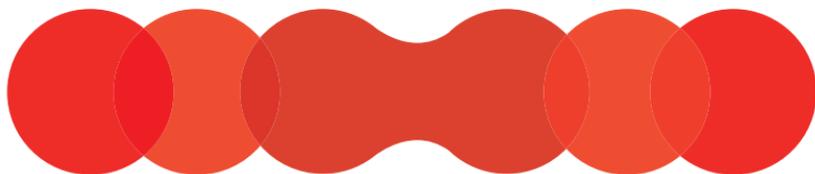


Recherche & quantification de clone HPN par cytométrie en flux



HARMONISATION DES CONCLUSIONS

Diagnostic & suivi

Dr Agathe DEBLIQUIS
Laboratoire d'Hématologie
Groupe Hospitalier
de la Région Mulhouse Sud Alsace

Dr Bernard DRÉNOU
Service clinique et laboratoire
d'Hématologie
Groupe Hospitalier de la Région
Mulhouse Sud Alsace

Dr Magali LE GARFF-TAVERNIER
Service d'Hématologie biologique
Hôpitaux universitaires
Pitié-Salpêtrière - Charles-Foix

Pr Marie LOOSVELD
Laboratoire d'Hématologie
Hôpital Universitaire de la Timone
Marseille

Pr Oriane WAGNER-BALLON
Département d'Hématologie
et d'Immunologie biologiques
Hôpitaux universitaires Henri Mondor

Travail élaboré avec le Centre de Référence
aplasies médullaires HPN :

Pr Régis PEFFAULT DE LATOUR
Service d'Hématologie
Hôpital Saint-Louis

Dr Flore SICRE DE FONTBRUNE
Service d'Hématologie
Hôpital Saint-Louis



La qualification du clone HPN dépend de sa taille :

- ≥ 50% : clone HPN majoritaire
- 1-50% : clone HPN minoritaire
- 0,1-1% : clone HPN minoritaire
- 0,01% - <0,1% : rares cellules présentant un déficit en protéines GPI-liées^{1,2}

Une interprétation en fonction du contexte clinico-biologique doit être rendue ; seules les situations les plus fréquentes sont présentées dans ce document.

Un suivi doit être demandé selon les recommandations internationales actuelles¹

Une réunion de concertation pluridisciplinaire nationale est organisée mensuellement par le centre de référence « Aplasie médullaire »

PRÉSENCE D'UN CLONE HPN

NON

OUI

Présence d'un clone HPN (majoritaire / - /minoritaire) ou de rares cellules présentant un déficit en protéines GPI-liées sur les polynucléaires neutrophiles quantifié(es) à __%, confirmé(es) sur les monocytes à __% et les hématies à __%¹

À interpréter en fonction du contexte clinico-biologique et en particulier du bilan d'hémolyse³

Hémolyse inexpliquée^a

Cytopénie(s) inexpliquée(s)^c

Aplasia médullaire

Thrombose inexpliquée^b

Syndrome myélodysplasique

Un clone HPN (ou de rares cellules déficitaires) est (sont) détecté(es) chez environ 50% des patients présentant une aplasia médullaire⁴

En cas de clone HPN <1% : La pertinence clinique d'un clone HPN < 1% reste à définir¹

Un suivi est recommandé au moins une fois par an ou en cas d'évolution clinico-biologique^{1,5}

Un suivi est recommandé tous les 6 mois puis au moins une fois par an si la taille du clone est stable pendant 2 ans^{1,5}

Ce(tte) patient(e) peut être inclus(e) dans l'Observatoire National des clones HPN

Si un traitement spécifique de l'HPN est envisagé, l'avis du Centre de Référence est fortement recommandé

HARMONISATION DES CONCLUSIONS

ABSENCE
DE CLONE
HPN

Absence de clone HPN détectable à une limite de sensibilité de $\times 10^{-n}$ sur les polynucléaires neutrophiles¹

Limite de sensibilité de 1×10^{-4} atteinte ?

OUI

En cas d'aplasie médullaire suspectée ou confirmée : un clone HPN est détecté chez environ 50% des patients présentant une aplasie médullaire au diagnostic ou au cours du suivi ce qui justifie un contrôle annuel^{1,4,5}

NON

La leucopénie n'ayant pas permis d'obtenir une sensibilité suffisante, il est souhaitable de renvoyer un échantillon en contactant au préalable le laboratoire afin de déterminer le volume de sang nécessaire

Sensibilité de la technique optimale sur les polynucléaires neutrophiles (PNN)¹

CALCULER LA LIMITE DE SENSIBILITÉ DU TEST¹ :

Clone minimal défini à 20 événements/nombre de PNN acquis analysables

Si limite de sensibilité de la technique :

- **ATTEINTE** ($\geq 200\ 000$ PNN analysés) ► rendre 1×10^{-4}
- **NON ATTEINTE** ($< 200\ 000$ PNN analysés) ► rendre la limite de sensibilité du test calculée : $20/\text{nombre de PNN analysés}$

- a. Hémolyse inexpliquée intravasculaire : anémie hémolytique à test de Coombs négatif et/ou hémoglobinurie
- b. Thrombose inexpliquée veineuse ou artérielle + un des critères suivants : sites inhabituels et/ou signes d'hémolyse et/ou cytopénie(s)
- c. Cytopénie(s) inexpliquée(s) + un des critères suivants : signes d'hémolyse et/ou thrombose(s)

La qualification du clone HPN dépend de sa taille :

- ≥ 50% : clone HPN majoritaire
- 1-50% : clone HPN minoritaire
- 0,1-1% : clone HPN minoritaire
- 0,01% - <0,1% : rares cellules présentant un déficit en protéines GPI-liées^{1,2}

Un suivi doit être demandé selon les recommandations internationales actuelles¹



Persistance d'un clone HPN (majoritaire / - /minoritaire) ou de rares cellules présentant un déficit en protéines GPI-liées sur les polynucléaires neutrophiles quantifié(es) à __%, confirmé(es) sur les monocytes à __% et les hématies à __%¹

Augmentation* / Stabilité / Diminution de la taille du clone par rapport à l'antériorité (date)

*En cas de traitement par inhibiteur du complément, il est habituel d'observer une augmentation de la taille du clone⁶

À interpréter en fonction du contexte clinico-biologique et thérapeutique³

Un suivi doit être demandé selon les recommandations internationales actuelles¹

Un suivi est recommandé une fois par an ou en cas d'évolution clinico-biologique^{1,5}
En cas d'aplasie médullaire : un suivi est recommandé tous les 6 mois puis au moins une fois par an si la taille du clone est stable pendant 2 ans^{1,5}

HARMONISATION DES CONCLUSIONS

ABSENCE
DE
DÉTECTION

Absence de clone HPN détectable à une limite de sensibilité de $x10^{-n}$ sur les polynucléaires neutrophiles¹

Limite de sensibilité de 1×10^{-4} atteinte ?

OUI

Résultat à interpréter en fonction de l'évolution du contexte clinico-biologique depuis la dernière antériorité (date)

NON

La leucopénie n'ayant pas permis d'obtenir une sensibilité suffisante, il est souhaitable de renvoyer un échantillon en contactant au préalable le laboratoire afin de déterminer le volume de sang nécessaire

Sensibilité de la technique optimale sur les polynucléaires neutrophiles (PNN)¹

CALCULER LA LIMITE DE SENSIBILITÉ DU TEST¹ :

Clone minimal défini à 20 événements/nombre de PNN acquis analysables

Si limite de sensibilité de la technique :

- **ATTEINTE** ($\geq 200\ 000$ PNN analysés) ► rendre 1×10^{-4}
- **NON ATTEINTE** ($< 200\ 000$ PNN analysés) ► rendre la limite de sensibilité du test calculée : $20/\text{nombre de PNN analysés}$



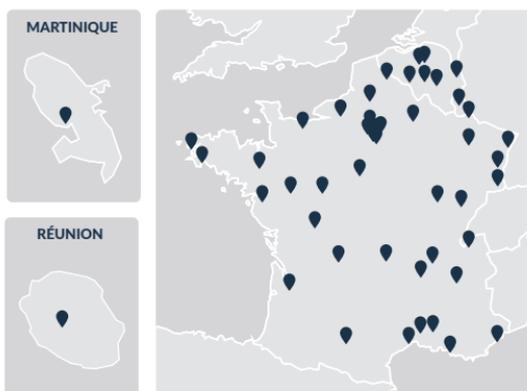
LE GROUPE



LES ORGANISATEURS

- › Dr Agathe DEBLIQUIS
- › Dr Bernard DRÉNOU
- › Dr Magali LE GARFF-TAVERNIER
- › Pr Marie LOOSVELD
- › Pr Oriane WAGNER-BALLON

LES PARTICIPANTS



LBMR

LABORATOIRES DE BIOLOGIE MÉDICALE DE RÉFÉRENCE pour la recherche et quantification de clone HPN

(Journal officiel, Arrêté du 15 juillet 2021)

**Laboratoire
d'Hématologie**
Groupe Hospitalier
de la Région
Mulhouse Sud Alsace

**Service
d'Hématologie biologique**
Hôpitaux universitaires
Pitié-Salpêtrière -
Charles-Foix

**Département d'Hématologie
et d'Immunologie
biologiques**
Hôpitaux universitaires
Henri Mondor

**PROGRAMME
DE COMPARAISONS
INTER-LABORATOIRES (CIL)⁷
DEPUIS 2013**



DEUX ENQUÊTES PAR AN :

1

Enquête cas frais

Envoi de 2 échantillons
sanguins

2

Enquête cas virtuels

Téléchargement de
2 fichiers bruts de
cytométrie en flux

**ÉTUDE
OBSERVATIONNELLE
FRANÇAISE
DEPUIS
2016**



CRITÈRES D'INCLUSION :

Tout patient, quel que soit
son âge, pour lequel un
clone HPN a été mis en
évidence après
le 29/02/2016

Pour toute demande de révision de cas ou de second avis,
ou pour toute question,
vous pouvez contacter les organisateurs du groupe CytHem-HPN
via le formulaire de contact sur :

www.cythem.fr/cythem-hpn-contact/

Dans les parties « Diagnostic » et « Suivi » de cette brochure, les phrases inscrites dans les encadrés colorés sont des propositions de conclusions à mentionner dans vos comptes-rendus de laboratoire. Les phrases inscrites dans [les encadrés avec contours en pointillés] sur fond plus clair sont à mentionner selon le contexte.

Références :

1. Illingworth A, Marinov I, Sutherland DR, Wagner-Ballon O, DeVecchio L. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 3 - data analysis, reporting and case studies. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2018;94:49-66.
2. Bruno Fattizzo, Robin Ireland, Alan Dunlop, Deborah Yallop, Shireen Kassam, Joanna Large, Shreyans Gandhi, Petra Muus, Charles Manogaran, Katy Sanchez, Dario Consonni, Wilma Barcellini, Ghulam J. Mufti, Judith C. W. Marsh & Austin G. Kulasekararaj. Clinical and prognostic significance of small paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in myelodysplastic syndrome and aplastic anemia. *Leukemia*, 2021, volume 35, pages3223-3231.
3. Schrezenmeier H, Muus P, Socié G, Szer J, Urbano-Ispizua A, Maciejewski JP, Brodsky RA, Bessler M, Kanakura Y, Rosse W, Khursigara G, Bedrosian C, Hillmen P. Baseline characteristics and disease burden in patients in the International Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Registry. *Haematologica* 2014;99:922-929.
4. Young NS, Scheinberg P, Calado RT. Aplastic anemia. *Curr Opin Hematol.* 2008 May;15(3):162-8.
5. Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J-I, Bessler M, Ware R, Hillmen P, Luzzatto L, Young N, Kinoshita T, Rosse W, Socié G, International PNH Interest Group. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005;106:3699-3709.
6. Brodsky R, Young N, Antonioli E, Risitano A, Schrezenmeier H, Schubert J, Gaya A, Coyle L, de Castro C, Fu CL, Maciejewski J, Bessler M, Kroon HD, Rother R, Hillmen P. Multicenter phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood.* 2008 Feb 15;111(4):1840-7.
7. Debliquis A, Wagner-Ballon O, Le Garff-Tavernier M, Fossat C, Chatelain B, Letestu R, Drénou B, HPN-AFC Group. Evaluation of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria screening by flow cytometry through multicentric interlaboratory comparison in four countries. *Am. J. Clin. Pathol.* 2015;144:858-868.