



# Lymfeknude patologi

## Version 2.0

### **GODKENDT**

#### **Faglig godkendelse**

11. januar 2022 (DMG)

#### **Administrativ godkendelse**

17. januar 2022 (Sekretariatet for Kliniske Retningslinjer på Kræftområdet)

### **REVISION**

Planlagt: 31. januar 2023

### **INDEKSERING**

Dansk Melanom Gruppe, patologi,  
lymfeknude, sentinel lymfeknude

# Indholdsfortegnelse

Ændringslog (Nyt siden sidst) .....	2
1. Anbefalinger (Quick guide).....	3
Udskæring og præparering.....	3
Immunhistokemi .....	3
Mikroskopi og afrapportering .....	3
2. Introduktion .....	4
3. Grundlag .....	5
Udskæring og præparering.....	5
Immunhistokemi .....	8
Mikroskopi og afrapportering .....	9
4. Referencer .....	11
5. Metode .....	13
6. Monitorering .....	14
8. Om denne kliniske retningslinje.....	19

## Ændringslog (Nyt siden sidst)

Nyt siden version 1.0

Retningslinjeafsnit	Beskrivelse af ændring
Anbefalinger	<p>Anbefaling 1: Ændret fra at der skæres og undersøges snit på 6 niveauer med 150 µm mellem hvert niveau til at der nu skæres og undersøges snit på 3 niveauer med 300 µm mellem hvert niveau (sidstnævnte er forudgået af skæring af 2 ufarvede snit til en start og afskæring af 150µm væv).</p> <p>Anbefaling 2: Ændret fra at der på hvert niveau laves immunhistokemisk farvning for både melan-A og SOX10 til at der nu skal laves farvning for melan-A på hvert niveau samt valgfrit enten SOX10 eller S100 på hvert niveau.</p>
Litteratur- og evidensgennemgang	Opdateret
Rationale	Opdateret
Referencer	Opdateret
Litteratursøgning	Opdateret
Litteraturgennemgang	Opdateret
Bilag	Bilag 1 opdateret

# 1. Anbefalinger (Quick guide)

## Udskæring og præparering

1. Det anbefales at sentinel lymfeknuder flækkes, så den størst mulige skæreflade fremstilles. Hvis lymfeknuden er 3-4 mm i tværmål deles den i to, så meget gennem midten (hilus) som det er muligt. Mindre lymfeknuder indstøbes in toto. Hvis lymfeknuden er 5 mm eller større, skæres den i skiver a 2 mm i tykkelse. Først laves 2 ufarvede snit som kan benyttes ved behov (niveau 1). Dernæst skæres 150 µm ned i vævsblokken til niveau 2, herefter til niveau 3 og 4 med afstand 300 µm mellem niveauerne. På niveau 2, 3 og 4 skæres et snit til melan-A, et til enten SOX10 eller S100 (valgfrit, alternativt dobbeltfarvning for melan-A og SOX10) og 2 UF (ufarvede). Det er valgfrit om man vil lave et HE snit på hvert niveau men der skal som minimum fremstilles et snit til HE på andet niveau (D).

## Immunhistokemi

2. Snittene til IHC farves for melan-A og enten SOX10 eller S100 (valgfrit) for sentinel lymfeknuder (A). Man kan også lave en dobbeltfarvning for melan-A og SOX10 hvis man har mulighed for det (D).

## Mikroskopi og afrapportering

3. Antal positive sentinel lymfeknuder angives og tilstedeværelse af lymfeknudekonglomerat rapporteres (A).
4. Diameteren på den største metastase i sentinel lymfeknude angives i nærmeste 0,1mm (B).
5. Det angives om der er ekstranodal udbredning (B)
6. Ved lymfeknude exairese eller supplerende non-sentinel lymfeknuder rapporteres antal af lymfeknuder med metastase og antal lymfeknuder totalt (B).

## 2. Introduktion

Stadieinddelingen af melanomer indebærer sentinel node (SN) vurdering ved tumortykkelse 0,8 mm eller mere i primærtumor, eller hvis der er dermale mitoser, afhængigt af alder. Tumorinvolvering af SN er ved tidlige stadier af melanom en vigtig prognostisk faktor (1). I forbindelse med behandling er SN status med til at definere prognose og vejlede onkologen i om patienten skal tilbydes adjuverende behandling. Ved fund af metastase i SN vil patientens tumor klassificeres som stadium III og patienten dermed blive tilbudt et særligt opfølgingsprogram. Indikation for lymfeknudeexairese er nu en makroskopisk detekterbar lymfeknude metastase (klinisk eller radiologisk) eller mikroskopisk metastase med perinodal vækst.

### Formål

Det overordnede formål med retningslinjen er at understøtte en evidensbaseret diagnostik og behandling af høj og ensartet kvalitet for patienter med melanom på tværs af Danmark.

### Patientgruppe

Retningslinjen omhandler patienter med melanom som får foretaget SN statuering eller som får foretaget regional lymfeknudeexairese.

### Målgruppe for brug af retningslinjen

Denne retningslinje skal primært understøtte den histopatologiske diagnostik af sentinelle lymfeknuder, supplerende non-sentinelle lymfeknuder og lymfeknudeexaireser. Den primære målgruppe er derfor patologer, der arbejder med dette område indenfor det danske sundhedsvæsen.

## 3. Grundlag

### Udskæring og præparering

- 1. Det anbefales at sentinel lymfeknuder flækkes, så den størst mulige skæreflade fremstilles. Hvis lymfeknuden er 3-4 mm i tværmål deles den i to, så meget gennem midten (hilus) som det er muligt. Mindre lymfeknuder indstøbes in toto. Hvis lymfeknuden er 5 mm eller større, skæres den i skiver a 2 mm i tykkelse. Først laves 2 ufarvede snit som kan benyttes ved behov (niveau 1). Dernæst skæres 150 µm ned i vævsblokken til niveau 2, herefter til niveau 3 og 4 med afstand 300 µm mellem niveauerne. På niveau 2, 3 og 4 skæres et snit til melan-A, et til enten SOX10 eller S100 (valgfrit, alternativt dobbeltfarvning for melan-A og SOX10) og 2 UF (ufarvede). Det er valgfrit om man vil lave et HE snit på hvert niveau men der skal som minimum fremstilles et snit til HE på andet niveau (D).**

#### Litteratur og evidensgennemgang

En lang række protokoller for histopatologisk udskæring og den videre håndtering af SN er gennem årene blevet anvendt, og der findes ikke en fælles protokol for denne procedure. Ud fra den nuværende evidens er det uklart hvor mange skiver der skal skæres og hvor mange snit / hvilket interval der skal være mellem snittene, samt hvilken kombination af immunhistokemiske farvninger, der skal laves. De forskellige protokoller har omfattet alt fra mellem et enkelt snit på hver blok til fuld serieskæring af hele lymfeknuden. Mange undersøgelser har vist at jo mere ekstensive protokoller man anvender, jo mere øges detektionsraten af SN-metastaser, men protokollerne varierer meget, og det er ikke muligt at sige hvilken protokol, der er den mest rigtige (2).

Som eksempler på forskellige protokoller kan nævnes, at man i Sydney, Australien, bruger en procedure med 4 sekventielle snit fra begge halvdele, eller hver skive, efter at lymfeknuden er skåret i 3 mm tykke skiver. Første og fjerde snit farves med HE og med S-100, og tredje med HMB45. På trods af, at der i denne procedure bruges relativt få snit, har de en fejlrate på 2,6% (antal falsk negative ud af alle negative) som er sammenlignelig med andre procedurer, hvor der findes fejlratet på median 4% (2). EORTC-protokollen er med mere omfattende skæring af vævsblokken i 6 niveauer med 1 immunfarvning og ufarvede snit på hvert niveau. I de tyske retningslinjer (3) anbefales, at der som minimum skal laves 4 snit på hver lymfeknude halvdel, hvilket retfærdiggøres ud fra opgørelser lavet af Scolyer et al. (4).

SN-statuering er en vigtig prognostisk faktor, som indgår i stadie inddeling, og er væsentlig for eventuel adjuverende behandling samt valg af opfølgingsforløb for den enkelte patient. Flere studier har sat spørgsmålstegn ved den prognostiske betydning af meget små metastaser. I et studie fandt man, at metastaser <0,1mm i en SN ikke var ledsaget af spredning til non-SN lymfeknuderne, og OS var 100% ved disse tumorer (5). Dog skal man være lidt forsigtig med at konkludere på disse observationer, da der kan være lead-time bias, og bias ved at SN-proceduren muligvis kan være helbredende i sig selv. Derudover argumenteres der med, at der ved udskæringsprotokoller med få snit findes få recidiver efter negative SN ift. hvad man ville forvente, hvis de ekstra metastaser, der findes ved de ekstensive udskæringsprotokoller, havde en betydning (2).

Man kunne på denne baggrund argumentere for en simpel procedure, som fx den australske model, hvor der kun laves 4 snit.

En afvejning af arbejdsbyrde hos patolog og gennem laboratoriet i forhold til udbyttet af en omfattende sentinel node protokol er i denne sammenhæng nødvendig. Scolyer (2) har beregnet hvad en procedure, der kræver 20 snit pr blok på hver SN ville betyde i forhold til de 4 snit pr blok, der er deres normale gennemsnit. Dette ville medføre et merforbrug på 64 minutter patolog-tid pr SN, og derudover er der ekstra udgifter til laborant tid, materialer og reagenser. Vi indførte en national retningslinje i Danmark i slutningen af januar 2021. Det var en modificeret udgave af EORTC's protokol, med snit på 6 niveauer med en afstand på 150um mellem niveauerne og med immunhistokemisk farvning for melan-A og SOX10 samt 2 ufarvede snit på hvert niveau. Desuden minimum et HE farvet snit. Det medførte et stort merforbrug på flere institutter foruden en væsentlig forøgelse i tid og ressourcer for både laboratoriet og den enkelte undersøgende læge. Vi lavede derfor en opgørelse efter et halvt år for at undersøge om en reduktion af antallet af niveauer ville have betydning for detektionsraten og for vurdering af metastase diameter. Denne undersøgelse udarbejdes nu som en videnskabelig artikel der forventes optaget i et peer-review tidsskrift (unpub (6)).

I den undersøgte periode (februar til og med august 2021) blev der lavet SN procedure på 509 patienter (Næstved/Roskilde og Rishospitalet er ikke medregnet) på landsplan (unpub (6)). Vi fandt metastase hos 117 af patienterne (ca 23%), når skæreprotokollen med 6 niveauer blev anvendt. Hvis vi reducerede antallet af niveausnit til 3 (sv.t at vi kun havde undersøgt niveau 2, 4 og 6, dvs med en afstand på 300 um), ville vi have fundet metastase hos 111 patienter (ca 22%). Dvs, at for 4 af patienterne ville vi ikke have opdaget metastaserne (diameter på disse metastaser var hhv <0,1mm, 0,1mm, 0,4 mm og 0,1mm). I 2 tilfælde kunne vi ikke opgøre om der var forskel ("missing data"). Her var metastasediameteren hhv 0,4 mm og 0,8mm (unpub (6)). Alle de metastaser vi ikke ville finde ved at reducere antal undersøgte vævssnit er altså meget små metastaser og man kan, jvf ovenfor nævnte argumenter, diskutere om det i virkeligheden har en betydning for patienten om der findes en meget lille metastase, når nu der er foretaget SN og man derfor kan antage at patienten måske er helbredt alene ved proceduren.

Ved skæreprotokollen med de 6 niveauer fandtes en stor metastase (dvs >1mm) hos 38 af patienterne (ca 7%) (unpub (6)). Vores undersøgelse viste at hvis vi reducerede antallet af niveausnit til 3 (sv.t at vi kun havde undersøgt niveau 2, 4 og 6, dvs med en afstand på 300 um) ville vi have fundet en stor metastase hos 36 patienter (ca 7%). Dvs vi ville have misset at 1 af patienterne havde en stor metastase (diameter på den metastase var 1,1mm), men i 1 tilfælde kunne vi ikke opgøre om der var forskel ("missing data"). Her var metastasediameteren kun lige 1mm (unpub (6)). Igen er der tale om at de metastaser, der potentielt ikke findes ved at reducere antal undersøgte snit, er de mindste metastaser.

Mange protokoller anbefaler, at SN lymfeknuden flækkes på langs gennem hilus, og refererer til at Cochran et al. har vist at de fleste metastaser er små og subkapsulære, og lokaliseret tæt på den centrale meridian (7). Imidlertid har flere efterfølgende studier vist, at metastaserne godt nok ofte er små og subkapsulære, men at de spreder sig langs randsinus og derfor lige så godt kan findes perifert i en lymfeknude som centralt. Dette er fundet i studier med meget ekstensive udsæringsprotokoller, herunder anvendelse af fuld opskæring af lymfeknuden (8-12).

Vi har gennemgået mange af de tilgængelige udenlandske retningslinjer (sprog: svensk, norsk, tysk, engelsk). Flere af dem, der har retningslinjer for selve udsæringsprotokollen af lymfeknuden, følger EORTCs udsæringsprotokol. Det gælder fx den seneste retningslinje fra Royal College of Pathologists (13), der begrundet valget med, at de kliniske melanomstudier i UK ledes af EORTC, og de mener endvidere, at EORTCs protokol er blandt de stærkest evidensbaserede.

EORTC-protokollen (14) tager udgangspunkt i, at metastaser ofte findes subkapsulært helt centralt (hilært) i lymfeknuden, hvorfor lymfeknuden anbefales flækket i to, så den størst mulige snitflade fremstilles, og der skæres vævsnit på 6 niveauer, hvor afstanden mellem niveauerne er afhængig af lymfeknudens størrelse.

Vi anbefaler også fortsat at lymfeknuden så vidt muligt deles på langs gennem hilus og at lymfeknuden så vidt muligt opskæres i 2 mm tykke skiver (se udskæringsvejledning i bilag). Dette for at sikre at der ikke er områder over 1 mm som ikke bliver undersøgt da en metastase på >1mm er udslagsgivende i fht om patienten kan tilbydes adjuverende behandling.

Der laves snit på 3 (/4) niveauer (se udskæringsvejledning i bilag). Først laves 2 ufarvede snit som kan benyttes ved behov (niveau 1). Dernæst skæres 150 µm ned i vævsblokken til niveau 2, herefter til niveau 3 og 4 med afstand 300 µm mellem niveauerne. På niveau 2, 3 og 4 skæres et snit til melan-A, et til enten SOX10 eller S100 (valgfrit, alternativt dobbeltfarvning for melan-A og SOX10) og 2 UF (ufarvede). Det er valgfrit om man vil lave et HE snit på hvert niveau men der skal som minimum fremstilles et snit til HE på andet niveau.

Vi har bibeholdt to ufarvede snit inden trinskæringen af to årsager. Den ene årsag er at det giver mulighed for at supplere med farvninger, hvis der er metastase i tilliggende niveau, og der er mistanke om at diameter kan være større i det første niveau. Den anden årsag er, at vi finder det vigtigt at komme tilstrækkeligt dybt ned i vævsblokken, inden der skæres i niveauer, for at sikre fremstilling af de mest kapselnære områder i de tilfælde hvor det er en flækket lymfeknude.

### Patientværdier og –præferencer

Ikke relevant

### Rationale

Formålet er at optimere detektionsraten af metastaser i sentinel lymfeknuder og at vurdere størrelsen af metastaser så korrekt som muligt af hensyn til den enkelte patients opfølgingsforløb og eventuelt tilbud om adjuverende behandling. En afvejning af dette i forhold til arbejdsbyrde og økonomiske udgifter har været nødvendig og et kompromis er fundet, hvor kun få metastaser ikke bliver opdaget, men hvor arbejdsbyrden/økonomien for den enkelte afdeling mindskes i meget betydelig grad.

Vi anbefaler (ligesom i forrige DMG-retningslinje), at lægge os op ad EORTC protokollens grundlæggende princip om, hvordan lymfeknuden flækkes eller skæres i skiver til indstøbning. Vi mener, at vi med vores videnskabelige studie af den EORTC inspirerede protokol, kan anbefale at antallet af niveauer der skæres per SN reduceres til 3 som skitseret i bilag.



## Immunhistokemi

- 2. Snittene til IHC farves for melan-A og enten SOX10 eller S100 for sentinel lymfeknuder (A). Man kan også lave en dobbeltfarvning for melan-A og SOX10 hvis man har mulighed for det (D).**

### Litteratur og evidensgennemgang

Immunhistokemisk farvning øger detektionsraten af metastaser i SN (15, 16). EORTC-protokollen anbefaler at man bruger S-100. Brugbarheden af S100 er begrænset af den lave specificitet. S-100 reagerer både med de dendritiske celler i lymfeknuden, perifere nervegrene og det omkransende fedtvæv, hvilket gør det vanskeligt at tolke farvningen og erkende solitære tumorceller. Da en enkelt tumorcelle er nok til at definere en positiv SN (17, 18), kan brugen af S100 være en oplagt kilde til både falsk negative og falsk positive SN. Der er imidlertid mange patologer der har god erfaring med at bruge S100 og som ikke har fundet gavn af at der blev indført en SOX10 farvning.

Melan-A er mere specifik end S-100, men til gengæld mindre sensitiv, idet metastatisk melanom kan tabe ekspression af melan-A. Endvidere udtrykker flere af de mere sjældne melanomtyper, som fx desmoplastisk melanom, ofte ikke melan-A. Flere studier har vist lovende resultater ved brug af SOX10 på SN. I et studie af Willis BC et al (19) blev 107 SNs farvet med SOX10, og de fandt at SOX10 overgik S-100 i både sensitivitet, specificitet og farvningsintensitet/læsbarhed.

I et andet studie (20), hvor man undersøgte 93 lymfeknuder, viste en sammenligning af SOX10 og S100 at det ved SOX10 farvning var lettere at adskille pigmenterede makrofager fra tumorceller og at SOX10 var bedre til at fremstille isolerede tumorceller. SOX10 og S100 må dog opfattes som værende lige sensitive, og den enkelte patologs erfaring eller præference må være afgørende ved valg mellem disse.

Ved vores gennemgang af undersøgte SN i 2021 (unpub (6)) fandt vi at samtlige metastaser var positive for både melan-A og SOX10, fraset en enkelt metastase som viste sig at være negativ i både melan-A, SOX10 og S100. Vi mener derfor at der er argument for at bibeholde melan-A, men at lade det være valgfrit om man på den enkelte afdeling ønsker at benytte SOX10 eller S100.

### Patientværdier og –præferencer

Ikke relevant

### Rationale

Da melan-A er mere specifik end SOX10 og S-100, mens både SOX10 og S100 er mere sensitive end melan-A, vurderes at kombinationen af melan-A og enten SOX10 eller S100 at være rationel i forhold til at finde metastaserne og påvise at de er melanocytære. Kombinationen af melan-A og en af de to mere sensitive markører er vigtig, da visse melanomtyper er negative for melan-A. Man kan vælge SOX10 eller S100 som sensitiv markør efter personlig erfaring og præference. Der er mindst en afdeling der har god erfaring med at lave dobbeltfarvning for SOX10 (kernefarvning) og melan-A (cytoplasmafarvning) og det er der ikke noget godt argument for at man ikke kan lave i stedet for 2 separate farvninger.

## Mikroskopi og afrapportering

### 3. Antal positive sentinelle lymfeknuder angives og tilstedeværelse af lymfeknudekonglomerat rapporteres (B).

#### Litteratur og evidensgennemgang

Antallet af regionale lymfeknuder med metastase er i 8th UICC / 8th AJCC den primære faktor i pN-stadieinddelingen (17).

### 4. Diameteren på den største metastase i sentinel lymfeknude angives i nærmeste 0,1mm (B).

#### Litteratur og evidensgennemgang

Der er flere guidelines hvor anbefalingerne også indbefatter afrapportering af parametre som lokalisation, maksimale subkapsulære dybdevækst og procent involveret lymfeknudeareal. Der er således flere histologiske parametre i SN, der er vist at have prædiktiv værdi for involvering af non-SN lymfeknuder (2).

På trods af at SN-protokollerne var forskellige på de forskellige centre, fandt man i et internationalt multicenter studie af 1539 SN-positive ptt. (21), at lokalisation, tumor-penetrative-depth og maksimale størrelse, alle var prædiktive faktorer for non-SN-status og melanom-specifik overlevelse. Når resultaterne imidlertid blev gjort op for hvert center for sig, var det dog kun i nogle af centrene, at en eller flere af faktorerne havde signifikant betydning, hvilket formentlig kan forklares ved forskelle i patologisk håndtering af SN. Det er altså muligt at flere parametre kan være brugbare, men det er problematisk at procedurerne er forskellige, da det influerer på fund af og mål på metastaserne, som både kan være af meget varierende form og forekomme multifokalt.

Et andet aspekt er interobservatør reproducerbarheden. Et studie (22) undersøgte dette på forskellige parametre, og fandt at kvantitative parametre som største diameter af metastase og skøn over metastaseareal var acceptabelt reproducerbare, mens de kvalitative mål såsom metastase lokalisation var mindre reproducerbare.

UICC/AJCC anbefaler som minimum at angive diameter på den største selvstændige metastase målt i nærmeste 0,1mm. For at være del af en selvstændig metastase må tumorcellerne være i direkte kontinuitet med tilstødende tumorceller. I nogle tilfælde ses multiple små tumoraggregater spredt i lymfeknuden adskilt af lymfocytter. I disse tilfælde er det størrelsen af det største fokus der skal måles. Man kan måle på enten HE snit eller IHC farvede snit.

Ifølge UICC/AJCC er der ikke entydig evidens for en nedre grænse af metastasens størrelse. Som tidligere nævnt er der ikke entydighed vedrørende den prognostiske værdi af små metastaser, og der er studier der viser at selv minimale tumorer < 0,1 mm kan være associeret med en dårligere prognose end negative SN over tid. En SN hvor helt ned til en enkelt tumorcelle identificeres, uanset om det er på HE eller IHC farvet snit, betragtes som positiv (17, 18).

Melanomceller i lymfekar i lymfeknudekapsel eller i tilstødende væv i et lymfeknudesnit skal opfattes som lymfeknudemetastase og skal rapporteres som beskrevet (17, 18).

Det er DMGs anbefaling at følge AJCC mht. angivelse af metastasediameter, selvom det ikke er en del af stadietinddelingen. Dette fordi det kan være en vigtig information ved den onkologiske behandling. I et fase III studie (23), hvor pembrolizumab blev givet som adjuverende behandling til patienter med stadium III melanom,

var det kun patienter med metastaser i de regionale lymfeknuder på > 1 mm der blev inkluderet. Onkologerne vejledes således af størrelsesmålet på SN-metastasen i deres diskussion af adjuverende behandling med patienten, men er på nuværende tidspunkt mest interesseret i om metastasen er over eller under 1 mm.

## 5. Det angives om der er ekstranodal udbredning (B)

### Litteratur og evidensgennemgang

Ifølge UICC/AJCC (17, 18) skal det angives om der er ekstranodal udbredning, defineret som lymfeknude metastase, der vokser gennem kapslen ind i det omgivende væv (ofte det perinodale fedt). Dette gælder både sentinelle lymfeknuder (men vil her forekomme yderst sjældent) og supplerende lymfeknuder / lymfeknudeexairese. Det ses ofte i forbindelse med store, også klinisk detekterbare metastaser, hvor der findes makroskopisk ændret lymfeknude arkitektur og evt. sammenvoksede lymfeknuder. Man kan i sjældne tilfælde se ekstranodal vækst selv ved små metastaser. Ekstranodal vækst er en parameter med negativ prognostisk værdi (24). Sammenvoksning af lymfeknuder (lymfeknudekonglomerat) skal noteres ved makroskopisk udkæring og rapporteres, idet det indgår som kriterie ved AJCC/UICC klassifikation. Sammenvoksning af lymfeknuder skal skyldes metastatisk vækst for at være relevant.

## 6. Ved lymfeknude exairese eller supplerende lymfeknuder rapporteres antal af lymfeknuder med metastase og antal lymfeknuder totalt (B).

### Litteratur og evidensgennemgang

Ifølge UICC/ AJCC (17, 18) indgår alle regionale lymfeknuder i stadietinddelingen. Det anbefales at indstøbe alt lymfeknudevæv og fremstille HE snit for hver vævsblok. Ved oplagt lymfeknudemetastase kan man nøjes med færre snit for at verificere diagnosen, se skærevejledningen. Der kan suppleres med immunfarvninger, f. eks melan-A og SOX10, hvis det skønnes nødvendigt.

### Patientværdier og – præferencer

Ikke relevant

### Rationale

Ad anbefaling 3,4,5,6: ved mikroskopi og afrapportering følges 8th UICC/8thAJCC som ligger til grund for stadietinddelingen, der anvendes i DK.

### Bemærkninger og overvejelser

Den anbefalede udkæringsprocedure er ændret i forhold til retningslinjen fra 2021. En tegning der illustrerer hvordan en SN skal udkæres findes i bilag 1.

## 4. Referencer

1. Scolyer RA, Judge MJ, Evans A, Frishberg DP, Prieto VG, Thompson JF, et al. Data set for pathology reporting of cutaneous invasive melanoma: recommendations from the international collaboration on cancer reporting (ICCR). *Am J Surg Pathol*. 2013;37(12):1797-814.
2. Scolyer RA, Murali R, McCarthy SW, Thompson JF. Pathologic examination of sentinel lymph nodes from melanoma patients. *Semin Diagn Pathol*. 2008;25(2):100-11.
3. guidelines Gm. S3 Leitlinie zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Melanoms. German melanoma guidelines. 2019;Version 3.2(AWMF-Register-Nummer: 032/024OL).
4. Scolyer RA, Murali R, Satzger I, Thompson JF. The detection and significance of melanoma micrometastases in sentinel nodes. *Surg Oncol*. 2008;17(3):165-74.
5. van Akkooi AC, de Wilt JH, Verhoef C, Schmitz PI, van Geel AN, Eggermont AM, et al. Clinical relevance of melanoma micrometastases (<0.1 mm) in sentinel nodes: are these nodes to be considered negative? *Ann Oncol*. 2006;17(10):1578-85.
6. Mellemegaard C. LMS, Klausen S., Lade-Keller J Foreløbig titel: "Optimizing the protocol for histopathological evaluation of sentinel lymph nodes for malignant melanoma". Under udarbejdelse.
7. Cochran AJ, Wen DR, Morton DL. Occult tumor cells in the lymph nodes of patients with pathological stage I malignant melanoma. An immunohistological study. *Am J Surg Pathol*. 1988;12(8):612-8.
8. Ruiter DJ, Spatz A, van den Oord JJ, Cook MG. Pathologic staging of melanoma. *Semin Oncol*. 2002;29(4):370-81.
9. Spanknebel K, Coit DG, Bieligg SC, Gonen M, Rosai J, Klimstra DS. Characterization of micrometastatic disease in melanoma sentinel lymph nodes by enhanced pathology: recommendations for standardizing pathologic analysis. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(3):305-17.
10. Riber-Hansen R, Sjoegren P, Hamilton-Dutoit SJ, Steiniche T. Extensive pathological analysis of selected melanoma sentinel lymph nodes: high metastasis detection rates at reduced workload. *Ann Surg Oncol*. 2008;15(5):1492-501.
11. Riber-Hansen R, Nyengaard JR, Hamilton-Dutoit SJ, Steiniche T. The nodal location of metastases in melanoma sentinel lymph nodes. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(10):1522-8.
12. Riber-Hansen R, Hamilton-Dutoit SJ, Steiniche T. Nodal distribution, stage migration due to diameter measurement and the prognostic significance of metastasis volume in melanoma sentinel lymph nodes: a validation study. *Apmis*. 2014;122(10):968-75.
13. Slater D CM. Standards and datasets for reporting cancers. Dataset for histopathological reporting of primary cutaneous malignant melanoma and regional lymph nodes. The Royal College of Pathologists (England&Wales). 2019.
14. Cook MG, Massi D, Szumera-Ciećkiewicz A, Van den Oord J, Blokk W, van Kempen LC, et al. An updated European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) protocol for pathological evaluation of sentinel lymph nodes for melanoma. *Eur J Cancer*. 2019;114:1-7.
15. Yu LL, Flotte TJ, Tanabe KK, Gadd MA, Cosimi AB, Sober AJ, et al. Detection of microscopic melanoma metastases in sentinel lymph nodes. *Cancer*. 1999;86(4):617-27.
16. Gadd MA, Cosimi AB, Yu J, Duncan LM, Yu L, Flotte TJ, et al. Outcome of patients with melanoma and histologically negative sentinel lymph nodes. *Arch Surg*. 1999;134(4):381-7.
17. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Sondak VK, Long GV, Ross MI, et al. Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(6):472-92.
18. P I. Introduktion til 8. udgave af UICC's TNM klassifikation. Den Nationale Danske TNM Komite under DMCG.dk. 2017.
19. Willis BC, Johnson G, Wang J, Cohen C. SOX10: a useful marker for identifying metastatic melanoma in sentinel lymph nodes. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(2):109-12.

20. Jennings C, Kim J. Identification of nodal metastases in melanoma using sox-10. *Am J Dermatopathol*. 2011;33(5):474-82.
21. van der Ploeg AP, van Akkooi AC, Haydu LE, Scolyer RA, Murali R, Verhoef C, et al. The prognostic significance of sentinel node tumour burden in melanoma patients: an international, multicenter study of 1539 sentinel node-positive melanoma patients. *Eur J Cancer*. 2014;50(1):111-20.
22. Murali R, Cochran AJ, Cook MG, Hillman JD, Karim RZ, Moncrieff M, et al. Interobserver reproducibility of histologic parameters of melanoma deposits in sentinel lymph nodes: implications for management of patients with melanoma. *Cancer*. 2009;115(21):5026-37.
23. Eggermont AMM, Blank CU, Mandala M, Long GV, Atkinson V, Dalle S, et al. Adjuvant Pembrolizumab versus Placebo in Resected Stage III Melanoma. *N Engl J Med*. 2018;378(19):1789-801.
24. Crookes TR, Scolyer RA, Lo S, Drummond M, Spillane AJ. Extranodal Spread is Associated with Recurrence and Poor Survival in Stage III Cutaneous Melanoma Patients. *Ann Surg Oncol*. 2017;24(5):1378-85.

## 5. Metode

### Litteratursøgning

Udenlandske nationale guidelines og guidelines fra organisationer, på svensk, norsk, tysk og engelsk blev gennemgået og vurderet ift. indhold og kvalitet. En del af indholdet er adapteret fra disse og derudover er der søgt ad hoc og ud fra oversigtsartikler efter primærlitteratur. Endvidere har vi selv lavet en undersøgelse af om det er muligt at reducere antallet af de niveauer og snit som anbefales af EORTC (unpub (6)). Det er et studie som er under udarbejdelse til en artikel som vi forventer bliver publiceret i et peer-review tidsskrift.

### Litteraturgennemgang

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

### Formulering af anbefalinger

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

### Interessentinvolvering

Ingen interessentinvolvering.

### Høring og godkendelse

Retningslinjen er blevet diskuteret i patologernes retningslinjeudvalg i DMG og har været i høring i patologigruppen samt forretningsudvalget i DMG, derefter RKKPs sekretariat. Sidstnævnte har godkendt retningslinjen.

### Anbefalinger, der udløser betydelig merudgift

Anbefalingerne vurderes ikke at give betydelig merudgift i afdelingerne i forhold til det, der er klinisk praksis på nuværende tidspunkt.

### Forfattere

- Mathilde Skaarup Larsen, overlæge, Patologiafdelingen, Herlev Gentofte
- Johanne Lade Keller, afdelingslæge, Patologi, Aarhus Universitetshospital
- Siri Klausen, overlæge, Patologiafdelingen, Herlev Gentofte Hospital

Ovenstående forfattere har ingen interessekonflikter.

## 6. Monitorering

Anbefalingerne vedrørende udskæring og præparering er væsentligt ændret i forhold til tidligere vejledning, og dette giver anledning til monitoreringsbehov for fund af positive sentinel lymfeknuder. Der skal monitoreres på andelen af patienter med positiv SN og antallet af positive SN pr. patient.

## 7. Bilag 1

### Sentinel lymfeknude

Lymfeknuder med skintigrafisk count på < 10% af det højest målte count i **samme** bassin er definitionsmæssigt ikke SN, medmindre de har blåfarvning. Lymfeknuder med blåfarvning er definitionsmæssigt SN uanset skintigrafisk count (se kapitlet om Sentinel node biopsi).

Non-sentinel lymfeknuder behandles som supplerende lymfeknuder.

Udskæringsprocedure (figur 1)

Den/de isolerede SN fikseres i formalin til den følgende dag.

Evt. upåfaldende fedtvæv bortskæres (mulig kapselgennemvækst skal dog kunne vurderes), og samtlige lymfeknuder vurderes og det beskrives, om der er blå-farvning eller ikke. Det beskrives, om der er sammenvoksning af lymfeknuder (konglomerat).

Lymfeknuden flækkes, så den størst mulige skæreflade fremstilles.

Lymfeknuder på ca. 2 mm (1-3 mm) i største tværmål indstøbes in toto

Lymfeknuder der er 3-5 mm i tværmål deles i to gennem midten (hilus)

Lymfeknuder der er 5 mm og derover skæres i skiver a 2 mm i tykkelse



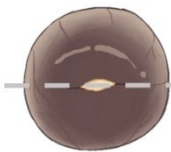

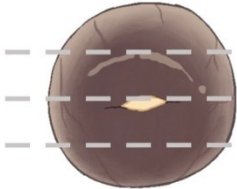
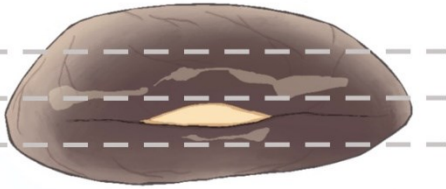
Størrelse (mm)	Form		Preparering af lymfeknuden
	Rund	Oval	
1-3			Instøbes in toto
3-5			Flækkes på midten
>5			Parallelskæres i 2 mm skiver

Fig 1



### Skæreprotokol (figur 2)

På hver blok laves 2 ufarvede snit til start (niveau 1). Dernæst skæres 150 µm ned i vævsblokken til niveau 2, derefter 300 µm til niveau 3 og 300 µm til niveau 4. På niveau 2, 3 og 4 skæres et snit til melan-A, et til enten SOX10 eller S100 (alternativt kun 1 snit til dobbeltfarvning for SOX10 og melan-A) og 2 UF (ufarvede). Det er valgfrit om man vil lave HE på alle niveauer, men der skal som minimum fremstilles et snit til HE på 2. niveau.

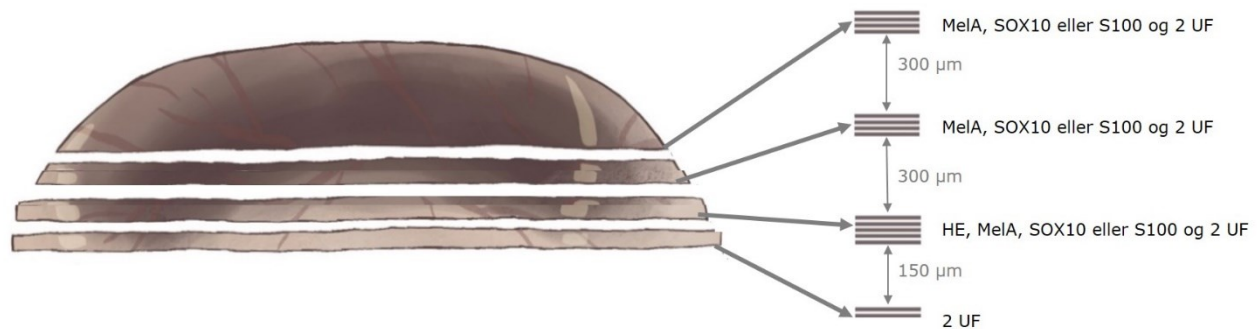


Fig 2

Denne udskæring og trinskæring gennemføres for alle fremsendte SN.

Hvis en eller flere SN viser makroskopisk erkendelig melanometastase udtages blot til en enkelt blok fra disse lymfeknuder. Et snit farves med HE og der suppleres evt. med melan-A eller anden melanocytmarkør. Trinskæring kan udelades.

### Mikroskopi

Antal positive sentinel lymfeknuder angives og tilstedeværelse af lymfeknudekonglomerat rapporteres.

Der skal være lymfeknudevæv med metastase, for at der foreligger konglomerat.

En enkelt tumorcelle identificeret på HE og/eller IHC farvet snit, betragtes som metastase. De ufarvede snit kan farves med immunfarvning eller HE snit efter behov, f.eks. kan HE farvning være relevant for at vurdere cellemorfologien ved differentialdiagnoserne nævusinklusion eller melanom metastase.

### Største diameter

Diameteren på den største metastase i sentinel lymfeknude angives i nærmeste 0,1 mm. For helt små metastaser eller enkelt celler rapporteres diameter < 0,1 mm. For at være del af en selvstændig metastase må tumorcellerne være i direkte kontinuitet med tilstødende tumorceller. I nogle tilfælde ses multiple små tumoraggregater spredt i lymfeknuden adskilt af lymfocytter. I disse tilfælde er det størrelsen af det største fokus der skal måles. Man kan måle på enten HE snit eller IHC farvede snit.

### Perinodal vækst

Det undersøges, om der foreligger kapselgennemvækst eller perinodal vækst af metastaser.

**DMD registrering**

SN indberettes til databasen med særskilt indberetning for hver lymfeknude. Infiltratets største diameter anføres med 1 decimal. Hvis diameter er mindre end 0,1 mm anføres dette. Rapportering af immunhistokemiske fund vedrører kun metastaser, ikke nævusinklusioner. Feltet "perinodal vækst" anføres som ja / nej

**SNOMED kodning**

T-kode for topografi:

T0810HLymfeknude på højre side af hoved, sentinel  
T0810VLymfeknude på venstre side af hoved, sentinel  
T0814HLymfeknude ved højre glandula parotidea, sentinel  
T0814VLymfeknude ved venstre glandula parotidea, sentinel  
T0820B Lymfeknude på hals, højre, sentinel  
T0820CLymfeknude på hals, venstre, sentinel  
T0871BLymfeknude i højre aksil, sentinel  
T0871SLymfeknude i venstre aksil, sentinel  
T0873HLymfeknude i højre albue, sentinel  
T0873VLymfeknude i venstre albue, sentinel  
T0881BLymfeknude i højre inguen, sentinel  
T0881CLymfeknude i venstre inguen, sentinel  
T0882HLymfeknude i højre knæhase, sentinel  
T0882VLymfeknude i venstre knæhase, sentinel

Der skal kodes inklusiv sideangivelse, hvis muligt. Koderne findes også uden sideangivelse.

M-kode for morfologi

M09470ingen tegn på metastase

M26250nævusinklusion

M87206metastase, malignt melanom

M094B1perinodal vækst påvist

Diameter af største metastase indsættes som fritekst

Vedrørende TNM stadietildeling henvises til fælles guideline: Link til DMG guideline TNM, på DMG hjemmeside

**Supplerende lymfeknuder og lymfeknudeexairese****Udskæringsprocedure**

Samtlige lymfeknuder indstøbes totalt, med mindre der er makroskopisk erkendelig melanometastase.

Større lymfeknuder deles på langs gennem hilus i en eller flere skiver afhængig af størrelse.

Meget små lymfeknuder, som ikke kan deles, kan evt. indstøbes samlet i en enkelt kapsel. Hvis en eller flere lymfeknuder viser makroskopisk erkendelig melanometastase udtages blot til en enkelt blok fra disse. Et snit farves med HE og evt. et med melanocytmarkør. Trinskæring kan udelades.

Det beskrives, om der er sammenvoksning af lymfeknuder (lymfeknude konglomerat)

**Mikroskopi**

Antallet af metastaseinfiltrerede lymfeknuder i forhold til totalt antal lymfeknuder anføres. Der gøres rede for evt. perinodal vækst.

Et lymfeknudekonglomerat defineres som 2 eller flere sammenhængende makroskopisk påviselige lymfeknuder med metastaser.

**DMD-registrering**

Supplerende lymfeknuder og lymfeknude exaireser indberettes til DMD.

Vedrørende TNM stadietildeling henvises til fælles guideline:

[https://www.melanoma.dk/assets/files/Melanoma\\_Guidelines\\_TNM%20klassifikation.pdf](https://www.melanoma.dk/assets/files/Melanoma_Guidelines_TNM%20klassifikation.pdf)

**SNOMED kodning**

T-kode for topografi

Der kodes for lymfeknude med så specifik lokalisation som muligt inklusiv sideangivelse.

M-kode for morfologi

M09470ingen tegn på metastase

M87206metastase, malignt melanom

M094B1perinodal vækst påvist

## 8. Om denne kliniske retningslinje

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

[www.dmcg.dk/kliniske-retningslinjer](http://www.dmcg.dk/kliniske-retningslinjer)

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

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

Retningslinjen indeholder, udover de centrale anbefalinger (kapitel 1), en beskrivelse af grundlaget for anbefalingerne – herunder den tilgrundliggende evidens (kapitel 3+4). Anbefalinger mærket A er stærkest, Anbefalinger mærket D er svagest. Yderligere information om styrke- og evidensvurderingen, der er udarbejdet efter "Oxford Centre for Evidence-Based Medicine Levels of Evidence and Grades of Recommendations", findes her: [http://www.dmcg.dk/siteassets/kliniske-retningslinjer---skabeloner-og-vejledninger/oxford-levels-of-evidence-2009\\_dansk.pdf](http://www.dmcg.dk/siteassets/kliniske-retningslinjer---skabeloner-og-vejledninger/oxford-levels-of-evidence-2009_dansk.pdf)

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

For information om Sundhedsstyrelsens kræftpakker – beskrivelse af hele standardpatientforløbet med angivelse af krav til tidspunkter og indhold – se for det relevante sygdomsområde:

<https://www.sst.dk/da/sygdom-og-behandling/kraeft/pakkeforloeb/beskrivelser>

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