Patologi

– Prædiktive markører ved metastatisk kutant melanom

Version 1.0

GODKENDT
Faglig godkendelse
12. marts 2024 (DMG)
Administrativ godkendelse
3. april 2024 (Sekretariatet for Kliniske Retningslinjer på Kræftområdet)

REVISION
Planlagt: 1. januar 2027

INDEKSERING
Prædiktiv, markør, patologi, DMG

Indholdsfortegnelse

1. Anbefalinger (Quick guide) 3
Prædiktive faktorer 3
2. Introduktion 4
3. Grundlag 5
Prædiktive faktorer 5
4. Referencer 9
5. Metode 10
6. Monitorering 12
7. Bilag 13
8. Om denne kliniske retningslinje 19

1. Anbefalinger (Quick guide)

Prædiktive faktorer

1. **Anbefaling En BRAF-analyse skal iværksættes af den patologiafdeling, der første gang støder på en lokoregional metastase i diagnosticeringen (stadie III), dvs. kutan metastase inkl. mikrosatellit og / eller spredning til regionale lymfeknuder både i den primære behandling og opstået senere (B). Det samme gælder i tilfælde af fjernmetastase (stadie IV) (A), medmindre der allerede foreligger en molekylærpatologisk BRAF-undersøgelse (dækkende jf. nedenstående) på et tidligere materiale**

   Da det i mange tilfælde kan være en SN eller en nålebiopsi, hvor der er for lidt materiale til at udføre molekylærpatologi, kan det være nødvendigt at finde primærtumor frem og teste BRAF på den i stedet for på metastasevævet (B)

   Kan afdelingen ikke selv udføre analysen, sendes rekvisition, glas og blokke på metastasevæv til relevant afdeling, der kan gennemføre analysen (D)

2. **Den BRAF-analyse der foretages, skal være en analyse, der dækker hele BRAF V600 (B). Man kan alternativt starte med en mere begrænset PCR-analyse eller en immunhistokemisk farvning for BRAF V600E, men hvis udfaldet af denne er "wild type" BRAF, bør man supplere med en mere uddybende DNA-analyse, som f.eks. NGS (D)**

3. **Ved stadie IV sygdom hvor der er egnet materiale, anbefales, at der også udføres immunhistokemisk vurdering af PD-L1 eventuelt efter rekvisition fra onkologisk afdeling (B). Egnet materiale er formalinfikseret og paraffinindstøbt (kan godt være et velegnet cytologisk koagel), højst 3 måneder gammelt og indeholder mindst 100 tumorceller (D). Til immunhistokemisk farvning for PD-L1 kan man benytte sig af klonerne 22C3 eller 28.8, begge er lige egnede. Man skal i tekst og koder angive, hvor stor en andel (<1% eller >/=1%) af tumorcellerne der farver helt eller delvist membranøst**

2. Introduktion

Der henvises til DMG årsrapporter for beskrivelse af population, incidens, og sygdomsforløb/dødelighed.
https://melanoma.dk/page3.html#header1-1o

Ved påvisning af metastatisk sygdom vil optimering af individuel patientbehandling forudsætte yderligere immunhistokemiske og molekylærbiologiske undersøgelser. Når der påvises stadie III og/eller IV sygdom, iværksættes en undersøgelse for om der er mutation i BRAF V600-genet, idet man ved påvisning af BRAF V600-variant nu kan tilbyde BRAF- og / eller MEK-hæmmer behandling som adjuverende behandling til stadie III patienter og som terapeutisk behandling til stadie IV patienter, der ikke kan tåle immunterapi. Ved stadie IV sygdom skal der også undersøges for PD-L1 status i metastasevævet, mhp. at kunne forudsige respons på immuncheckpoint-inhibitorterapi.

Formål

Det overordnede formål med retningslinjen er at understøtte en evidensbaseret kræftindsats af høj og ensartet

Patientgruppe

Patientgruppen er alle patienter med metastaserende kutant melanom.

Målgruppe for brug af retningslinjen

Denne retningslinje skal primært understøtte den histopatologiske diagnostik af kutane melanommetastaser og de markøranalyser, der udføres forud for onkologisk behandling. Den primære målgruppe er derfor patologer, der arbejder med dette område indenfor det danske sundhedsvæsen.

3. Grundlag

Prædiktive faktorer

1. **En BRAF-analyse skal iværksættes af den patologiafdeling, der første gang støder på en lokoregional metastase i diagnosticeringen (stadie III), dvs. kutan metastase inkl. mikrosatellit og / eller spredning til regionale lymfeknuder både i den primære behandling og opstået senere (B). Det samme gælder i tilfælde af fjernmetastase (stadie IV) (A), medmindre der allerede foreligger en molekylærpatologisk BRAF-undersøgelse (dækkende jf. nedenstående) på et tidligere materiale.**

   Da det i mange tilfælde kan være en SN eller en nålebiopsi, hvor der er for lidt materiale til at udføre molekylærpatologi, kan det være nødvendigt at finde primærtumor frem og teste BRAF på den i stedet for på metastasevævet (B).

   Kan afdelingen ikke selv udføre analysen, sendes rekvisition, glas og blokke på metastasevæv til relevant afdeling, der kan gennemføre analysen (D)

2. **Den BRAF-analyse der foretages, skal være en analyse, der dækker hele BRAF V600 (B). Man kan alternativt starte med en mere begrænset PCR-analyse eller en immunhistokemisk farvning for BRAF V600E, men hvis udfaldet af denne er "wild type" BRAF, bør man supplere med en mere uddybende DNA-analyse, som f.eks. NGS (D)**

3. **Ved stadie IV sygdom hvor der er egnet materiale, anbefales, at der også udføres immunhistokemisk vurdering af PD-L1 eventuelt efter rekvisition fra onkologisk afdeling (B). Egnet materiale er formalinfikseret og paraffinindstøbt (kan godt være et velegnet cytologisk koagel), højst 3 måneder gammelt og indeholder mindst 100 tumorceller (D). Til immunhistokemisk farvning for PD-L1 kan man benytte sig af klonerne 22C3 eller 28.8, begge er lige egnede. Man skal i tekst og koder angive, hvor stor en andel (<1% eller >/=1%) af tumorcellerne der farver helt eller delvist membranøst.**

Litteratur og evidensgennemgang

Udviklingen af melanomer drives i høj grad af aktiverende mutationer i gener, der koder for proteiner i MAPK signaleringsvejen, eller inaktiverende mutationer i de tumorsupressorer som bremser MAPK-kaskaden. Aktiverende mutationer i gener der koder for proteiner i MAPK-signaleringsvejen, f.eks. BRAF-proteinet, medfører en vedvarende aktivering af signalvejen og fører til celleproliferation og dermed tumorvækst (1, 2). Normalt vil en sådan aktiverende mutation gøre, at cellens tumorsupressorer bliver aktiveret og får cellen til at gå i dvale (2). En BRAF-variant er derfor ikke i sig selv en indikator for malignitet. Faktisk er der BRAF- variant

i op til 80 % af de benigne nævi (3), og det er også derfor, man mener at BRAF- varianter opstår tidligt i melanomudviklingen (3) og at det derfor ikke gør nogen forskel, om der testes på primærtumor eller på metastase (4).

Omkring 50 % af patienterne med kutant melanom har en BRAF- variant (5). Frekvensen er hyppigere hos yngre patienter og optræder meget sjældent ved akrale og mukosale melanomer.

I 2011 godkendte FDA og EMA for første gang BRAF-hæmmer-terapi til behandling af inoperabelt metastaserende malignt melanom (6). De første mange studier med BRAF-hæmmer-behandling viste, at BRAF-hæmmere kun havde effekt, hvis tumorvævet havde en BRAF- variant og behandlingen blev kun tilbudt patienter, der havde tumorvæv med BRAF V600E- varianter (6). Det var i mange år usikkert, om andre varianter i BRAF V600genet også kunne være en positiv prædiktiv markør. Efterhånden blev dog også varianter i BRAF V600K anerkendt som en prædiktiv markør og for nyligt har man vist, at en del varianter i BRAF V600, udover BRAF V600E, kan være markør for et positivt respons på BRAF- og / eller MEK-hæmmer-behandling (7).

MAPK-inhibitorbehandling, enten som monoterapi med BRAF-inhibitor eller som kombinationsbehandling med BRAF- og MEK-inhibitor, har traditionelt kun været anvendt til behandling af inoperabelt metastaserende stadie IV melanom, men nyere studier har vist, at behandlingerne også med god effekt kan anvendes som adjuverende behandling af regionalt metastaserende stadie III melanom (8). Studierne testede en kombinationsbehandling med dabrafenib og trametinib versus placebo i 12 måneder på patienter, der havde komplet fjernet BRAF V600E/K-muteret stadie III melanom og fandt, at der ved mere end 40 måneders follow-up var en signifikant reduceret risiko for recidiv/relaps i gruppen, der havde fået behandlingen i forhold til placebogruppen (9).

PD-L1 er et såkaldt ”immune-checkpoint”, som bremser de cytotoksiske T-celler, når den binder til PD-1 på T-cellernes overflade (10). Hvis tumorcellerne udtrykker PD-L1, kan de derved bremse immunresponset mod sig selv (10). Der findes i dag medikamenter, der blokerer enten PD-L1 eller PD-1 og som bruges til behandling af mange forskellige tumortyper. Ved melanom er det hyppigst en PD-1 inhibitor, der anvendes enten som monoterapi eller i kombination med en CTLA4-hæmmer (for uddybning se DMGs retningslinje ”Onkologisk behandling af inoperabel metastatisk melanom” og anbefalingerne fra Rådet for Anvendelse af Dyr Sygehusmedicin (RADS) (11, 12)). Studier har vist, at monoterapi med PD-1-hæmmer er bedst til behandling af tumorer, der er PD-L1 positive (PD-L1 udtrykt i >/=1 % af tumorcellerne), mens kombinationsterapi giver bedst respons hos PD-L1 negative tumorer (PD-L1 udtrykt i <1 % af tumorcellerne) (11, 12). Idet ekspressionen af PD-L1 kan ændres over tid, skal analysen foretages på metastatisk væv, der er biopteret / fjernet højst 3 måneder før opstart på behandlingen.

Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant.

Rationale

Medicinrådet har besluttet, at man udover anti-PD1 behandling i højere grad end hidtil kan anvende BRAF / MEK-hæmmer til adjuverende behandling af stadie III melanom-patienter efter individuel vurdering https://medicinraadet.dk/anbefalinger-og-vejledninger/laegemidler-og-indikationsudvidelser/a-d/dabrafenib-tafinlar-og-trametinib-mekinist-i-kombination-adjuverende-behandling-af-modermaerkekraeft. En forudsætning for at stadie III patienterne kan tilbydes den behandling er, at der generelt foreligger BRAF-test på patienterne ved henvisning til vurdering på onkologisk afdeling mhp. adjuverende behandling. Derfor er det nu implementeret på nationalt niveau, at der undersøges for BRAF-varianter på alle stadie III melanompatienter. Samme problemstilling gælder for stadie IV patienter, såfremt der ikke foreligger et BRAF-svar fra tidligere i forløbet.

Det er ikke længere kun varianter i BRAF V600E/D/K, der kan give anledning til tilbud om BRAF / MEK-inhibitor behandling (7). I dag kan denne behandling blive relevant for patienter med alle typer af varianter i BRAF V600 (7). Derfor kan nogle af de metoder der bruges til at teste for BRAF-variant være insufficiente. Den mest optimale analyse er en analyse, der dækker hele sekvensen af de påvirkede gener. Det vil oftest være en NGS-analyse. Man kan også anvende både immunhistokemisk farvning eller konventionel PCR-analyse, men skal i de tilfælde være opmærksom hvis resultatet er wild-type. Hvis der f eks. ved PCR-undersøgelse eller immunhistokemi påvises en variant, er svaret sufficient, men i tilfælde af wild-type ved PCR eller immunhistokemi er det nødvendigt at supplere med en sekventeringsmetode som f.eks. NGS. I tilfælde med tidligere foretaget BRAF-analyse, kan det blive nødvendigt at gentage analysen for at få alle undertyper medundersøgt. I patologirapporten angives så præcist som muligt hvilken mutation der er tale om (f.eks. "BRAF-genvariant p.Val600Glu") og ikke blot "BRAF-gen muteret". I de tilfælde hvor der ikke findes en kode for den fundne variant, kan man skrive det i fritekst eller henvise til og nævne det i selve teksten.

Indføring af denne ekstra analyse kan medføre, at svartiden øges ved diagnosticering af melanommetastaser. BRAF-undersøgelsen kan dog i nogle tilfælde laves som supplerende undersøgelse efter svarafgivelse. Der vil typisk gå 2 til 3 uger fra patienten er færdigopereret, indtil samtale hos onkolog om adjuverende behandling, hvor BRAF-svaret skal foreligge. Det vil være en fordel at diskutere logistikken omkring dette lokalt. Patienter som henvises til behandling for metastatisk sygdom, kommer typisk til onkolog indenfor 1-2 uger. Hvis der for en patient ønskes ny BRAF-analyse, fordi der tidligere er lavet PCR eller immunhistokemisk undersøgelse, skal denne bestilles af onkolog med begrundelse.

Det har i mange tilfælde afgørende betydning for valg af behandling af metastaserende melanom, at onkologerne kender PD-L1-status. Hvis der findes en positiv PD-L1 (>/= 1 % af tumorcellerne), kan patienten tilbydes PD-1-hæmmer-behandling som monoterapi. Hvis PD-L1 er negativ (<1 % af tumorcellerne) kan tilbydes en kombinationsbehandling med PD-1-hæmmer og CTLA4-hæmmer.

Immunhistokemisk farvning for PD-L1 er en prædiktiv markør ved behandling af metastaserende melanom med PD-1- og PD-L1-hæmmere og skal testes på metastasevæv, der er < 3 måneder gammelt og indeholder >100 tumorceller. Oprindeligt var det en bestemt klon, (28.8) man skulle bruge, idet det var en såkaldt "companion diagnostics" til behandlingen, men sidenhen er det blevet accepteret også at bruge klon 22C3. Bl.a, har DMG selv iværksat en undersøgelse, hvor 2 kloner (28.8 og 22C3) blev testet på tumorvæv og

analyseret af 2 specialiserede patologer under regi af NordiQC. Resultatet var, at begge kloner var lige gode til formålet (se bilag).

Bemærkninger og overvejelser

Se evt flowcharts i bilag og DMGs retningslinje om onkologisk behandling af inoperabel metastatisk melanom https://www.melanoma.dk/assets/files/Melanoma_Guidelines_Onkologisk_behandling_af_inoperabel_metastatisk_melanom.pdf

4. Referencer

1. Fecher LA, Amaravadi RK, Flaherty KT. The MAPK pathway in melanoma. Curr Opin Oncol. 2008;20(2):183-9.
2. Palmieri G, Capone M, Ascierto ML, Gentilcore G, Stroncek DF, Casula M, et al. Main roads to melanoma. J Transl Med. 2009;7:86.
3. Damsky WE, Bosenberg M. Melanocytic nevi and melanoma: unraveling a complex relationship. Oncogene. 2017;36(42):5771-92.
4. Nielsen LB, Dabrosin N, Sloth K, Bønnelykke-Behrndtz ML, Steiniche T, Lade-Keller J. Concordance in BRAF V600E status over time in malignant melanoma and corresponding metastases. Histopathology. 2018;72(5):814-25.
5. Lade-Keller J, Rømer KM, Guldberg P, Riber-Hansen R, Hansen LL, Steiniche T, et al. Evaluation of BRAF mutation testing methodologies in formalin-fixed, paraffin-embedded cutaneous melanomas. J Mol Diagn. 2013;15(1):70-80.
6. Kim G, McKee AE, Ning YM, Hazarika M, Theoret M, Johnson JR, et al. FDA approval summary: vemurafenib for treatment of unresectable or metastatic melanoma with the BRAFV600E mutation. Clin Cancer Res. 2014;20(19):4994-5000.
7. Menzer C, Menzies AM, Carlino MS, Reijers I, Groen EJ, Eigentler T, et al. Targeted Therapy in Advanced Melanoma With Rare BRAF Mutations. J Clin Oncol. 2019;37(33):3142-51.
8. Subbiah V, Baik C, Kirkwood JM. Clinical Development of BRAF plus MEK Inhibitor Combinations. Trends Cancer. 2020;6(9):797-810.
9. Hauschild A, Dummer R, Schadendorf D, Santinami M, Atkinson V, Mandalà M, et al. Longer Follow-Up Confirms Relapse-Free Survival Benefit With Adjuvant Dabrafenib Plus Trametinib in Patients With Resected BRAF V600-Mutant Stage III Melanoma. J Clin Oncol. 2018;36(35):3441-9.
10. Wolchok JD, Yang AS, Weber JS. Immune regulatory antibodies: are they the next advance? Cancer J. 2010;16(4):311-7.
11. Niels Gyldenkerne LB, Inge Marie Svane, Henrik Schmidt, Kenneth Finnerup, Henrik Frank , Lorentzen. Behandlingsvejledning for metastaserende malignt melanom. Rådet for Anvendelse af Dyr Sygehusmedicin (RADS); 2016.
12. Niels Gyldenkerne LB, Inge Marie Svane, Henrik Schmidt, Kenneth Finnerup, Henrik Frank , Lorentzen. Baggrundsnotat for metastaserende malignt melanom. Rådet for Anvendelse af Dyr Sygehusmedicin (RADS); 2016.

5. Metode

Litteratursøgning

Anbefalingerne beror overvejende på konsensus blandt gruppens patologer, men tager udgangspunkt i en henvendelse og korrespondance fra og med onkologigruppen pga. en ændret klinisk praksis, der bl.a. betyder, at man nu kan tilbyde adjuverende terapi til en større gruppe af patienter end tidligere. En del af litteraturgennemgangen stammer fra de onkologiske retningslinjer indenfor området, men er suppleret med mere patologiorienterede publikationer.

Litteraturgennemgang

Al litteratur blev gennemgået af arbejdsgruppens patologer og et udkast til retningslinjen blev drøftet på retningslinjemøde for hele retningslinjeudvalget i patologigruppen, hvor den foreliggende evidens blev diskuteret og i tilfælde af divergerende evidens, blev patologernes egne kliniske erfaringer medinddraget i konsensusdrøftelser. Evidensgraderingen er hovedsageligt blevet vurderet af RKKPs retningslinje-kvalitetskonsulent.

Formulering af anbefalinger

Anbefalingerne blev formuleret som ovenfor skitseret og efterfølgende gennemgået af hele retningslinjeudvalget i patologigruppen under DMG, og bygger til dels på tidligere retningslinjer og til dels på UICC/AJCC cancer staging manual (8th edition).

Interessentinvolvering

Ingen interessentinvolvering.

Høring

Har ikke været i offentlig høring.

Godkendelse

Faglig godkendelse:
Retningslinjen er blevet diskuteret i patologernes retningslinjeudvalg i DMG og har været i høring i patologigruppen samt forretningsudvalget i DMG, derefter RKKPs sekretariat.

Administrativ godkendelse:
3. april 2024

Anbefalinger, der udløser betydelig merudgift

Anbefalingerne vurderes at kunne give en merudgift i afdelingerne, i forhold til det der er klinisk praksis på nuværende tidspunkt, idet man nu indfører, at der reflekstestes for BRAF-varianter hos alle patienter med stadie IV sygdom, fremfor at det kun er ved rekvirering fra en onkologisk afdeling.

Behov for yderligere forskning

Ej angivet.

Forfattere og habilitet

Forfattere af første udkast 2023/2024 – Version 1:

- Johanne Lade Keller, overlæge, klinisk lektor, Patologiafdelingen, Aalborg Universitetshospital
- Pia Wirenfeldt Staun, overlæge, Afdeling for Klinisk Patologi, Odense Universitetshospital
- Siri Klausen, overlæge, Patologiafdelingen, Herlev Gentofte Hospital

Desuden stor hjælp fra:

- Vibeke Vestergaard, overlæge, Afdeling for Klinisk Patologi, Odense Universitetshospital
- Ann Mari Rosager, afdelingslæge, Afdeling for Klinisk Patologi, Odense Universitetshospital
- Kim Hein Lindahl, overlæge, Klinisk Patologi, Sygehus Lillebælt - Vejle
- Nina Løth Mårtensson, overlæge, Patologiafdelingen, Rigshospitalet

Ovenstående forfattere har ingen interessekonflikter.

Jf. Habilitetspolitikken henvises til deklaration via Lægemiddelstyrelsens hjemmeside for detaljerede samarbejdsrelationer: https://laegemiddelstyrelsen.dk/da/godkendelse/sundhedspersoners-tilknytning-til-virksomheder/lister-over-tilknytning-til-virksomheder/apotekere,-laeger,-sygeplejersker-og-tandlaeger

Plan for opdatering

Senest 3 år efter godkendelse; før ved behov.

Version af retningslinjeskabelon

Retningslinjen er udarbejdet i version 9.3 af skabelonen.

6. Monitorering

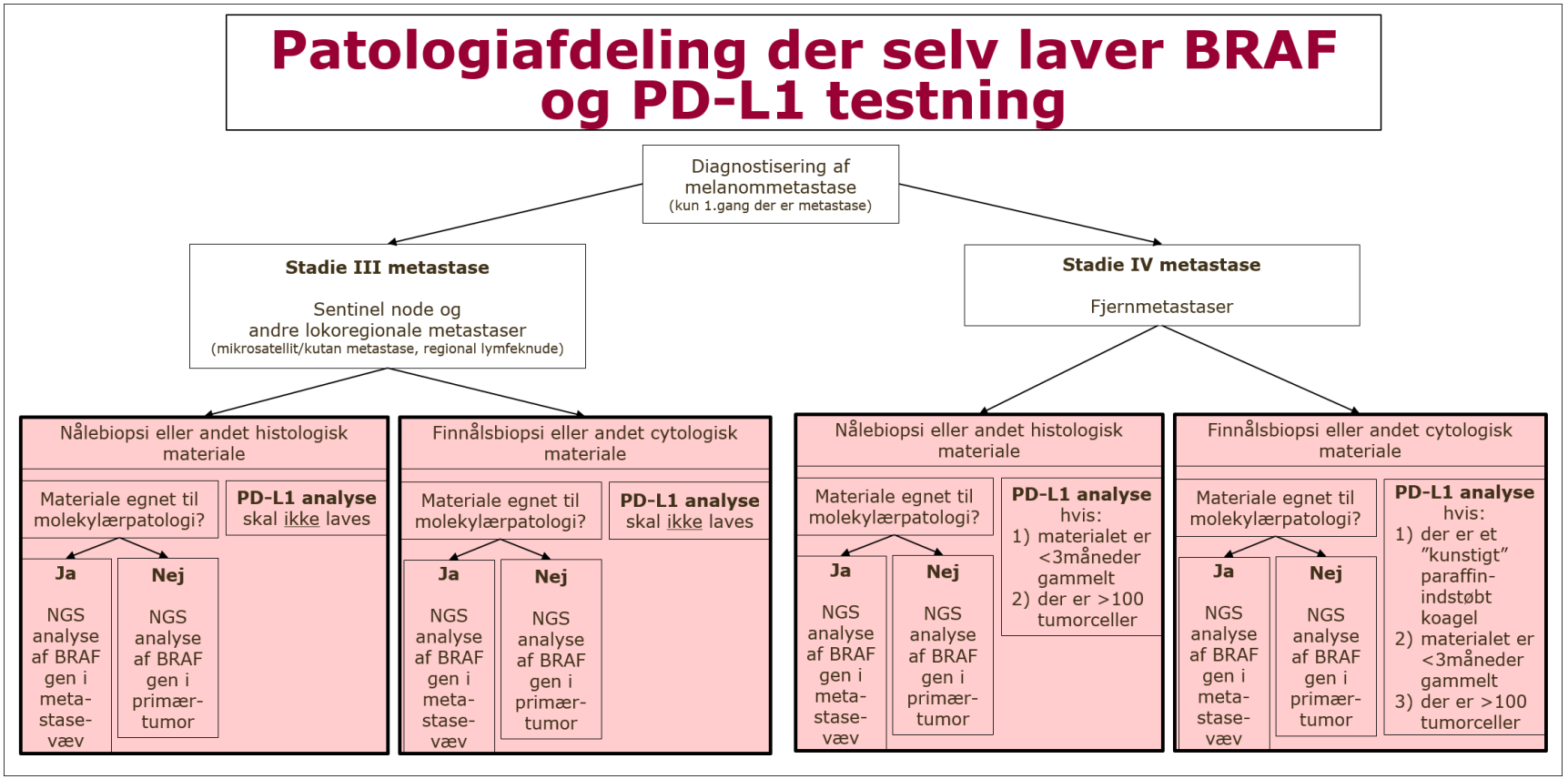
Udvikling af kvaliteten på dette område understøttes af viden fra Dansk Melanom Database i regi af Regionernes Kliniske Kvalitetsudviklingsprogram (RKKP), idet indikatorerne i databasen skal belyse relevante kliniske retningslinjer.

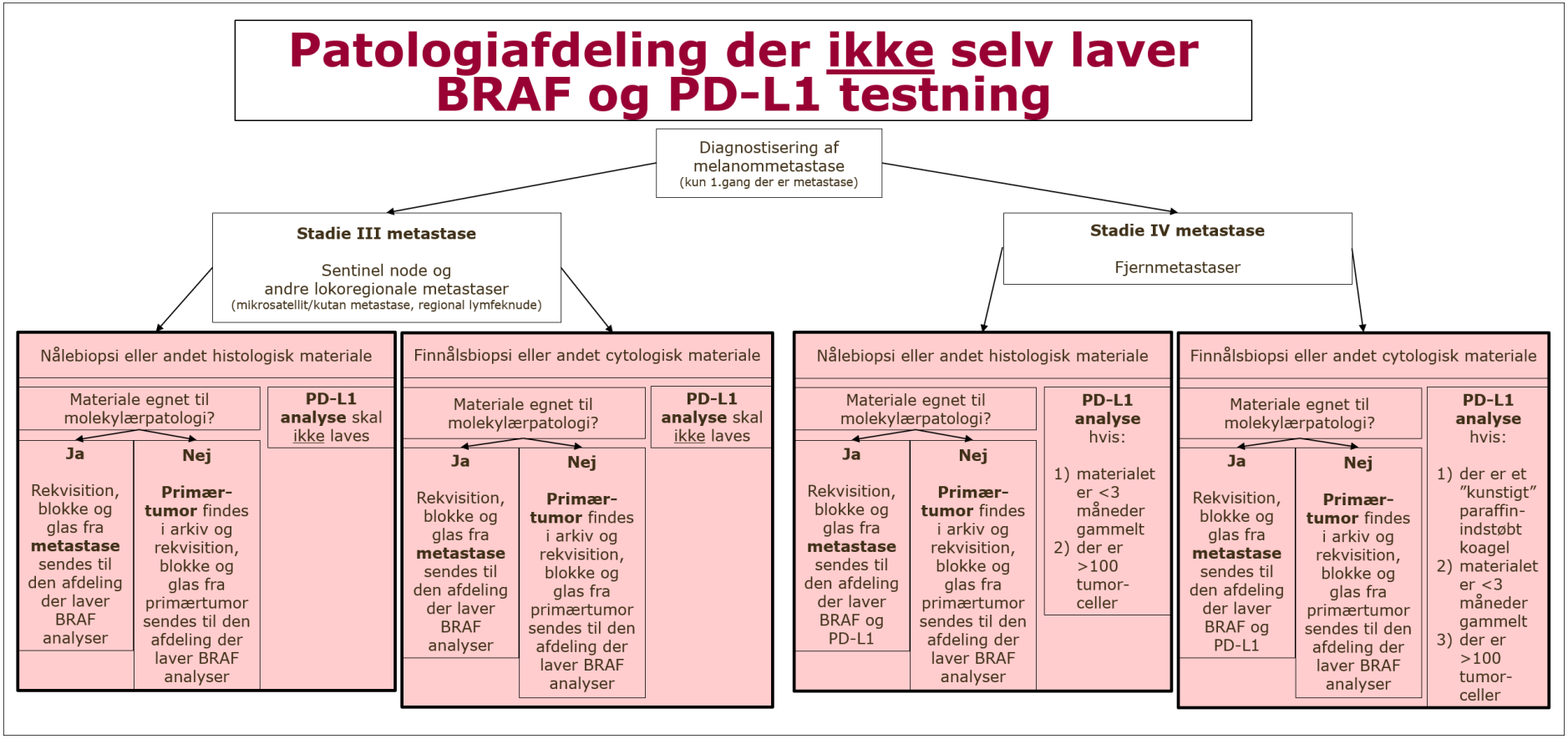
Den kliniske kvalitetsdatabases styregruppe har mandatet til at beslutte databasens indikatorsæt, herunder hvilke specifikke processer og resultater der monitoreres i databasen.

Anbefalingerne er ikke væsentligt ændret i forhold til tidligere vejledning og giver ikke anledning til øget monitorering.

7. Bilag

Bilag 1 – Flowcharts vedr. testning for BRAF og PD-L1 ved metastaserende sygdom




Patologiafdeling der ikke selv laver BRAF og PD-L1 testning
Diagnostisering af melanommetastase
(kun 1.gang der er metastase)
Stadie III metastase
Sentinel node og andre lokoregionale metastaser
(mikrosatellit/kutan metastase, regional lymfeknude)
Stadie IV metastase
Fjernmetastaser
Nålebiopsi eller andet histologisk materiale
Materiale egnet til molekylærpatologi?
Ja
Rekvisition, blokke og glas fra metastase sendes til den afdeling der laver BRAF analyser
Nej
Primær-tumor findes i arkiv og rekvisition, blokke og glas fra primærtumor sendes til den afdeling der laver BRAF analyser
PD-L1 analyse skal ikke laves
Finnålsbiopsi eller andet cytologisk materiale
Materiale egnet til molekylærpatologi?
Ja
Rekvisition, blokke og glas fra metastase sendes til den afdeling der laver BRAF analyser
Nej
Primær-tumor findes i arkiv og rekvisition, blokke og glas fra primærtumor sendes til den afdeling der laver BRAF analyser
PD-L1 analyse skal ikke laves
Nålebiopsi eller andet histologisk materiale
Materiale egnet til molekylærpatologi?
Ja
Rekvisition, blokke og glas fra metastase sendes til den afdeling der laver BRAF og PD-L1
Nej
Primær-tumor findes i arkiv og rekvisition, blokke og glas fra primærtumor sendes til den afdeling der laver BRAF analyser
PD-L1 analyse hvis:
1) materialet er <3 måneder gammelt
2) der er >100 tumor-celler
Finnålsbiopsi eller andet cytologisk materiale
Materiale egnet til molekylærpatologi?
Ja
Rekvisition, blokke og glas fra metastase sendes til den afdeling der laver BRAF og PD-L1
Nej
Primær-tumor findes i arkiv og rekvisition, blokke og glas fra primærtumor sendes til den afdeling der laver BRAF analyser
PD-L1 analyse hvis:
1) der er et "kunstigt" paraffin-indstøbt koagel
2) materialet er <3 måneder gammelt
3) der er >100 tumor-celler

Bilag 2 – Studie vedr immunhistokemisk farvning for PD-L1:

Testning af om klon 28-8 og 22C3 begge kan anvendes

Studie vedr immunhistokemisk farvning for PD-L1:
Testning af om klon 28-8 og 22C3 begge kan anvendes
Lavet af Siri Klausen og Søren Nielsen
(kappa-værdier og agreements skemaer lavet af Johanne Lade Keller)

Formål:
At undersøge overenstemmelse i farvekvalitet og i aflæsning af immunhistokemisk farvning for PD-L1 udtryk i melanomer ved 6 patologi afdelinger. De deltagende afdelinger har alle anvendt PD-L1 klon 28-8 SK005 kit og klon 22C3 med henblik på at sammenligne de to kloner.

Materiale og metode:
2 TMA med udsnit af i alt 42 forskellige melanomer, hvor de enkelte udsnit er udvalgt med henblik på at repræsentere et bredt spektrum af diagnostisk relevant ekspression.

Aflæsningen er foretaget med cut-off på 1%. Negativ PD-L1 status er defineret som ekspression i < 1% af tumorcellerne. Positiv PD-L1 status er ≥ 1%. En positiv farvning inkluderer svag og inkomplet membranfarvning.

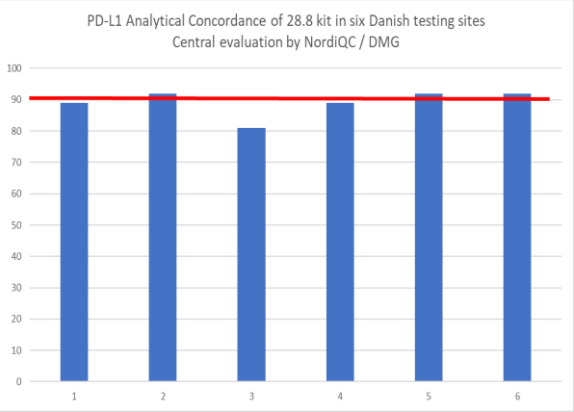
Ufarvede snit blev sendt til 6 patologiafdelinger i Danmark og her farvet for de to kloner af PD-L1, herefter aflæst af patologer på de pågældende afdelinger.

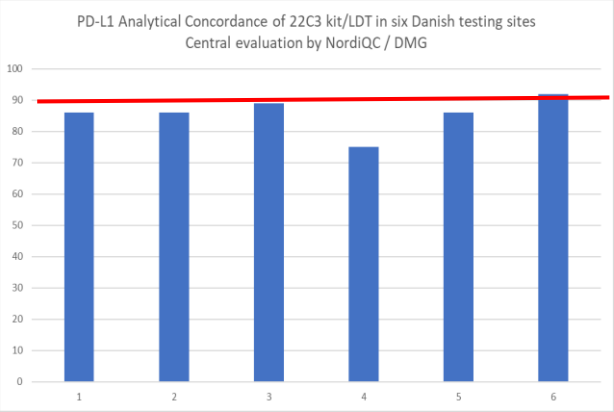
De farvede snit og resultat af aflæsninger blev sendt til central vurdering af teknisk farvekvalitet og af PD-L1 status (Siri Klausen og Søren Nielsen) og her sammenholdt med reference snit med henblik på afvigende farveresultat forårsaget af heterogenitet i vævssnittene.

De enkelte cores fra hver afdeling blev bedømt som negativ eller positiv PD-L1 status (SK og SN) og sammenholdt med referencefarvningen, som udtryk for den tekniske kvalitet for begge kloner.

De enkelte aflæsninger af snit farvet på egen patologiafdeling blev sammenholdt med den centrale vurdering (SK og SN), som udtryk for ensartethed/forskellighed i samlet analyse, dermed både farvningens kvalitet og aflæsning i forhold til negativ/positiv PD-L1 status.

Resultater:
Central vurdering (SK og SN) af farvninger fra 6 patologiafdelinger sammenholdt med referencefarvning som udtryk for ensartethed i farvekvalitet:

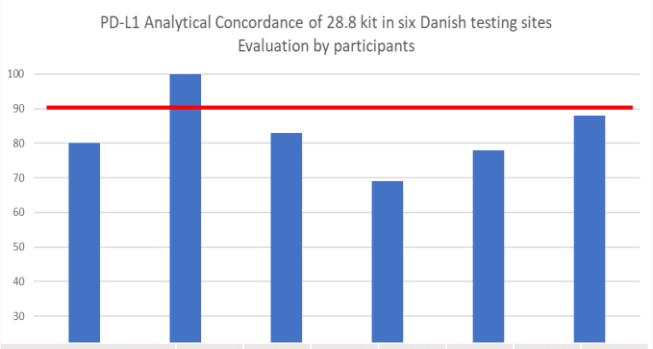


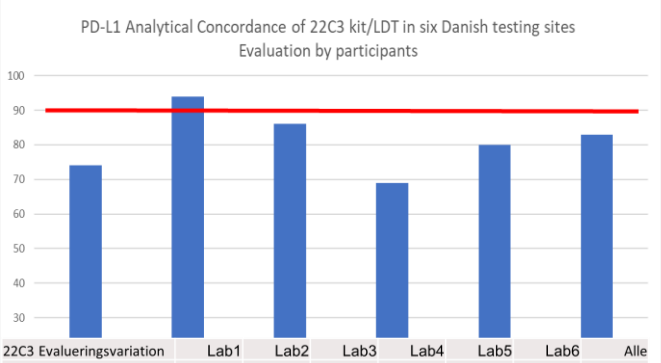


28.8 Farvevariation	Lab1	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	Alle
Agreement (%)	89	89	83	89	92	92	
Kappa	0,75	0,77	0,66	0,77	0,83	0,81	
Kappa multiple raters, med ref							0,77
Kappa multiple raters, uden ref							0,78

22C3 Farvevariation	Lab1	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	Alle
Agreement (%)	86	86	89	75	86	92	
Kappa	0,7	0,7	0,77	0,44	0,7	0,81	
Kappa multiple raters, med ref							0,72
Kappa multiple raters, uden ref							0,75

Reduceret ensartethed ved vurdering PD-L1 status (inklusive forskelle i farvekvalitet og i aflæsning) i forhold til reference værdi for klon 28-8 og klon 22C3. Hver patologiafdeling er anført som en søjle og enighed/diskrepans er anført som %.





28.8 Evalueringsvariation	Lab1	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	Alle
Agreement (%)	80	100	83	69	78	88	
Kappa	0,56	1	0,65	0,35	0,53	0,73	
Kappa multiple raters, med ref							0,57
Kappa multiple raters, uden ref							0,54

22C3 Evalueringsvariation	Lab1	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	Alle
Agreement (%)	74	94	86	69	80	83	
Kappa	0,43	0,88	0,71	0,33	0,58	0,61	
Kappa multiple raters, med ref							0,51
Kappa multiple raters, uden ref							0,47

Central vurdering af refencesnit (REF) sammenholdt med farvning og aflæsning på 6 patologiafdelinger (LAB1-LAB6) i forhold til PD-L1 status negativ eller positiv.
NA: cores der ikke er farvet eller ekskluderet af tekniske årsager (snittet er faldet helt eller delvist af glasset, er uden tilstrækkeligt tumorvæv e.l.) eller der i få tilfælde har været udtalt heterogenitet.

KLON 28.8

TMA I NQC PD-L1							
	REF	Lab 1	Lab 2	Lab 3	Lab 4	Lab 5	Lab 6
Core 4	N	N	N	N	N	N	NA
Core 5	P	P	P	P	P	P	NA
Core 6	P	P	P	P	P	P	NA
Core 7	N	N	N	N	N	N	NA
Core 8	N	N	N	N	N	P	NA
Core 9	N	N	N	N	N	N	NA
Core 10	P	NA	P	N	P	P	NA
Core 11	P	N	P	N	N	P	NA
Core 12	P	P	P	P	P	P	NA
Core 13	P	P	N	N	N	N	NA
Core 14	N	N	N	N	N	N	NA
Core 15	N	N	N	N	N	N	NA
TMA II NQC PD-L1							
	REF	Lab 1	Lab 2	Lab 3	Lab 4	Lab 5	Lab 6
Core 4	N	N	N	N	N	N	N
Core 5	N	N	N	N	N	N	N
Core 6	N	N	N	N	N	N	N
Core 7	N	N	N	N	N	N	N
Core 8	N	N	N	N	N	N	N
Core 9	N	N	N	N	N	N	N
Core 10	N	N	N	N	N	N	N
Core 11	N	N	N	N	N	N	N
Core 12	N	N	N	N	N	N	N
Core 13	P	P	N	P	P	P	P
Core 14	P	P	P	P	P	P	P
Core 15	P	P	P	P	P	P	P
Core 16	P	P	P	P	P	P	P
Core 17	P	P	P	P	P	P	P
Core 18	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 19	N	N	N	P	N	N	N
Core 20	P	N	P	P	P	P	P
Core 21	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 22	N	N	P	P	P	N	N
Core 23	P	N	P	P	P	P	N
Core 24	N	N	N	N	N	N	N
Core 25	P	P	P	P	P	P	P
Core 26	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 29	N	N	N	N	N	N	N
Core 30	P	N	N	N	N	N	N
Core 31	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 32	N	N	N	N	N	N	N
Core 33	N	N	N	N	N	N	N

Consensus evaluation of PD-L1 IHC results

TMA I NQC PD-L1							
	REF	Lab 1	Lab 2	Lab 3	Lab 4	Lab 5	Lab 6
Core 4	N	N	N	N	N	N	NA
Core 5	P	P	P	P	P	P	NA
Core 6	P	N	P	N	N	N	NA
Core 7	N	N	N	N	N	N	NA
Core 8	N	N	N	N	N	P	NA
Core 9	N	N	N	N	N	N	NA
Core 10	P	NA	P	P	N	N	NA
Core 11	P	N	P	P	P	P	NA
Core 12	P	N	P	N	N	P	NA
Core 13	P	N	P	N	P	N	NA
Core 14	N	N	N	N	N	N	NA
Core 15	N	N	N	N	P	N	NA
TMA II NQC PD-L1							
	REF	Lab 1	Lab 2	Lab 3	Lab 4	Lab 5	Lab 6
Core 4	N	N	N	N	N	N	N
Core 5	N	N	N	N	N	N	N
Core 6	N	N	N	N	P	N	N
Core 7	N	N	N	N	P	N	N
Core 8	N	N	N	N	N	N	N
Core 9	N	N	N	N	N	N	N
Core 10	N	N	N	N	N	N	N
Core 11	N	N	N	N	N	N	N
Core 12	N	N	N	N	N	N	P
Core 13	P	N	P	P	N	P	P
Core 14	P	P	P	P	P	P	P
Core 15	P	P	P	P	P	P	P
Core 16	P	P	P	P	P	P	P
Core 17	P	P	P	P	P	P	P
Core 18	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 19	N	N	N	P	N	P	N
Core 20	P	P	P	P	N	P	P
Core 21	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 22	N	P	N	N	P	P	N
Core 23	P	P	P	P	N	N	N
Core 24	N	N	N	N	N	N	N
Core 25	P	P	P	P	P	P	P
Core 26	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 29	N	N	N	N	N	N	N
Core 30	P	N	P	N	N	N	N
Core 31	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 32	N	N	N	N	N	N	N
Core 33	N	N	N	P	N	N	N

Participant evaluation of PD-L1 IHC results

Conducted by Siri Klausen and Søren Nielsen

KLON 22C3

TMA I NQC PD-L1							
	REF	Lab 1	Lab 2	Lab 3	Lab 4	Lab 5	Lab 6
Core 4	N	N	N	N	N	N	NA
Core 5	P	P	P	P	P	P	NA
Core 6	P	P	N	N	N	N	NA
Core 7	N	N	N	N	N	N	NA
Core 8	N	P	N	P	N	N	NA
Core 9	N	N	N	N	N	N	NA
Core 10	P	NA	N	P	N	N	NA
Core 11	P	P	P	P	N	P	NA
Core 12	P	P	P	P	N	P	NA
Core 13	P	N	N	N	N	N	NA
Core 14	N	N	N	N	N	N	NA
Core 15	N	N	N	N	N	N	NA

TMA II NQC PD-L1							
	REF	Lab 1	Lab 2	Lab 3	Lab 4	Lab 5	Lab 6
Core 4	N	N	N	N	N	N	N
Core 5	N	N	N	N	N	N	N
Core 6	N	N	N	N	N	N	N
Core 7	N	N	N	N	N	N	N
Core 8	N	N	N	N	N	N	N
Core 9	N	P	N	N	N	N	N
Core 10	N	N	N	N	N	N	N
Core 11	N	N	N	N	N	N	N
Core 12	N	N	N	N	N	N	N
Core 13	P	P	P	P	N	P	P
Core 14	P	P	P	P	P	P	P
Core 15	P	N	P	P	N	P	P
Core 16	P	P	P	P	P	P	P
Core 17	P	P	P	P	P	P	P
Core 18	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 19	N	N	N	N	N	N	N
Core 20	P	P	P	P	P	P	P
Core 21	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 22	N	N	N	N	N	N	N
Core 23	P	P	N	P	N	N	N
Core 24	N	N	N	N	N	N	N
Core 25	P	P	P	P	P	P	P
Core 26	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 29	N	N	N	N	N	N	N
Core 30	P	N	N	N	N	N	N
Core 31	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 32	N	N	N	N	N	N	N
Core 33	N	N	N	N	N	N	N

Consensus evaluation of PD-L1 IHC results

TMA I NQC PD-L1							
	REF	Lab 1	Lab 2	Lab 3	Lab 4	Lab 5	Lab 6
Core 4	N	N	N	N	N	N	NA
Core 5	P	P	P	P	P	P	NA
Core 6	P	N	P	N	N	N	NA
Core 7	N	N	N	N	N	N	NA
Core 8	N	N	N	N	N	P	NA
Core 9	N	N	N	N	N	N	NA
Core 10	P	NA	P	P	N	N	NA
Core 11	P	N	P	P	P	P	NA
Core 12	P	N	P	N	N	P	NA
Core 13	P	N	P	N	P	N	NA
Core 14	N	N	N	N	N	N	NA
Core 15	N	N	N	N	P	N	NA

TMA II NQC PD-L1							
	REF	Lab 1	Lab 2	Lab 3	Lab 4	Lab 5	Lab 6
Core 4	N	N	N	N	N	N	N
Core 5	N	N	N	N	N	N	N
Core 6	N	N	N	N	N	N	N
Core 7	N	N	N	N	N	N	N
Core 8	N	N	N	N	N	N	N
Core 9	N	P	N	N	N	N	N
Core 10	N	N	N	N	N	N	N
Core 11	N	N	N	N	N	N	N
Core 12	N	N	N	N	N	N	N
Core 13	P	N	P	P	N	P	P
Core 14	P	P	P	P	P	P	P
Core 15	P	N	P	P	N	P	P
Core 16	P	P	P	P	P	P	P
Core 17	P	P	P	P	N	P	P
Core 18	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 19	N	P	P	P	N	P	N
Core 20	P	P	P	P	N	P	N
Core 21	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 22	N	N	N	N	N	P	N
Core 23	P	P	P	P	N	NA	N
Core 24	N	N	NA	N	N	N	N
Core 25	P	P	P	P	P	P	N
Core 26	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 29	N	N	N	N	N	N	N
Core 30	P	N	N	P	N	N	N
Core 31	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Core 32	N	N	N	N	P	N	N
Core 33	N	N	N	P	N	N	N

Participant evaluation of PD-L1 IHC results

Conducted by Siri Klausen and Søren Nielsen

Konklusion

Generelt er der en relativt dårlig, men dog acceptabel, interobservatør overensstemmelse ved bedømmelse af PD-L1 på melanomceller, men der er ingen væsentlig forskel på om der bruges klon 28.8 SK005 (agreement 69-100%, kappa 0,35-0,73) eller 22C3 (agreement 69-94%, kappa 0,33-0,88). Generelt er der en relativt høj ensartethed i farvekvaliteten på tværs af landets afdelinger/laboratorier, både ved klon 28.8 SK005 (agreement 83-92%, kappa 0,66-0,83) og 22C3 (agreement 75-92%, kappa 0,44-0,81).

8. Om denne kliniske retningslinje

Denne kliniske retningslinje er udarbejdet i et samarbejde mellem Danske Multidisciplinære Cancer Grupper (DMCG.dk) og Regionernes Kliniske Kvalitetsudviklingsprogram (RKKP). Indsatsen med retningslinjer er forstærket i forbindelse med Kræftplan IV og har til formål at understøtte en evidensbaseret kræftindsats af høj og ensartet kvalitet i Danmark. Det faglige indhold er udformet og godkendt af den for sygdommen relevante DMCG. Sekretariatet for Kliniske Retningslinjer på Kræftområdet har foretaget en administrativ godkendelse af indholdet. Yderligere information om kliniske retningslinjer på kræftområdet kan findes på: www.dmcg.dk/kliniske-retningslinjer

Retningslinjen er målrettet klinisk arbejdende sundhedsprofessionelle i det danske sundhedsvæsen og indeholder systematisk udarbejdede udsagn, der kan bruges som beslutningsstøtte af fagpersoner og patienter, når de skal træffe beslutning om passende og korrekt sundhedsfaglig ydelse i specifikke kliniske situationer.

De kliniske retningslinjer på kræftområdet har karakter af faglig rådgivning. Retningslinjerne er ikke juridisk bindende, og det vil altid være det faglige skøn i den konkrete kliniske situation, der er afgørende for beslutningen om passende og korrekt sundhedsfaglig ydelse. Der er ingen garanti for et succesfuldt behandlingsresultat, selvom sundhedspersoner følger anbefalingerne. I visse tilfælde kan en behandlingsmetode med lavere evidensstyrke være at foretrække, fordi den passer bedre til patientens situation.

Retningslinjen indeholder, ud over de centrale anbefalinger (kapitel 1 – quick guide), en beskrivelse af grundlaget for anbefalingerne – herunder den tilgrundliggende evidens (kapitel 3), referencer (kapitel 4) og anvendte metoder (kapitel 5).
Anbefalinger mærket A baserer sig på stærkeste evidens og anbefalinger mærket D baserer sig på svageste evidens. Yderligere information om styrke- og evidensvurderingen, der er udarbejdet efter "Oxford Centre for Evidence-Based Medicine Levels of Evidence and Grades of Recommendations", findes her:

Generelle oplysninger om bl.a. patientpopulationen (kapitel 2) og retningslinjens tilblivelse (kapitel 5) er også beskrevet i retningslinjen. Se indholdsfortegnelsen for sidehenvisning til de ønskede kapitler.

Retningslinjeskabelonen er udarbejdet på baggrund af internationale kvalitetskrav til udvikling af kliniske retningslinjer som beskrevet af både AGREE II, GRADE og RIGHT.

For information om Sundhedsstyrelsens kræftpakker – beskrivelse af hele standardpatientforløbet med angivelse af krav til tidspunkter og indhold – se for det relevante sygdomsområde: https://www.sst.dk/

Denne retningslinje er udarbejdet med økonomisk støtte fra Sundhedsstyrelsen (Kræftplan IV) og RKKP.