

Leukemie/Lymfoom Immunofenotypering

bespreking voor- en najaar 20@0

Sectie IMCD

26 nov 2020 Zwolle

Woord vooraf:

1. De “minimale panels” zijn leidend in de beoordeling.
2. Pre-analytische fase wordt in het 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. 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 geldt het gemiddelde van de groep. Indien de nomenclatuurcommissie dit nodig vindt kan van deze werkwijze afgeweken worden
6. Beoordeling volgens MUSE richtlijnen
Voldoende binnen 20% 1 punt = groen op rapport
Binnen 8.9% iets beter, 2 punten
7. De uitdagende “specificatie” wordt (nog) niet beoordeeld

Sample: 2019-5

- 81-jarige man
- Bekend met ET (JAK2V617F positief) en leukocytose sinds 2012, waarvoor Ascal en Hydrea
- Nu: pancytopenie en 20% blasten in het bloed.
- **Bloedonderzoek:**
 - Hb: 4.5 mmol/L
 - WBC: $7.0 \times 10^9/L$
 - PLT: $41 \times 10^9/L$
- Differentiatie:
 - 20% blasten
 - 53% granulocyten, 19% lymfocyten, 6% monocytten, 1% eosinofielen, 1% basofielen
- **Vraag: AML?**

A. Samenstelling

								mean referentielabs	mean groep
T-lymfocyten	10	10,5	7,2	9	6	8		8	8
B-lymfocyten	0,5	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5		0	1
NK-lymfocyten	0,5	0,8	0,6	0,7	1	0,5		1	1
Myeloid	32	0	39,9	25	25,5	31		26	32
Monocytair	5	6,7	6,1	4	4	11		6	6
Afwijkende populatie	52	74	44,5	52	63	48		56	49

2 punten

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 8.9\%$

1 punt

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 20\%$

0 punt

Alles hier buiten

“Consensus” Nomenclatuur Commissie

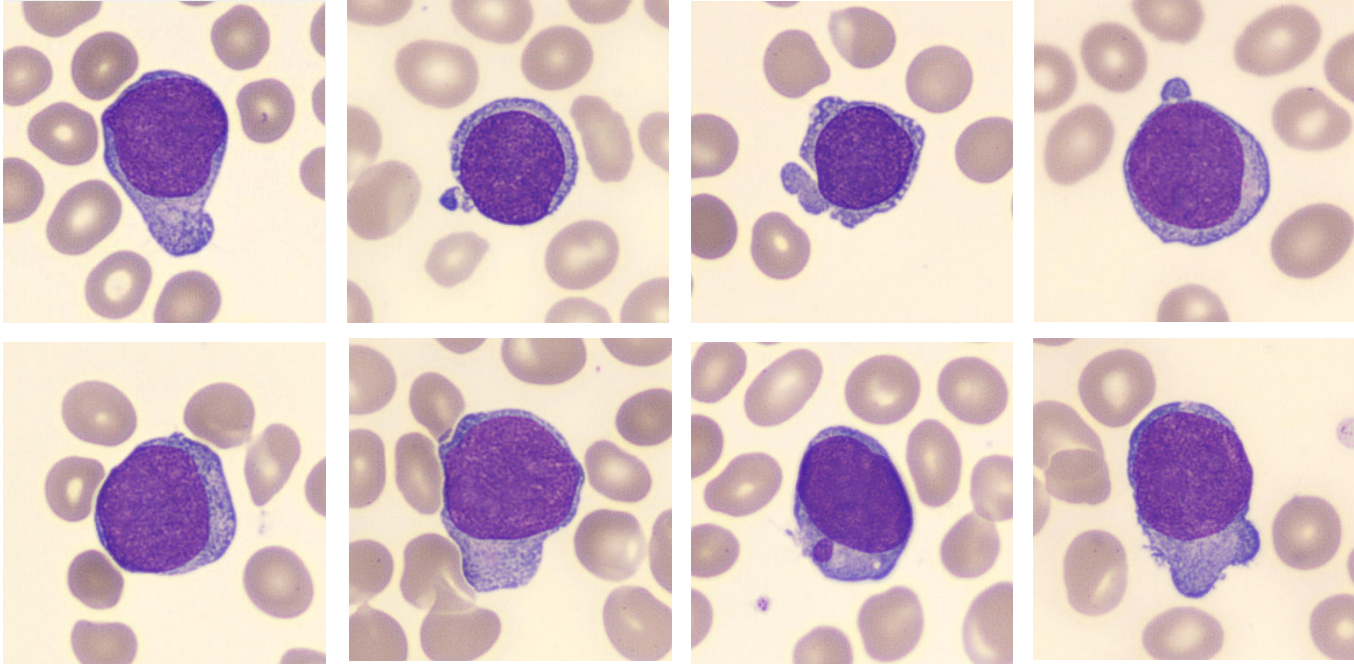
CONCLUSIE	AML	AML	AML	AML	AML	AML
Specificatie	Pure Ery		min dif	AMKBL		Pure ery

Minimaal panel:
AML

B. Afwijkende populatie

	1	2	3	4	5	6	consensus ref labs	Mean Totaal
CD13	0	0	0	0	0	0	0	18
CD14	0	0	0	0	0	0	0	2
CD15	0	0	0	0	0	0	0	0
CD19	0	0	0	0	0	0	0	0
CD33	100	100	100	100	40	100	100	91
CD34	0	0	0	0	0	0	0	2
CD36	100	100	100	100	100	100	100	96
CD45	100	100	100	100	100	100	100	100
CD56	0	0	0	0	0	0	0	2
CD64	0	100	0	0	0	0	0	2
CD117	100	100	100	100	100	100	100	96
HLA-Dr	55	36	70	100	50	79	65	64
CyCD3	0	0	0	0	0	0	0	2
MPO	0	100	0	0	0	0	0	15

Digitale microscopie



20% blasten: middelgroot met een ronde, soms licht polymorfe kern met matig fijne kernstructuur, soms met duidelijke nucleolus, en een sterk basofiel cytoplasma, soms met blebs. Geen Auerse staven of takkenbossen gezien.

POSITIEF NEGATIEF HETEROGEEEN:

CD33 CD13

CD36 CD14

CD117 CD15

HLADR CD34

CD64

MPO

C. Conclusie

AML 55x

2 punten

T-ALL/LBL 1x

0 punt

Geen CNC 2x

Conclusie en vervolg

- Beenmerg met hypoplastische brokjes en infiltratie met 88% blasten, die bij immunofenotypering van myeloïde origine zijn. De normale hematopoïese is sterk verminderd. Beeld past bij transformatie van een ET naar een AML (mogelijk acute megakaryoblasten leukemie op basis van zwakke cyCD61 positiviteit).
- Palliatief behandeld.

NomenclatuurCIE

- Discussie m.b.t. cyMPO
- Wat doen bij cyCD3/ CD19/ cyMPO negativiteit; dan CD235a en megakaryocytaire markers CD41 en CD61 inzetten (zie ook 2020.3)

Sample: 2019-6

- 74-jarige man
- Status na non-Hodgkin lymfoom waarvoor R-CHOP en radiotherapie (2000), bekend met CMML waarvoor Hydrea en Ruxolitinib en status na miltectomie (2018).
- Nu: forse leukocytose en 78% blasten in het bloed.
- Bloedonderzoek:
 - Hb: 7.0 mmol/L
 - WBC: $217 \times 10^9/L$
 - PLT: $62 \times 10^9/L$
- Differentiatie:
 - 78% blasten, 8% promonocyten
 - 5% monocyten, 4% granulocyten, 3% lymfocyten, <1% eosinofielen, <1% basofielen, 0.2% erythroblasten
- **Vraag: Progressie naar acute leukemie?**

A. Samenstelling

								mean referentielabs	mean groep
T-lymfocyten	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5		0,5	2
B-lymfocyten	0,5	0,1	0,2	0,2	0,1	0,5		0,3	0
NK-lymfocyten	0,5	0,2	0,1	0,1	0,1	0,5		0,3	0
Myeloid	1	1	4,9	1	0,7	0,5		1,5	1
Monocytair	1	1	1	1,5	0,7	2		1,2	1
Afwijkende populatie	96	97	92	97	98	95		96	95

2 punten

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 8.9\%$

1 punt

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 20\%$

0 punt

Alles hier buiten

“Consensus” Nomenclatuur Commissie

CONCLUSIE	AML	AML	AML	AML	AML	AML
SPECIFICATIE			NOS		mat	

Minimaal panel:
AML

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

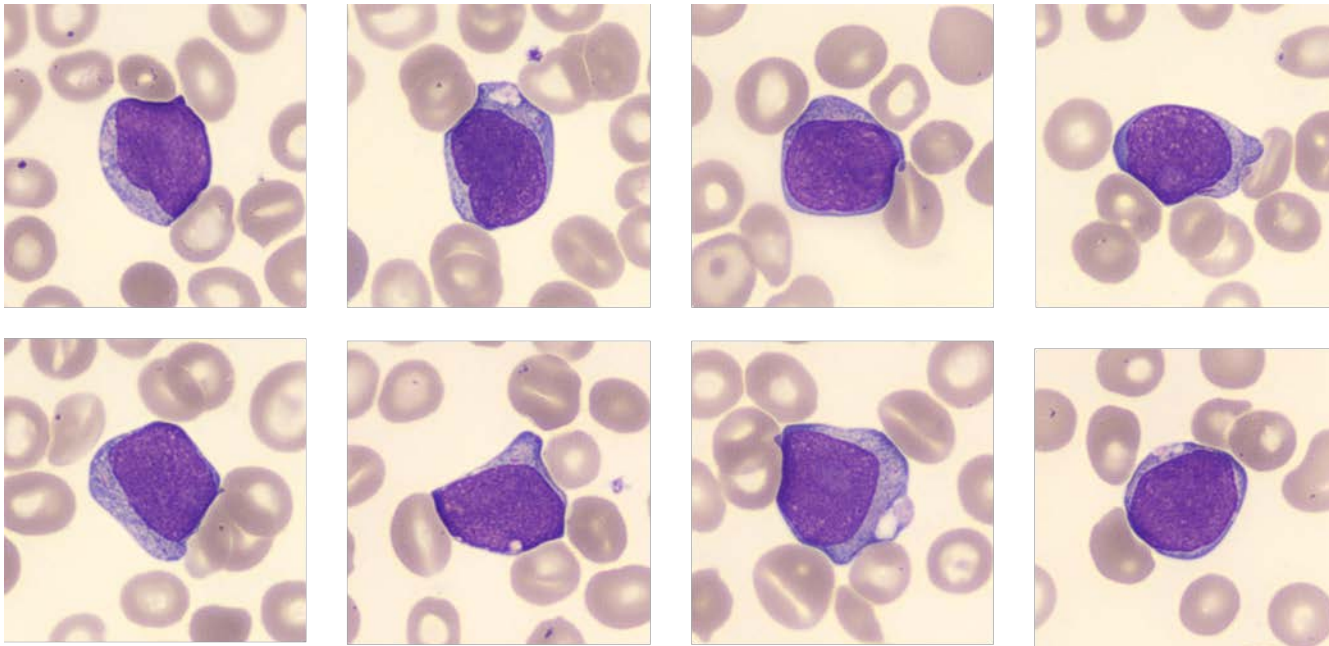
CD13	CD14	CD33
CD19	CD15	
CD34	CD36	
CD117	CD16	
HLADR	CD56	
MPO	CD64	

C. Conclusie

AML = 2 punten 57/58

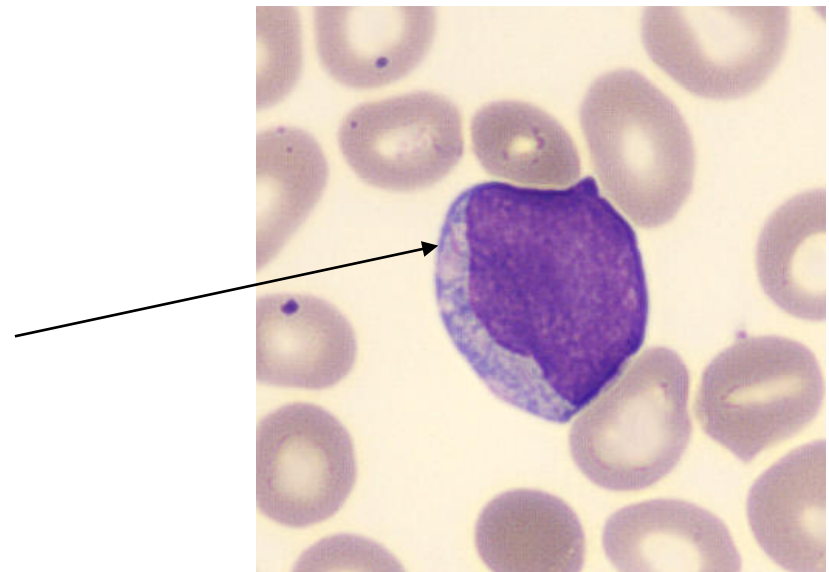
Morfologie

- 78% blasten (en promonocyten); middelgroot tot groot met polymorfe kernvormen met een fijne kernstructuur en vaak een duidelijke nucleolus, en een smalle tot iets ruimere cytoplasmairand met daarin soms enkele vacuolen of granulatie. Sporadisch wordt een blast met een heel fijn Auers staafje gezien.



Conclusie

- Bij immunofenotypering wordt een blastenpopulatie aangetoond die MPO+ en CD19+ is. Omdat er geen CD10, CD22 en CD79a tot expressie komt op de blasten, past het beeld bij een AML met aberrante expressie van CD19.
- N.B. De morfologie en het immunofenotype zouden kunnen passen bij een AML met t(8;21).



Sample: 2020-1

- 60-jarige vrouw
- Uitgebreide lymfadenopathie, toenemende anemie en lymfocytose.
- Bloedonderzoek:
 - Hb: 5.5 mmol/L
 - WBC: $29.8 \times 10^9/L$
 - PLT: $420 \times 10^9/L$
 - M-proteïne: IgM Kappa 27 g/L
 - BSE: >120 mm/uur
- Differentiatie:
 - 77% lymfocyten: atypisch met een vage nucleolus (tevens erythrocyten agglutinatie)
 - 17% neutrofielen, 0.5% staven, 0.5% metamyelocyten, 1% myelocyten
 - 1% monocytën, 2% eosinofielen, 0.3% basofielen
- **Vraag: Immunofenotypering bloed**

A. Samenstelling

								mean referentielabs	mean groep
T-lymfocyten	7	5	7	6,6	8	6		7	6
B-lymfocyten	0	0	1,8	0	0	0		0	0
NK-lymfocyten	2	1	1,1	1,6	3	1		1,6	2
Myeloid	15	4	10,1	11	8	7		9	10
Monocytair	1	1	1,6	1,2	1	1		1	1
Afwijkende populatie	75	87	77,1	79	80	84		80	80

2 punten

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 8.9\%$

1 punt

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 20\%$

0 punt

Alles hier buiten

“Consensus” Nomenclatuur Commissie

CONCLUSIE	MBCN	MBCN	MBCN	MBCN	MBCN	MBCN
Specificatie		NMZL				

Minimaal panel:
Rijp B-cel panel

<u>POSITIEF</u>	<u>NEGATIEF</u>	<u>HETEROGEEEN:</u>
CD19	CD5	CD23
CD20	CD10	
CD45	CD38	
SmlgKappa	CD103	

C. Conclusie

MBCN 41/58

2 punten

LPL 16/58

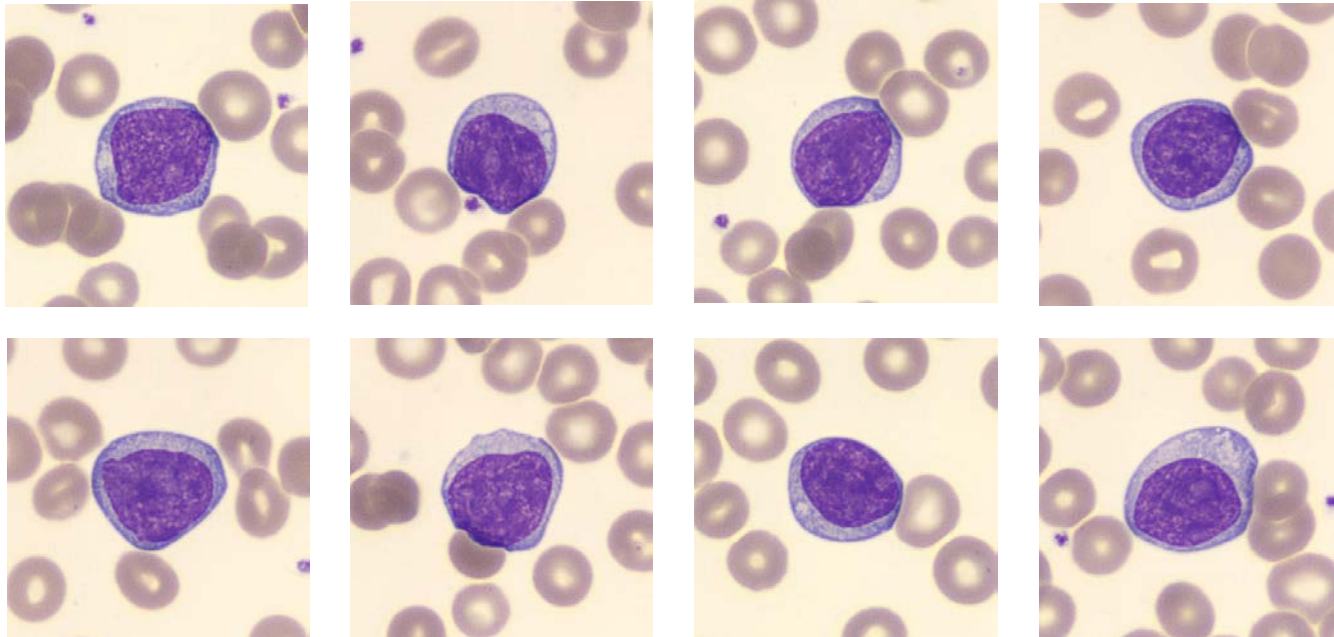
0 punten

CLL 1/58

0 punten

Morfologie en immunofenotypering

- Lymfocytose t.g.v. lymfocyten die voor een deel plasmacytoid uitgerijpt lijken: excentrische kern en een basofiel cytoplasma met perinucleaire opheldering. Grote kernen, vaak met nucleolus.



Conclusie & Vervolg

- Lymfklierbiopt: sterke voorkeur voor diagnose nodaal marginale zone B-cellymfoom.
- Beenmerg: normocellulair met diffuus en in haardjes gelegen B-celpopulatie passend bij het B-NHL.
- MYD88 L265P negatief (LPL onwaarschijnlijk)
- Start R-CHOP, goede respons

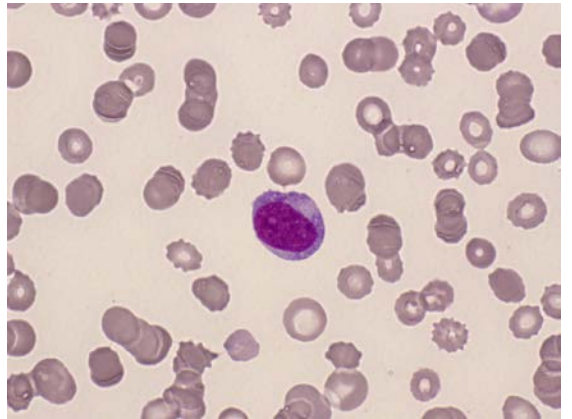
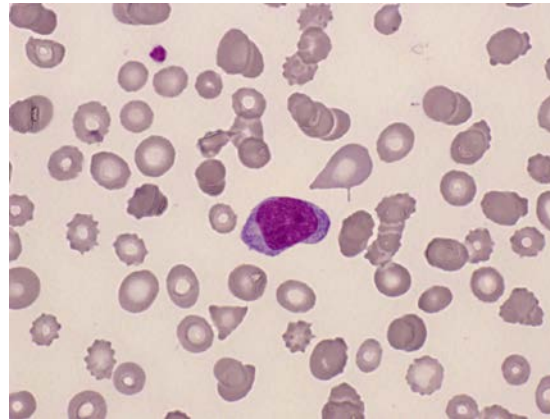
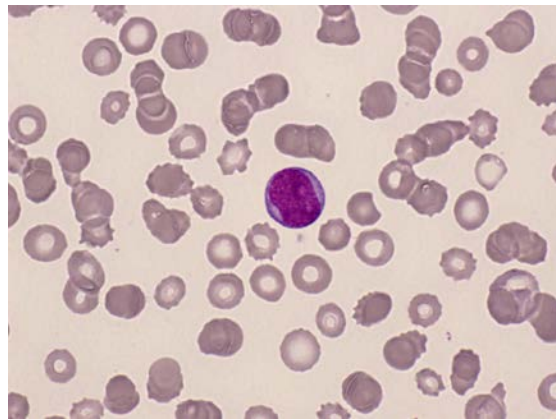
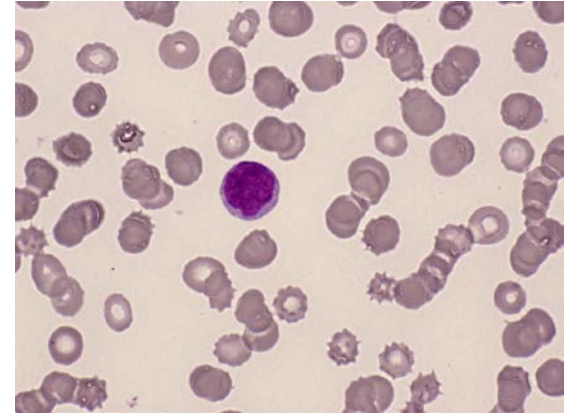
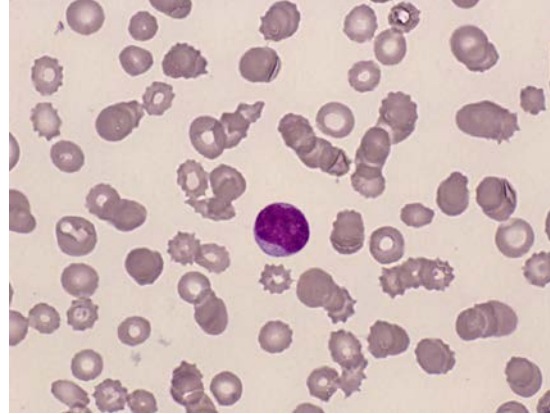
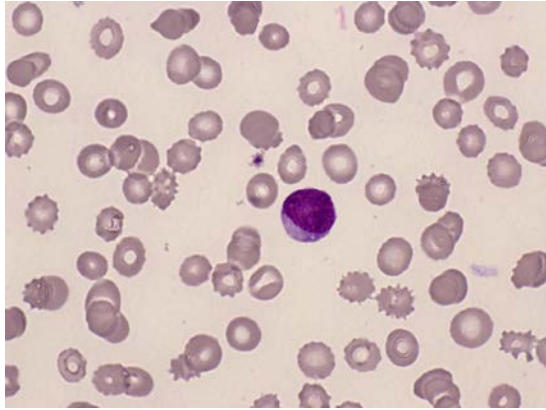
NomenclatuurCIE

- Discussie mb.t. CD23
- LPL: op grond van IF een LPL benoemen?
- Moet kwalitatief rapporteren van de resultaten in Qbase mogelijk zijn: neg/pos/zwak/deels t.o.v. normale counterpart?

Sample: 2020-2

- 80-jarige vrouw
- Vrijwel blanco voorgeschiedenis
- Sinds 3 maanden bestaande klachten van vermoeidheid, gewichtsverlies en sinds kort pijnaanvallen in het gehele lichaam
- Bloedonderzoek:
 - Hb: 5.9 mmol/L
 - WBC: $21.1 \times 10^9/L$
 - PLT: $43 \times 10^9/L$
- Differentiatie, bij diagnose:
 - Neutrofielen $0.95 \times 10^9/l$, Eosinofielen $0.11 \times 10^9/l$; Basofielen $0.00 \times 10^9/l$; Lymfocyten $8.24 \times 10^9/l$, Monocyten $11.83 \times 10^9/l$; LD 528 U/L.
 - Bij morfologisch onderzoek worden cellen gezien verdacht voor een zeer jonge lymfocyt populatie (blastair karakter: nucleoli en ruim cytoplasma).
- **Vraag: patiënt is ondertussen behandeld met Azacitidine; zijn de afwijkende cellen nog aanwezig?**

Microscopie



A. Samenstelling

								mean referentielabs	mean groep
T-lymfocyten	32	32,4	34	28,2	33,4	35		33	33
B-lymfocyten	8	6,5	6	5,4	6,4	7		7	6
NK-lymfocyten	3	0	3	2,4	2,8	2		2,2	3
Myeloid	14	6,9	8	11,8	9,3	9		10	9
Monocytair	0	0,3	0	0,2	0,4	0		0,2	0
Afwijkende populatie	42	51,6	49	52	45	45		47	47

2 punten

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 8.9\%$

1 punt

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 20\%$

0 punt

Alles hier buiten

“Consensus” Nomenclatuur Commissie

CONCLUSIE		MTCN				AML
Specificatie	BPDCN	ANKCL	BPDCN	BPDCN	BPDCN	BPDCN

Minimaal panel:
AML

B. Aanvullend bij DC

	1	2	3	4	5	6	consensus ref labs	Mean Totaal
CD4	100	61	100	100	100	100	100	96
CD123	100		100	100		100	100	99

CD123, maar door 26 labs gerapporteerd.

POSITIEF NEGATIEF HETEROGEEEN:

CD4	CD13	CD36
CD33	CD14	
CD45	CD15	
CD56	CD19	
CD123	CD34	
HLADR	CD64	
	CD117	
	MPO	
	cyCD3	

C. Conclusie

BPDCN 33x	AML 6x	AUL 4x	T-ALL 4x	MTCN 4x	BM nodig 2x	Geen cnc 6x
2 pt	0 pt	0 pt	0 pt	0 pt	0 pt	0 pt

BPDCN WHO2017

- Blastair plasmacytoid dendritisch cel neoplasme
- Lokalisatie: huid (64-100%), gevolgd door BM en PB (60-90%) en lymfklieren (40-50%).
- Morfologie: uniforme middelgrote cellen lijkend op lymfoblasten.
- Immuunfenotype: **CD4+**, CD43+, CD45RA+, **CD56+**, **CD123+**, CD303+
regelmatig: CD7+, **CD33+**
soms: CD2+, CD5+, **CD36+**, CD38+, CD79a+
negatief: **CD3**, **CD13**, CD16, **CD19**, CD20, **CD34**, **MPO**

Sample: 2020-3

- 62-jarige vrouw
- Relatief blanco voorgeschiedenis
- Opgenomen vanwege algehele malaise, niet fit. Snel blauwe plekken, kortademigheid en koude extremiteiten en vermoeidheid.
- Bloedonderzoek (bij diagnose):
 - Hb: 4,1 mmol/L
 - WBC: $23.9 \times 10^9/L$
 - PLT: $43 \times 10^9/L$
- Differentiatie, bij diagnose:
 - Neutrofielen $15.0 \times 10^9/l$, Staven $0.36 \times 10^9/l$, Myelocyten $0.36 \times 10^9/l$, **Blasten $2.82 \times 10^9/l$** , Eosinofielen $<0.01 \times 10^9/l$; Basofielen $<0.01 \times 10^9/l$; Lymfocyten $5.3 \times 10^9/l$, Monocyten $0.9 \times 10^9/l$
 - **Bij morfologisch onderzoek worden middelgrote blasten gezien met licht polymorfe kernen met een fijnmazig kernstructuur vaak met meerdere onopvallende nucleoli, en een basofiel cytoplasma met lichte granulatie en soms een Auerse staaf.**
 - **Vraag: Immunofenotypering blasten**

A. Samenstelling

								mean referentielabs	mean groep
T-lymfocyten		12,3	13	10	14	14		13	14
B-lymfocyten		3	2,9	2	3	3		3	3
NK-lymfocyten		0,7	0,8	6	0,1	0,1		1,5	1
Myeloid		71,5	59	67	64	64		65	62
Monocytair		0,8	1,7	1	1	0,1		1	1
Afwijkende populatie	17	11,9	18	14	17	19		16	15

2 punten

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 8.9\%$

1 punt

uitslag binnen gemiddelde referentielabs $\pm 20\%$

0 punt

Alles hier buiten

“Consensus” Nomenclatuur Commissie

CONCLUSIE	BM onderzoek nodig	BM onderzoek nodig	AML	AML	BM onderzoek nodig	AML
Specificatie	mat					AMKBL

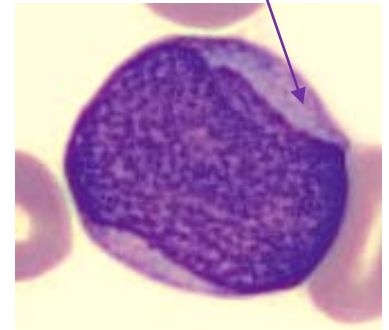
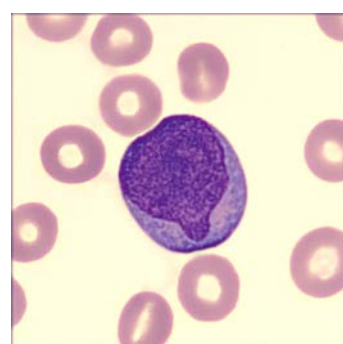
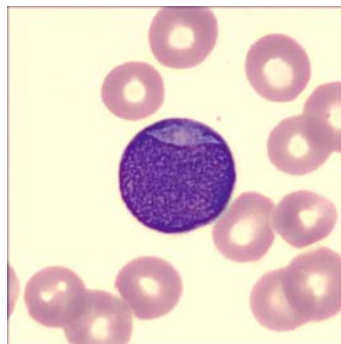
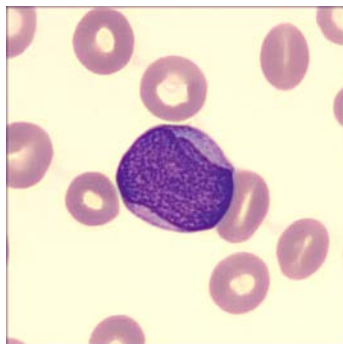
Minimaal panel:
AML

B. Afwijkende populatie

	1	2	3	4	5	6	consensus ref labs	Mean Totaal
CD13	75	100	75	100	81	67	83	82
CD14	0	0	0	0	0	0	0	0
CD15	12	46	0	0	47	50	26	15
CD19	0	0	0	0	0	0	0	0
CD33	100	100	100	100	100	100	100	95
CD34	77	100	100	100	100	67	91	90
CD36	33	0	0	0	0	24	0	10
CD45	100	100	100	100	100	100	100	100
CD56	0	0	0	0	0	0	0	0
CD64	0	0	0	0	0	0	0	0
CD117	70	100	47	100	74	67	76	82
HLA-Dr	66	100	100	100	86	69	87	84
CyCD3	0	0	0	0	0	0	0	0
MPO	45	68	67	45	41	45	52	62

Morfologie bloed

- Bloedbeeld met daarin een diepe anemie, een trombopenie en een leukocytose. In de microscopische diff worden **12% blasten** geteld. Het betreffen middelgrote blasten met licht polymorfe kernen met een fijnmazig cytoplasma, vaak met meerdere onopvallende nucleoli, en een basofiel cytoplasma met lichte granulatie en soms een **Auerse staaf**. Er worden geen takkenbossen gezien. Wel worden meerdere **cup-like** cellen gezien (NPM1 mutatie?). Verder is er sprake van een lichte linksverschuiving en laten de neutrofielen toxische korreling en hypersegmentatie zien. Beeld past bij een MDS-EB-2 of AML (afhankelijk van het percentage blasten in het beenmerg en nadere cytogenetische en moleculaire diagnostiek). Beeld past niet direct bij een APL.



<u>POSITIEF</u>	<u>NEGATIEF</u>	<u>HETEROGEEEN:</u>
CD13	CD14	CD15
CD33	CD19	CD36
CD34	CD56	CD41/CD61 (23 labs ingezet)
CD117	CD64	
HLADR	cyCD3	
MPO		

C. Conclusie

AML 42x	BM onderzoek 17x	Geen CNC 2x
2 punten	2 punten	0 punten

Immunofenotypering bloed Isala

- Bloed met daarin morfologisch 12% blasten, die bij immunofenotypering van myeloïde origine blijken. De afwijkende populatie lijkt te bestaan uit twee subpopulaties, waarvan één met een megakaryocytair immunofenotype (cyCD61+). Beide subpopulaties laten een CD7 aberrantie zien (te gebruiken als LAIP). Beeld past bij een MDS-EB-2 of AML (afhankelijk van het percentage blasten in het beenmerg en nadere cytogenetische en moleculaire diagnostiek).

Vervolg

- Beenmergaspiraats: niet mogelijk; dry tap
- Beenmergbiopsie: celrijk beenmerg, prominente dysmegakaryopoïese, ernstige hypoplasie van de rode reeks en hyperproliferatie van de witte reeks, toename blasten (<10%) en fibrose graad 3

→ MDS-EB-2

- Moleculaire: **NPM1 pos**, CEBPA dubbelmutant pos, MPN mutaties neg
- Cytogenetica: niet afwijkend
- IPSS-R: Hoog risico, waarvoor recentelijk allogene tpx