

CytHem-MYELOME

Dr Soraya Wuillème

Laboratoire d'hématologie Institut de Biologie CHU Nantes

Dr François Vergez

Laboratoire d'hématologie Institut universitaire du cancer de Toulouse

Pr Thomas Matthes

Service d'hématologie Département d'oncologie HUG Genève

Stratégie de calcul de la MRD-MM

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



Lorsque l'analyse des données est terminée, il faut exporter les données brutes (.csv)

Exemple de tableaux sur DIVA: **RESPECTER LA HIERARCHISATION/NE PAS MODIFIER CES TABLEAUX**

Experiment Name: 047-08 ET 09-11-16 MRD1
Record Date: Nov 10, 2016 2:46:42 PM

Population	#Events	45 PE-Cy5-A Mean
■ CN	3,179,338	24.026
■ LY	####	60.331

Experiment Name: 047-08 ET 09-11-16 MRD1
Record Date: Nov 10, 2016 2:46:42 PM

Population	#Events	%Parent	45 PE-C... Mean
■ PC	10,788	6.8	43.607
■ 19+	1,059	9.8	32.343
■ 19+45	1,059	100.0	32.343
■ K19+	521	49.2	28.550
■ L19+	334	31.5	31.904
■ 56+	864	8.0	21.755
■ 56+ 45	862	99.8	21.806
■ K 56+	651	75.5	15.405
☒ L 56+	24	2.8	28.240
■ ++	1,437	13.3	52.273
☒ K++	74	5.1	60.978
☒ L++	45	3.1	74.987
■ -	7,506	69.6	45.578
■ K -	627	8.4	25.807
■ L -	283	3.8	25.990
☒ 45-	1,211	11.2	2.217
☒ 45+	9,574	88.7	48.326

Sur DIVA Exporter un premier tableau, faire un clic droit sur cette fenêtre statistique et **Export Statistics...** Une fenêtre **Overwrite file?** s'ouvre, cliquer sur **Overwrite**

Exporter les données du second tableau de statistiques (clic droit sur le tableau et Cliquer sur **Export Statistics...** , sélectionner le fichier précédemment créer (MRD MM) Une fenêtre **Overwrite file?** s'ouvre, cliquer sur **Append**.

	A	B	C	D	E	F	G
1	Experiment N	B1					
2	Record Date	#####					
3	Population	#Events	45 PE-Cy5-A Mean				
4	CN	B4	18479				
5	LY		C5				
6							
7	Experiment N	092-05 JB 06-05-20	MRD5				
8	Record Date	B8					
9	Population	#Events	%Parent	45 PE-Cy5-A Mean			
10	PC	B10	7	41729			
11	19+	B11	C11	26800			
12	19+45	B12	C12	26800			
13	K19+	B13	C13	26862			
14	L19+	B14	C14	27393			
15	56+	B15	C15	51288			
16	56+ 45	B16	C16	50465			
17	K 56+	B17	C17	51760			
18	L 56+	B18	C18	53407			
19	++	B19	C19	64862			
20	K++	B20	C20	57587			
21	L++	B21	C21	67359			
22	--	B22	C22	25943			
23	K --	B23	C23	25416			
24	L --	B24	C24	27138			
25	45-		C25	D25			
26	45+	4792	C26	D26			

Page Données brutes csv = exportation des statistiques Diva

Tableau Excel de calcul de la MRD. #Trame de calcul de la MRD-MM/Feuille1/Données brutes .csv.

Ouvrir le fichier **MRD MM.csv** exporté précédemment. Copier les données et coller dans la première feuille du tableau Excel de calcul.

A2		fx			
	A	B	C	D	E
2					
3	Nom :	B1			
4					
5	Nature :	Moelle Macrolysé	Date analyse :	B8	
6					
7	Leucocytes (events) :	B4			
8	Plasmocytes (events) :	B10	Cellules page	Données brutes csv = statistiques	
9			Cellules page	courante	
10	Plasmocytes / Leucocytes :	B10/B4			
11					
12	Lymphocytes (MFI) :	C5			
13					
14					
15		%	MFI valeur corrigée		
16	CD45 -	C25/100	(D25/C5)*100		
17	CD45 +	C26/100	(D26/C5)*100		
18					
19					
20					
21		Events	% brut	% corrigé	Ratio evts KIL
22	13+	B11	C11/100%	((C13 - C14)/100)*(C11/100) %	B13/B14
23	K19+		C13/100%	C13/(C13+C14) %	
24	L19+		C14/100%	C14/(C13+C14) %	
25	56+	B15	C15/100%	((C17 - C18)/100)*(C15/100) %	B17/B18
26	K56+		C17/100%	C17/(C17+C18) %	
27	L56+		C18/100%	C18/(C17+C18) %	
28	++	B19	C19/100%	((C20 - C21)/100)*(C19/100) %	B20/B21
29	K++		C20/100%	C20/(C20+C21) %	
30	L++		C21/100%	C21/(C20+C21) %	
31	--	B22	C22/100%	((C23 + C24)/100)*(C22/100) %	B23/B24
32	K--		C23/100%	C23/(C23+C24) %	
33	L--		C24/100%	C24/(C23+C24) %	
34	Total		C22+C25+C28+C31	D22+D25+D28+D31	
35					SOMME(F22:F33)
36	Plasmocytes / Leucocytes corrigé :		C11*(D22+D25+D28+D31)		
37	Seuil de détection (LOD)*VALEUR!		soit	20/B4	
38					
39	% de plasmocytes Normaux :		SIN(F34 / D40) * 100	F34 / D34 * 100	
40					
41	% de plasmocytes Tumoraux :		SIN(100- D40) > 0,100- (D40 / 100)		
42					
43	Dilution de la Moëlle :				
44					
45	% de Plasmocytes Normaux dans les Leucocytes :			D40*D36/100	
46					
47	% de Plasmocytes Tumoraux dans les Leucocytes				
48	MRD :	D42*D36/100			
49					
50	NB PC MM :	B49*C8			
51					
52					
53					

Le calcul de la MRD-MM . #Trame de calcul de la MRD. /Feuille 2/Résultats

Le calcul du %brut et %corrigé des PC à partir des données brutes .csv.

LOD: 20 / CN x100

Le calcul de la MRD-MM . #Trame de calcul de la MRD. /Feuille 2/Résultats

Calcul des PC normaux

Pour chaque sous-population à partir du % corrigé:

. Si les **PC clonaux** sont **Kappa** :

$$PC_{normaux} = [(L * ratio \text{ K/L PC normaux}) + PC \text{ L normaux}] * [\% \text{ PC sous-population}] / 100$$

. Si les **PC clonaux** sont **Lambda** :

$$PC_{normaux} = [(K * ratio \text{ K/L PC normaux}) + PC \text{ K normaux}] * [\% \text{ PC sous-population}] / 100$$

ATTENTION.

1) Important de connaitre les clone du diagnostique .

2) Le ratio Kappa/Lambda NORMAL est estimé entre 1 et 2. Se référer à la sous-population CD19+ CD56- qui dans la majorité des cas NORMALE et aux dots plots de l'analyse.

A2		fx					
A	B	C	D				
2	Nom :	B1					
4	Nature :	Moelle Macrolysé	Date analyse :				
6			B8				
8	Leucocytes (events) :	B4					
9	Plasmocytes (events) :	B10	Cellules page Données brutes csv = statistiques				
11	Plasmocytes / Leucocytes :	B10/B4	Cellules page courante				
13	Lymphocytes (MFI) :	C5					
15		%	MFI valeur corrigée				
16	CD45 -	C25/100	(D25/C5)*100				
17	CD45 +	C26/100	(D26/C5)*100				
20		Events	% brut				
21			% corrigé				
22			Ratio evts K/L				
23			PC nor				
23+	K19+	B11	C11/100%	$((C13 - C14) / 100) * (C11 / 100) \%$	$C13 / (C13 + C14) \%$	B13/B1	X
24	L19+		C14/100%	$C14 / (C13 + C14) \%$			
25	56+	B15	C15/100%	$((C17 - C18) / 100) * (C15 / 100) \%$	$C17 / (C17 + C18) \%$	B17/B8	X
26	K56+		C17/100%	$C17 / (C17 + C18) \%$			
27	L56+		C18/100%	$C18 / (C17 + C18) \%$			
28	++	B19	C19/100%	$((C20 - C21) / 100) * (C19 / 100) \%$	$C20 / (C20 + C21) \%$	B20/B1	X
29	K++		C20/100%	$C20 / (C20 + C21) \%$			
30	L++		C21/100%	$C21 / (C20 + C21) \%$			
31	--	B22	C22/100%	$((C23 - C24) / 100) * (C22 / 100) \%$	$C23 / (C23 + C24) \%$	B23/B2	X
32	K--		C23/100%	$C23 / (C23 + C24) \%$			
33	L--		C24/100%	$C24 / (C23 + C24) \%$			
34	Total		C22 + C25 + C26 + C31	D22 + D25 + D28 + D31			
35						SOMME(F22:F33)	
36	Plasmocytes / Leucocytes corrigé :		C11 * (D22 + D25 + D28 + D31)				
37	Seuil de détection (LOD) / VALEUR :		soit		20/B4		
38	% de plasmocytes Normaux :		SI F34 / D34 > 0, F34 / D34 , 0				
39	% de plasmocytes Tumoraux :		SI 100 - D40 > 0, 100 - D40 , 0				
43	Dilution de la Moëlle :						
45	% de Plasmocytes Normaux dans les Leucocytes :		D40 * D36/100				
47	% de Plasmocytes Tumoraux dans les Leucocytes						
49	MRD :	D42 * D36/100					
51	NB PC MM :	B43 * C8					

	A	B	C	D	E	F
1	Experimen	006-03 MG	05-08-20	MRD6		
2	Record Da	#####				
3	Population	#Events	45	PE-Cy5-A Mean		
4	CN	2522470	14665			
5	LY		56117			
6						
7	Experimen	006-03 MG	05-08-20	MRD6		
8	Record Da	#####				
9	Population	#Events	%Parent	45	PE-Cy5-A Mean	
10	PC	11664	58	31351		
11	19+	6475	55,5	33536		
12	19+45	6473	100	33546		
13	K19+	3198	49,4	33470		
14	L19+	2746	42,4	35016		
15	56+	57	0,5	36583		
16	56+ 45	57	100	36583		
17	K 56+	30	52,6	19293		
18	L 56+	5	8,8	16025		
19	++	760	6,5	53709		
20	K++	109	14,3	45662		
21	L++	102	13,4	45602		
22	--	4483	38,4	24311		
23	K --	1601	35,7	25439		
24	L --	1137	25,4	25664		
25	45-	1100	9,4	1141		
26	45+	10563	90,6	34495		
27						
28						
29						

MASQUE DE CALCUL:

Exportation des données brutes/ copier et coller les feuilles « Données brutes csv » dans le masque de calcul proposé.

	A	B	C	D	E	F	G
6							
7							
8	Leucocytes (events) :		2522470				
9	Plasmocytes (events) :		11664				
10							
11	Plasmocytes / Leucocytes :		0,462%				
12							
13	Lymphocytes (MFI) :		56117				
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							
32							
33							
34							
35							
36							
37							
38							
39							
40							
41							
42							
43							
44							
45							
46							
47							
48							
49							
50							
51							
52							

	Events	% brut	% corrigé	Ratio evts K/L	PC nor
13+	6475	55,50%	50,943%	1,16	50,949
K13+		49,40%	53,81%		
L13+		42,40%	46,19%		
56+	57	0,50%	0,307%	6,00	0,095
K56+		52,60%	85,67%		
L56+		8,80%	14,33%		
++	760	6,50%	1,801%	1,07	1,801
K++		14,30%	51,62%		
L++		13,40%	48,38%		
--	4485	38,40%	23,462%	1,41	23,462
K--		35,70%	58,43%		
L--		25,40%	41,57%		
Total		100,30%	76,519%		76,307

Plasmocytes / Leucocytes corrigé :	0,354%
Seuil de détection (LOD) :	7,93E-06 soit 0,00079%
% de plasmocytes Normaux :	85,72 %
% de plasmocytes Tumoraux :	0,28 %
Dilution de la Moëlle :	
% de Plasmocytes Normaux dans les Leucocytes :	0,3528%
% de Plasmocytes Tumoraux dans les Leucocytes	
MRD :	0,0010%
NB PC MM:	25

MASQUE DE CALCUL:

Appliquer le masque de calcul proposé pour calculer le % corrigé des PC dans les 4 sous populations plasmocytaires.

	A	B	C	D	E	F	G
6							
7							
8	Leucocytes (events) :		2522470				
9	Plasmocytes (events) :		11664				
10							
11	Plasmocytes / Leucocytes :		0,462%				
12							
13	Lymphocytes (MFI) :		56117				
14							
15		%	MFI valeur corrigée				
16	CD45 -	3,40%	2,03				
17	CD45 +	90,60%	61,47				
18							
19							
20							
21							
22		Evts	% brut	% corrigé	Ratio evts K/L	PC nor	
23	19+	6475	55,50%	50,343%	1,16	50,343	
24	K19+ L19+		43,40%	53,81%			
25	56+	57	0,50%	0,307%	6,00	0,035	
26	K56+ L56+		52,60%	85,67%			
27	++	760	8,80%	14,33%	1,07	1,801	
28	K++ L++		6,50%	1,801%			
29	--	4485	14,30%	51,62%	1,41	23,462	
30	K-- L--		13,40%	48,38%			
31			38,40%	23,462%			
32			35,70%	58,43%			
33			25,40%	41,57%			
34	Total		100,30%	76,313%		76,307	
35							
36	Plasmocytes / Leucocytes corrigé :		0,354%				
37							
38	Seuil de détection (LOD) :	7,93E-06		soit	0,00079%		
39							
40	% de plasmocytes Normaux :			85,72%			
41							
42	% de plasmocytes Tumoraux :			0,28%			
43							
44	Dilution de la Moëlle :						
45							
46	% de Plasmocytes Normaux dans les Leucocytes :				0,3528%		
47							
48	% de Plasmocytes Tumoraux dans les Leucocytes						
49	MRD :	0,0010%					
50							
51	NB PC MM:	25					
52							

- Diagnostic: clone K/
- 1 < ratio K/L NL < 2

(1) 19+56- R= 1,16 PC NL = 50,949%

(2) 19-56+ R= 6 PC NL = [(14,33x1,16)+14,33]x0,307/100= 0,095%

PC normaux= [(L*ratio K/L PC normaux)+ PC L normaux]*[% PC sous-population] / 100

(3) 19+56+ R= 1,07 PC NL= 1,801%

(4) 19- 56- R= 1,41 PC NL= 23,462%

[Calcul MRD-MM\CYTHEM-MASQUE DE CALCUL.xls](#)

[Calcul MRD-MM\CYTHEM-EXEMPLES.xls](#)