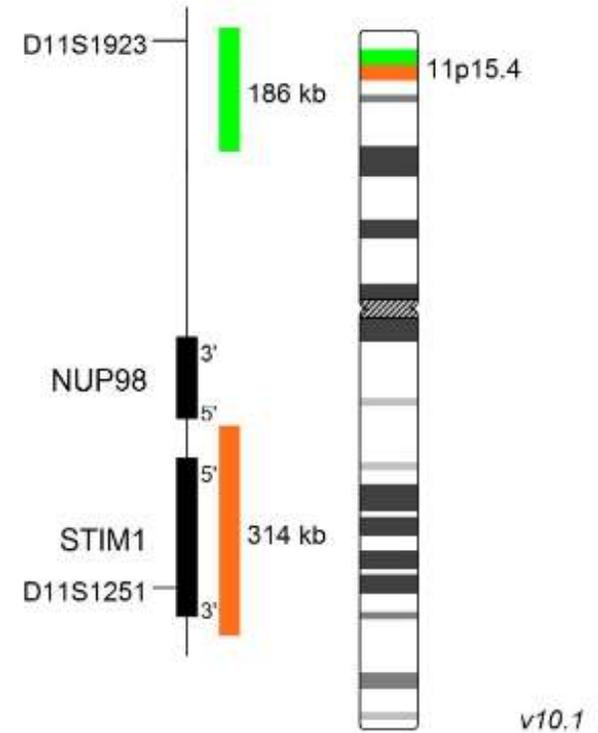
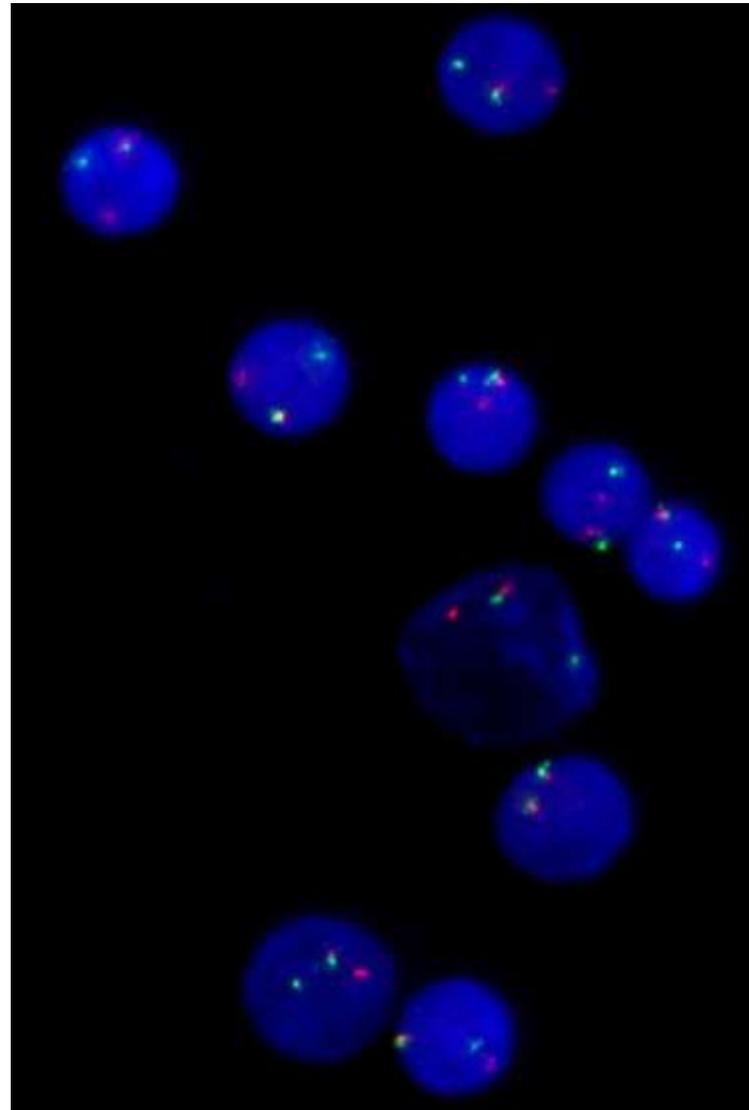
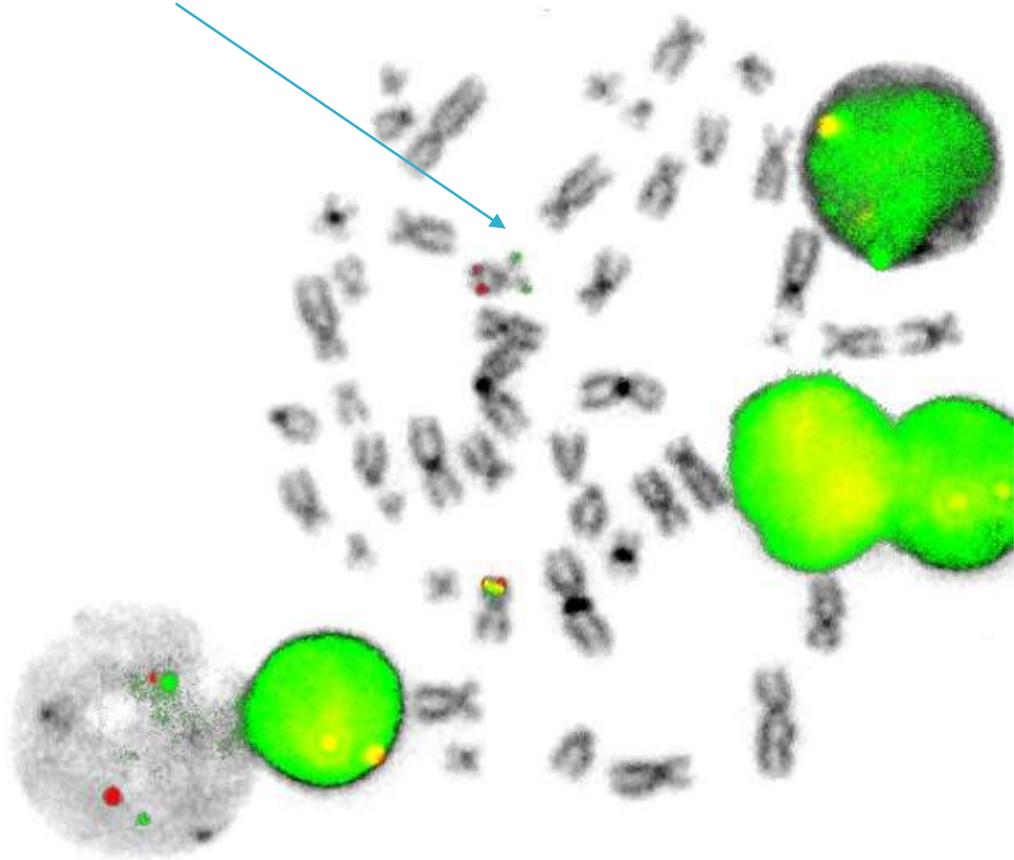
- *NUP98 et KMT2A* 37/41
- *NUP98 seul* 3/41
- *NUP98, KMT2A et MECOM* 1/41

Malus de -0,5 si sonde *KMT2A* non consultée en raison de sa valeur pronostique et du fait que l'inv(11)(p15q23) est décrite avec un réarrangement *NUP98::KMT2A* (Kaltenbach *et al*, Blood, 2010) (l'ELN 2022 ne retenant pas un pronostic défavorable pour les réarrangements de *NUP98*)

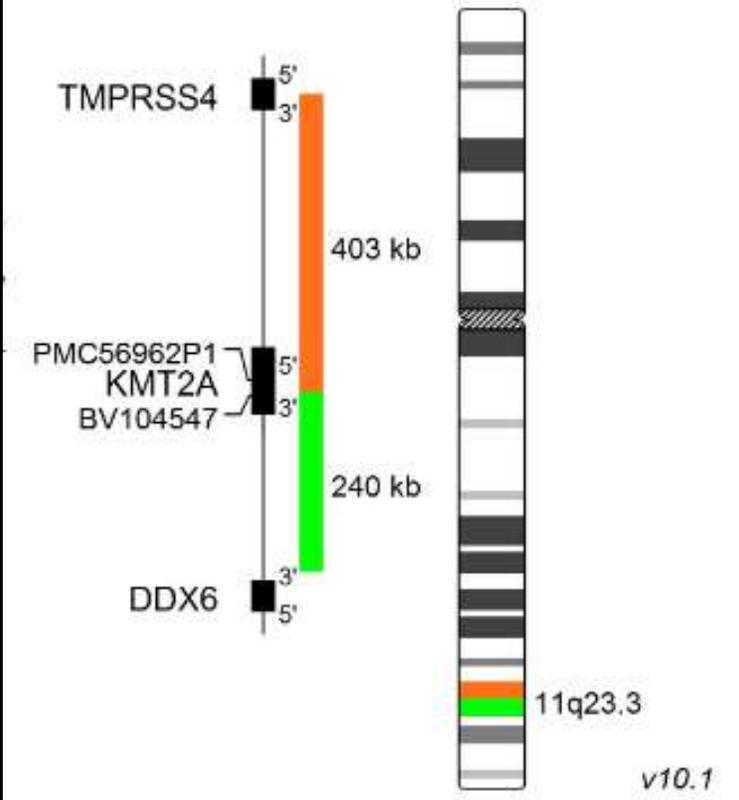
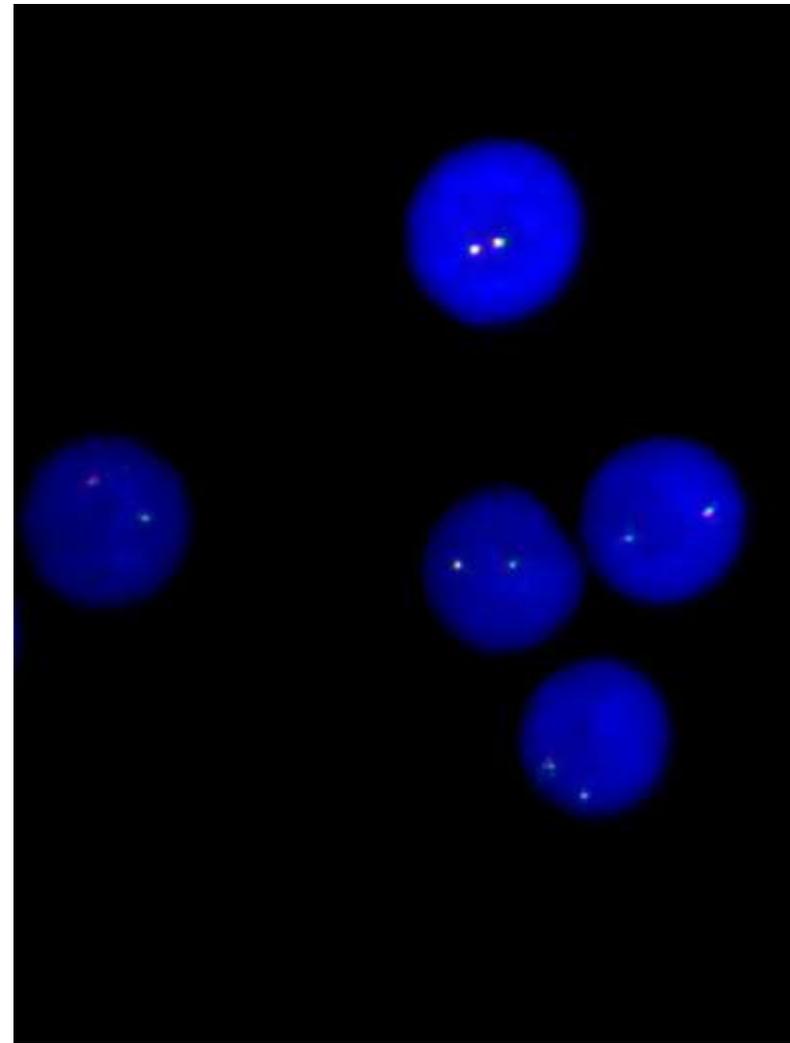
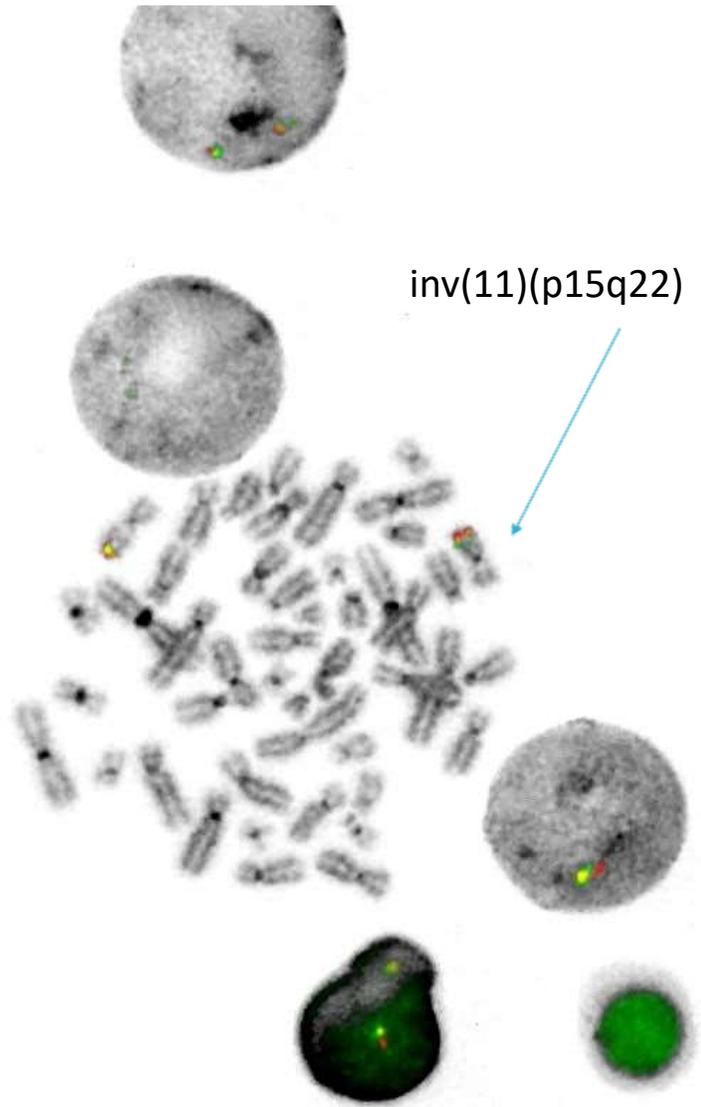
Sans la FISH *KMT2A*, on ne pouvait pas exclure un remaniement plus complexe impliquant *KMT2A* avec ou sans réarrangement de *NUP98*.

FISH NUP98

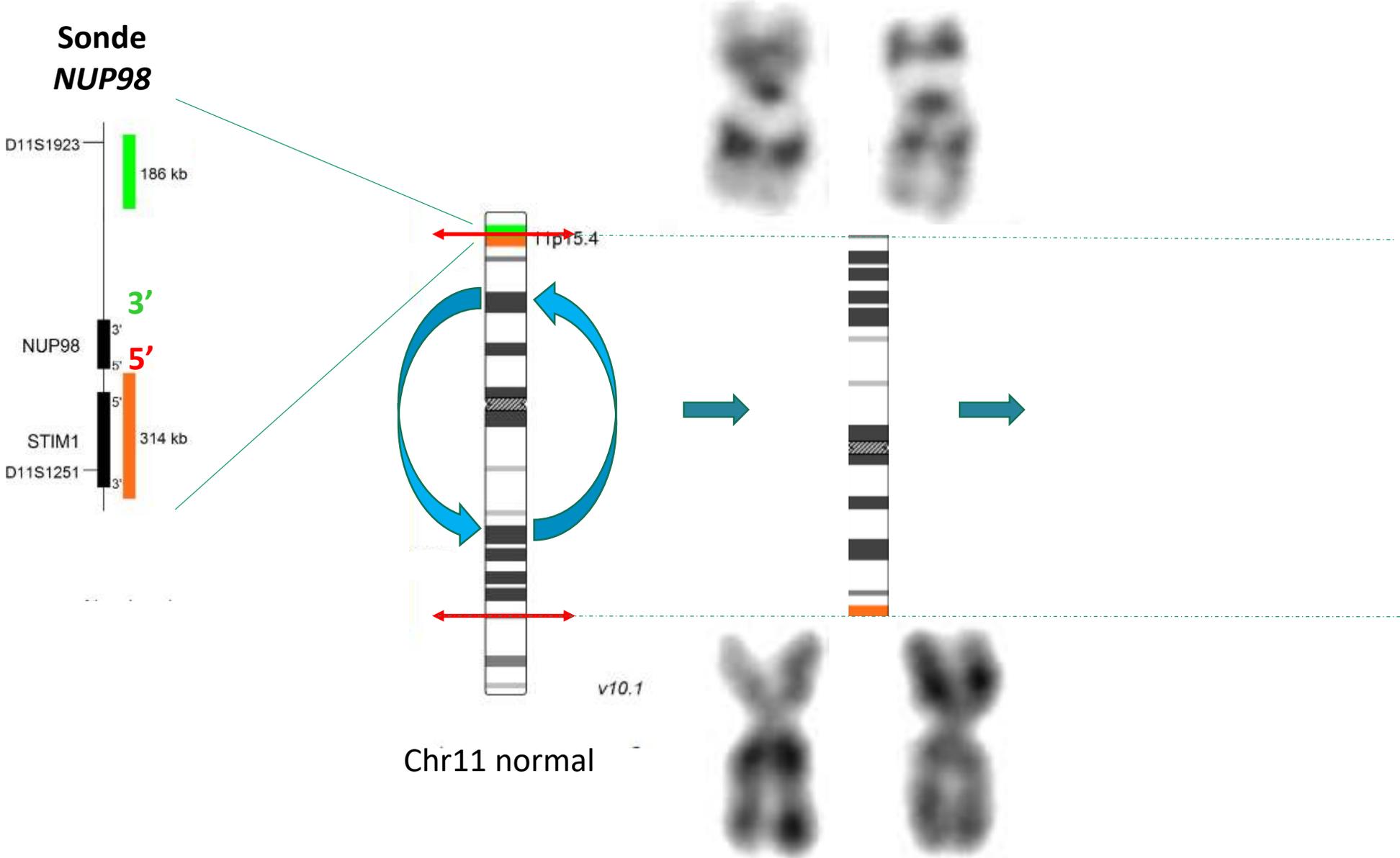
inv(11)(p15q22)



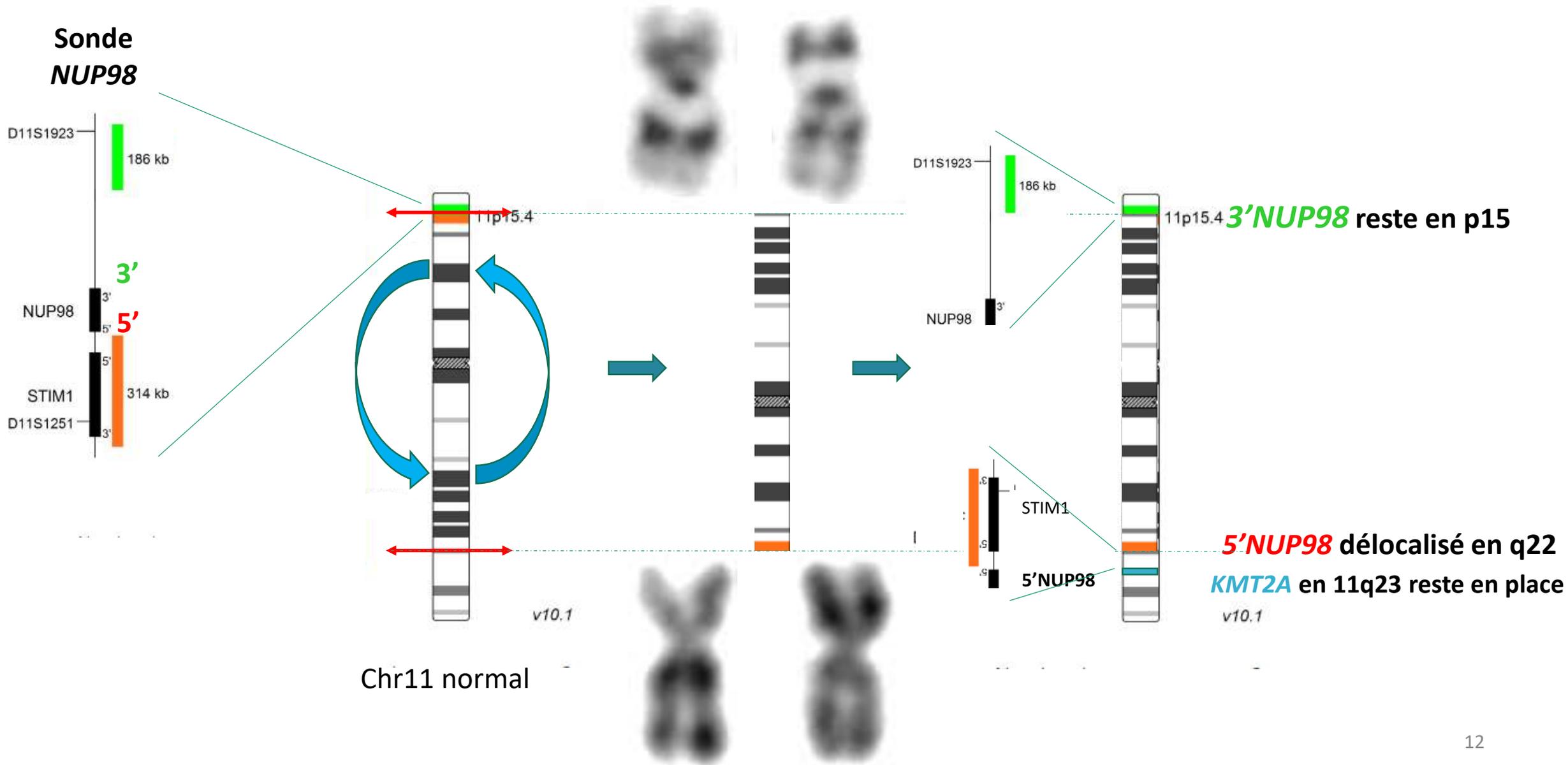
FISH KMT2A



Mécanisme inv(11)(p15q22)



Mécanisme inv(11)(p15q22)



Partie FISH (suite)

Justification FISH (1 point)

Cohérence pour 40/41 (1 centre n'a pas répondu à cet item)

FISH nécessaire « OUI » :	40
- Nécessité de préciser l'anomalie observée	20/40
- Préciser l'anomalie + Valeur pronostique	17/40
- Valeur pronostique	3/40

FISH nécessaire « NON » : 0

Formule attendue

46,XX,inv(11)(p15q22)[10].ish inv(11)(p15)(3'NUP98+)(q22)
(5'NUP98+)[3],11q23(KMT2Ax2)[2].nuc ish(NUP98x2)(3'NUP98 sep
5'NUP98x1)[21/24],(KMT2Ax2)[16]

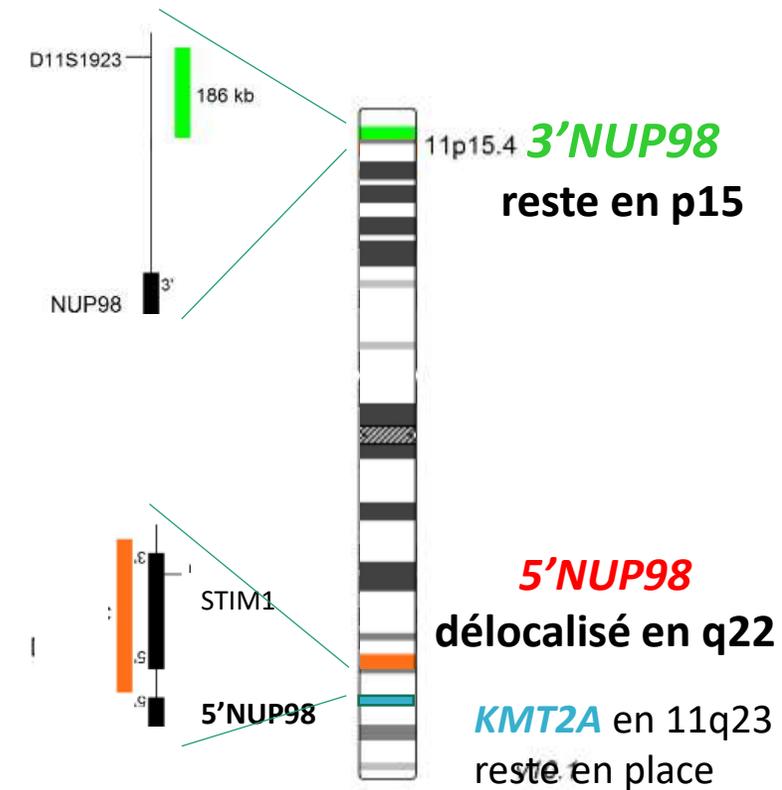
ou

46,XX,inv(11)(p15q22)[10]

ish inv(11)(p15)(3'NUP98+)(q22)(5'NUP98+)[3],11q23(KMT2Ax2)[2]
nuc ish(NUP98x2)(3'NUP98 sep 5'NUP98x1)[21/24],(KMT2Ax2)[16]

ou

46,XX,inv(11)(p15q22)[10].ish inv(11)(11pter->11p15::11q22-
>11p15::11q22->11qter)(3'NUP98+,5'NUP98+,KMT2A+)[2].nuc
ish(NUP98x2)(3'NUP98 sep 5'NUP98x1)[21/24],(KMT2Ax2)[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 2020

Conclusion

(2,25 points)

Justesse (/3 points)

Caryotype (1 point) :

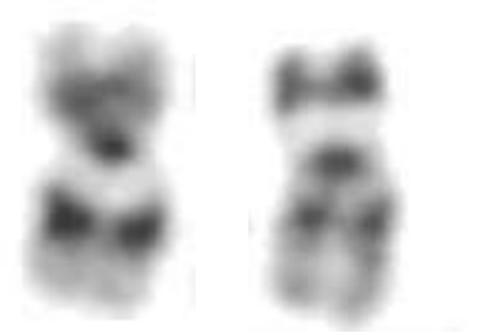
inv(11)(p15q22)

1 point

Si der(11) au lieu de inv(11)

0,5 point

OK : 41/41



Justesse (/3 points)

FISH métagasique (1 point) : (Cf. ISCN 2020 p.452)

ish inv(11)(p15)(3'NUP98+)(q22)(5'NUP98+)[3],11q23(KMT2Ax2)[2]

Erreur 5'/3' : -1

Pas noté 5'/3' : -1

OK :

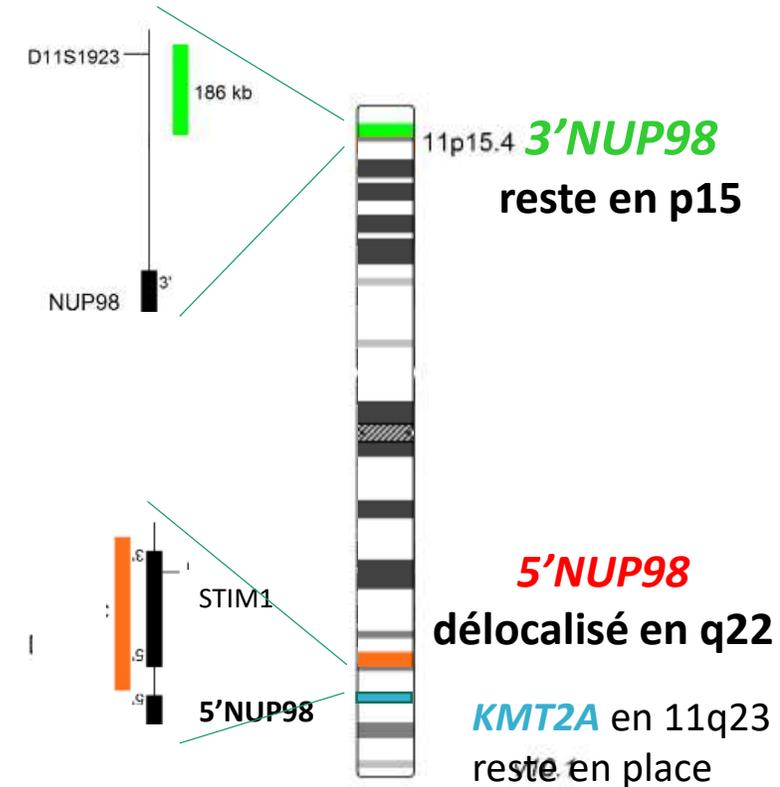
25/41

Erreur 5'/3'

15/41

Pas noté 5'3'

1/41



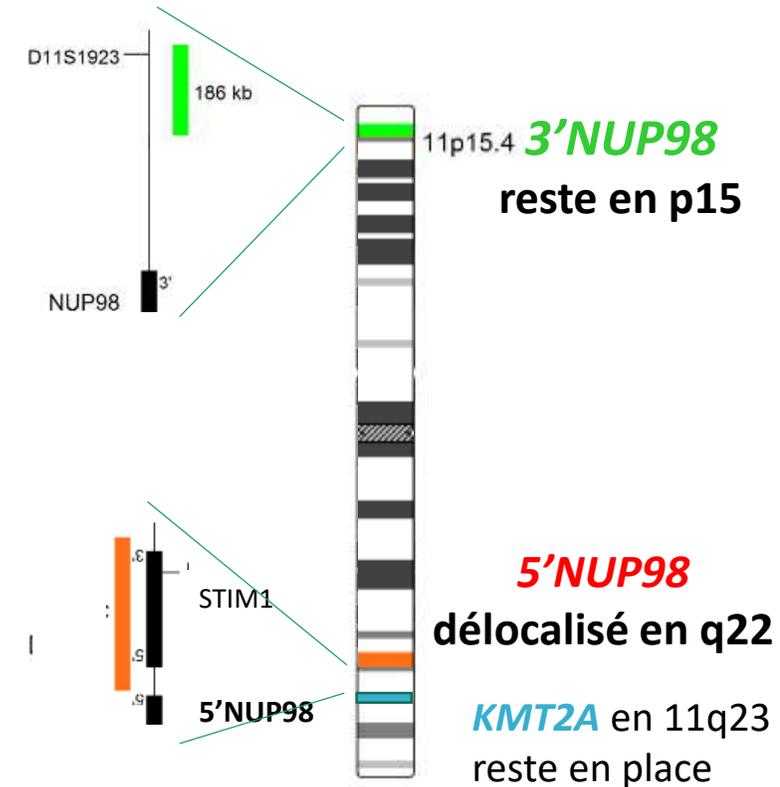
Justesse (/3 points)

FISH interphasique (1 point) : (Cf. ISCN 2020 p.461)

nuc ish(NUP98x2)(3'NUP98 sep 5'NUP98x1)[21/24],(KMT2Ax2)[16]

OK : 27/41

erreur sens 3'/5' = -0,5 14/41



Partie descriptive

(6,25 points)

Justesse de la formule

(3 points)

Caryotype

(1 point)

FISH métaphasique

(1 point)

FISH interphasique

(1 point)

Écriture de la formule

(1 point)

Règles ISCN 2020

Conclusion

(2,25 points)

Écriture (/1point)

Erreurs principales

Caryotype :

- Ne pas mettre de « ; » dans un remaniement intrachromosomique
- Nombre de mitoses non renseigné

FISH métaphasique :

- *KMT2A* placé dans les parenthèses de l'inversion

FISH interphasique :

- x1 manquant (3'*NUP98* sep 5'*NUP98***x1**)
- ne pas mettre de fraction quand tous les noyaux ont le même profil (normal ou anormal)

Ex: .nuc ish(*KMT2Ax2*)[16] et non nuc ish(*KMT2Ax2*)[16/16]

- Erreur sur le nombre de noyaux analysés
- **nomenclature HUGO** : écrire *KMT2A* et non *MLL*

A noter:

quand écriture de la formule fish sur des lignes séparées, pas de « . » au début de la ligne (ISCN 2020, p446)

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

(2,25 points)

Conclusion (2,25 points)

Partie descriptive selon les principes notation CQE

La conclusion devait comporter :

Pour le caryotype :

- Nombre de mitoses analysées (0,25) : 41/41
- Nombre de mitoses anormales par clone (0,25) : 41/41
- Nombre modal de chaque clone (0,25) : 37/41
- Description en toutes lettres des anomalies avec points de cassure et bras courts ou longs (0,5) : 41/41

Pour la FISH :

- Type de sonde utilisée (0,5) : 40/41
- Nombre de métaphases analysées (0,25) : 41/41
- Nombre de noyaux analysés (0,25) : 41/41

Partie interprétation (3,75 points)

- ✓ **Conclusion claire (1 point) :** 40/41

- ✓ **Gènes impliqués (1 point) :** *NUP98* et *DDX10* 39/41
 - NUP98* mais pas *DDX10* (0,75 points) 2/41

- ✓ **Diagnostic (1 point) :** 39/41
 - LAM avec réarrangement *NUP98* (OMS 2022) : (1 point)
 - LAM secondaire ou therapy related seulement sans référence à l'OMS : (0,5 point)

- ✓ **Pronostic correct (0,75 point) :**
 - Intermédiaire selon ELN 2022 (0,75 point), +/- publis défavorables 29/41
 - Pas de pronostic selon l'ELN 2022, pronostic défavorable avec publis (0,25) 8/41
 - Défavorable sans/mauvaise justification (0 points) 3/41
 - Pronostic manquant 1/41

Exemple de Conclusion

Détection **d'un clone anormal** (10 métaphases sur 10 analysées) à **46 chromosomes**, présentant une **inversion péricentrique** d'un chromosome 11 dont les points de cassure sont situés sur le bras court en **11p15** et sur le bras long en **11q22**.

L'analyse FISH avec une **sonde commerciale de séparation NUP98** double couleur localisée en 11p15 confirme une inversion péricentrique du chr.11 avec passage de la partie 5' centromérique de la sonde en 11q22 et maintien de la partie 3' télomérique en 11p15 sur les trois métaphases analysées. La FISH interphasique retrouve une séparation d'un signal *NUP98* sur 21 des 24 noyaux analysés (87,5%). On ne note pas de réarrangement du gène *KMT2A* avec la sonde de séparation *KMT2A* sur les deux métaphases et les seize noyaux analysés.

En conclusion, ce caryotype anormal avec une inversion péricentrique d'un chromosome 11 avec réarrangement de *NUP98* et fusion probable *NUP98::DDX10* est compatible avec une **LAM avec anomalie cytogénétique récurrente : LAM avec réarrangement de NUP98 (OMS 2022), de pronostic intermédiaire** selon les critères de l'**ELN 2022**. Cependant la majorité des études publiées considèrent ce réarrangement comme étant de pronostic défavorable et souvent identifié dans des contextes de LAM secondaires (*Xie,W. et al, Adult acute myeloidleukemia patients with NUP98 rearrangement have frequent cryptic translocations and unfavorable outcome,. Leukemia & Leukemia, 2022*).

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

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 :

1/41 (malus -0,5)

Anomalie homogène → 2 caryotypes attendus

1 seul caryotype envoyé pour un centre (avec une erreur de classement)

Classements justes (1,5 point / caryo)

28/41

➤ Erreur dans le sens de l'inv(11)

13/41

- Si l'inv(11) est dans le mauvais sens: 0 au 1^{er} caryotype et 1,5 sur le deuxième caryotype (pas de double pénalité).
- Une mitose avec l'inv(11) dans un sens et en sens inverse sur le second caryotype: 0 sur caryotype avec inv(11) dans le mauvais sens et 1,5 sur l'autre caryotype

➤ Autres erreurs: paires 13 et 14 échangées en G (**1/41**), mélange entre 17 et 18 en R (**1/41**)



Notes (/20)

✓ Moyenne globale : **17,82**

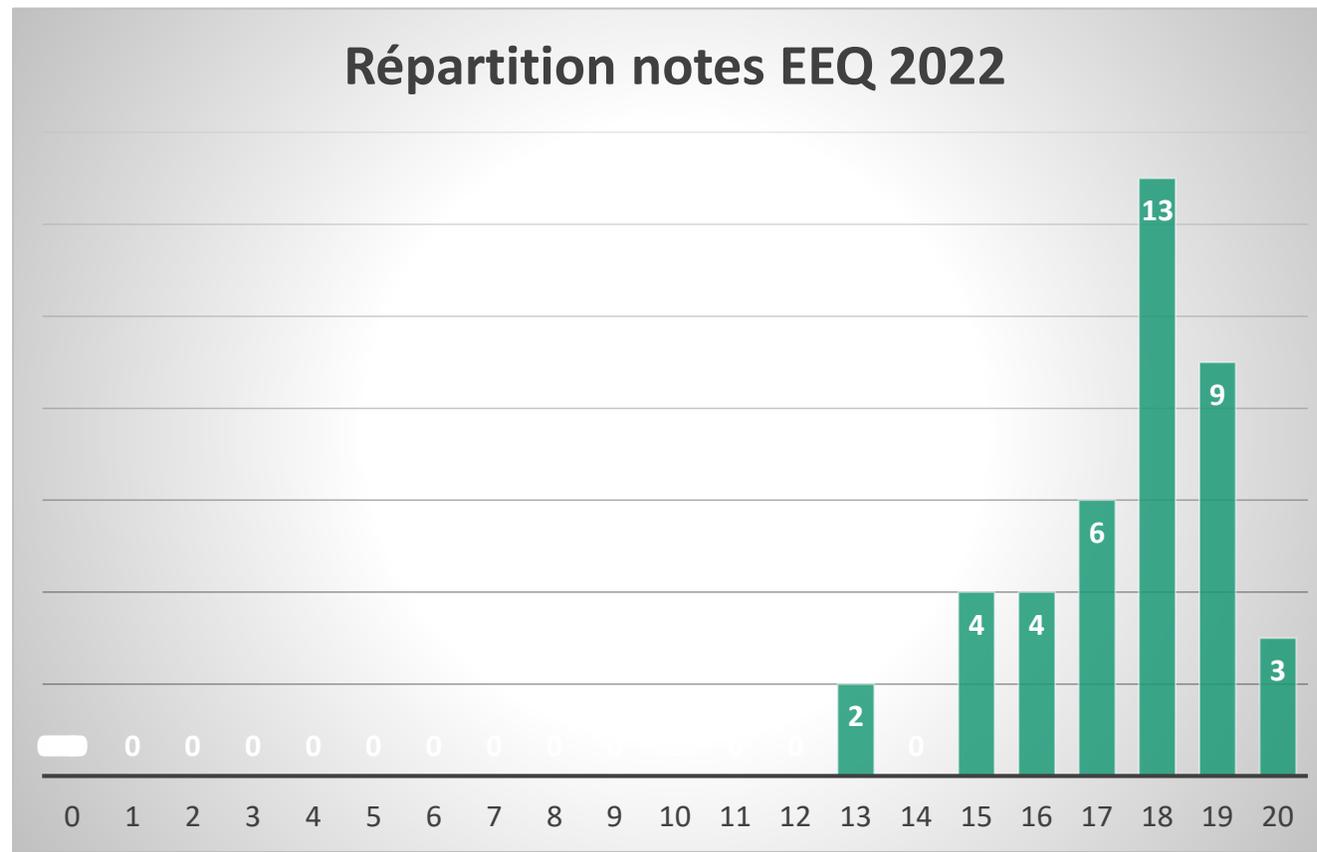
Groupe 1 : 17,99

Groupe 2 : 17,65

✓ Médiane : **18**

✓ Min : **13,5**

✓ Max : **20**



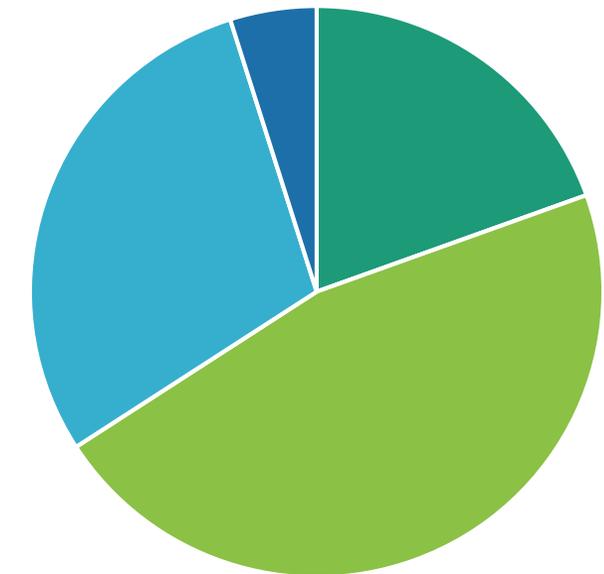
Synthèse Globale

Appréciation :

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

- Très bon $>19-20$: 10 dossiers
- Bon $17,5 \geq n \leq 19$: 17 dossiers
- Correct $15 > n < 17,5$: 12 dossiers
- Insuffisant <15 : 2 dossiers

Notes EEQ 2022



■ Très bon ■ Bon ■ Correct ■ Insuffisant

Justification de l'interprétation des notes

Très bons dossiers : $>19=20$ (10 dossiers)

Critères : identification de l'anomalie, diagnostic et pronostics conformes, absence d'erreur majeure dans la formule

Bons dossiers : $>17,5 \leq 19$ (17 dossiers)

Critères : identification de l'anomalie, diagnostic et pronostic conformes, présence d'erreur(s) dans la formule, FISH *KMT2A* non demandée, inv(11) placée dans le mauvais sens

Dossiers corrects : $>15 \leq 17,5$ (12 dossiers)

Critères : identification de l'anomalie, erreur sur la formule et/ou conclusion incomplète ou comportant une erreur sur le diagnostic ou le pronostic, inv(11) placée dans le mauvais sens

Dossiers insuffisants : <15 (2 dossiers)

Critères : identification de l'anomalie, erreur sur la formule ou comportant une erreur sur le diagnostic ou le pronostic, inv(11) placée dans le mauvais sens, conclusion très incomplète, FISH *NUP98* non décrite

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 : 1 laboratoire non rendu car hors délai
- ou dossier noté très insuffisant (critères déterminés pour chaque EEQ) : 0 cette année

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

3 droits de réponse :

- Labo 244 (19/20) :

- Question sur les points en moins relatifs au malus lié à l'absence de FISH KMT2A ainsi qu'aux points retirés pour l'absence de mention du pronostic selon l'ELN

⇒ Le mécanisme pouvait être complexe et la FISH est plus précise pour conclure sur un éventuel remaniement KMT2A, dont l'impact pronostic est important

⇒ ELN mentionné mais pas pour le « pronostic intermédiaire »

- Labo 209 (13,5/20)

- Question sur les points retirés sur l'absence de pronostic donné (0,75 points)

⇒ Pronostic non discuté dans la conclusion. Donner un pronostic selon l'ELN 2022 +/- publis.

- Labo 232 (16,5/20)

- Question sur les points retirés pour l'écriture de la FISH

⇒ Nombre de points retirés juste compte-tenu du nombre d'erreurs identifiées dans la formule ≥ 3 (cochage initial revu lors de la relecture collégiale des dossiers et non mise à jour).

⇒ Rendre le résultat de la sonde FISH KMT2A dans la formule; injuste de ne pas le faire par rapport aux labos qui l'ont mentionnée et qui ont perdu des points si erreur dans l'écriture.

Intérêts du cas

- ✓ Inversion péricentrique du chr.11 avec réarrangement NUP98 : **nouvelle entité de l'OMS 2022 de LAM avec réarrangement récurrent**
- ✓ **Classement d'une inversion péricentrique sur un caryogramme**
 - ✓ Comprendre le mécanisme pour placer le chr.11 inversé dans le bon sens
- ✓ **ISCN: écriture d'une inversion en FISH**
 - ✓ Comprendre le mécanisme de l'inversion pour écrire correctement la formule : sens d'écriture de la FISH interphasique du pter->qter, déterminant la description 3'/5' des gènes
 - ✓ Quid d'une sonde sur le même chromosome mais non impliquée dans l'inversion
- ✓ **Valeur pronostique doit être précisée avec la classification ELN 2022 pour les LAM +/- références biblio si non consensuelle**

BILAN 2022

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

1 alerte de performance pour non soumission (hors délai)

Bons résultats dans l'ensemble pour cet EEQ 2022:

- bons et très bons dossiers (soit **66 %** des participants)
- dossiers jugés corrects (**29 %**)
- dossiers jugés insuffisants (**5 %**)

Grille de correction bien adaptée

Rappels de consignes

EEQ Onco-Hématologie = Caryotype + FISH

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

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

Experts pour l'EEQ annuel

- 2021 : Geneviève Ameye - Sophie Cotteret
+ Nathalie Douet-Guilbert - Steven Richebourg
- 2022 : Nathalie Douet-Guilbert - Steven Richebourg
+ Nasséra Abermil - Emilie Klein
- 2023 : Nasséra Abermil - Emilie Klein
+ Jean-Baptiste Gaillard et ?