

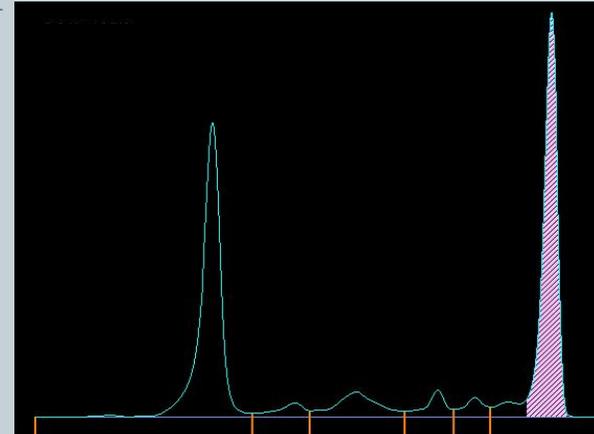
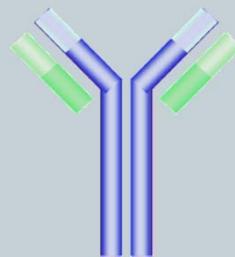
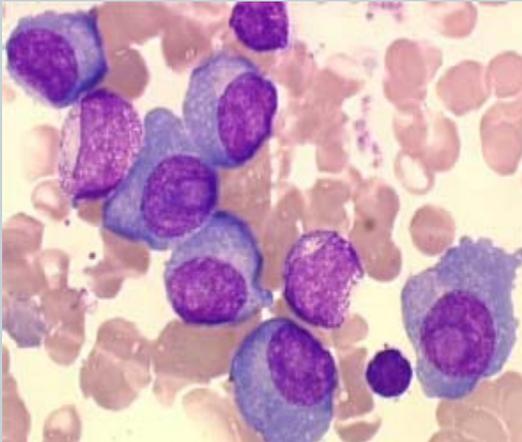


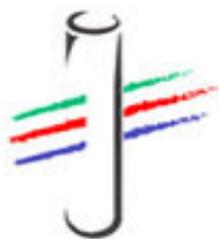
# Myélome : nouveaux critères diagnostiques

## Quantification des composants monoclonaux



PARIS, LE 28 JANVIER 2016  
25<sup>ÈME</sup> JOURNÉES NATIONALES  
COLLEGE NATIONAL DE BIOCHIMIE  
DES HOPITAUX





COLLEGE NATIONAL DE BIOCHIMIE DES HÔPITAUX

25<sup>e</sup> Journées Nationales

Paris 28-29 Janvier 2016

Programme 16891500004



ODPC N°1689

## DECLARATION D'INTERET DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION



Dr Thomas DEJOIE

Exerçant au CHU de Nantes

déclare sur l'honneur

**ne pas avoir d'intérêt**, direct ou indirect (financier) avec les entreprises pharmaceutiques, du diagnostic ou d'édition de logiciels susceptible de modifier mon jugement ou mes propos, **concernant le DMDIV et/ou le sujet présenté.**

# Programme DPC

## Electrophorèse des protéines

Etape N°1 : Questionnaire d'évaluation des connaissances et des pratiques

Réponses au 24/01/16 : n=108,  
soit 89% des 122 biologistes inscrits

- Laboratoire hospitalier : **105** (97,2 %)
- Laboratoire privé : **1** (0,9 %)
- Exercice hors laboratoire : **2** (1,9 %)

Pharmaciens : 95 (88%)

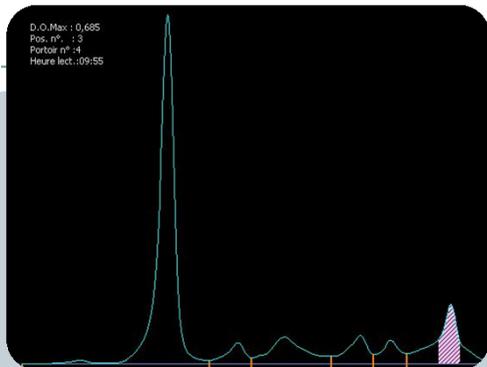
Médecins : 13 (12%)

# Propos



- Nouveaux critères diagnostiques
- Recommandations d'évaluation de la réponse
- Evaluation des composants monoclonaux
- Nouveaux traitements : quels impacts sur nos pratiques?

# Mise en évidence d'une gammopathie



## Myélome indolent

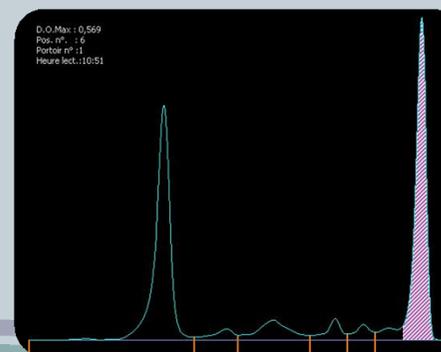
- **Stade pré-myélome (1% / an)**
- Pic monoclonal < 30g/L
- Plasmocytose médullaire < 10%
- Absence de critères CRAB

**GMSI**

- **Stade pré-myélome (10% / an)**
- Pic S  $\geq 30\text{g/L}$  (si IgG ou A) et/ou Pic U  $\geq 500\text{ mg/24h}$  et/ou plasmocytose médullaire  $\geq 10\%$
- Absence de critères CRAB

- Pic monoclonal sérique et/ou urinaire (sauf MM non sécrétant)
- Plasmocytose médullaire  $\geq 10\%$
- **$\geq 1$  Critère CRAB**

**MYÉLOME**



# Question 2 DPC



- **CRAB?**

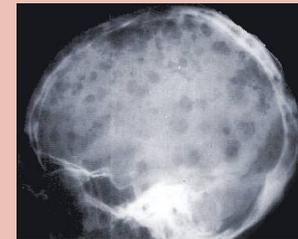
*2. L'acronyme de langue anglaise CRAB regroupe un ensemble de critères où : C correspond à la l'hypoCalcémie, R correspond à Insuffisance Rénale, A correspond à l'Anémie, B correspond aux lésions osseuses \**

- Vrai
- Faux
- Je ne sais pas

# Myélome : C.R.A.B.



- ❑ C Hyper**C**alcémie (calcémie  $\geq 2,9$  mM ou 11,5mg/dL)
- ❑ R Atteinte **R**énale (créatinine  $> 173\mu\text{M}$  ou 2mg/dL)
- ❑ A Anémie (Hb  $< 10\text{g/dL}$  ou  $-2\text{g/dL}$ )
- ❑ B Atteintes osseuses (lésions lytiques, ostéopénie sévère, fractures pathologiques)



## Question 2 DPC



- **CRAB?**

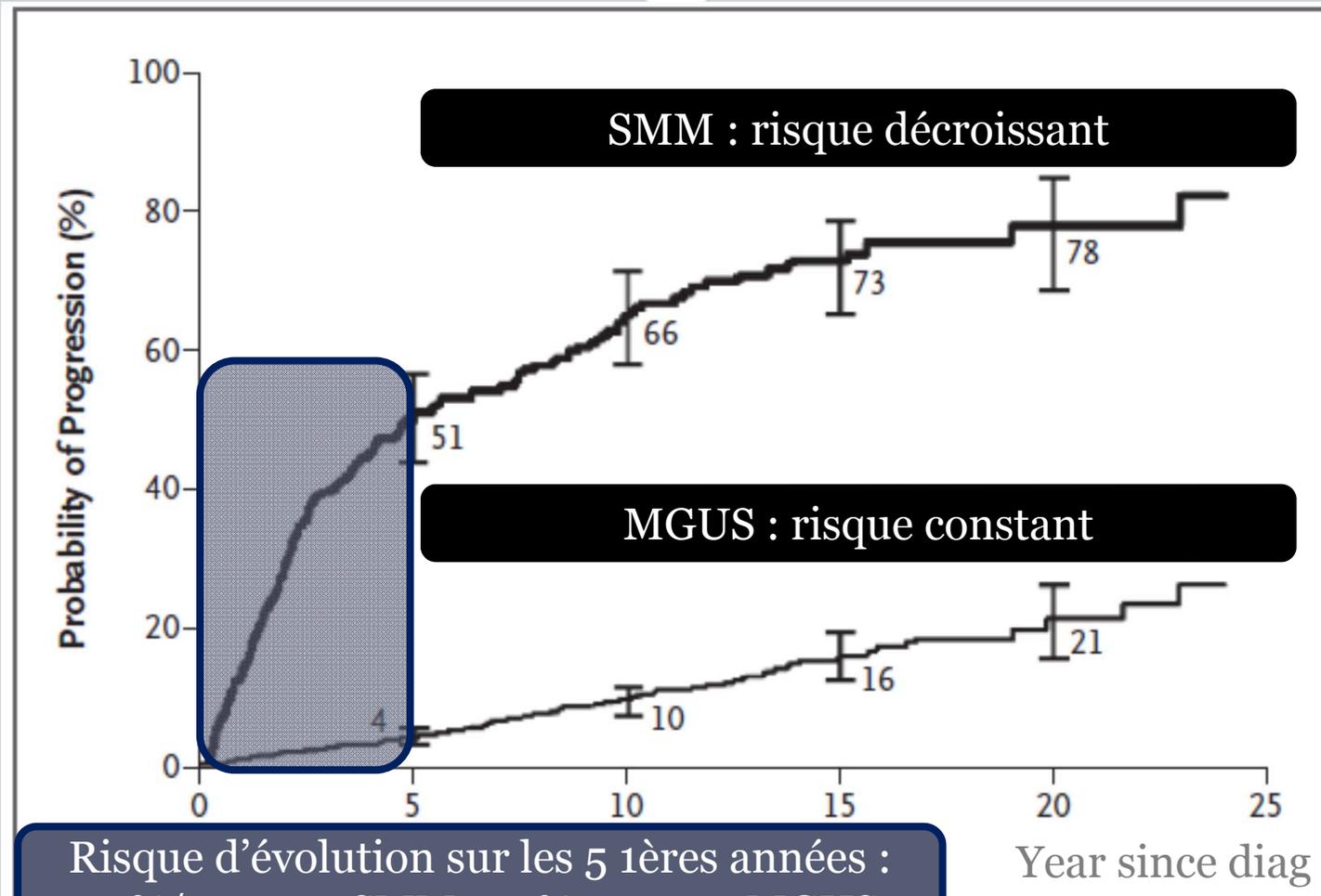
*2. L'acronyme de langue anglaise CRAB regroupe un ensemble de critères où : C correspond à la l'hypoCalcémie, R correspond à Insuffisance Rénale, A correspond à l'Anémie, B correspond aux lésions osseuses \**

- Vrai
- Faux
- Je ne sais pas

Vrai	<b>39</b>	36.1 %
Faux	<b>62</b>	57.4 %
Je ne sais pas	<b>7</b>	6.5 %

# MGUS et myélome indolent (MI)

## Risque de progression vers le myélome



Risque d'évolution sur les 5 1ères années :  
10%/an pour SMM et 1% an pour MGUS

# Comment identifier les Myélomes indolents à haut risque?



## Question 4 DPC



- Ratio des chaînes légères et risque de progression vers le MM?

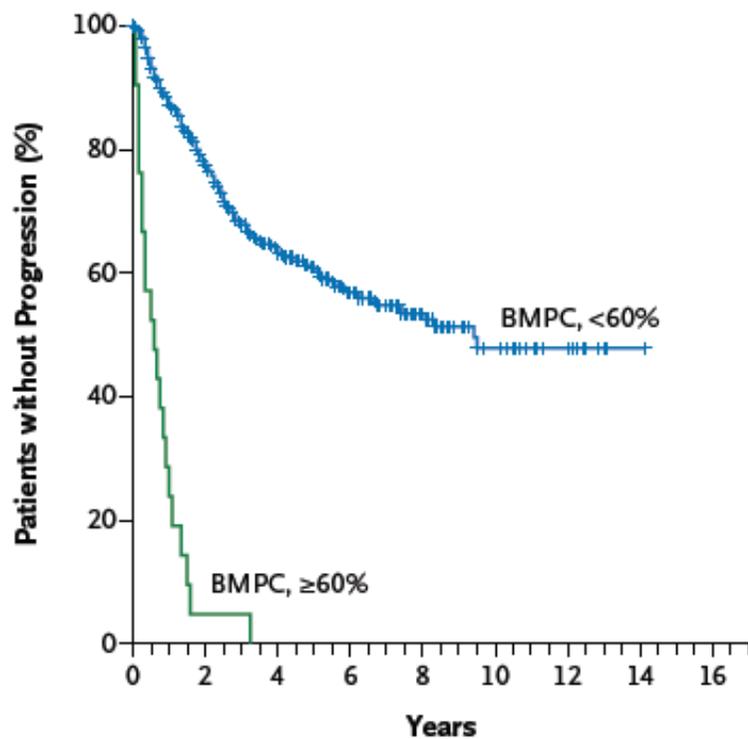
*4. Le risque de progression d'un myélome multiple asymptomatique en myélome multiple est estimé par le ratio Chaîne légère libre impliquée / chaîne légère libre non impliquée. \**

- Vrai
- Faux
- Je ne sais pas

# Comment identifier les SM à haut risque? 1



## % plasmocytes médullaires et pic monoclonal



Durée médiane de progression : 7 mois!

Risque de progression à 2 ans : 95%!

Rajkumar *et al*, NJEM 2011

# Comment identifier les SM à haut risque? 2



## Ratio de chaines légères

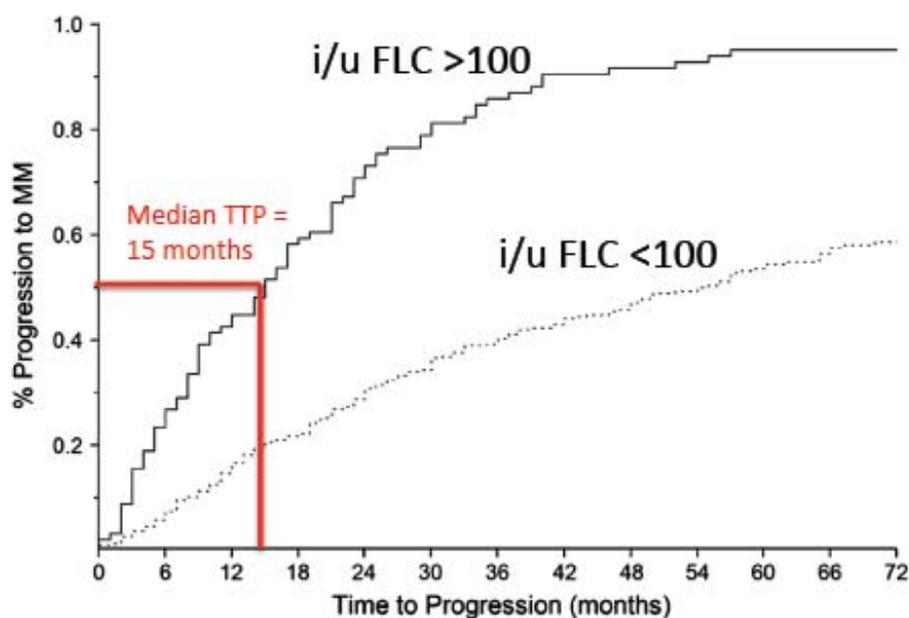


Table 5. Multivariate analysis of bone marrow plasma cell percentage, serum monoclonal protein level and FLC ratio  $\geq 100$  on time to progression

Prognostic variable	Hazard ratio	95% CI	P-value
Bone marrow plasma cell, %	3.24	1.52-4.6	0.0004
Serum M-spike	3.16	1.01-2.2	0.0013
FLC ratio $\geq 100$	3.23	2.4-4.2	<0.0001

Abbreviations: CI, confidence interval; FLC, free light chain. Bone marrow plasma cell % and serum M-spike were studied as continuous variables and the hazard ratios listed are per change in regressor over entire range. The corresponding hazard ratios per unit change in regressor are 1.02 and 1.08 respectively.

Larsen *et al*, Leukemia 2013

## Question 4 DPC



- Ratio des chaînes légères et risque de progression vers le MM?

*4. Le risque de progression d'un myélome multiple asymptomatique en myélome multiple est estimé par le ratio Chaîne légère libre impliquée / chaîne légère libre non impliquée. \**

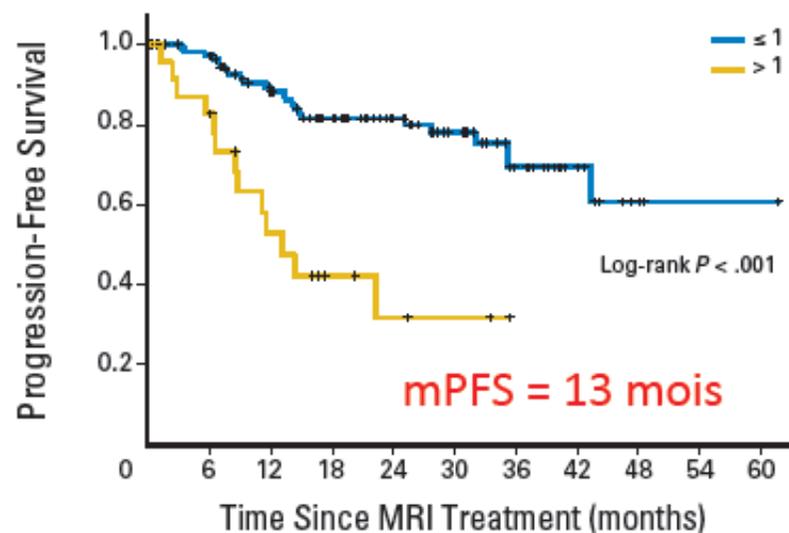
- Vrai
- Faux
- Je ne sais pas

Vrai	<b>57</b>	52.8 %
Faux	<b>19</b>	17.6 %
Je ne sais pas	<b>32</b>	29.6 %

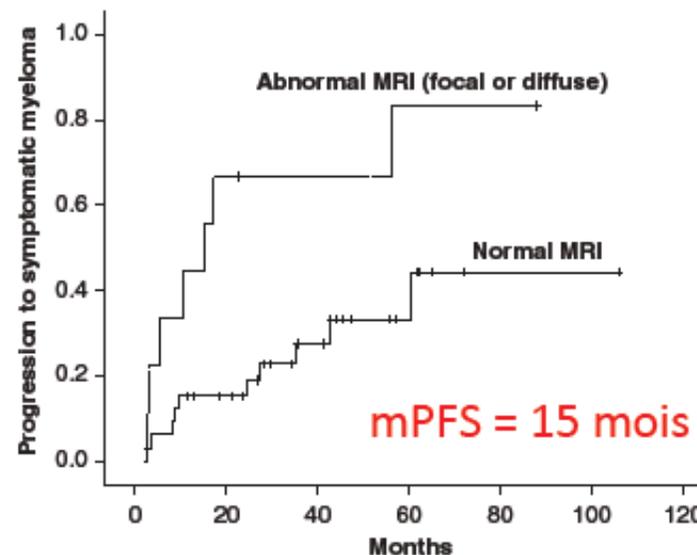
# Comment identifier les SM à haut risque? 3



## IRM



*Hillengass, J Clin Oncol 2010*



*Kastritis, Leukemia 2013*

# Comment identifier les SM à haut risque? 4



Risk group	Probability of progression to myeloma or related disorder in first 2 years from initial diagnosis of SMM (%)
Bone marrow clonal plasma cells $\geq 60\%$	90
Serum involved/uninvolved free light chain ratio $\geq 100$	80
Abnormalities on MRI ( $>1$ focal lesion)	70
Abnormal plasma cell immunophenotype $\geq 95\%$	50
Evolving type of SMM*	65
t(4;14) or del 17p	50
M protein $\geq 30$ g/l and bone marrow clonal plasma cells $\geq 10\%$	50
Serum involved/uninvolved free light chain ratio $\geq 8$ and $< 100$	40
No high-risk factors	10–20

# Traitement précoce?



***Standard actuel***



GMSI

SMM

Myélome



# Traitement précoce?



**Standard actuel**



GMSI

SMM

Myélome

**Faut-il traiter les myélomes  
indolents à haut risque?**



Lenalidomide plus Dexamethasone for  
High-Risk Smoldering Multiple Myeloma

María-Victoria Mateos, M.D., Ph.D., Miguel-Teodoro Hernández, M.D.,

# SMM à haut potentiel évolutif :

- **PCs BM**  $\geq 10\%$  plus **M-protein**  $\geq 30$  g/L (IgA  $\geq 20$  g/l, PBJ  $> 1$ g/24h)

**OU**

- **PCs BM**  $\geq 10\%$  ou **M-protein**  $\geq 30$  g/L (IgA  $\geq 20$  g/l, PBJ  $> 1$ g/24h)  
+ **plasmocytes médullaires anormaux**  $> 95\%$   
+ **hypogammaglobulinémie**

- **+ Pas de critère CRAB**

# Prise en charge des MI à haut risque

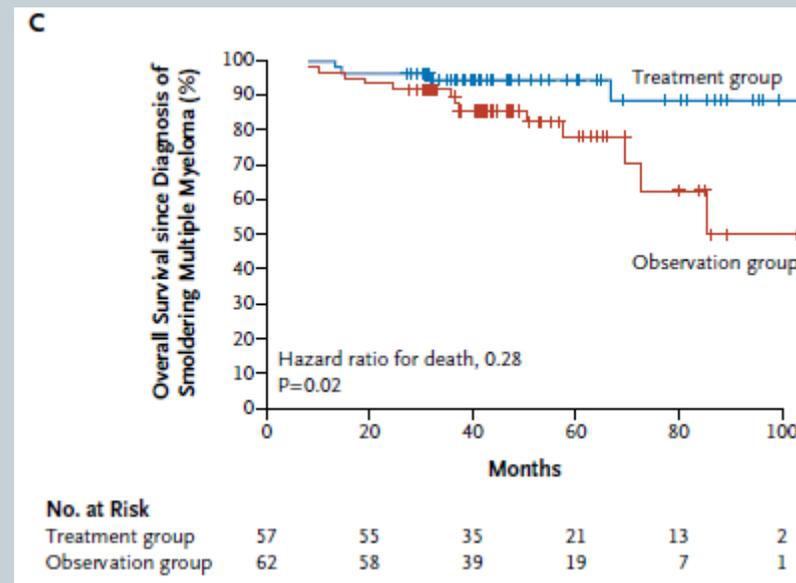
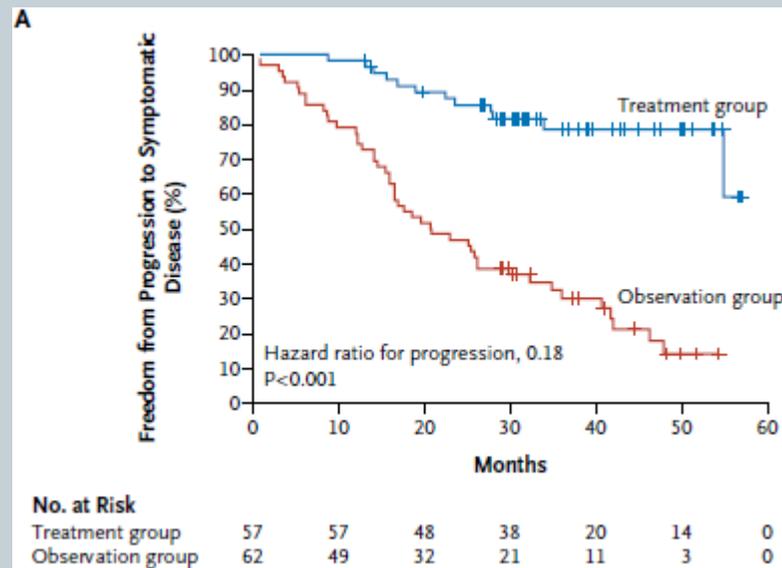
The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Lenalidomide plus Dexaméthasone for High-Risk Smoldering Multiple Myeloma

María-Victoria Mateos, M.D., Ph.D., Miguel-Teodoro Hernández, M.D.,

- MV Mateos NEJM 2013
  - Survie sans progression et survie globale améliorées



# Les nouveaux critères diagnostic



## Critères diagnostiques des dyscrasies plasmocytaires

MM

**Plasmocytose médullaire  $\geq 10\%$  OU Plasmocytome extra-médullaire  
ET au moins 1 des événements suivants définissant le myélome :**

➤ Atteinte évidente d'organe pouvant être attribuée à la prolifération plasmocytaire :

CRITERES  
CRAB

- **Hypercalcémie** ( $\geq 2,75$  mmol/L ou  $0,25$  mmol/L au-dessus de NSup)
- **Insuffisance rénale** (créat  $\geq 177$   $\mu$ mol/L) ou Cl créat  $< 40$  mL/min
- **Anémie** (Hb  $< 10$  g/dL ou plus de  $2$  g/dL en-dessous de la NInf)
- **Lésions osseuses** (au moins une lésion ostéolytique sur Rx, TDM ou PET)

➤ Au moins un des biomarqueurs suivants de malignité

NOUVEAUX  
CRITERES

- **Plasmocytes médullaires clonaux  $\geq 60\%$**  (par CMF, immunohisto. ou IF)
- **rFLC (iFLC/niFLC)  $\geq 100$**
- **Au moins une lésion focale à l'IRM**

# Les nouveaux critères diagnostic



## Critères diagnostiques des dyscrasies plasmocytaires

MM

**Plasmocytose médullaire  $\geq 10\%$  OU Plasmocytome extra-médullaire  
ET au moins 1 des événements suivants définissant le myélome :**

➤ Atteinte évidente d'organe pouvant être attribuée à la prolifération plasmocytaire :

CRITERES  
CRAB

- **Hypercalcémie** ( $\geq 2,75$  mmol/L ou 0,25 mmol/L au-dessus de NSup)
- **Insuffisance rénale** (créat  $\geq 177$   $\mu$ mol/L) ou Cl créat  $< 40$  mL/min
- **Anémie** (Hb  $< 10$  g/dL ou plus de 2 g/dL en-dessous de la NInf)
- **Lésions osseuses** (au moins une lésion ostéolytique sur Rx, TDM ou PET)

➤ Au moins un des biomarqueurs suivants de malignité

NOUVEAUX  
CRITERES

- **Plasmocytes médullaires clonaux  $\geq 60\%$**  (par CMF, immunohisto. ou IF)
- **rFLC (iFLC/niFLC)  $\geq 100$**
- **Au moins une lésion focale à l'IRM**

# Les nouveaux critères diagnostic



## Critères diagnostiques des dyscrasies plasmocytaires

Plasmocytose médullaire  $\geq 10\%$  OU Plasmocytome extra-médullaire

**Un composant monoclonal n'est pas nécessaire au diagnostic**

MM

CRITÈRES

- Anémie (Hb  $< 10$  g/dL ou plus de 2 g/dL en-dessous de la NInf)
- Lésions osseuses (au moins une lésion ostéolytique sur Rx, TDM ou PET)

➤ Au moins un des biomarqueurs suivants de malignité

NOUVEAUX CRITÈRES

- Plasmocytes médullaires clonaux  $\geq 60\%$  (par CMF, immunohisto. ou IF)
- rFLC (iFLC/niFLC)  $\geq 100$
- Au moins une lésion focale à l'IRM

# Patiente de 81 ans



- Atcd de tassements vertèbraux , AEG récente Fev 2013
  - IgG kappa = 33 g/L
  - PC médullaires = 48% → Myélome indolent surveillance trimestrielle
  - Absence de critère CRAB
  - IRM négative
- Asymptomatique - suivi du pic
  - Fev 2013 33g/L → Janvier 2015 45 g/L
- RCP en Aout 2015
  - Ratio K/L = 176

Groupe des M asymptomatiques à haut risque de progression  
= TRAITEMENT

# Patiente de 39 ans



- IgG lambda 21 g/L en juillet 2013
- PCM 8% ; 98% des PC sont clonaux
- Lambda L 16,1 mg/L ratio à 23 (Impliquée/non impliquée)

# 98% de PC clonaux dans la moelle : risque de progression de 50% dans les 2 ans

Risk group	Probability of progression to myeloma or related disorder in first 2 years from initial diagnosis of SMM (%)
Bone marrow clonal plasma cells $\geq 60\%$	90
Serum involved/uninvolved free light chain ratio $\geq 100$	80
Abnormalities on MRI ( $>1$ focal lesion)	70
Abnormal plasma cell immunophenotype $\geq 95\%$	50
Evolving type of SMM*	65
t(4;14) or del 17p	50
M protein $\geq 30$ g/l and bone marrow clonal plasma cells $\geq 10\%$	50
Serum involved/uninvolved free light chain ratio $\geq 8$ and $< 100$	40
No high-risk factors	10–20

# Patiente de 39 ans



- IgG lambda 21 g/L en juillet 2013
- PCM 8% ; **98% des PC sont clonaux**
- Ratio à 23 (Impliquée/non impliquée)

MGUS à risque de progression

## ● Surveillance

- Oct 2013 à oct 2015 : pic 21 → 38 g/L
- Pas de critères CRAB, IRM négative, Ratio 63 - Lambda L 78 mg/L, PC 15,5%

M indolent à risque de progression

## ● Décembre 2015

- IRM négative , ratio 98 115 mg/L, pic 46 g/L
- Apparition d'une anémie à 10,6 g/L

Myélome multiple

# Nouveaux critères de diagnostic en pratique



- Patient adressé pour découverte de pic sans critère CRAB
- Recherche du critère facile Ratio >100
  - ✦ KappaL = 125 mg/L et LambdaL = 8 mg/L Ratio <100
  - ✦ Attention à la limite basse ex : <1,55 au 1/20 et <0,27 au 1/5
- **Mais pas de myélogramme pas d'IRM...**
- Risque de sous diagnostic... *A suivre*

# Avant les nouveaux critères



GMSI

A surveiller

Myélome indolent

Myélome symptomatique

A TRAITER

# Nouveaux critères diagnostic



GMSI

GMSI

A surveiller

Myélome indolent

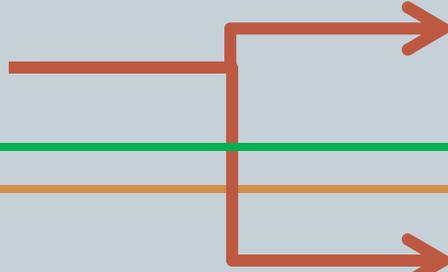
Myélome indolent

Myélome indolent à haut risque

Myélome symptomatique

Myélome symptomatique

A TRAITER



## Question 5 DPC



*5. Existe-t-il des recommandations pour le suivi du myélome traité tenant compte de la variation de la concentration du composant monoclonal ? \**

- Oui
- Non
- Je ne sais pas

# Ainsi sont nés les nouveaux critères diagnostic



## Critères diagnostiques des dyscrasies plasmocytaires

MM

**Plasmocytose médullaire  $\geq 10\%$  OU Plasmocytome extra-médullaire  
ET au moins 1 des événements suivants définissant le myélome :**

➤ Atteinte évidente d'organe pouvant être attribuée à la prolifération plasmocytaire :

CRITERES  
CRAB

- **Hypercalcémie** ( $\geq 2,75$  mmol/L ou 0,25 mmol/L au-dessus de NSup)
- **Insuffisance rénale** (créat  $\geq 177$   $\mu$ mol/L) ou Cl créat  $< 40$  mL/min
- **Anémie** (Hb  $< 10$  g/dL ou plus de 2 g/dL en-dessous de la NInf)
- **Lésions osseuses** (au moins une lésion ostéolytique sur Rx, TDM ou PET)

➤ Au moins un des biomarqueurs suivants de malignité

NOUVEAUX  
CRITERES

- **Plasmocytes médullaires clonaux  $\geq 60\%$**  (par CMF, immunohisto. ou IF)
- **rFLC (iFLC/niFLC)  $\geq 100$**
- **Au moins une lésion focale à l'IRM**

Ainsi sont nés les nouveaux critères diagnostic



## Critères diagnostiques des dyscrasies plasmocytaires

Plasmocytose médullaire  $\geq 10\%$  OU Plasmocytome extra-médullaire

**Un composant monoclonal n'est pas nécessaire au diagnostic...  
Mais reste indispensable pour le suivi de la réponse**

NOUVEAU  
CRITERES

- Plasmocytes médullaires clonaux  $\geq 60\%$  (par CMF, immunohisto. ou IF)
- rFLC (iFLC/niFLC)  $\geq 100$
- Au moins une lésion focale à l'IRM

# Pour évaluer la réponse thérapeutique il faut une maladie mesurable



Maladie mesurable		Définition	Suivi
Maladie mesurable	Sérique et urinaire	Protéine monoclonale sérique $\geq 10$ g/L ET Protéine monoclonale urinaire $\geq 200$ mg/24h	Suivi sérique et urinaire
	Sérique seule	Protéine monoclonale sérique $\geq 10$ g/L ET Protéine monoclonale urinaire $< 200$ mg/24h	Suivi sérique
	Urinaire seule	Protéine monoclonale sérique $< 10$ g/L ET Protéine monoclonale urinaire $\geq 200$ mg/24h	Suivi urinaire
Maladie non mesurable	Protéine monoclonale sérique $< 10$ g/L ET Protéine monoclonale urinaire $< 200$ mg/24h		Suivi sur le dosage des FLC si $\geq 100$ mg/L

# Critères d'évaluation de la réponse



## Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma

RA Kyle and SV Rajkumar

## International uniform response criteria for multiple myeloma

BGM Durie<sup>1</sup>, J-L Harousseau<sup>2</sup>, JS Miguel<sup>3</sup>, J Bladé<sup>4</sup>, B Barlogie<sup>5</sup>, K Anderson<sup>6</sup>, M Gertz<sup>7</sup>, M Dimopoulos<sup>8</sup>, J Westin<sup>9</sup>, P Sonneveld<sup>10</sup>, H Ludwig<sup>11</sup>, G Gahrton<sup>12</sup>, M Beksac<sup>13</sup>, J Crowley<sup>14</sup>, A Belch<sup>15</sup>, M Boccadaro<sup>16</sup>, I Turesson<sup>17</sup>, D Joshua<sup>18</sup>, D Vesole<sup>19</sup>, R Kyle<sup>7</sup>, R Alexanian<sup>20</sup>, G Tricot<sup>5</sup>, M Attal<sup>21</sup>, G Merlini<sup>22</sup>, R Powles<sup>23</sup>, P Richardson<sup>24</sup>, K Shimizu<sup>25</sup>, P Tosi<sup>26</sup>, G Morgan<sup>27</sup> and SV Rajkumar<sup>7</sup> on behalf of the International Myeloma Working Group<sup>29</sup>

## Critères de réponse au traitement

Réponse complète (RC)	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Immunofixation sérique et urinaire négatives</b></li><li>➤ ET disparition des plasmocytomes des tissus mous ET plasmocytose médullaire &lt; 5%</li></ul> <p><b>En cas de maladie uniquement mesurable sur les FLC : ratio normal (0,26—1,65) en complément des autres critères</b></p>
RC stringente	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Réponse complète ET ratio <math>\kappa/\lambda</math> normal</b></li><li>➤ Absence de cellules clonales dans MO en CMF</li></ul>

# Différents de niveaux de réponse



## Critères de réponse au traitement

Très bonne réponse partielle	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Ig monoclonale <b>non détectable sur SPE mais persistant à l'IF</b> dans le sang et les urines</li><li>➤ <b>OU réduction d'au moins 90 %</b> de l'Ig monoclonale sérique et CMU &lt; 100 mg/24 h</li></ul> <p><b>En cas de maladie uniquement mesurable sur les FLC</b> : réduction &gt; 90 % de la dFLC</p>
Réponse partielle	<p><b>Réduction ≥ 50 % de l'Ig monoclonale sérique</b> et <b>≥ 90 % du CMU</b> ou <b>&lt; 200 mg/24 h</b></p> <p><b>En cas de maladie uniquement mesurable sur les FLC</b> : réduction ≥ 50 % de la dFLC</p> <p><b>En l'absence de maladie mesurable</b> : diminution ≥ 50 % de la plasmocytose médullaire (à condition d'un pourcentage initial de plasmocytes ≥ 30 %)</p>
Maladie stable	Absence des critères de réponse partielle et de maladie progressive



## Critères de progression

Maladie  
progressive

**Augmentation de 25 % par rapport à la valeur la plus basse (NADIR)**  
d'un ou plusieurs des marqueurs suivants :

- ✓ Ig monoclonale sérique : en valeur absolue, augmentation d'au moins 5 g/L
- ✓ CMU : en valeur absolue, augmentation d'au moins 200 mg/24 h
- ✓ **En cas de maladie uniquement mesurable sur les FLC** (et uniquement chez ces patients): dFLC, en valeur absolue, augmentation supérieure à 100 mg/L
- ✓ Plasmocytose médullaire : en valeur absolue, au moins 10 %
- ✓ Apparition de lésions osseuses ou de plasmocytomes des tissus mous ou augmentation de taille des lésions osseuses ou des plasmocytomes existants
- ✓ Apparition d'une hypercalcémie liée au myélome

## Question 5 DPC



*5. Existe-t-il des recommandations pour le suivi du myélome traité tenant compte de la variation de la concentration du composant monoclonal ? \**

- Oui
- Non
- Je ne sais pas

Oui	<b>87</b>	80.6 %
Non	<b>4</b>	3.7 %
Je ne sais pas	<b>17</b>	15.7 %

# Rôle central de la quantification



- Pour le diagnostic de myélome?
  - NON!
- Pour le pronostic de la maladie?
  - NON!
- Pour le suivi de la maladie? OUI
  - Concept de maladie mesurable
  - Critères de réponse internationaux

# Question 1 DPC



*1. Existe-t-il des recommandations HAS pour le diagnostic du myélome ? \**

- Oui
- Non
- Je ne sais pas

# Question 1 DPC



*1. Existe-t-il des recommandations HAS pour le diagnostic du myélome ? \**

- Oui
- Non
- Je ne sais pas

Oui	<b>88</b>	81.5 %
Non	<b>9</b>	8.3 %
Je ne sais pas	<b>11</b>	10.2 %

# Réponse question 1 DPC



- Recommandations de prise en charge ALD n°30 décembre 2010
- Actualisation en avril 2012
  - 4.examens de Biologie (p10)
    - ✦ Urines non obligatoires!
    - ✦ IF à faire systématiquement!

→ RECO Intergroupe Francophone du Myélome (Hémato + biologistes)

# Reco. pourquoi ?



- Critères de réponse internationaux (IMWG 2009)
- Appliqués aux protocoles de recherche clinique

## Mais

- Hétérogénéité des pratiques techniques et de rendu de résultats => échec d'évaluation
- Recours à la centralisation => coût, délai

## Donc

- Evaluation des pratiques
- Harmonisation
- Recommandations

# Méthodologie des recommandations



- Formation d'un groupe IFM (membres de l'IFM 2 cliniciens/2 biologistes) + société sebia (expertise/réseau/logistique)
  - Synthèse des questions, propositions de réponses
  - 2 présentations à un collège de biologistes impliqués dans les évaluations IFM (Juin 2013/mars 2014)
  - 1 présentation aux cliniciens (Juin 2014, AG IFM)
  - Rédaction, publication soumise en Juin 2015 acceptée ABC -2016

# Recommandations



- Pour le myélome

Marqueur tumoral = composant(s) monoclonal

Suivi de la réponse = estimation des « pics »

- Sensibilisation à la nécessité d'évaluer la réponse selon les critères de réponse internationaux
- Stratégie d'exploration détaillées
- Les disparités techniques existent :
  - « Mais le patient doit pouvoir bénéficier d'une évaluation homogène tout au long de son parcours quel que soit le laboratoire sollicité »
- Focus : estimation des pics

# Estimation du composant monoclonal : enjeu

% diminution CM

≥ 50 % : Réponse partielle RP

≥ 90 % : TB Réponse Partielle TBRP

D.O. Max : 0,685  
Pos. n° : 3  
Portoir n° : 4  
Heure lect. : 09:55

Est. 6.6 g/L

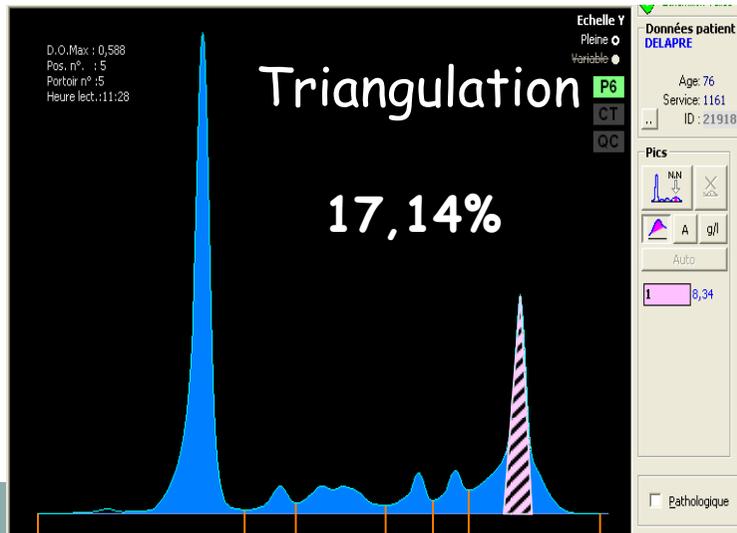
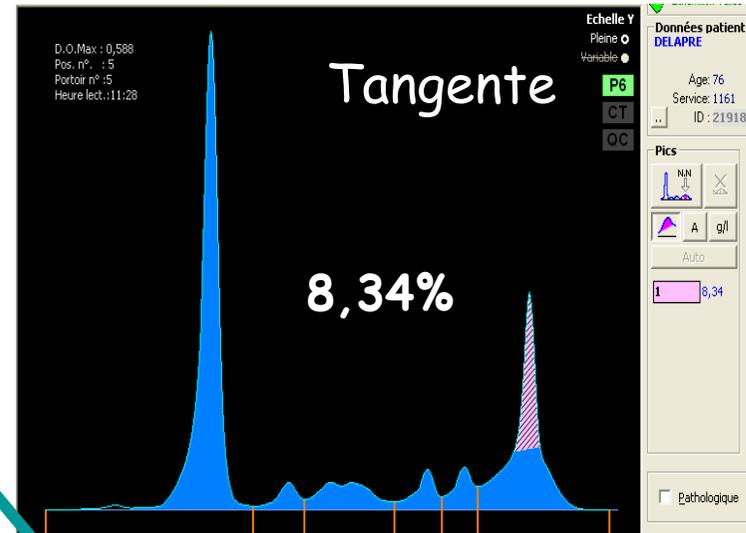
Impact sur réponse : RP vs VGPR

Impact +++ de la profondeur  
de la réponse sur la survie

Est 2.9 g/L

Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H. The role of complete response in multiple myeloma. Blood 2009;114:3139–46.

# Estimation du composant monoclonal : le choix



Méthode retenue par l'IFM en 2007  
car méthode historique (mais en  
l'absence de preuve!)



# Question de l'IFM



Le choix ligne de base est-il justifié?

« Etude de l'impact de la méthode d'estimation du pic sur l'imprécision intra et intercentres et sur les résultats cliniques d'une étude centralisée IFM 2007/02 »



# Design

- ✦ Objectifs :
  - Evaluer la variabilité de l'estimation des pics en intra et inter-centres
  - Selon mode d'estimation et zones de migration
- ✦ Méthode
  - Etude rétrospective sur l'IFM 2007-02 200 patients
  - 4 visites : screening- cycle2 -fin d'induction-post-autogreffe
  - vTD vs VD
  - Laboratoire centralisé (Nantes)
  - base unique de 618 courbes anonymisées : **pic dans le sérum > 10 g/L, toute zone de migration**)
  - Envoi de la base, injection dans phoresis (Version unique)
  - Analyses des courbes par opérateur par mode
    - Accès aux antériorités
    - **Bascule interdite de Tang <->LDB**
  - Envoi des résultats tableur ou base extraite



# Résultats

- 7 centres
  - $2+2+2+5+1+2+3 = 17$  observateurs (bio+tech.)
- Nb de lectures
  - 618 courbes lues selon deux méthodes

Screening	Cycle 2	Fin d'induction/C4	Post-autogreffe
179	162	150	127

Comparaison 2 modes : opérateur/interopérateur/centre  
Imprécision de la mesure du pic entre les 2 modes  
Impact clinique du mode d'estimation

# Comparaison des CV T vs LDB en fonction des visites selon le niveau de difficulté du profil



Wilcoxon test

	Screening	Fin de cycle 2	Fin d'induction	Post-autogreffe
Ensemble des profils	N=179	N=149	N=127	N=70
	*0,0092	*0,0315	0,2673	0,3161
Zone $\gamma$	N=112	N=101	N=89	N=51
	*< 0,0001	*< 0,0001	*0,0023	*0,0069
Sans les multiples	N=125	N=114	N=98	N=60
	*< 0,0001	*< 0,0001	*0,0447	0,0766
Zone $\gamma$ sans les multiples	N=100	N=94	N=80	N=50
	*< 0,0001	*< 0,0001	*0,0015	*0,0079

\* Différence significative

# Discussion profils de précision



- Stat non paramétrique de comparaison CV
- Conservation des CV extrêmes (400%)
  - Vraie vie : profil intégré par <17 observateurs
  - Retrouvés dans les deux modes
    - ✦ Statistiques à reprendre
- centres participants Ligne de base + activité myélome significative
- **Mode tangentiel semble donc plus robuste**
  - ✦ Screening, cycle 2 > fin d'induction > post Auto
  - ✦ Echantillon homogène (zone gamma sans multiples) > tous profils



# Résultats impact clinique de la variabilité inter-méthode

- Le mode modifie t'il l'évaluation de la réponse à l'étude?
- Evaluation des réponses par rapport à la valeur au screening
  - Diminution d'au moins 50% : réponse partielle RP
  - Diminution d'au moins 90% : très bonne réponse partielle TBRP
- Evaluation en fin de l'induction et après l'autogreffe des % de RP et TBRP



# Résultats impact clinique de la variabilité inter-méthode

- Le mode modifie t'il l'évaluation de la réponse à l'étude?
- OUI en fin d'induction pour certains centres/observateurs
- NON en post autogreffe
- Extrapolation
  - Si étude clinique à pour objectif la comparaison des taux de réponses en fin d'induction la source des résultats peut impacter la conclusion de l'étude



# Résultats impact clinique de la variabilité inter-méthode



- Le mode modifie t'il l'évaluation de la réponse à l'étude initiale?
- Comparaison aux taux de réponse obtenus en 2007
- Fin d'induction uniquement (n bras A = n Bras B) (seul effectif comparable)

# Comparaison intra-centre des % de TBRP à la fin d'induction par bras

Fisher's exact test

**MODE  
TANGENTIEL**

Centre	Échantillon			Étude princeps <i>Moreau et al. Blood 2011</i>		
	Bras A	Bras B	p	Bras A	Bras B	p
R	47.76	62.69	0,1176	36	49	0,05
N	47.01	59.70	0,1659			
D	47.76	61.19	0,1650			
LR	47.76	63.88	0,0814			
L	45.52	58.21	0,1665			
S	49.75	61.69	0,2238			

# Comparaison intra-centre des % de TBRP à la fin d'induction par bras

Fisher's exact test

MODE LIGNE DE  
BASE

Centre	Échantillon			Étude princeps <i>Moreau et al. Blood 2011</i>		
	Bras A	Bras B	p	Bras A	Bras B	p
R	39.55	58.21	*0,0377	36	49	0,05
N	33.58	52.24	*0,0356			
D	32.84	52.99	*0,0230			
LR	38.21	55.52	0,0831			
L	27.61	43.28	0,0697			
S	35.32	50.25	0,1163			



# Résultats impact clinique de la variabilité inter-méthode

- Significativité publiée retrouvée que pour 3/6 évaluations
  - toutes ligne de base
  - Pas de différence en mode tangentiel
- Impact certain du laboratoire fournissant les données
- Deux éléments de discussion s'opposent
  - Mode T : plus reproductible en intercentre....
  - Rupture de comparabilité dans les études cliniques

# « Le changement c'est maintenant »? Ou « comment prendre la tangente! »

- Opérer un changement de modalité d'estimation :
  - Dans un centre :
    - ✦ Coexistence de deux filières patients
  - Sur un territoire :
    - ✦ Nécessité de synchroniser les labos périphériques
    - ✦ Nécessite de communiquer à grande échelle
  - Risque?
    - ✦ Difficulté de suivi+++ / mise en péril de certains résultats à l'échelle d'un patient/d'une étude?

# Effect of different peak integration methods on the accuracy of paraprotein quantification: what is the clinical relevance?

M. Berth

Algemeen Medisch Laboratorium (AMEL), Immunology Department, Erisel Vloorsstraat 9, 2020 Antwerpen

## INTRODUCTION

The quantification of a paraprotein in serum is performed by serum protein electrophoresis. Two different peak integration methods can be used and will produce different results. See figure 1. To assess the differences between the two integration methods and the possible clinical relevance, the results were compared to quantitative IgG Kappa and IgG Lambda assays.

## MATERIALS AND METHODS

In this study, 50 serum samples containing a paraprotein (confirmed by immunofixation electrophoresis) were analyzed. These consecutive samples were by general physicians, implying that most are monoclonal gammopathy of undetermined significance. The sera were analyzed using capillary electrophoresis comparing two methods of integration: the perpendicular drop method and the tangent skimming method. See figure 1. Absolute paraprotein concentration was calculated from the obtained integrated peak (N) and the total protein (T) using the following formula:  $\text{Paraprotein} = \frac{N}{T} \times 100$ .

In order to assess the concentration of the paraprotein by an independent way, IgG Kappa and IgG Lambda were measured by the Heijltje assays (The Binding Site on Diagnostic). Pearson correlation coefficients were calculated.

## RESULTS

All paraprotein concentrations obtained with the perpendicular drop method were higher than the results obtained with the tangent skimming method. The difference between the two integration methods was relative difference between the two methods was maximally 2.4 g/L. See figure 2. As can be observed in this figure, the largest relative differences were seen in paraprotein levels lower than 15 g/L. Comparable results were seen with the Heijltje measurements: the differences between the two integration methods were smaller in samples with a very high or very low IgG Kappa / IgG Lambda ratio (i.e. in samples with higher monoclonal component). The correlation coefficient between the IgG Kappa paraprotein concentration and the IgG Kappa Heijltje ( $n = 37$ ) was 0.924 (CI 0.920 – 0.946) when using the perpendicular drop method and 0.910 (CI 0.911 – 0.922) when using the tangent skimming method. In the IgG Lambda group, the correlation coefficient between the IgG Lambda paraprotein concentration and the IgG Lambda Heijltje ( $n = 22$ ) was 0.924 (CI 0.922 – 0.966) when using the perpendicular drop method and 0.942 (CI 0.922 – 0.923) when using the tangent skimming method.

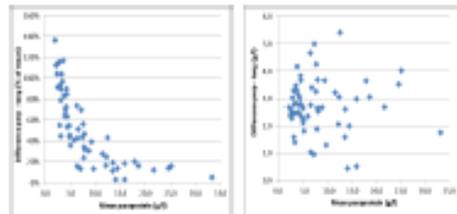


Figure 2. Relative and absolute differences between the perpendicular drop method (parp) and the tangent skimming method (tss) are plotted against the average of the two methods.

## REFERENCES

1. Berth M, Thoeniggep J, Jager F, Van der Vliet A. Reliability of peak quantification: comparison of two peak integration methods in capillary electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2018;16(1):17-21.
2. Berth M, Thoeniggep J, Jager F, Van der Vliet A. Reliability of peak quantification: comparison of two peak integration methods in capillary electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2018;16(1):17-21.
3. Berth M, Thoeniggep J, Jager F, Van der Vliet A. Reliability of peak quantification: comparison of two peak integration methods in capillary electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2018;16(1):17-21.
4. Lohrke F, Hübner C, Hübner C, Hübner C. Analytical validity in the measurement of serum monoclonal component by gel electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2014;12(1):1-4.
5. Berth M, Thoeniggep J, Jager F, Van der Vliet A. Reliability of peak quantification: comparison of two peak integration methods in capillary electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2018;16(1):17-21.
6. Berth M, Thoeniggep J, Jager F, Van der Vliet A. Reliability of peak quantification: comparison of two peak integration methods in capillary electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2018;16(1):17-21.
7. Berth M, Thoeniggep J, Jager F, Van der Vliet A. Reliability of peak quantification: comparison of two peak integration methods in capillary electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2018;16(1):17-21.

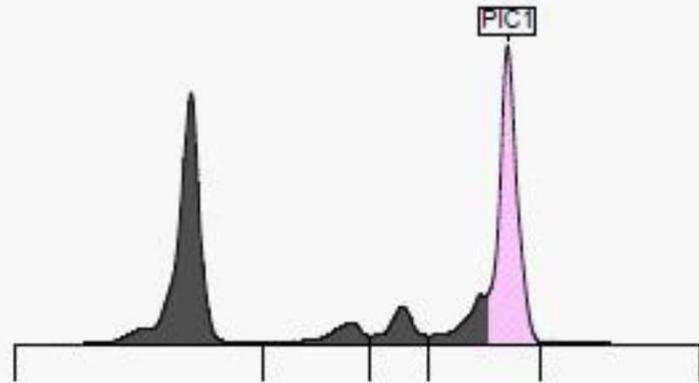
Should we all change our laboratory habits and start using the tangent skimming method? From an analytical point of view this probably should be the case. However, to avoid large differences between laboratories, most laboratories should change (in a same time frame!) their very long standing integration method to a new way of peak integration. This is practically impossible in the current context, and could cause more patient harm than benefit. Also, probably all clinical studies and subsequent international guidelines on monoclonal gammopathy and related syndromes, are based on the perpendicular drop method.

Rapport  
bénéfice/risque  
négatif

## CONCLUSION

It is important to do the follow-up of paraprotein levels not only using the same method but also in the same laboratory to ensure that the paraprotein estimation is performed in a similar fashion.

# Contexte français : EEQ probioqual pour un pic en $\beta$ (IgA Kappa)



## Fraction monoclonale 1 (orthogonal)

Votre codage : GC VMC XX : Capillarys  $\beta$ 1- $\beta$ 2/ $\beta$ 1- $\beta$ 2+ (SEBIA) sur Capillarys (SEBIA)

Votre résultat : 36,2 %

Note par rapport à l'ensemble : TB ; Note par technique/pairs : TB

Cible par technique/pairs : 36,80 % (CV : 7,5%) ; Limites acceptables : 29,44 à 44,16 ; E/M : -1,6 %

z-score par rapport à l'ensemble : 0,0 ; z-score par technique/pairs : -0,2

## Fraction monoclonale 1 (tangential)

Votre codage : GC VMC XX : Capillarys  $\beta$ 1- $\beta$ 2/ $\beta$ 1- $\beta$ 2+ (SEBIA) sur Capillarys (SEBIA)

Votre résultat : 28,6 %

Note par technique/pairs : TB

Cible par technique/pairs : 31,25 % (CV : 22,9%) ; Limites acceptables : 25,00 à 37,50 ; E/M : -8,5 %

z-score par technique/pairs : -0,4

# La situation nationale : EEQ Probioqual pic en zone $\gamma$

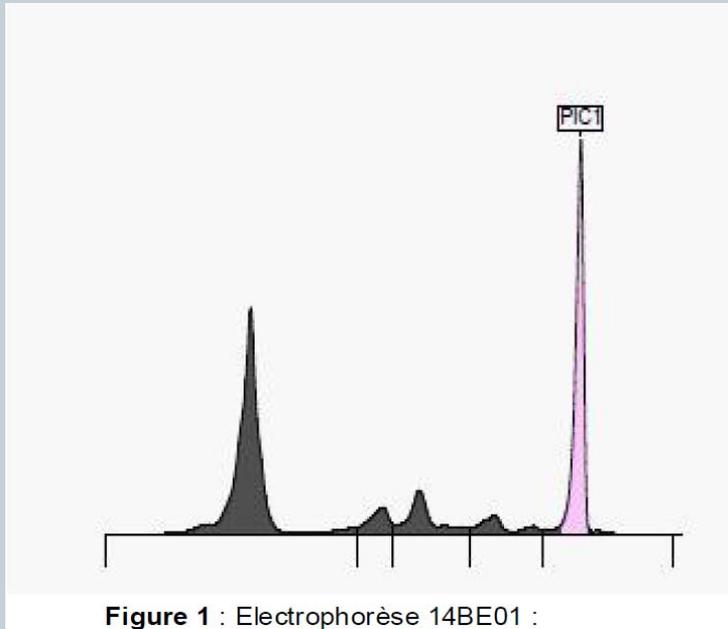


Figure 1 : Electrophorèse 14BE01 :

536 réponses

- 402 Ligne de base (75%)
- 185 tangentiel (25%)

Virage difficile....évitons la sortie de route!

# Sondage 3 DPC



**3. Quel mode d'intégration des pics révélés à l'électrophorèse utilisez vous ? \***

- Tangentiel
- Ligne de base
- Non concerné, analyse non réalisée

# Sondage 3 DPC



*3. Quel mode d'intégration des pics révélés à l'électrophorèse utilisez vous ? \**

- Tangentiel
- Ligne de base
- Non concerné, analyse non réalisée

Tangentiel	<b>33</b>	30.6 %
Ligne de base	<b>68</b>	63 %
Non concerné, analyse non réalisée	<b>7</b>	6.5 %

# La quantification en pratique



- Pas de mode parfait au quotidien
- Estimer au diagnostic systématiquement
- 1 patient = 1 mode (attention aux pratiques des labos proches)
- Favoriser la précision dans le suivi vs justesse
- Connaître les critères de réponse lorsque vous rendez un résultat :
  - ✦ TBRP (>90 % de diminution du pic initial)
  - ✦ RP (>50% de diminution du pic initial)
  - ✦ Progression (+ 5 g/L)
- **Recommandation de l'IFM -> Mode orthogonal historique**

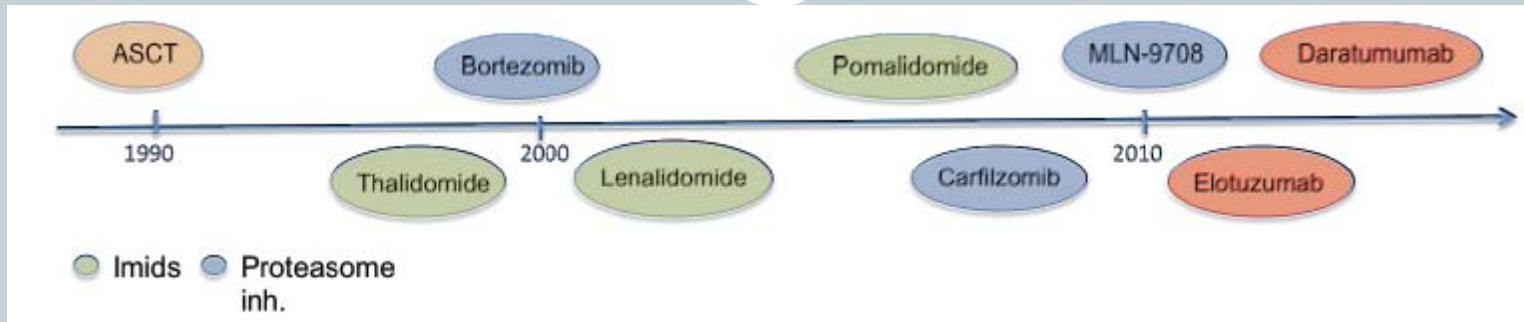
Pour finir : du nouveau!



Avènement des Ac monoclonaux dans le myélome

**De nouveaux challenges  
pour le biologiste**

# Evolution de l'arsenal thérapeutique



- Carfilzomib (diminution neuropathie vs Bortezomib)
- Ixazomib (MLN-9708 : 1<sup>er</sup> I. proteasome per os)
- ET

Ac monoclonaux

= IgG kappa PK compatible avec la détection par IF et EPS

Ceq : 1 g/L à l'induction

# L'immunothérapie dans le myélome multiple



- **... de nouveaux défis pour le Biochimiste**
  - Jusqu'à présent : succès modeste des Ac monoclonaux
    - ⇒ pas de nécessité d'avoir une solution pour lever l'interférence
  - Phases I/II du Dara (et Elo): réponses profondes
    - ✦ Méthode fiable indispensable permettant de distinguer l'interférence thérapeutique
    - ✦ Migration majoritairement en milieu de zone gamma (sauf Rituximab)

- IMWG 2015

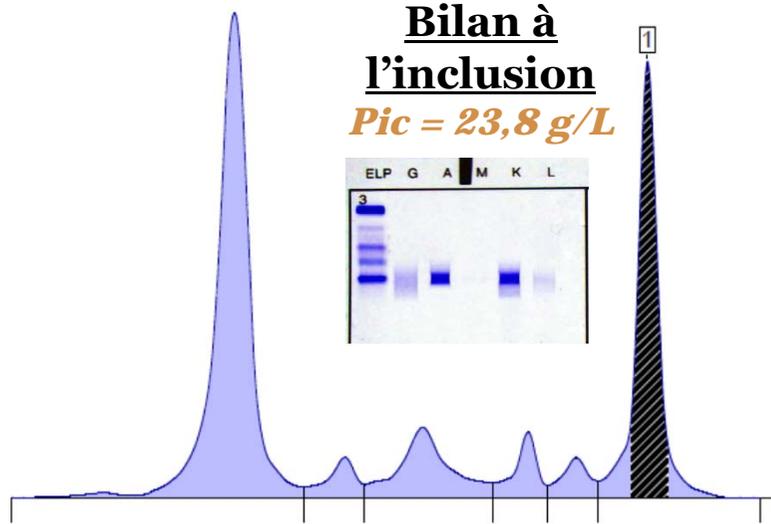
**mAb (Dara et Elo) conduisent à des erreurs de classification de réponse**

In 2006, the International Myeloma Working Group (IMWG) published uniform response criteria for multiple myeloma (MM).<sup>1,2</sup> These criteria with a minor clarifications have been widely used to measure the effectiveness of myeloma therapy clinical trials.<sup>3</sup> The development of effective monoclonal antibodies for the treatment of MM, such as elotuzumab and daratumumab have brought to our attention an urgent problem in which patients achieving complete response (CR) can be erroneously classified using the IMWG criteria.

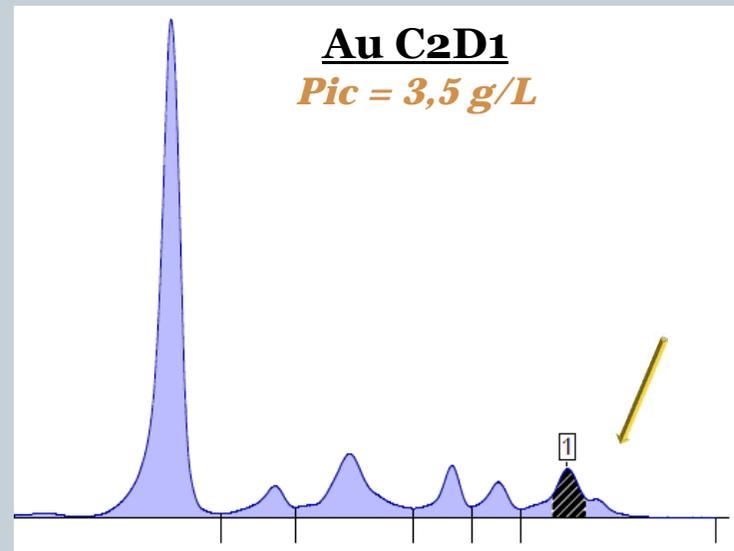
# Daratumumab? milieu de zone gamma?



**Bilan à  
l'inclusion**  
*Pic = 23,8 g/L*



**Au C2D1**  
*Pic = 3,5 g/L*



# Nécessité d'un test supplémentaire



- Objectiver la vraie réponse en évaluant la persistance du composant monoclonal initial
- DIRA : daratumumab interference reflex assay

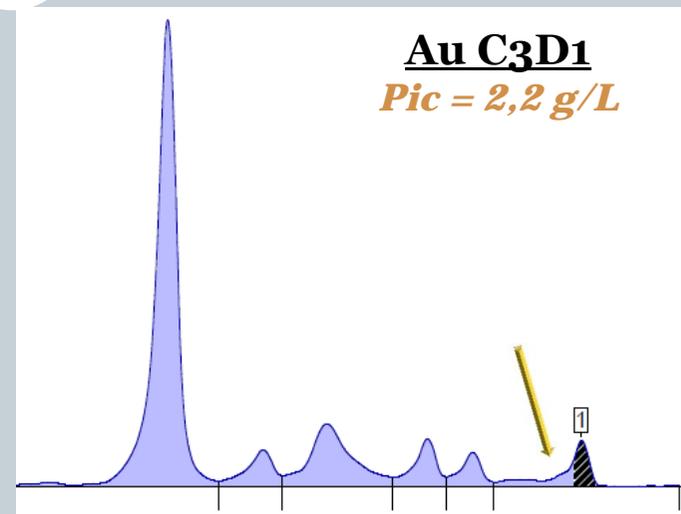
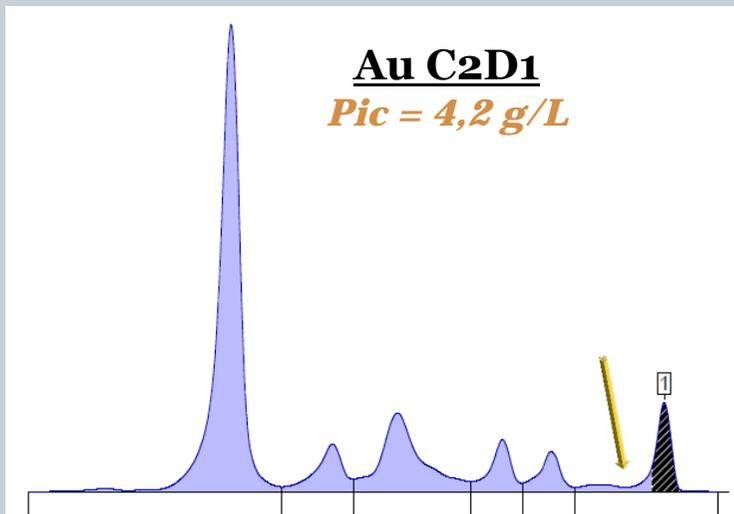
**DIRA négatif = absence du composant monoclonal initial**

**DIRA positif = persistance du composant monoclonal initial**

- Contexte d'utilisation
  - Pic < 2 g/L
  - Myélome à IgG kappa dont le pic co-migre avec le DARA

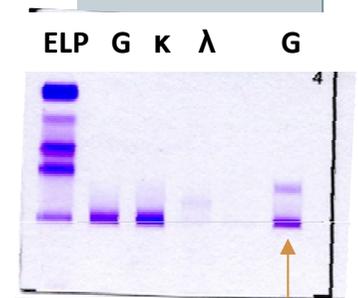
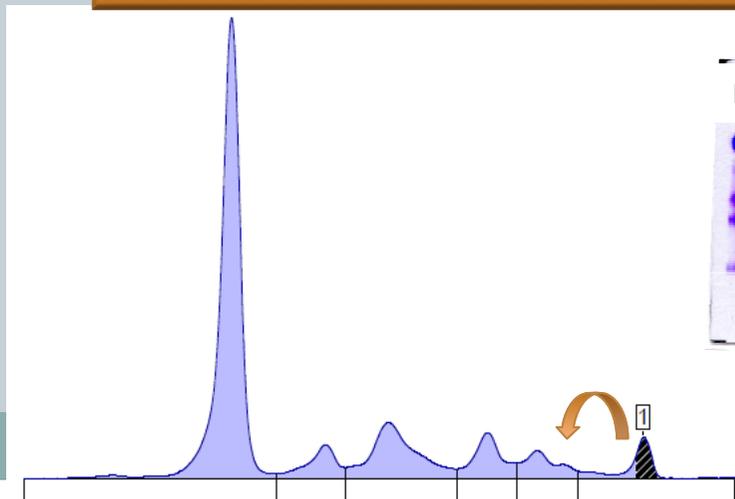
**LA REPONSE COMPLETE N'EST PAS EVALUABLE SANS TEST D'INTERFERENCE**

# Comment l'affirmer : test de déplacement (shift) Résultat sur l'IF DIRA +



Anti-Dara anti idiotype  
développé par Janssen :  
Ac murin invisible sur l'IF

Après traitement par l'anti-Dara



Sérum traité par  
l'anti-Dara

# L'immunothérapie dans le myélome multiple

- Persistance d'un risque de sous-estimation du taux de RC dans le cadre d'essais cliniques
  - Distinction parfois impossible surtout si l'isotype H/L est identique
  - Nécessité de disposer de tests distinguant précisément les 2 composants
- Travail des firmes
  - Nécessité d'automatisation
  - Développement de « shifts » pour les autres MoAbs
- Test spécialisé, expertise nécessaire
- **Plus que jamais, la collaboration clinico-biologique est fondamentale**
- D'autres disciplines biologiques sont également impactées
  - Transfusion, CMF
  - Pas d'interférence sur le NGS !





# Merci pour votre attention



PARIS, LE 28 JANVIER 2016  
25<sup>ÈME</sup> JOURNÉES NATIONALES  
COLLEGE NATIONAL DE BIOCHIMIE  
DES HOPITAUX

