

# PILOTE



LES BIOMARQUEURS PRÉDICTIFS À L'ÈRE DE L'IMMUNOTHÉRAPIE

---

## HARMONISATION DES TESTS PD-L1

---

Synthèse des études récentes menées dans différents sites tumoraux



## Pourquoi harmoniser les tests IHC PD-L1 ?

Étapes clés de ces tests, points de vigilance pour assurer la reproductibilité des analyses et premières recommandations

### CBNPC

Principales études récentes comparant les tests IHC PD-L1 dans les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC)

### VADS

Un nombre croissant d'études évaluant l'interchangeabilité des tests IHC PD-L1 dans les cancers des voies aérodigestives supérieures (VADS)

### SEIN

Un intérêt émergent des tests pour évaluer le niveau d'expression de PD-L1 dans les cancers du sein et particulièrement dans les cancers du sein triple négatifs (TNBC)

### VESSIE

Premières études évaluant les performances analytiques des tests IHC PD-L1 dans les carcinomes urothéliaux

### Synthèse

Conclusion générale basée sur l'ensemble des comparaisons réalisées dans les différentes indications

En parallèle du développement des premières **immunothérapies** qui inhibent les **points de contrôle immunitaire** en bloquant **PD-1 ou son ligand PD-L1**, sont apparus les premiers **tests diagnostiques** permettant d'identifier les patients les plus à même de répondre à ces nouveaux traitements. Dans certaines indications, la prescription de ces traitements est d'ailleurs conditionnée par la réalisation d'un **test immunohistochimique (IHC) préalable**. Ces tests, réalisés en laboratoire d'anatomopathologie, ont pour objectif d'évaluer le **niveau d'expression de PD-L1 de la tumeur du patient et/ou de son microenvironnement tumoral**, généralement sur des biopsies ou des pièces opératoires.

Les tests IHC développés pour ces études cliniques ont été mis sur le marché sous forme de **kits**, au même moment que les immunothérapies elles-mêmes. Ceux-ci contiennent les réactifs et modes opératoires nécessaires à la **reproduction des tests tels qu'ils ont été réalisés dans les études cliniques sur les automates dédiés**. Or, pour des contraintes de coût et de disponibilité du matériel, certains laboratoires d'anatomopathologie ont fait le choix de développer leurs propres protocoles IHC PD-L1 à partir d'anticorps primaires vendus séparément.

Face à la multiplication des tests possibles et au nombre croissant d'indications requérant ces tests, le **besoin d'harmoniser les pratiques** est rapidement apparu comme une nécessité. Dans cette optique, de nombreuses études ont été menées visant **à comparer les performances analytiques des différents tests PD-L1** (anticorps, automates, méthodes de *scoring*, kits *versus* tests développés en laboratoire [LDT pour *Laboratory Developed Tests...*]).

Cette synthèse présente une analyse détaillée des principales études récentes visant **à estimer l'interchangeabilité des tests PD-L1** dans différentes indications tumorales, parmi lesquelles les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC), les cancers de la tête et du cou, encore appelés cancers oto-rhino-laryngologiques (ORL) ou cancers des voies aérodigestives supérieures (VADS), les cancers du sein, notamment les cancers du sein triple négatif (TNBC pour *Triple-Negative Breast Cancer*), et les cancers des voies urinaires. Dans ce cadre, l'évaluation du niveau d'expression de PD-L1 peut en effet contribuer à proposer aux patients concernés **la stratégie thérapeutique la plus adaptée**.

## GLOSSAIRE

**Anticorps nu :** anticorps primaire vendu seul, non inclus dans un kit. <sup>[1]</sup>

**Anticorps concentré :** anticorps nu vendu à l'état concentré et devant être dilué avant utilisation. <sup>[1]</sup>

**Anticorps prédilué :** anticorps nu vendu à sa dilution d'utilisation, prêt à l'emploi (RTU pour *Ready To Use*). <sup>[1]</sup>

**Kit (ou « test commercial ») :** « pack » prêt à l'emploi rassemblant l'anticorps primaire prédilué, les différents réactifs et un guide d'interprétation mentionnant l'automate à utiliser et la méthode de *scoring*. Ces kits commerciaux standardisés permettent directement de reproduire les conditions de *testing* développées pour les essais cliniques correspondants. <sup>[2]</sup>

**Kit de référence :** kit associé à la prescription d'une immunothérapie. <sup>[2]</sup>

**Test standardisé :** test reprenant toutes les conditions validées lors d'études cliniques. <sup>[3]</sup>

**Test validé :** test réalisé à l'occasion d'une étude clinique, à l'origine des données ayant permis d'associer taux d'expression de PD-L1 et valeur prédictive. Les marquages et le *scoring* inhérents aux tests validés constituent la référence pour la conception de tout test réalisé pour la même immunothérapie. <sup>[3]</sup>

**Test développé en laboratoire (LDT) :** test développé en laboratoire en adaptant certaines conditions du test standardisé pour répondre à certaines contraintes (matériels, budgétaires...). De ce fait, le LDT doit être validé par comparaison avec le test de référence. <sup>[1,2]</sup>

**Tissue MicroArray (TMA) :** matrice de tissu réalisée à partir de carottes prélevées dans des zones précises d'échantillons tumoraux puis incluses, au sein d'un bloc de paraffine. Les coupes sériées produites à partir de ces blocs permettent de réaliser des lames successives portant plusieurs échantillons à la fois. Ainsi, tous les échantillons d'une même lame subissent le même protocole de marquage. Cette technique est régulièrement utilisée pour la recherche de biomarqueurs. <sup>[4]</sup>

## ABRÉVIATIONS

**Ac :** Anticorps

**CBNPC :** Cancer Bronchique Non à Petites Cellules

**CI :** Cellules Immunitaires

**CPS :** *Combined Positive Score* ou Score positif combiné

**CT :** Cellules Tumorales

**EMA :** Agence Européenne du Médicament

**FDA :** *Food and Drug Administration*

**FFPE :** *Formalin-Fixed Paraffin-Embedded* ou fixés au formol et inclus dans la paraffine

**IC (Score IC) :** Score de proportion de Cellules Immunitaires

**IHC :** ImmunoHistoChimie

**IVD :** *In-Vitro Diagnostic*

**K :** Kappa

**LDT :** *Laboratory Developed Test* ou test développé en laboratoire

**NPA :** *Negative Percentage Agreement* ou pourcentage de concordance négatif

**OPA :** *Overall Percentage Agreement* ou pourcentage de concordance global

**PD-L1 :** *Programmed cell Death-Ligand 1*

**PPA :** *Positive Percentage Agreement* ou pourcentage de concordance positif

**RTU :** *Ready To Use*

**RUO :** *Research Use Only*

**TC (Score TC) :** Score de proportion de Cellules Tumorales

**TNBC :** *Triple-Negative Breast Cancer* ou cancer du sein triple négatif

**TPS :** *Tumor Proportion Score* ou score de proportion tumorale

**VADS :** Voies AéroDigestives Supérieures

## HARMONISER LES TESTS IHC PD-L1 [1,5-18]

### 3 ÉTAPES BIEN MAÎTRISÉES... [1]

Les tests IHC PD-L1 comportent **trois phases** (phase pré-analytique, phase analytique et phase post-analytique), **chacune devant être précisément contrôlée** car pouvant être **source de variabilités**.



#### La décision médicale dépend beaucoup de la qualité des tests.

Un test, dont la qualité ne serait pas optimale, pourrait conduire à ne pas traiter des patients qui auraient pu l'être (faux négatifs) ou l'inverse (faux positifs).

### PHASE PRÉ-ANALYTIQUE : UNE ÉTAPE ESSENTIELLE [6]

Conditionnant la qualité des techniques d'IHC et de biologie moléculaire ultérieures, la **phase pré-analytique** comprend les étapes préalables de préparation des échantillons qu'il est primordial de maîtriser, du **prélèvement** à la **conservation des échantillons** (lames, copeaux) avant analyses, en passant par la **macroscopie** pour les pièces opératoires, la **fixation**, l'**inclusion en paraffine**, la **coupe** et le **montage**.

### PHASE ANALYTIQUE ET HARMONISATION DES TESTS [5,6]

#### • 5 prérequis sur les performances analytiques d'un test diagnostique

Un test diagnostique doit combiner des paramètres fondamentaux pour être approuvé par les agences d'évaluation des produits de santé :

- **Précision**  
Capacité à fournir des résultats proches de la valeur réellement attendue.
- **Sélectivité analytique**  
Capacité à différencier PD-L1 parmi les autres protéines de l'échantillon.
- **Sensibilité analytique**  
Capacité à détecter PD-L1, même en faible quantité, avec une bonne précision.
- **Reproductibilité**  
Aptitude à fournir des résultats identiques dans des conditions de recueil similaires.
- **Stabilité**  
Maintien des propriétés chimiques de l'anticorps anti-PD-L1 ainsi que des réactifs associés sur le long terme.

#### • Rationnel de l'harmonisation des tests PD-L1

Le **marquage des lames**, réalisé au cours de la **phase analytique**, dépend :

- de la méthode de **démasquage des épitopes**,
- du choix de l'**anticorps (Ac) primaire** et de sa dilution,
- de l'**automate utilisé**.

Or, pour réaliser les tests PD-L1, de **nombreuses combinaisons « anticorps + automate » sont possibles** : certaines correspondent aux **tests validés** par des études cliniques, d'autres constituent des **LDT**.

### LES CLONES ANTI-PD-L1 FRÉQUEMMENT UTILISÉS [7-17]

Dénomination	Type de clone	Autorisation
<b>22C3</b>	Kit/Ac concentré	Kit IVD
<b>28-8</b>	Kit/Ac concentré	Kit IVD
<b>SP142</b>	Kit	Kit IVD
<b>SP263</b>	Kit	Kit IVD
<b>E1L3N</b>	Ac concentré	RUO
<b>QR1</b>	Ac concentré/prédilué	IVD
<b>73-10</b>	Ac concentré/RTU	RUO
<b>IHC411</b>	Ac concentré/prédilué	IVD

### LES AUTOMATES FRÉQUEMMENT UTILISÉS [18]

Fabricant	Dénomination
Agilent Technologies/Dako	Autostainer Link 48
Agilent Technologies/Dako	Omnis
Leica Biosystems	Bond III
Ventana Medical Systems, Inc.	Benchmark ULTRA

## PHASE POST-ANALYTIQUE : PLUSIEURS MÉTHODES DE SCORING [7,12,19,20]

**TPS : Score de Proportion Tumorale [7]**

- Le TPS met en évidence la proportion de cellules tumorales marquées au sein de l'échantillon.

*Tumor Proportion Score (Score de Proportion Tumorale)*

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

Le TPS est exprimé en pourcentage

TPS compris entre 0 et 100 %

**CPS : Score Positif Combiné [19]**

- Le CPS illustre à la fois le marquage des cellules tumorales et de certaines cellules immunitaires du stroma.

*Combined Positive Score (Score Positif Combiné)*

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

CPS compris entre 0 et 100

Bien que certaines tumeurs puissent avoir un CPS > 100, le score maximal est fixé à 100

**Score TC [12,20]**

- Le score TC indique la proportion de cellules tumorales marquées au sein de l'échantillon.

*Tumor cells score*

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

Proportion de cellules tumorales marquées	Score TC
< 1 %	TC0
≥ 1 % - < 5 %	TC1
≥ 5 % - < 50 %	TC2
≥ 50 %	TC3

**Score IC [20]**

- Le score IC rend compte – non pas du nombre – mais de la surface occupée par les cellules immunitaires marquées au sein de la tumeur.

**Score IC =**  
Proportion de la surface tumorale occupée par les cellules immunitaires marquées

Proportion de surface tumorale comportant des cellules immunitaires marquées	Score IC
< 1 %	IC0
≥ 1 % - < 5 %	IC1
≥ 5 % - < 10 %	IC2
≥ 10 %	IC3

## DES EFFORTS CONSTANTS POUR HARMONISER LES PRATIQUES [1,2,21]

Il est recommandé d'utiliser les kits associés à chaque immunothérapie.

Cependant, plusieurs contraintes peuvent conduire à ne pas suivre les procédures standardisées et les facteurs de variabilité entre tests sont nombreux.

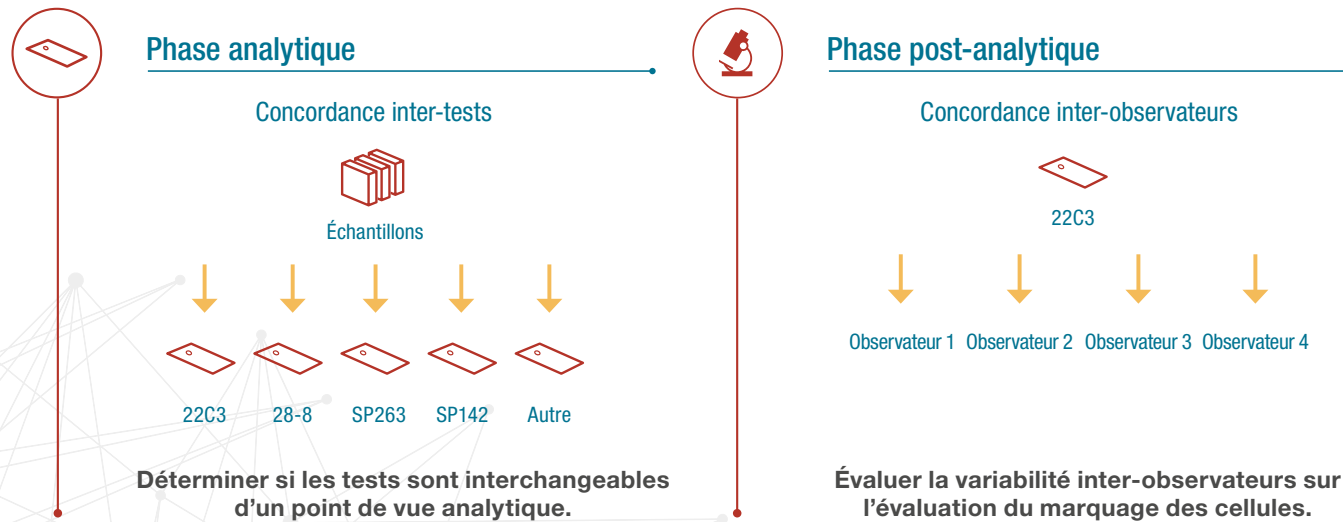
Afin que chaque laboratoire puisse déterminer quel protocole mettre en place selon le matériel dont il dispose, il est impératif de comparer les similitudes et les différences entre les tests.

## LES COMPARAISONS INTER-TESTS ET INTER-OBSERVATEURS

La phase **pré-analytique** maîtrisée, le résultat peut être influencé par différents facteurs lors des phases suivantes :

- **Analytique** → concordance **inter-tests**,
- **Post-analytique** → concordance **inter-observateurs**.

**En modifiant un facteur à la fois et en reproduisant l'expérience**, les études comparatives permettent de **mesurer l'impact du test lui-même versus l'impact de l'observateur** sur les résultats rendus.



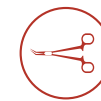
## LES QUESTIONS À SE POSER POUR UNE LECTURE CRITIQUE DES ÉTUDES COMPARATIVES [1,2,22,24,25]



**Combien de pathologistes** participent à l'étude?  
**Ont-ils été formés** à la lecture des lames?  
 Existe-t-il une **analyse inter-observateurs**?



Quels **clones** sont comparés?  
 Proviennent-ils de **kits** ou s'agit-il d'**anticorpus nus concentrés ou prédilué**s?  
 Leur utilisation est-elle limitée à la recherche ou adaptée au diagnostic *in-vitro* («RUO» ou «IVD»)?  
 Sur **quel automate** est réalisé le marquage ?



Combien de cas sont étudiés?  
**De quel type de prélèvement** provenaient les coupes histologiques observées?  
 (biopsies, pièces opératoires, cytologie, etc.)



**Quels scores et quels seuils de positivité (cut-off)** sont pris en compte pour le **scoring** ?

Les **recommandations publiées en France et dans le monde** donnent des indications sur les **pratiques à privilégier** dans le cadre des tests PD-L1 :<sup>[1]</sup>

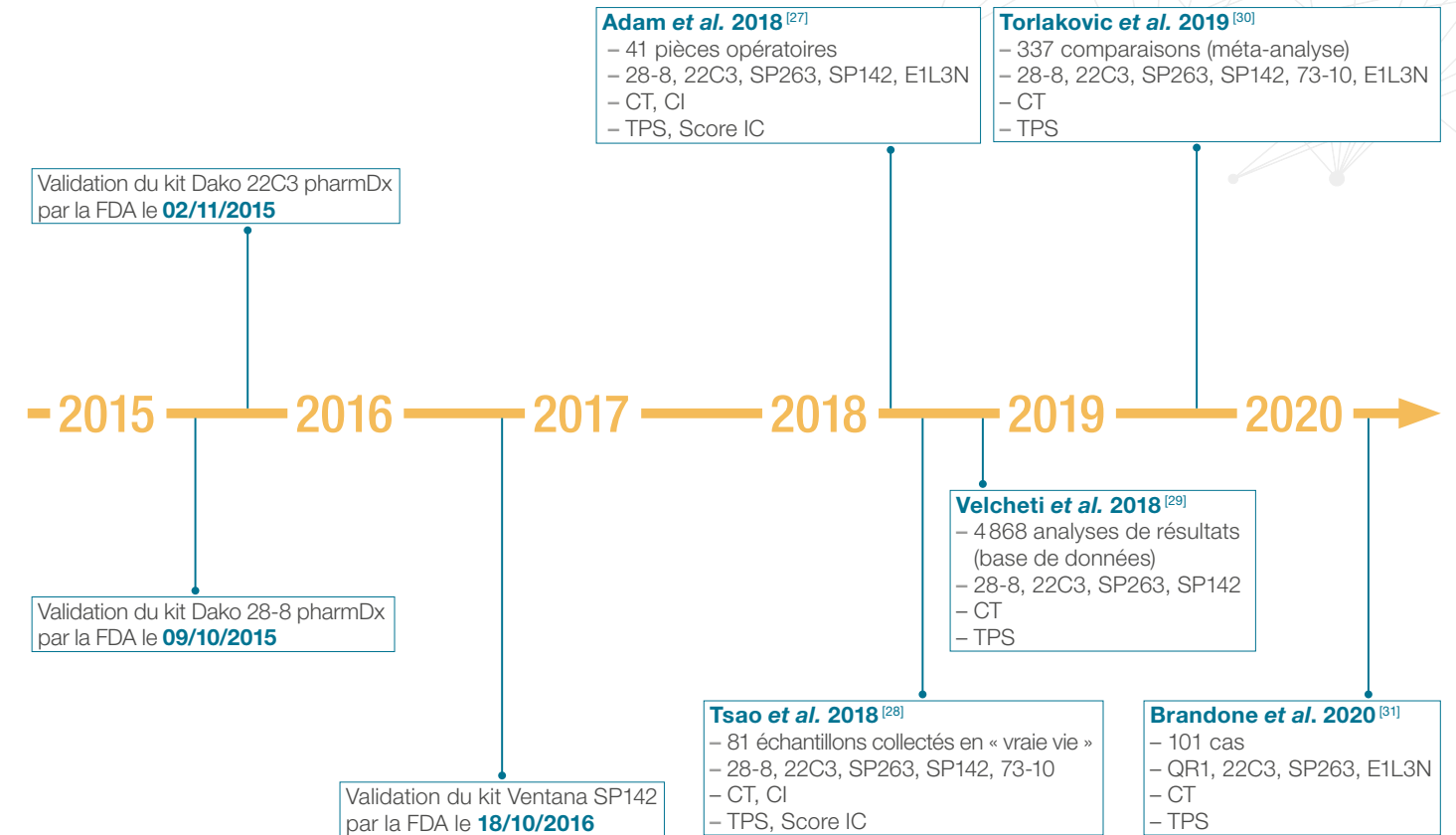
- Privilégier les tests standardisés lorsque c'est possible
- Participer régulièrement à des contrôles qualité externes
- N'utiliser un LDT que lorsqu'il a été préalablement validé par comparaison à un test standardisé avec un taux minimum de concordance de 90 % pour chaque *cut-off*

Chaque année, en France, le cancer du poumon touche plus de 45 000 nouvelles personnes (46 363 en 2018) et plus de 32 000 personnes en meurent.

67 % des malades sont des hommes et 33 % des femmes. Si le nombre de nouveaux cas de cancer du poumon est quasiment stable depuis 1990 chez les hommes, il a été multiplié par 7 au cours des 30 dernières années, chez les femmes. Cette progression est principalement liée au tabagisme. Le cancer du poumon se situe ainsi au deuxième rang des cancers les plus fréquents chez les hommes et au troisième chez les femmes.

En fonction de l'origine des cellules des bronches dont ils sont issus, il existe deux principaux types de cancers du poumon : les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) et les cancers bronchiques à petites cellules (CBPC) qui représentent, respectivement, 85 % et 15 % des cancers du poumon.<sup>[25,26]</sup>

## L'harmonisation des tests IHC PD-L1 dans les CBNPC<sup>[27-31]</sup>



## ADAM et al. 2018 > ÉTUDE D'HARMONISATION FRANÇAISE [27]

Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer.

J. Adam et N. Le Stang et I. Rouquette; A. Cazes; C. Badoual; H. Pinot-Roussel; L. Tixier; C. Danel; F. Damiola; D. Damotte et F. Penault-Llorca et S. Lantuéjoul. *Ann Oncol.* 2018 Apr 1;29 (4):953-58.

### Contexte [27]

Au moment de l'étude, 4 tests standardisés étaient validés dans le CBNPC, chacun associé à une immunothérapie donnée :

- Kits Dako 22C3 pharmDx et Dako 28-8 pharmDx sur automate Dako Autostainer Link 48
- Kits Ventana SP142 et Ventana SP263 sur automate Ventana Benchmark Ultra

Les différences entre ces tests sont l'anticorps primaire et/ou l'automate d'IHC utilisés, les systèmes de détection et d'interprétation du marquage ainsi que les *cut-offs* adoptés dans les études cliniques.

Constatant que les automates Dako et Ventana ne sont pas disponibles dans tous les laboratoires, que les kits commerciaux sont coûteux et insuffisamment remboursés, notamment en France, et que les différents tests ne sont pas réalisables sur un même échantillon (quantité limitée), les auteurs ont entrepris la comparaison des 4 tests commerciaux afin de savoir s'ils peuvent être interchangeables.



- 7 établissements indépendants en France
- 7 pathologistes



- 41 pièces opératoires
- CBNPC



**Kits :** Dako 22C3 pharmDx, Dako 28-8 pharmDx et Ventana SP263

**LDT :** 22C3, 28-8, SP263, SP142 et E1L3N

**Automates :** Dako Autostainer Link 48, Ventana Benchmark Ultra et Leica Bond III



- Cellules tumorales, cellules immunitaires
- Score TPS aux *cut-offs* de 1 % et 50 %
- Score IC aux *cut-offs* de 1 %, 5 % et 10 %

## CBNPC TPS

Dako 22C3 pharmDx, Dako 28-8 pharmDx, Ventana SP263, LDT 28-8, 22C3, SP263, SP142, E1L3N

Comparaison du marquage PD-L1 pour différentes méthodes de *scoring* et *cut-offs*

Centre et Automate disponible	Clones de PDL-1 utilisés				
	28-8	22C3	SP263	SP142	E1L3N
<b>Centre 1 - Dako</b>	Ref.	Ref.	0,83 vs SP263	0,68 vs SP263	0,63 vs SP263
<b>Centre 2 - Dako</b>	0,94 vs 28-8	0,91 vs 22C3	0,83 vs SP263	0,38 vs SP263	0,65 vs SP263
<b>Centre 3 - Dako</b>	0,79 vs 28-8	0,82 vs 22C3	0,86 vs SP263	0,61 vs SP263	0,77 vs SP263
<b>Centre 4 - Ventana</b>	0,80 vs 28-8	0,81 vs 22C3	0,81 vs SP263	0,43 vs SP263	0,60 vs SP263
<b>Centre 5 - Ventana</b>	0,73 vs 28-8	0,77 vs 22C3	Ref.	0,45 vs SP263	0,81 vs SP263
<b>Centre 6 - Leica</b>	0,60 vs 28-8	0,50 vs 22C3	0,83 vs SP263	0,78 vs SP263	0,75 vs SP263
<b>Centre 7 - Leica</b>	0,58 vs 28-8	0,62 vs 22C3	0,86 vs SP263	0,81 vs SP263	0,78 vs SP263

■ Marquage réalisé avec un kit (clone et automate correspondant)

■ LDT considérés comme concordants avec les tests PD-L1 de référence avec un coefficient de concordance kappa pondéré  $\geq 0,75$

■ LDT avec une concordance insuffisante

La concordance inter-tests pour les cellules tumorales est bonne pour les kits Dako 22C3 pharmDx, Dako 28-8 pharmDx et Ventana SP263 entre eux alors que 14 LDT sur 27 sont concordants avec un test de référence.

La corrélation est insuffisante pour les cellules immunitaires avec les kits et les LDT.



## TSAO et al. 2018 > BLUEPRINT II [28,32]

### PD-L1 Immunohistochemistry Comparability Study in Real-Life Clinical Samples : Results of Blueprint Phase 2 Project.

M.S. Tsao; K.M. Kerr; M. Kockx; MB. Beasley; A.C. Borczuk; J. Botling; L. Bubendorf; L. Chirieac ; G. Chen; TY. Chou; JH. Chung; S. Dacic; S. Lantuejoul; M. Mino-Kenudson; A.L. Moreira; A.G. Nicholson; M. Noguchi; G. Pelosi; C. Poleri; P.A. Russell; J. Sauter; E. Thunnissen ; I. Wistuba; H. Yu; M.W. Wynes; M. Pintilie; Y. Yatabe; F.R. Hirsch. *J Thorac Oncol.* 2018 Sep;13 (9):1302-11.

#### Contexte [28,32]

L'étude Blueprint, ayant pour objectif de comparer les tests IHC PD-L1 dans le CBNPC, a été conçue en deux phases. La phase I constituait une étude de faisabilité. Elle a comparé les performances analytiques des 4 tests utilisés dans les études cliniques sur un nombre limité d'échantillons (n = 39) provenant d'une source commerciale, évalués par 3 pathologistes formés. Blueprint I a pu montrer que les clones 22C3, 28-8 et SP263 fournissaient des résultats concordants pour le marquage des cellules tumorales tandis que SP142 les marquait plus faiblement. À l'inverse, les concordances entre les 4 tests étaient faibles pour le marquage des cellules immunitaires.

L'objectif de la phase II était de valider, par un large panel de pathologistes, les résultats obtenus lors de la première phase en utilisant 81 échantillons cliniques réels de cancer du poumon et d'évaluer la faisabilité/fiabilité de l'analyse du marquage sur lame numérique ; à partir des échantillons préparés pour un examen cytologique.



- 1 établissement unique pour le marquage, 15 pays à l'origine des prélèvements
- 24 pathologistes internationaux



- 81 échantillons (pièces opératoires, biopsies, cytoblocs)
- Cancers du poumon de type adénocarcinomes, épidermoïdes, non à petites cellules peu différenciés et carcinomes à petites cellules



#### Kits :

- Dako 22C3 pharmDx et Dako 28-8 pharmDx sur l'automate Dako Autostainer Link 48
- Ventana SP142 et Ventana SP263 sur l'automate Ventana Benchmark Ultra

**LDT :** clone Dako 73-10 sur l'automate Dako Autostainer Link 48

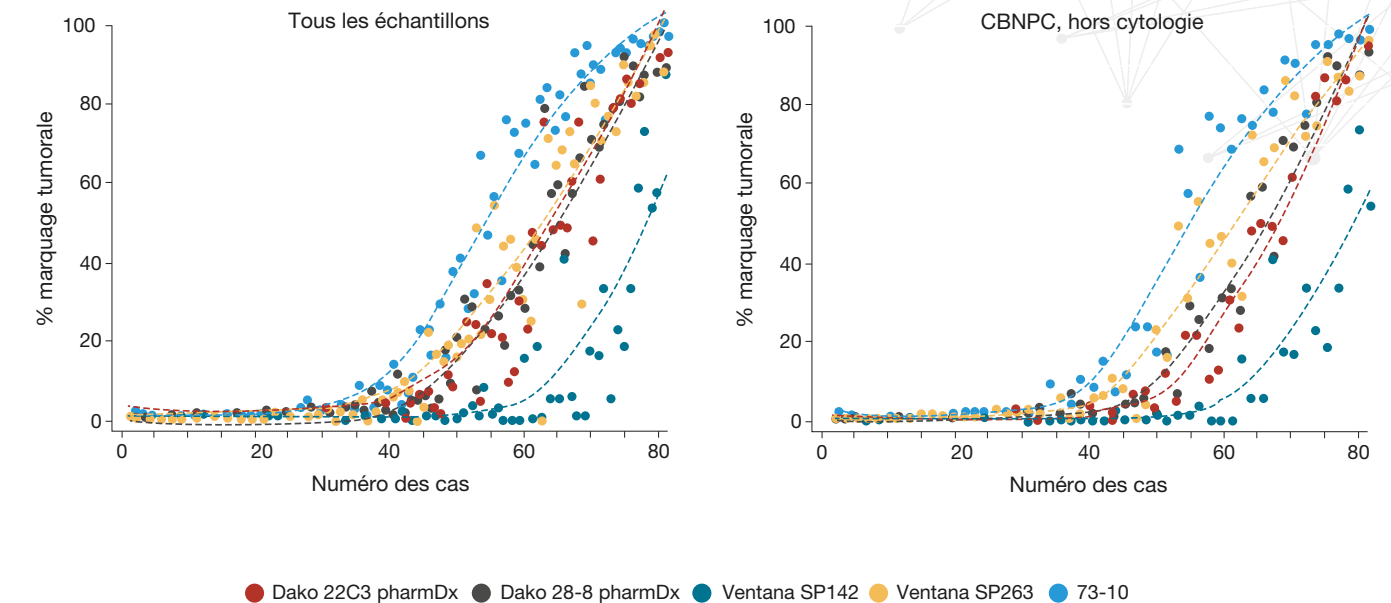


- TPS aux cut-offs de 1 %, 5 %, 10 %, 25 %, 50 % et 80 %
- Score IC : IC0, IC1, IC2 et IC3

## CBNPC TPS

Dako 22C3 pharmDx, Dako 28-8 pharmDx, Ventana SP263, Ventana SP142, LDT Dako 73-10

### Comparaison du marquage PD-L1 par différents anticorps



La concordance inter-tests pour les cellules tumorales et les cellules immunitaires est bonne entre les kits Dako 28-8 pharmDx, Dako 22C3 pharmDx et Ventana SP263.

La concordance inter-observateurs est excellente sur les cellules tumorales mais moins bonne sur les cellules immunitaires.

Le kit Ventana SP142 est moins sensible que les autres kits utilisés, alors que le clone Dako 73-10 est plus sensible.

L'étude Blueprint II confirme les résultats de la Blueprint I : les clones 28-8, 22C3 et SP263 sont interchangeables d'un point de vue analytique. De plus, une bonne corrélation des résultats est obtenue avec les cytoblocs.

## POUR ALLER PLUS LOIN [29-31]

- **Brandone et al. Validation of the QR1 Antibody for the Evaluation of PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Adenocarcinomas. 2020, Appl Immunohistochem Mol Morphol. [31]**

Étude visant à valider analytiquement l'utilisation d'un nouveau clone (QR1, Quartett) en le comparant avec le kit **Dako 22C3 pharmDx** et les LDT **SP263** et **E1L3N** sur **101 cas**. Les automates **Ventana Benchmark Ultra** et **Dako Autostainer Link 48** ont été utilisés. Selon les auteurs, le clone QR1 peut être utilisé en routine clinique.

- **Torlakovic et al. "Interchangeability" of PD-L1 immunohistochemistry assays : a meta-analysis of diagnostic accuracy. 2019, Mod Pathol. [30]**

Cette méta-analyse tente d'évaluer l'interchangeabilité de différents tests PD-L1, en se basant sur les résultats de **22 études comparatives** menées dans le CBNPC. Ces études intégraient les kits **Dako 22C3 pharmDx**, **Dako 28-8 pharmDx**, **Ventana SP263** et **Ventana SP142**, et/ou les LDT **22C3**, **E1L3N**, **28-8**, **SP142**, **SP263** et **Dako 73-10**. Cette méta-analyse a révélé que pour le TPS dans le CBNPC, de meilleures sensibilités et spécificités des tests pouvaient être atteintes avec un *cut-off* de 50 % *versus* 1 %. L'étude n'a pas pu démontrer l'interchangeabilité des 4 kits approuvés.

- **Velcheti et al. Real-world PD-L1 testing and distribution of PD-L1 tumor expression by immunohistochemistry assay type among patients with metastatic non-small cell lung cancer in the United States. 2018, PLoS One. [29]**

Dans cette étude, les auteurs ont comparé de façon rétrospective les performances des kits **Dako 22C3 pharmDx**, **Dako 28-8 pharmDx** et **Ventana SP142** et de différents LDT incluant **SP263**. Les analyses ont porté sur **4 868 échantillons de CBNPC métastatiques évalués en vraie vie**. Les observations ont montré que les kits **Dako 22C3 pharmDx** et **Dako 28-8 pharmDx** pourraient être interchangeables dans le CBNPC alors que le kit **Ventana SP142** ainsi que les LDT montrent des résultats discordants.

## CONCLUSION [27-31]

### Études d'harmonisation des tests PD-L1 dans les cancers bronchiques non à petites cellules



**Bonnes concordances** inter-tests et inter-observateurs pour les cellules tumorales avec les tests utilisant les clones **22C3**, **28-8** et **SP263** (kits ou LDT). Le clone **SP142** présente régulièrement une **concordance insuffisante**.

La concordance inter-observateurs/inter-tests est **disparate** pour les **cellules immunitaires**. Lorsque les tests standardisés sont indisponibles : privilégier les **LDT minutieusement validés**.

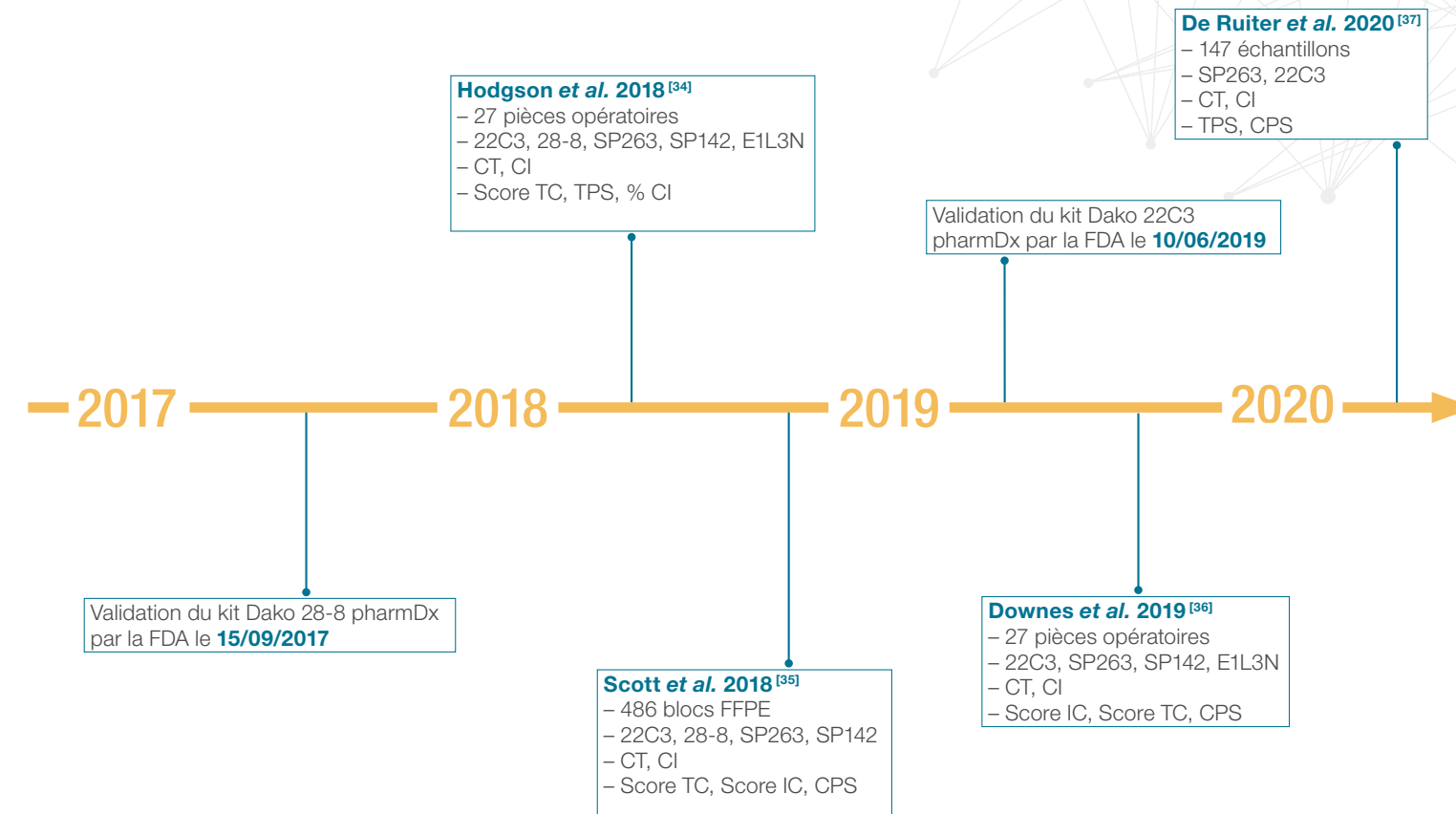
Ces résultats ne peuvent pas être extrapolés dans d'autres indications.

Chaque année, en France, les cancers VADS touchent près de 17 000 nouvelles personnes (16 852 en 2018). Les cancers VADS surviennent le plus souvent entre 50 et 64 ans et près de 5 000 personnes en meurent chaque année.

Si 8 malades sur 10 sont des hommes (76 %), l'incidence chez les hommes tend à diminuer alors qu'elle progresse chez les femmes. Cette tendance est liée à l'évolution du tabagisme, en baisse chez les hommes et en hausse chez les femmes.

9 cancers VADS sur 10 naissent à partir d'une cellule du tissu de revêtement des organes (l'épithélium). Il s'agit des carcinomes épidermoïdes du larynx, de l'hypopharynx, de l'oropharynx et de la cavité buccale (bouche). [25,33]

## L'harmonisation des tests IHC PD-L1 dans les cancers VADSC [34-37]



## HODGSON et al. 2018 [34]

**PD-L1 immunohistochemistry assay concordance in urothelial carcinoma of the bladder and hypopharyngeal squamous cell carcinoma.**

A. Hodgson; E. Slodkowska; A. Jungbluth; S.K. Liu; D. Vesprini; D. Enepekides; K. Higgins; N. Katabi; B. Xu et M. R. Downes. *Am J Surg Pathol.* 2018 Aug;42 (8):1059-66.

### Contexte [34]

Dans cette étude, les auteurs ont comparé plusieurs tests IHC PD-L1 sur des échantillons de cancers VADS et de cancers urothéliaux. Le but est alors de comparer les performances analytiques de différents kits commerciaux (et de leurs *cut-offs* associés) et de LDT.

En l'absence d'études approfondies portant uniquement sur des échantillons VADS, cette étude donne de premières indications sur l'interchangeabilité des tests IHC PD-L1 pour cette indication.



- 1 établissement
- 2 pathologistes (un spécialiste VADS et un spécialiste urothélial)



- 27 pièces opératoires
- 197 pièces opératoires
- Carcinomes de l'hypopharynx
- Carcinomes urothéliaux



#### Kits :

- Ventana SP142 et Ventana SP263 sur l'automate Ventana Benchmark Ultra
- Dako 22C3 pharmDx sur l'automate Dako Autostainer Link 48

**LDT :** E1L3N sur automate Ventana Benchmark Ultra



- Cellules tumorales, cellules immunitaires
- Score TC aux *cut-offs* de 25 % (Ventana SP263 et E1L3N), de 50 % (Ventana SP142 et E1L3N) ou de 10 % (cellules immunitaires marquées)
- Score TPS au *cut-off* de 50 % (Dako 22C3 pharmDx et E1L3N)

## Carcinomes de l'hypopharynx et cancers urothéliaux

Score TC, TPS, % CI

Ventana SP142, Ventana SP263, Dako 22C3 pharmDx, LDT E1L3N

Comparaison des performances analytiques et du marquage PD-L1 pour différentes méthodes de *scoring* et *cut-offs*

	Kappa pour les performances analytiques		ICC pour le pourcentage de cellules tumorales marquées		ICC pour le pourcentage de cellules immunitaires marquées			
	Kappa	IC <sub>95%</sub>	ICC	IC <sub>95%</sub>	ICC	IC <sub>95%</sub>		
<b>SP142 vs. 22C3</b>	0,791*	0,660 - 0,922	<b>Les 4 tests</b>	0,900*	0,870 - 0,923	<b>Les 4 tests</b>	0,805*	0,76 - 0,844
<b>SP243 vs. E1L3N</b>	0,762*	0,631 - 0,893	<b>SP263 vs. E1L3N</b>	0,949*	0,933 - 0,961	<b>22C3 vs. E1L3N</b>	0,866*	0,826 - 0,897
<b>22C3 vs. E1L3N</b>	0,743*	0,612 - 0,873	<b>22C3 vs. E1L3N</b>	0,939*	0,918 - 0,955	<b>SP263 vs. SP142</b>	0,722*	0,638 - 0,786
<b>SP263 vs. SP142</b>	0,724*	0,593 - 0,855	<b>SP263 vs. 22C3</b>	0,929*	0,905 - 0,947	<b>SP263 vs. E1L3N</b>	0,695*	0,595 - 0,769
<b>SP263 vs. 22C3</b>	0,706*	0,575 - 0,837	<b>SP142 vs. 22C3</b>	0,619*	0,481 - 0,717	<b>SP142 vs. E1L3N</b>	0,667*	0,567 - 0,744
<b>SP142 vs. E1L3N</b>	0,639*	0,508 - 0,770	<b>SP263 vs. SP142</b>	0,525*	0,340 - 0,652	<b>SP263 vs. 22C3</b>	0,567*	0,435 - 0,668
			<b>SP142 vs. E1L3N</b>	0,500*	0,320 - 0,629	<b>SP142 vs. 22C3</b>	0,519*	0,376 - 0,630

\* : p < 0,001

Plus de 85 % de cas concordants quel que soit le test utilisé.

Très bonne corrélation des différents kits dans le marquage des cellules tumorales. Corrélation plus faible des différents kits dans le marquage des cellules immunitaires. E1L3N : taux de positivité comparable aux kits, quel que soit le *scoring*.

## SCOTT et al. 2018 <sup>[35]</sup>

### Comparison of Patient Populations Identified by Different PD-L1 Assays in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC).

M. Scott; S. Wildsmith; M. Ratcliffe; H. Al-Masri; P. Scorer; C. Barker; M.C. Rebelatto; J. Walker. *Poster presented at the ESMO Annual Meeting 2018; Munich, Germany, October 2018.*

#### Contexte <sup>[35]</sup>

Différents tests (anticorps primaires, méthode de *scoring*, etc.) ont été utilisés dans les études cliniques évaluant les immunothérapies dans les carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou.

Dans une précédente étude menée sur ce type de tumeurs, les investigateurs avaient montré une forte corrélation entre les kits Dako 22C3 pharmDx, Dako 28-8 pharmDx et Ventana SP263 pour l'évaluation de l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales, ceci pour différents *cut-offs*. Dans cette étude, les auteurs ont également évalué la performance du kit Ventana SP142 ainsi que l'expression de PD-L1 par les cellules immunitaires. De plus, un seul pathologiste a interprété l'ensemble des lames, éliminant ainsi toute variabilité inter-observateurs.



- 1 établissement
- 1 pathologiste



- 486 échantillons
- Cancers épidermoïdes de la tête et du cou



#### Kits :

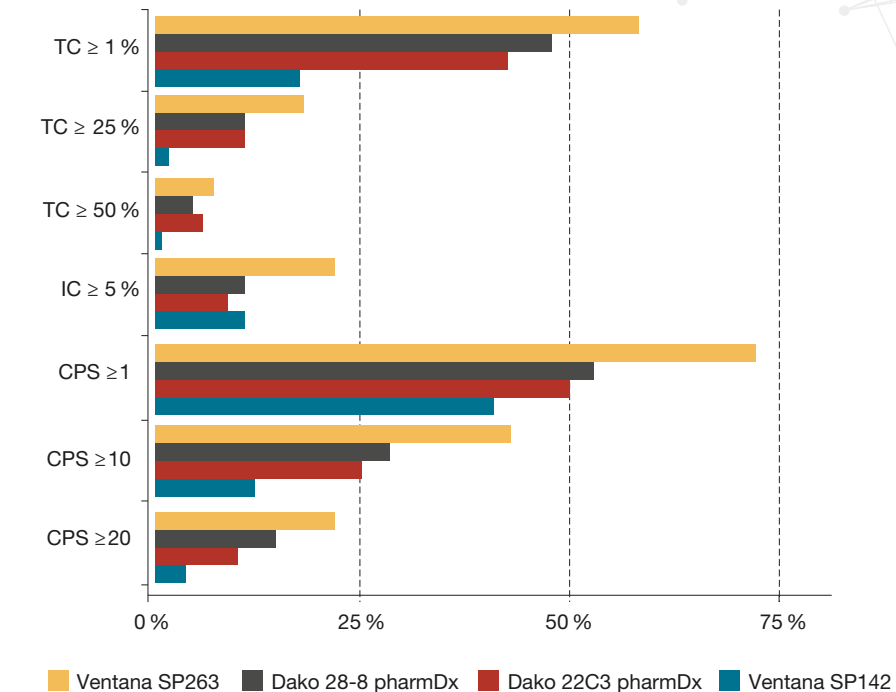
- Ventana SP142 et Ventana SP263 sur l'automate Ventana Benchmark Ultra
- Dako 22C3 pharmDx et Dako 28-8 pharmDx sur l'automate Dako Autostainer Link 48



- Cellules tumorales, cellules immunitaires
- Score TC aux *cut-offs* de 1 %, 25 % et 50 %
- Score IC aux *cut-off* de 5 %
- CPS aux *cut-offs* de 1, 10 et 20

## Cancers épidermoïdes de la tête et du cou Score TC, Score IC, CPS Dako 22C3 pharmDx, Dako 28-8 pharmDx, Ventana SP142, Ventana SP263

### Comparaison du marquage PD-L1 pour différentes méthodes de *scoring* et *cut-offs*



Bonne concordance entre les kits Dako 22C3 pharmDx, Dako 28-8 pharmDx et Ventana SP263 pour le marquage des cellules tumorales et des cellules immunitaires, bien que la corrélation soit plus faible sur ces dernières.

Globalement : les différents kits, associés à leur *scoring*, identifient des populations de patients différentes et ne sont donc pas interchangeables.

## POUR ALLER PLUS LOIN [36,37]

- **Downes *et al.* Interobserver and Intraobserver agreement of PD-L1 scoring in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HSCC), Urothelial Carcinoma (UC), and Breast Carcinoma (BC). 2020, *Histopathology*.** [36]

Dans cette étude, les concordances inter et intra-observateurs ont été évaluées dans plusieurs cancers : le cancer de la tête et du cou, le carcinome mammaire et le carcinome urothélial. **27 pièces opératoires** de carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou ont été utilisées. Les marquages réalisés grâce aux kits **Ventana SP142** et **Ventana SP263** sur l'automate **Ventana Benchmark Ultra**, **Dako 22C3 pharmDx** sur l'automate **Dako Autostainer Link 48** et un LDT utilisant l'**E1L3N** sur l'automate **Leica Bond III Autostainer** ont été analysés par 3 pathologistes.

Les auteurs ont observé une bonne concordance inter et intra-observateur avec les kits Dako 22C3 pharmDx, Ventana SP263 et le clone E1L3N mais des résultats plus variables avec le Ventana SP142.

→ **Plus d'informations sur cette étude sont disponibles en page 33, dans l'onglet « Appareil urinaire ».**

- **De Ruiter EJ *et al.* Comparison of three PD-L1 immunohistochemical assays in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) 2020, *Mod Pathol*.** [37]

Cette étude montre une concordance modérée entre les kits **Ventana SP263** (automate **Ventana Benchmark Ultra**), **Dako 22C3 pharmDx** et le **LDT 22C3** (automate **Ventana Benchmark Ultra**) sur **147 échantillons** de carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou (en utilisant le TPS et le CPS). D'importantes différences de positivités ont été constatées autour des *cut-offs* cliniquement pertinents. Cela devra donc être pris en compte lors de l'évaluation en routine de l'expression de PD-L1 chez des patients atteints de ce type de tumeurs.

## CONCLUSION [34,37]

### Études d'harmonisation des tests PD-L1 dans les voies aérodigestives supérieures

**Des résultats plus variables que dans le CBNPC :** concordances inter-tests pouvant être plus faibles que dans d'autres tumeurs.



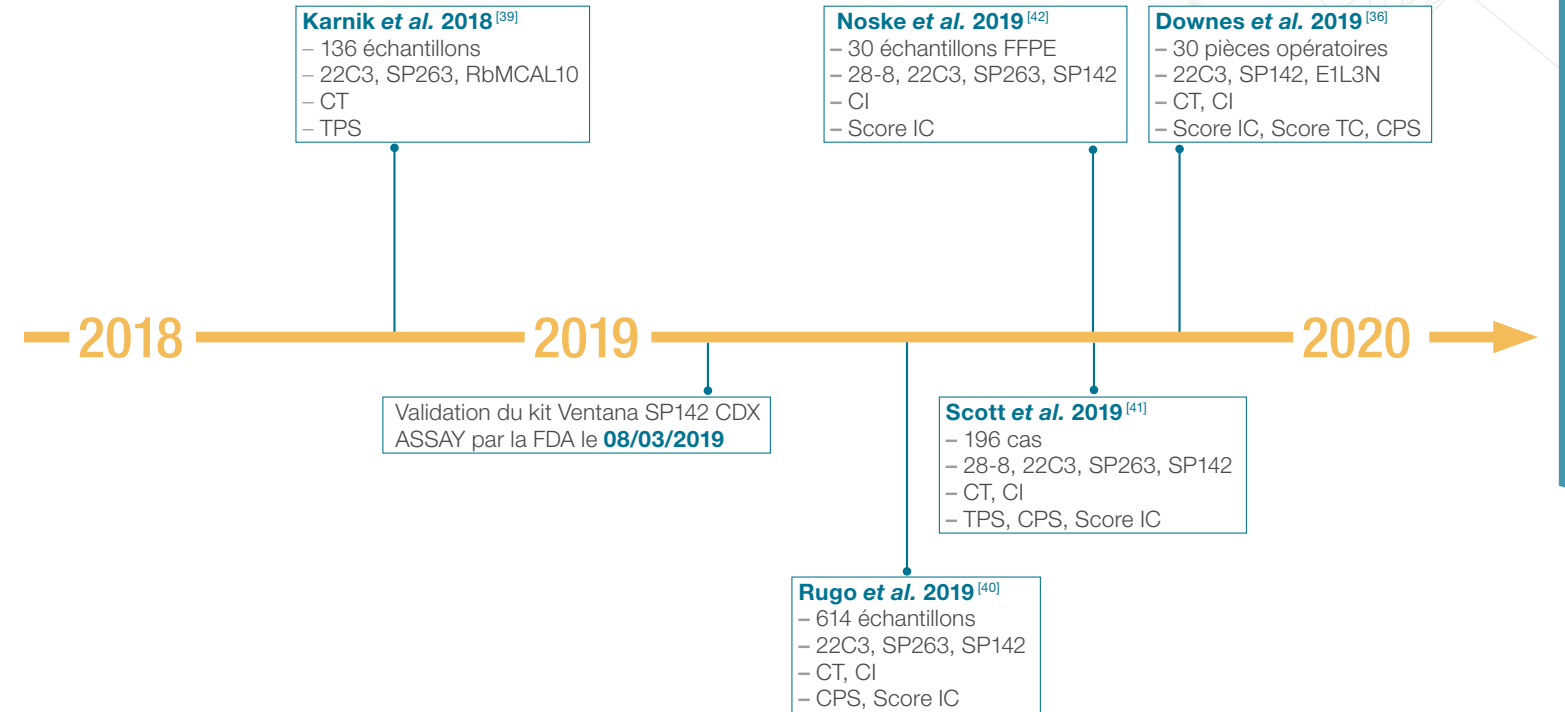
Néanmoins, **bonne corrélation** entre les tests utilisant les clones **22C3, SP263** et **28-8**.

**Populations positives variables** selon les méthodes de *scoring*.

**De nouvelles études sont nécessaires pour établir la concordance inter-tests/observateurs.**



## L'harmonisation des tests IHC PD-L1 dans les cancers du sein [36,40-42]



Le cancer du sein est l'un des cancers les plus répandus et les plus mortels dans le monde (1,7 millions de nouveaux cas par an et 520 000 décès) et en France (58 459 nouveaux cas par an et 12 146 décès en 2018).

Plus il est détecté tôt, plus les chances de guérison sont importantes. D'une manière générale, la survie à 5 ans est de 87 % (survie nette standardisée sur l'âge). Elle atteint 99 % en cas de détection précoce et s'effondre à 26 % en situation métastatique. Dans cette situation, le cancer du sein devient une maladie incurable, avec un taux de survie à long terme de moins de 5 %.

Au cours des 20 dernières années, la survie globale après diagnostic d'un cancer du sein s'est progressivement améliorée, en particulier pour les personnes atteintes d'un cancer HER2 positif, grâce à l'avènement de plusieurs thérapies ciblées ou anticorps conjugués ciblant cette protéine. À l'opposé, le cancer du sein triple négatif, défini par l'absence d'expression des récepteurs aux œstrogènes (ER -) et à la progestérone (PR -) et de surexpression d'HER2, reste de pronostic extrêmement péjoratif, avec une médiane de survie de l'ordre de 14 mois en France, inchangée depuis 20 ans. La survie globale des personnes atteintes de cancer du sein positif pour les récepteurs hormonaux et négatifs pour HER2 reste également stable, sans amélioration depuis 10 ans.<sup>[25,38]</sup>

## RUGO et al. 2019 [40]

**Performance of PD-L1 immunohistochemistry (IHC) assays in unresectable locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC) : Post-hoc analysis of IMpassion130.**

H.S. Rugo; S. Loi; S. Adams; P. Schmid; A. Schneeweiss; C.H. Barrios; H. Iwata; V.C. Dieras; E.P. Winer; M. Kockx; D. Peeters; S.Y. Chui; J.C. Lin; A.N. Duc; G. Viale; L. Molinero; L.A. Emens. *Annals of Oncology* 30 (suppl\_5) : v851-v934.

### Contexte [40]

Les résultats de cette étude ont été présentés au cours de l'ESMO 2019. Seul un résumé est disponible sur internet en novembre 2020. Cette étude a pour but d'analyser, de manière exploratoire, les résultats d'un essai clinique de phase III réalisé dans le TNBC avec le kit Ventana SP142 à l'aide d'autres kits actuellement utilisés dans d'autres indications (Ventana SP263 et Dako 22C3 pharmDx).



1 établissement



– 614 échantillons  
– TNBC



#### Kits :

– Ventana SP142 et Ventana SP263 sur l'automate Ventana Benchmark Ultra  
– Dako 22C3 pharmDx sur l'automate Dako Autostainer Link 48



– Score IC au *cut-off* de 1 % (Ventana SP142 et Ventana SP263)  
– CPS au *cut-off* de 1

## Cancers du sein CPS, Score IC Dako 22C3 pharmDx, Ventana SP142, Ventana SP263 Comparaison du marquage PD-L1 pour différentes méthodes de *scoring* et *cut-offs*

		Ventana SP142		
		IC < 1 %	IC ≥ 1 %	
Dako 22C3 pharmDx	CPS < 1	n = 111 (18 %)	n = 6 (1 %)	PPA 98 % NPA 45 % OPA 69 %
	CPS ≥ 1	n = 218 (36 %)	n = 279 (45 %)	
Ventana SP263	IC < 1 %	n = 147 (24 %)	n = 7 (1 %)	PPA 98 % NPA 34 % OPA 64 %
	IC ≥ 1 %	n = 182 (30 %)	n = 278 (45 %)	

Positivité concordante entre les kits

Positivité discordante entre les kits

Concordance inter-tests modérée entre les kits Ventana SP142 et Dako 22C3 pharmDx et entre Ventana SP142 et Ventana SP263.

Les kits Dako 22C3 pharmDx et Ventana SP263 et leurs *scoring* associés identifient plus de patients positifs pour PD-L1 que le kit Ventana SP142.



## SCOTT et al. 2019 [41]

### Comparison of patient populations identified by different PD-L1 assays in triple-negative breast cancer (TNBC).

M. Scott; P. Scorer; C. Barker; H. Al-Masri. *Annals of Oncology* 30 (suppl\_3) : iii1-iii26.

#### Contexte [41]

Plusieurs études évaluant l'efficacité des immunothérapies ciblant l'axe PD-1/PD-L1 dans le TNBC utilisent les tests IHC PD-L1 pour cibler les populations de patients d'intérêt. Le but de cette étude est de comparer les différents kits IHC PD-L1 et leur capacité à identifier les patients positifs.



1 pathologiste



- 196 cas  
- TNBC



#### Kits :

- Ventana SP142 et Ventana SP263 sur l'automate Ventana Benchmark Ultra  
- Dako 22C3 pharmDx et Dako 28-8 pharmDx sur l'automate Dako Autostainer Link 48

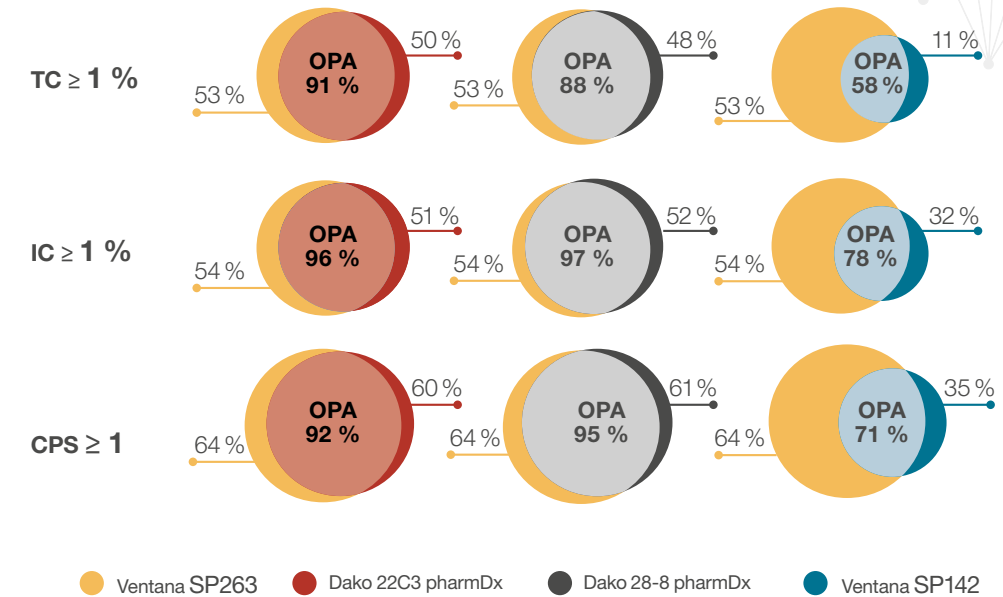


- Cellules tumorales, cellules immunitaires  
- Score TC au *cut-off* de 1 %  
- Score IC au *cut-off* de 1 %  
- CPS au *cut-off* de 1



### TNBC Score TC, Score IC, CPS Ventana SP263, Dako 22C3 pharmDx, Dako 28-8 pharmDx, Ventana SP142

Prévalence des cas positifs avec chaque test et comparaison des taux de positivité entre le kit Ventana SP263 et les autres kits (OPA)



Performances analytiques similaires entre Ventana SP263, Dako 22C3 pharmDx et Dako 28-8 pharmDx, tandis que les cellules tumorales et immunitaires sont moins marquées avec le kit Ventana SP142.

À l'opposé des autres types de cancer, le marquage des cellules tumorales semble moins important dans le TNBC alors que celui des cellules immunitaires augmente.

## POUR ALLER PLUS LOIN [36,39,42]

- **Downes *et al.* Interobserver and Intraobserver agreement of PD-L1 scoring in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HSCC), Urothelial Carcinoma (UC), and Breast Carcinoma (BC). 2020, *Histopathology*. [36]**

Dans cette étude, les concordances inter et intra-observateurs ont été évaluées dans plusieurs cancers : le cancer de la tête et du cou, le carcinome mammaire et le carcinome urothélial. **30 pièces opératoires** de carcinomes mammaires ont été utilisées. Les marquages réalisés grâce aux kits **Ventana SP142** sur l'automate **Ventana Benchmark Ultra**, **Dako 22C3 pharmDx** sur l'automate **Dako Autostainer Link 48** et un LDT utilisant l'**E1L3N** sur l'automate **Leica Bond III Autostainer** ont été analysés par 3 pathologistes.

Les auteurs ont observé une bonne concordance inter et intra-observateur avec les kits Dako 22C3 pharmDx, Ventana SP263 et le clone E1L3N mais des résultats plus variables avec le Ventana SP142.

→ **Plus d'informations sur cette étude sont disponibles en page 33, dans l'onglet « Appareil urinaire ».**

- **Noske *et al.* Reproducibility and concordance of 4 clinically developed programmed death-ligand 1 immunohistochemistry assays in triple-negative breast cancer. 2019, *Poster presented at the ESMO 2019 Congress ; Barcelona, Spain*. [42]**

Cette étude a comparé les taux de positivité obtenus avec les 4 kits **Ventana SP142** et **Ventana SP263**, **Dako 22C3 pharmDx** et **Dako 28-8 pharmDx** sur **30 tumeurs primitives de TNBC**. Il a été observé que les performances analytiques étaient similaires entre Ventana SP142, Dako 22C3 pharmDx et Dako 28-8 pharmDx et que le kit Ventana SP263 marquait un peu plus de cellules immunitaires.

- **Karnik *et al.* PD-L1 in breast cancer: comparative analysis of 3 different antibodies. 2018, *Human Pathology*. [39]**

Le but de cette étude est de comparer la performance analytique des 3 kits commerciaux **Dako 22C3 pharmDx**, **Ventana SP263** et **BioCare RbMCAL10** sur les automates **Dako Autostainer**, **Ventana Benchmark Ultra** et **BioCare Autostainer** dans le TNBC sur **136 échantillons**. Le marquage des cellules tumorales est concordant entre les différents clones.

## CONCLUSION [36,40-42]

### Études d'harmonisation des tests PD-L1 dans le sein

**Des différences notables par rapport aux autres types de tumeurs :** moins de cellules tumorales que de cellules immunitaires marquées.

Un fort impact des méthodes de *scoring* et *cut-offs* sur le taux de positivité.



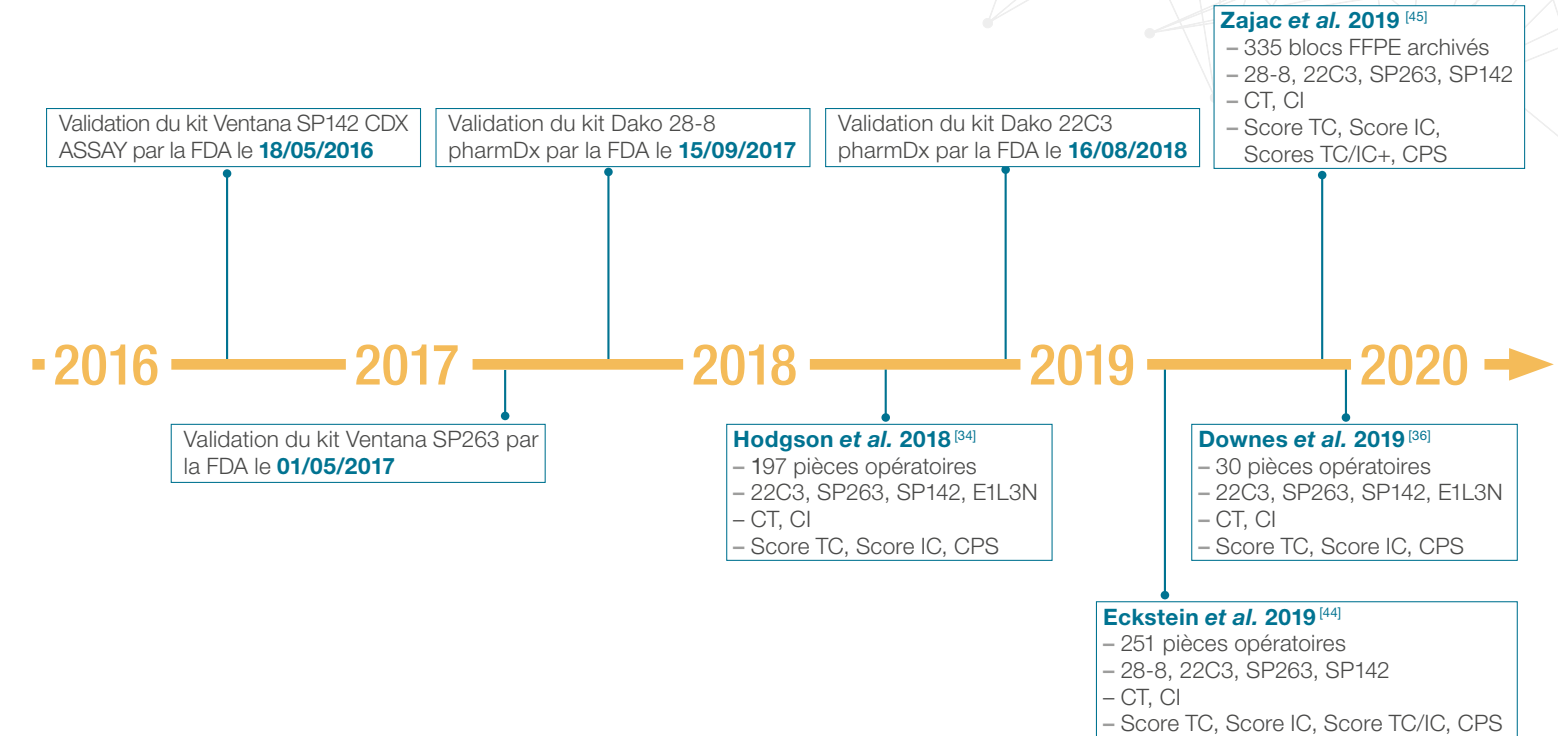
**Les études inter-tests démontrent une bonne concordance pour les différents kits, excepté le kit Ventana SP142** qui présente des résultats variables.

Des études complémentaires incluant des LDT et une analyse de concordance inter-observateurs sont nécessaires.

**Prudence requise au moment d'interchanger les tests qui pourraient identifier des populations différentes.**



## L'harmonisation des tests IHC PD-L1 dans l'appareil urinaire [34,36,44,45]



On estime à plus de 13 000 le nombre de nouveaux cas de cancers de la vessie diagnostiqués en France chaque année (13 074 en 2018), dont plus de 80 % chez l'homme. Cette incidence le place au 7<sup>e</sup> rang des cancers les plus fréquents en France. Les cancers de la vessie surviennent le plus souvent après 70 ans (à 73 ans en moyenne chez l'homme et 78 ans chez la femme) et plus de 5 000 personnes en meurent chaque année.

Le plus souvent, le cancer se forme à partir des cellules de la muqueuse (épithélium urothélial). Il prend alors le nom de carcinome urothélial.<sup>[26,43]</sup>

## ECKSTEIN et al. 2019<sup>[44]</sup>

Performance of the Food and Drug Administration/EMA-approved programmed cell death ligand-1 assays in urothelial carcinoma [...].

M. Eckstein; P. Erben; M.C. Kriegmair; T.S. Worst; CA Weiß; R.M. Wirtz; S. Wach; R. Stoehr; D. Sikic; C.I. Geppert; V. Weyerer; S. Bertz; J. Breyer; W. Otto; B. Keck; M. Burger; H. Taubert; W. Weichert; B. Wullich; C. Bolenz; A. Hartmann; F. Erlmeier. *Eur J Cancer*. 2019 Jan;106:234-43.

### Contexte<sup>[44]</sup>

L'accès à des inhibiteurs de la voie PD-1/PD-L1, en 1<sup>re</sup> ligne, pour des patients atteints d'un carcinome urothélial métastatique, est conditionné aux résultats de tests PD-L1 différents (clone, *scoring*, *cut-off*). Cette étude vise à comparer les performances analytiques et diagnostiques de différents tests approuvés par la FDA et l'EMA.



- 7 établissements
- 2 pathologistes



- 251 échantillons
- Carcinomes urothéliaux



#### Kits :

- Ventana SP142 et Ventana SP263 sur l'automate Ventana Benchmark Ultra
- Dako 22C3 pharmDx et Dako 28-8 pharmDx sur l'automate Dako Autostainer Link 48



- Cellules tumorales, cellules immunitaires
- Score IC : IC0, IC1, IC2 ou IC3 (Ventana SP142)
- Scores IC ou TC au *cut-off* de 25 % (Ventana SP263)
- CPS au *cut-off* de 10 (Dako 22C3 pharmDx)
- Score TC au *cut-off* de 5 % (Dako 28-8 pharmDx)

## Carcinomes urothéliaux infiltrant le muscle Score TC, Score IC, CPS Ventana SP142, Ventana SP263, Dako 22C3 pharmDx, Dako 28-8 pharmDx

Comparaison du marquage PD-L1  
selon différentes méthodes de *scoring* et *cut-offs*

	Kit de référence au <i>cut-off</i> correspondant							
	Dako 28-8 pharmDx		Dako 22C3 pharmDx		Ventana SP142		Ventana SP263	
	PPA	NPA	PPA	NPA	PPA	NPA	PPA	NPA
<b>Dako 28-8 pharmDx, TC ≥ 5 %</b>			88,1 %	96,4 %	44,0 %	99,4 %	85,0 %	95,2 %
<b>Dako 22C3 pharmDx, CPS ≥ 10</b>	95,5 %	92,6 %			46,6 %	100 %	92,0 %	89,6 %
<b>Ventana SP142, IC ≥ 5 %</b>	73,2 %	86,7 %	78,0 %	90,0 %			82,9 %	81,0 %
<b>Ventana SP263, TC ou IC ≥ 25 %</b>	90,0 %	98,8 %	85,7 %	99,4 %	30,0 %	100 %		

Les kits Dako 28-8 pharmDx, Dako 22C3 pharmDx et Ventana SP263 seraient interchangeables d'un point de vue analytique. Le kit Ventana SP142 présente des marquages divergents. La variabilité des tests conduit à des taux de détection de patients positifs différents.

## DOWNES et al. 2019 [36]

### Interobserver and Intraobserver agreement of PD-L1 scoring in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HSCC), Urothelial Carcinoma (UC), and Breast Carcinoma (BC).

M.R. Downes; E. Slodkowska; N. Katabi; A.A. Jungbluth; B. Xu. *Histopathology*. 2020 Jan;76(2):191-200.

#### Contexte [36]

Dans cette étude, les auteurs ont étudié la concordance inter et intra-observateurs dans l'interprétation de l'immunopositivité de PD-L1 dans plusieurs cancers : le cancer de la tête et du cou, le carcinome mammaire et le carcinome urothélial.

Pour une indication donnée, l'immunopositivité est définie lorsqu'un échantillon franchit les *cut-offs* associés aux *scorings* spécifiques (validés par des études cliniques) à chacun des kits et clones.

Certaines analyses ont été réalisées indication par indication, d'autres ont été réalisées sur l'ensemble des échantillons combinés.



- 1 établissement
- 3 pathologistes



- 30 pièces opératoires
- 27 pièces opératoires
- 30 pièces opératoires
- Carcinomes urothéliaux
- Carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou
- Carcinomes mammaires



#### Kits :

- Ventana SP142 et Ventana SP263 sur l'automate Ventana Benchmark Ultra
- Dako 22C3 pharmDx sur l'automate Dako Autostainer Link 48

**LDT** : E1L3N sur l'automate Leica Bond III Autostainer



- Cellules tumorales, cellules immunitaires
- Score TC au *cut-off* de 25 % ou score IC au *cut-off* de 25 % (Ventana SP263)
- Score IC au *cut-off* de 5 % (Ventana SP142)
- CPS au *cut-off* de 10 (Dako 22C3 pharmDx)
- Tous les *cut-offs* (clone E1L3N)

## Carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou, carcinomes mammaires, carcinomes urothéliaux

Score TC, Score IC, CPS

Ventana SP142, Ventana SP263, Dako 22C3 pharmDx, LDT E1L3N

### Concordances inter-observateurs du marquage PD-L1 pour différentes méthodes de *scoring* et *cut-offs*

	TC 1 %	TC 5 %	TC 25 %	IC 1 %	IC 5 %	IC 25 %	CPS 1	CPS 10
22C3	0,723	0,779	0,821	0,760	0,644	0,729	0,775	0,777
SP263	0,728	0,896	0,862	0,712	0,681	0,650	0,750	0,724
SP142	0,601	0,655	0,326	0,688	0,582	0,560	0,688	0,754
E1L3N	0,659	0,807	1,000	0,818	0,707	0,640	0,831	0,676

Concordance	faible	modérée	forte	quasi-parfaite	parfaite
-------------	--------	---------	-------	----------------	----------

Impact significatif des méthodes de *scoring* et *cut-offs* sur l'immunopositivité.

Bonne concordance inter et intra-observateurs avec les kits Dako 22C3 pharmDx, Ventana SP263 et le clone E1L3N pour l'évaluation des scores TC, IC et CPS.

L'évaluation de PD-L1 avec le kit Ventana SP142 semble donner des résultats plus variables.

## POUR ALLER PLUS LOIN [34,45]

- **Zajac et al. Concordance among four commercially available, validated programmed cell death ligand-1 assays in urothelial carcinoma. 2019, *Diagn Pathol*.<sup>[45]</sup>**

Dans cette étude, les auteurs ont comparé les performances analytiques des kits **Ventana SP263**, **Ventana SP142**, **Dako 22C3 pharmDx** et **Dako 28-8 pharmDx** sur **335 échantillons** de carcinomes urothéliaux. Ils ont également évalué le recoupement entre les populations identifiées comme positives par ces 4 kits. Les auteurs ont pu remarquer que la concordance inter-kits était moins bonne avec Ventana SP142. Par ailleurs, ils ont observé des différences entre les populations de patients classées comme positives, selon les kits. Ils ont cependant pu conclure que les kits Ventana SP263 et Dako 22C3 pharmDx pourraient être interchangeables d'un point de vue analytique.

- **Hodgson et al. PD-L1 immunohistochemistry assay concordance in urothelial carcinoma of the bladder and hypopharyngeal squamous cell carcinoma. 2018, *Am J Surg Pathol*.<sup>[34]</sup>**

Cette étude compare les performances analytiques de 3 kits marqués IVD (**Ventana SP263** et **Ventana SP142** sur automate **Ventana Benchmark Ultra** et **Dako 22C3 pharmDx** sur l'automate **Dako Autostainer Link 48**) ainsi que d'un LDT (le **E1L3N** sur automate **Ventana BenchMark Ultra**) sur des échantillons de cancers VADS et de cancers urothéliaux. **197 pièces opératoires de carcinomes urothéliaux** ont été utilisés. Les auteurs ont observé une très bonne corrélation dans le marquage des cellules tumorales mais une corrélation plus faible dans le marquage des cellules immunitaires. Avec le LDT E1L3N, les taux de positivité étaient comparables aux kits.

→ **Plus d'informations sur cette étude sont disponibles en page 20, dans l'onglet « VADS ».**

## CONCLUSION [34,36,44,45]

### Études d'harmonisation des tests PD-L1 dans l'appareil urinaire



Plusieurs études comparant les kits **Dako 22C3 pharmDx** et **Dako 28-8 pharmDx** et **Ventana SP263** et **Ventana SP142** ou des LDT intégrant le clone E1L3N ont été menées et indiquent une bonne corrélation inter-tests et inter-observateurs, mais **plus faible avec Ventana SP142**, en particulier sur les cellules tumorales.

Quelques études concluent à l'interchangeabilité de certains tests mais des études supplémentaires sont nécessaires.



D'une manière générale, l'utilisation de kits de référence doit être favorisée dans la mesure du possible :

- **Cellules tumorales** : très bonne concordance inter-tests et inter-observateurs pour le marquage PD-L1 avec les kits SP263, 28-8 pharmDx et 22C3 pharmDx ;
- **Cellules immunitaires** : disparités inter-tests et inter-observateurs rapportées dans certaines études ;
- Le kit **SP142** marque moins de cellules tumorales/immunitaires et présente de fortes disparités dans les études de concordance.

D'un point de vue analytique, les études concluant à **l'interchangeabilité des tests** sont encore rares, excepté dans le **CBNPC** où l'utilisation de tests développés dans les laboratoires (LDT) pourrait constituer une alternative aux kits de référence dans la limite d'un choix optimal de couple clone/automate et de la mise au point rigoureuse des protocoles à partir de ceux développés et publiés. L'utilisation de LDT nécessite obligatoirement une validation en comparaison avec les tests standardisés.

Les **études inter-observateurs** ont également révélé l'importance d'une formation préalable à une méthode de *scoring* pour diminuer les variabilités inter-individuelles. Ces différentes **méthodes de scoring** peuvent en outre identifier des populations différentes de patients positifs.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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. Cheung CC *et al.* Fit-For-Purpose PD-L1 Biomarker Testing For Patient Selection in Immuno-Oncology: Guidelines For Clinical Laboratories From the Canadian Association of Pathologists-Association Canadienne Des Pathologistes (CAP-ACP). *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2019 Nov/Dec;27(10):699-714.
3. Lantuejoul S *et al.* PD-L1 Testing for Lung Cancer in 2019: Perspective From the IASLC Pathology Committee. *J Thorac Oncol.* 2020 Apr;15(4):499-519.
4. Camp RL, Neumeister V, Rimm DL. A Decade of Tissue Microarrays: Progress in the Discovery and Validation of Cancer Biomarkers. *J Clin Oncol.* 2008 Dec 1;26(34):5630-7.
5. FDA. Guidance for Industry - Bioanalytical Method Validation (Draft). 2013.
6. Dako, IHC Guidebook Sixth Edition. 2013.
7. Dako Agilent Pathology Solutions. PD-L1 IHC Dako 22C3 pharmDx Interpretation Manual. 2017.
8. Dako. Notice de l'anticorps concentré 22C3. 2016.
9. Dako Agilent Pathology Solutions. PD-L1 IHC Dako 28-8 pharmDx Interpretation Manual. 2015.
10. Abcam. Livret de protocoles de l'anticorps concentré 28-8. 2016.
11. Ventana. Notice de l'anticorps SP142. 2016.
12. Ventana. Ventana PD-L1 (SP263) Assay Staining of Non-Small Cell Lung Cancer Interpretation Guide. 2016.
13. Ventana. Notice de l'anticorps pré-dilué SP263. 2017.
14. Cell Signaling Technology. Notice de l'anticorps E1L3N® (anti-PD-L1). 2017.
15. BIOCYC. Notice de l'anticorps QR1. 2017.
16. Abcam. Anti-PD-L1 antibody [73-10] product datasheet.
17. GeneAb. IHC411 product information. GenomeMe.
18. Koppel C *et al.* Optimization and validation of PD-L1 immunohistochemistry staining protocols using the antibody clone 28-8 on different staining platforms. *Mod Pathol.* 2018 Nov;31(11):1630-44.
19. Agilent Dako. PD-L1 IHC Dako 22C3 pharmDx Interpretation Manual - Urothelial Carcinoma. 2018.
20. Vennapusa B *et al.* Development of a PD-L1 Complementary Diagnostic Immunohistochemistry Assay (SP142) [...]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2019 Feb; 27(2):92-100.
21. Zhang M *et al.* PD-L1 protein expression in non-small cell lung cancer based on different immunohistochemical antibodies. *J Thorac Dis.* 2017;9:E470-3.
22. Hofman P *et al.* Immunohistochimie PD-1/PD-L1 en oncologie thoracique : où en sommes-nous ? *Ann Pathol.* 2017;37:39-45.
23. Pauwels P *et al.* PD-L1 Testing for Non-Small Cell Lung Cancer: Belgian Guidelines. *BJMO Practice guidelines.* Volume 12. September 2018.
24. Cree IA *et al.* PD-L1 testing for lung cancer in the UK: recognizing the challenges for implementation. *Histopathology.* 2016 Aug;69(2):177-86.
25. Santé Publique France, INCa. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Juillet 2019.
26. Institut national du cancer (INCa). Les traitements des cancers du poumon. Novembre 2017.
27. Adam J *et al.* Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2018 Apr 1;29(4):953-58.
28. Tsao MS *et al.* PD-L1 Immunohistochemistry Comparability Study in Real-Life Clinical Samples: Results of Blueprint Phase 2 Project. *J Thorac Oncol.* 2018 Sep;13(9):1302-11.
29. Velcheti V *et al.* Real-world PD-L1 testing and distribution of PD-L1 tumor expression by immunohistochemistry assay type among patients with metastatic non-small cell lung cancer in the United States. *PLoS One.* 2018 Nov 8;13(11):e0206370.
30. Torlakovic E *et al.* «Interchangeability» of PD-L1 immunohistochemistry assays: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *Mod Pathol.* 2019 Aug 5. doi: 10.1038/s41379-019-0327-4.
31. Brandone N *et al.* Validation of the QR1 Antibody for the Evaluation of PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Adenocarcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2020;28(1):23-29.
32. Hirsch FR *et al.* PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. *J Thorac Oncol.* 2017;12:208-22.
33. Institut national du cancer (INCa). Les traitements des cancers des voies aérodigestives supérieures. Décembre 2018.
34. Hodgson A *et al.* PD-L1 Immunohistochemistry Assay Concordance in Urothelial Carcinoma of the Bladder and Hypopharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2018 Aug;42(8):1059-66.





En parallèle du développement des premières immunothérapies qui inhibent les points de contrôle immunitaire en bloquant PD-1 ou son ligand PD-L1, sont apparus les premiers tests immunohistochimiques permettant d'évaluer le niveau d'expression de PD-L1 de la tumeur du patient et/ou de son microenvironnement tumoral et ainsi d'identifier les patients les plus à même de répondre à ces nouveaux traitements.

Cette synthèse présente une analyse détaillée des principales études récentes visant à estimer l'interchangeabilité de ces tests PD-L1 dans différentes indications tumorales (CBNPC, VADS, cancers du sein, cancers des voies urinaires...). Dans ce contexte, grâce à un couple clone/automate et une méthode de *scoring* adaptés, l'évaluation du niveau d'expression de PD-L1 peut en effet contribuer à proposer aux patients concernés la stratégie thérapeutique la plus adaptée.

# PILOTE

## LES BIOMARQUEURS PRÉDICTIFS À L'ÈRE DE L'IMMUNOTHÉRAPIE

