



## Avancées du groupe



HÔPITAL UNIVERSITAIRE  
HENRI MONDOR  
ALBERT CHENÉVIER - SOPHIE-DUPUYTREN  
EMILE BOUÏE - GEORGES CLERMONTAUX

**Pr Orianne Wagner-Ballon**

Hématologie cellulaire

Hôpitaux universitaires Henri Mondor



**Dr Dorothee Selimoglu-Buet**

INSERM UMR1170

Gustave Roussy



# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem

**CytHem**

Actualités

Les groupes de travail

Le bureau

Partenaires & Liens

Contact

Inscription

## Les groupes de travail

**CytHem** **LOC**

Groupe de travail sur les Lymphomes  
Oculo-Cérébraux.

**Organisatrices :**

Magali LE GARFF-TAVERNIER  
Agathe DEBLIQUIS



**CytHem** **LMMC**

Groupe de travail sur la Leucémie  
myélomonocytaire chronique.

**Organisatrices :**

Oriane WAGNER-BALLON  
Dorothée SELIMOGLU-BUET



**CytHem** **MYELOME**

Groupe de travail sur les Syndromes  
Myélomateux.

**Organisateurs :**

Thomas MATTHES  
François VERGEZ



**CytHem** **UTILE**

Groupe de travail sur des questions  
pratiques.



# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem

**CytHem**

Actualités

Les groupes de travail

Le bureau

Partenaires & Liens

Contact

Inscription

## Les groupes de travail

**CytHem** **LOC**

Groupe de travail sur les Lymphomes  
Oculo-Cérébraux.

**Organisatrices :**

Magali LE GARFF-TAVERNIER  
Agathe DEBLIQUIS



**CytHem** **LMMC**

Groupe de travail sur la Leucémie  
myélomonocytaire chronique.

**Organisatrices :**

Oriane WAGNER-BALLON  
Dorothée SELIMOGLU-BUET



**CytHem** **MYELOME**

Groupe de travail sur les Syndromes  
Myélomateux.

**Organisateurs :**

Thomas MATTHES  
François VERGEZ



**CytHem** **UTILE**

Groupe de travail sur des questions  
pratiques.



# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Les objectifs

- **Partager l'expérience acquise sur le « phénotypage LMMC »** par les deux sites à l'origine de la signature phénotypique publiée en 2015



**Oriane  
WAGNER-BALLON**

Organisatrice CytHem-LMMC

Département d'Hématologie et d'Immunologie Biologiques  
Hôpital Henri Mondor  
Créteil - France



**Dorothée  
SELIMOGLU-BUET**

Organisatrice CytHem-LMMC

Inserm U1170  
Institut Gustave Roussy  
Villejuif - France

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



 Communications orales

 Veille bibliographique


 Protocoles techniques

 Newsletters

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



 Communications orales

 Veille bibliographique

 Protocoles techniques

 Newsletters

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Communications orales

Première journée CytHem - 27/10/2018

🔗 Présentation

🔗 Communications orales

🔗 Protocoles techniques

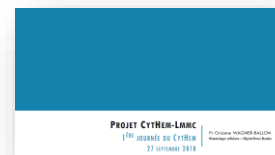
🔗 Veille bibliographique

🔗 Newsletters

LMMC : le point de vue du clinicien - Raphaël Itzykson

LMMC: DU CÔTÉ DU CYTOMÉTRISTE - Pr Orianne WAGNER-BALLON - Dr Dorothée SELIMOGLU-BUET

PROJET CYTHEM-LMMC - Pr Orianne WAGNER-BALLON




# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Les objectifs

- **Procurer aux membres du CytHem des protocoles techniques « clé en main »**

 Communications orales

 Veille bibliographique

 **Protocoles techniques**

 Newsletters



# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Protocoles techniques

👉 Sélectionner votre machine \*

🔗 Présentation

🔗 Communications orales

🔗 Protocoles techniques

🔗 Veille bibliographique

🔗 Newsletters



# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Protocoles techniques

👉 Sélectionner votre machine \*

🔗 Présentation

🔗 Communications orales

🔗 Protocoles techniques

🔗 Veille bibliographique

🔗 Newsletters



🔗 le mode opératoire technique - PDF

🔗 la stratégie d'analyse - PDF

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Protocoles techniques

👉 Sélectionner votre machine \*



🔗 Présentation

🔗 Communications orales

🔗 Protocoles techniques

🔗 Veille bibliographique

🔗 Newsletters

🔗 le mode opératoire technique - PDF

🔗 la stratégie d'analyse - PDF

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem

## CYTHEM-LMMC

Pr ORIANNE WAGNER-BALLON

Département d'Hématologie et Immunologie biologiques – Hôpital Henri Mondor – Créteil

Dr DOROTHEE SELIMOGLU-BUET

INSERM UMR1170, Université Paris-Sud – Gustave Roussy – Villejuif

### PROTOCOLE PHENOTYPAGE LMMC POUR NAVIOS (BECKMAN-COULTER)

- Ajouter les anticorps suivants à 200 µl de sang total prélevé sur EDTA

Remarques :

- 1) Analyser impérativement dans les 24h suivant le prélèvement
- 2) Diluer les échantillons pour ajuster la suspension à 10 G/L
- 3) Possibilité d'utiliser le CD2 ou le CD7 voire d'utiliser les 2 anticorps pour une exclusion optimale des lymphocytes T et des cellules NK

FC	PE	PCS.5	PC7	APC	AA700	PB	KrOr
AC	CD24	CD56	CD14	CD2	CD7	CD16	CD45
Référence	IM1428U	A79388	A22331	A60794	8H8.1	A82792	B36294
Quantité (µl)	20	5	5	5	5	10	5
Mode fluorescence							
<b>FLOW SET PRO lot 9001051</b>	79.6	31.8	6.96	3.98	76.1	17.6	47.7
Voltage PMT NAVIOS MONDOR (à titre informatif)	437	522	563	483	603	441	425

Merci de nous communiquer votre lot actuel de FLOW SET PRO afin que nous vous transmettions les valeurs cibles correspondantes !

- Incuber 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière
- Ajouter 1mL de VersaLyse avec 25 µl of IOtest 3 10X\* Fixative Solution
- Incuber 20 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière
- Acquérir immédiatement **SANS** procédure de lavage

Remarque : Veiller à acquérir un minimum de **10 000 événements MO1** (idéalement 20 000) pour une interprétation correcte des pourcentages

Réglage Taille/Structure sur sang normal (donneur EFS)

Valeur Mode sur	FSC	SSC
PNN	729	1023
MONOCYTES	568	304
LYMPHOCYTES	372	95
Voltage PMT NAVIOS MONDOR (à titre informatif)	620 (gain 2)	769 (gain 7.5)

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Protocoles techniques

👉 Sélectionner votre machine \*



🔗 Présentation

🔗 Communications orales

🔗 Protocoles techniques

🔗 Veille bibliographique

🔗 Newsletters

🔗 le mode opératoire technique - PDF

🔗 la stratégie d'analyse - PDF

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem

## CYTHEM-LMMC

### PHÉNOTYPAGE LMMC

**Stratégie de fenêtrage par exclusion pour l'identification  
et la quantification relative des sous-populations monocytaires circulantes**

*Instructions pour utilisateurs NAVIOS™ (Beckman-Coulter)*



**Pr ORIANNE WAGNER-BALLON**

Département d'Hématologie et Immunologie biologiques – Hôpital Henri Mondor – Créteil

**Dr DOROTHÉE SELIMOGLU-BUET**

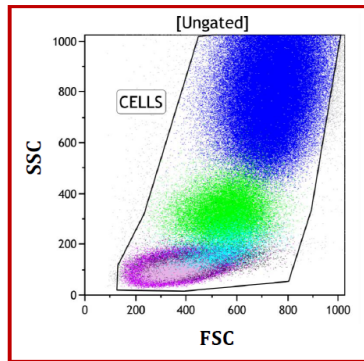
INSERM UMRI 1170, Université Paris-Sud – Gustave Roussy – Villejuif

CytHem-LMMC\_NAVIOS\_Mars 2019

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem

## CYTHEM-LMMC

*NAVIOS™ (Beckman-Coulter)*

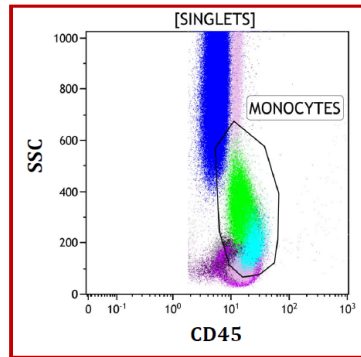


- 1) **Sélectionner les cellules vivantes** en excluant les débris cellulaires sur les paramètres morphologiques.  
***Faire attention à ajuster le réglage du paramètre SSC de façon à discriminer au mieux les lymphocytes (et plus particulièrement les cellules NK) et les monocytes (les polynucléaires ne sont pas pris en compte dans l'analyse et peuvent être éliminés).***

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem

## CYTHEM-LMMC

NAVIOS™ (Beckman-Coulter)



3) Sélectionner grossièrement les monocytes définis comme les cellules CD45<sup>fort</sup>/SSC<sup>int</sup>.

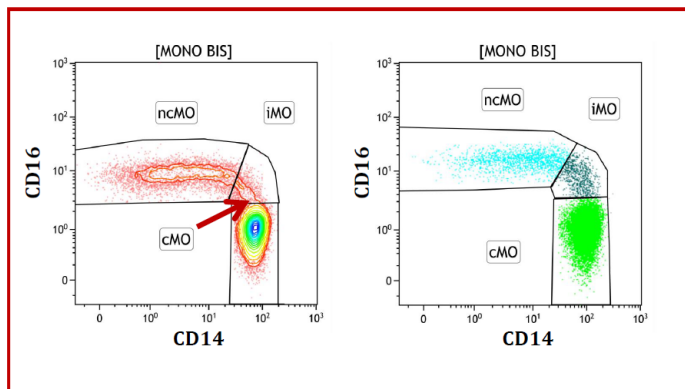
*Faire attention à ne pas exclure les cellules exprimant fortement le CD45 (correspondant aux MO2 et MO3) et les cellules de faible structure (correspondant aux MO3 qui se superposent aux cellules NK). En pratique, la fenêtre doit être large et en bas !*



# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem

## CYTHEM-LMMC

NAVIOS™ (Beckman-Coulter)



10) Finalement, séparer les monocytes sélectionnés par la *gate* « MONO BIS » en **monocytes classiques** CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> (MO1 ou cMO), **monocytes intermédiaires** CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> (MO2 ou iMO) et **monocytes non classiques** CD14<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> (MO3 ou ncMO).

*Remarque: Utiliser la représentation en « contour plot » pour un fenêtrage optimal de la sous-population monocyttaire MO1 en utilisant la vallée (flèche)!*

Vérifier que la somme des 3 sous-populations monocytaires est >99,5% pour valider le fenêtrage.

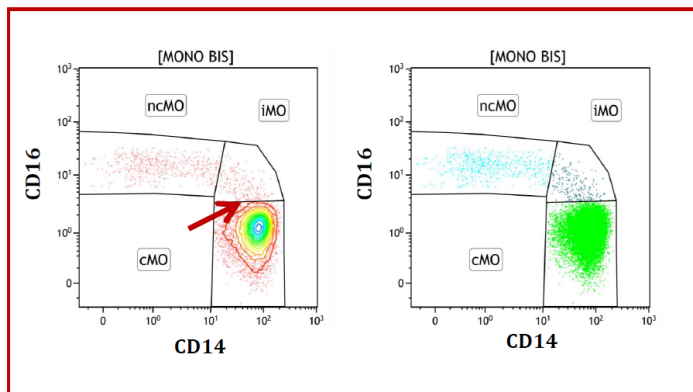
cMO	80,90
iMO	3,11
ncMO	15,97
TOTAL	99,98%

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem

## CYTHEM-LMMC

### EXEMPLE D'UN PATIENT ATTEINT DE LMMC

NAVIOS™ (Beckman-Coulter)



Profil typique de répartition des sous-populations monocytaires chez un patient atteint de LMMC avec une accumulation de monocytes classiques (**MO1 >94%**).

*Remarque: Utiliser la représentation en « contour plot » pour un fenêtrage optimal de la sous-population monocyttaire MO1 en utilisant la vallée (flèche)!*

cMO	96,61
iMO	1,06
ncMO	2,32
TOTAL	100,00%

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



CYTHEM-LMMC

PHÉNOTYPAGE LMMC

**Stratégie de fenêtrage par exclusion pour l'identification  
et la quantification relative des sous-populations monocytaires circulantes**

*Instructions pour utilisateurs BD FACSCanto™ II (BD Life Sciences)*



Pr **ORIANNE WAGNER-BALLON**  
Département d'Hématologie et Immunologie biologiques — Hôpital Henri Mondor — Créteil

Dr **DOROTHÉE SELIMOGLU-BUET**  
INSERM UMR1170, Université Paris-Sud — Gustave Roussy — Villejuif

Cythem-LMMC\_NA1005\_Mars 2019

CYTHEM-LMMC

PHÉNOTYPAGE LMMC

**Stratégie de fenêtrage par exclusion pour l'identification  
et la quantification relative des sous-populations monocytaires circulantes**

*Instructions pour utilisateurs Lyric™ (BD Life Sciences)*

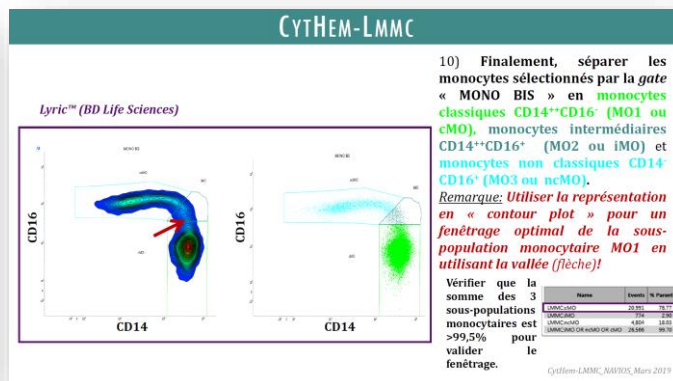
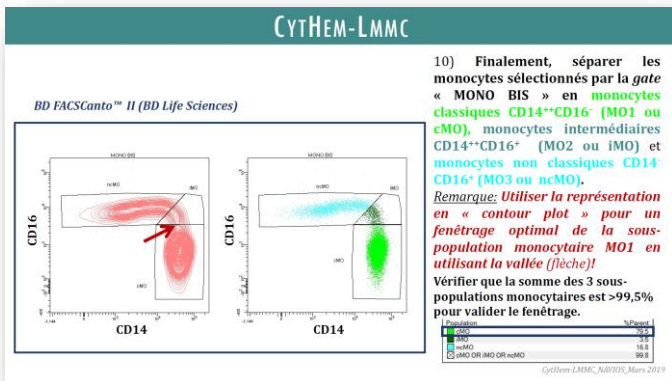


Pr **ORIANNE WAGNER-BALLON**  
Département d'Hématologie et Immunologie biologiques — Hôpital Henri Mondor — Créteil

Dr **DOROTHÉE SELIMOGLU-BUET**  
INSERM UMR1170, Université Paris-Sud — Gustave Roussy — Villejuif

Cythem-LMMC\_NA1005\_Mars 2019

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



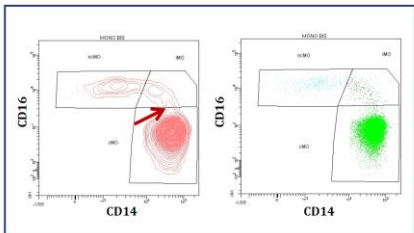
# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## CYTHEM-LMMC

### EXEMPLE D'UN PATIENT ATTEINT DE LMMC

BD FACSCanto™ II (BD Life Sciences)



Profil typique de répartition des sous-populations monocytaires chez un patient atteint de LMMC avec une accumulation de monocytes classiques (MO1 >94%).

*Remarque: Utiliser la représentation en « contour plot » pour un fenêtrage optimal de la sous-population monocytaire MO1 en utilisant la vallée (flèche)!*

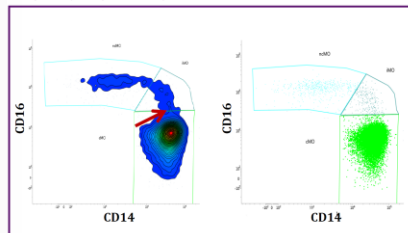
Population	%
cMO	96.5
hMO	1.7
ncMO	2.3
cMO OR hMO OR ncMO	100.0

CytHem-LMMC\_NAT05\_Mars 2019

## CYTHEM-LMMC

### EXEMPLE D'UN PATIENT ATTEINT DE LMMC

Lyric™ (BD Life Sciences)



Profil typique de répartition des sous-populations monocytaires chez un patient atteint de LMMC avec une accumulation de monocytes classiques (MO1 >94%).

*Remarque: Utiliser la représentation en « contour plot » pour un fenêtrage optimal de la sous-population monocytaire MO1 en utilisant la vallée (flèche)!*

Name	Events	% Parent
LMMC-hMO	538	2.29
LMMC-cMO	206	3.16
LMMC-cMO	22,189	96.50
LMMC(hMO OR hMO OR cMO)	22,981	99.94


CytHem-LMMC\_NAT05\_Mars 2019

# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Les objectifs

- *Proposer une veille bibliographique des publications internationales (en cours)*

 Communications orales

 Protocoles techniques

 Echanges Interlaboratoires

 Veille bibliographique

 Newsletters


# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Les objectifs

- *Proposer un programme de comparaison interlaboratoires CIL (en cours)*

 Communications orales

 Veille bibliographique

 Protocoles techniques

 Newsletters

 Echanges Interlaboratoires


*Essai préliminaire réalisé avec les centres de Limoges (Dr Guérin) et Bordeaux (Dr Lechevalier)*


# Ce que vous trouverez sur le site du CytHem



## Les objectifs

- *Actualités grâce aux Newsletters*

 Communications orales

 Veille bibliographique

 Protocoles techniques

 Newsletters

 Echanges Interlaboratoires



# Encore envie d'entendre parler de LMMC ?



**MERCREDI 27 MARS**

**15h00 – 16h15 Communications Orales**

**SCO 05 Syndromes myélodysplasiques**

**Salle 243**

*Modérateurs*

*Sophie Park (Grenoble),  
Lionel Ades (Paris)*

**Présentations courtes de posters**

**P49** (09-09) – L'augmentation du nombre de monocytes classiques circulants évalué par cytométrie en flux est associée à un mauvais pronostic dans la LMMC  
*Matthieu Jestin (Créteil) et al.*

**P50** (09-10) – La diminution du pourcentage relatif des MO3 slan+ évalué par cytométrie en flux permet le diagnostic des LMMC associées à un état inflammatoire  
*Sihem Tarfi (Créteil) et al.*



# Encore envie d'entendre parler de LMMC ?



**JEUDI 28 MARS**

**10h45 – 12h15 Communications Orales**

**SCO SFH Communications orales du prix SFH**

**Amphithéâtre Bleu**

*Modérateurs*

*Alain Delmer (Reims),*

*Olivier Bernard (Villejuif)*

**O38** (01-01) – Rôle d'une voie miR-150 / TET3 dans la conversion des monocytes classiques en monocytes non-classiques

*Dorothee Selimoglu-Buet (Villejuif)*

*Julie Rivière (Villejuif), Hussein Ghamlouch*

*(Villejuif), Laura Bencheikh (Villejuif), Margot*

*Morabito (Villejuif), M'boyba Diop (Villejuif),*

*Guillaume Meurice (Villejuif), Marie Breckler*

*(Villejuif), Aurélie Chauveau (Brest), Camille*

*Debord (Nantes), Franck Debeurme (Villejuif),*

*Raphaël Itzykson (Paris), Nicolas Chapuis (Paris),*

*Christophe Willekens (Villejuif), Orianne*

*Wagner-Ballon (Créteil), Olivier Bernard (Villejuif),*

*Nathalie Droin (Villejuif), Eric Solary (Villejuif)*



