



Prise en charge moléculaire (NGS) des SMD et formes frontières NMP/SMD

Assurance Qualité (NGS)

II

Un espace pour nous rencontrer

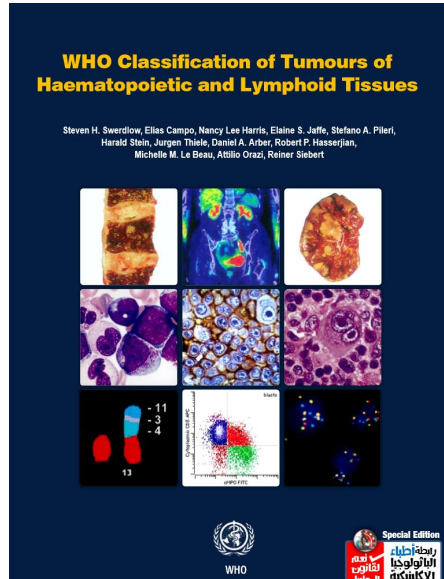


<https://bit.ly/3LgXkKp>



BenoitQuilichini@eurofins-biomnis.com

Références bibliographiques



Received: 27 July 2020 | Revised: 30 July 2020 | Accepted: 30 July 2020
DOI: 10.1002/ajh.25950

ANNUAL CLINICAL UPDATES IN
HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES



Myelodysplastic syndromes: 2021 update on diagnosis, risk stratification and management

Guillermo García-Manero | Kelly S. Chien | Guillermo Montalban-Bravo

Section of MDS, Department of Leukemia,
University of Texas MD Anderson Cancer
Center, Houston, Texas

Correspondence
Guillermo García-Manero MD, The University
of Texas MD Anderson Cancer Center, 1515
Holcombe Blvd, Houston, TX 77030.
Email: ggarcia@mdanderson.org

Funding Information
This work is supported in part by the
University of Texas MD Anderson Cancer
Center Support Grant CA016672 and by
generous philanthropic contributions to the
MD Anderson's MDS/AML Moon Shot
Program.

Abstract

Disease overview: The myelodysplastic syndromes (MDS) are a very heterogeneous group of myeloid disorders characterized by peripheral blood cytopenias and increased risk of transformation to acute myelogenous leukemia (AML). Myelodysplastic syndromes occur more frequently in older males and in individuals with prior exposure to cytotoxic therapy.

Diagnosis: Diagnosis of MDS is based on morphological evidence of dysplasia upon visual examination of a bone marrow aspirate and biopsy. Information obtained from additional studies such as karyotype, flow cytometry and molecular genetics is usually complementary and may help refine diagnosis.

Risk-stratification: Prognosis of patients with MDS can be calculated using a number

bjh guideline

Spanish Guidelines for the use of targeted deep sequencing in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia

Laura Palomo,¹ Mariam Ibáñez,^{2,3,4} María Abaig,⁵ Iria Vázquez,^{6,7} Sara Álvarez,⁸ Marta Cabezón,⁹ Bárbara Tazón-Vega,^{10,11} Inmaculada Rapado,^{12,13,14} Francisco Fuster-Tormo,¹ José Cervera,^{2,3,15} Rocío Benito,³ María J. Larrayoz,^{6,7} Juan C. Cigudosa,⁸ Lurdes Zamora,⁹ David Valcárcel,^{10,11} María T. Cedena,^{12,13,14} Pamela Acha,¹ Jesús M. Hernández-Sánchez,^{5,16} María Fernández-Mercado,^{17,18} Guillermo Sanz,^{2,3} Jesús M. Hernández-Rivas,^{5,16,19} María J. Calasanz,^{6,7} Francesc Solé,^{2,3,4} On behalf of the Spanish Group of MDS (GESMD)

Carrefour des spécialités

L'hématopoïèse clonale : un concept émergent à la croisée des spécialités

Clonal haematopoiesis: A concise review

F.-X. Danlos^a, M. Papo^b, J.-B. Micol^{c,*}

^a Inserm unité U1015, laboratoire de recherche translationnelle en immunothérapie, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, 94805 Villejuif, France

^b Inserm U1163/CNRS ERL8254, laboratory of cellular and molecular mechanisms of hematological disorders and therapeutic implications, IMAGINE Institute, 75015 Paris, France

^c Département d'hématologie, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, 94805 Villejuif, France

^d Inserm UMR1170, hématopoïèse normale et pathologique, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, 94805 Villejuif, France

Diagnosis and Treatment of Chronic Myelomonocytic Leukemias in Adults

Recommendations From the European Hematology Association and the European LeukemiaNet

Raphael Itzykson¹, Pierre Fenaux¹, David Bowen², Nicholas C.P. Cross³, Jorge Cortes⁴, Theo De Witte⁵, Ulrich Germing⁶, Francesco Onida⁷, Eric Padron⁸, Uwe Platzbecker⁹, Valeria Santini¹⁰, Guillermo F. Sanz^{11,12}, Eric Solary^{13,14}, Arjan Van de Loosdrecht¹⁵, Luca Malcovati¹⁶, on behalf of the European Hematology Association, the European LeukemiaNet

Correspondence: Raphael Itzykson (e-mail: raphael.itzykson@aphp.fr);
Pierre Fenaux (e-mail: pierre.fenaux@aphp.fr).

Abstract

Chronic myelomonocytic leukemia (CMML) is a disease of the elderly, and by far the most frequent overlap myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm in adults. Aside from the chronic monocytosis that remains the cornerstone of its diagnosis, the clinical presentation of CMML includes dysplastic features, cytopenias, excess of blasts, or myeloproliferative features including high white blood cell count or splenomegaly. Prognosis is variable, with several prognostic scoring systems reported in recent years, and treatment is poorly defined, with options ranging from watchful waiting to allogeneic stem cell transplantation, which remains the only curative therapy for CMML. Here, we present on behalf of the European Hematology Association and the European LeukemiaNet, evidence- and consensus-based guidelines, established by an international group of experts, from Europe and the United States, for standardized diagnostic and prognostic procedures and for an appropriate choice of therapeutic interventions in adult patients with CMML.

Received: 1 January 2021 | Accepted: 4 January 2021
DOI: 10.1002/ajh.26090

ANNUAL CLINICAL UPDATES IN
HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES



Myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts (MDS-RS) and MDS/myeloproliferative neoplasm with RS and thrombocytosis (MDS/MPN-RS-T) – “2021 update on diagnosis, risk-stratification, and management”

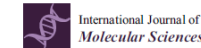
Mrinal M. Patnaik | Ayalew Tefferi

Division of Hematology, Department of
Internal Medicine, Mayo Clinic, Rochester,
Minnesota

Correspondence
Mrinal M. Patnaik, Division of Hematology,
Mayo Clinic, 200 First Street SW, Rochester,
MN, 55905.
Email: patnaik.mrinal@mayo.edu

Abstract

Disease Overview: Ring sideroblasts (RS) are erythroid precursors with abnormal perinuclear mitochondrial iron accumulation. Two myeloid neoplasms defined by the presence of RS, include myelodysplastic syndromes with RS (MDS-RS) and MDS/myeloproliferative neoplasm with RS and thrombocytosis (MDS/MPN-RS-T).
Diagnosis: MDS-RS is a lower risk MDS, with single or multilineage dysplasia (MDS-



Review

Atypical Chronic Myeloid Leukemia: Where Are We Now?

Elena Crisà^{a,*}, Maura Nicolosi, Valentina Ferri, Chiara Favini, Gianluca Gaidano^b and Andrea Patriarca

Division of Hematology, Department of Translational Medicine, Università del Piemonte Orientale and Azienda Ospedaliero-Universitaria Maggiore della Carità, Via Solaroli 17, 28100 Novara, Italy;
maura.nicolosi@med.uniupo.it (M.N.); valentina.ferri@uniupo.it (V.F.); chiara.favini@med.uniupo.it (C.F.);
gianluca.gaidano@med.uniupo.it (G.G.); andrea.patriarca@med.uniupo.it (A.P.)

* Correspondence: elena.crisa@med.uniupo.it; Fax: +39-0321-373-3095

Received: 26 July 2020; Accepted: 16 September 2020; Published: 18 September 2020



Objectifs du webinaire

Présenter les examens moléculaires (NGS) utiles au clinicien dans le cadre des SMD et formes frontières NMP/SMD

- Aide diagnostique
- Aide pronostique
- Aide théranostique

Savoir conseiller, en tant que biologiste de 1^{ère} intention, ces examens au clinicien

Présenter l'activité de notre laboratoire en NGS : SMD et LMMC

Présenter l'approche Assurance Qualité : accréditation NGS selon la norme NF-ISO-15189



Plan

Introduction

Rôle du NGS

- Formes frontières NMP/SMD
 - ▶ LMC atypique BCR-ABL neg
 - ▶ SMD/NMP-SC-T
 - ▶ LMMC
- SMD

Activité NGS du laboratoire

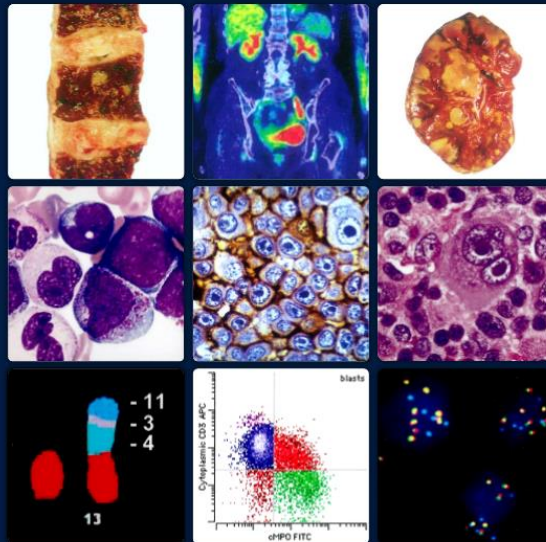
Assurance Qualité et accréditation NF-ISO-15189

Communications scientifiques

Evolutions de la classification OMS 2008 → 2017

WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues

Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jorgen Thiele, Daniel A. Arber, Robert P. Hasserjian, Michelle M. Le Beau, Attilio Orazi, Reiner Siebert



WHO



Myeloproliferative neoplasms

Chronic myeloid leukaemia, BCR-ABL1-positive	9875/3
Chronic neutrophilic leukaemia	9963/3
Polycythaemia vera	9950/3
Primary myelofibrosis	9961/3
Essential thrombocythaemia	9962/3
Chronic eosinophilic leukaemia, NOS	9964/3
Myeloproliferative neoplasm, unclassifiable	9975/3

NEOPLASIES MYELOIDES CHRONIQUES (NMP)

Mastocytosis

Cutaneous mastocytosis	9740/1
Indolent systemic mastocytosis	9741/1
Systemic mastocytosis with an associated haematological neoplasm	9741/3
Aggressive systemic mastocytosis	9741/3
Mast cell leukaemia	9742/3
Mast cell sarcoma	9740/3

MASTOCYTOSE

Myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and gene rearrangement

Myeloid/lymphoid neoplasms with PDGFRA rearrangement	9965/3
Myeloid/lymphoid neoplasms with PDGFRB rearrangement	9966/3
Myeloid/lymphoid neoplasms with FGFR1 rearrangement	9967/3
Myeloid/lymphoid neoplasms with PCM1-JAK2	9968/3*

NEOPLASIES MYELOIDES/LYMPHOIDES AVEC EOSINOPHILIE

Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms

Chronic myelomonocytic leukaemia	9945/3
Atypical chronic myeloid leukaemia, BCR-ABL1-negative	9876/3
Juvenile myelomonocytic leukaemia	9946/3
Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis	9982/3
Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm, unclassifiable	9975/3

NMP/SMD

Myelodysplastic syndromes

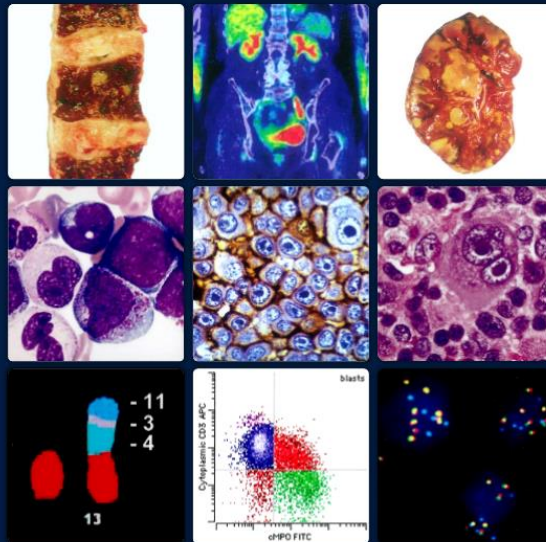
Myelodysplastic syndrome with single lineage dysplasia	9980/3
Myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts and single lineage dysplasia	9982/3
Myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts and multilineage dysplasia	9993/3*
Myelodysplastic syndrome with multilineage dysplasia	9985/3
Myelodysplastic syndrome with excess blasts	9983/3
Myelodysplastic syndrome with isolated del(5q)	9986/3
Myelodysplastic syndrome, unclassifiable	9989/3
Refractory cytopenia of childhood	9985/3

SYNDROMES MYELODYSPLASIQUES

Evolutions de la classification OMS 2008 → 2017

WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues

Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jurgen Thiele, Daniel A. Arber, Robert P. Hasserjian, Michelle M. Le Beau, Attilio Orazi, Reiner Siebert



WHO



Myeloproliferative neoplasms		
Chronic myeloid leukaemia, BCR-ABL1-positive	9875/3	
Chronic neutrophilic leukaemia	9963/3	
Polycythaemia vera	9950/3	
Primary myelofibrosis	9961/3	
Essential thrombocythaemia	9962/3	
Chronic eosinophilic leukaemia, NOS	9964/3	
Myeloproliferative neoplasm, unclassifiable	9975/3	

NEOPLASIES MYELOIDES CHRONIQUES (NMP)

Mastocytosis		
Cutaneous mastocytosis	9740/1	
Indolent systemic mastocytosis	9741/1	
Systemic mastocytosis with an associated haematological neoplasm	9741/3	
Aggressive systemic mastocytosis	9741/3	
Mast cell leukaemia	9742/3	
Mast cell sarcoma	9740/3	

Myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and gene rearrangement		
Myeloid/lymphoid neoplasms with PDGFRA rearrangement	9965/3	
Myeloid/lymphoid neoplasms with PDGFRB rearrangement	9966/3	
Myeloid/lymphoid neoplasms with FGFR1 rearrangement	9967/3	
Myeloid/lymphoid neoplasms with PCM1-JAK2	9968/3*	

NEOPLASIES MYELOIDES/LYMPHOIDES AVEC EOSINOPHILIE

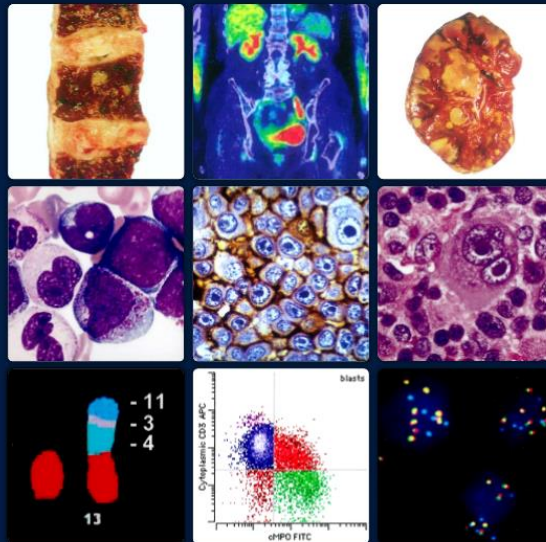
Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms		
Chronic myelomonocytic leukaemia	9945/3	
Atypical chronic myeloid leukaemia, BCR-ABL1-negative	9876/3	
Juvenile myelomonocytic leukaemia	9946/3	
Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis	9982/3	
Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm, unclassifiable	9975/3	

Myelodysplastic syndromes		
Myelodysplastic syndrome with single lineage dysplasia	9980/3	
Myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts and single lineage dysplasia	9982/3	
Myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts and multilineage dysplasia	9993/3*	
Myelodysplastic syndrome with multilineage dysplasia	9985/3	
Myelodysplastic syndrome with excess blasts	9983/3	
Myelodysplastic syndrome with isolated del(5q)	9986/3	
Myelodysplastic syndrome, unclassifiable	9989/3	
Refractory cytopenia of childhood	9985/3	

Evolutions de la classification OMS 2008 → 2017

WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues

Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jurgen Thiele, Daniel A. Arber, Robert P. Hasserjian, Michelle M. Le Beau, Attilio Orazi, Reiner Siebert



WHO



Special Edition

Myeloproliferative neoplasms

Chronic myeloid leukaemia, BCR-ABL1-positive	9875/3
Chronic neutrophilic leukaemia	9963/3
Polycythaemia vera	9950/3
Primary myelofibrosis	9961/3
Essential thrombocythaemia	9962/3
Chronic eosinophilic leukaemia, NOS	9964/3
Myeloproliferative neoplasm, unclassifiable	9975/3

Mastocytosis

Cutaneous mastocytosis	9740/1
Indolent systemic mastocytosis	9741/1
Systemic mastocytosis with an associated haematological neoplasm	9741/3
Aggressive systemic mastocytosis	9741/3
Mast cell leukaemia	9742/3
Mast cell sarcoma	9740/3

Myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and gene rearrangement

Myeloid/lymphoid neoplasms with PDGFRA rearrangement	9965/3
Myeloid/lymphoid neoplasms with PDGFRB rearrangement	9966/3
Myeloid/lymphoid neoplasms with FGFR1 rearrangement	9967/3
Myeloid/lymphoid neoplasms with PCM1-JAK2	9968/3*

Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms

Chronic myelomonocytic leukaemia	9945/3
Atypical chronic myeloid leukaemia, BCR-ABL1-negative	9876/3
Juvenile myelomonocytic leukaemia	9946/3
Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis	9982/3
Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm, unclassifiable	9975/3

NMP/SMD

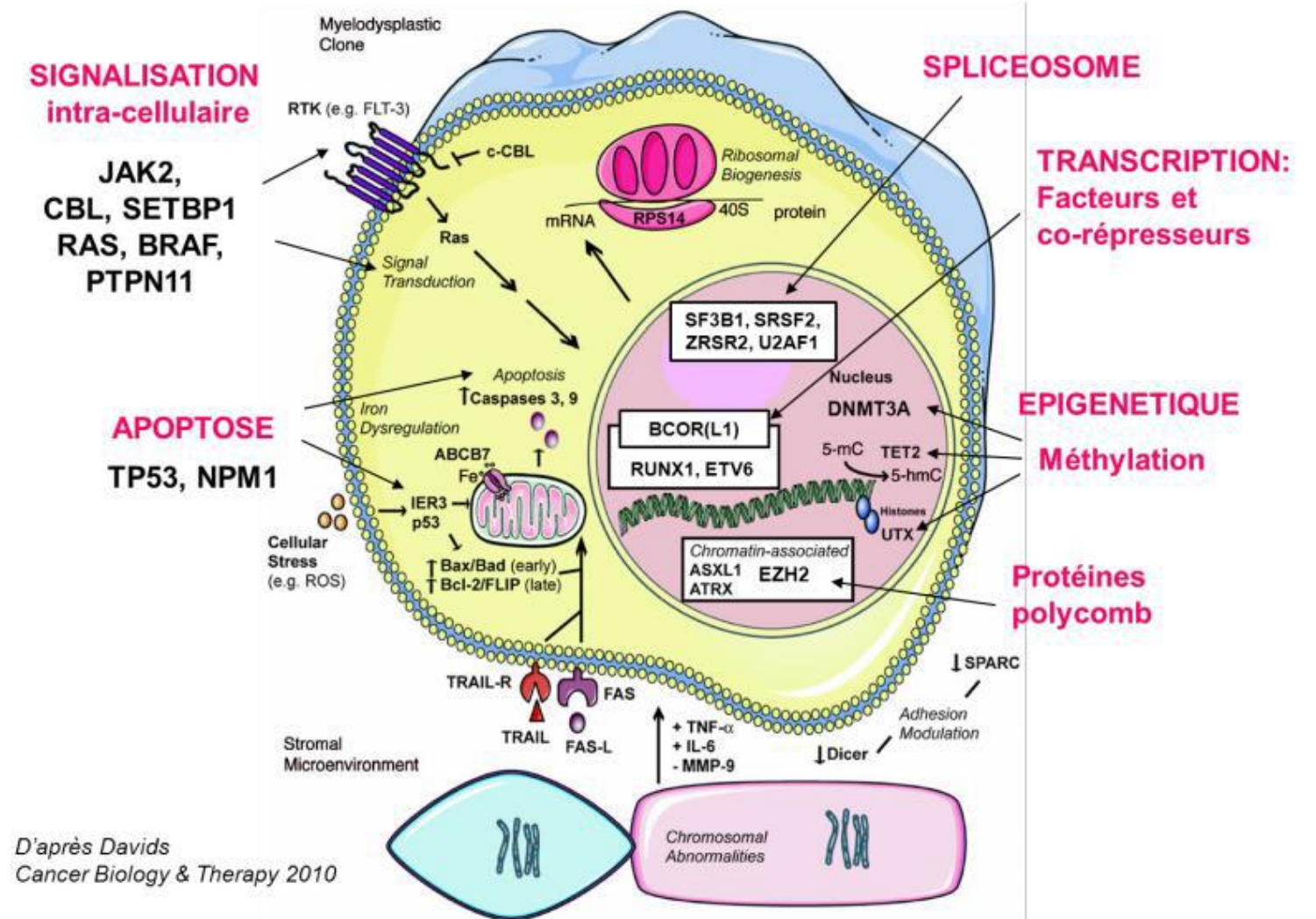
Myelodysplastic syndromes

Myelodysplastic syndrome with single lineage dysplasia	9980/3
Myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts and single lineage dysplasia	9982/3
Myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts and multilineage dysplasia	9993/3*
Myelodysplastic syndrome with multilineage dysplasia	9985/3
Myelodysplastic syndrome with excess blasts	9983/3
Myelodysplastic syndrome with isolated del(5q)	9986/3
Myelodysplastic syndrome, unclassifiable	9989/3
Refractory cytopenia of childhood	9985/3

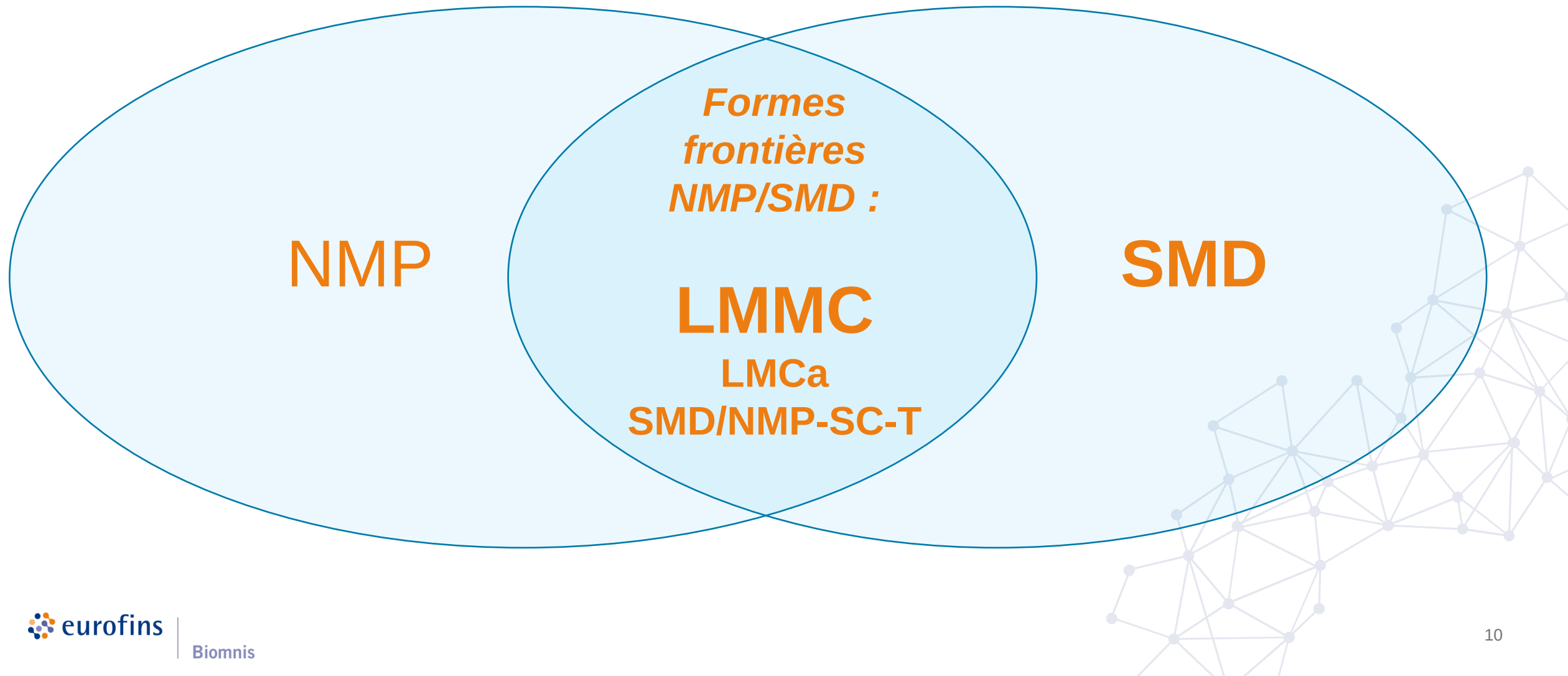
SYNDROMES MYELODYSPLASIQUES

Panel de gènes – capture – Sophia Genetics

Gene	Transcript	Exon rank
CEBPA	NM_004364	Full coding region
CSF3R	NM_000760	Full coding region
DNMT3A	NM_022552	Full coding region
ETV6	NM_001987	Full coding region
EZH2	NM_001203247	Full coding region
JAK2	NM_004972	Full coding region
RUNX1	NM_001754	Full coding region
TET2	NM_001127208	Full coding region
TP53	LRG_TP53 (LRG-specific mixed numbering)	Full coding region
ZRSR2	NM_005089	Full coding region
ABL1	NM_005157	4, 5, 6, 7, 8, 9
ASXL1	NM_015338	9, 11, 12, 14
BRAF	NM_004333	15
CALR	NM_004343	9
CBL	NM_005188	8, 9
FLT3	NM_004119	13, 14, 15, 20
HRAS	NM_176795	2, 3
IDH1	NM_005896	4
IDH2	NM_002168	4
KIT	NM_000222	2, 8, 9, 10, 11, 13, 17, 18
KRAS	NM_033360	2, 3
MPL	NM_005373	10
NPM1	NM_002520	10, 11
NRAS	NM_002524	2, 3
PTPN11	NM_002834	3, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
SETBP1	NM_015559	4
SF3B1	NM_012433	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
SRSF2	NM_003016	1
U2AF1	NM_006758	2, 6
WT1	NM_024426	6, 7, 8, 9, 10



NMP, SMD et formes frontières

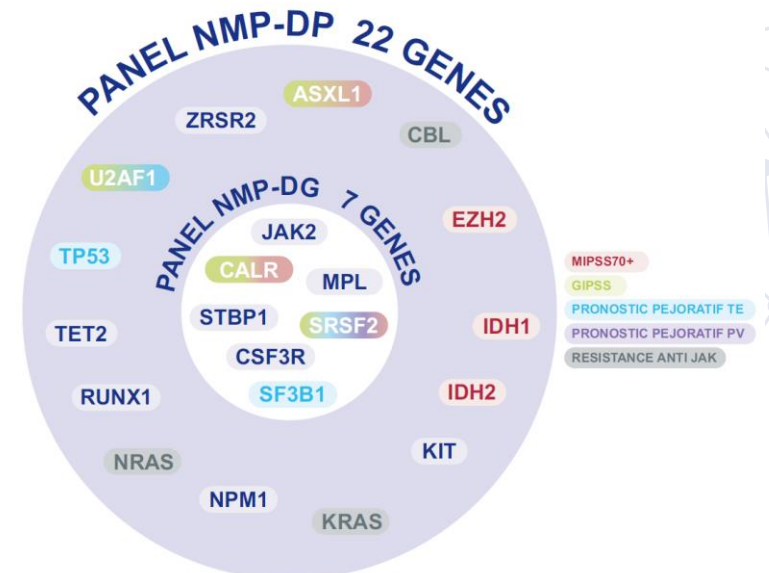
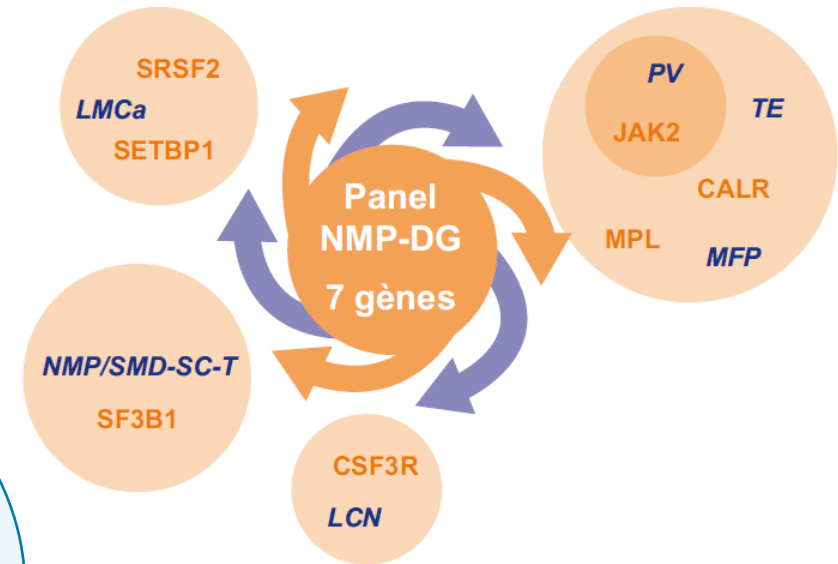


NMP / formes frontières NMP-SMD :

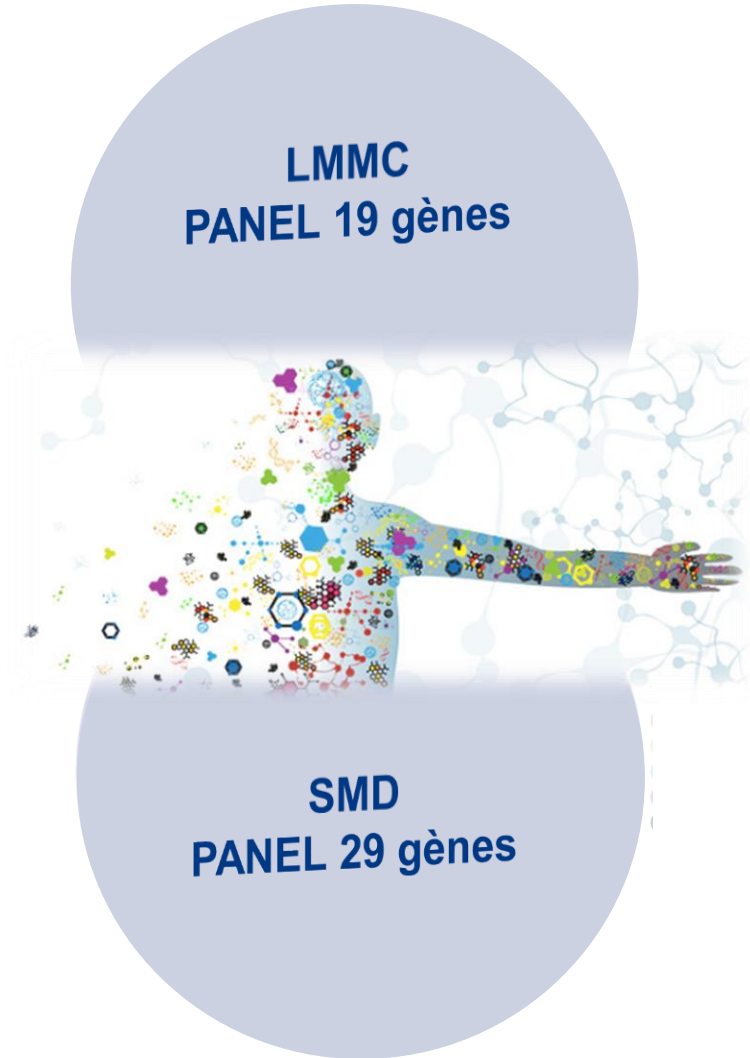
NMP
(PV-TE-MFI)

*Formes
frontières
NMP/SMD :*

LMMC
LMCa
SMD/NMP-SC-T



Formes frontières NMP-SMD / SMD



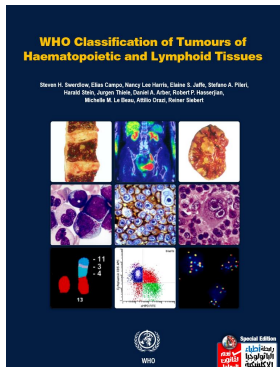
*Formes
frontières
NMP/SMD :*

LMMC

LMCa
SMD/NMP-SC-T

SMD

LMC atypique BCR-ABL1 neg - OMS



- Peripheral blood leukocytosis $\geq 13 \times 10^9/L$, due to increased numbers of neutrophils and their precursors (i.e. promyelocytes, myelocytes and metamyelocytes), with neutrophil precursors constituting $\geq 10\%$ of the leukocytes
- Dysgranulopoiesis, which may include abnormal chromatin clumping
- No or minimal absolute ~~basophilia~~; basophils constitute $< 2\%$ of the peripheral blood leukocytes
- No or minimal absolute ~~monocytosis~~; monocytes constitute $< 10\%$ of the peripheral blood leukocytes
- Hypercellular bone marrow with granulocytic proliferation and granulocytic dysplasia, with or without dysplasia in the erythroid and megakaryocytic lineages
- $< 20\%$ blasts in the blood and bone marrow
- No evidence of ~~PDCPRA~~, ~~PDCPFB~~ or ~~FCFR1~~ rearrangement, or of ~~PCM1-JAK2~~
- WHO criteria for ~~BCR-ABL1~~-positive chronic myeloid leukaemia, primary myelofibrosis, polycythaemia vera, or essential thrombocythaemia^a are not met

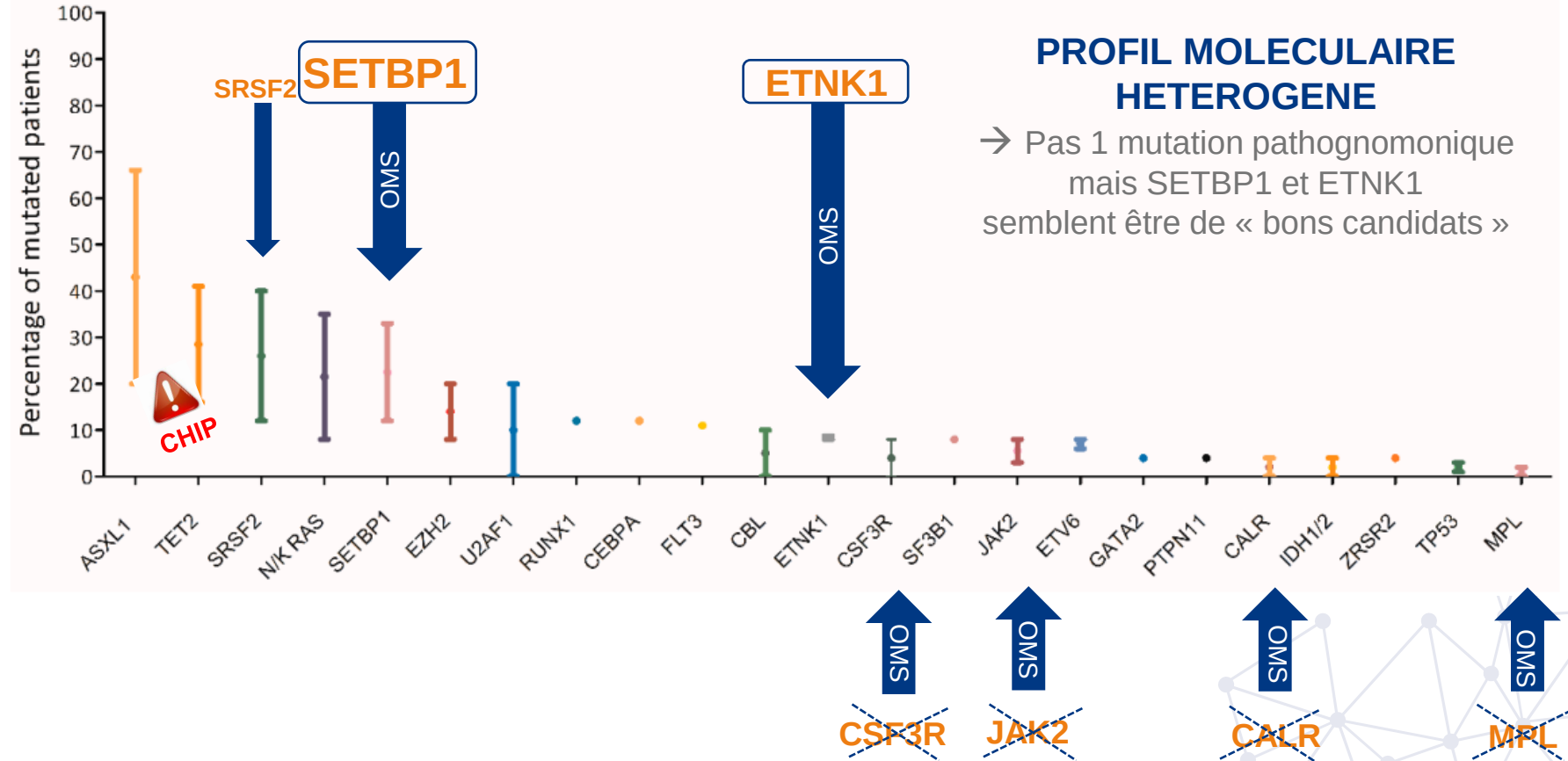
^a Myeloproliferative neoplasms (MPNs), in particular those in accelerated phase and/or in post-polycythaemia vera or post-essential thrombocythaemia myelofibrosis, if neutrophilic, may simulate aCML. A history of MPN, the presence of MPN features in the bone marrow, and/or MPN-associated mutations (in ~~JAK2~~, ~~CAER~~ or ~~MPL~~) tend to exclude the diagnosis of aCML; conversely, the diagnosis is supported by the presence of SETBP1 and/or ETNK1 mutations. ~~CSFR~~ mutation is uncommon and, if detected, should prompt careful morphological review to exclude an alternative diagnosis of chronic neutrophilic leukaemia or another myeloid neoplasm.

Panel NGS
NMP-DG

Apport du NGS dans la LMC atypique BCR-ABL1 neg

DIAGNOSTIC
d'exclusion

~~BCR::ABL~~

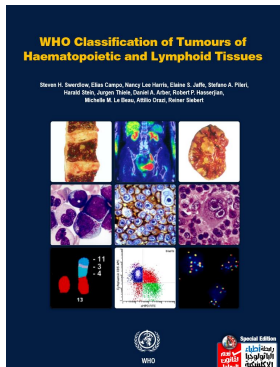


Et surtout si SETBP1 muté : pronostic péjoratif

PRONOSTIC



SMD/NMP avec SC et thrombocytose



- Anaemia associated with erythroid-lineage dysplasia, with or without multilineage dysplasia; $\geq 15\%$ ring sideroblasts^a, $< 1\%$ blasts in the peripheral blood and $< 5\%$ blasts in the bone marrow
- Persistent thrombocytosis, with platelet count $\geq 450 \times 10^9/L$
- SF3B1 mutation or, in the absence of SF3B1 mutation, no history of recent cytotoxic or growth factor therapy that could explain the myelodysplastic/myeloproliferative features^b
- No ~~BCR-ABL1~~ fusion; no rearrangement of ~~PDGFRA~~, ~~PDGFRB~~ or ~~FGFR1~~; no ~~PCM1-JAK2~~ and no ~~t(3;3)(q21.3;q26.2)~~, ~~inv(3)(q21.3q26.2)~~, or ~~del(5q)~~^c
- No history of myeloproliferative neoplasm, myelodysplastic syndrome (except myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts), or other myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm

^a $\geq 15\%$ ring sideroblasts is a required criterion even if SF3B1 mutation is detected.

^b The diagnosis of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis is strongly supported by the presence of SF3B1 mutation together with a JAK2 V617F, CALR or MPL mutation.

^c In a case that otherwise meets the diagnostic criteria for myelodysplastic syndrome with isolated del(5q).

Panel NGS
NMP-DG

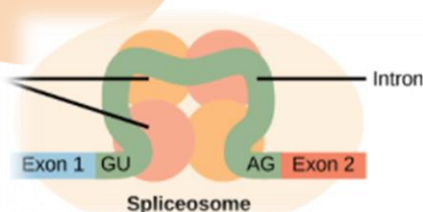
Panel NGS
NMP-DG

Apport du NGS dans l'entité SMD/NMP-SC-T

DIAGNOSTIC

SF3B1

SMD-NMP-SC-T
SF3B1



Panel
NMP-DG
7 gènes

PV
JAK2
TE
CALR
MPL
MFP

NMP

SMD

+ ... TET2 / ASXL1 / DNMT3A / SETBP1

mais si mutation ASXL1 / SETBP1 : pronostic péjoratif

PRONOSTIC



LMMC

1 à 2 / 100.000

65-75 ans

Clinique :

SPM/HPM

Traitement :

- Allogreffe +++
- Vidaza / Hydrea si non éligible allogreffe
- Traitement symptomatique

Evolution :

- LAM < 15-30%

Monocytose > 1 G/L

Myélogramme

MYELOGRAMME

Richesse normale ou augmentée

Dysgranulopoïèse

Monocytose excessive

	Sang		Moëlle
LMMC-0	< 2 % blastes Sg	ET	< 5 % blastes MO
LMMC-1	2 - 4 % blastes Sg	ET	5 - 9 % blastes MO
LMMC-2	5 – 19 % blastes Sg	ET/OU	10 – 19 % blastes MO ou présence de corps d'Auer qq soit le nb de blastes

Remarque : 2 catégories

- < 13 G/L (60 % des pts), appelée aussi variante myélodysplasique
- > 13 G/L , ou variante myéloproliférative

Immunophénotypage des monocytes sur sang

Caryotype médullaire

EXCLUSION translocation t(9;22)(q34;q11) +++ évoquant une LMC

Si **éosinophilie**: exclusion réarrangement PDGFR / PDGFRB / FGFR1 / fusion PCM1-JAK2

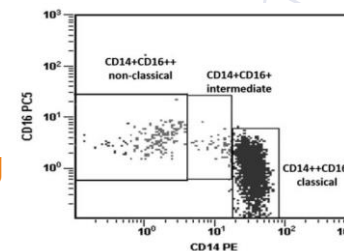
Anomalie(s) clonale(s) (<30% des cas)

Risque élevé : trisomie 8 , ano chr 7 ou caryotype complexe

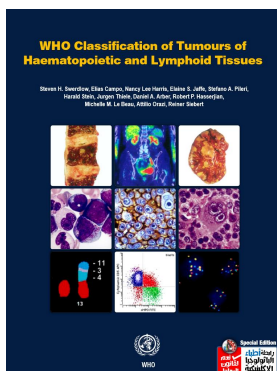
Risque faible : normal ou perte isolée de l'Y

Risque intermédiaire : autres anomalies

NGS +++ (sur sang ou sur moelle)



LMMC



1. Persistent peripheral blood monocytosis ($\geq 1 \times 10^9/L$) with monocytes accounting for $\geq 10\%$ of the leukocytes
2. WHO criteria for ~~BCR-ABL1~~—positive chronic myeloid leukaemia, primary myelofibrosis, polycythaemia vera and essential thrombocythaemia^a are not met
3. No rearrangement of ~~PDSFRA~~, ~~PDGFRB~~ or ~~FGFR1~~ and no ~~PCM1-JAK2~~ (which should be specifically excluded in cases with eosinophilia)
4. Blasts^b constitute $< 20\%$ of the cells in the peripheral blood and bone marrow
5. Dysplasia involving ≥ 1 myeloid lineages

or

If myelodysplasia is absent or minimal, criteria 1–4 are met and:

- an acquired, clonal cytogenetic or molecular genetic abnormality is present in haematopoietic cells^c or
- the monocytosis has persisted for ≥ 3 months and all other causes of monocytosis (e.g. malignancy, infection, and inflammation) have been excluded

- ^a Myeloproliferative neoplasms (MPN) can be associated with monocytosis or it can develop during the course of the disease; such cases can mimic CMML. In these rare instances, a documented history of MPN excludes CMML, whereas the presence of MPN features in the bone marrow and/or MPN-associated mutations (in JAK2, CALR or MPL) tends to support MPN with monocytosis rather than CMML.
- ^b Blasts and blast equivalents include myeloblasts, monoblasts and promonocytes. Promonocytes are monocytic precursors with abundant light-grey or slightly basophilic cytoplasm with a few scattered fine lilac-coloured granules, finely distributed stippled nuclear chromatin, variably prominent nucleoli and delicate nuclear folding or creasing. Abnormal monocytes, which can be present in both the peripheral blood and the bone marrow, are excluded from the blast count (see Introduction and overview of the classification of myeloid neoplasms, Fig. 1.04, p. 18).
- ^c In the appropriate clinical context, mutations in genes often associated with CMML (e.g. **TET2**, **SRSF2**, **ASXL1** and **SETBP1**) support the diagnosis. However, some of these mutations can be age-related or present in other neoplasms; therefore, these genetic findings must be interpreted with caution.

Panel ^{NGS}

Apport du NGS dans les LMMC

SANG
MOELLE

DIAGNOSTIC

Panel gènes :

→ **TET2 – SRSF2** = aide diagnostique



Gene	Frequency, %	SF3B1	6–10
TET2	29–61	ZRSR2	4–8
ASXL1	32–44	CBL	8–22
DNMT3A	2–12	KRAS	7–16
EZH2	5–13	NRAS	4–22
IDH1 ^a	1–2	NF1	6–7
IDH2 ^a	6–7	JAK2	1–10
BCOR	6–7	RUNX1	8–23
SRSF2	29–52	SETBP1	4–18
U2AF1	4–10	NPM1 ^b	1–3
		FLT3 ^{a,b}	1–3

PRONOSTIC

Mutations à valeur pronostique

/ risque de transformation en LA → allogreffe

ASXL1 / NRAS / RUNX1 / SETBP1 (CPPS-mol)

NPM1 / FLT3 → diagnostic à rediscuter (LMMC-2 / LAM-M4)



CARYOTYPE

CIBLES
THERA-
NOSTIQUES

IDH1 / IDH2 / FLT3 → rares !!! mais cibles thérapeutiques potentielles

 CMML CPSS-Mol

Estimate risk of progression to AML in those with CMML using molecular genetics data

Questions

- | | |
|-----------------|--------------------------------|
| 1. Cytogenetics | High (trisomy 8, complex, a... |
| 2. ASXL1 | Mutated |
| 3. NRAS | Mutated |
| 4. RUNX1 | Unmutated |
| 5. SETBP1 | Unmutated |
| 6. BM blasts | ≥5% |
| 7. WBC | ≥13 x 10 ⁹ /L |
| 8. Transfusions | Yes |

About

The CPSS-Mol is a new CMML-specific prognostic scoring system (CPSS) that incorporates molecular genetic data resulting in a 4-level integrated clinical/pathological/genetic risk stratification tool. This tool was derived from a cohort of European patients, 93% of whom possessed 1 of 38 somatic mutations. Based on multivariable Cox regression analyses, cytogenetic abnormalities and mutations in RUNX1, NRAS, SETBP1, and ASXL1 were independently associated with overall survival (OS). The CPSS-Mol fully retained its ability to risk stratify survival in an independent validation cohort of CMML patients.

References

Elena C, Galli A, Such E, et al.
[Integrating clinical features and genetic lesions in the risk assessment of patients with chronic myelomonocytic leukemia.](#)

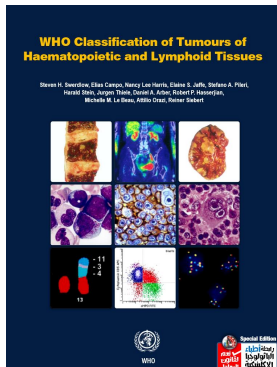
Results Save  Copy Results**Genetic Risk Score****4****Genetic Risk Group****High****CPSS-Mol Score****7****Prognosis**

High risk CPSS-Mol risk group: Individuals with this risk profile have a 48% cumulative incidence of AML at 48-months and a median overall survival of 18 months.

Download the app for offline access



SMD



Entity name	Number of dysplastic lineages	Number of cytopenias ^a	Ring sideroblasts as percentage of marrow erythroid elements	Bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) blasts	Cytogenetics by conventional karyotype analysis
MDS-SLD	1	1–2	< 15% / < 5% ^b	BM < 5%, PB < 1%, no Auer rods	Any, unless fulfils all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS-MLD	2–3	1–3	< 15% / < 5% ^b	BM < 5%, PB < 1%, no Auer rods	Any, unless fulfils all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS-RS MDS-RS-SLD	1	1–2	≥ 15% / ≥ 5% ^b	BM < 5%, PB < 1%, no Auer rods	Any, unless fulfils all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS-RS-MLD	2–3	1–3	≥ 15% / ≥ 5% ^b	BM < 5%, PB < 1%, no Auer rods	Any, unless fulfils all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS with isolated del(5q)	1–3	1–2	None or any	BM < 5%, PB < 1%, no Auer rods	del(5q) alone or with 1 additional abnormality, except loss of chromosome 7 or del(7q)
MDS-EB MDS-EB-1	1–3	1–3	None or any	BM 5–9% or PB 2–4%, BM < 10% and PB < 5%, no Auer rods	Any
MDS-EB-2	1–3	1–3	None or any	BM 10–19% or PB 5–19% or Auer rods, BM and PB < 20%	Any
MDS-U with 1% blood blasts	1–3	1–3	None or any	BM < 5%, PB = 1% ^c , no Auer rods	Any
with SLD and pancytopenia	1	3	None or any	BM < 5%, PB < 1%, no Auer rods	Any
based on defining cytogenetic abnormality	0	1–3	< 15% ^d	BM < 5%, PB < 1%, no Auer rods	MDS-defining abnormality ^e
MDS-EB, MDS with excess blasts; MDS-MLD, MDS with multilineage dysplasia; MDS-RS, MDS with ring sideroblasts; MDS-RS-MLD, MDS with ring sideroblasts and multilineage dysplasia; MDS-RS-SLD, MDS with ring sideroblasts and single lineage dysplasia; MDS-SLD, MDS with single lineage dysplasia; MDS-U, MDS, unclassifiable; SLD, single lineage dysplasia.					
^a Cytopenias defined as haemoglobin concentration < 10 g/dL, platelet count < 100 × 10 ⁹ /L and absolute neutrophil count < 1.8 × 10 ⁹ /L, although MDS can present with mild anaemia or thrombocytopenia above these levels; PB monocytes must be < 1 × 10 ⁹ /L.					
^b If SF3B1 mutation is present.					
^c 1% PB blasts must be recorded on ≥ 2 separate occasions.					
^d Cases with ≥ 15% ring sideroblasts by definition have significant erythroid dysplasia and are classified as MDS-RS-SLD.					

Classification
OMS 2017



Uniquement
SF3B1



Panel ^{NGs}

Les scores actuellement utilisés dans les SMD ...

IPSS - 1997



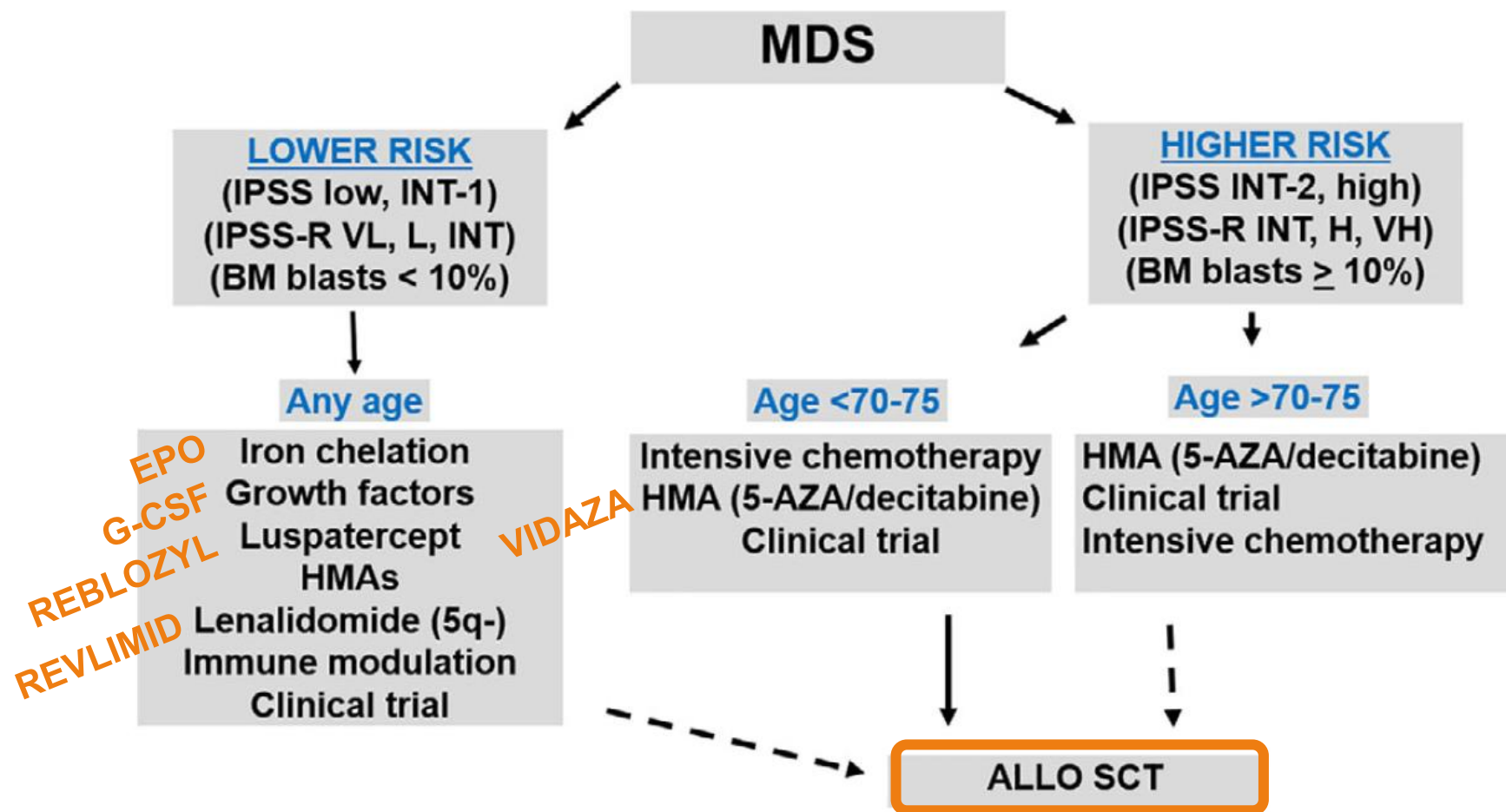
IPSS-R - 2012

	Prognostic score value				
	0	0.5	1	1.5	2
Prognostic category					
Cytogenetics	Good	Intermediate	Poor		
BM blasts, %	≤ 5	5-10		11-20	21-30
Cytopenia ^a	0-1	2-3			
Cytogenetic group	Characteristics				
Good	Normal, -Y, del(5q), del(20q)				
Intermediate	All other karyotypic abnormalities				
Poor	Complex (≥ 3 abnormalities) or chromosome 7 abnormalities				

	Prognostic score value						
	0	0.5	1	1.5	2	3	4
Prognostic category							
Cytogenetics	Very good		Good		Intermediate	Poor	Very poor
BM blasts, %	≤ 2		> 2 to < 5		5-10	> 10	
Hgb, g/dL	≥ 10		8 to < 10	< 8			
Platelets, x 10 ⁹ /L	≥ 100	50 to < 100	< 50				
ANC, x 10 ⁹ /L	≥ 0.8	< 0.8					
Cytogenetic group	Characteristics						
Very good	-Y, del(11q)						
Good	Normal, del(5q), del(12p), del(20q), del(5q) + 1 additional abnormality						
Intermediate	del(7q), +8, +19, i(17q), other abnormalities not in other groups						
Poor	-7, inv(3)/t(3q), -7/del(7q) + 1 additional abnormality, complex (3 abnormalities)						
Very poor	Complex (> 3 abnormalities)						

MOELLE

...pour choisir un traitement adapté !



Apport du NGS dans les SMD

SANG
MOELLE

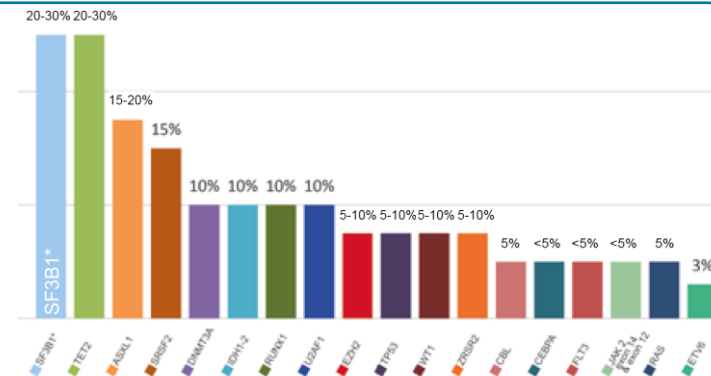
DIAGNOSTIC

Panel 29 gènes :

→ **SF3B1** = SMD – SC

→ **Clonalité moléculaire** = aide diagnostique +++

Si cytologie médullaire non contributive / caryotype normal (40/50%) !



PRONOSTIC

Mutations à valeur pronostique

→ **Favorable** : **SF3B1** (SC ?)

→ **Défavorable** : **TP53**, **EZH2**, **ETV6**, **RUNX1**, **ASXL1**, **CBL**, **DNMT3A**, **IDH1/2** ... / risque de transformation en LAM

→ **Score moléculaire ?**



CARYOTYPE

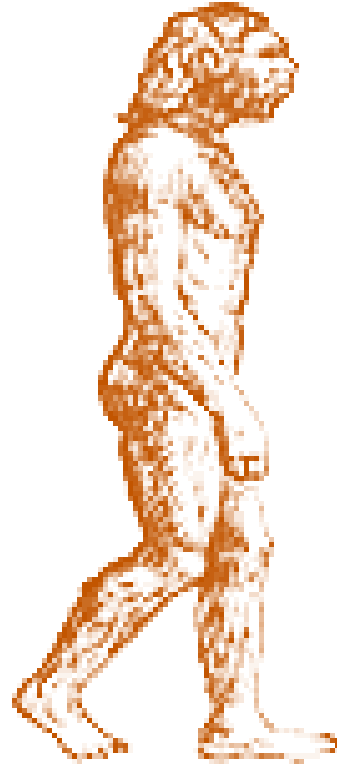
REPONSE
AU TRTT ET
CIBLES THERA-
NOSTIQUES

Résistance au lénalidomide pour les Sd 5q- : **TP53**

Cibles thérapeutiques potentielles : **IDH1 / IDH2 / FLT3** → rares

Hypométhylants : **TET2 + / ASXL1 -**

Score moléculaire dans les SMD



SMD et score IPSS-M

2957 patients

Score IPSS-M :

- Hb
- Plaquettes
- % de blastes
- IPSS-R cytogénétique

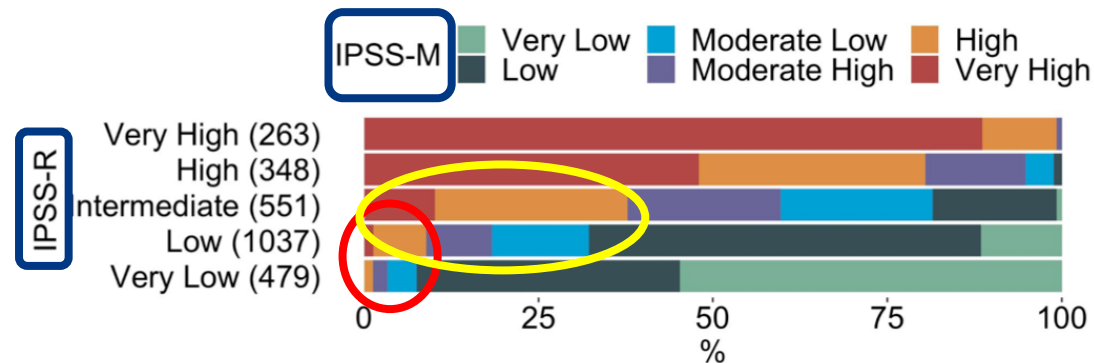
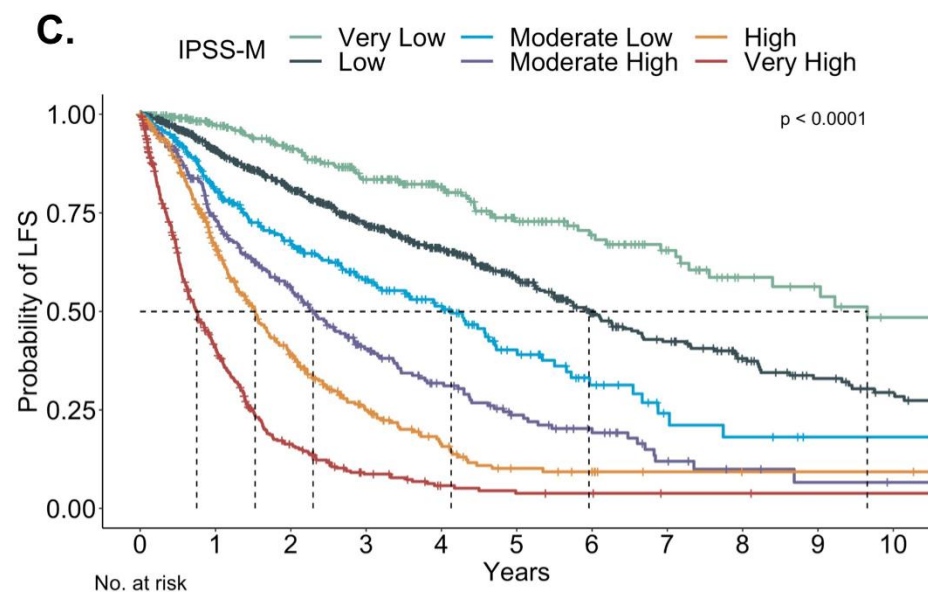
16 gènes principaux

TP53, MLL, FLT3, SF3B1, NPM1, NRAS, ETV6,
IDH2, CBL, EZH2, U2AF1, SRSF2, DNMT3A,
ASXL1, KRAS

15 gènes « secondaires »

BCOR, BCORL1, CEBPA, ETNK1, GATA2, GNB1,
IDH1, NF1, PHF6, PPMD1, PRPF8, PTPN11,
SETBP1, STAG2, WT1

Comparaison IPSS-R et IPSS-M :



46% des patients changent de groupe pronostique en intégrant les données moléculaires :

- 74% basculent en risque plus élevé
- 26% basculent en risque moins élevé
- 6% des faibles risques basculent en haut risque !

Bon de demande

 Biomnis	
Bon de demande Biologie des Hémopathies malignes Cytologie spécialisée et typage immunologique (CMF) / Cytogénétique et Biologie moléculaire	
Hématologie cellulaire et cytogénétique Tél : 04 72 80 23 65 • Fax : 04 72 80 23 66 Email : SecretariatOncoHematologie@eurofins-biomnis.com	Génétique et oncologie moléculaire Tél : 04 72 80 25 78 • Fax : 04 72 80 25 79 Email : SecretariatGenetique@eurofins-biomnis.com
Correspondant	
PATIENT(E)	MÉDECIN PRESCRIPTEUR
Nom : Nom de naissance : Prénom : Date de naissance : Adresse : CP : Ville : Tél : Sexe : ☐ F ☐ M	Nom du médecin : Prénom : Adresse : CP : Ville : Tél : Fax : E-mail :
FACTURATION	
☐ Hôpital ☐ Prise en charge* Organisme payeur : Régime : Dépt : Centre : N° de S.S. :	☐ Autre : ☐ Patient** (*Joindre impérativement l'ordonnance ainsi que la copie de l'attestation S.S. **Si facturation patient, veuillez nous préciser ci-dessus l'adresse du patient).
ANALYSES DEMANDÉES ET PRÉLÈVEMENTS [CODE ANALYSE EUROFINS BIOMNIS]	
CYTOLOGIE ☐ Sang : formule approfondie (1 frottis non coloré) [FS] ☐ Moelle : myélogramme (4 à 6 lames non colorées) [MYELO] ☐ Ganglion : adénogramme (frottis non colorés) [ADENG] ☐ Autre :	TYPAGE IMMUNOLOGIQUE [IPHEN] ☐ Sang : (1 tube EDTA + 1 frottis non coloré) ☐ Moelle : (1 tube EDTA + 1 frottis non coloré) NB : pour les bilans immunitaires quantitatifs, merci de consulter le référentiel des examens ([CD48], [B1], [NK]). Ne pas utiliser ce bon de demande.
CYTOGÉNÉTIQUE ☐ Conventiennelle (caryotype) [MOHC1] ☐ Moléculaire (FISH) [MOHC2] - Préciser : ☐ Sang : (1 tube hépariné) ☐ Moelle : (1 tube hépariné) ☐ Ganglion	
BILOGIE MOLÉCULAIRE ☐ BCR-ABL Qualitatif (diagnostic) [BCR] ☐ BCR-ABL Quantitatif (suivi) [BCRQ] ☐ Mutation domaine tyrosine kinase ABL (résistance /TK) [ABLR] ☐ JAK2 V617F (RT-PCR) [JAK2] ☐ Panel NGS "Néoplasie Myéloproliférative (NMP) - Diagnostic" [MYSDG] (JAK2, CALR, MPL, CSF3R, SETBP1, SRSF2, SF3B1) ☐ Panel NGS "Néoplasie Myéloproliférative (NMP) - Diagnostic/ Pronostic" [MYSDP] (ASXL1/CALR/CBL/CSF3R/DNMT3A/EZH2/FLT3/IDH1/IDH2/JAK2/KIT/KRAS/MPL/NPM1/NRAS/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/ZRSR2) ☐ Panel NGS "LMC" [MYSMO] (ASXL1/CBL/DNMT3A/EZH2/FLT3/IDH1/IDH2/JAK2/KIT/KRAS/MPL/NPM1/NRAS/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/ZRSR2) ☐ Panel NGS "SMD" [MYSMD] (ASXL1/BRAF/CALR/CBL/CEBPA/CSF3R/DNMT3A/ETV6/EZH2/FLT3/HRAS/IDH1/IDH2/JAK2/KIT/KRAS/MPL/NPM1/NRAS/PTPN11/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/WT1/ZRSR2) ☐ Panel NGS "LAM" [MYSLA] (ASXL1/BRAF/CALR/CBL/CEBPA/CSF3R/DNMT3A/ETV6/EZH2/FLT3/HRAS/IDH1/IDH2/JAK2/KIT/KRAS/MPL/NPM1/NRAS/PTPN11/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/WT1/ZRSR2)	☐ TP53 (NGS) [MYS53] ☐ IG-VH (NGS) [IGVH] ☐ BRAF (NGS) [MYSBR] ☐ CKIT (NGS) [MYSKT] ☐ Clonalité B [CLONB] ☐ Clonalité T [CLONT] ☐ MYD88 [MYD88] ☐ CXCR4 [CXCR4] ☐ Autre : Date de prélèvement :

1/2

08 - Mars 2022

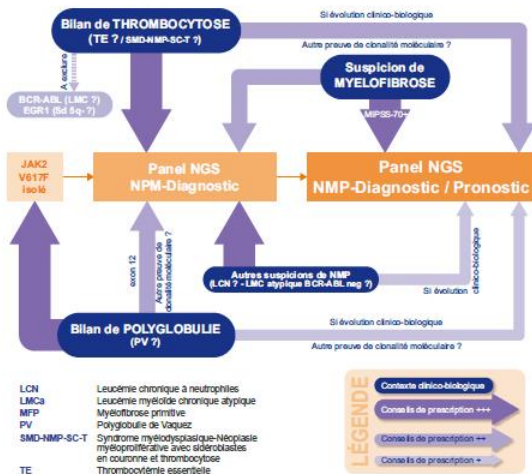
- ☐ **Panel NGS "Néoplasie Myéloproliférative (NMP) - Diagnostic" [MYSDG]** (JAK2, CALR, MPL, CSF3R, SETBP1, SRSF2, SF3B1)
- ☐ **Panel NGS "Néoplasie Myéloproliférative (NMP) - Diagnostic/ Pronostic" [MYSDP]** (ASXL1/CALR/CBL/CSF3R/DNMT3A/EZH2/FLT3/IDH1/IDH2/JAK2/KIT/KRAS/MPL/NPM1/NRAS/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/ZRSR2)
- ☐ **Panel NGS "LMC" [MYSMO]** (ASXL1/CBL/DNMT3A/EZH2/FLT3/IDH1/IDH2/JAK2/KRAS/NPM1/NRAS/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/ZRSR2)
- ☐ **Panel NGS "SMD" [MYSMD]** (ASXL1/BRAF/CALR/CBL/CEBPA/CSF3R/DNMT3A/ETV6/EZH2/FLT3/HRAS/IDH1/IDH2/JAK2/KIT/KRAS/MPL/NPM1/NRAS/PTPN11/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/WT1/ZRSR2)
- ☐ **Panel NGS "LAM" [MYSLA]** (ASXL1/BRAF/CALR/CBL/CEBPA/CSF3R/DNMT3A/ETV6/EZH2/FLT3/HRAS/IDH1/IDH2/JAK2/KIT/KRAS/MPL/NPM1/NRAS/PTPN11/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/WT1/ZRSR2)

Fiches produits



Néoplasies Myéloprolifératives (NMP)

Conseils de prescription devant une suspicion de NMP ou un suivi de NMP



1/5



Leucémie myélomonozytaire chronique (LMMC)

Le panel NGS "LMMC" consiste en une analyse de 19 gènes : ASXL1/CBL/DNMT3A/EZH2/FLT3/IDH1/IDH2/JAK2/KRAS/NPM1/NRAS/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/ZRSR2

Il présente un triple intérêt diagnostique, pronostique et thérapeutique.

- Selon l'OMS 2017, l'analyse des gènes TET2, SRSF2, ASXL1 et SETBP1 peut participer au diagnostic de LMMC (critère 5 de l'OMS 2017 en association avec les critères 1 à 4), en particulier en l'absence de données cytogénétiques contributives. L'association des mutations TET2/SRSF2 est très évocatrice d'une LMMC.
- Ce panel apporte également une aide pronostique et une aide au choix thérapeutique. Selon les nouvelles recommandations ELN 2018, un panel minimum de 4 gènes est obligatoire (ASXL1, NRAS, RUNX1, SETBP1) pour une décision d'allogreffe et un panel de 20 gènes est recommandé pour toute décision thérapeutique. L'impact thérapeutique est également abordé avec ce panel (cibles thérapeutiques IDH1, IDH2, NPM1 et FLT3).

NB : les gènes BCOR et NF1 ne sont pas inclus dans le panel proposé et le gène TP53 a été ajouté par rapport aux recommandations ELN 2018.

Remarque : la recherche d'un transcrite de fusion BCR-ABL, des réarrangements de PDGFRA, PDGFRB, FGFR1 ou du transcrite de fusion PCM1-JAK2 ne peut pas être réalisée par cette analyse NGS (analyse d'ADNG). Des techniques complémentaires sont proposées au laboratoire Eurofins biomnis pour ces 5 réarrangements géniques.

Pour rappel, les données d'hématologie cellulaire, histologiques (BOM), de cytogénétique et de biologie moléculaire doivent être confrontées pour un diagnostic et/ou un pronostic d'hémopathie maligne.

1/3



Syndromes Myélodysplasiques (SMD)

Le panel NGS "SMD" consiste en une analyse de 29 gènes : ASXL1/BRAF/CALR/CBL/CEBPA/CSF3R/DNMT3A/ETV6/EZH2/FLT3/HRAS/IDH1/IDH2/JAK2/KIT/KRAS/MPL/NPM1/NRAS/PTPN11/RUNX1/SETBP1/SF3B1/SRSF2/TET2/TP53/U2AF1/WT1/ZRSR2

Il présente un triple intérêt diagnostique, pronostique et thérapeutique.

- L'intérêt pronostique est prédominant car il permet de définir des facteurs moléculaires de pronostic défavorable (mutations TP53, EZH2, ETV6, RUNX1, ASXL1) ou favorable (mutation SF3B1) permettant de guider la stratégie thérapeutique. Il peut apporter une aide pour la prédiction d'une réponse thérapeutique (ex : pour l'efficacité des agents hypométhylants : impact positif d'une mutation TET2, impact négatif en cas de mutation ASXL1 ou de non mutation TET2 ou DNMT3A, pour une réponse à l'EPO : impact positif d'une mutation SF3B1, impact négatif d'une mutation TP53, dans le cadre d'un syndrome 5q- traité par lénalidomide : impact négatif d'une mutation TP53).
- L'impact thérapeutique peut être également abordé avec ce panel (cibles thérapeutiques IDH1, IDH2, SF3B1...).
- A ce jour, l'aide diagnostique du panel NGS "SMD" est limitée au contexte de suspicion clinique de myélodysplasie sans cytologie médullaire évocatrice (myélogramme sans signe de dysmyéopoïèse) et sans présence d'anomalie clonale en cytogénétique évocatrice d'un SMD (caryotype sans anomalie chromosomique clonale). Les 2 seules exceptions à cette règle sont l'entité "néoplasie myélodysplasique/myéloproliférative avec sidéroblastes en couronne et thrombocytopénie" dans laquelle un des critères OMS 2017 est la présence d'une mutation SF3B1 et l'entité "SMD avec sidéroblastes en couronne - SF3B1 muté" pour laquelle ce diagnostic peut être posé à partir de 5% de sidéroblastes médullaires (et non 15%).

NB : les gènes BCOR et STAG2 ne sont pas inclus dans le panel proposé.

Le panel NGS "SMD" permet donc une analyse exhaustive de mutations somatiques "driver" (il n'est pas adapté pour la recherche de mutations germinales).

Pour rappel, les données d'hématologie cellulaire, histologiques (BOM), de cytogénétique et de biologie moléculaire doivent être confrontées pour un diagnostic et/ou un pronostic d'hémopathie maligne.

1/3

Activité nationale NGS-Hémopathies malignes au laboratoire

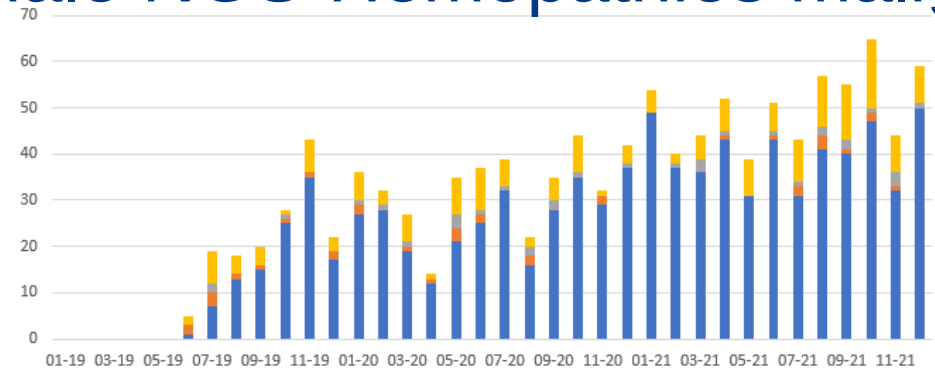
NMP Diagnostic

NMP Pronostic

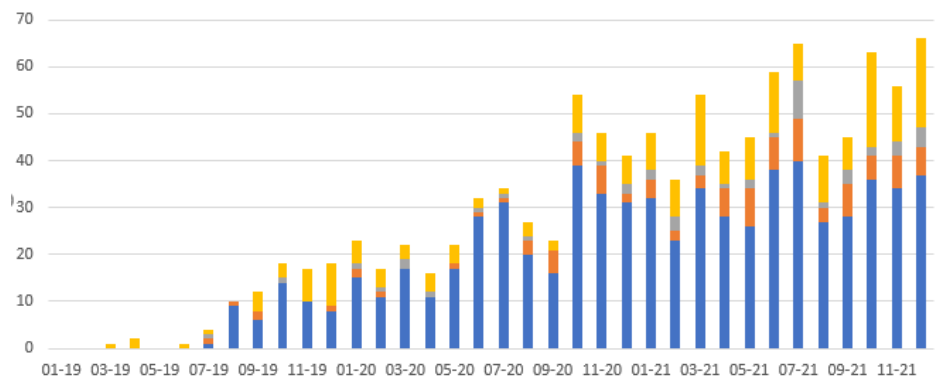
SMD LMMC

LAM

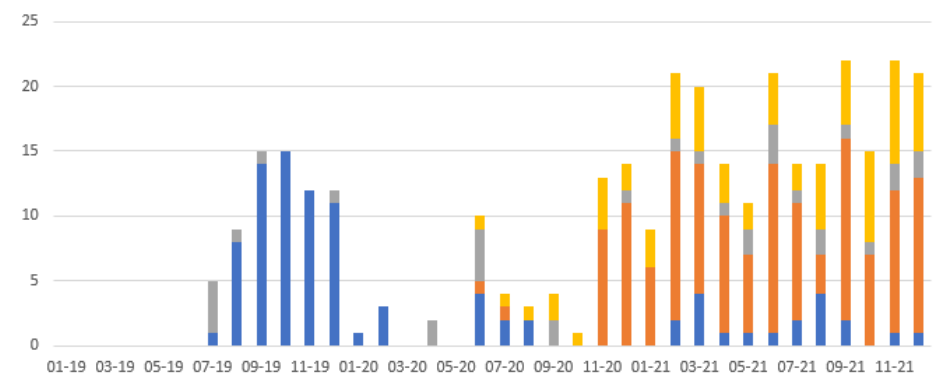
CLINIQUES
PRIVEES



CHG / CHR



CHU



Place du NGS dans la prise en charge des NMP/SMD

Innovation santé 2030

Faire de la France
la 1^{re} nation européenne
innovante et souveraine
en santé

2021 – Conseil stratégique
des industries de santé (CSIS)



Place du NGS dans la prise en charge des NMP/SMD

Innovation santé 2030

Faire de la France
la 1^{re} nation européenne
innovante et souveraine
en santé

2021 – Conseil stratégique
des industries de santé (CSIS)

Evaluation de la HAS des actes inscrits au **RIHN** (Référentiel des actes innovants hors nomenclature)

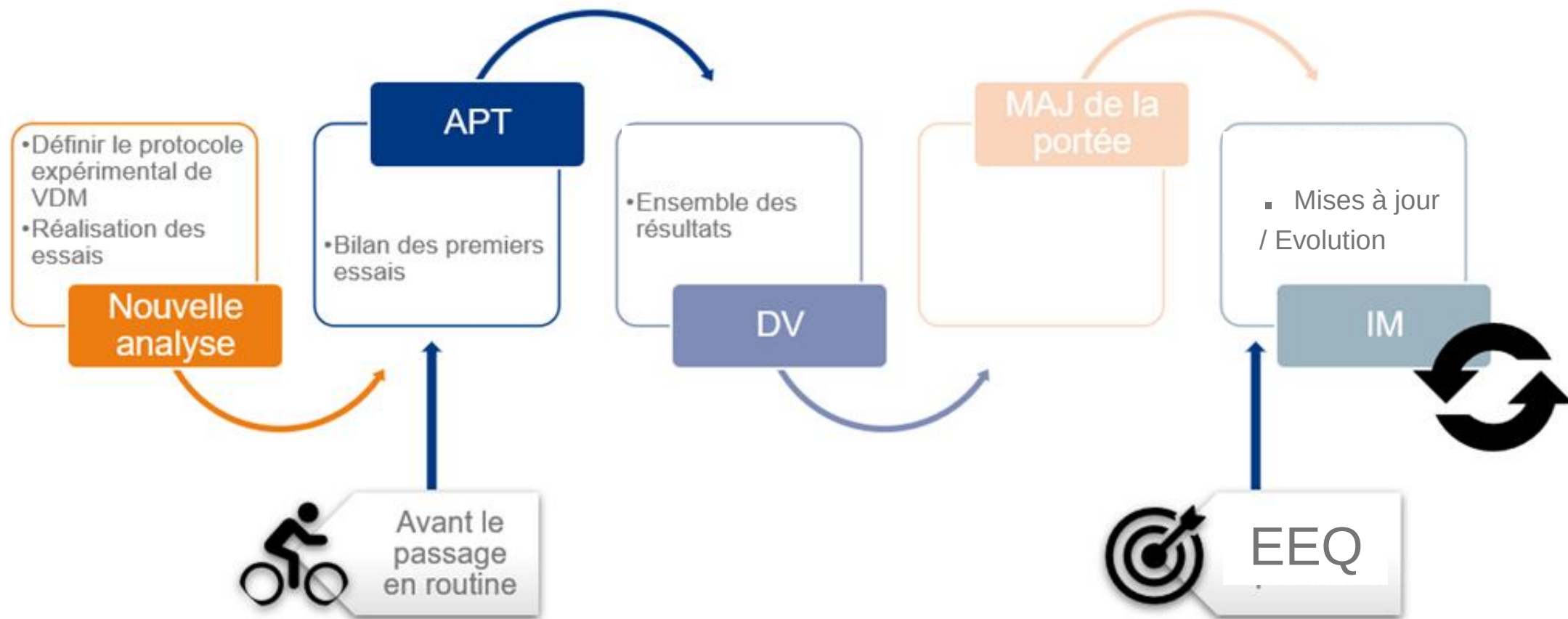
- A l'exception du BCR-ABL (08/04/21 - B460), **aucun acte de biologie moléculaire somatique n'est inscrit à la NABM**
- **Pourtant ces actes sont DIAGNOSTIQUE / PRONOSTIQUE / THERANOSTIQUE**
- En pratique : utilisation du RIHN ou HN pour la cotation de ces actes :

N452	Forfait séquençage haut débit (NGS) < 20 kb	882,90 €	Selon indications fixées par l'INCa et la DGOS
N453	Forfait séquençage haut débit (NGS) > 20 kb et < 100 kb	1 503,90 €	Selon indications fixées par l'INCa et la DGOS

Assurance Qualité : process d'accréditation du NGS



Assurance Qualité : process d'accréditation du NGS



02/2019



28/03/2019



02/07/2019

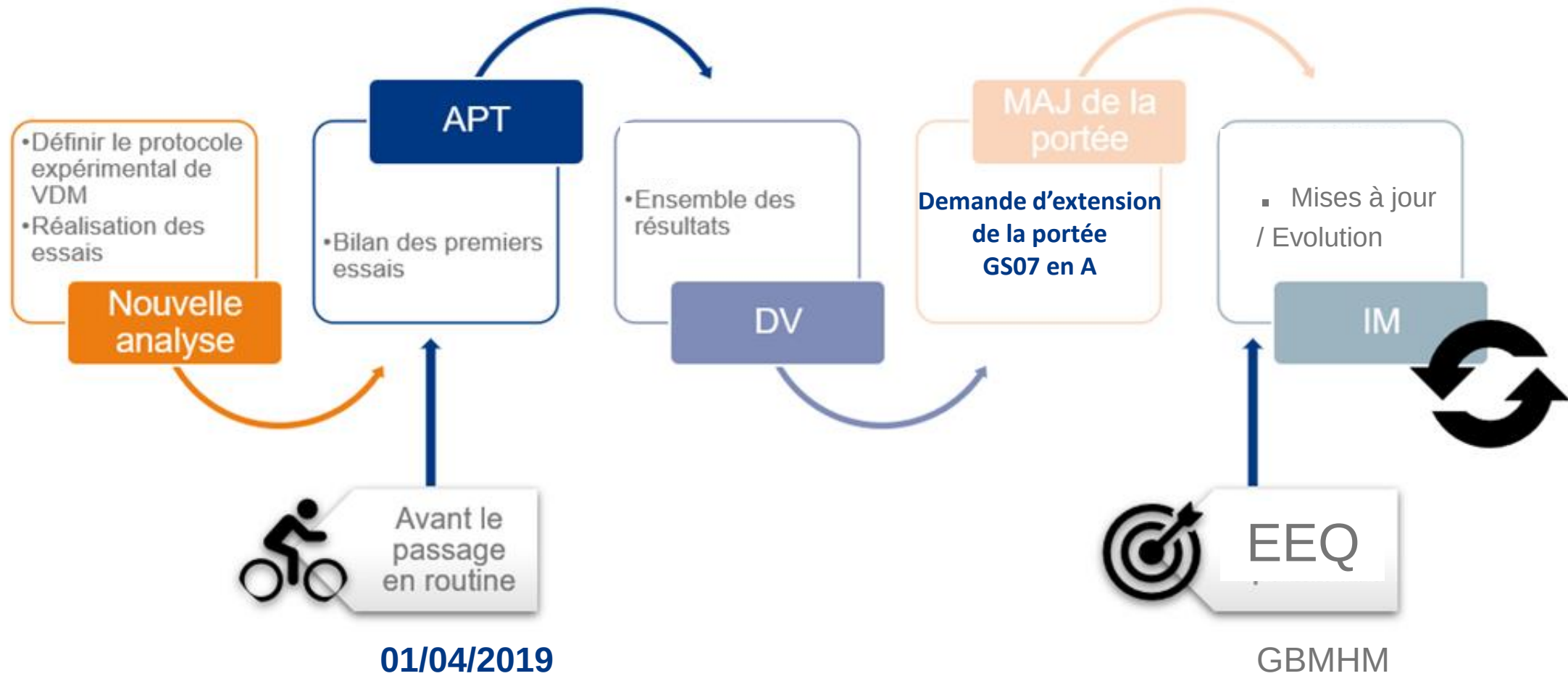


07/2019

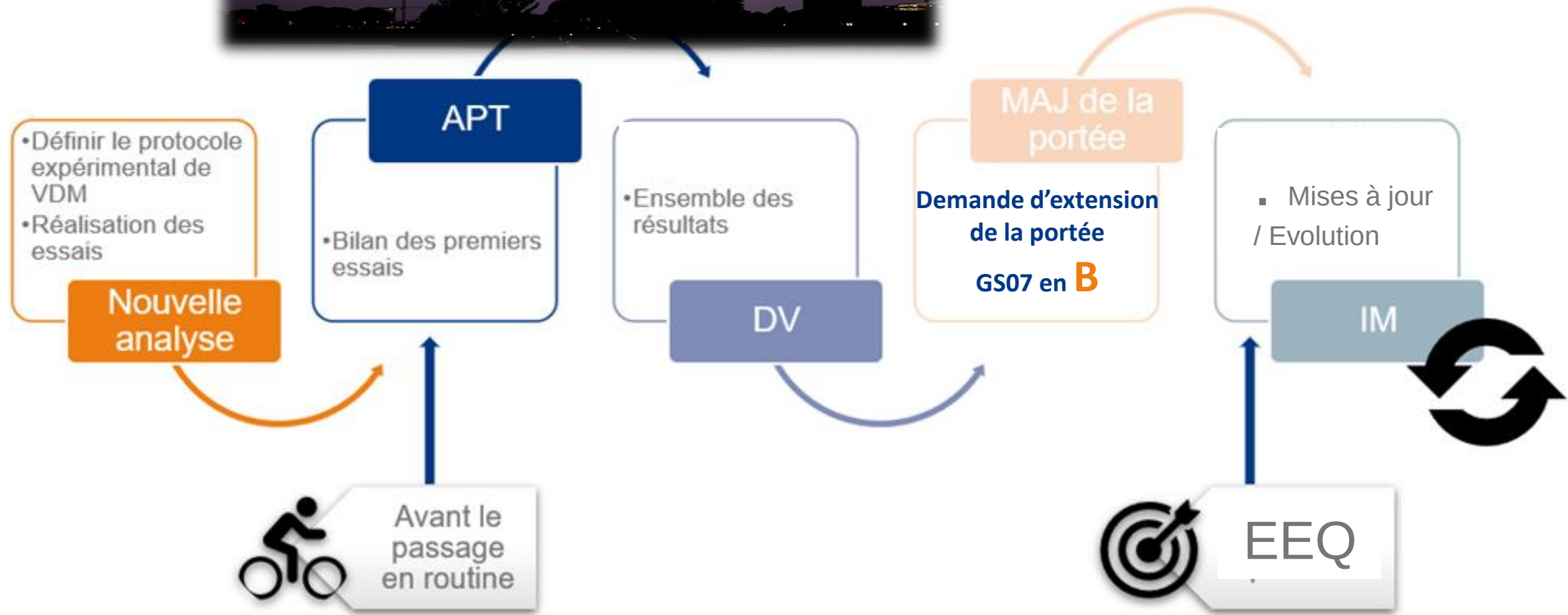


14/10/2020
Avenant 1

→ Ajout d'un thermocycleur Verity



19/04/2021





Avenant 2





26/04/2021
Envoi
COFRAC

DV
et
doc
BIO-
INFORMATIQUES



11/05/2021
Rapport d'expertise
du COFRAC

Avis partiellement satisfaisant

→ **DV** : *commentaires mineurs*
(limites de détection, interférence, contamination,
évaluation des performance)

→ **BIOINFORMATIQUE** :

? architecture informatique et du flux de données
? caractéristiques des serveurs d'espace de stockage
? maîtrise de l'intégrité des données lors des transferts
entre les séquenceurs, le PC et le serveur de stockage
? procédures d'archivage des données (intégrité) sur le
serveur de stockage
? intégrité des fichiers
? maîtrise du risque en cas de corruption ou de perte des
données archivées.



03 et 04/06/2021
Visite COFRAC

1 écart non
critique bioinformatique

→ risque de perte et de
corruption des données de
séquençage, de défaillance
ou de pannes des systèmes
d'information qui affectent
la capacité du laboratoire à
fournir une prestation.



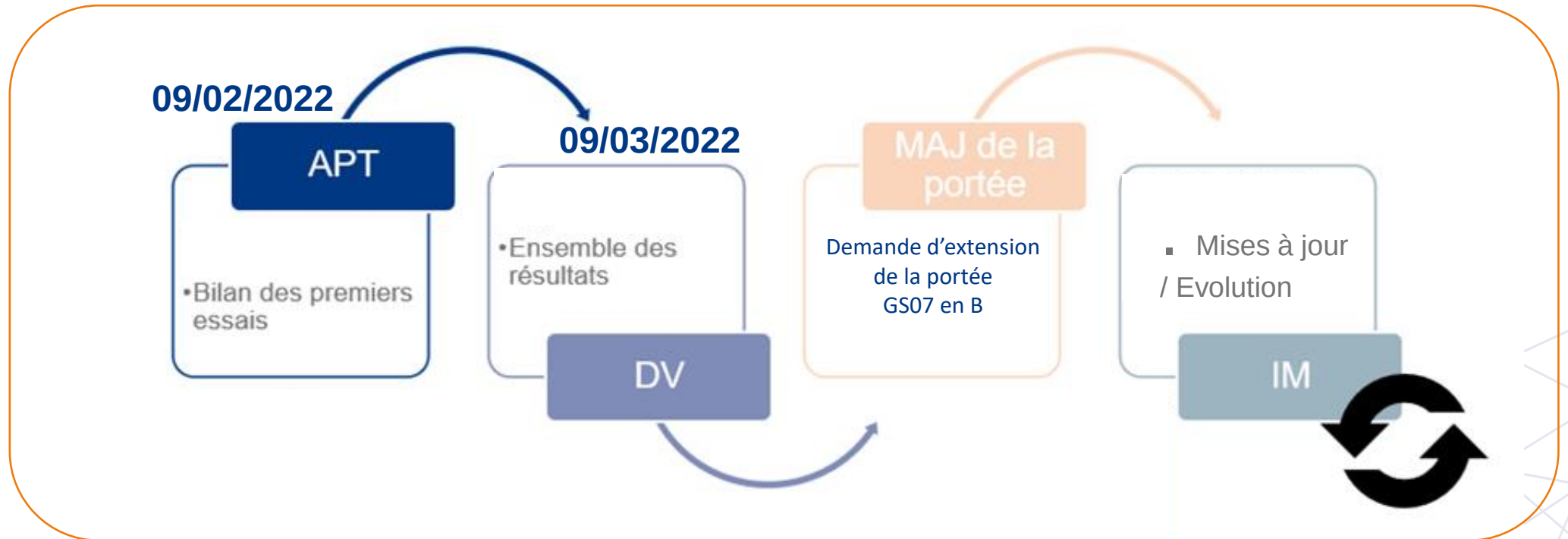
02/12/2021
Envoi
COFRAC

Dossier de
qualification du
pipeline utilisé
par SG pour
panel MYS
(avec architecture
informatique, flux de
données, maîtrise des
risques....)

13/01/2022
Accréditation
analyse NGS

Extension
GS07B
cofrac





2022

« **MYS V2** »

- Changement de kit de **librairie**
- **Automatisation** (Hamilton)
- **Subsampling** 24 → 36 échantillons

V. Geromé (1) ; P. Mouty (1) ; C. Chal (1) ; J. Delaunay (2) ; S. Sadoi-Lebouvier (2) ; R. Kaphan (3) ; B. Rostignol (4) ; K. LeDô (5) ; J. Vigviri (6) ; J.P. Coadic (7) ; E.A. Marin-LaMasse (7) ; R. Bouteau (8) ; O. Rouleau (1) ; C. Bourdin (1) ; A. Petit (1) ; M. Roumiguères (1) ; L. Raymond (1) ; B. Quilichini (1)

(1) Département hématologie cellulaire/myélogéniétique, Eurofins Biomnis, Lyon; (2) Service d'hématologie clinique, L'Hôpital Privé du Croissant, Nantes; (3) Médecine interne-oncologie, CH Caen, Caen; (4) Hématologie clinique, C.H. de la Gironde, Dordogne; (5) Hématologie, Centre Jean Bernard Le Mans, Le Mans; (6) Médecine interne, CH - Sclère en Sclérose, Sclère en Sclérose; (7) Laboratoire Biologie, Nantes; (8) Laboratoire Biologie, Le Mans

Objectif

Les données d'hématologie clinique, histologiques, de cytogénétique et de biologie moléculaire sont indispensables au clinicien pour poser un diagnostic d'hémopathie maligne et évaluer son pronostic. L'interaction collaborative entre ces disciplines est un élément clé du diagnostic. La technique NGS contribue à améliorer la prise en charge diagnostique, pronostique et théranostique des hémopathies malignes.



Nous proposons au laboratoire des panels de gènes NGS ciblés pour les hémopathies malignes: Néoplasmes myéloprolifératives (NMP/MP/ML), Néoplasmes myélodysplasiques/myéloprolifératives (NMP/MD), LMC atypique (BCR-ABL, négatif, RARS-T), Syndromes myélodysplasiques (SMD) et Leucémie aiguë myéloïde (LAM).

Ces panels ont été élaborés à partir des données de la nouvelle classification OMS 2017 des tumeurs des tissus hématopoïétiques et lymphoïdes.

Patients

Depuis 2019, plus de 500 analyses NGS ont été effectuées en routine dans notre laboratoire. Pour chaque cas de suspicion d'hémopathie maligne, nous disposons des données cliniques, cytologiques et cytogénétiques. Pour cette étude, nous avons sélectionné plus de 40 cas.

Méthode

Contrairement aux approches séquentielles traditionnelles, le séquençage haut débit (NGS) est une méthode de diagnostic moléculaire qui permet d'étudier plusieurs gènes en une seule technique. Les panels NGS ont été réalisés avec un kit commercial permettant l'analyse de 30 gènes (Myeloid solution™ par SOPHIA GENETICS).



LMC ATYPIQUE

Cas 1

LMC atypique ▶ mutations SETBP1 / SRSF2

[♂ 61 ans – GB ↑ PNN + myélémie. Myélo: dysgranulopoïèse isolée. Absence de fusion BCR-ABL and JAK2/CALR/MPL et PDGFR/AB / FGFR1 négatifs]

Valeur DIAGNOSTIQUE SETBP1

RARS-T

Cas 16 NMP/SMD inclassable ▶ mutations SF3B1 / JAK2 / DNMT3A / TET2 / CBL

[♀ 71 ans – Anémie / Thrombocytose. Myélogramme : dysmyélopoïèse et sidéroblastes en couronne – Caryotype normal]

Valeur DIAGNOSTIQUE SF3B1

LMC

Cas 4 LMMC ▶ mutations SRSF2 / ASXL1 / JAK2

[♂ 79 ans – LMMC connue – Evolution ? Moelle : LMMC II – Caryotype normal]

Cas 20 LMMC ▶ mutations ASXL1 / NRAS / ZRSR2 / TET2 / KRAS

[♂ 76 ans – LMMC connue – Caryotype normal]

Pronostic défavorable de ASXL1/NRAS/RUNX1/SETBP1

SMD

VALEUR PRONOSTIQUE

Cas 8 et 9 SMD ▶ mutations ASXL1 / U2AF1
Cas 14 SMD ▶ mutations ASXL1 / TET2 / RUNX1

Cas 18 SMD ▶ mutations U2AF1
Cas 19 SMD ▶ mutations ASXL1 / SRSF2

[♂ 74 ans – SMD – Caryotype normal]
[♀ 72 ans – SMD – Myélogramme non contributif – Caryotype = del(20q)]
[♀ 64 ans – SMD – Caryotype normal]
[♂ 78 ans – SMD – Caryotype = del(20q)]
[♂ 62 ans – SMD – Caryotype normal]

Valeur pronostique défavorable de ASXL1/TP53/EZH2/ETV6/RUNX1/U2AF1

VALEUR THÉRAPEUTIQUE

Cas 19 [♂ 64 ans]
LAM post PV ▶ mutations JAK2 / DNMT3A / IDH2
Cas 22 [♂ 81 ans]
LAM post TE ▶ mutations JAK2 / IDH1 / DNMT3A / RUNX1 / ETV6
Cas 23 [♂ 81 ans]
LAM post SMD ▶ mutations NPM1 / FLT3 / IDH1 / NRAS / DNMT3A / WT1
Cibles thérapeutiques
FLT3 - IDH2

CHIP

SIGNIFICATION DES "CHIP" ?
(Hématopoïèse clonale de signification indéterminée)

Cytogénétique ▶ mutation DNMT3A : valeur pronostique ?

Cas 13 [♂ 80 ans] / **Cas 24** [♂ 87 ans] / **Cas 25** [♂ 75 ans]

Cytogénétique : l'absence de données précises dans la littérature

DNMT3A : fréquence très élevée (50%)

La démarche diagnostique hématologique doit être complétée par l'analyse de la mutation DNMT3A

Evolution vers une hémopathie maligne 0.5 à 1% / an : intérêt clinique ?

DOUBLES MUTATIONS JAK2/CALR ET JAK2/MPL

ANNEE 2019 : 8 CAS DE PATIENTS "DOUBLE HIT"

Absence de données précises dans la littérature sur les valeurs diagnostiques et pronostiques

probablement sous-estimées en raison de l'approche séquentielle des mutations

JAK2 / CALR / MPL chez les patients suspects de NMP

ANNEE 2019 : 8 CAS

L'analyse des CNV, possible en NGS, est

utile pour la caractérisation des hémopathies malignes et permet de conclure sur l'origine des mutations

une approche interdisciplinaire impliquant cliniciens et biologistes moléculaires est la clé pour une bonne interprétation du résultat NGS.

► Origine constitutionnelle versus origine somatique ?

► Bases de données ?

Une approche interdisciplinaire impliquant cliniciens et biologistes moléculaires est la clé pour une bonne interprétation du résultat NGS.

Cependant, la classification actuelle de l'OMS pour ces hémopathies malignes sera certainement redéfinie par une approche moléculaire plus exhaustive basée sur les récentes contributions des résultats de la technique NGS.

L'interprétation des résultats issus du séquençage haut débit (NGS) dans les hémopathies malignes reste délicate :

- Nombre élevé de variants rapportés dans la littérature
- Identification de nouveaux variants non décrits
- Valeur clinique du pourcentage de la VAF d'une mutation donnée ?

Conclusion

En matière de prise en charge diagnostique dans les hémopathies myéloïdes chroniques, la dernière classification de l'OMS n'inclut que les mutations des gènes JAK2, CALR, MPL, CFS3R et SF3B1 en critères diagnostiques stricts.

Cependant, la classification actuelle de l'OMS pour ces hémopathies malignes sera certainement redéfinie par une approche moléculaire plus exhaustive basée sur les récentes contributions des résultats de la technique NGS.

NGS

NOUVELLE ÈRE DIAGNOSTIQUE, PRONOSTIQUE, THÉRAPEUTIQUE

Ben-Hellou et al. WMO 2017 | Bacher et al. 2018 | Davies et al. 2019 | Döhner et al. 2017 | Döhner et al. 2018 | Döhner et al. 2019 | Döhner et al. 2020 | Döhner et al. 2021 | Döhner et al. 2022 | Döhner et al. 2023 | Döhner et al. 2024 | Döhner et al. 2025 | Döhner et al. 2026 | Döhner et al. 2027 | Döhner et al. 2028 | Döhner et al. 2029 | Döhner et al. 2030 | Döhner et al. 2031 | Döhner et al. 2032 | Döhner et al. 2033 | Döhner et al. 2034 | Döhner et al. 2035 | Döhner et al. 2036 | Döhner et al. 2037 | Döhner et al. 2038 | Döhner et al. 2039 | Döhner et al. 2040 | Döhner et al. 2041 | Döhner et al. 2042 | Döhner et al. 2043 | Döhner et al. 2044 | Döhner et al. 2045 | Döhner et al. 2046 | Döhner et al. 2047 | Döhner et al. 2048 | Döhner et al. 2049 | Döhner et al. 2050 | Döhner et al. 2051 | Döhner et al. 2052 | Döhner et al. 2053 | Döhner et al. 2054 | Döhner et al. 2055 | Döhner et al. 2056 | Döhner et al. 2057 | Döhner et al. 2058 | Döhner et al. 2059 | Döhner et al. 2060 | Döhner et al. 2061 | Döhner et al. 2062 | Döhner et al. 2063 | Döhner et al. 2064 | Döhner et al. 2065 | Döhner et al. 2066 | Döhner et al. 2067 | Döhner et al. 2068 | Döhner et al. 2069 | Döhner et al. 2070 | Döhner et al. 2071 | Döhner et al. 2072 | Döhner et al. 2073 | Döhner et al. 2074 | Döhner et al. 2075 | Döhner et al. 2076 | Döhner et al. 2077 | Döhner et al. 2078 | Döhner et al. 2079 | Döhner et al. 2080 | Döhner et al. 2081 | Döhner et al. 2082 | Döhner et al. 2083 | Döhner et al. 2084 | Döhner et al. 2085 | Döhner et al. 2086 | Döhner et al. 2087 | Döhner et al. 2088 | Döhner et al. 2089 | Döhner et al. 2090 | Döhner et al. 2091 | Döhner et al. 2092 | Döhner et al. 2093 | Döhner et al. 2094 | Döhner et al. 2095 | Döhner et al. 2096 | Döhner et al. 2097 | Döhner et al. 2098 | Döhner et al. 2099 | Döhner et al. 2100 | Döhner et al. 2101 | Döhner et al. 2102 | Döhner et al. 2103 | Döhner et al. 2104 | Döhner et al. 2105 | Döhner et al. 2106 | Döhner et al. 2107 | Döhner et al. 2108 | Döhner et al. 2109 | Döhner et al. 2110 | Döhner et al. 2111 | Döhner et al. 2112 | Döhner et al. 2113 | Döhner et al. 2114 | Döhner et al. 2115 | Döhner et al. 2116 | Döhner et al. 2117 | Döhner et al. 2118 | Döhner et al. 2119 | Döhner et al. 2120 | Döhner et al. 2121 | Döhner et al. 2122 | Döhner et al. 2123 | Döhner et al. 2124 | Döhner et al. 2125 | Döhner et al. 2126 | Döhner et al. 2127 | Döhner et al. 2128 | Döhner et al. 2129 | Döhner et al. 2130 | Döhner et al. 2131 | Döhner et al. 2132 | Döhner et al. 2133 | Döhner et al. 2134 | Döhner et al. 2135 | Döhner et al. 2136 | Döhner et al. 2137 | Döhner et al. 2138 | Döhner et al. 2139 | Döhner et al. 2140 | Döhner et al. 2141 | Döhner et al. 2142 | Döhner et al. 2143 | Döhner et al. 2144 | Döhner et al. 2145 | Döhner et al. 2146 | Döhner et al. 2147 | Döhner et al. 2148 | Döhner et al. 2149 | Döhner et al. 2150 | Döhner et al. 2151 | Döhner et al. 2152 | Döhner et al. 2153 | Döhner et al. 2154 | Döhner et al. 2155 | Döhner et al. 2156 | Döhner et al. 2157 | Döhner et al. 2158 | Döhner et al. 2159 | Döhner et al. 2160 | Döhner et al. 2161 | Döhner et al. 2162 | Döhner et al. 2163 | Döhner et al. 2164 | Döhner et al. 2165 | Döhner et al. 2166 | Döhner et al. 2167 | Döhner et al. 2168 | Döhner et al. 2169 | Döhner et al. 2170 | Döhner et al. 2171 | Döhner et al. 2172 | Döhner et al. 2173 | Döhner et al. 2174 | Döhner et al. 2175 | Döhner et al. 2176 | Döhner et al. 2177 | Döhner et al. 2178 | Döhner et al. 2179 | Döhner et al. 2180 | Döhner et al. 2181 | Döhner et al. 2182 | Döhner et al. 2183 | Döhner et al. 2184 | Döhner et al. 2185 | Döhner et al. 2186 | Döhner et al. 2187 | Döhner et al. 2188 | Döhner et al. 2189 | Döhner et al. 2190 | Döhner et al. 2191 | Döhner et al. 2192 | Döhner et al. 2193 | Döhner et al. 2194 | Döhner et al. 2195 | Döhner et al. 2196 | Döhner et al. 2197 | Döhner et al. 2198 | Döhner et al. 2199 | Döhner et al. 2200 | Döhner et al. 2201 | Döhner et al. 2202 | Döhner et al. 2203 | Döhner et al. 2204 | Döhner et al. 2205 | Döhner et al. 2206 | Döhner et al. 2207 | Döhner et al. 2208 | Döhner et al. 2209 | Döhner et al. 2210 | Döhner et al. 2211 | Döhner et al. 2212 | Döhner et al. 2213 | Döhner et al. 2214 | Döhner et al. 2215 | Döhner et al. 2216 | Döhner et al. 2217 | Döhner et al. 2218 | Döhner et al. 2219 | Döhner et al. 2220 | Döhner et al. 2221 | Döhner et al. 2222 | Döhner et al. 2223 | Döhner et al. 2224 | Döhner et al. 2225 | Döhner et al. 2226 | Döhner et al. 2227 | Döhner et al. 2228 | Döhner et al. 2229 | Döhner et al. 2230 | Döhner et al. 2231 | Döhner et al. 2232 | Döhner et al. 2233 | Döhner et al. 2234 | Döhner et al. 2235 | Döhner et al. 2236 | Döhner et al. 2237 | Döhner et al. 2238 | Döhner et al. 2239 | Döhner et al. 2240 | Döhner et al. 2241 | Döhner et al. 2242 | Döhner et al. 2243 | Döhner et al. 2244 | Döhner et al. 2245 | Döhner et al. 2246 | Döhner et al. 2247 | Döhner et al. 2248 | Döhner et al. 2249 | Döhner et al. 2250 | Döhner et al. 2251 | Döhner et al. 2252 | Döhner et al. 2253 | Döhner et al. 2254 | Döhner et al. 2255 | Döhner et al. 2256 | Döhner et al. 2257 | Döhner et al. 2258 | Döhner et al. 2259 | Döhner et al. 2260 | Döhner et al. 2261 | Döhner et al. 2262 | Döhner et al. 2263 | Döhner et al. 2264 | Döhner et al. 2265 | Döhner et al. 2266 | Döhner et al. 2267 | Döhner et al. 2268 | Döhner et al. 2269 | Döhner et al. 2270 | Döhner et al. 2271 | Döhner et al. 2272 | Döhner et al. 2273 | Döhner et al. 2274 | Döhner et al. 2275 | Döhner et al. 2276 | Döhner et al. 2277 | Döhner et al. 2278 | Döhner et al. 2279 | Döhner et al. 2280 | Döhner et al. 2281 | Döhner et al. 2282 | Döhner et al. 2283 | Döhner et al. 2284 | Döhner et al. 2285 | Döhner et al. 2286 | Döhner et al. 2287 | Döhner et al. 2288 | Döhner et al. 2289 | Döhner et al. 2290 | Döhner et al. 2291 | Döhner et al. 2292 | Döhner et al. 2293 | Döhner et al. 2294 | Döhner et al. 2295 | Döhner et al. 2296 | Döhner et al. 2297 | Döhner et al. 2298 | Döhner et al. 2299 | Döhner et al. 2300 | Döhner et al. 2301 | Döhner et al. 2302 | Döhner et al. 2303 | Döhner et al. 2304 | Döhner et al. 2305 | Döhner et al. 2306 | Döhner et al. 2307 | Döhner et al. 2308 | Döhner et al. 2309 | Döhner et al. 2310 | Döhner et al. 2311 | Döhner et al. 2312 | Döhner et al. 2313 | Döhner et al. 2314 | Döhner et al. 2315 | Döhner et al. 2316 | Döhner et al. 2317 | Döhner et al. 2318 | Döhner et al. 2319 | Döhner et al. 2320 | Döhner et al. 2321 | Döhner et al. 2322 | Döhner et al. 2323 | Döhner et al. 2324 | Döhner et al. 2325 | Döhner et al. 2326 | Döhner et al. 2327 | Döhner et al. 2328 | Döhner et al. 2329 | Döhner et al. 2330 | Döhner et al. 2331 | Döhner et al. 2332 | Döhner et al. 2333 | Döhner et al. 2334 | Döhner et al. 2335 | Döhner et al. 2336 | Döhner et al. 2337 | Döhner et al. 2338 | Döhner et al. 2339 | Döhner et al. 2340 | Döhner et al. 2341 | Döhner et al. 2342 | Döhner et al. 2343 | Döhner et al. 2344 | Döhner et al. 2345 | Döhner et al. 2346 | Döhner et al. 2347 | Döhner et al. 2348 | Döhner et al. 2349 | Döhner et al. 2350 | Döhner et al. 2351 | Döhner et al. 2352 | Döhner et al. 2353 | Döhner et al. 2354 | Döhner et al. 2355 | Döhner et al. 2356 | Döhner et al. 2357 | Döhner et al. 2358 | Döhner et al. 2359 | Döhner et al. 2360 | Döhner et al. 2361 | Döhner et al. 2362 | Döhner et al. 2363 | Döhner et al. 2364 | Döhner et al. 2365 | Döhner et al. 2366 | Döhner et al. 2367 | Döhner et al. 2368 | Döhner et al. 2369 | Döhner et al. 2370 | Döhner et al. 2371 | Döhner et al. 2372 | Döhner et al. 2373 | Döhner et al. 2374 | Döhner et al. 2375 | Döhner et al. 2376 | Döhner et al. 2377 | Döhner et al. 2378 | Döhner et al. 2379 | Döhner et al. 2380 | Döhner et al. 2381 | Döhner et al. 2382 | Döhner et al. 2383 | Döhner et al. 2384 | Döhner et al. 2385 | Döhner et al. 2386 | Döhner et al. 2387 | Döhner et al. 2388 | Döhner et al. 2389 | Döhner et al. 2390 | Döhner et al. 2391 | Döhner et al. 2392 | Döhner et al. 2393 | Döhner et al. 2394 | Döhner et al. 2395 | Döhner et al. 2396 | Döhner et al. 2397 | Döhner et al. 2398 | Döhner et al. 2399 | Döhner et al. 2400 | Döhner et al. 2401 | Döhner et al. 2402 | Döhner et al. 2403 | Döhner et al. 2404 | Döhner et al. 2405 | Döhner et al. 2406 | Döhner et al. 2407 | Döhner et al. 2408 | Döhner et al. 2409 | Döhner et al. 2410 | Döhner et al. 2411 | Döhner et al. 2412 | Döhner et al. 2413 | Döhner et al. 2414 | Döhner et al. 2415 | Döhner et al. 2416 | Döhner et al. 2417 | Döhner et al. 2418 | Döhner et al. 2419 | Döhner et al. 2420 | Döhner et al. 2421 | Döhner et al. 2422 | Döhner et al. 2423 | Döhner et al. 2424 | Döhner et al. 2425 | Döhner et al. 2426 | Döhner et al. 2427 | Döhner et al. 2428 | Döhner et al. 2429 | Döhner et al. 2430 | Döhner et al. 2431 | Döhner et al. 2432 | Döhner et al. 2433 | Döhner et al. 2434 | Döhner et al. 2435 | Döhner et al. 2436 | Döhner et al. 2437 | Döhner et al. 2438 | Döhner et al. 2439 | Döhner et al. 2440 | Döhner et al. 2441 | Döhner et al. 2442 | Döhner et al. 2443 | Döhner et al. 2444 | Döhner et al. 2445 | Döhner et al. 2446 | Döhner et al. 2447 | Döhner et al. 2448 | Döhner et al. 2449 | Döhner et al. 2450 | Döhner et al. 2451 | Döhner et al. 2452 | Döhner et al. 2453 | Döhner et al. 2454 | Döhner et al. 2455 | Döhner et al. 2456 | Döhner et al. 2457 | Döhner et al. 2458 | Döhner et al. 2459 | Döhner et al. 2460 | Döhner et al. 2461 | Döhner et al. 2462 | Döhner et al. 2463 | Döhner et al. 2464 | Döhner et al. 2465 | Döhner et al. 2466 | Döhner et al. 2467 | Döhner et al. 2468 | Döhner et al. 2469 | Döhner et al. 2470 | Döhner et al. 2471 | Döhner et al. 2472 | Döhner et al. 2473 | Döhner et al. 2474 | Döhner et al. 2475 | Döhner et al. 2476 | Döhner et al. 2477 | Döhner et al. 2478 | Döhner et al. 2479 | Döhner et al. 2480 | Döhner et al. 2481 | Döhner et al. 2482 | Döhner et al. 2483 | Döhner et al. 2484 | Döhner et al. 2485 | Döhner et al. 2486 | Döhner et al. 2487 | Döhner et al. 2488 | Döhner et al. 2489 | Döhner et al. 2490 | Döhner et al. 2491 | Döhner et al. 2492 | Döhner et al. 2493 | Döhner et al. 2494 | Döhner et al. 2495 | Döhner et al. 2496 | Döhner et al. 2497 | Döhner et al. 2498 | Döhner et al. 2499 | Döhner et al. 2500 | Döhner et al. 2501 | Döhner et al. 2502 | Döhner et al. 2503 | Döhner et al. 2504 | Döhner et al. 2505 | Döhner et al. 2506 | Döhner et al. 2507 | Döhner et al. 2508 | Döhner et al. 2509 | Döhner et al. 2510 | Döhner et al. 2511 | Döhner et al. 2512 | Döhner et al. 2513 | Döhner et al. 2514 | Döhner et al. 2515 | Döhner et al. 2516 | Döhner et al. 2517 | Döhner et al. 2518 | Döhner et al. 2519 | Döhner et al. 2520 | Döhner et al. 2521 | Döhner et al. 2522 | Döhner et al. 2523 | Döhner et al. 2524 | Döhner et al. 2525 | Döhner et al. 2526 | Döhner et al. 2527 | Döhner et al. 2528 | Döhner et al. 2529 | Döhner et al. 2530 | Döhner et al. 2531 | Döhner et al. 2532 | Döhner et al. 2533 | Döhner et al. 2534 | Döhner et al. 2535 | Döhner et al. 2536 | Döhner et al. 2537 | Döhner et al. 2538 | Döhner et al. 2539 | Döhner et al. 2540 | Döhner et al. 2541 | Döhner et al. 2542 | Döhner et al. 2543 | Döhner et al. 2544 | Döhner et al. 2545 | Döhner et al. 2546 | Döhner et al. 2547 | Döhner et al. 2548 | Döhner et al. 2549 | Döhner et al. 2550 | Döhner et al. 2551 | Döhner et al. 2552 | Döhner et al. 2553 | Döhner et al. 2554 | Döhner et al. 2555 | Döhner et al. 2556 | Döhner et al. 2557 | Döhner et al. 2558 | Döhner et al. 2559 | Döhner et al. 2560 | Döhner et al. 2561 | Döhner et al. 2562 | Döhner et al. 2563 | Döhner et al. 2564 | Döhner et al. 2565 | Döhner et al. 2566 | Döhner et al. 2567 | Döhner et al. 2568 | Döhner et al. 2569 | Döhner et al. 2570 | Döhner et al. 2571 | Döhner et al. 2572 | Döhner et al. 2573 | Döhner et al. 2574 | Döhner et al. 2575 | Döhner et al. 2576 | Döhner et al. 2577 | Döhner et al. 2578 | Döhner et al. 2579 | Döhner et al. 2580 | Döhner et al. 2581 | Döhner et al. 2582 | Döhner et al. 2583 | Döhner et al. 2584 | Döhner et al. 2585 | Döhner et al. 2586 | Döhner et al. 2587 | Döhner et al. 2588 | Döhner et al. 2589 | Döhner et al. 2590 | Döhner et al. 2591 | Döhner et al. 2592 | Döhner et al. 2593 | Döhner et al. 2594 | Döhner et al. 2595 | Döhner et al. 2596 | Döhner et al. 2597 | Döhner et al. 2598 | Döhner et al. 2599 | Döhner et al. 2600 | Döhner et al. 2601 | Döhner et al. 2602 | Döhner et al. 2603 | Döhner et al. 2604 | Döhner et al. 2605 | Döhner et al. 2606 | Döhner et al. 2607 | Döhner et al. 2608 | Döhner et al. 2609 | Döhner et al. 2610 | Döhner et al. 2611 | Döhner et al. 2612 | Döhner et al. 2613 | Döhner et al. 2614 | Döhner et al. 2615 | Döhner et al. 2616 | Döhner et al. 2617 | Döhner et al. 2618 | Döhner et al. 2619 | Döhner et al. 2620 | Döhner et al. 2621 | Döhner et al. 2622 | Döhner et al. 2623 | Döhner et al. 2624 | Döhner et al. 2625 | Döhner et al. 2626 | Döhner et al. 2627 | Döhner et al. 2628 | Döhner et al. 2629 | Döhner et al. 2630 | Döhner et al. 2631 | Döhner et al. 2632 | Döhner et al. 2633 | Döhner et al. 2634 | Döhner et al. 2635 | Döhner et al. 2636 | Döhner et al. 2637 | Döhner et al. 2638 | Döhner et al. 2639 | Döhner et al. 2640 | Döhner et al. 2641 | Döhner et al. 2642 | Döhner et al. 2643 | Döhner et al. 2644 | Döhner et al. 2645 | Döhner et al. 2646 | Döhner et al. 2647 | Döhner et al. 2648 | Döhner et al. 2649 | Döhner et al. 2



BenoitQuilichini@eurofins-biomnis.com