



**INEM**  
Institut Necker  
Enfants Malades



**FrGG**  
French-speaking  
OGM Group-GFCH

# Mise en place de la cartographie optique du génomme en routine Syndromes myélodysplasiques

Laboratoire d'Oncohématologie  
Hôpital Necker-Enfants Malades

Sophie Kaltenbach  
13 novembre 2024

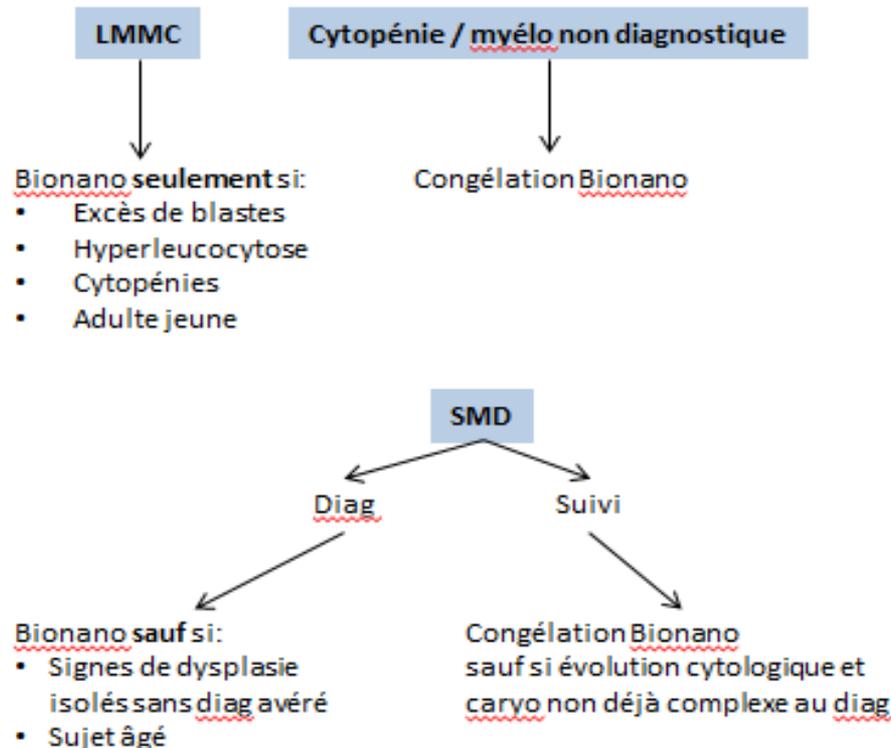
# 1- Organisation du laboratoire

- Laboratoire d'oncohématologie de Necker
  - Pré-analytique
  - Cytologie spécialisée
  - CMF
  - Biologie moléculaire
  - Cytogénétique hématologique intégrée au laboratoire d'oncohématologie depuis septembre 2020
- Services prescripteurs pour la cytogénétique
  - Necker (AP-HP)
  - Cochin (AP-HP)
  - HEGP (AP-HP)
  - Ambroise Paré (AP-HP)
- Polyvalence+++ (techniciens et biologistes)

# 1- Organisation du laboratoire

Nouvelle organisation de la cytogénétique hématologique à Necker depuis juin 2023

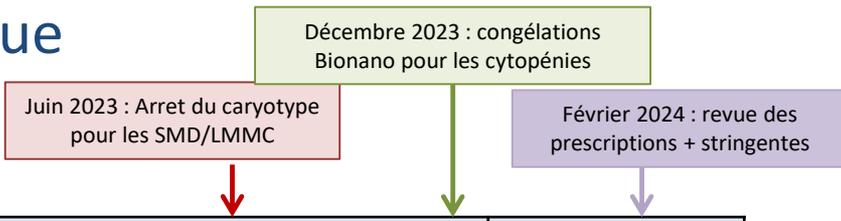
-> arrêt des mises en cultures des cytopénies, SMD et LMMC



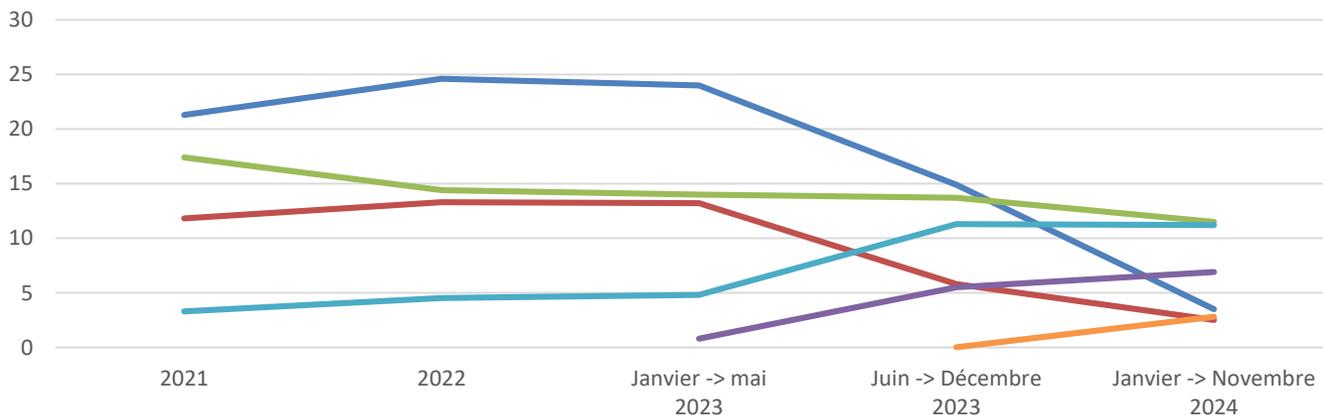
# 1- Organisation du laboratoire

## Evolution de l'activité en cytogénétique

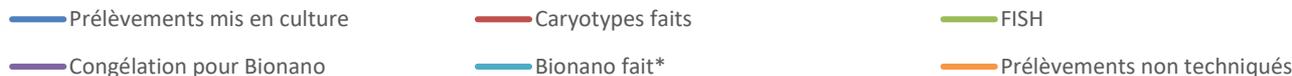
### Examens de routine et recherche



	2021		2022		2023				2024 (45 s)	
	Total	/semaine	Total	/semaine	janvier-> mai		juin->décembre		Total	/semaine
Prélèvements mis en culture	1106	21,3	1280	24,6	553	24,0	431	14,9	157	3,5
Caryotypes faits	616	11,8	690	13,3	303	13,2	168	5,8	114	2,5
FISH	906	17,4	751	14,4	321	14,0	397	13,7	519	11,5
Congélation pour Bionano	ND		ND		19	0,8	159	5,5	310	6,9
Bionano fait*	169	3,3	234	4,5	111	4,8	329	11,3	504	11,2
Prélèvements non techniques	ND		ND		ND		pas d'info	0	128	2,8



\* Dont recherche  
 • 55% en 2023  
 • 36% en 2024



Activité hebdomadaire

# 1- Organisation du laboratoire

## Optimisation des activités de caryotype, FISH et OGM

- Caryotype standard :
  - 2 à 3 mises en culture par semaine
  - Une seule dénaturation par semaine
  - Nette diminution des mises en cultures (-82% depuis juin 2023)
  - Nette diminution des caryotypes réalisés (-82% depuis juin 2023)
- FISH
  - Une seule série de FISH par semaine
- OGM
  - 2 séries par semaine
  - Passage sur version 1.8 ou Via : correction des bugs (prévu à la rentrée 2024)
  - Mise en place serveur APHP : gain de temps médical +++ pour l'analyse
  - Limiter les repasses
  - Automatisation extraction ADN ? (pas encore au point)
- 2 ETP pour l'ensemble des techniques cytogénétiques (Caryotype, FISH et OGM)
- Rationalisation des demandes (juste prescription) : le biologiste responsable vérifie les demandes et récupère les informations clinico-biologiques.

# 2- Rendu des résultats

## Cytogénétique au diagnostic des SMD/LMMC

Cartographie optique du génome

Bilan activité 05/06/2023 -> 01/11/2024

- Diagnostic, évolution, rechute : Bionano sans mise en culture
- Suivi sans évolution : congélation sans mise en culture

	<i>Caryotypes au diagnostic 2021</i>	<i>Caryotypes au diagnostic 2022</i>	<b>Bionano 05/06/2023 -&gt; 01/11/2024</b>
Nb échantillons	153	219	<b>240</b>
Succès	144 (94,1%)	186 (86,9%)	<b>234 (97,5%)</b>
Caryotypes anormaux	40 (27,8%)	59 (31,7%)	<b>80 (34,2%)</b>
Délai de rendu médian	13 jours	15 jours	<b>13 jours</b>

# 2- Rendu des résultats

## Anomalies cytogénétiques rendues

- Anomalies récurrentes dans les MDS/LMMC et LAM :

Validée	Action	Famille d'anomalie	Anomalie à détecter	Statut de détection	Anomalie détectée	Chromosome	Gène
			t(1;22)(p13.3;q13.1) RBM15-MKL1	Non détectée		Chromosome 1;Chromosome 22	{RBM15 (NM_022766)};{MKL1 (NM_020831)}
			t(15;17)(q24;q21) PML-RARA	Non détectée		Chromosome 15;Chromosome 17	{PML (NM_002675)};{RARA}
			inv(16) ou t(16;16) CBFB-MYH11	Non détectée		Chromosome 16	{CBFB (NM_001735)};{MYH11 (NM_001040113)}
			Délétion 20q	Non détectée		Chromosome 20	
			t(8;21)(q22;q22) RUNX1-RUNX1T1	Non détectée		Chromosome 21;Chromosome 8	{RUNX1 (NM_001754)};{RUNX1T1 (NM_004344)}
			Monosomie 5	Non détectée		Chromosome 5	
			Délétion 5q	Non détectée		Chromosome 5	
			t(6;9)(p23;q34.1) DEK-NUP214	Non détectée		Chromosome 6;Chromosome 9	{DEK};{NUP214 (NM_005085)}
			Monosomie chr 7	Non détectée		Chromosome 7	
			Délétion 7q	Non détectée		Chromosome 7	
			Trisomie 8	Non détectée		Chromosome 8	
			Perte de l'Y	Non détectée		Chromosome Y	
			Absence d'anomalie vue en cartographie optique du génome	Non détectée		GENOME	
			Caryotype complexe	Non détectée		GENOME	
			MECOM (EV11) remanié	Non détectée		Chromosome 3	EV11 (NM_005241)
			Duplication en tandem de KMT2A	Non détectée		Chromosome 11	KMT2A (NM_001197104)
			KMT2A (MLL) remanié	Non détectée		Chromosome 11	KMT2A (NM_001197104)
			Réarrangement de MYB	Non détectée		Chromosome 6	MYB (NM_001130173)
			Réarrangement de NUP98	Non détectée		Chromosome 11	NUP98 (NM_016320)

- Autres anomalies cytogénétiques rendues : anomalies de structure visibles en cytogénétique standard (>5Mb)
- Définition de la **complexité génomique** entrant dans le calcul des scores de risque IPSS et ELN : un génome complexe est défini comme ayant 3 anomalies ou plus de **taille >5Mb**

# 2- Rendu des résultats

## Anomalies à rendre?



ogm[GRCh37] 7q22.1(101183518\_102202184)x1  
Délétion CUX1



ogm[GRCh37] 11q23.3(118341120\_118349783)x3  
ITD KMT2A



ogm[GRCh37] 17q11.2(29631942\_30434574)x1  
Délétion NF1 et SUZ12



ogm[GRCh37] 12q24.31(120862133\_122738669)x1  
Délétion BCL7A

## 2- Rendu des résultats

Résultats obtenus dans les SMD depuis la mise en place de l'OGM en routine

Score selon R-IPSS	Anomalie	Résultat selon CG	Anomalies additionnelles
Très bon 0 point	-Y	7	
	del(11q)	1	
Bon 1 point	Normal	103	10
	del(5q)	1	
	del(12q)	1	
	del(20q)	1	1
	2 anomalies dt 5q	2	
Intermédiaire 2 points	del(7q)	2	
	+8	4	
	+19	1	
	1 anomalie autre	6	1
	2 anomalies	5	1
Mauvais 3 points	-7	1	
	Mecom	1	
	2 anomalies dont -7/7q-	3	1
	Complexe avec 3 anomalies	2	
Très mauvais 4 points	> 3 anomalies	11	
<b>Total</b>		152	14 (9,2%)

# Anomalies additionnelles

Résultat OGM	Caryotype interprété selon critères de cytogénétique standard	Cytogénétique standard	Score R IPSS	Anomalie cryptique identifiée ne rentrant pas dans le calcul du score R-IPSS
ogm[GRCh37] 17p13.1(7531476_7588071)x1	46,XY	Normal	1	Del 17p (TP53)
ogm[GRCh37]11q23.3(118341120_118349783)x3,ins(12;?)(p13.2;?)	46,XX	Normal	1	ITD KMT2A, ins ETV6
ogm[GRCh37]ins(6;?)(q23.3;?),11q13.5q23.3(76319114_117307088)x1~2,20q11.21q13.13(30393965_49327177)x1~2	46,XY,ins(6;?)(q23.3;?),del(11)(q13.5q23.3),del(20)(q11.21q13.13)	2 anomalies - Del 20q - Del 11q	2	Insertion de 28kb dans MYB
ogm[GRCh37] 4q24(105799545_106272520)x1	46,XX	Normal	1	del cryptique de TET2
ogm[GRCh37]4q24(105914364_106278209)x1,20q11.21q13.33(30922099_61319808)x1~2	46,XY,del(20)(q11.21)	del 20q	1	del cryptique de TET2
ogm[GRCh37] dup(11)(q23.3q23.3)	46,XY	Normal	1	ITD KMT2A
ogm[GRCh37] 21q22.12(36353801_37026403)x1	46,XX	Normal	1	del cryptique de RUNX1
ogm[GRCh37](X,1-22)x2	46,XX	Normal	1	del cryptiques de TET2 et NF1 et SUZ12
ogm[GRCh37]2p23.3(25410832_25974209)x1,2p23.3(25413634_25974209)x1,21q22.12(36186068_36477776)x1	46,XX	Normal	1	del cryptiques de DNMT3A et RUNX1
ogm[GRCh37]4q24(105914364_106295926)x1,t(4;12)(q24;q12)(106295926;41371151),12q12(41371151_42864430)x1	46,XY,t(4;12)(q24;q12)	1 anomalie	2	del cryptique de TET2
ogm[GRCh37](X,1-22)x2	46,XY	Normal	1	ins dans TCL6
ogm[GRCh37] 17q11.2(29631942_30434574)x1	46,XX	Normal	1	deletion NF1/SUZ12
ogm[GRCh37] 12q24.31(121930812_124041999)x1	46,XY	Normal	1	Del 12q cryptique (BCL7A)
ogm[GRCh37] 7q22.1(101183518_102202184)x1,12q24.31(120862133_122738669)x1,(8)x3	47,XY,del(7)(q22.1q22.1),+8	2 anomalies dont 7q-	3	Del 12q cryptique (BCL7A)

# 2- Rendu des résultats

## Exemple de Compte rendu MDS, caryotype sans anomalie

**Indication :** MDS

**Méthode d'analyse :**

Le caryotype moléculaire est établi par cartographie génomique optique sur l'appareil Saphyr (Bionano Genomics).

Pipelines bio-informatiques : « Rare variant pipeline » et « Copy Number Analysis ».

Logiciel d'analyse : Bionano Access Software (v1.7)

Couverture moyenne : 527 X

**Résultat :**

Anomalie(s) significatives(s) détectée(s) :
---

Absence d'anomalie vue en cartographie optique du génome.
---

Formule : ogm[GRCh37](X,Y)x1,(1-22)x2

Caryotype interprété après cartographie génomique optique : 46,XY

**Commentaires et conclusion :**

Il n'a pas été détecté d'anomalie clonale en cartographie optique du génome.

Pronostic favorable, 0 point pour le score IPSS et 1 point pour le score R-IPSS

# 2- Rendu des résultats

Exemple de Compte rendu  
MDS, caryotype avec anomalie

**Indication :** MDS

**Méthode d'analyse :**

Le caryotype moléculaire est établi par cartographie génomique optique sur l'appareil Saphyr (Bionano Genomics).  
Pipelines bio-informatiques : « Rare variant pipeline » et « Copy Number Analysis ».  
Logiciel d'analyse : Bionano Access Software (v1.7)  
Couverture moyenne : 500 X

**Résultat :**

Anomalie(s) significatives(s) détectée(s) :
---

Monosomie chr 7
-----------------

Formule : ogm[GRCh37](7)x1

Caryotype interprété après cartographie génomique optique : 45,XY,-7

**Commentaires et conclusion :**

Détection d'une mosomie 7

Pronostic défavorable, 1 point pour le score IPSS et 3 points pour le score R-IPSS.

Validé biologiquement le : 31 août 2023 14:18

Date d'édition : 31 août 2023 14:18

# 2- Rendu des résultats

Exemple de Compte rendu

MDS, caryotype avec anomalie cryptique

**Indication :** MDS

**Méthode d'analyse :**

Le caryotype moléculaire est établi par cartographie génomique optique sur l'appareil Saphyr (Bionano Genomics).

Pipelines bio-informatiques : « Rare variant pipeline » et « Copy Number Analysis ».

Logiciel d'analyse : Bionano Access Software (v1.7)

Couverture moyenne : 537 X

**Résultat :**

Anomalie(s) significatives(s) détectée(s) :
---

Absence d'anomalie détectée par cartographie génomique optique
---

Formule : ogm[GRCh37](X,1-22)x2

Caryotype interprété après cartographie génomique optique : 46,XX

**Commentaires et conclusion :**

Il n'a pas été détecté d'anomalie clonale en cartographie optique du génome.

Pronostic favorable, 0 point pour le score IPSS et 1 point pour le score R-IPSS

A noter la présence d'une anomalie chromosomique de taille non visible au caryotype conventionnel. Il s'agit d'une délétion interstitielle de 787Kb en 17q11.2 emportant NF1 et SUZ12.

# 2- Rendu des résultats

LMMC

Demande du clinicien devant  
aggravation des cytopénies

Résultat OGM

**Indication :** Leucémie myélomonocytaire chronique

**Méthode d'analyse :**

Le caryotype moléculaire est établi par cartographie génomique optique sur l'appareil Saphyr (Bionano Genomics).

Pipeline bio-informatique : « Rare variant pipeline » et « Copy Number Analysis ».

Logiciel d'analyse : Bionano Access Software (v1.7)

Couverture moyenne : 501 X

**Résultat :**

Anomalie(s) significative(s) détectée(s) :
--

Chromosome isocentrique idic(X)
---------------------------------

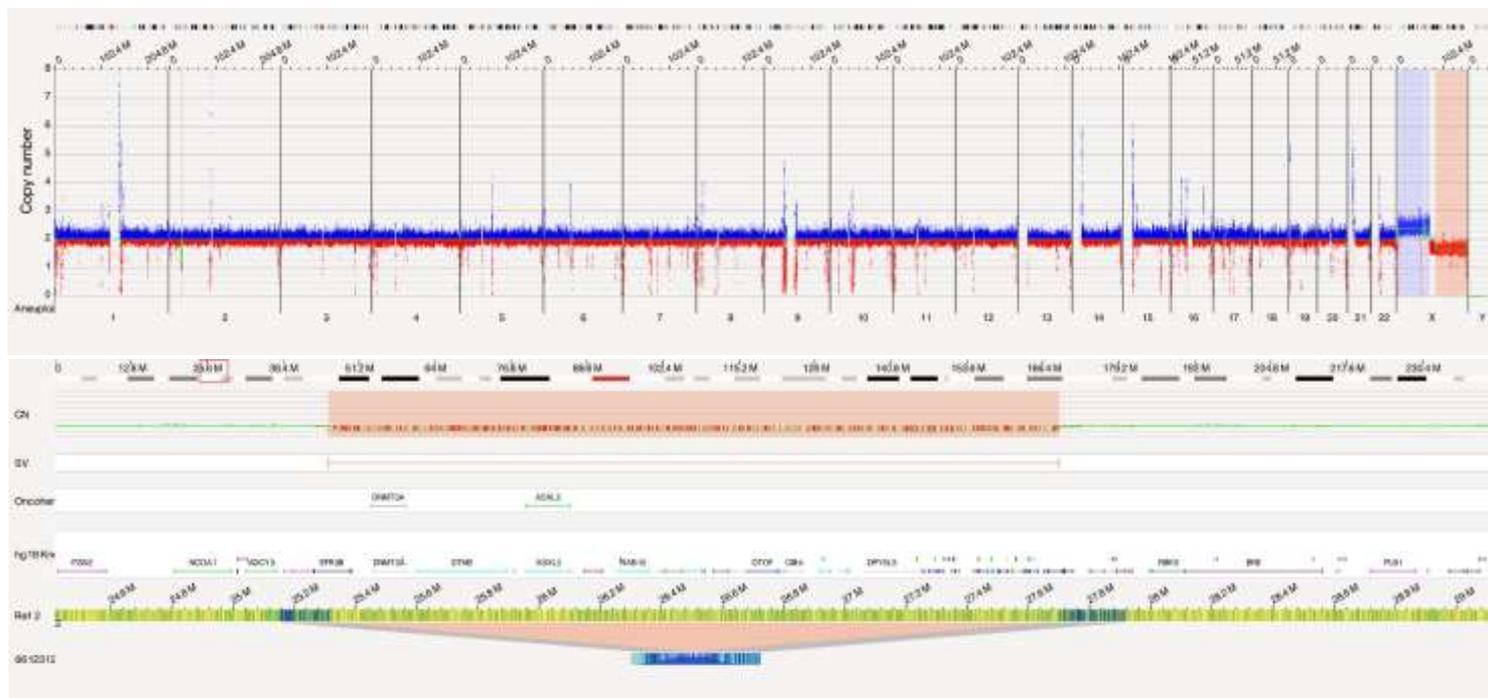
Délétion de 2,4Mb en 2p23.3 emportant ASXL2 et DNMT3A
---

Formule : ogm[GRCh37](X)(X)p22.33q13)x3,(X)(q21.1q28)x1,2p23.3(25310970\_27700496)x1

Caryotype interprété après cartographie génomique optique : 46,X,idic(X)(q21.1),del(2)(p23.3p23.3)

**Commentaires et conclusion :**

L'analyse par cartographie optique du génome met en évidence la présence d'un chromosome isocentrique de l'X et d'une délétion de 2,4Mb sur le bras court d'un chromosome 2 emportant notamment les gènes ASXL2 et DNMT3A.



# 2- Rendu des résultats

LMMC

Demande du clinicien devant aggravation des cytopénies

Résultat NGS

## Résultat :

Chromosome	Gène	Région gène	Anomalie (c.)	Anomalie (p.)	Type d'anomalie	FAV / Ratio (%)
Chromosome 17	SRSF2 (NM_001195427)	Exon 01	c.284C>T	p.Pro95Leu	Variant faux sens	39
Chromosome 4	TET2 (NM_001127208)	Exon 03	c.2815C>T	p.Gln939Ter	Variant non-sens	44
Chromosome 4	TET2 (NM_001127208)	Exon 03	c.3106del	p.His1036ThrsTer19	Variant non-sens	44

## Commentaires et conclusion :

Détection de 3 anomalies moléculaires affectant les gènes TET2 et SRSF2. La perte des gènes ASXL2 et DNMT3A décrite par cartographie optique est visible par analyse de la variabilité du nombre de copie (CNV).

Ces résultats sont rendus pour une profondeur moyenne de 759X



# En conclusion

- Retour positif de tous les intervenants : Cliniciens, biologistes, techniciens
- La mise en place du circuit nécessite une très bonne communication et coordination
- Très peu d'échecs
- Que faire des anomalies identifiées, non rendues? Evaluer le pronostic, large cohortes, voir avec les labos de bio mol? Actuellement non rendu par labo bio mol cochin



## Remerciements

**Hôpital Necker-Enfants Malade, Assistance Publique-  
Hôpitaux de Paris (APHP), Paris, France  
Laboratoire d'onco-hématologie**

Vahid Asnafi

Elisabeth Macintyre

Lucile Couronné

Estelle Balducci

Patrick Villarese

Aurore Touzart

Ludovic Lhermitte

Thomas Steimle

Chantal Brouzes

Agata Cieslak

Equipe technique:

Cécile Fournel, Matthieu Bertrand, Camille Gillet, Louiza Nait-  
Mouloud, Melodie Querie, Aurore Lacherez

**Service d'hématologie clinique**

Olivier Hermine

Felipe Suarez

**Hôpital Cochin, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris  
(APHP), Paris, France  
Laboratoire d'hématologie**

Olivier Kosmider

Eugénie Duroyon

Marie Templé

Chloé Friedrich

Michaela Fontenay

Nicolas Chapuis

Carole Almire

**Service d'hématologie clinique**

Didier Bouscary

Rudy Birsén

Justine Decroq

Lise Willems

**Bionano Genomics**

Lam Nguyen, Cyprien Dulac, Sandra Bauer, Guillaume  
Panara, Dana Jaber, Marie-Charlotte Lenoir, Elissar  
Nassereddine, Emmanuel Gay