



Journées annuelles CytHem

28-29 mai 2026

Saint Malo

CytHem JAC'2026
SAINT-MALO



Un observatoire national des leucémies aigües de phénotype ambigu

Dr Bouchra BADAOU



AP-HP.
Hôpitaux universitaires
Henri-Mondor

Dr Aguirre MIMOUN



CHU
Hôpitaux de
Bordeaux

Dr François VERGEZ

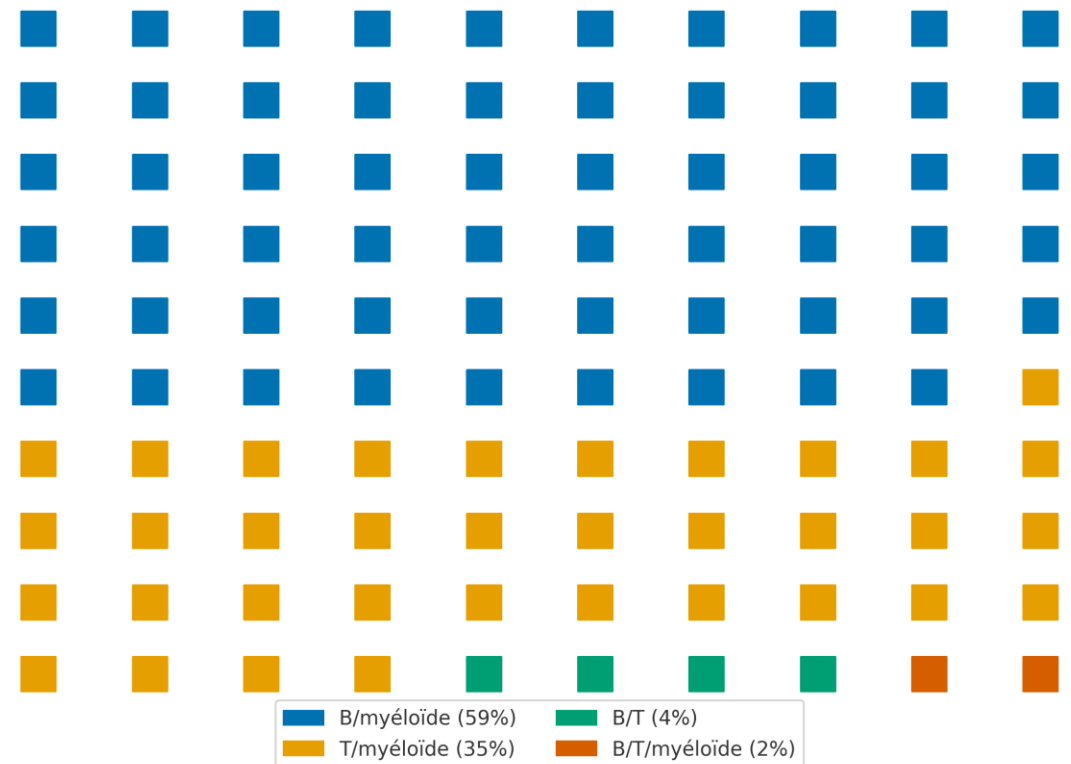


ONCOPOLE
TOULOUSE | FRANCE

Les leucémies aigües de phénotype ambigu

- Leucémies **rare**s
 - MPAL (mixed phenotype acute leukemia) : 2-3% des leucémies aigües – 0,35 cas/millions/an
 - AUL (acute undifferentiated leukemia) : 1-2% des leucémies aigües
- Une définition **immunophénotypique**
 - AUL : absence d'engagement vers une lignée myéloïde ou B ou T
 - MPAL: co-expression de marqueurs de plusieurs lignées (B+M, T+M, B+T ou B+T+M)

Répartition des sous-types de leucémies de phénotype mixte (MPAL, OMS 2022)

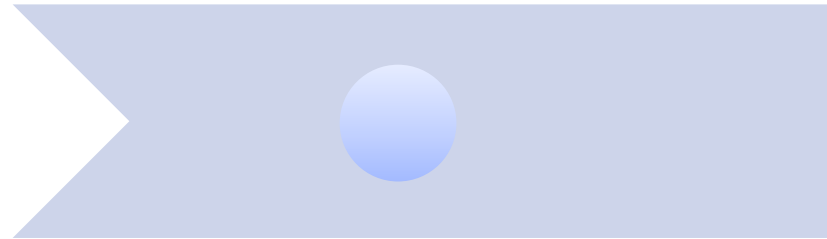


Diagnostic des ALAL

1995

Diagnostic des ALAL

1995 EGIL



Bene et al, 1995

Points	B lineage	T lineage	Myeloid lineage
2	CD79a	CD3 (cyt/m)	Anti-MPO
	cyt IgM	anti-TCR α/β	
	Cyt CD22	anti-TCR γ/δ	
1	CD19	CD2	CD13
	CD10	CD5	CD33
	CD20	CD8	CDw65
		CD10	CD117
0.5	TdT	TdT	CD14
	CD24	CD7	CD15
		CD1a	CD64

Diagnostic des ALAL

1995 EGIL

2008/2016 OMS

Bene et al., 1995

Swerdlow et al., 2008/2016

Critères simplifiés

Introduction des termes MPAL et AUL
Sous-types *BCR::ABL1* et *KMT2A*

Acute leukaemias of ambiguous lineage

Acute undifferentiated leukaemia

Mixed-phenotype acute leukaemia with

t(9;22)(q34.1;q11.2); *BCR-ABL1*

Mixed-phenotype acute leukaemia with t(v;11q23.3);

KMT2A-rearranged

Mixed-phenotype acute leukaemia, B/myeloid,
not otherwise specified

Mixed-phenotype acute leukaemia, T/myeloid,
not otherwise specified

Mixed-phenotype acute leukaemia, not otherwise specified,
rare types

Acute leukaemias of ambiguous lineage,
not otherwise specified

Points	B lineage	T lineage	Myeloid lineage
2	CD79a	CD3 (cyt/m)	Anti-MPO
	cyt IgM	anti-TCR α/β	
	Cyt CD22	anti-TCR γ/δ	
1	CD19	CD2	CD13
	CD10	CD5	CD33
	CD20	CD8	CDw65
		CD10	CD117
0.5	TdT	TdT	CD14
	CD24	CD7	CD15
		CD1a	CD64

Diagnostic des ALAL

1995 EGIL

2008/2016 OMS

2022 OMS

Bene et al., 1995

Swerdlow et al., 2008/2016

Khoury et al., 2022

Critères simplifiés
Introduction des termes MPAL et AUL
Sous-types *BCR::ABL1* et *KMT2A*

Définition des seuils d'intensité en CMF
2 catégories de MPAL

Points	B lineage	T lineage	Myeloid lineage
2	CD79a cyt IgM Cyt CD22	CD3 (cyt/m) anti-TCR α/β anti-TCR γ/δ	Anti-MPO
1	CD19 CD10 CD20	CD2 CD5 CD8 CD10	CD13 CD33 CDw65 CD117
0.5	TdT CD24	TdT CD7 CD1a	CD14 CD15 CD64

Acute leukaemias of ambiguous lineage

Acute undifferentiated leukaemia
Mixed-phenotype acute leukaemia with
 $t(9;22)(q34.1;q11.2)$; *BCR-ABL1*
Mixed-phenotype acute leukaemia with $t(v;11q23.3)$;
KMT2A-rearranged
Mixed-phenotype acute leukaemia, B/myeloid,
not otherwise specified
Mixed-phenotype acute leukaemia, T/myeloid,
not otherwise specified
Mixed-phenotype acute leukaemia, not otherwise specified,
rare types
Acute leukaemias of ambiguous lineage,
not otherwise specified

Acute leukaemia of ambiguous lineage with defining genetic abnormalities

Mixed-phenotype acute leukaemia with *BCR::ABL1* fusion

Mixed-phenotype acute leukaemia with *KMT2A* rearrangement

Acute leukaemia of ambiguous lineage with other defined genetic alterations

Mixed-phenotype acute leukaemia with *ZNF384* rearrangement

Acute leukaemia of ambiguous lineage with *BCL11B* rearrangement

Acute leukaemia of ambiguous lineage, immunophenotypically defined

Mixed-phenotype acute leukaemia, B/myeloid

Mixed-phenotype acute leukaemia, T/myeloid

Mixed-phenotype acute leukaemia, rare types

Acute leukaemia of ambiguous lineage, not otherwise specified

Acute undifferentiated leukaemia

Les leucémies aigües de phénotype ambigu

Difficultés diagnostiques : OMS 2022

	Criterion
B lineage	
CD19 strong ^a	1 or more also strongly expressed: CD10, CD22, or CD79a ^c
or,	
CD19 weak ^b	2 or more also strongly expressed: CD10, CD22, or CD79a ^c
T lineage	
CD3 (cytoplasmic or surface) ^d	Intensity in part exceeds 50% of mature T-cells level by flow cytometry or, Immunocytochemistry positive with non-zeta chain reagent
Myeloid lineage	
Myeloperoxidase	Intensity in part exceeds 50% of mature neutrophil level
or,	
Monocytic differentiation	2 or more expressed: Non-specific esterase, CD11c, CD14, CD64 or lysozyme

^aCD19 intensity in part exceeds 50% of normal B cell progenitor by flow cytometry.

^bCD19 intensity does not exceed 50% of normal B cell progenitor by flow cytometry.

^cProvided T lineage not under consideration, otherwise cannot use CD79a.

^dUsing anti-CD3 epsilon chain antibody.

Les leucémies aigües de phénotype ambigu

Difficultés diagnostiques : **OMS 2022**

	Criterion
Simple! ↓ B lineage	
CD19 strong ^a	1 or more also strongly expressed: CD10, CD22, or CD79a ^c
or,	
CD19 weak ^b	2 or more also strongly expressed: CD10, CD22, or CD79a ^c
Simple! ↓ T lineage	
CD3 (cytoplasmic or surface) ^d	Intensity in part exceeds 50% of mature T-cells level by flow cytometry or, Immunocytochemistry positive with non-zeta chain reagent
Simple! ↓ Myeloid lineage	
Myeloperoxidase	Intensity in part exceeds 50% of mature neutrophil level
or,	
Monocytic differentiation	2 or more expressed: Non-specific esterase, CD11c, CD14, CD64 or lysozyme

^aCD19 intensity in part exceeds 50% of normal B cell progenitor by flow cytometry.

^bCD19 intensity does not exceed 50% of normal B cell progenitor by flow cytometry.

^cProvided T lineage not under consideration, otherwise cannot use CD79a.

^dUsing anti-CD3 epsilon chain antibody.

OK!

Les leucémies aigües de phénotype ambigu

Difficultés diagnostiques : OMS 2022

	Criterion
B lineage	
CD19 strong ^a	1 or more also strongly expressed: CD10, CD22, or CD79a ^c
or,	
CD19 weak ^b	2 or more also strongly expressed: CD10, CD22, or CD79a ^c
T lineage	
CD3 (cytoplasmic or surface) ^d	Intensity in part exceeds 50% of mature T-cells level by flow cytometry or, Immunocytochemistry positive with non-zeta chain reagent
Myeloid lineage	
Myeloperoxidase	Intensity in part exceeds 50% of mature neutrophil level
or,	
Monocytic differentiation	2 or more expressed: Non-specific esterase, CD11c, CD14, CD64 or lysozyme

^aCD19 intensity in part exceeds 50% of normal B cell progenitor by flow cytometry.
^bCD19 intensity does not exceed 50% of normal B cell progenitor by flow cytometry.
^cProvided T lineage not under consideration, otherwise cannot use CD79a.
^dUsing anti-CD3 epsilon chain antibody.

Complicqué !

Complicqué !

Complicqué !

Complicqué !

Complicqué !

Non fait

Les leucémies aigües de phénotype ambigu

Difficultés diagnostiques : **OMS 2022**

QUID DE L'APPARTENANCE À UNE LIGNÉE ?

The assignment of lineage by immunophenotyping is dependent on the strength of association between each antigen and the lineage being assessed. As a general principle, the closer the expression of an antigen is to either the intensity and/or pattern of expression seen on the most similar normal population, the more likely it reflects commitment to that lineage. For instance, variable myeloperoxidase expression with an intensity and pattern similar to that seen in early myeloid maturation is more strongly associated with myeloid lineage than uniform dim myeloperoxidase expression. In addition, demonstration of a coordinated pattern of expression of multiple antigens from the same lineage further improves the specificity of those antigens for lineage assignment, e.g. combined expression of CD19, CD22, and CD10 is more strongly associated with B lineage than each antigen individually. Given these principles, the immunophenotypic criteria to be used for lineage assignment in cases where a single lineage is not evident are revised. (Table 13)

EXPRESSION COMBINÉE D'ANTIGÈNES D'UNE LIGNÉE > EXPRESSION ISOLÉE D'UN SEUL ANTIGÈNE DE LA MÊME LIGNÉE

Les leucémies aigües de phénotype ambigu

Difficultés diagnostiques : **OMS 2022**

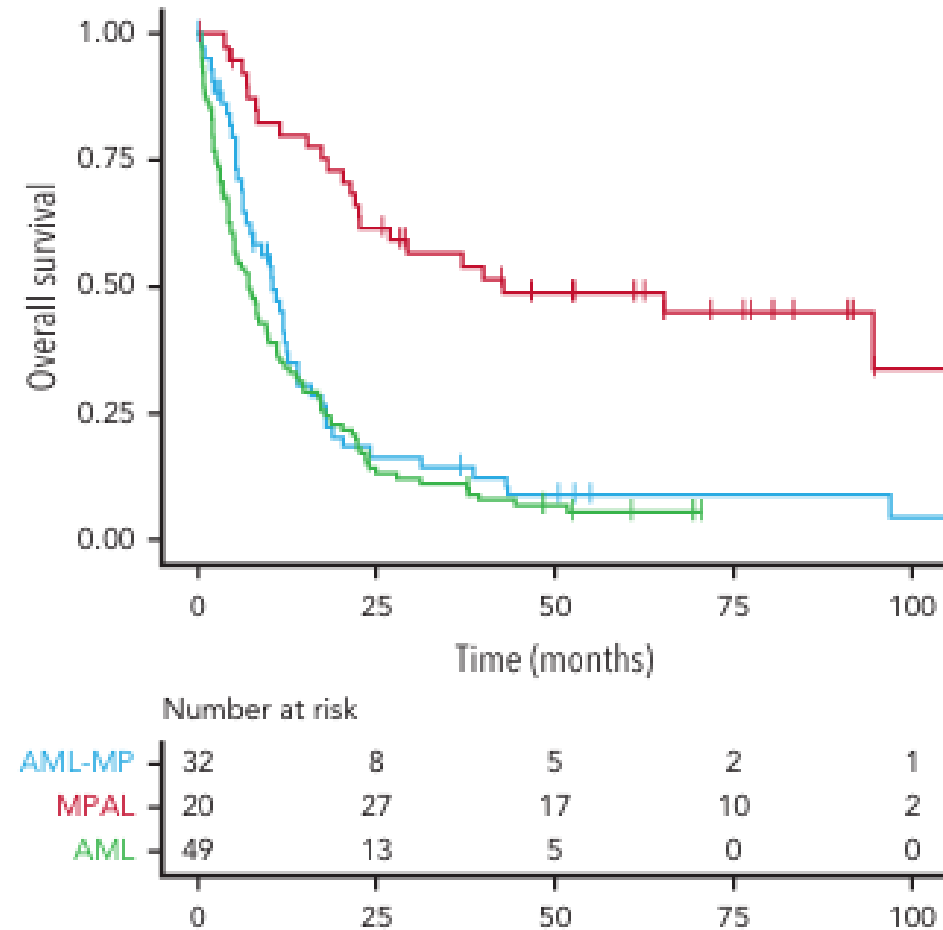
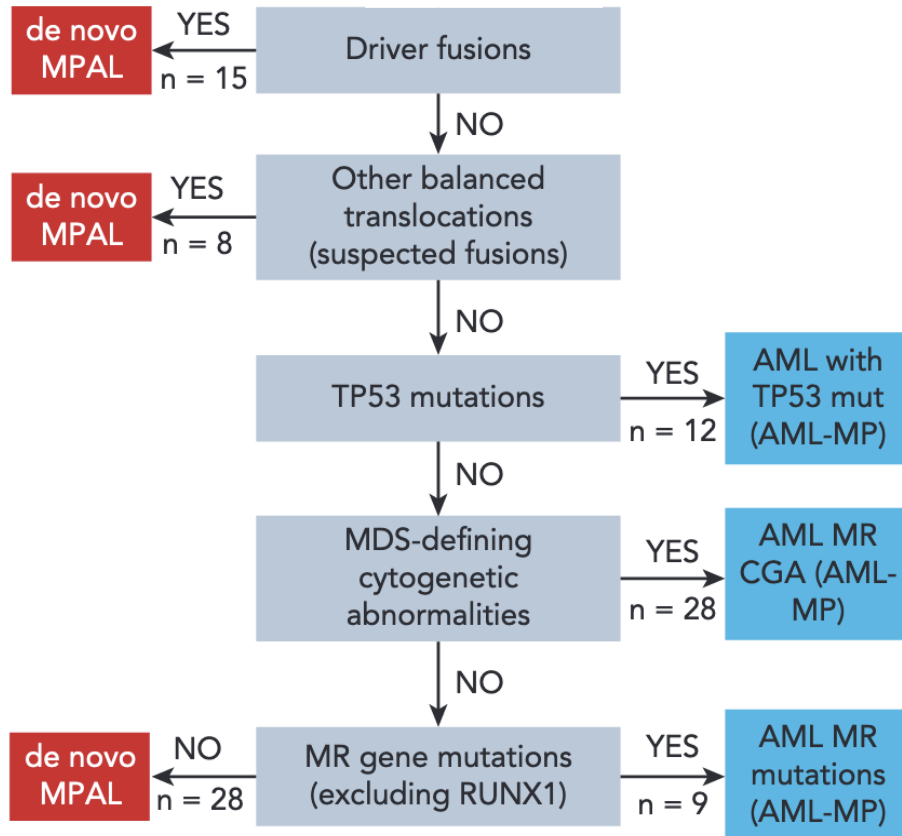
QUID DE L'EXPRESSION DES MPO ?

Assessment of myeloperoxidase expression by cytochemistry and/or flow cytometry immunophenotyping plays a key role intersecting AML with minimal differentiation, T/myeloid MPAL, and ETP-ALL. Various groups have proposed flow cytometry thresholds for positive myeloperoxidase expression in acute leukaemia, ranging from 3 to 28% of blasts [81–83]. The 3% cutoff for myeloperoxidase, historically used for cytochemistry, was determined to have high sensitivity but poor specificity for general lineage assignment in acute leukaemia by flow cytometry [82, 83]. A threshold of >10% for myeloperoxidase positivity seems to improve specificity [81], but no consensus cutoff has been established.

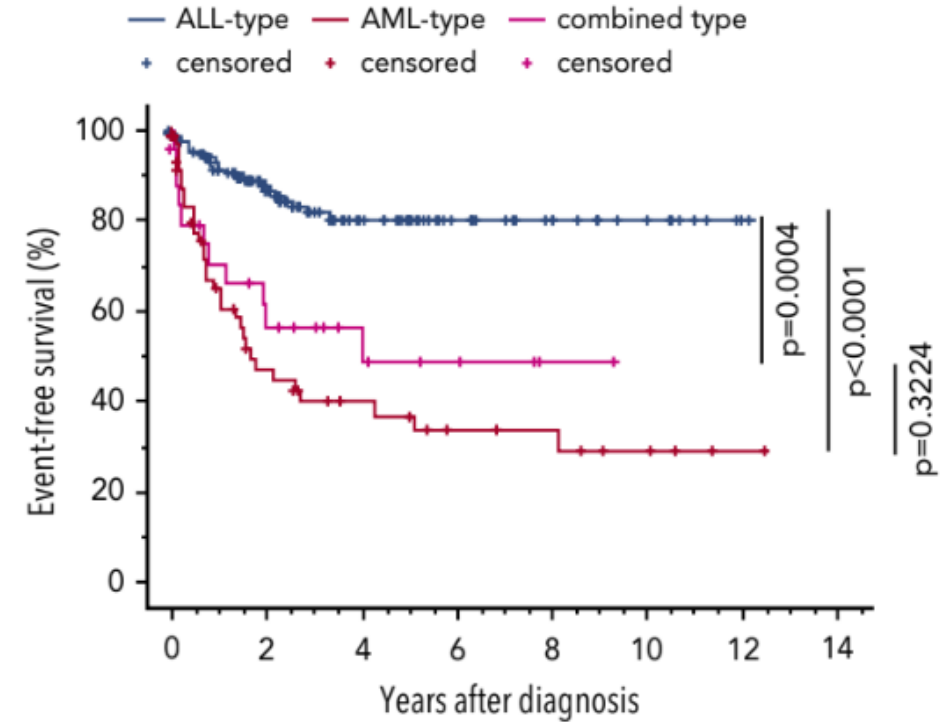
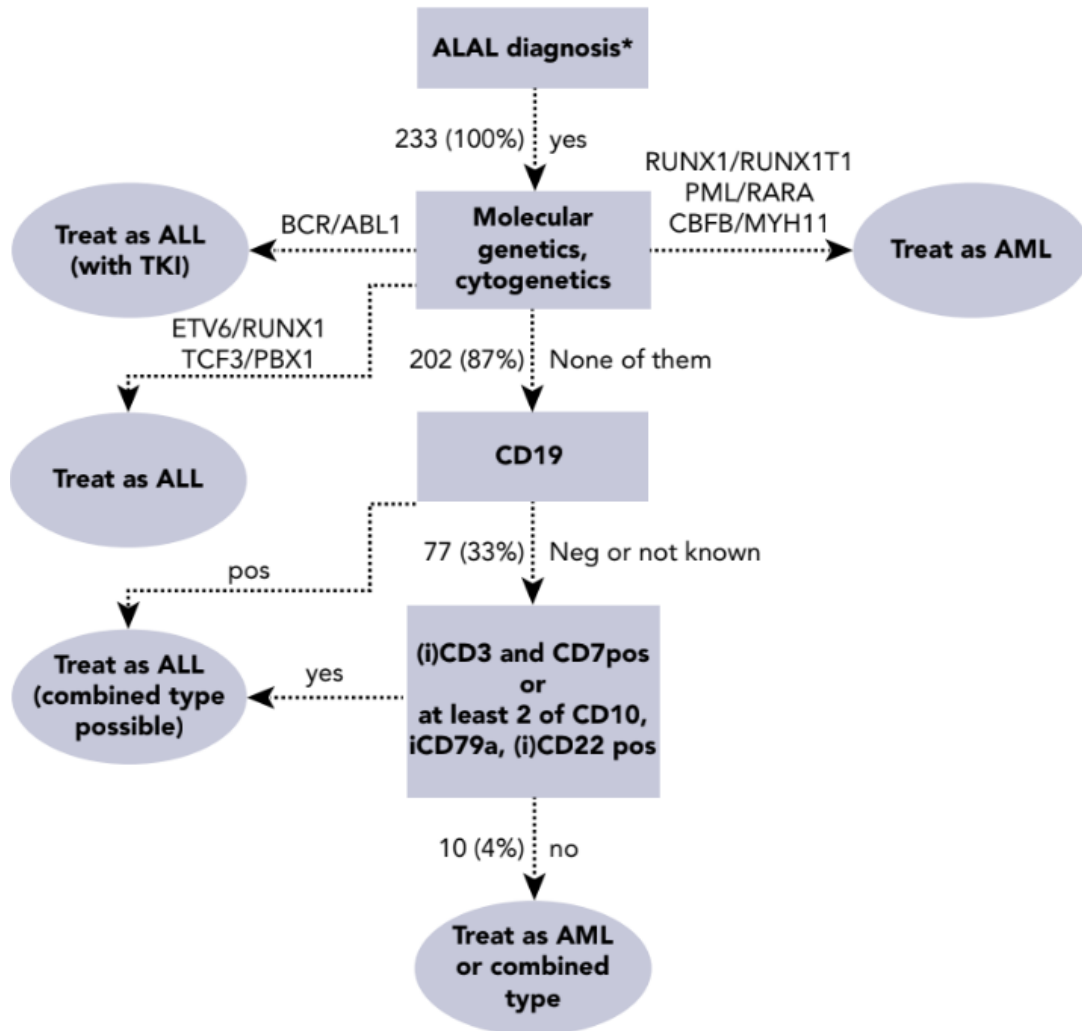
**MPO CYTOCHIMIQUES ET/OU PHÉNOTYPIQUES , RÔLE CLÉ DANS LE DIAGNOSTIC DES LAM-0,
MPAL T/M & ETP-ALL : SEUILS VARIABLES !**

- **3-28% DES BLASTES**
- **SEUIL 3 % EN CYTOCHIMIE : SE ÉLEVÉE MAIS SP FAIBLE**
- **SEUIL DE >10 % : SP AMÉLIORÉE ..., MAIS PAS DE CONSENSUS !**

Classification clinique des ALAL



Stratégie thérapeutique guidée par la biologie



	Number at risk								censored
	0	2	4	6	8	10	12	14	
ALL-type	148	85	44	24	16	9	2	0	127
combined type	25	12	6	4	1	0	0	0	14
AML-type	60	20	13	8	7	4	1	0	28

* Without preexisting genetic disorders that require specific treatment

Les problématiques du PHENIX-AL



- **Diagnostic des ALAL**

- Quid des critères diagnostiques en France ? Analyse souvent subjective
- Pertinence de différencier les ALAL bilignées *versus* biclonales ?
- Quid du suivi épidémiologique ?
- Quelles associations biologiques (génotype/phénotype,...) ?

- **Thérapie des ALAL**

- Quelle induction des MPAL ?
- Place des thérapies ciblées ?
- Quelle méthode de suivi de la MRD chez ces patients ?

Observatoire PHENIX-AL

Etude rétrospective multicentrique



- **Objectifs**

- Clarifier et uniformiser les **critères phénotypiques du diagnostic** des ALAL en France
- Préciser **la classification** des ALAL en lien avec la réponse thérapeutique
- Suivre **l'évolution** des phénotypes de ALAL sous la pression thérapeutique (MRD/Rechute)

- **Méthode**

- **Etude rétrospective oligocentrique**

- 3 centres : les CHU de Bordeaux, Toulouse & Henri Mondor
- Recueil des cas depuis 2015
- Réanalyse **collégiale** de l'ensemble des cas



- **Etude rétrospective multicentrique**

- Extension aux autres centres français : appel à cas prochainement

Observatoire PHENIX-AL

Etude rétrospective multicentrique



- **Objectifs**

- Clarifier et uniformiser les **critères phénotypiques du diagnostic** des ALAL en France
- Préciser **la classification** des ALAL en lien avec la réponse thérapeutique
- Suivre **l'évolution** des phénotypes de ALAL sous la pression thérapeutique (MRD/Rechute)

- **Méthode**

- **Etude rétrospective oligocentrique**

- 3 centres : les CHU de Bordeaux, Toulouse & Henri Mondor
- Recueil des cas depuis 2015
- Réanalyse **collégiale** de l'ensemble des cas



- **Etude rétrospective multicentrique**

- Extension aux autres centres français : appel à cas prochainement

Observatoire PHENIX-AL

Collaboration clinico-biologique



3 cliniciens référents dans l'observatoire

Sarah BERTOLI



Pierre-Yves DUMAS



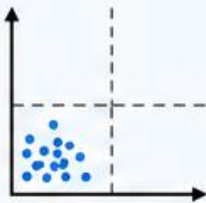
Cécile PAUTAS



Fusion amorcée entre les groupes ALFA, FILO et GRAALL

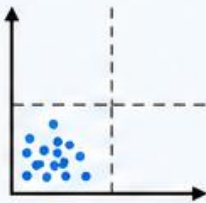
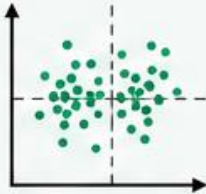
Classification des ALAL



Type d'ALAL	Définition	Critères principaux	Particularités
 AUL	Leucémie aiguë indifférenciée	<ul style="list-style-type: none">• Un seul marqueur par lignée	Exceptions : CD3, CD19 fort, MPO

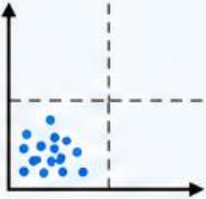
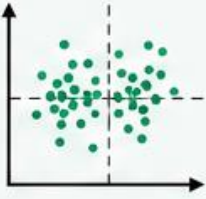
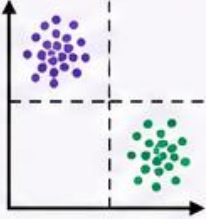
Classification des ALAL



Type d'ALAL	Définition	Critères principaux	Particularités
 AUL	Leucémie aiguë indifférenciée	<ul style="list-style-type: none">• Un seul marqueur par lignée	Exceptions : CD3, CD19 fort, MPO
 NOS	ALAL non spécifiée autrement	<ul style="list-style-type: none">• Plusieurs marqueurs par lignée	Exceptions : CD3, CD19 fort, MPO

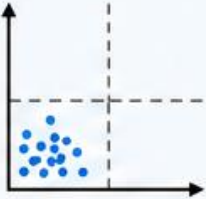
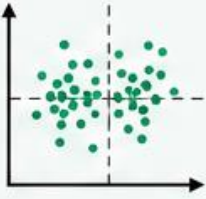
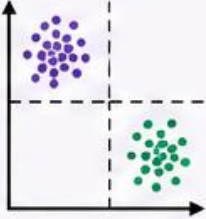
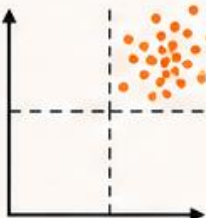
Classification des ALAL



Type d'ALAL	Définition	Critères principaux	Particularités
 AUL	Leucémie aiguë indifférenciée	<ul style="list-style-type: none">• Un seul marqueur par lignée	Exceptions : CD3, CD19 fort, MPO
 NOS	ALAL non spécifiée autrement	<ul style="list-style-type: none">• Plusieurs marqueurs par lignée	Exceptions : CD3, CD19 fort, MPO
 bicolore	Deux populations blastiques de lignées distinctes	<ul style="list-style-type: none">• 2 clusters > 5 % des blastes• Au moins 2 marqueurs différents• Visualisation sur un plot biparamétrique	Chaque population doit exprimer des marqueurs classiques de lignée

Classification des ALAL



Type d'ALAL	Définition	Critères principaux	Particularités
 <p>AUL</p>	Leucémie aiguë indifférenciée	<ul style="list-style-type: none"> • Un seul marqueur par lignée 	Exceptions : CD3, CD19 fort, MPO
 <p>NOS</p>	ALAL non spécifiée autrement	<ul style="list-style-type: none"> • Plusieurs marqueurs par lignée 	Exceptions : CD3, CD19 fort, MPO
 <p>bicolore</p>	Deux populations blastiques de lignées distinctes	<ul style="list-style-type: none"> • 2 clusters > 5 % des blastes • Au moins 2 marqueurs différents • Visualisation sur un plot biparamétrique 	Chaque population doit exprimer des marqueurs classiques de lignée
 <p>biphénotypique</p>	Une seule population blastique avec des marqueurs de plusieurs lignées	<ul style="list-style-type: none"> • Lignée T : CD3 fort • Lignée B : CD19 faible ou fort • Lignée myéloïde : MPO faible ou forte 	Intensité forte = > 50 % des cellules matures

Classification des ALAL

Détails des critères immunophénotypiques



LIGNÉE T

- CD3 fort

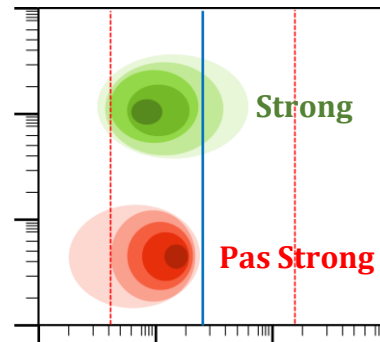
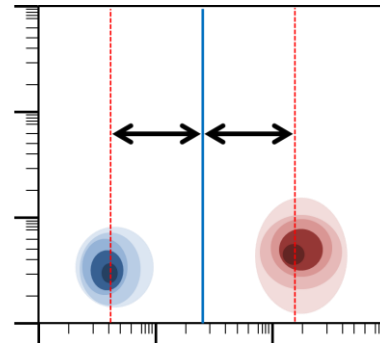
LIGNÉE B

- CD19 faible ou fort
- Si CD19 faible → associer 2 parmi :
- ✓ cCD79a fort
 - ✓ cCD22 fort
 - ✓ CD10 fort

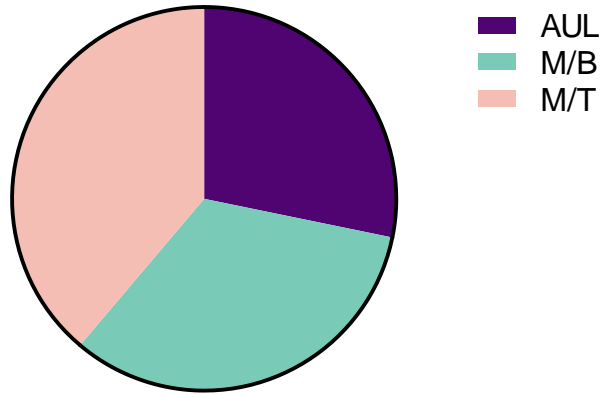
LIGNÉE MYÉLOÏDE

- MPO faible ou forte
- Si MPO faible → associer :
- ✓ CD117
 - ✓ CD13 fort
 - ✓ CD33 fort
 - ✓ SSC élevé

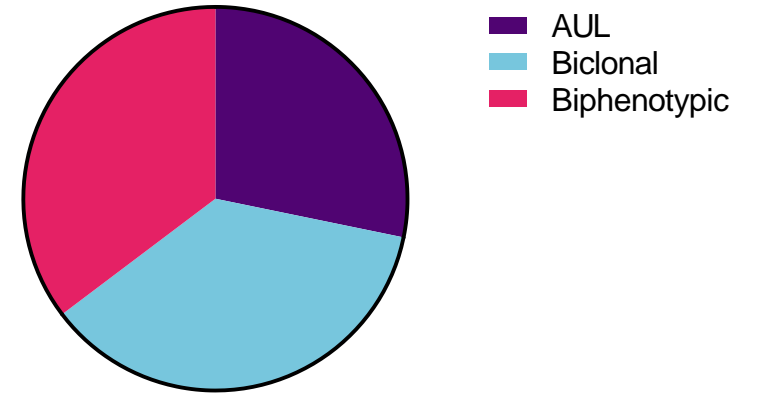
« Strong » selon les critères OMS 2022 :
“intensity in part exceeds 50% of mature cells”



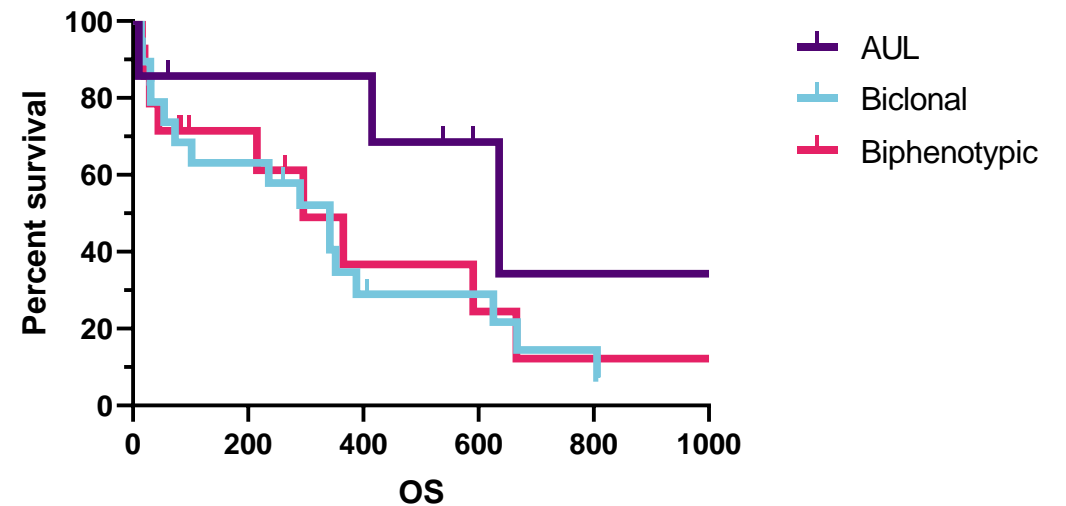
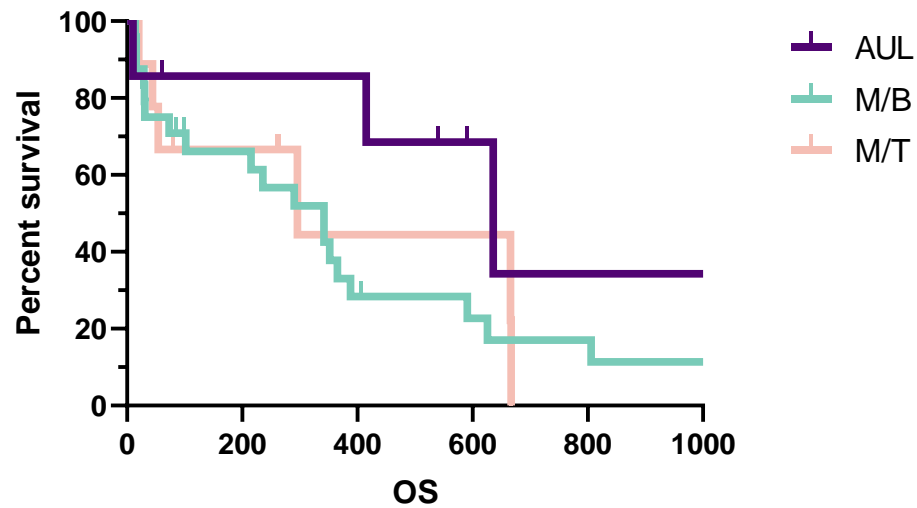
Etude rétrospective oligocentrique: type d'ALAL



Total=85

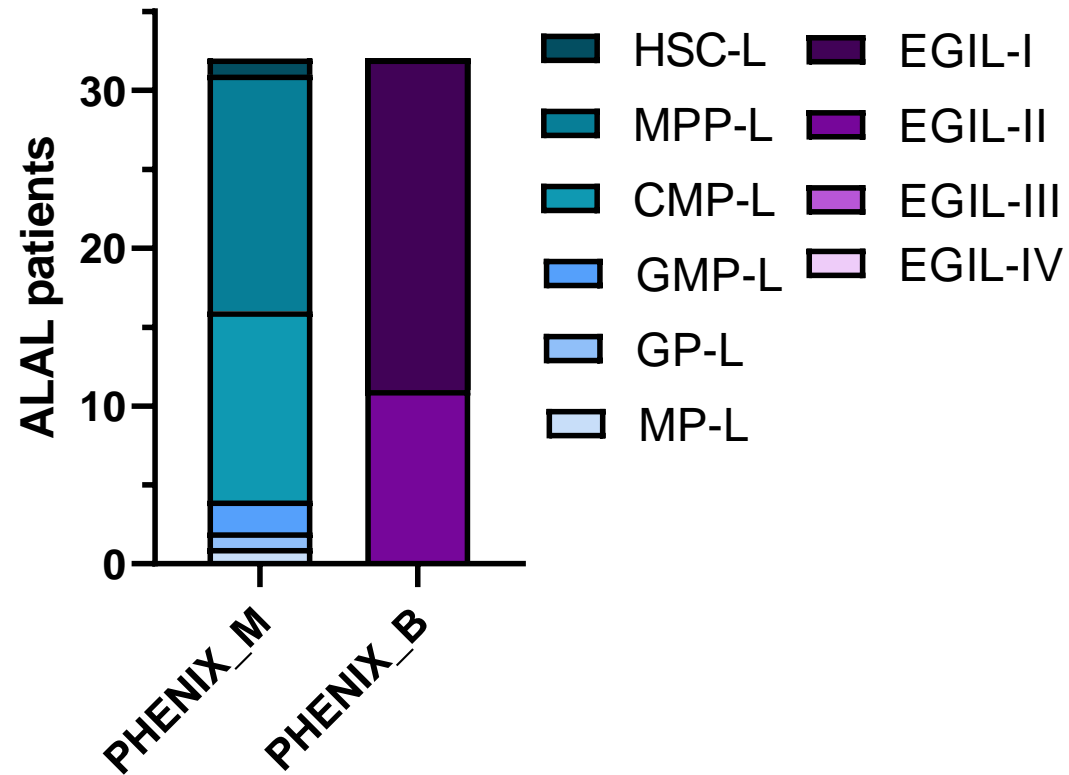


Total=85

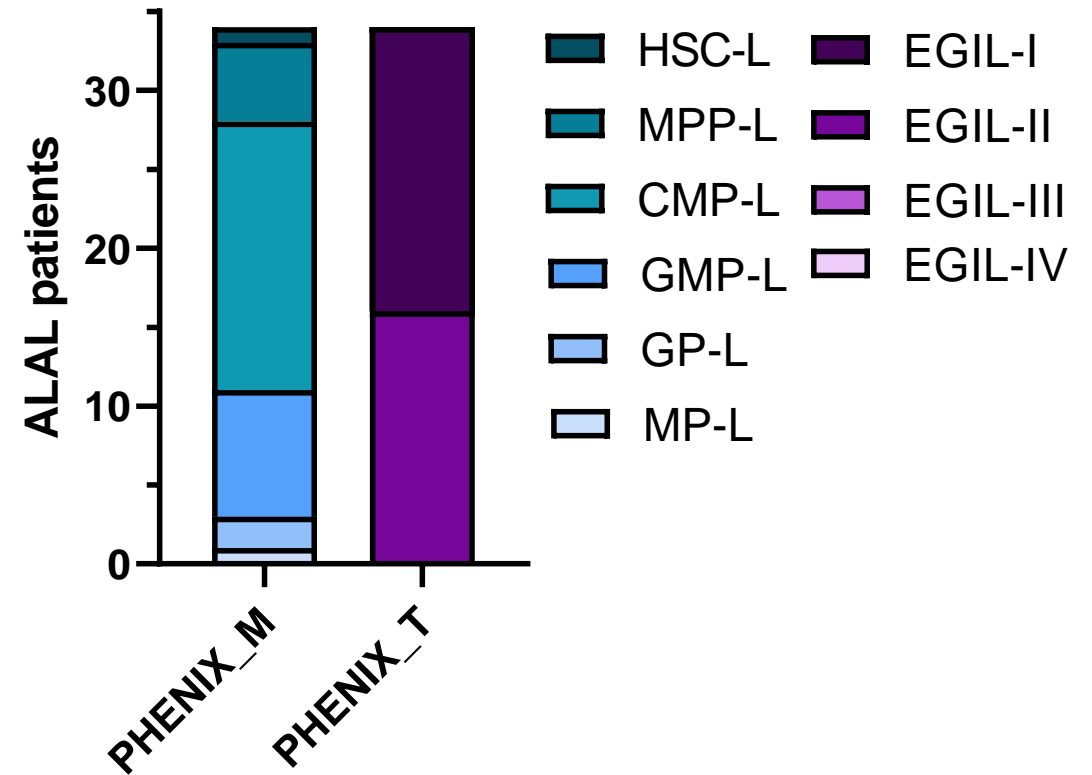


Etude rétrospective oligocentrique : stades de blocage

Myéloïde/Lymphoïde B



Myéloïde/Lymphoïde T



Etude rétrospective multicentrique



Appel aux centres intéressés pour rentrer dans l'observatoire des ALAL PHENIX

- Partage de fichiers [anonymisés](#) pour relecture centralisée
- Données biologiques & cliniques du diagnostic et du suivi des patients

Etude rétrospective multicentrique



Appel aux centres intéressés pour rentrer
dans l'observatoire des ALAL PHENIX

- Partage de fichiers anonymisés en structure centralisée
- Données biologiques & cliniques au diagnostic et du suivi des patients



FlowBox

• — LA BOITE A DUTILS NUMERIQUE — •
POUR LA CYTOMETRIE EN FLUX.

FlowBox

Un outil pensé pour le biologiste hospitalier



**Gestion locale de fichiers
de cytométrie en flux**



100 % local

Aucun fichier ne quitte la machine



Interface graphique

Aucune ligne de code requise



Zéro installation

Double-clic — aucun droit admin



Anonymisation RGPD

Keywords identifiants remplacés



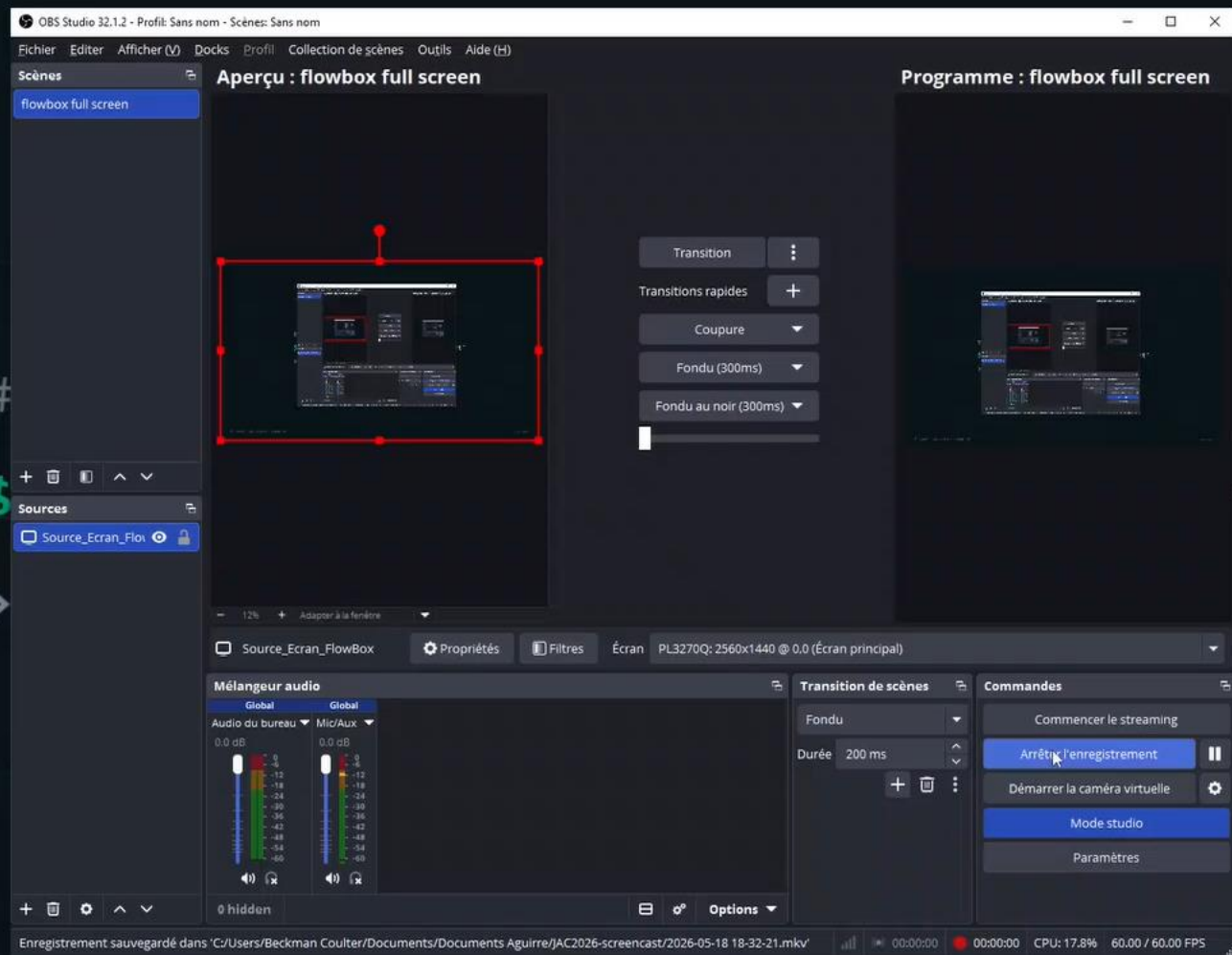
Multi-fabricants

BD, Beckman, Cytex, Sony



4 modules

Anonymisation · Extraction ·
Échantillonnage · Mix



FlowBox : anonymisation



Socle standard FCS (tous fabricants)

Keyword	Action	Description
\$FIL	replace	Nom de fichier original
\$SRC	replace	Source du specimen (nom patient)
\$OP	generic -> Operator	Nom de l'opérateur
\$SMNO	replace	Numero d'échantillon
\$EXP	generic -> Investigator	Nom de l'investigateur
\$INST	generic -> Institution	Institution
\$COM	remove	Commentaire libre (peut contenir des données patient)
\$DATE	remove	Date d'acquisition
\$BTIM	remove	Heure début acquisition
\$ETIM	remove	Heure fin acquisition
SAMPLEID	replace	Identifiant patient (propriétaire, sans \$)
GUID	regenerate	Identifiant unique global
EXPORT USER NAME	generic -> User	Nom de l'exportateur

Mots clés propriétaires anonymisés (Beckman & BD)

Keyword	Action	Description
EXPERIMENT NAME	replace	Nom de l'expérience (identifiant étude)
PLATE NAME	replace	Nom de la plaque

Keyword	Action	Description
EXPORT TIME	remove	Horodatage d'export
SMID	replace	Nom patient + n° specimen + date
@SAMPLEID1	replace	Identite patient (champ 1)
@SAMPLEID2	replace	Identite patient (champ 2)
@SAMPLEID3	replace	Identite patient (champ 3)
@SAMPLEID4	replace	Identite patient (champ 4)
@LOCATION	remove (Navios)	Localisation physique (Navios)
@Y2KDATE	remove (Navios)	Date format Y2K (Navios)
@FILEGUID	regenerate (Navios)	GUID fichier (Navios)
@TESTNAME	remove (Navios)	Nom du test clinique (Navios)
@PANEL	remove (Navios)	Panel clinique (Navios)

Les autres projets du CytHem LAM ?

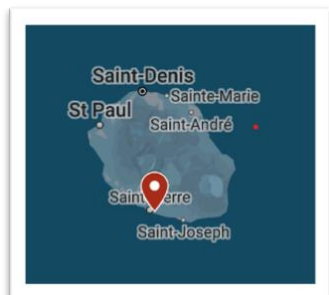


Pratiques des laboratoires

Cartographie francophone des pratiques CMF-LAM

50 centres répondeurs/92 inscrits en 2022

Statut : soumis à IJLH



CD34⁺CD36⁺ : facteur pronostique

Hypothèse : résistance au Vidaza selon le statut CD36

9 centres répondeurs

Statut : en cours de finalisation d'analyse



CytHem JAC'2026
SAINT-MALO

28 ET 29 MAI AU CENTRE DES CONGRÈS



Remerciements

Dr Ludovic Lhermitte

&

Dr Olga Weinberg

Groupe coopératif CytHem LAM

