

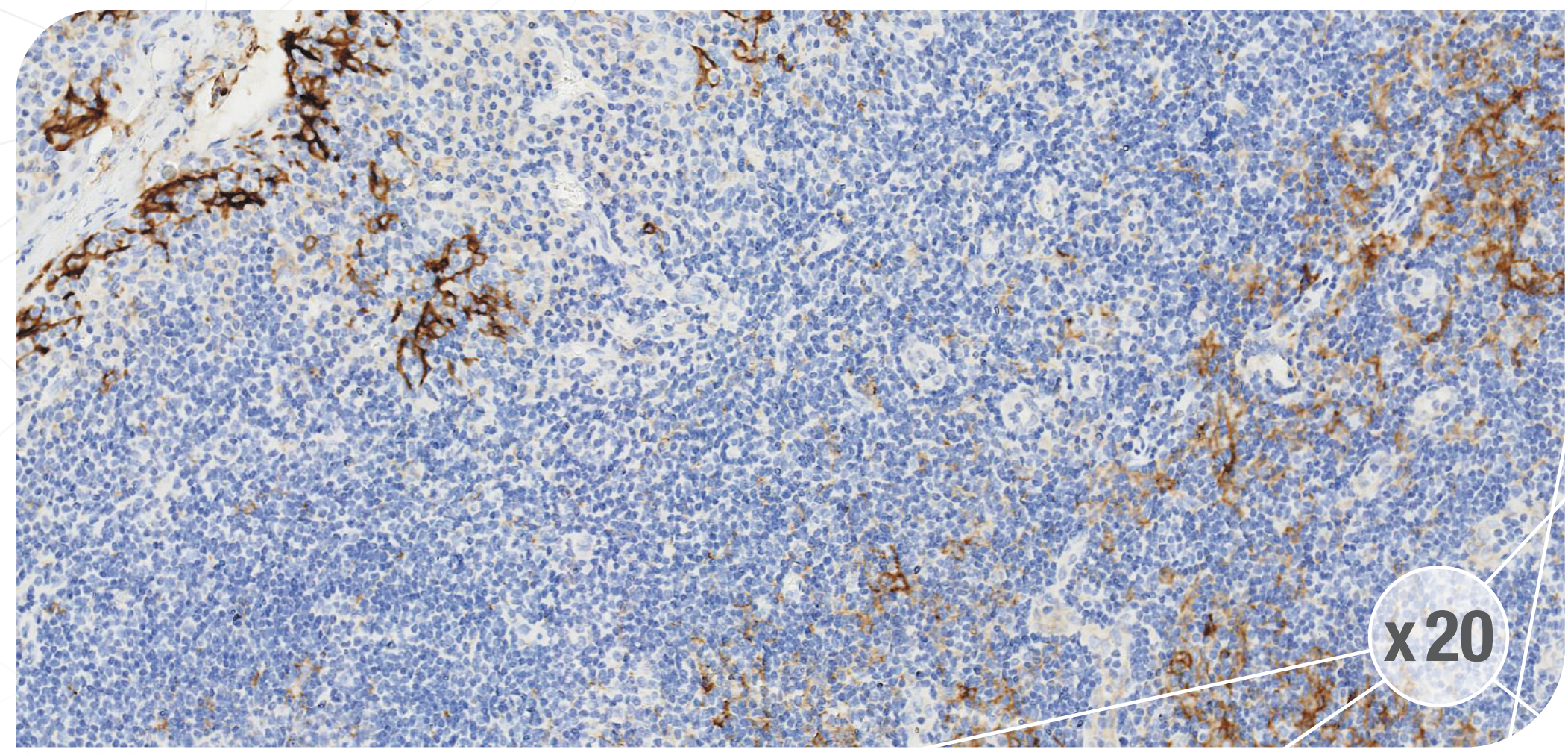
PILOTE

LES BIOMARQUEURS
PRÉDICTIFS À L'ÈRE DE
L'IMMUNOTHÉRAPIE



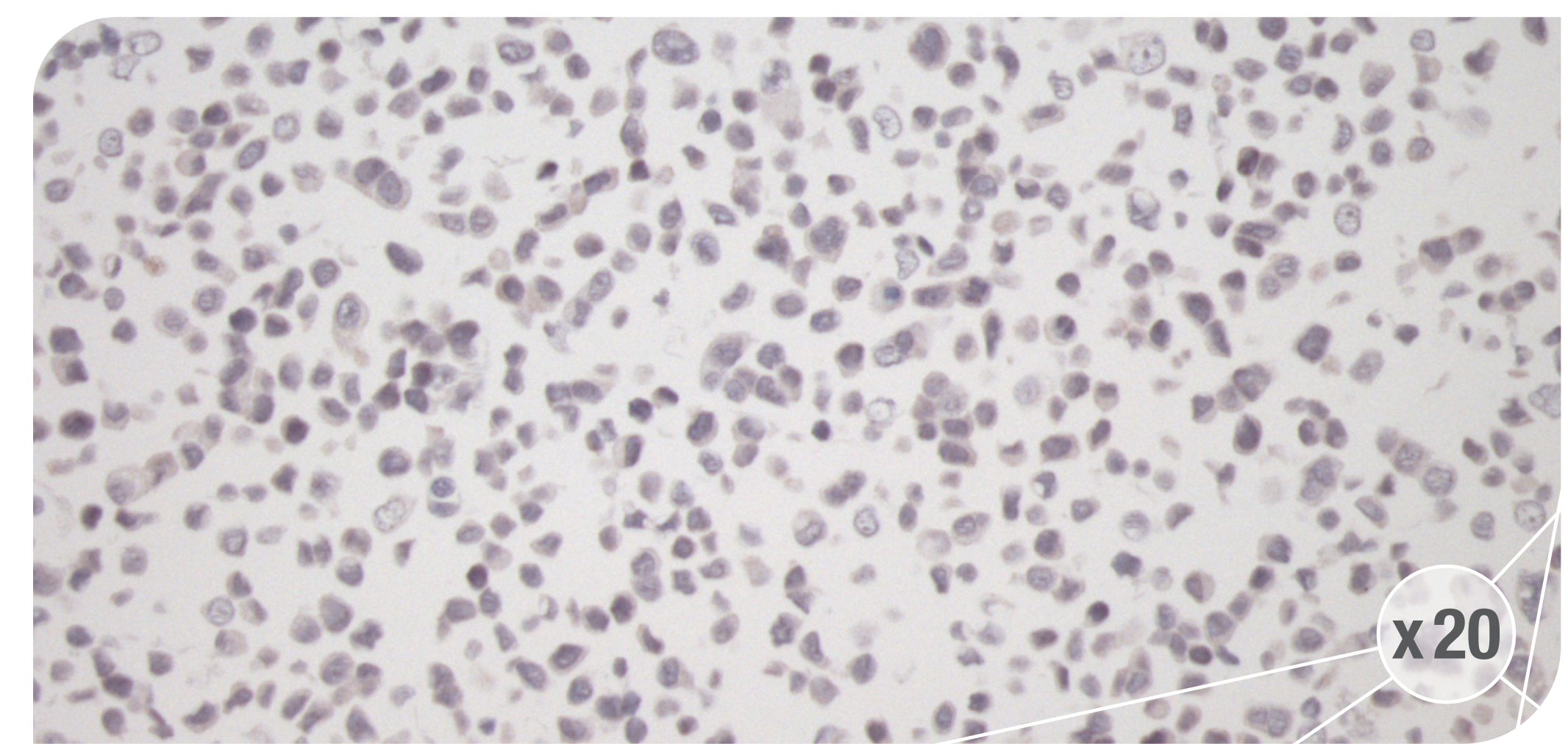
VALIDATION DES CONTRÔLES NÉGATIFS [1-3]

Tissu amygdalien



- Absence de marquage de l'endothélium, des fibroblastes et de l'épithélium de surface.

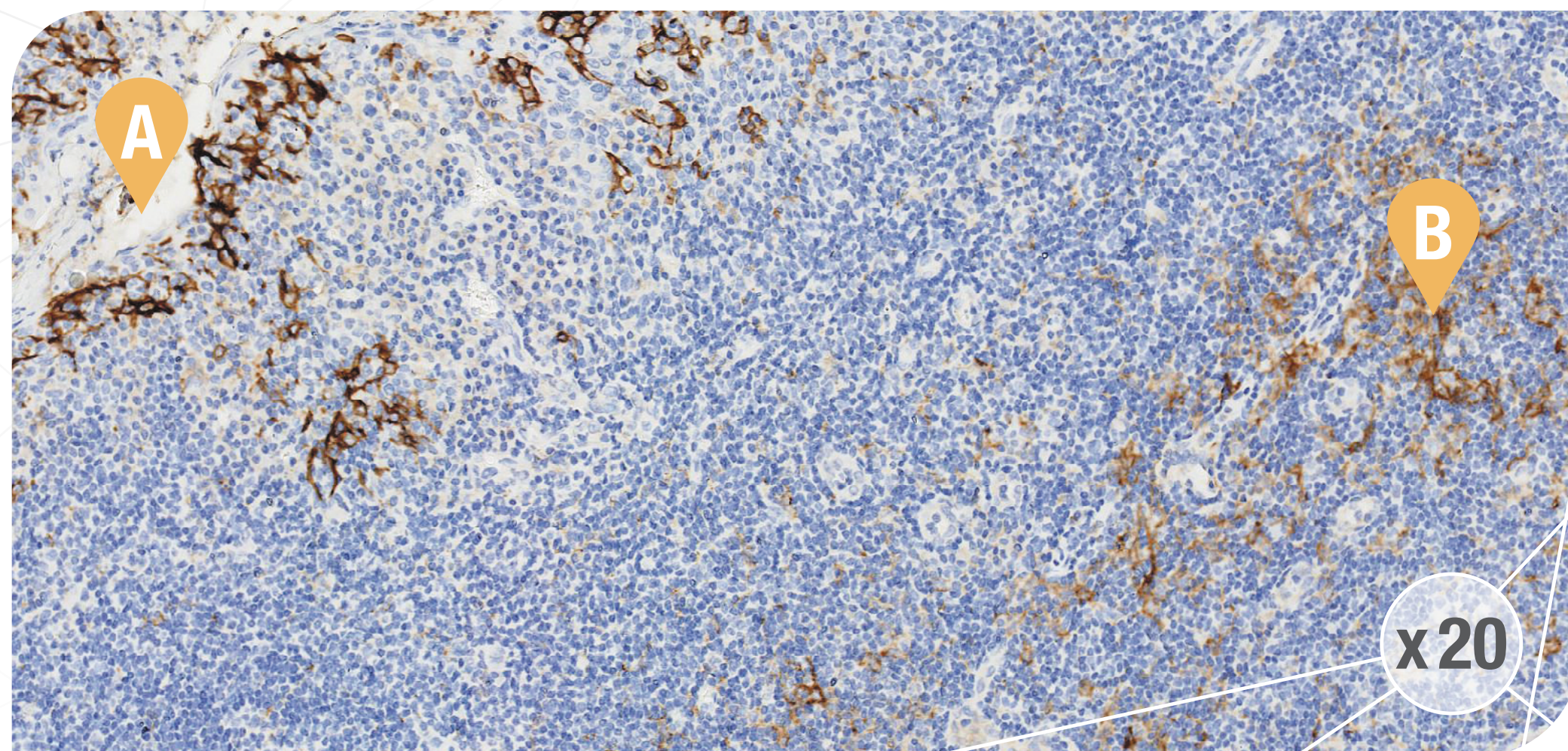
Lignées cellulaires **negatives**



- Absence de marquage membranaire des **lignées cellulaires negatives**.

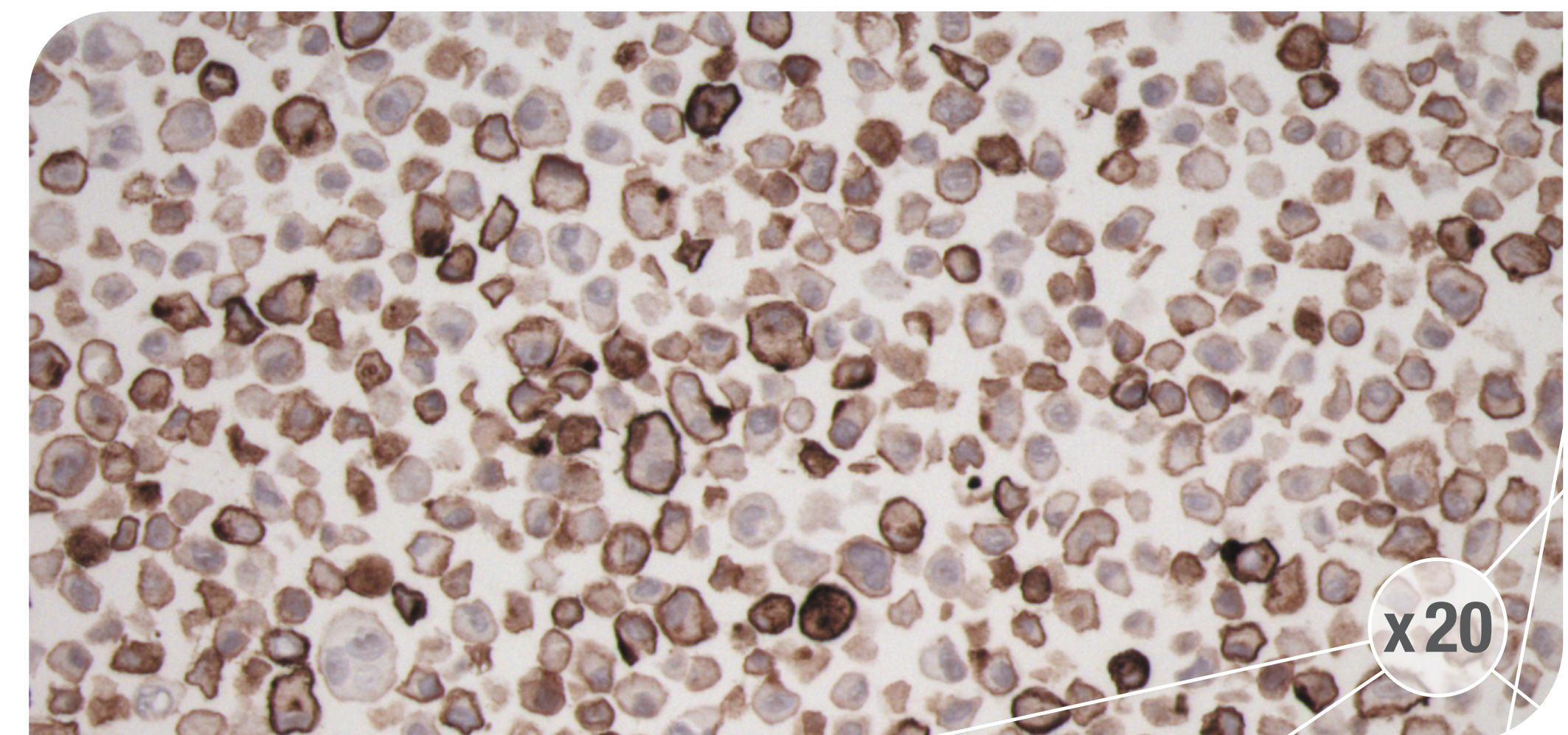
VALIDATION DES CONTRÔLES POSITIFS [1-3]

Tissu amygdalien



- **Marquage membranaire et/ou cytoplasmique** (selon le type cellulaire) et de différentes intensités.
- Forte coloration de l'épithélium cryptique. **A**
- Coloration faible à modérée des macrophages folliculaires des centres germinatifs. **B**

Lignées cellulaires **positives**



- **Marquage membranaire** de différentes intensités.

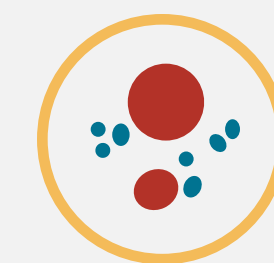
! Dans les deux cas : faible bruit de fond.
Le tissu placentaire n'est pas adapté car il ne permet pas de visualiser les faibles niveaux d'expression.

IHC PD-L1 ET TPS [2]

Seules les cellules tumorales sont concernées

Les **cellules tumorales marquées** à intégrer au numérateur sont uniquement celles présentant un **marquage** membranaire, complet ou incomplet, quelle que soit son intensité.

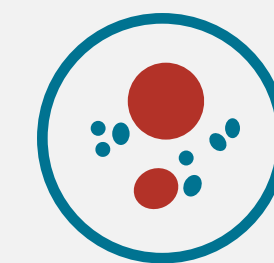
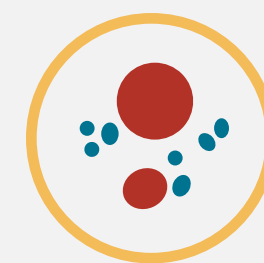
Tumor Proportion Score
(Score de Proportion Tumorale)



Cellules tumorales +

$$\text{TPS} = \frac{\text{Cellules tumorales +}}{\text{Cellules tumorales viables}} \times 100$$

Le TPS est exprimé en %

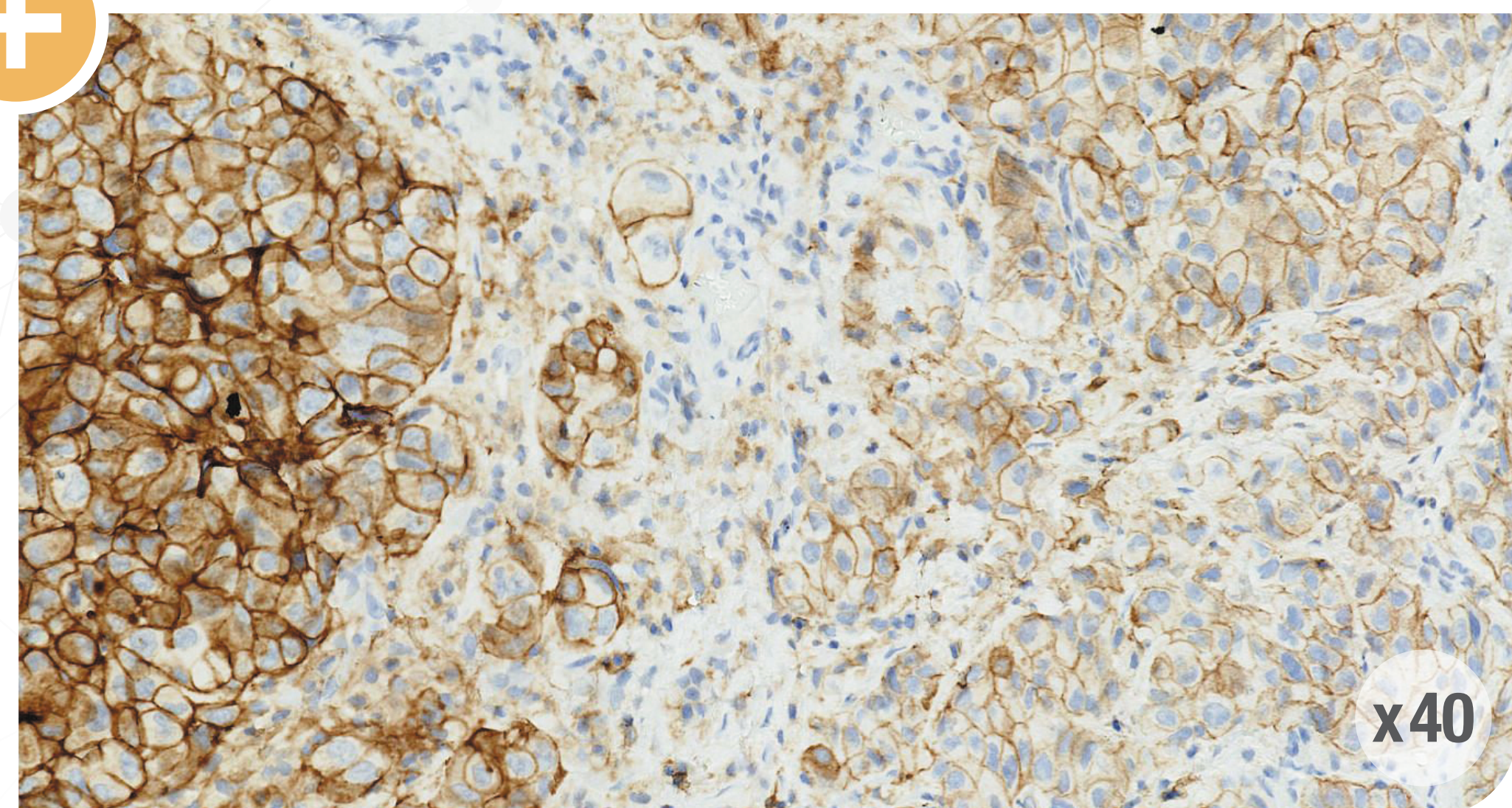


Cellules tumorales viables

Toutes les **cellules tumorales viables (marquées ou non)**, présentes sur la lame, doivent être intégrées au dénominateur.

Un minimum de 100 cellules tumorales viables est recommandé.

IHC PD-L1 ET TPS EN IMAGES [1,2]

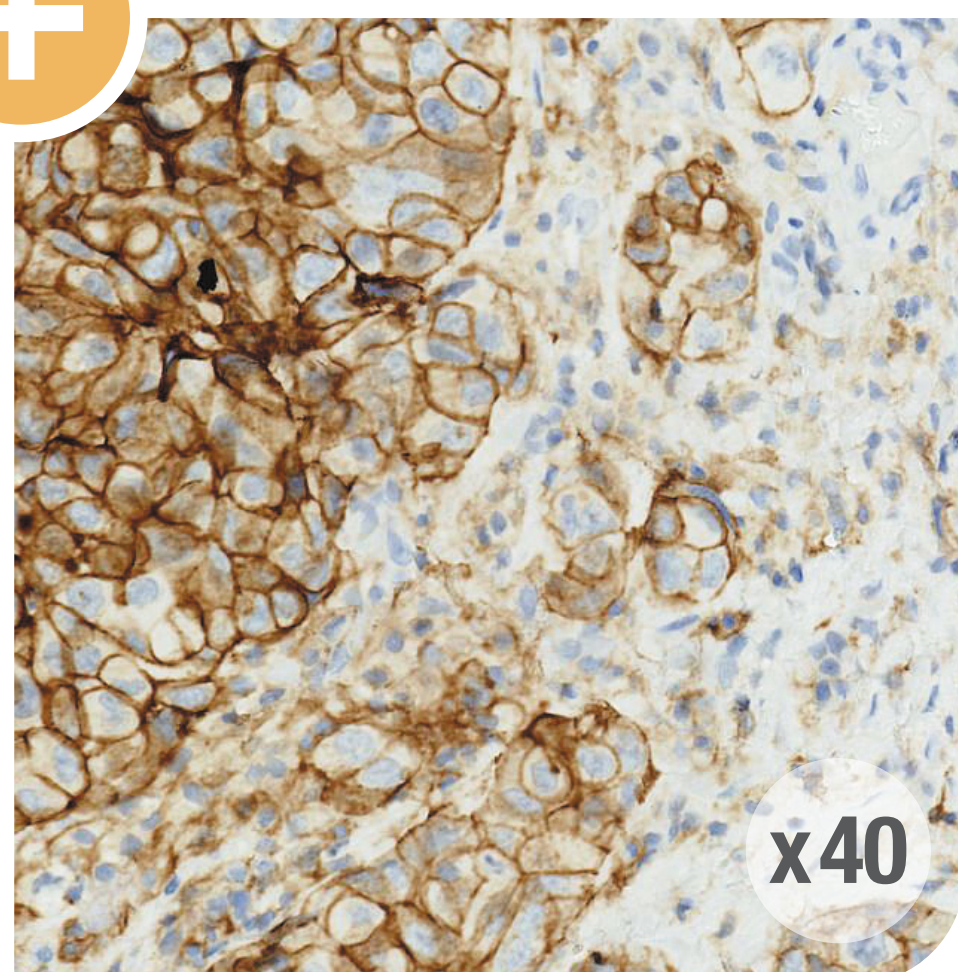


Cellules tumorales + — Marquage membranaire linéaire, complet ou non et quelle qu'en soit l'intensité

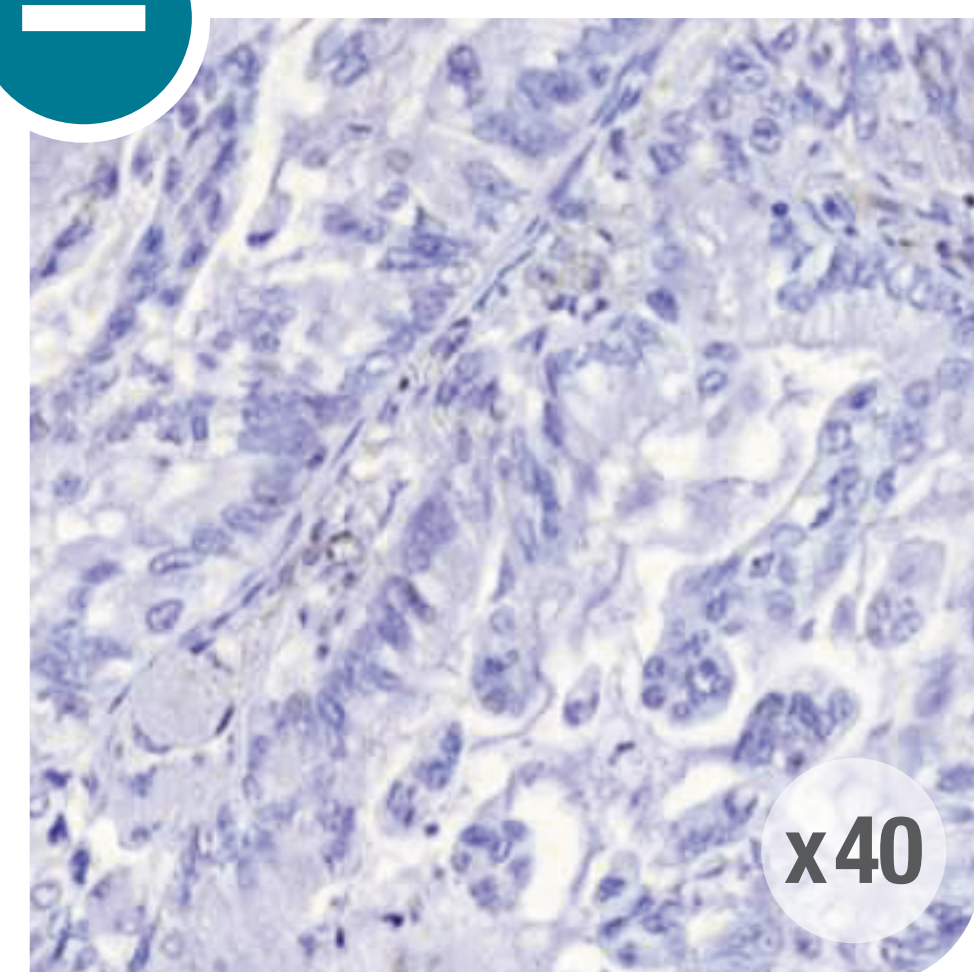
TPS = _____ X 100



Cellules tumorales +

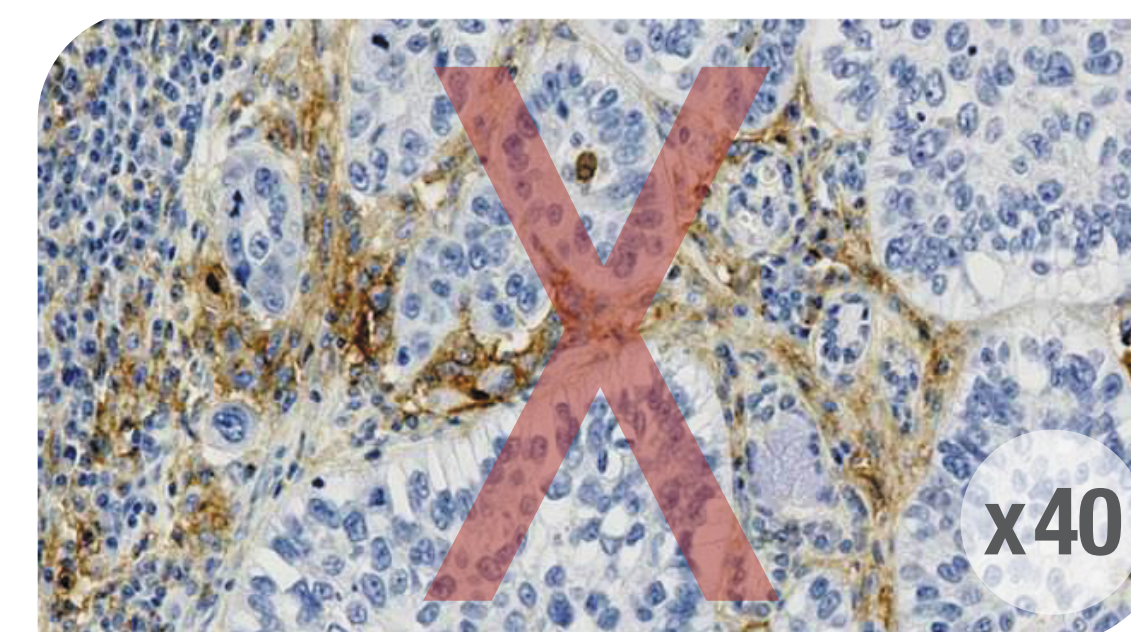


Cellules tumorales -

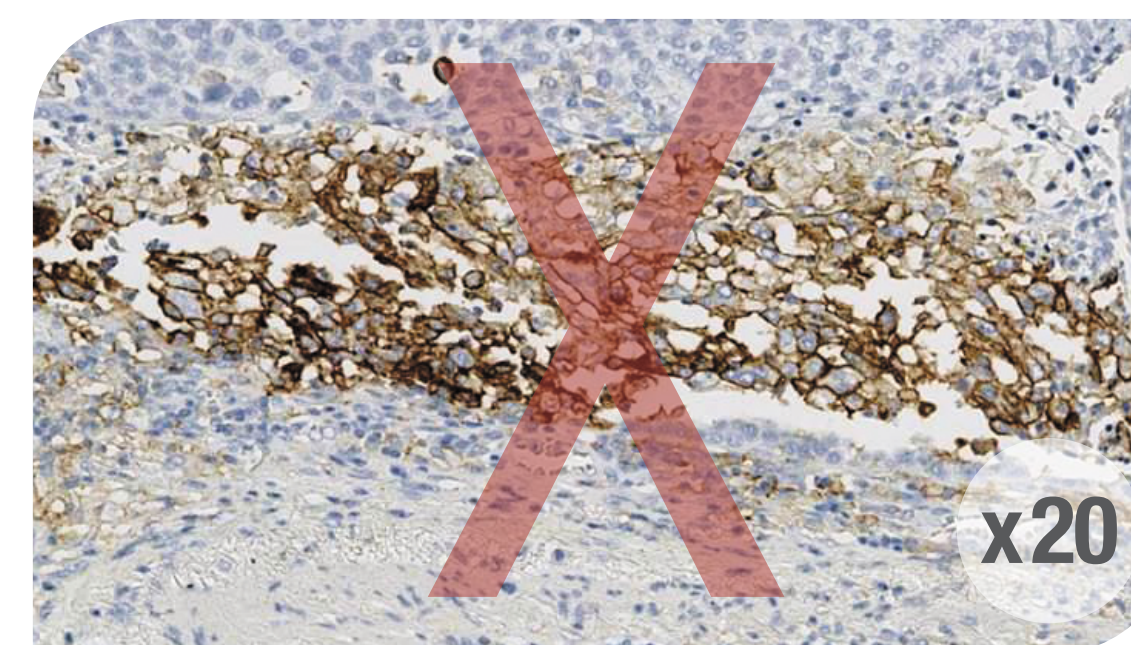


! À NE PAS PRENDRE EN COMPTE

Cellules immunitaires



Zone tumorale nécrotique



EN PRATIQUE | MÉTHODE 1 [2]

Les cellules positives sont regroupées dans une zone délimitée de l'échantillon

FAIBLE GROSSISSEMENT

Évaluer la superficie de la zone contenant les cellules positives

FORT GROSSISSEMENT x40

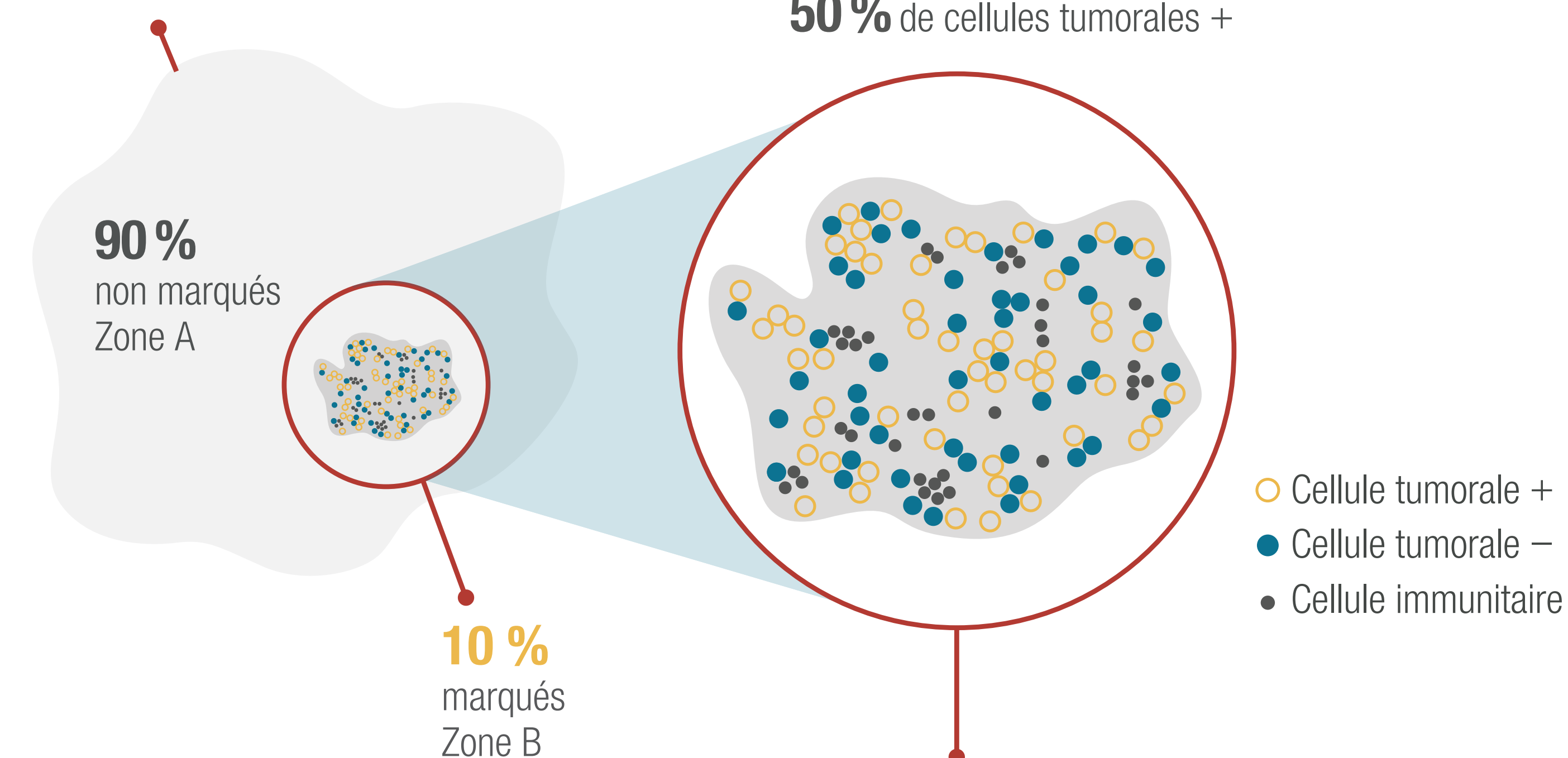
Dans cette zone

- Compter le nombre de CT positives
- Déterminer le nombre de CT viables

POSITIVITÉ GLOBALE

Rapporter la positivité à l'ensemble de l'échantillon

Ensemble de l'échantillon tumoral



$$\text{TPS}_{\text{Zone B}} = \frac{50 \text{ CT PD-L1} +}{100 \text{ CT viables}} \times 100 = 50 \%$$

$$\text{TPS}_{\text{total}} = 10 \% (\text{zone marquée}) \times 50 \% = 5 \%$$

EN PRATIQUE | MÉTHODE 2 [2]

Les cellules positives sont distribuées de manière hétérogène dans l'échantillon

FAIBLE GROSSISSEMENT

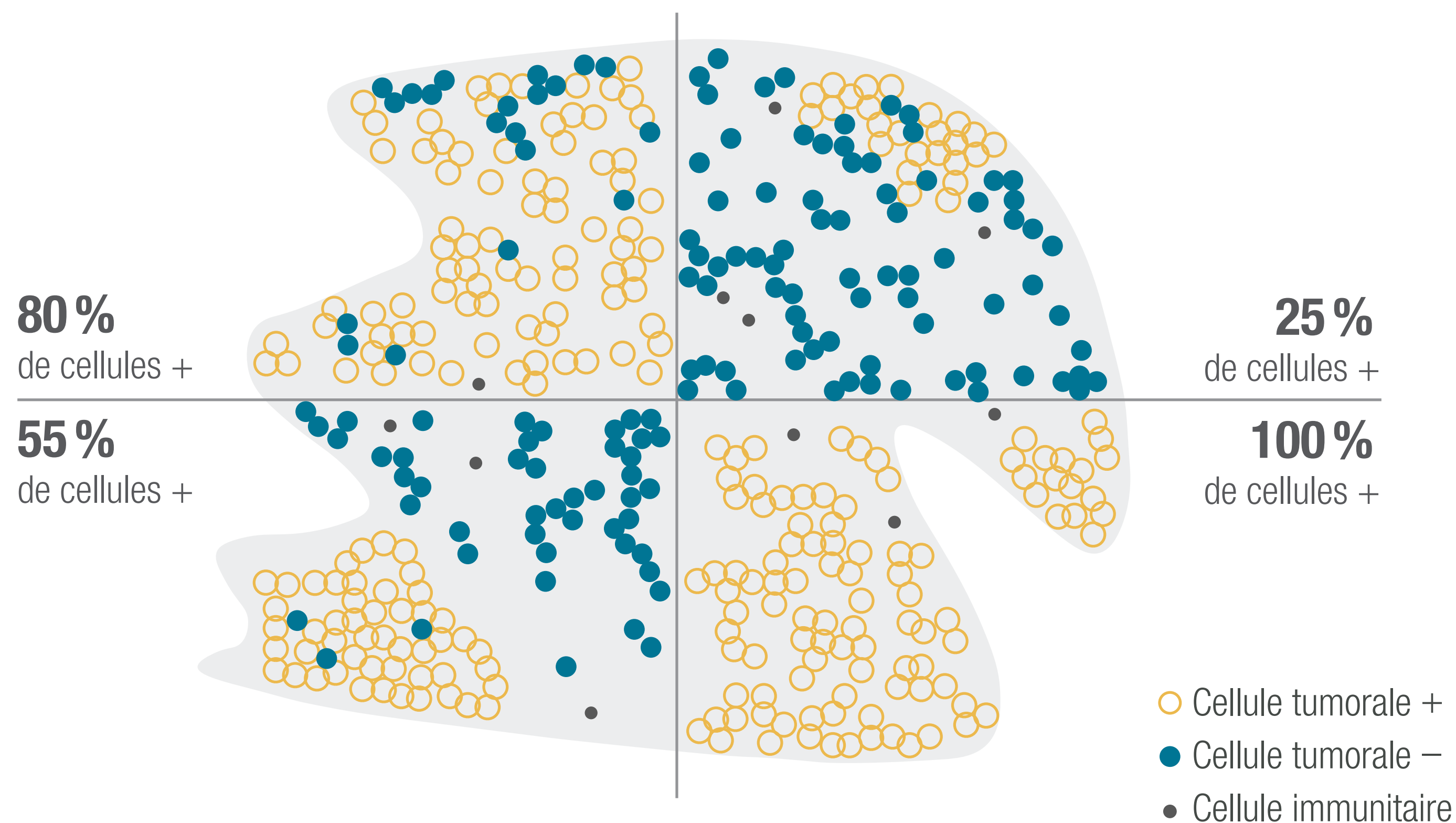
Diviser l'échantillon en plusieurs zones de taille égale

FORT GROSSISSEMENT x40

Déterminer le TPS au sein de chaque zone

POSITIVITÉ GLOBALE

Calculer la moyenne de toutes les zones



$$\text{TPS} = (80\% + 25\% + 55\% + 100\%) / 4 \approx 65\%$$

MÉTHODE ALTERNATIVE :

- 1) Diviser la tumeur en zones présentant une expression tumorale homogène et évaluer leur superficie
- 2) Déterminer le TPS de chaque zone puis le rapporter à la taille globale de l'échantillon tumoral
- 3) Additionner le tout pour obtenir le TPS global

IHC PD-L1 ET CPS [2]

Les cellules tumorales et les cellules immunitaires mononucléées associées à la tumeur sont concernées

Les **cellules tumorales** présentant un marquage membranaire, complet ou incomplet, quelle que soit son intensité, et les **cellules immunitaires mononucléées** associées à la tumeur (lymphocytes et macrophages), présentant un **marquage** membranaire et/ou cytoplasmique, doivent être intégrées au numérateur.

Combined Positive Score
(Score Positif Combiné)

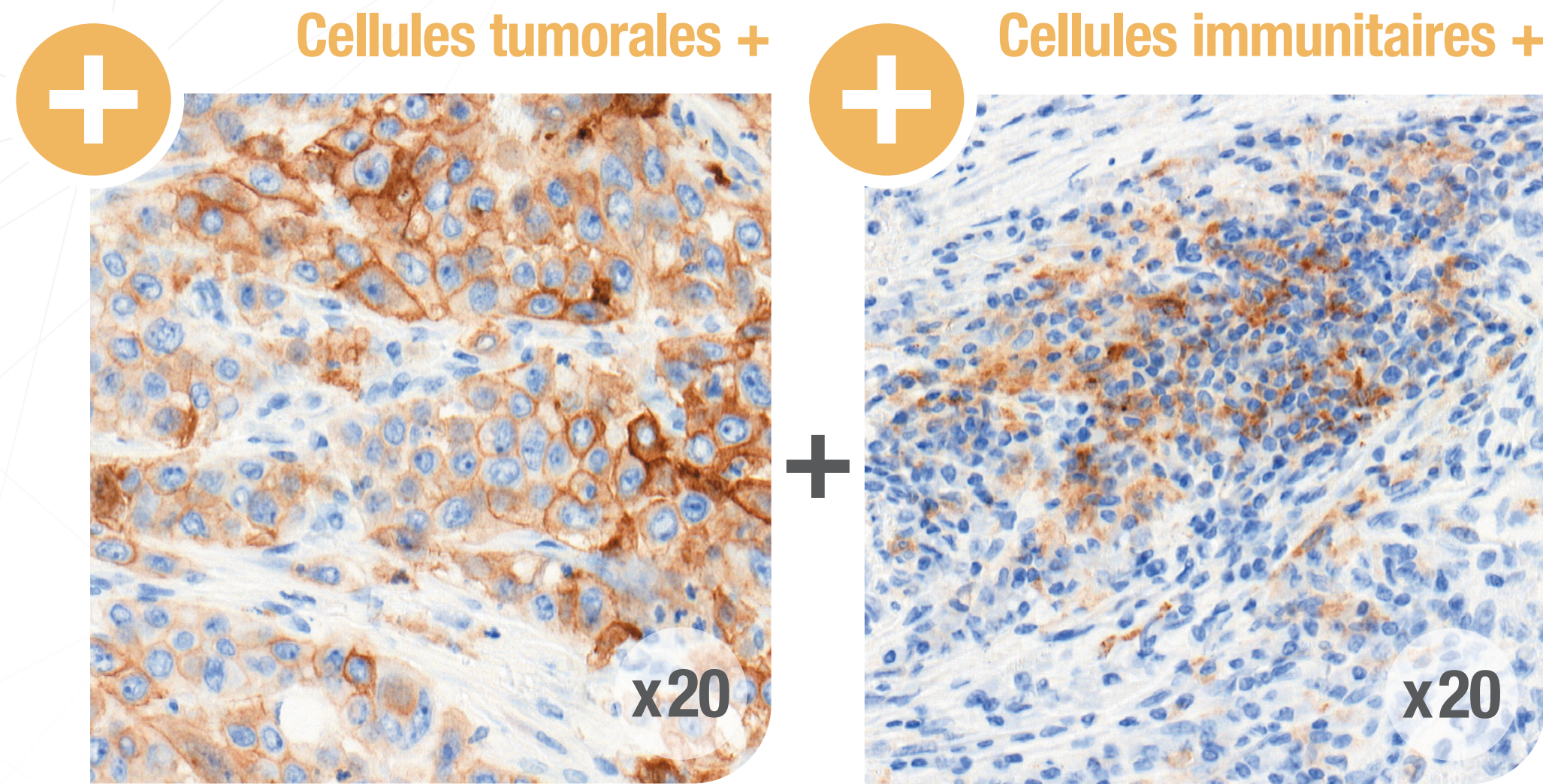
Score de 0 à 100
(bien que sa valeur absolue
puisse dépasser 100)

$$\text{CPS} = \frac{\text{Cellules tumorales} + \text{Lymphocytes} + \text{Macrophages}}{\text{Cellules tumorales viables}} \times 100$$

Toutes les **cellules tumorales viables (marquées ou non)**, présentes sur la lame, doivent être intégrées au dénominateur.

Un minimum de 100 cellules tumorales viables est recommandé.

IHC PD-L1 ET CPS EN IMAGES [3]

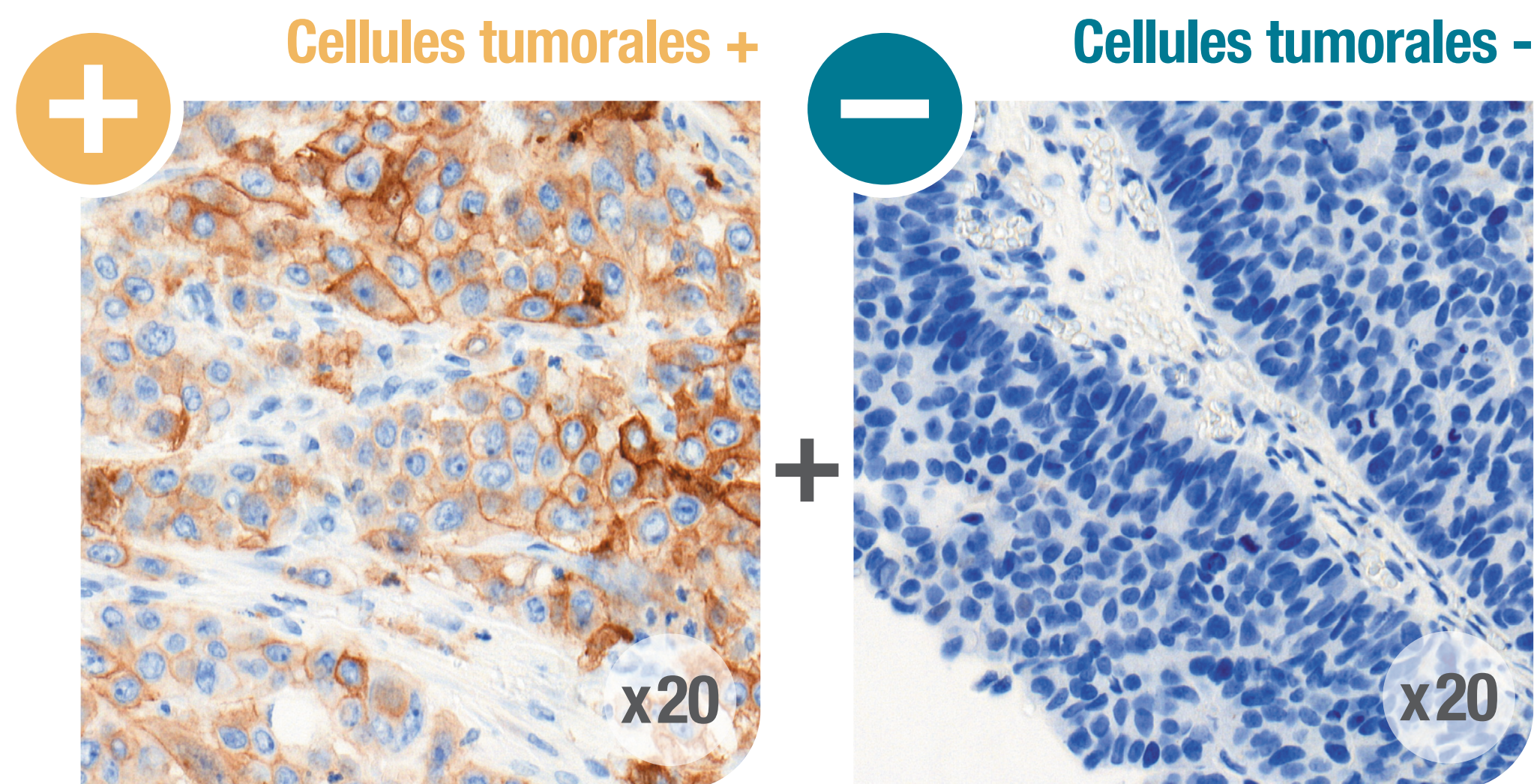


Marquage membranaire linéaire, complet ou non et quelle qu'en soit l'intensité

Marquage membranaire (complet ou partiel) et/ou cytoplasmique, quelle qu'en soit l'intensité

Les cellules immunitaires marquées, situées dans la tumeur ou en périphérie de celle-ci (à une distance maximum correspondant à la moitié d'un champs x20, soit 0,5 mm), doivent être intégrées au CPS

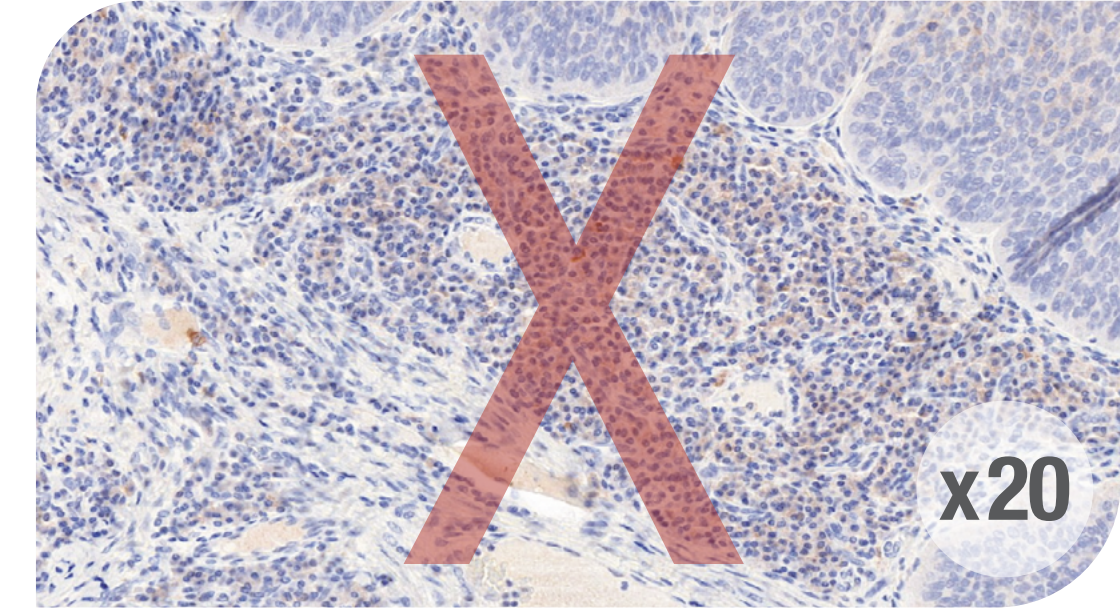
CPS = _____ X 100



! À NE PAS PRENDRE EN COMPTE



Cellules immunitaires non marquées ou distantes et neutrophiles, éosinophiles, plasmocytes



EN PRATIQUE | MÉTHODE 1 [3]

Les cellules positives sont regroupées dans une zone délimitée de l'échantillon

FAIBLE GROSSISSEMENT

Évaluer la superficie de la zone contenant des cellules positives

FORT GROSSISSEMENT x20

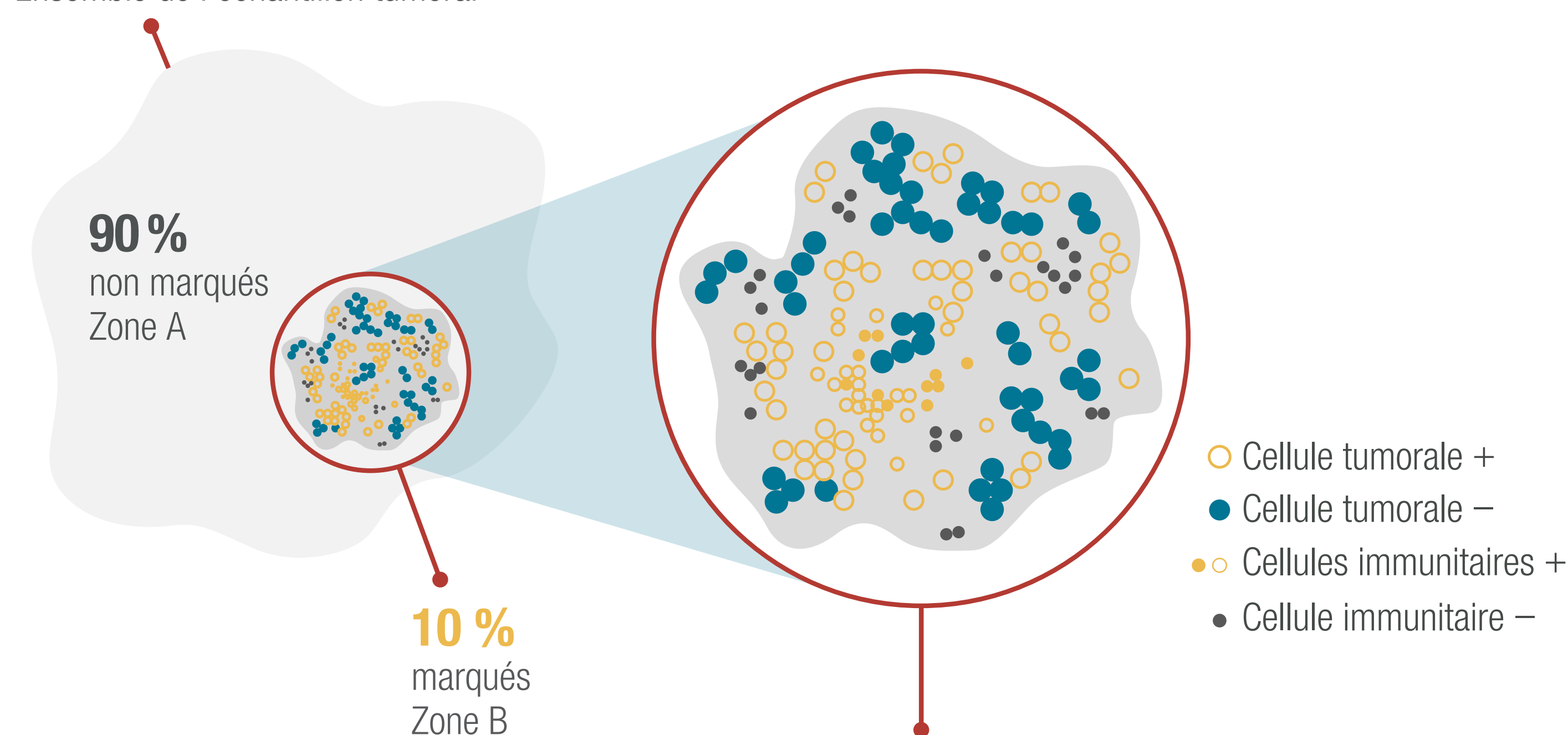
Dans cette zone

- Compter le nombre de CT et CI positives
- Déterminer le nombre de CT viables

POSITIVITÉ GLOBALE

Rapporter la positivité à l'ensemble de l'échantillon

Ensemble de l'échantillon tumoral



$$\text{CPS}_{\text{Zone B}} = \frac{40 \text{ CT et } 40 \text{ CI PD-L1} +}{100 \text{ CT viables}} \times 100 = 80$$

$$\text{CPS}_{\text{total}} = 10 \% (\text{zone marquée}) \times 80 = 8$$

EN PRATIQUE | MÉTHODE 2 ^[3]

Les cellules positives sont distribuées de manière hétérogène dans l'échantillon

FAIBLE GROSSISSEMENT

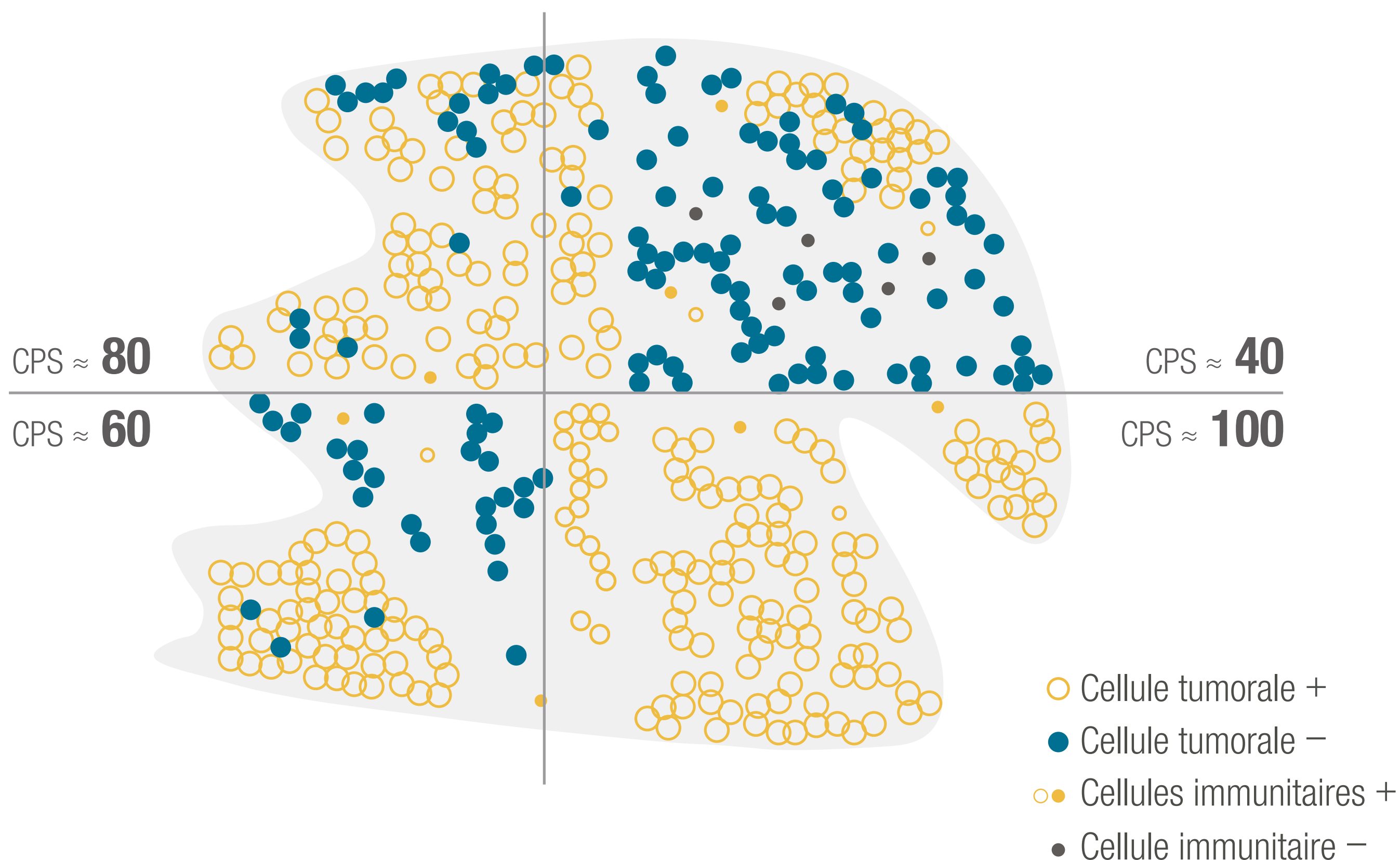
Diviser l'échantillon en plusieurs zones de taille égale

FORT GROSSISSEMENT x20

Déterminer le CPS au sein de chaque zone

POSITIVITÉ GLOBALE

Calculer la moyenne de toutes les zones



$$\text{CPS} = (80 + 40 + 60 + 100) / 4 \approx 70$$

MÉTHODE ALTERNATIVE :

- 1) Diviser la tumeur en zones présentant une expression tumorale homogène et évaluer leur superficie
- 2) Déterminer le CPS de chaque zone puis le rapporter à la taille globale de l'échantillon tumoral
- 3) Additionner le tout pour obtenir le CPS global

EN PRATIQUE | MÉTHODE 3 ^[3]

Les cellules positives sont rares au sein de l'échantillon

FAIBLE GROSSISSEMENT

- Repérer les cellules positives
- Déterminer le nombre de CT viables

FORT GROSSISSEMENT **x20**

Compter le nombre de CT et CI positives

POSITIVITÉ GLOBALE

Calculer le CPS pour l'ensemble de l'échantillon



- Cellule tumorale +
- Cellule tumorale -
- Cellules immunitaires +
- Cellule immunitaire -

$$\text{CPS} = \frac{4 \text{ CT PD-L1+ et } 4 \text{ CI PD-L1+}}{200 \text{ CT viables}} \times 100 = 4$$



COMPTE RENDU [1]

Étude de l'expression de PD-L1

Informations patient

Nom _____ Référence de l'échantillon _____

Sexe **M** **F** Âge _____

Nom

Cachet

Indication _____

Notes : _____ Traitements : _____

Prélèvement

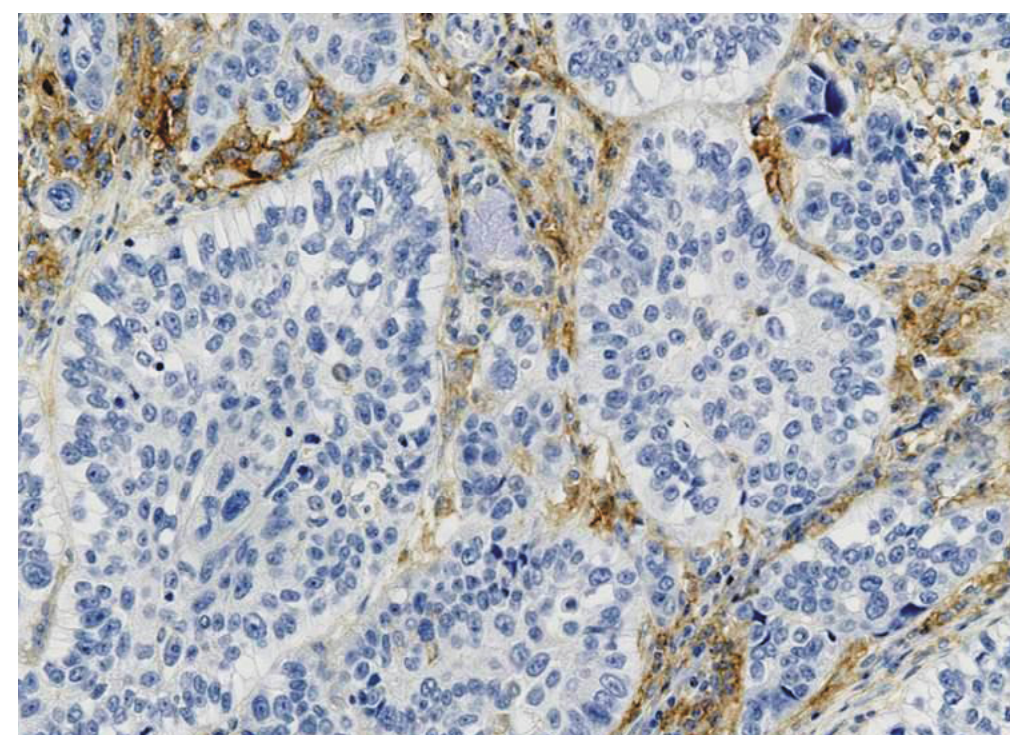
Type
Siège du prélèvement
Date
Fixation

Conditions de marquage

Anticorps primaire
Automate

Observations

Nombre de CT évaluables
Témoins positifs
Autre



Biomarqueur PD-L1 IHC

Score TPS = % ou CPS =

Interprétation _____

Commentaires _____



INFORMATIONS IMPORTANTES À INTÉGRER

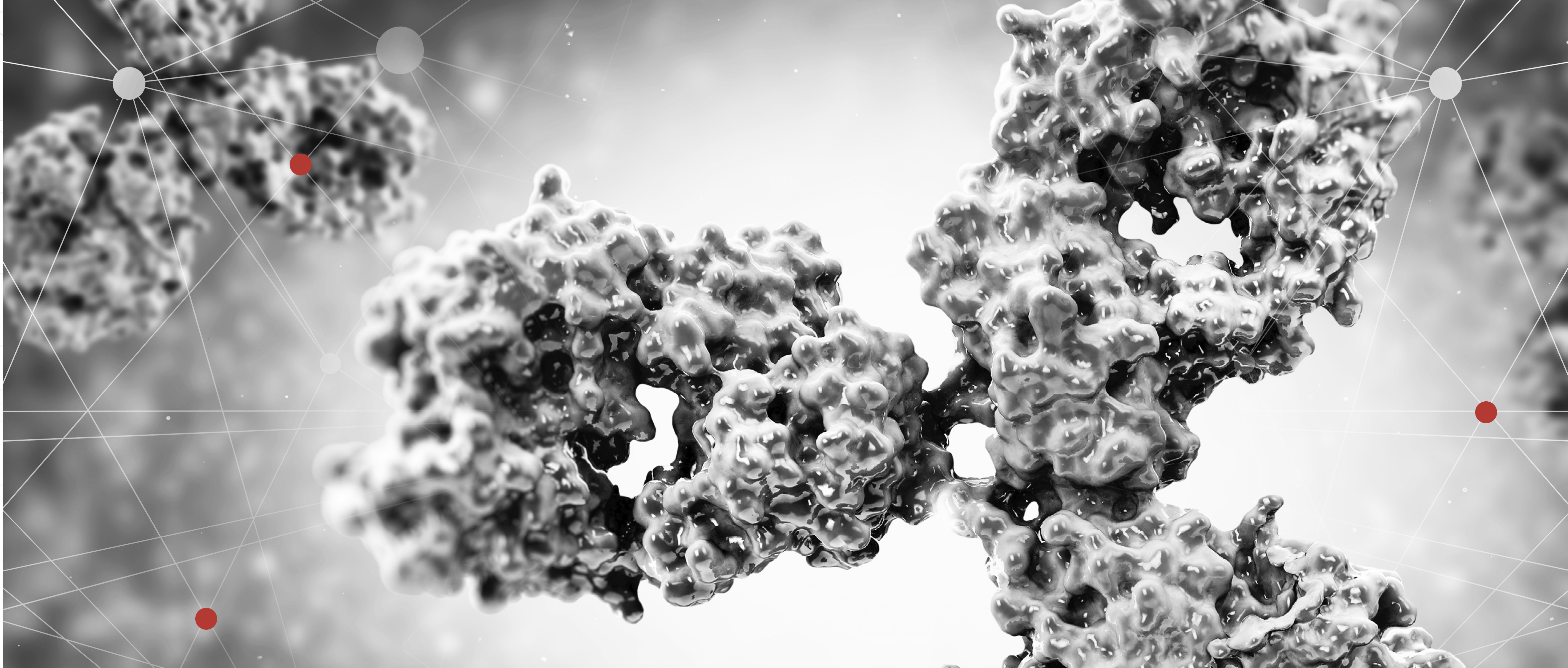
- Les éventuels paramètres pouvant influencer l'expression de PD-L1 (stade de la maladie, tumeur primitive, récurrence ou métastase, traitements antérieurs, altérations génomiques...),
- La confirmation du marquage des témoins positifs,
- Des réserves si le nombre de cellules tumorales analysables est < 100,
- Les éventuelles réserves concernant les conditions de manipulation (fixation, décalcification, stockage...).

CT : Cellules Tumorales



RÉFÉRENCES

1. Lantuejoul S, *et al.* Tests immunohistochimiques PD-L1 dans les cancers du poumon non à petites cellules : recommandations par le groupe PATTERN de pathologistes thoraciques. *Ann Pathol.* 2018 Mar 20. pii: S0242-6498(18)30011-7. doi:10.1016/j.annpat.2018.01.007.
2. Dako Agilent Pathology Solutions. PD-L1 IHC 22C3 pharmDx Interpretation Manual. 2017.
3. Agilent Dako. PD-L1 IHC 22C3 pharmDx Interpretation Manual – Urothelial Carcinoma. 2018.



PILOTE



ENVIE DE VOUS TESTER
SUR DES LAMES VIRTUELLES ?

www.pilote-biomarqueurs.com

