Carrefour Pathologie DIGITAL 2020

23 & 24 novembre
Votre Congrès 100 % numérique !

Le classement moléculaire des DLBCL-NOS selon l'algorithme de Hans est-il fiable en France ?

Résultats de l'évaluation externe de CD10, BCL6 et MUM1 organisée par l'AFAQAP en 2019

A. NICOLAE[1], T. MOLINA[2], C. EGELE[1], JP. BELLOCQ[1], MP. CHENARD[1]

[1]Département de Pathologie, CHU de Strasbourg
[2]Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Necker ENFANTS MALADES HÔPITAL UNIVERSITAIRE

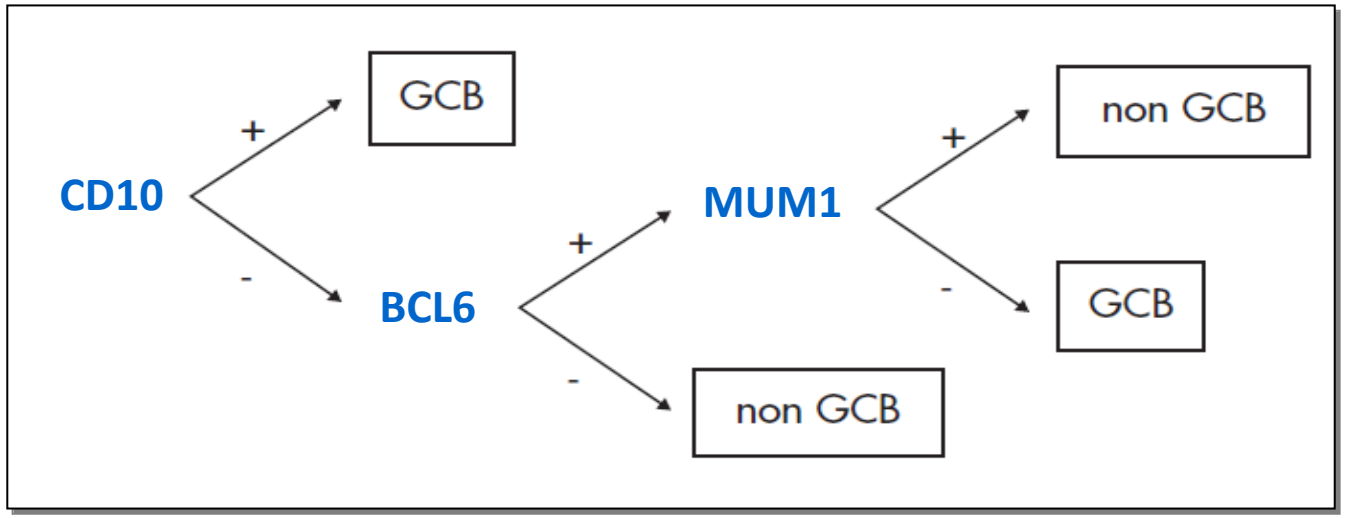
Les Hôpitaux Universitaires de STRASBOURG

afAQap ASSOCIATION FRANÇAISE D'ASSURANCE QUALITÉ EN ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Contexte

CD10, BCL6 et MUM1 : marqueurs immunohistochimiques de l'algorithme de Hans utilisé pour classer un lymphome B diffus à grandes cellules (DLBCL-NOS) en type GCB (*Germinal Center B cell-like*) ou non GCB (*ABC, Activated B Cell-like*).

Algorithme de Hans



En pratique clinique, valeur de cet algorithme parfois remise en question du fait de la variabilité des techniques et/ou des interprétations des marquages, par rapport aux analyses du transcriptome par RT-MLPA jugées plus fiables.

Contexte

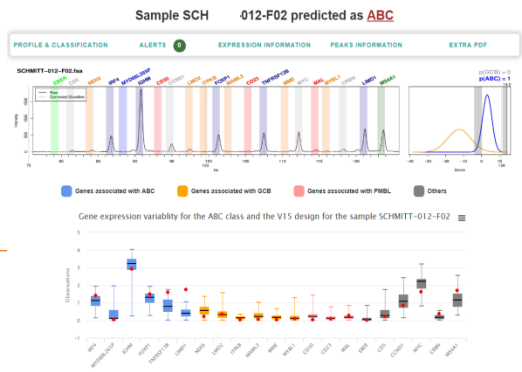
En 2019, organisation par l'AFAQAP d'un test national de comparaison inter-laboratoires CD10, BCL6 et MUM1.

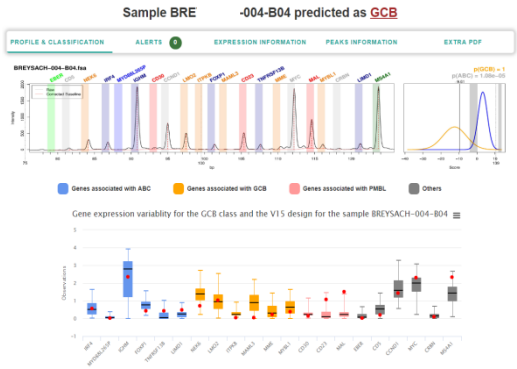
Objectifs :

- réaliser un état des lieux de l'utilisation de ces marqueurs en France,
- identifier les protocoles suboptimaux,
- proposer des améliorations

  - ➢ renforcer la fiabilité de l'algorithme de Hans et sa place dans la décision thérapeutique.

Matériel et méthode

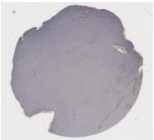
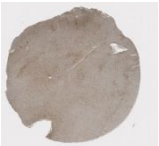
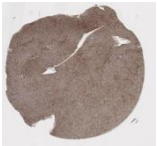
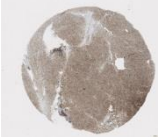
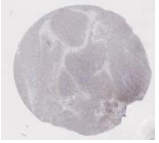




- ✓ Création d'un bloc en paraffine contenant 2 échantillons tissulaires :
  - Cas 1. DLBCL **non-GC** (ABC, Activated B Cell)
  - Cas 2. DLBCL **GC** (Germinal Center B cell)
- ✓ Envoi de lames blanches aux 35 participants
- ✓ Renvoi des 3 lames AFAQAP techniquées avec **CD10**, **BCL6** et **MUM1** selon le protocole de routine
- ✓ Relecture des lames par 3 pathologistes experts en hématopathologie

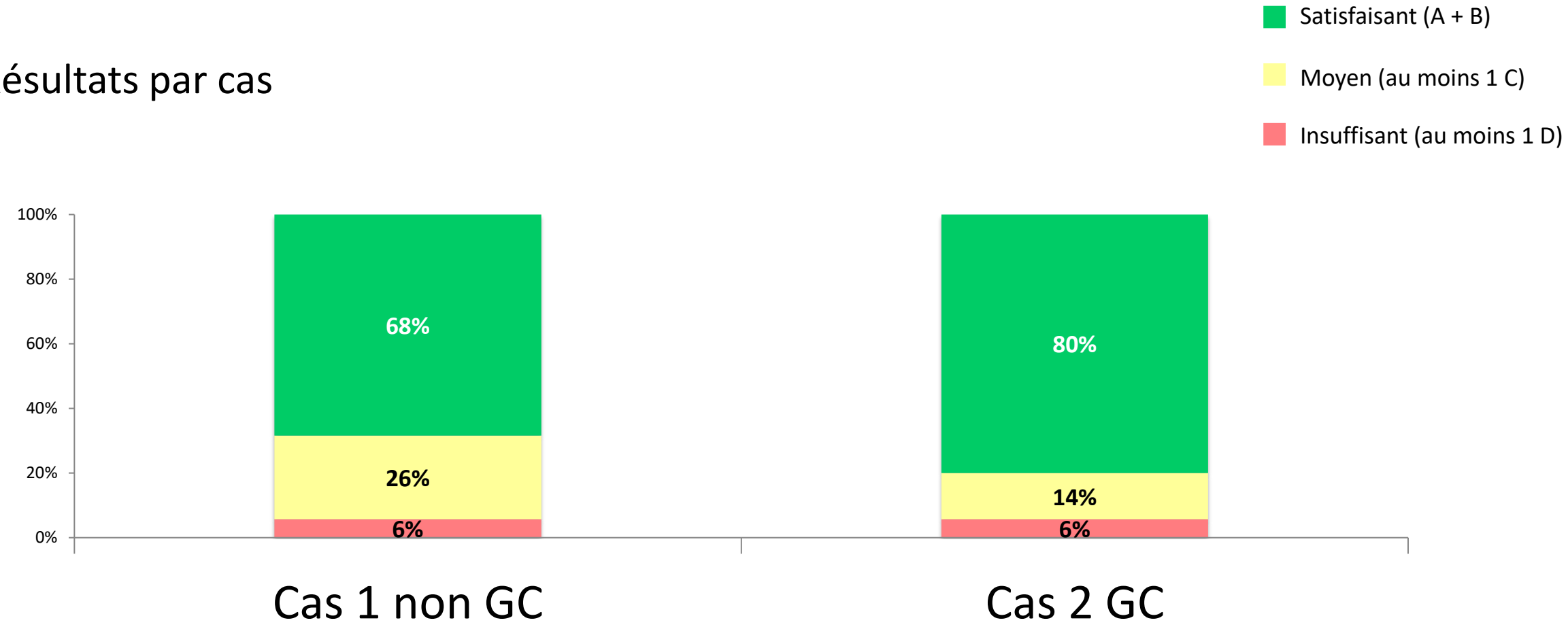
Matériel et méthode

- Résultats attendus

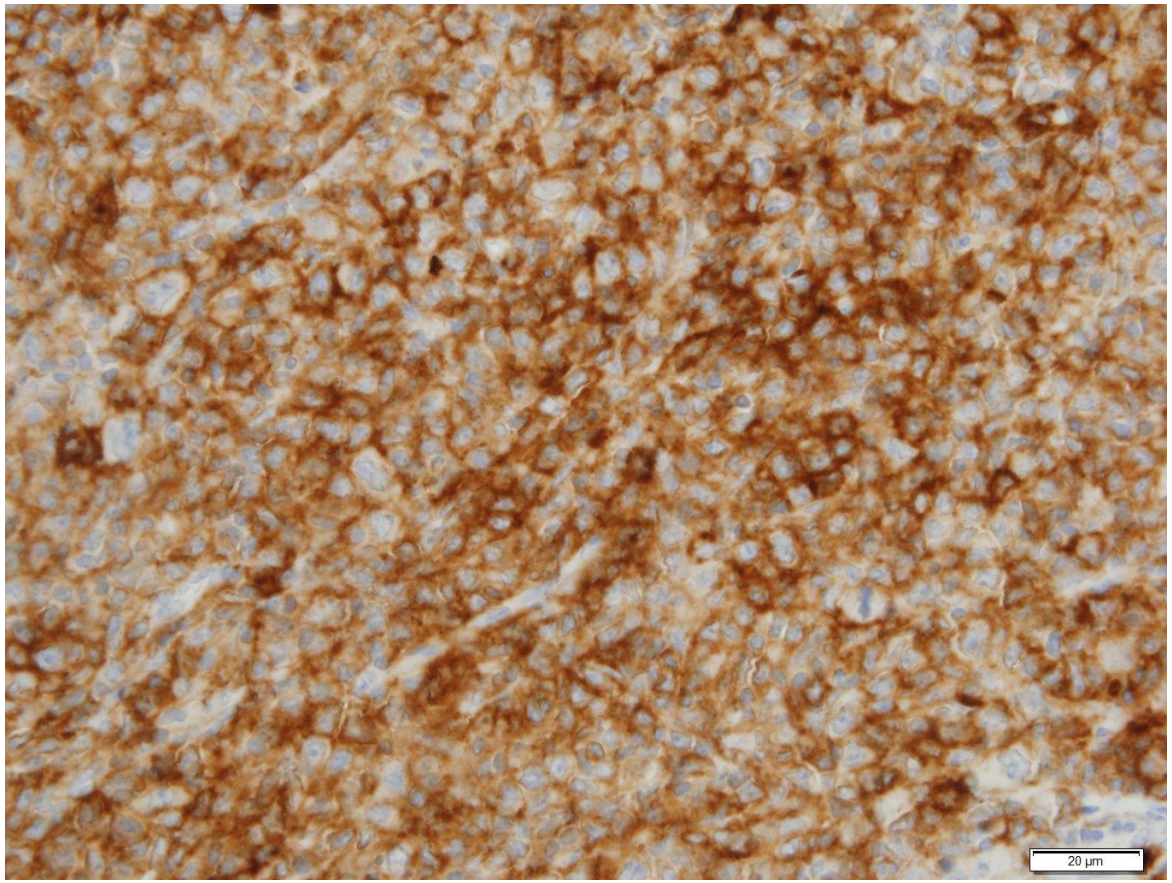
	CD10		BCL6		MUM1	
Cas 1 **non GC**		négatif		+/++ 30-50%		++/+++ 80%
Cas 2 **GC**		++/+++ 80%		+++ 80%		+/++ 20%

Résultats pour CD10

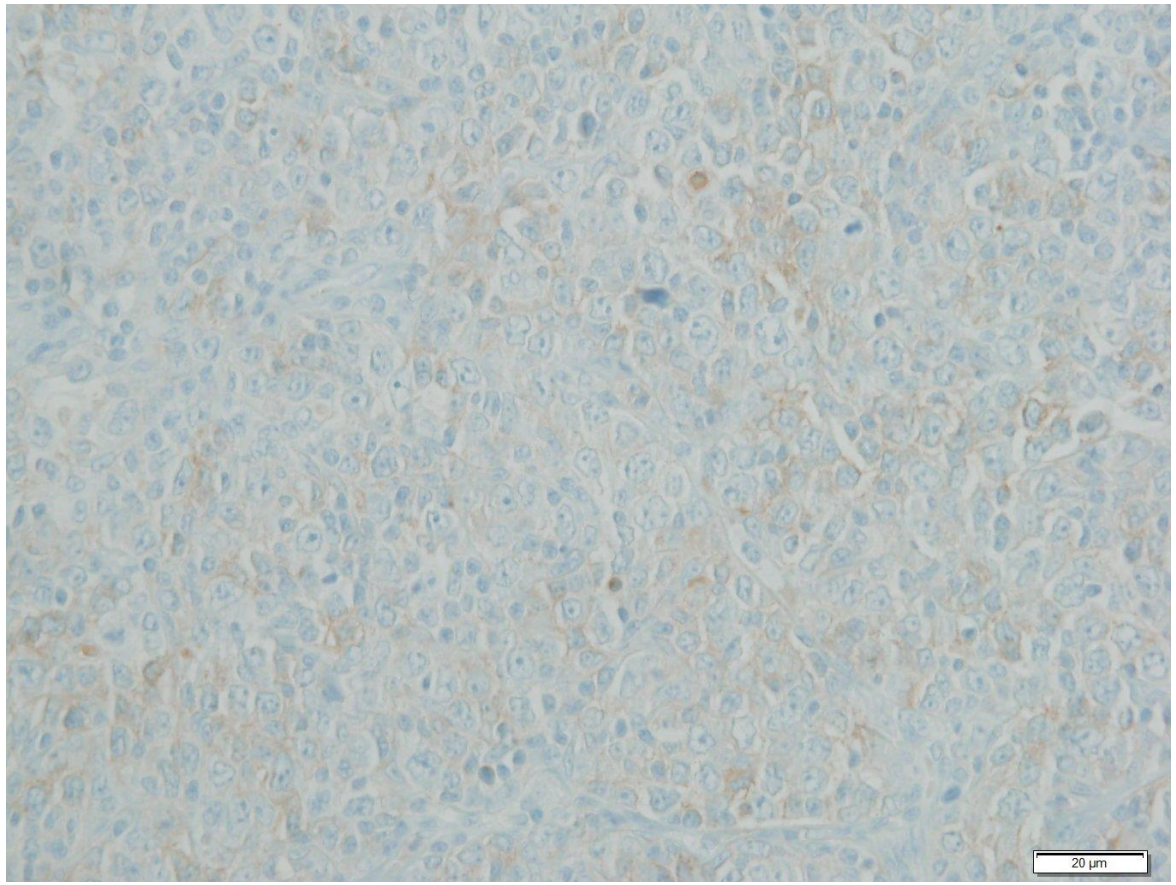
- Résultats par cas



CD10



GC : marquage optimal

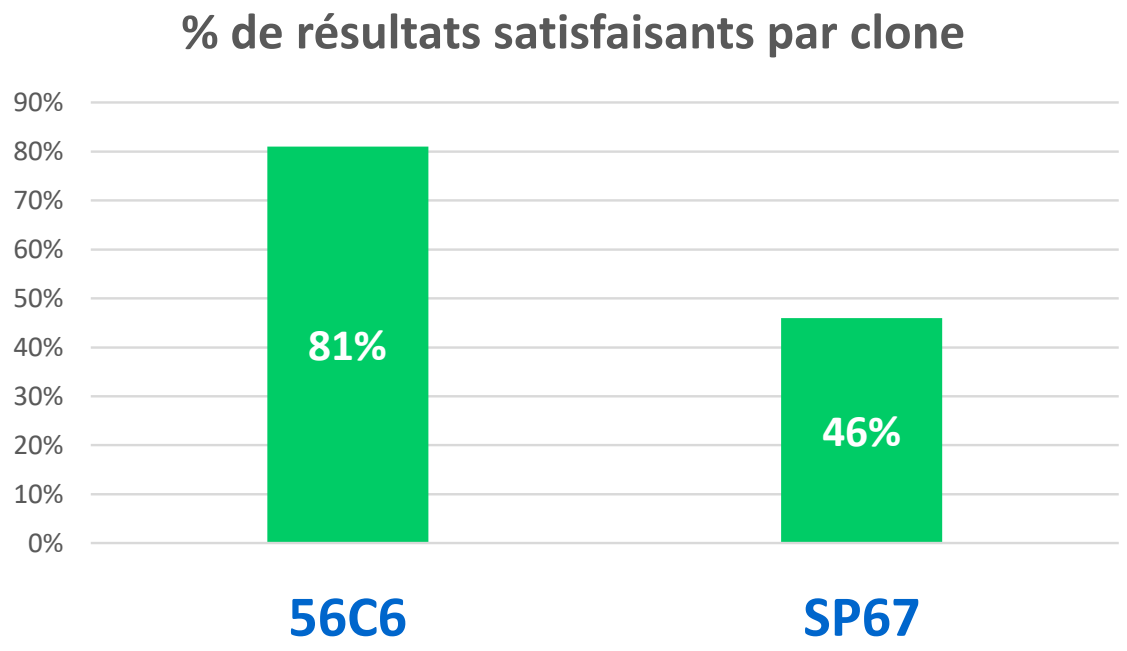


GC : marquage trop faible

Résultats pour CD10 (en fonction du clone)

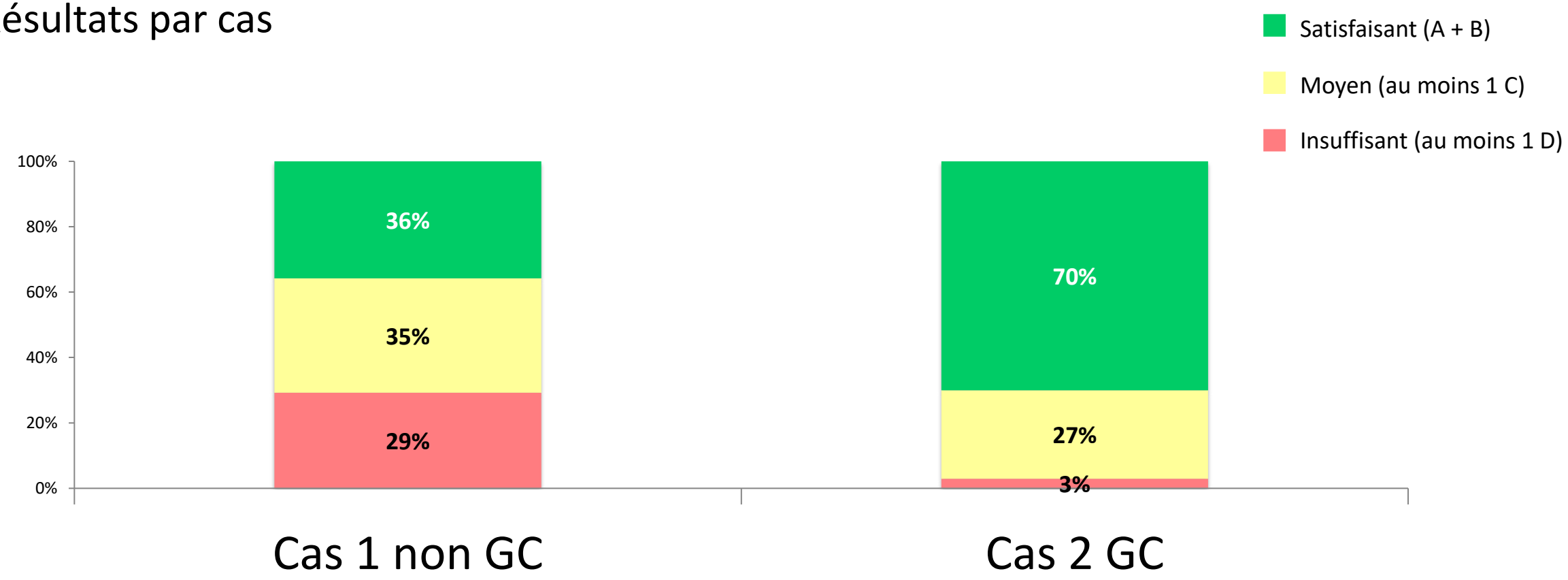
- ✓ 2 clones différents utilisés
  - **56C6** (Agilent-Dako, Leica, Cell Marque) : **60%** des participants. Sur les 4 plateformes
  - **SP67** (Roche-Ventana) : **37%** des participants. Toujours sur plateforme Ventana

- ✓ RESULTATS :

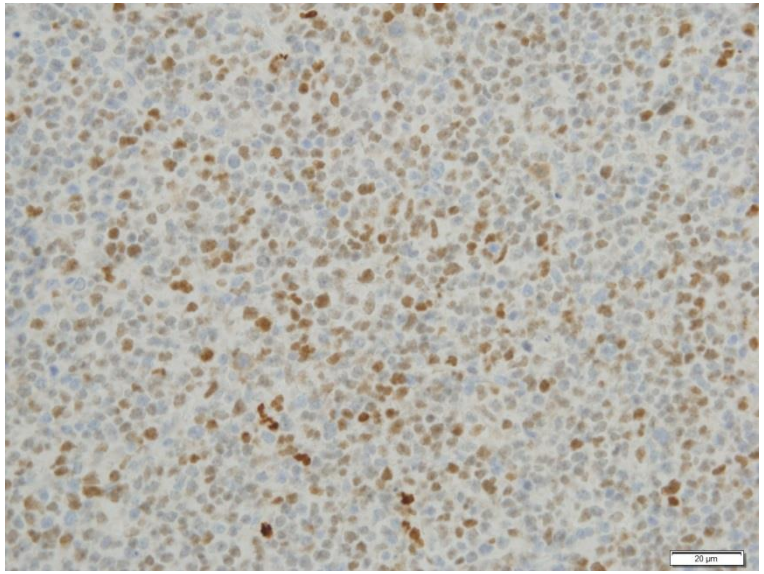


Résultats pour BCL6

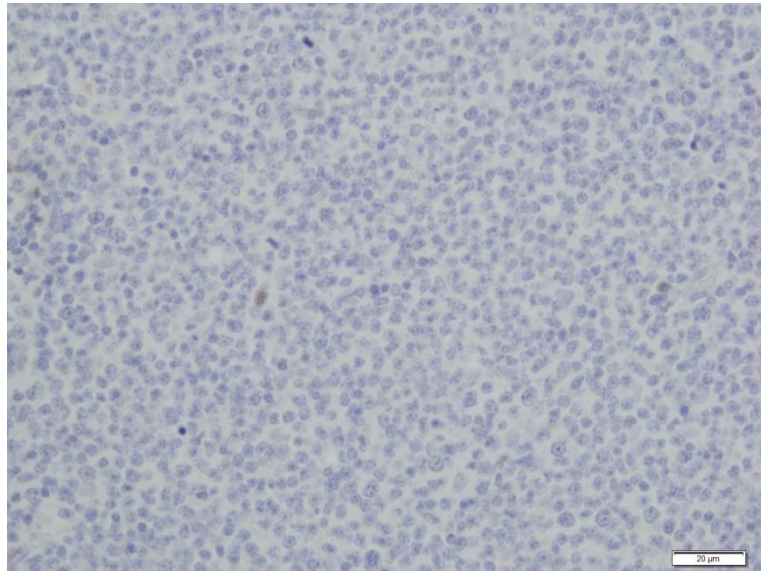
- Résultats par cas



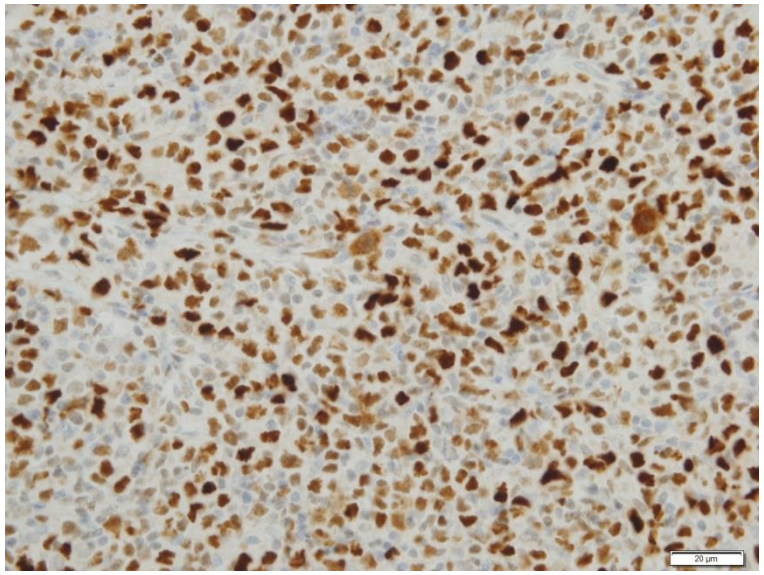
BCL6



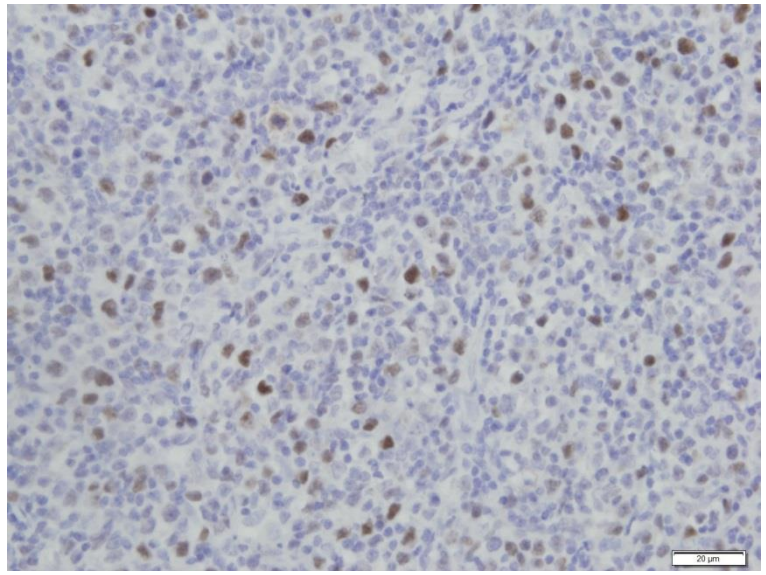
Non GC : marquage optimal



Non GC : marquage trop faible



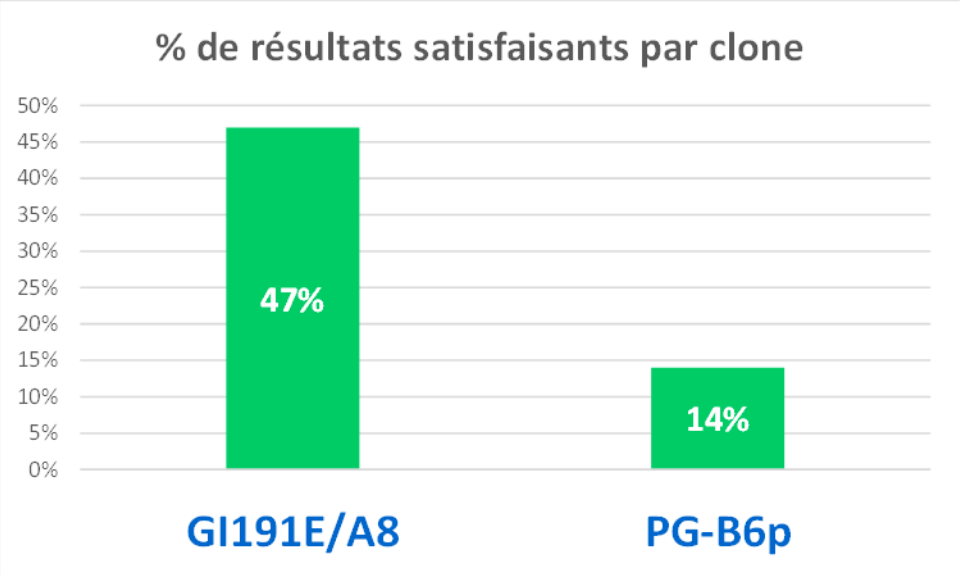
GC : marquage optimal



GC : marquage trop faible

Résultats pour BCL6 (en fonction du clone)

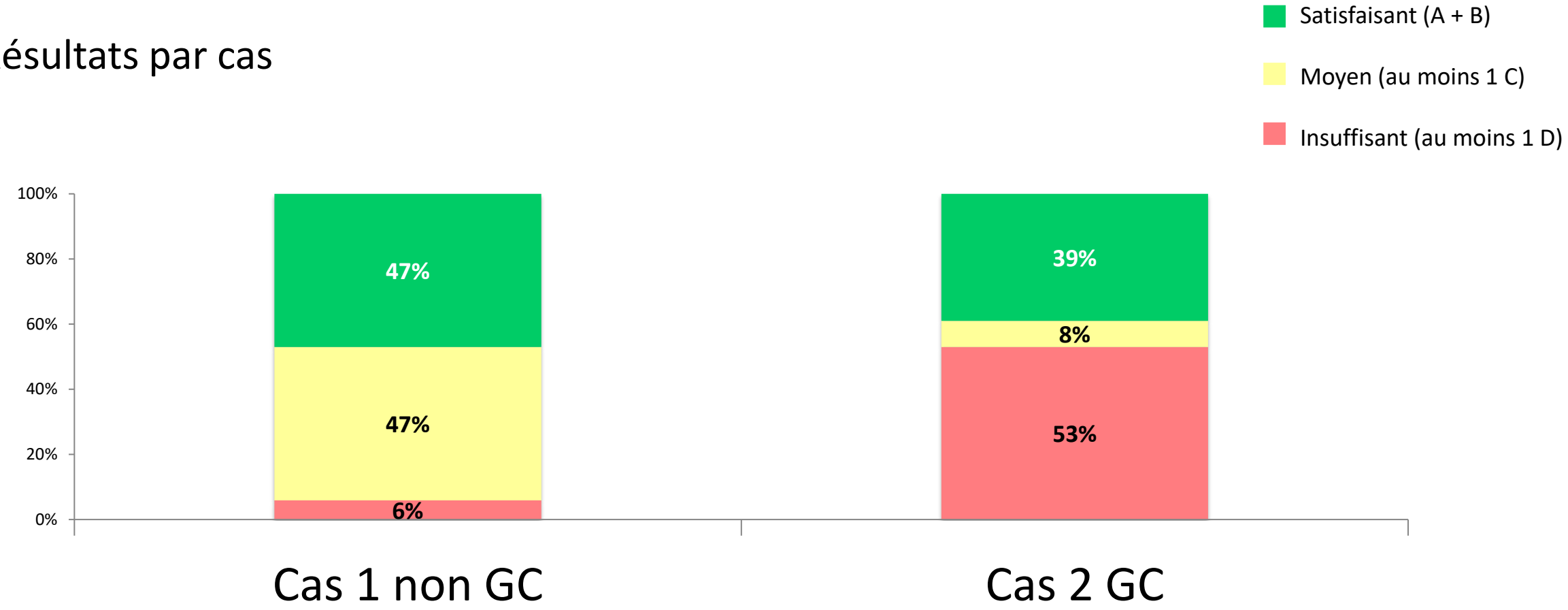
- ✓ 3 clones différents utilisés
  - **GI191E/A8** (Roche-Ventana ou Cell Marque) : 50%. Toujours sur plateforme Ventana
    - ➢ 47% satisfaisants
  - **PG-B6p** (Agilent-Dako) : 41%. Sur les 4 plateformes
    - ➢ 14% satisfaisants, uniquement sur Bond
  - LN22 (Leica) : 6% (2x). Sur la plateforme Bond
    - ➢ 2/2 cas (100%) satisfaisants



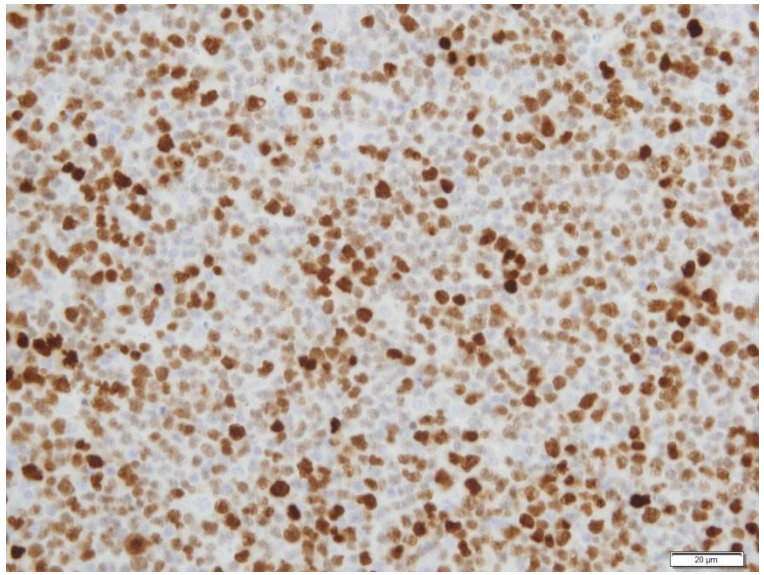
Tous les cas non satisfaisants ont un marquage trop faible

Résultats pour MUM1

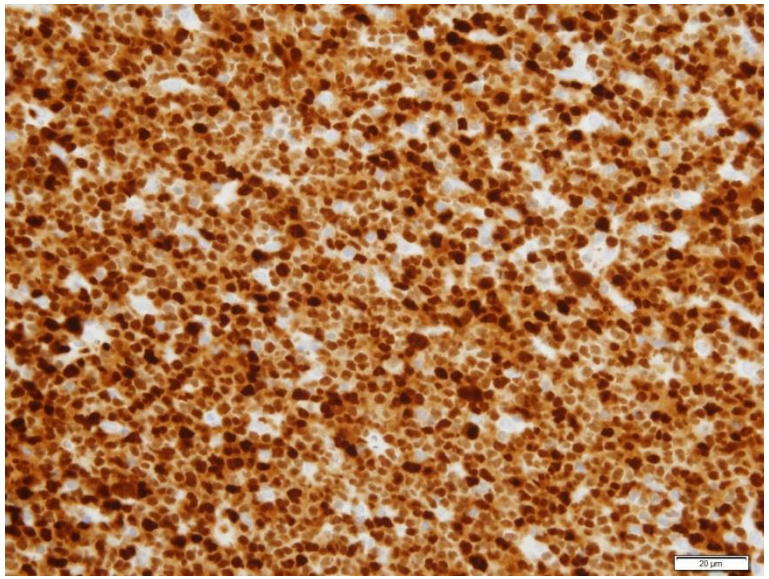
- Résultats par cas



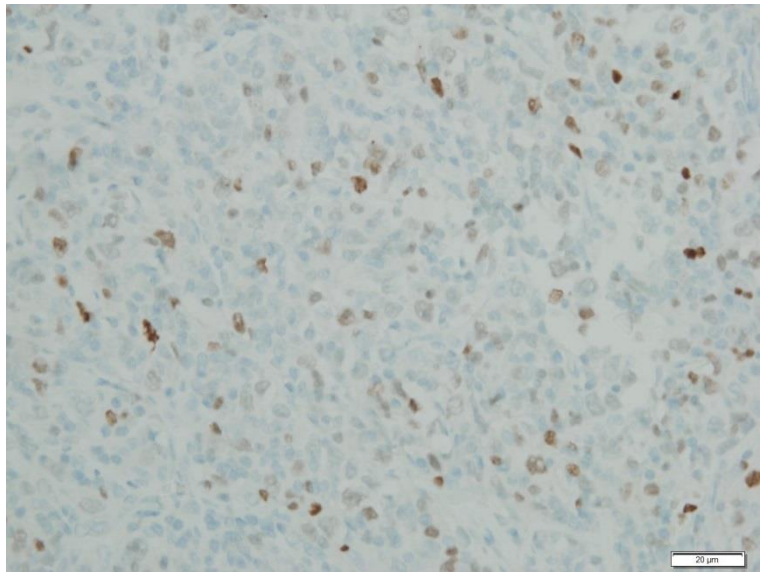
MUM1



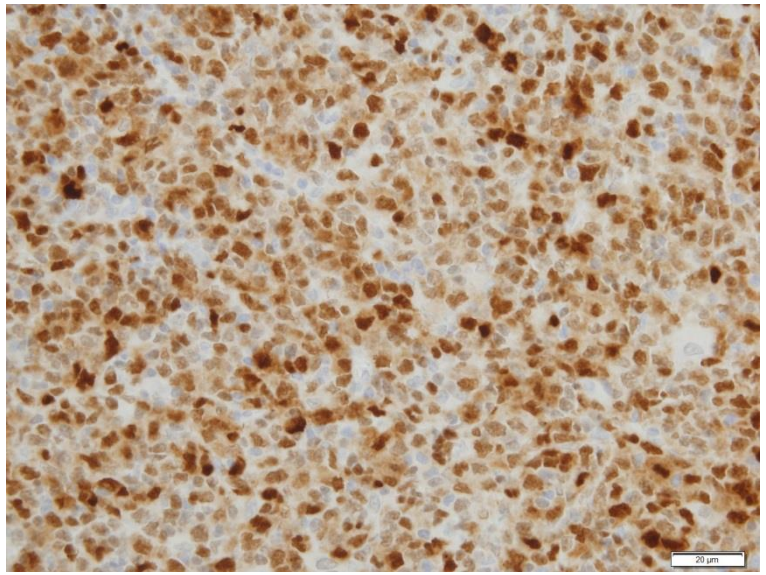
Non GC : marquage optimal



Non GC : marquage trop fort



GC : marquage optimal



GC : marquage trop fort

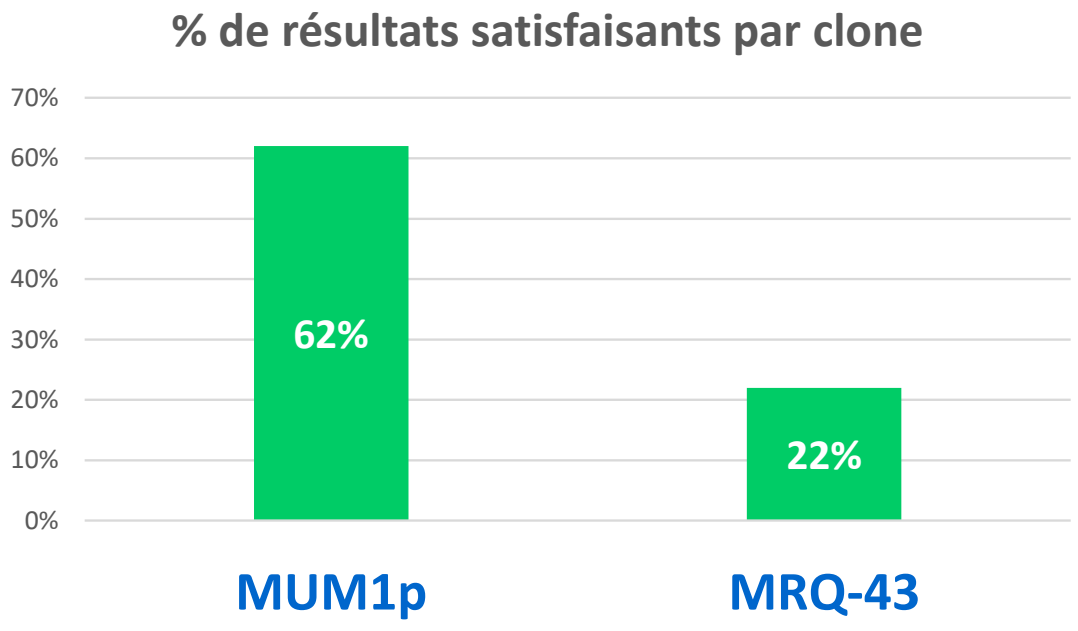
Résultats pour MUM1 (en fonction du clone)

✓ 4 clones différents utilisés

- **MUM1p** (Agilent-Dako ou DBS) : **62%**.
  Au total 62% de cas satisfaisants
  - ➢ 100% de cas satisfaisants sur Omnis (3/3 cas)
  - ➢ 80% sur Ventana (8/10 cas)
  - ➢ 50% sur Autostainer (1/2 cas)
  - ➢ 17% sur Bond (1/6 cas)

- **MRQ-43** (Roche-Ventana ou Cell Marque) : **26%**.
  Toujours sur plateforme Ventana
  - ➢ 22% satisfaisants

- EP190 (Roche-Ventana) : **6%** (2x). Sur Ventana.
- EAU32 (Leica) : **3%** (1x). Sur Bond.
  - ➢ aucun cas satisfaisant



Tous les cas non satisfaisants ont un marquage trop fort

Discussion

Dans cet EEQ de l'AFAQAP

- 94% des participants ont réussi à bien classer les cas avec l'Ac CD10.
- Les résultats pour BCL6 sont moyens, avec un marquage souvent trop faible.
  - Risque de générer des faux négatifs, donc de classer à tort un cas CD10 négatif en non-GC.
- Pour MUM1, les protocoles sont souvent trop sensibles, d'où un marquage trop fort.
  - Risque de générer des faux positifs, donc de classer à tort un cas CD10 négatif en non-GC.

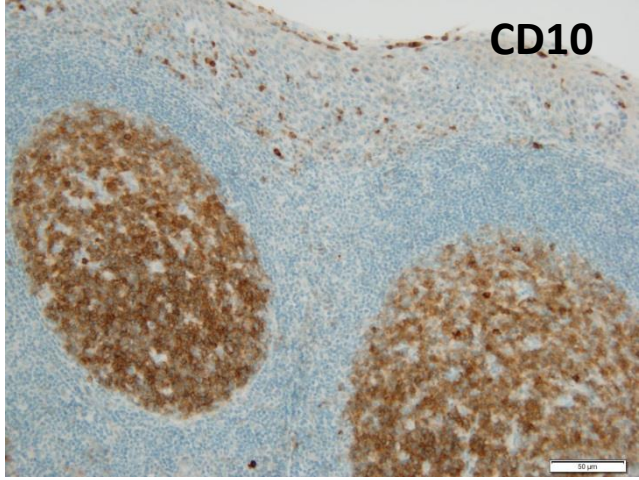
Discussion

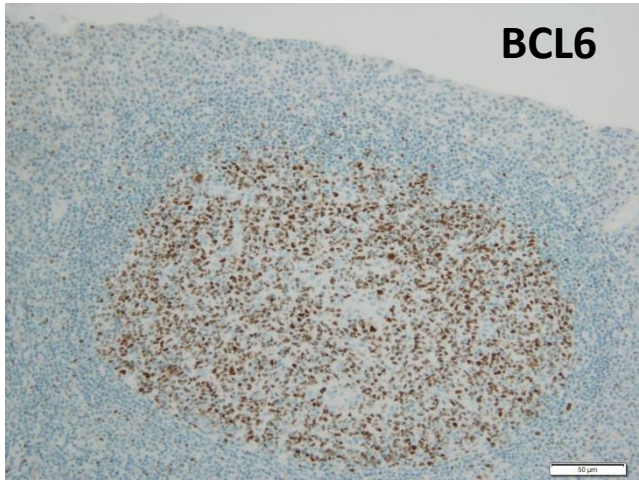
Quel témoin choisir pour calibrer la technique ?

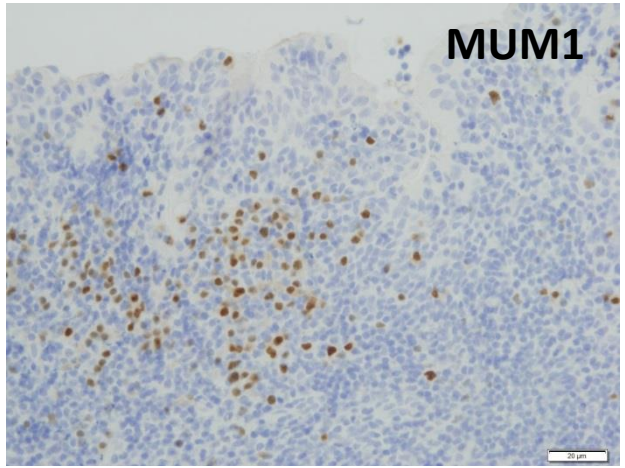
l'amygdale

- CD10 et BCL6 : marquage au moins d'intensité modérée, membranaire pour CD10 et nucléaire pour BCL6, de l'ensemble des **cellules B des centres germinatifs**.

- MUM1 : marquage nucléaire d'intensité modérée à forte des **plasmocytes**. Le cytoplasme doit être négatif ou très faiblement marqué







Conclusion

- Une parfaite maîtrise technique des IHC CD10, BCL6 et MUM1 est un prérequis pour séparer les DLBCL en GCB/non-GCB.

- Dans cet EEQ de l'AFAQAP
  - Les résultats de CD10 sont satisfaisants.
  - Les résultats de BCL6 sont perfectibles, le marquage étant souvent trop faible.
  - Les résultats de MUM1 sont médiocres, avec des marquages trop forts, et doivent être améliorés.

- Des protocoles optimaux ont été identifiés pour les 3 marqueurs, adaptables aux différentes plateformes.
  Leur diffusion sur le site de l'AFAQAP devrait permettre aux structures ayant obtenu un résultat insuffisant ou moyen d'améliorer leur technique.

- Le test sera reconduit en 2021.