

---

Essai d'aptitude

**IHC poumon ALK de 2014**

**Commentaires sur les résultats globaux**

---

**Note**

Les **lames virtuelles IHC de référence** avec les résultats attendus sont disponibles sur la plateforme dans l'**atlas des cas** à cette adresse :

<http://afaqap.aurorainteractive.com/mscope-education/login.action>

Ce document de commentaires complète le document intitulé *IHC poumon ALK - 2014 – Résultats* donnant les chiffres de participation à l'essai d'aptitude (EA), un tableau colligeant l'ensemble des appréciations et notes obtenues par les participants et des histogrammes de répartition des notes.

La relecture de l'EA a été réalisée par 2 pathologistes : Marie-Pierre Chenard, coordonnateur (CHU, Strasbourg) et Martine Antoine (CHU, Paris - Tenon).

<b>1. Rappel : résultats attendus .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Résultats en fonction des anticorps.....</b>	<b>4</b>
<b>3. Pourcentages de carcinomes pulmonaires « bien classés* » (en ALK+ ou ALK-) en fonction des anticorps .....</b>	<b>5</b>
<b>4. Protocoles optimaux.....</b>	<b>5</b>
<b>5. Commentaires .....</b>	<b>6</b>
<b>6. Conclusion.....</b>	<b>6</b>

## 1. Rappel : résultats attendus

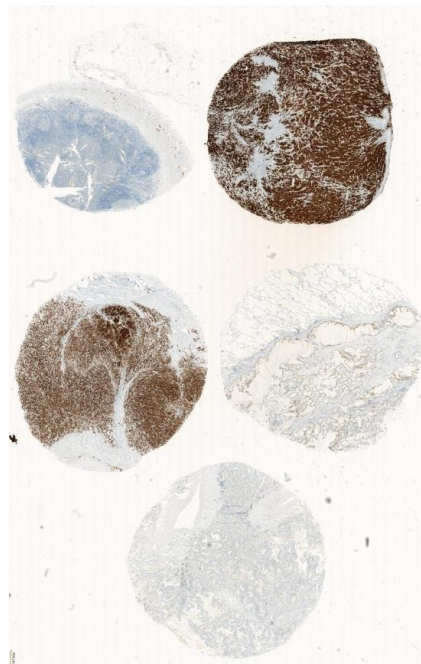
AFAQAP  
2014  
ALK poumon

**Cas 1 - Appendice**

Marquage cytoplasmique modéré des cellules ganglionnaires du plexus myentérique  
(niveau de difficulté du cas : moyen)

**Cas 3 - Poumon ALK+ fort**

Marquage cytoplasmique intense de l'ensemble des cellules carcinomateuses.  
(niveau de difficulté du cas : moyen)



**Cas 2 - Lymphome anaplasique ALK+**

Marquage cytoplasmique et nucléaire intense de l'ensemble des cellules lymphomateuses  
(niveau de difficulté du cas : élémentaire)

**Cas 4 - Poumon ALK+ faible**

Marquage cytoplasmique discret en intensité dans les cellules carcinomateuses non mucosécrétantes (aspect hétérogène).  
(niveau de difficulté du cas : difficile)

**Cas 5 - Poumon ALK-**

Absence de marquage  
(niveau de difficulté du cas : élémentaire)

## 2. Résultats en fonction des anticorps

Les 36 participants ont utilisé 2 clones différents, dont un disponible sous forme de kit :

- Le clone 5A4 (21 participants) de Abcam (8 participants), de Leica/Novocastra/Ménarini (6 participants), de Diagnostic Biosystems / Cliniscience (6 participants) ou de Biocare (1 participant),
- Le clone D5F3 (7 participants) de Cell Signaling (6 participants) ou de Genemed Biotechnology (1 participant),
- Le kit D5F3-OptiView de Ventana (8 participants).

Tableau : résultats en fonction des anticorps sur les 3 cas de carcinomes pulmonaires.

Clone	Fabriquant	Nombre	Appréciations A uniquement	Appréciations A ou B	Au moins une appréciation C	Au moins une appréciation D	Marquage adéquat*
Clone 5A4	Abcam	8	0	1	3	4	13%
	Clinisciences	6	0	1	2	3	17%
	Leica/Novocastra/Ménarini	6	0	2	0	4	33%
	Biocare	1	0	0	0	1	0%
<i>Tous fabriquants</i>		21	0	4	5	12	19%
Clone D5F3	Cell Signaling	6	0	1	3	2	17%
	Genemed Biotechnology	1	0	0	0	1	0%
<i>Tous fabriquants</i>		7	0	1	3	3	14%
Kit D5F3 - OptiView	Ventana	8	5	1	1	1	75%
<b>Total</b>		36	5	6	9	16	<b>11</b>
<b>Proportion</b>			<b>14%</b>	<b>17%</b>	25%	44%	<b>31%</b>

\*marquage adéquat : appréciations A ou B uniquement.

Sur 36 participants, 31% ont obtenu un marquage adéquat (notes A ou B uniquement) sur les 3 cas de carcinomes pulmonaires.

### 3. Pourcentages de carcinomes pulmonaires « bien classés\* » (en ALK+ ou ALK-) en fonction des anticorps

	5A4 (n=21)	D5F3 (n=7)	kit D5F3- OptiView (n=8)
Poumon ALK+ fort bien classé	86%	86%	100%
Poumon ALK+ faible bien classé	43%	57%	88%
Poumon ALK- bien classé	100%	100%	100%

\*bien classés : pas de note D.

### 4. Protocoles optimaux

Les protocoles ayant obtenu uniquement des appréciations A ou B (aucune appréciation C ou D) sur les 3 cas de carcinomes pulmonaires sont cités dans le tableau ci-dessous.

Anticorps	Type de technique	Dilution	Temps d'incubation	Démasquage	Kit de révélation
5A4 (n=4)	Ménarini Bond (n=2)	1/50	60 min	ER2, pH9, 20 min	Bond Polymer Refine Detection
		1/40	40 min	ER2, pH9, 30 min	
	Benchmark Ultra (n=1) ou XT (n=1)	1/100	32 min	CC1 standard	OptiView
D5F3 (n=7)	Ménarini Bond (n=1)	1/100 avec amplification	20 min	Tampon EDTA pH9, 20 min	Bond Polymer Refine Detection
	Benchmark XT (n=6)	Pré-dilué	16 min	CC1 long	OptiView

Dans ce test, aucun protocole sur automate Dako (n=4) n'a eu de résultat adéquat (notes A ou B uniquement) sur les 3 cas de carcinomes pulmonaires.

## 5. Commentaires

---

Dans ce test, aucun participant n'a utilisé le clone ALK1. De fait, cet anticorps couramment utilisé pour la détection de ALK dans le lymphome anaplasique à grandes cellules, n'est pas adapté à la détection de ALK dans le cancer du poumon où le taux d'expression de la protéine est beaucoup plus faible.

Pour les structures qui réalisent des immunomarquages ALK en routine dans le cancer du poumon, il est déconseillé d'utiliser comme seul témoin un lymphome anaplasique à grandes cellules. Compte-tenu de la très forte expression de la protéine ALK dans ce lymphome, même un protocole suboptimal peut donner un marquage positif alors qu'un cancer du poumon ALK plus faible ne sera pas forcément identifié.

Il est conseillé de choisir comme témoins un cancer du poumon ALK+ validé par FISH et un fragment d'appendice. En effet, dans ce test, lorsque le marquage des cellules myentériques dans l'appendice était négatif ou très faible, le marquage du cancer pulmonaire n'était quasi jamais adéquat.


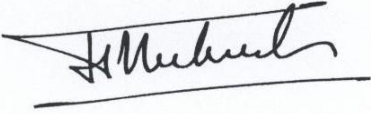
Dans ce 1<sup>er</sup> test AFAQAP ALK le pourcentage de cas avec un marquage adéquat (appréciations A ou B uniquement) sur les 3 échantillons de carcinomes pulmonaires était très variable selon les anticorps.

Il n'était que de 19% avec le clone 5A4 (tous fabricants confondus) et de 14% avec le clone D5F3, hors kit prêt à l'emploi. Par contre, il était de 75% avec le kit D5F3 - OptiView de Ventana qui est néanmoins tributaire d'une plateforme Ventana. Cet anticorps donne par ailleurs souvent un marquage fort, non spécifique, des macrophages alvéolaires qu'il faut connaître pour ne pas faire de diagnostic faux-positif en routine.

## 6. Conclusion

---

- Les 2 clones utilisés par les participants dans ce test (clone 5A4 et clone D5F3) sont valables pour la détermination du statut ALK dans le cancer du poumon. Les résultats sont toutefois éminemment variables selon les protocoles et le pourcentage de résultats adéquats n'est que de 31%.
- Le kit D5F3 - OptiView de Ventana donne de loin les meilleurs résultats avec 75% de marquages jugés adéquats.
- L'utilisation en routine de témoins est indispensable. Le témoin idéal consiste en un poumon ALK+, un poumon ALK- et un fragment d'appendice avec des cellules du plexus myentérique.

<p>Rédaction : avril 2015 Le médecin coordonnateur de l'EA</p> 	
<p>Validation : mai 2015 Le Président du Conseil Scientifique de l'AFAQAP</p> 	<p>Approbation : mai 2015 Le Président de l'AFAQAP</p> 