

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, B. Poulet⁹, 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; ⁹ Institut de Pathologie, Paris

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 de métastases ganglionnaires implique un curage axillaire. La détection peropératoire des métastases du ganglion sentinelle permet de prendre une décision immédiate et de pratiquer la dissection des ganglions lymphatiques axillaires en un temps, évitant ainsi à la patiente une seconde intervention.

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^{1,2}.

L'objectif de cette étude française multicentrique était d'évaluer les performances de la méthode OSNA par rapport à un examen histologique approfondi (Fig. 1).

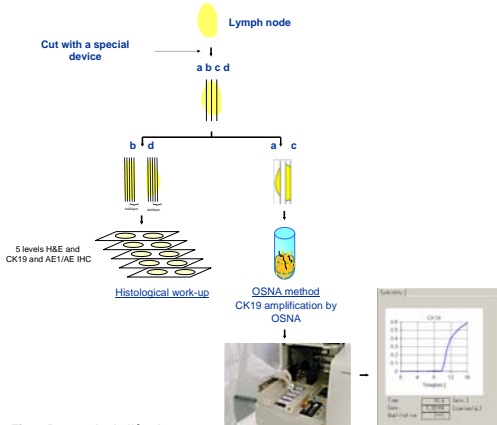


Fig. 1 Protocole de l'étude

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. 509 ganglions sentinelles frais provenant de 234 patientes ont été analysés au cours de cette étude dans 8 centres français, 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 analysées par une coloration à l'Hématéine et Eosine (HES) et immunohistochimie (IHC, 5 niveaux avec CK19 et AE1/AE3) 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-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).

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 était de 17.9%.

96.6% des ganglions tumoraux exprimaient la CK19. 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.

| N=234 (215) patientes | Histologie | | | |
|-----------------------|------------|----------------|----------------|---------|
| | | Positif | | Négatif |
| | | Macrométastase | Micrométastase | |
| OSNA | ++ | 24 | 4 | 3(1) |
| | + | 1 | 4 | 20(10) |
| | - | 2(1) | 7 (1) | 169* |

Spécificité : 93.9%
Sensibilité : 94.3%
Concordance : 93.9%
PPV : 75%
NPV : 98.8%

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

9 patientes étaient histologie + / OSNA -. Six de ces patientes étaient dus à des biais de localisation tissulaire et un cas était invalide. Sur 2 cas restant discordants après ICD, un cas a été confirmé positif après avoir répété l'analyse OSNA, laissant supposer qu'un mélange de tubes ou une erreur de manipulation a pu se produire durant l'analyse per-opératoire.

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 l'histologie définitive est présentée dans le Tableau 1. Après ICD, la sensibilité est de 94.3%, la spécificité de 93.9%, le RVP est de 75%, le RVN de 98.8% et la concordance de 93.9%. Le taux de concordance rapporté par ganglion est de 97.1%.

| N=158 patientes | Histologie définitive | | | |
|--------------------------------|-----------------------|----------------|----------------|---------|
| | | Positif | | Négatif |
| | | Macrométastase | Micrométastase | |
| Coupes congelées / Appositions | + | 11 | 1 | 0 |
| | - | 6 | 10 | 130 |

Sensibilité : 42.85%

Tableau 2 : Résultats de l'analyse de coupes congelées ou appositions versus l'analyse histologique définitive

Six des 8 centres participant à l'étude ont également réalisés des analyses per-opératoires par coupes congelées ou appositions sur les 2 tranches réservées aux analyses histologiques définitives. Par conséquent, les ganglions sentinelles de 158 des 234 patientes incluses dans l'étude ont été analysées par un examen extemporané (Tableau 2).

Dans cette étude, la sensibilité des tests extemporanés n'était que de 42.8%. Ce faible taux peut également, pour partie, être attribué à la perte des repères architecturaux due au protocole de coupes.

Conclusion

Les résultats de cette étude indiquent que la méthode OSNA :
 ■ peut être utilisée pour l'analyse per-opératoire des ganglions sentinelles puisque le temps d'analyse est de 30-40 minutes (depuis la réception de l'échantillon jusqu'au rendu du résultat).
 ■ est une méthode fiable et montre des résultats similaires à une analyse histopathologique exhaustive post-opératoire
 ■ avec une sensibilité de 94.3% pour OSNA comparée à une sensibilité de 42.8% pour les analyses extemporanées, OSNA améliore la détection per-opératoire des métastases du ganglion sentinelle et pourrait, par conséquent, réduire le taux de ré-interventions chirurgicales pour un curage axillaire à distance et ainsi améliorer la qualité de vie des patientes.

Références

1. Tsujimoto M. *et al.*, Clin Cancer Res. 2007; 13(16): 4807-16
2. Visser M. *et al.*, Int J Cancer 2008; 122: 2562-67