

Détection per-opératoire des métastases du ganglion sentinelle dans le cancer du sein par la technique "OSNA" (One-Step Nucleic Acid Amplification) : Résultats de l'étude française multicentrique

M-A. Le Frère-Belda¹, A.S. Bats¹, K-B. Clough², C. Charron-Barra³, H.Crouet⁴, G. Houvenaeghel⁵, A. Khaddage⁶, A. Leroux⁷, N. Lucas¹, C. Nos^{1,2}, F. Penault-Llorca⁸, F. Lecuru¹

¹Assistance Publique- Hôpitaux de Paris - Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris; ²L'Institut du sein, Paris; ³Centre de lutte contre le cancer, Dijon; ⁴Centre de lutte contre le cancer, Caen; ⁵Centre de lutte contre le cancer, Marseille; ⁶Centre Hospitalier Universitaire, St. Etienne; ⁷Centre de lutte contre le cancer, Nancy; ⁸Centre de lutte contre le cancer, Clermont-Ferrand

Introduction

La biopsie du ganglion sentinelle fait maintenant partie de la prise en charge chirurgicale des cancers invasifs du sein vus à un stade précoce. Les bénéfices cosmétiques et fonctionnels sont unanimement reconnus.

La détection peropératoire des métastases du ganglion sentinelle permet de prendre une décision immédiate et de pratiquer la dissection des ganglions lymphatiques axillaires dans le même temps, évitant ainsi à la patiente une seconde intervention. Les techniques conventionnelles d'évaluation peropératoire reposent essentiellement sur les coupes congelées ou les empreintes cytologiques mais elles manquent de sensibilité.

La méthode OSNA (One Step Nucleic Acid Amplification) a été développée pour la détection per-opératoire des métastases (≥ 0.2 mm) de façon fiable et rapide par l'amplification de l'ARNm de la CK19 (Fig. 1).

L'objectif de cette étude prospective multicentrique était d'évaluer la faisabilité en condition peropératoire et les performances de la méthode OSNA par rapport à un examen histologique approfondi (Fig. 2). La méthode histologique restait la méthode de référence pour cette étude et les résultats OSNA n'étaient pas communiqués au chirurgien pour la prise en charge des patientes.

Fig. 1 Le système OSNA



Méthodes

Le test semi-automatisé OSNA consiste à amplifier l'ARNm de la CK19 rétrotranscrit directement à partir de lysats tissulaires. Les résultats sont disponibles en 30-40 minutes.

Les patientes incluses dans l'étude devaient avoir plus de 18 ans, avoir une indication de biopsie de ganglion sentinelle avec un tumeur de moins de 3 cm et avoir signé un consentement éclairé de participation à l'étude.

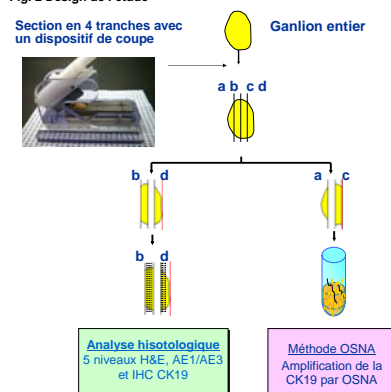
Les résultats histologiques étaient considérés positifs en cas de micro- ou de macro-métastases et négatifs en cas de cellules tumorales isolées ou d'absence de tout envahissement.

Les résultats de OSNA sont présentés en 3 catégories, très positif (++), positif (+) ou négatif (-). Un résultat (-) caractérise l'absence de cellule tumorale ou la présence de quelques cellules tumorales isolées.

509 ganglions sentinelles frais provenant de 234 patientes ont été analysés au cours de cette étude dans 8 centres, de Septembre 2007 à Décembre 2008. Les ganglions frais ont été coupés en 4 tranches. Deux tranches alternatives ont été analysées par OSNA, alors que les 2 tranches restantes ont été étudiées en histologie (5 niveaux à 200 microns d'intervalles) avec sur chaque niveau une coloration standard HES et une étude immuno-histochimique avec les anticorps anti-AE1/AE3 et anti-CK19 selon le protocole décrit Figure 2.

Du fait de l'analyse partielle du ganglion par l'une ou l'autre méthode, la présence de petites métastases uniquement dans les tranches "b" ou "d" ou dans les tranches "a" et "c", respectivement peut générer des résultats discordants dans une faible proportion. En cas de discordance (seule la méthode de référence était positive ou seule la méthode OSNA était positive) des analyses histologiques post-opératoires complémentaires et de biologie moléculaires (RT-PCR spécifiques des marqueurs CK19, FOXA1 et SPDEF et western blot CK19) ont été réalisées (investigation des cas discordants (ICD)) afin de déterminer si la discordance était due à un biais de localisation tissulaire (BLT).

Fig. 2 Design de l'étude



Résultats

Un total de 509 ganglions sentinelles provenant de 234 patientes ont été analysés au cours de l'étude par OSNA et histologie. Par conséquent, le nombre moyen de ganglions sentinelles par patiente était de 2.2. Dans les 8 centres, la durée moyenne d'analyse par OSNA pour un ganglion était de 33 minutes. Le taux d'envahissement ganglionnaire était de 17.9%.

Sur 234 patientes, 33 présentaient un résultat positif et 169 présentaient un résultat négatif par les deux méthodes. Parmi les 169 patientes négatives, 16 contenaient des cellules tumorales isolées (CTI) identifiées en histologie.

9 patientes étaient histologie + / OSNA -. Six de ces patientes étaient dus à des biais de localisation tissulaire et un cas était invalide. Seuls 2 cas restaient discordants après ICD.

23 patientes présentaient des résultats histologie - / OSNA +. Il a été confirmé des BLT dans 11 cas, et un cas était invalide. Sur les 11 cas discordants, 8 cas présentaient des taux d'ARNm CK19 proches des valeurs seuil déterminées pour OSNA et RT-PCR quantitative.

La comparaison entre OSNA et l'histologie définitive est présentée dans le Tableau 1. Après ICD, la sensibilité est de 94.3%, la spécificité de 93.9%, et la concordance de 93.9%. Le taux de concordance rapporté par ganglion est de 97.1%.

Tableau 1: Résultats de l'analyse per-opératoire OSNA versus l'analyse histologique définitive post-opératoire

n=234 (215) patientes	Histologie		
	Positif	Négatif	
	Macro	Micro	-
OSNA ++	24	4	3(1)
OSNA +	1	4	20(10)
OSNA -	2(1)	7 (1)	169*

(1) Résultats après ICD
*16 cas de cellules tumorales isolées

Spécificité: 93.9%
Sensibilité: 94.3%
Concordance: 93.9%

Conclusion

Les résultats de cette étude indiquent que la méthode OSNA est une technique fiable et rapide pour l'analyse per-opératoire des ganglions sentinelles. Avec une sensibilité de 94.3% OSNA améliore la détection peropératoire des métastases du ganglion sentinelle et pourrait, par conséquent, réduire le taux de ré-interventions chirurgicales pour un curage axillaire à distance. Cette technique pourrait permettre une standardisation de l'analyse du ganglion sentinelle.

OSNA = One Step Nucleic Acid Amplification

- Méthode de diagnostic moléculaire
- Pas d'étape d'extraction d'ARN
- Procédure d' Amplification Isothermique
- Mesure quantitative de l'expression de l'ARNm de la CK19
- Amplification rapide : adaptée à un diagnostic per-opératoire