

Leukemie/Lymfoom Immunofenotypering

bespreking najaar 2018

Sectie IMCD

22 November 2018

Zwolle

Woord vooraf:

1. De “minimale panels” zijn leidend in de beoordeling.
2. Pre-analytische fase wordt in MUSE-rapport weergegeven als percentage gerapporteerd.
3. Analytische fase en post-analytisch worden apart weergegeven als aantal punten.
4. Gerapporteerde “niet verplichte” merkers worden wel vermeld in rapport, maar worden niet meegenomen in de score
5. Analytische fase: interpretatie volgens “richtlijnen positiviteit”

6. Bij de beoordeling van de analytische fase geldt als eerste de consensus waarde van de referentielabs. Indien er geen consensus is binnen de referentielabs, dan wordt het gemiddelde bepaald van de groep.
Indien de nomenclatuurcommissie dit nodig vindt kan van deze werkwijze afgeweken worden
7. Beoordeling volgens MUSE richtlijnen
Voldoende binnen 20% 1 punt = groen op rapport
Binnen 8.9% iets beter, 2 punten
Onvoldoende, buiten 20% 0 punten = rood op rapport
8. De uitdagende “specificatie” wordt (nog) niet beoordeeld

Sample: 2018-3

1. Klinische gegevens:

Een 77-jarige man wordt door de huisarts naar de internist doorverwezen vanwege koorts en dyspnoe.

2. Labgegevens:

Hb 6.0

Leuko $53.8 \times 10^9/L$

Trombo $75 \times 10^{12}/L$

Neutro 5%

Lymfo 11%

Blasten 84%

3. Vraagstelling:

Immuunfenotypering blasten

4. Vers bloed sample

“Consensus” NomenclatuurCommissie

CONCLUSIE	AML	AML	AML	AML	AML	AML
Specificatie						

Minimaal panel:

AML

A. Samenstelling

								mean referentielabs	mean groep
T-lymfocyten	18	16	19	11	20	16		18	20
B-lymfocyten	3.2	2	3	2	4	1		3	3
NK-lymfocyten	1.3	2	1	1	2	3		2	2
Myeloid	9.4	10	8	4	9	17		11	9
Monocytair	13.6	11	7	7	11	7		10	8
Afwijkende populatie	50.6	55	60	45	52	55		55	55

2 punten

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 8.9\%$

1 punt

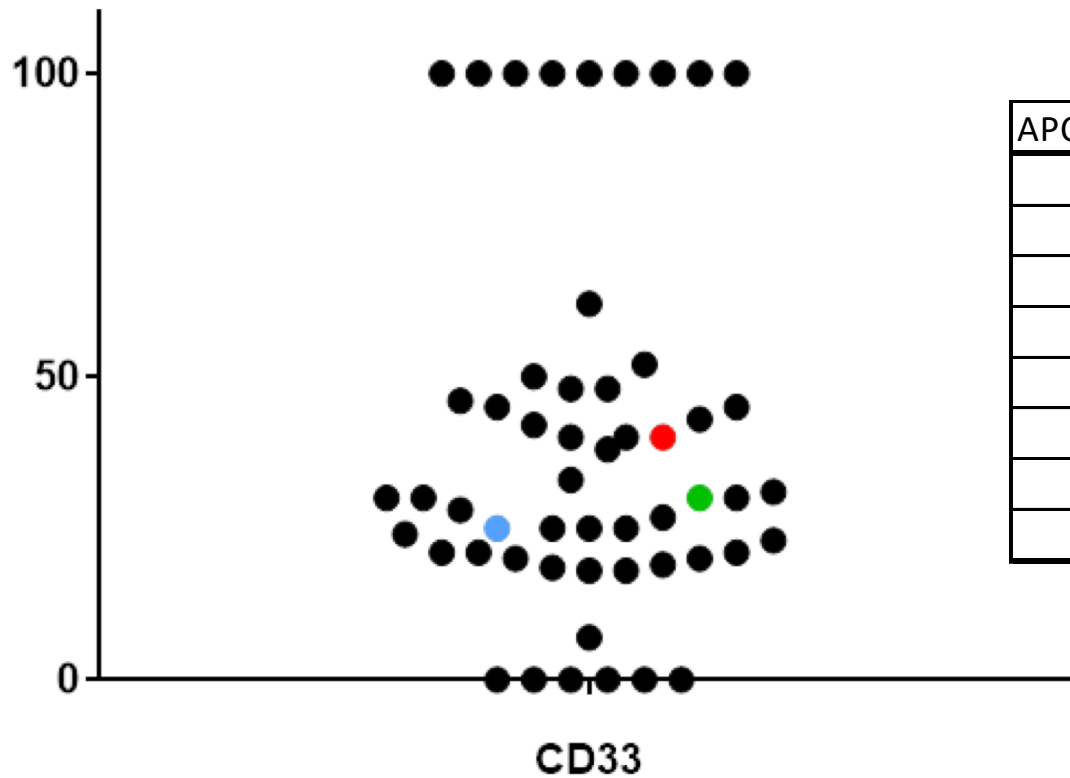
uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 20\%$

0 punt

Alles hier buiten

B. Afwijkende populatie

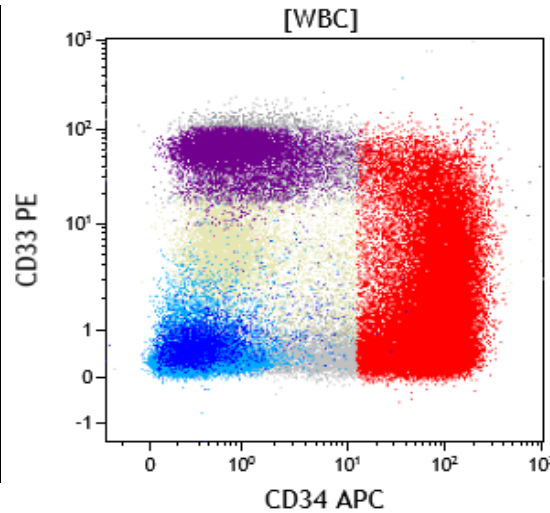
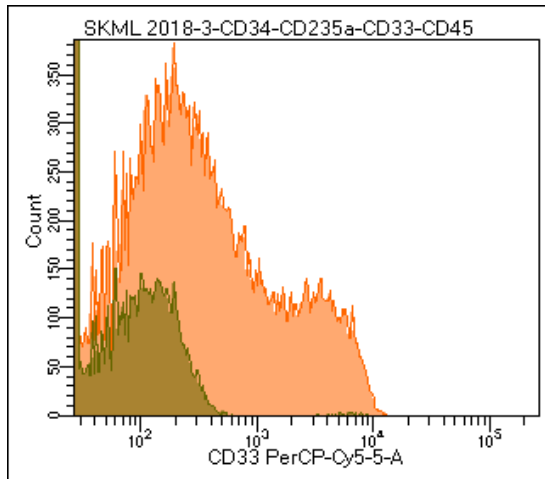
							Mean ref.labs	Mean groep
CD13	100	100	100	92	100	100	100	97
CD14	0	0	0	0	0	0	0	1
CD15	0	0	0	0	8	0	0	3
CD19	0	0	0	0	0	0	0	1
CD33	43	25	100	21	18	19	25	40
CD34	100	100	100	89	100	100	100	98
CD36	100	100	100	88	100	100	100	98
CD45	100	100	100	100	100	100	100	100
CD56	0	0	0	0	0	0	0	0
CD64	0	30	0		0	0	0	2
CD117	100	100	100	76	88	100	100	83
HLA-Dr	100	100	100	98	100	100	100	100
MPO	0	0	100	0	0	0	0	15
cyCD3	0	0	0	0	0	0	0	2



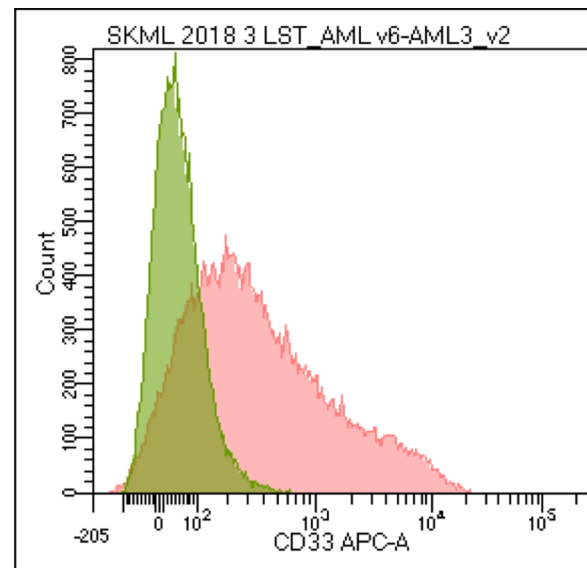
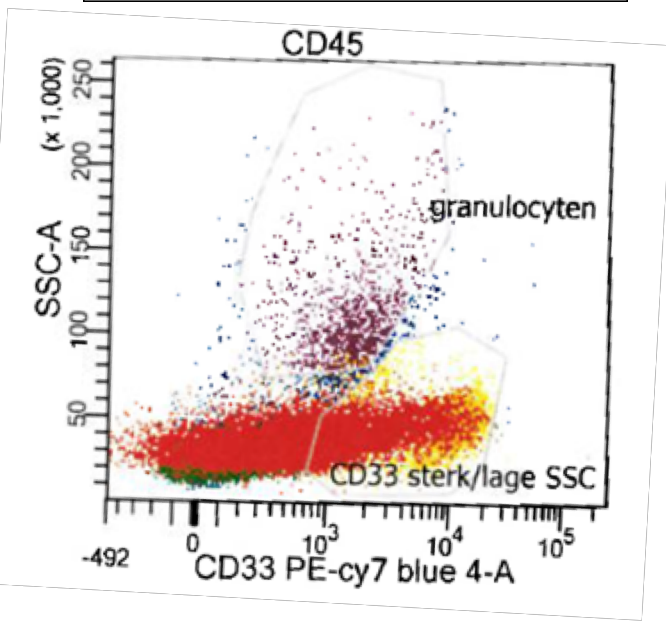
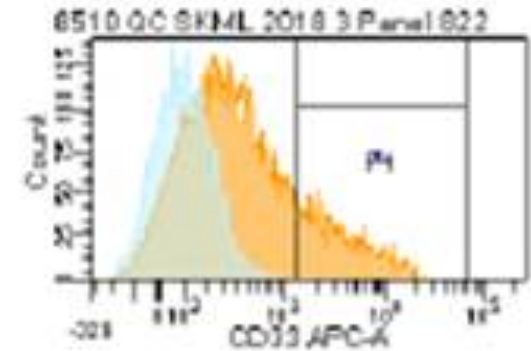
groepsgemiddelde
groepsmediaan
referentielaboratoria

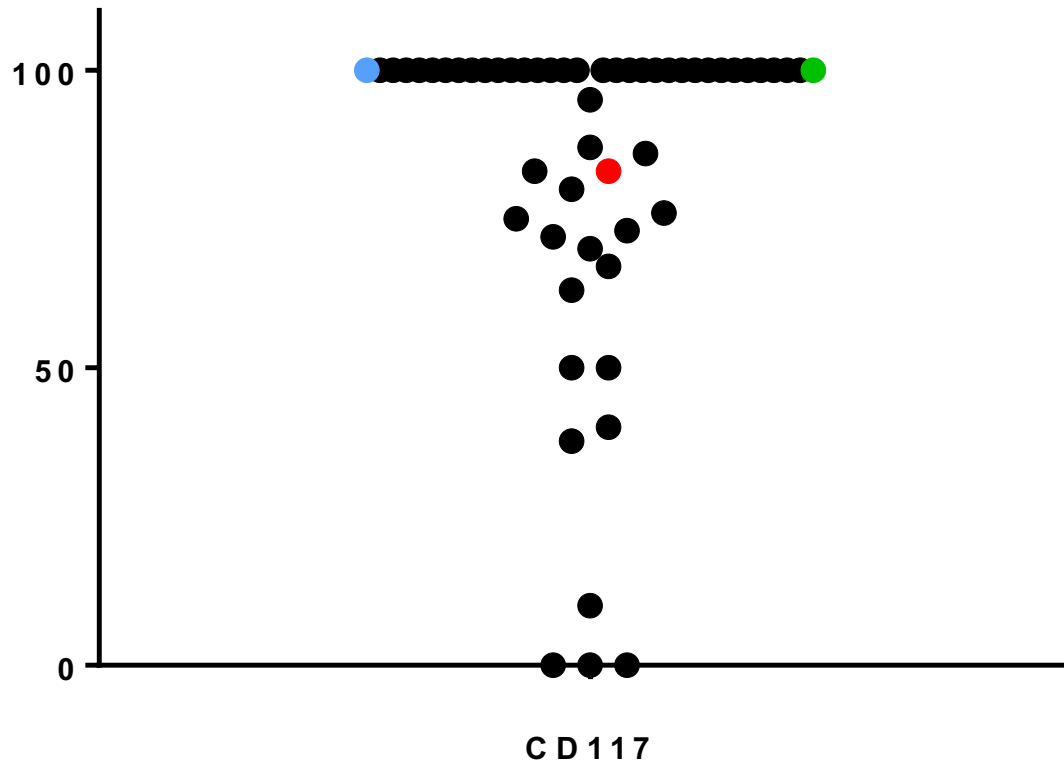
APC	FITC	PE	PE-tandem
28	52	43	50
100	100	62	21
25		100	42
19		0	21
30		24	7
100		25	38
		48	100
		100	18

CD33



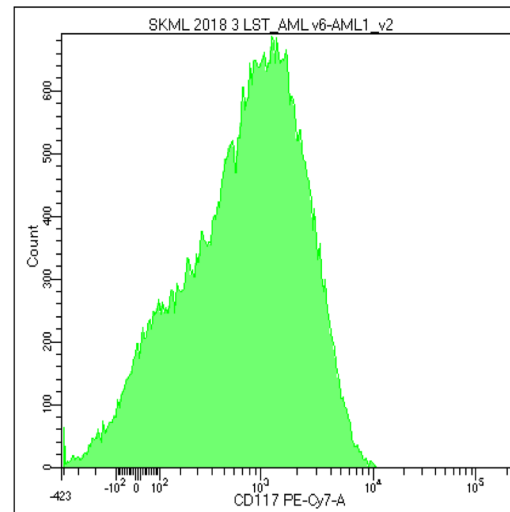
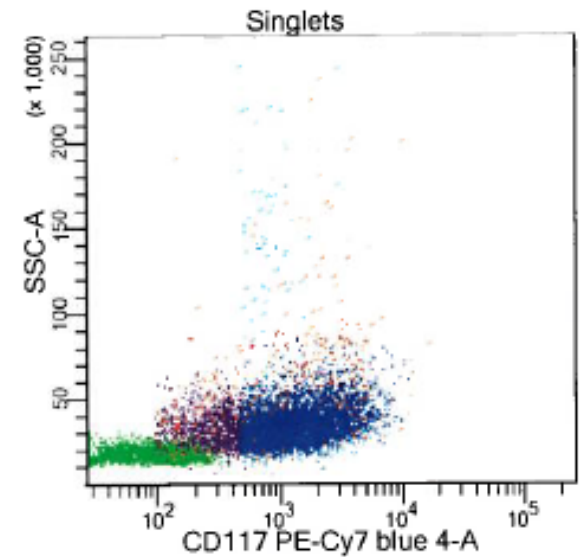
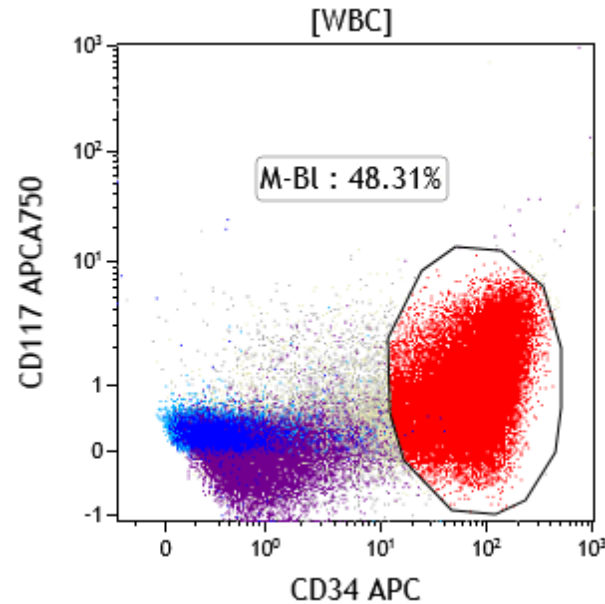
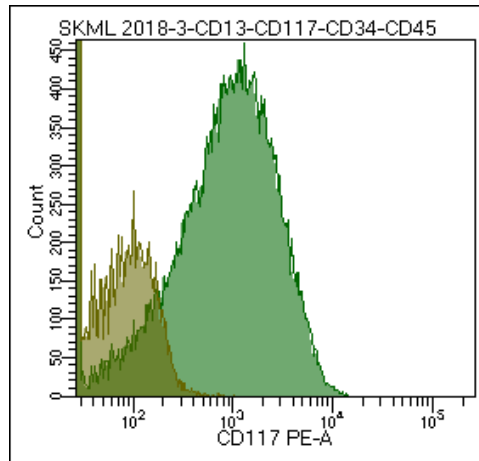
2018/3: CD33 op de blasten (oranje)
neg controle: lymfo (blauw)





groepsgemiddelde
groepsmediaan
referentielaboratoria

CD117



<u>POSITIEF</u>	<u>NEGATIEF</u>	<u>HETEROGEEN:</u>
-----------------	-----------------	--------------------

CD13	CD14	-
------	------	---

CD33 (deels)	CD15	
--------------	------	--

CD34	CD19	
------	------	--

CD36	CD56	
------	------	--

CD45	CD64	
------	------	--

CD117	MPO	
-------	-----	--

HLA-Dr	cyCD3	
--------	-------	--

C. Conclusie

AML

2 punten

1 punt

AUL/MPAL/B-ALL

0 punt

Onjuiste conclusies:

AUL > niet meer dan 1 myeloïde merker

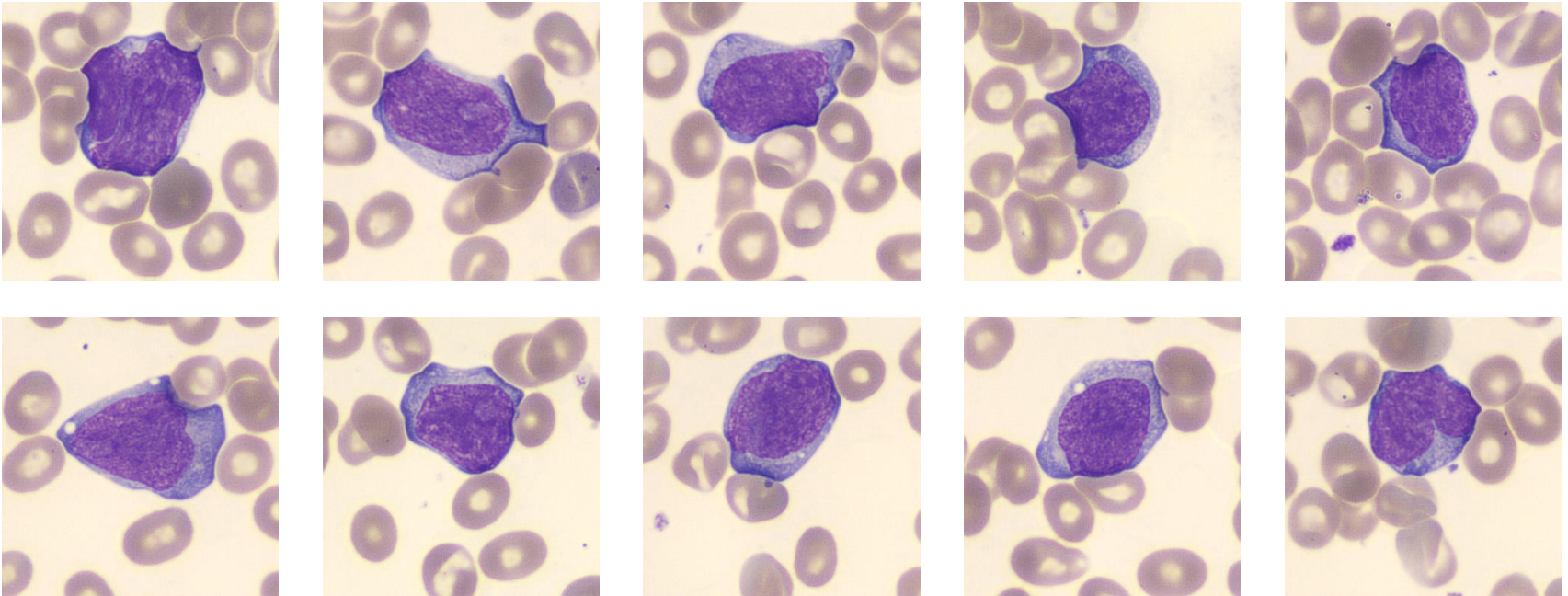
MPAL > 1 populatie blasten, met enkel myeloïde merkers

B-ALL > verkeerde lineage

Vanwege CD36 expressie niet “no maturation” of “min diff”.

Eerder myelo/mono want geen andere monomerkers om van mono uitrijping te spreken.

Digitale microscopie



MORFOLOGIE BLOED:

Bloedbeeld met daarin een grote blastaire celpopulatie. Het betreffen grote cellen met een ronde of onregelmatig gevormde kern, een matig grove kernstructuur met vaak 1 of meerdere nucleoli en een ruime basofiele cytoplasmairand. Geen korreling in het cytoplasma.

OVERIGE ONDERZOEKEN:

Moleculair onderzoek: FLT3-ITD positief (mut/wt: 0.96)

Geen beenmerg- of cytogenetisch onderzoek verricht.

CONCLUSIE:

AML

VERVOLG:

Gecompliceerd beloop, binnen 14 dagen na presentatie overleden

Opmerkingen n.a.v. deze rondzending

- # leukocyten lager dan aangegeven
 - Had te maken met de aard van de maligniteit. Behandeling met Hydrea deed het leukogetal snel dalen. Het advies is om de leukocyten zelf te bepalen bij binnenkomst.
- Op vrijdag typeren lastig i.v.m. planning
 - Had wederom te maken met de aard van de maligniteit. Bij presentatie op maandag en dan nog toestemming van de patiënt en de logistiek van de rondzending regelen....

Samenvatting resultaten

Pre-analytisch

14x CD64

9x cyCD3

9x CD15

8x CD36

7x CD56

6x CD14

Analytisch

22x CD33 > wel beoordeeld, ondanks heterogeniteit

16x CD117 > wel beoordeeld, ondanks heterogeniteit

9x MPO

Post-analytisch

46x AML 2 punten

5x AUL 0 punten > mag maar 1 lineage specifieke merker tot
expressie brengen, hier CD13+, CD33+, CD36+

2x MPAL 0 punten > 1 populatie met alleen myeloïde merkers

1x B-ALL/LBL 0 punten > geen CD19/CD20/cyCD79

1x geen conclusie

4x geen terugrapportage

1. Klinische gegevens:

Man, 67 jaar, bekend met hypertensie en nu progressieve nierinsufficiëntie en macrocytaire anemie. Bij microscopische beoordeling van het bloedbeeld worden abnormale lymfocyten gezien en een afwijkend rood bloedbeeld.

2. Labgegevens:

WBC $2.2 \times 10^9/l$;

Hb 6.6 mmol/l;

Thrombo's $86 \times 10^{12}/l$

27% neutrofielen

55% lymfocyten

17% atypische lymfo's

<1% mono's

<1% eo's

<1% baso's

microcyten +++

macrocyten +

kreat = 181

3. Vraagstelling:

Immuunfenotypering bloed

4. Vers bloed sample

“Consensus” NomenclatuurCommissie

CONCLUSIE	HCL	HCL	HCL	HCL	HCL	HCL
SPECIFICATIE						

Minimaal panel:

rijp B met aanvulling CD11c en CD25

A. Samenstelling

								mean referentielabs	mean groep
T-lymfocyten	45.8	40	45	45	50	47		45	45
B-lymfocyten	6.8	3.5	6	8	9	6		7	6
NK-lymfocyten	0.8	2	1	1	1	1		1	1
Myeloid	29.5	35	30	35	30	35		32	31
Monocytair	0.5	3	0	0	0	<1		1	0
Afwijkende populatie	13.5	16.5	15	11	10	10		13	14

2 punten

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 8.9\%$

1 punt

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 20\%$

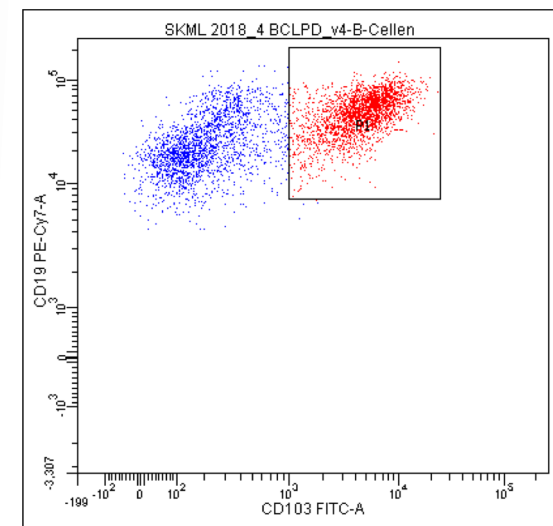
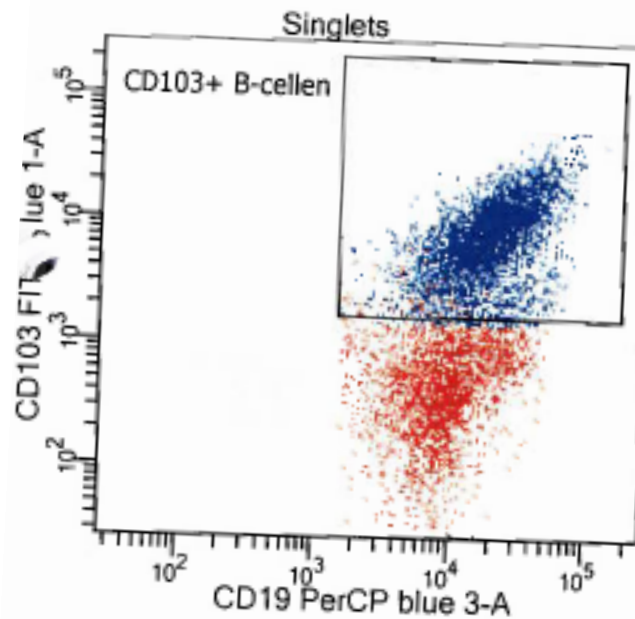
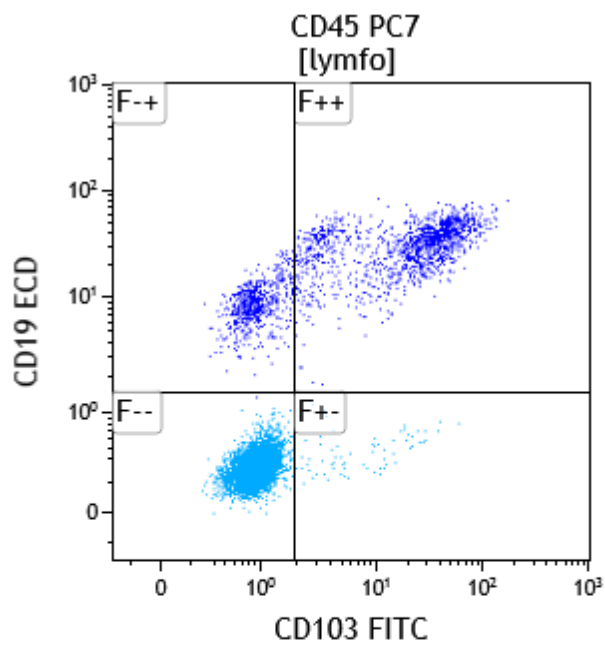
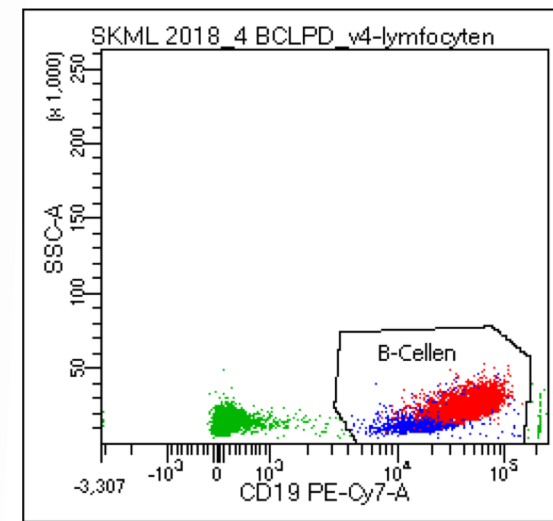
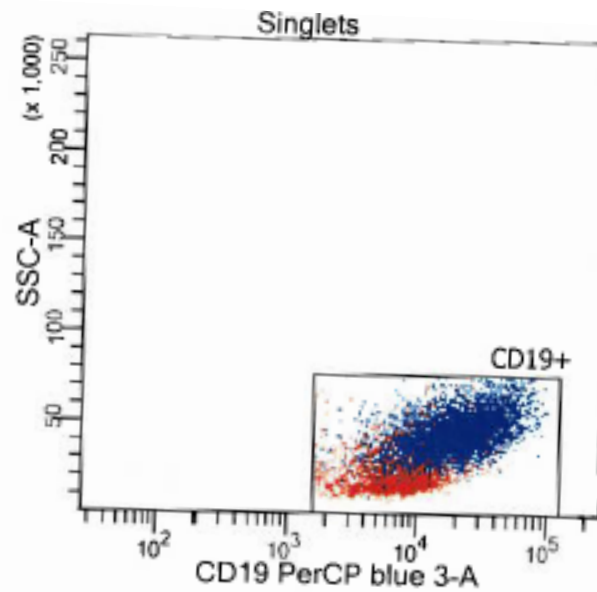
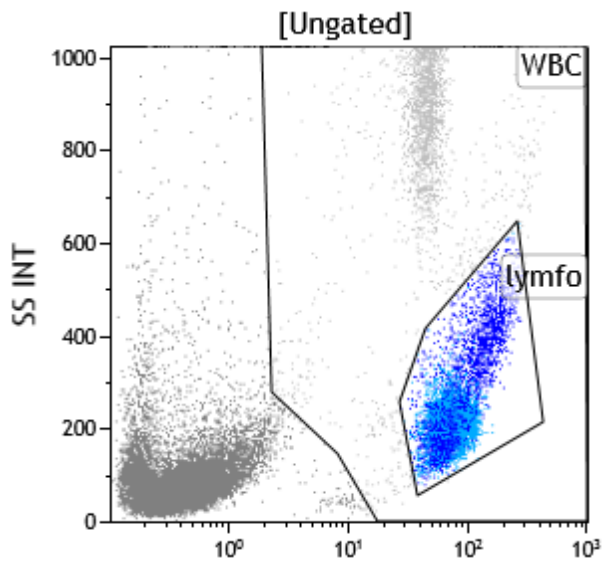
0 punt

Alles hier buiten

B. Afwijkende populatie

							Mean ref.labs	Mean groep
CD5	0	0	0	0	0	0	0	0
CD10	0	0	0	0	0	0	0	1
CD11c		100	100	100	100	100	100	98
CD19	100	100	100	100	100	100	100	100
CD20	100	100	100	100	100	100	100	100
CD23	100	0	0	0	20	0	0	7
CD25	100	100	100		100	100	100	96
CD38	0	0	0	100	0	0	0	4
CD45	100	100	100	100	100	100	100	100
CD103	100	100	75	100	80	100	100	89
smlgKappa	100	100	100	100	100	100	100	100
smlgLambda	0	0	0	0	0	0	0	0

CD103: wel of niet subpopulatie?



POSITIEF	NEGATIEF	HETEROGEEN:
----------	----------	-------------

CD11c	CD5	-
CD19	CD10	
CD20	CD23	
CD25	CD38	
CD45	smlgLambda	
CD103		
smlgKappa		

C. Conclusie

HCL = 2 punten

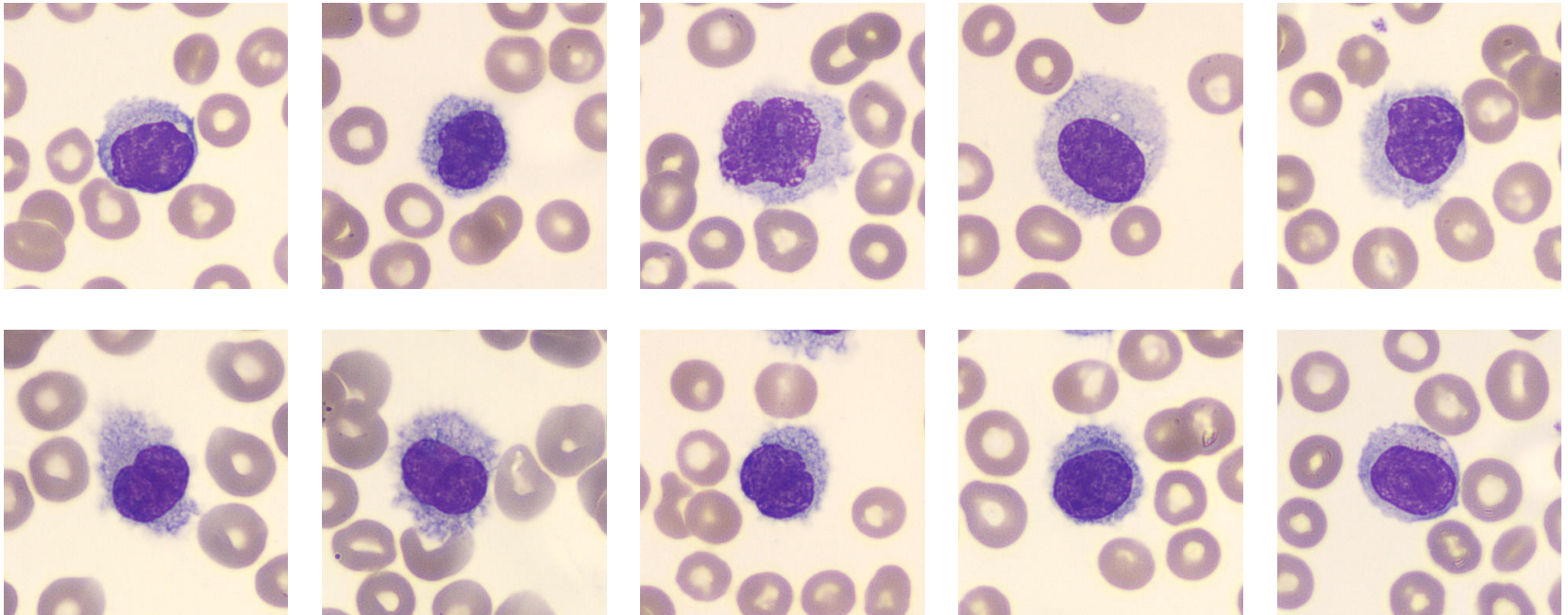
HCLv = 0 punten, gevolgen voor therapie

MBCN = 0 punten, niet specifiek genoeg

Specificatie

Niet nodig

Digitale microscopie



Bloedbeeld met daarin lymfocyten met ovale tot boonvormige kernen, soms een nucleolus, en een ruime tot zeer ruime onregelmatige cytoplasmairand met harige uitlopers.

Achtergrond

In 2016 reeds gediagnosticeerd met een dubbelmaligniteit:

- HCL, BRAF+, waarvoor wait-and-see beleid
- MGUS (VLK Lambda+)

In 2018: sinds anderhalf jaar toenemende vermoeidheid en dyspneu.

Beenmerg laat progressie van de HCL zien:

- In 2016 morfologisch 13% lymfocyten, waarvan bij IF 67% monoklonale B-cellen
- In 2018 morfologisch 49% lymfocyten, waarvan bij IF 75% monoklonale B-cellen

Behandeling van de HCL gestart.

De MGUS lijkt stabiel.

N.B. Het bloed van deze patiënt is ook in 2016 rondgestuurd (2016.7)!

Samenvatting resultaten

Pre-analytisch	2016-7
5x CD11c	11x CD11c

Analytisch	2016-7
4x CD23	5x CD23
1x CD38	6x CD38
16x CD103	13x CD103
subpopulatie 50-91%	50-80%

Post-analytisch	
53x HCL = 2 punten	51x HCL
1x HCLv = 0 punten	- (lab heeft CD25-)
3x MBCN = 0 punten	3x MBCN
	1x beenmergonderzoek
2x geen rapportage	4x geen rapportage

1. Klinische gegevens:

Man, 69 jaar, met blanco voorgeschiedenis wordt opgenomen met een abces aan het been en koorts. Morfologisch een grote populatie lymfocyttaire cellen variërend van middelgroot tot groot met polymorfe kern, variërend van rond tot gekleefd, soms met nucleoli. Ruim cytoplasma, licht basofiel, zonder korreling. Enkele blastair ogende cellen

2. Labgegevens:

WBC $32.8 \times 10^9/l$;

Hb 5.7 mmol/l;

Thrombo's $216 \times 10^{12}/l$

0.7% neutrofielen

99% lymfocyten

<1% mono's

<1% eo's

<1% baso's

macrocyten +

CRP = 74 mg/L

3. Vraagstelling:

Typering lymfocyten

4. Vers bloed sample

“Consensus” NomenclatuurCommissie

CONCLUSIE	CLL	CLL	CLL	CLL	CLL	CLL
SPECIFICATIE						

Minimaal panel:
rijp B

A. Samenstelling

								mean referentielabs	mean groep
T-lymfocyten	4.6	5	4	8	4	3		5	5
B-lymfocyten	0.5	0.1	0	<1	<1	0.1		0	3
NK-lymfocyten	0.3	0.5	0.3	<1	<1	0.4		0	1
Myeloid	2.7	4.4	2	6	2	3		3	3
Monocytair	0	0	0.3	<1	<1	0		0	0
Afwijkende populatie	91.3	90	91	85	93	93		91	91

2 punten

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 8.9\%$

1 punt

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 20\%$

0 punt

Alles hier buiten

B. Afwijkende populatie

							Mean ref.labs	Mean groep
CD5	100	100	100	100	100	100	100	99
CD10	0	0	0	0	0	0	0	0
CD19	100	100	100	100	100	100	100	100
CD20	100	100	100	100	100	100	100	98
CD23	100	100	100	100	100	100	100	97
CD38	0	0	0	0	20	0	0	9
CD45	100	100	100	100	100	100	100	100
CD103	0	0	0	0	0	0	0	0
smlgKappa	100	100	100	100	100	100	100	100
smlgLambda	0	0	0	0	0	0	0	0

<u>POSITIEF</u>	<u>NEGATIEF</u>	<u>HETEROGEEN:</u>
CD5	CD10	-
CD19	CD38	
CD20	CD103	
CD23	smlgLambda	
CD45		
smlgKappa		

C. Conclusie

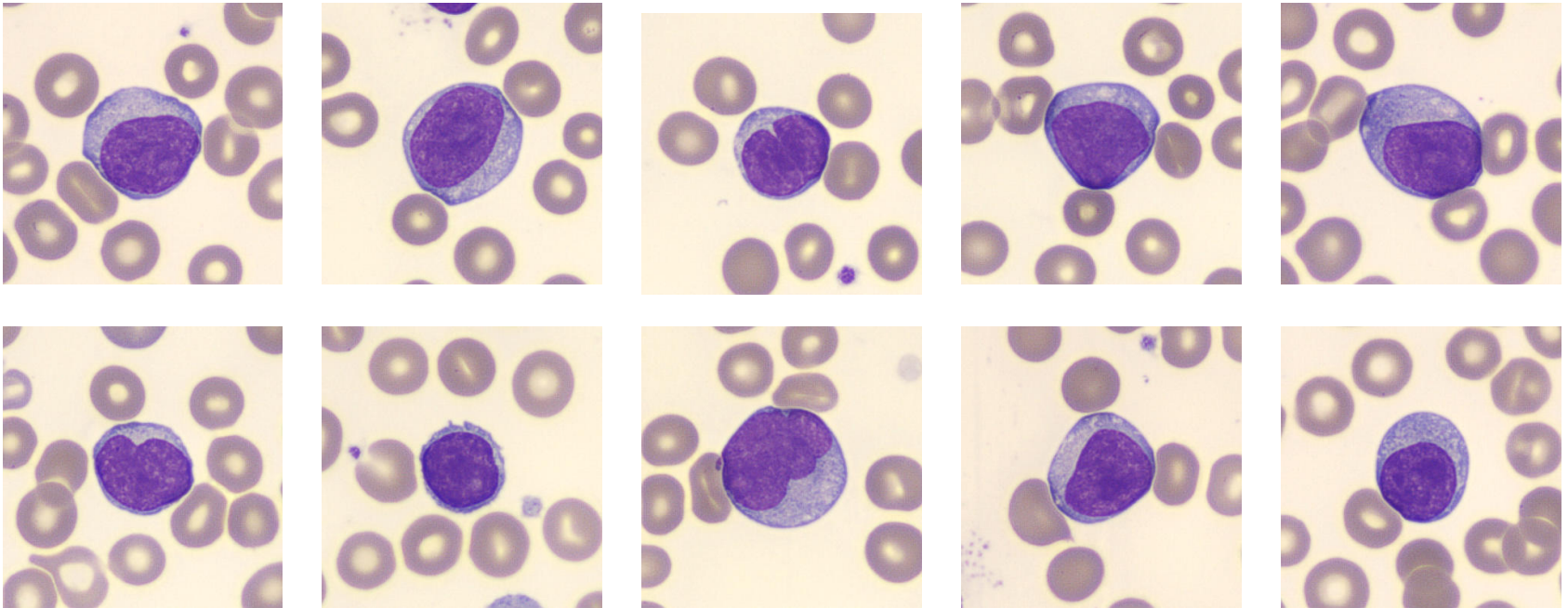
CLL = 2 punten

MBCN = 0 punten, niet specifiek genoeg

Specificatie

Niet nodig

Digitale microscopie



Grote populatie lymfocyttaire cellen variërend van middelgroot tot groot met polymorfe kern, soms met nucleoli, variërend van rond tot gekliefd. Ruim cytoplasma, licht basofiel, zonder korreling. Enkele blastair ogende cellen. Lijkt niet op een acute leukemie of CLL; mogelijk leukemisch NHL.

BEENMERG:

Hypercellulair, volledig geïnfiltreerd (97%) door een monotone lymfocytenpopulatie met vrijwel verdrongen pre-existente hematopoïese. Bij immunofenotypering blijken dit monoklonale B-cellen met het fenotype zoals in bloed. PA: lokalisatie CLL.

ZWELLING BOVENBEEN (zie presentatie patiënt):

Huidexcisie met daarin monoklonale B-cellen met het fenotype zoals in bloed. PA: Huidexcisie met daarin lokalisatie van een NHL, te beschouwen als transformatie van CLL.

MOLECULAIR ONDERZOEK:

Cycline D1 negatief, BCL2-IGH negatief (t(14;18)).

CYTOGENETISCH ONDERZOEK:

Trisomie 12 (75% van de cellen), passend bij lymfoom, maar komt m.n. voor bij CLL. Deletie 11q, deletie 17p en deletie 13q niet aangetoond. TP53 mutaties niet aangetoond.

Overall conclusie

CLL met transformatie naar NHL (grootcellig B-cellymfoom)

Wel morfologisch, fenotype onveranderd

VERVOLG:

Start R-CHOP

Gecompliceerd beloop, binnen een maand na presentatie overleden

Samenvatting resultaten

Pre-analytisch

7x CD103

Analytisch

10x CD38

Post-analytisch

53x CLL = 2 punten

6x MBCN = 0 punten

0x geen rapportage!!

Vragen?