



HAL
open science

L'examen extemporane des ganglions sentinelles par biologie moléculaire (Technique one-step nucleic acid amplification) dans le cancer su sein : une série de 100 patientes au centre Alexis Vautrin.

Sophie Klingler

► **To cite this version:**

Sophie Klingler. L'examen extemporane des ganglions sentinelles par biologie moléculaire (Technique one-step nucleic acid amplification) dans le cancer su sein : une série de 100 patientes au centre Alexis Vautrin.. Sciences du Vivant [q-bio]. 2011. hal-01732070

HAL Id: hal-01732070

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732070v1>

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement dans le cadre du troisième cycle de

Médecine Spécialisée

par

Sophie KLINGLER

Le 10 octobre 2011

L'EXAMEN EXTEMPORANE DES GANGLIONS SENTINELLES PAR

BIOLOGIE MOLECULAIRE

(Technique *one-step nucleic acid amplification*)

DANS LE CANCER DU SEIN:

Une série de 100 patientes au Centre Alexis Vautrin

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur François GUILLEMIN

Président

Monsieur le Professeur Pierre OLIVIER

Juge

Monsieur le Professeur Frédéric MARCHAL

Directeur de thèse

Monsieur le Professeur Jean Louis MERLIN

Juge

Monsieur le Docteur Laurent MAKKE

Juge

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1
FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Vice Doyen Mission « sillon lorrain » : Professeur Annick BARBAUD

Vice Doyen Mission « Campus » : Professeur Marie-Christine BÉNÉ

Vice Doyen Mission « Finances » : Professeur Marc BRAUN

Vice Doyen Mission « Recherche » : Professeur Jean-Louis GUÉANT

Assesseurs :

- Pédagogie :
- 1^{er} Cycle :
- « Première année commune aux études de santé (PACES) et universitarisation études para-médicales »
- 2^{ème} Cycle :
- 3^{ème} Cycle :
 - « *DES Spécialités Médicales, Chirurgicales et Biologiques* »
 - « *DES Spécialité Médecine Générale* »
- Filières professionnalisées :
- Formation Continue :
- Commission de Prospective :
- Recherche :
- Développement Professionnel Continu :

Professeur Karine ANGIOÏ-DUPREZ

Professeur Bernard FOLIGUET

M. Christophe NÉMOS

Professeur Marc DEBOUVERIE

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

Professeur Francis RAPHAËL

M. Walter BLONDEL

Professeur Hervé VESPIGNANI

Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT

Professeur Didier MAINARD

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Patrick NETTER

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre ALEXANDRE – Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain BERTRAND - Pierre BEY – Patrick BOISSEL

Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre DESCHAMPS

Michel DUC - Jean DUHEILLE - Adrien DUPREZ - Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE - Jean FLOQUET - Robert FRISCH

Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ

Oliéro GUERCI - Pierre HARTEMANN - Claude HURIET - Christian JANOT – Michèle KESSLER - Jacques LACOSTE

Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Alain LARCAN - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Jacques LECLERE Pierre LEDERLIN Bernard LEGRAS - Michel MANCIAUX - Jean-Pierre MALLIÉ – Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU

Denise MONERET-VAUTRIN – Pierre MONIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN Gilbert PERCEBOIS Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON - Jean-Marie POLU – Jacques POUREL Jean PREVOT - Antoine RASPILLER - Michel RENARD - Jacques ROLAND - René-Jean ROYER - Paul SADOUL

Daniel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Jean SOMMELET - Danièle SOMMELET – Jean-François STOLTZ –

Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Augusta TREHEUX - Hubert UFFHOLTZ - Gérard VAILLANT - Paul VERT

=====

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS
PRATICIENS HOSPITALIERS**

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Professeur Bernard FOLIGUET

3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER

Professeur René ANXIONNAT

**44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET
NUTRITION**

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Professeur François MARCHAL – Professeur Bruno CHENUÉL – Professeur Christian BEYAERT

3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)

Professeur Ali DALLOUL

4^{ème} sous-section : (Nutrition)

Professeur Olivier ZIEGLER – Professeur Didier QUILLIOT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)

Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIÉWSKI

3^{ème} sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA

2^{ème} sous-section : (Médecine et santé au travail)

Professeur Christophe PARIS

3^{ème} sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI
Professeur Jean-François STOLTZ – Professeur Pierre FEUGIER
2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)
Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY
Professeur Didier PEIFFERT – Professeur Frédéric MARCHAL
3^{ème} sous-section : (Immunologie)
Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE
4^{ème} sous-section : (Génétique)
Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ
Professeur Paul-Michel MERTES – Professeur Gérard AUDIBERT

2^{ème} sous-section : (Réanimation médicale ; médecine d'urgence)

Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAEERT
Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4^{ème} sous-section : (Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

**49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE,
HANDICAP et RÉÉDUCATION**

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI
Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE
Professeur Thierry CIVIT

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC – Professeur Bernard KABUTH

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

**50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE
PLASTIQUE**

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeur Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD
Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP – Professeur Gilles DAUTEL

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL

Professeur Christian de CHILLOU
3^{ème} sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardiovasculaire*)
Professeur Jean-Pierre VILLEMOT - Professeur Jean-Pierre CARTEAUX
4^{ème} sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire*)
Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE
1^{ère} sous-section : (*Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie*)
Professeur Marc-André BIGARD - Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-
BIROULET
2^{ème} sous-section : (*Chirurgie digestive*)
3^{ème} sous-section : (*Néphrologie*)
Professeur Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT
4^{ème} sous-section : (*Urologie*)
Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE
1^{ère} sous-section : (*Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie*)
Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY
Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY – Professeur Christine PERRET-GUILLAUME
2^{ème} sous-section : (*Chirurgie générale*)
Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-
OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**
1^{ère} sous-section : (*Pédiatrie*)
Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER
Professeur François FEILLET - Professeur Cyril SCHWEITZER
2^{ème} sous-section : (*Chirurgie infantile*)
Professeur Michel SCHMITT – Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE
3^{ème} sous-section : (*Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale*)
Professeur Jean-Louis BOUTROY - Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO
4^{ème} sous-section : (*Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale*)
Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU
1^{ère} sous-section : (*Oto-rhino-laryngologie*)
Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI – Professeur Cécile PARIETTI-WINKLER
2^{ème} sous-section : (*Ophthalmologie*)
Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ
3^{ème} sous-section : (*Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie*)
Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeur Etienne SIMON

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Thierry HAUMONT – Docteur Manuela PEREZ

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Docteur Edouard BARRAT - Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Docteur Aude BRESSENOT

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE

2^{ème} sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Docteur Damien MANDRY

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN – Docteur Catherine MALAPLATE-ARMAND

Docteur Shyue-Fang BATTAGLIA

3^{ème} sous-section : (*Biologie Cellulaire*)

Docteur Véronique DECOT-MAILLERET

4^{ème} sous-section : (*Nutrition*)

Docteur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteur Francine MORY – Docteur Véronique VENARD

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU – Madame Marie MACHOUART

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteur Frédérique CLAUDOT

3^{ème} sous-section : (*Médecine légale et droit de la santé*)

Docteur Laurent MARTRILLE

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Docteur Nicolas JAY

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie : cancérologie (type mixte : biologique)*)

Docteur Lina BOLOTINE

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Docteur Marcelo DE CARVALHO BITTENCOURT

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Docteur Christophe PHILIPPE – Docteur Céline BONNET

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT – Docteur Nicolas GAMBIER

50^{ème} Section : RHUMATOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Docteur Anne-Christine RAT

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénérologie)

Docteur Anne-Claire BURSZTEJN

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-
OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

3^{ème} sous-section :

Docteur Olivier MOREL

5^{ème} sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRE DE CONFÉRENCE DE MÉDECINE GÉNÉRALE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)

Docteur Elisabeth STEYER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE

Monsieur Vincent LHUILLIER

40^{ème} section : SCIENCES DU MÉDICAMENT

Monsieur Jean-François COLLIN

60^{ème} section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE

Monsieur Alain DURAND

61^{ème} section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

64^{ème} section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Mademoiselle Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Mr Nick RAMALANJAONA

65^{ème} section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY

Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE – Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE

ISLA

Madame Nathalie MERCIER

66^{ème} section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

67^{ème} section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE

Madame Nadine MUSSE

=====

PROFESSEURS ASSOCIÉS

Médecine Générale

Professeur associé Alain AUBREGE

Professeur associé Francis RAPHAEL

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteur Jean-Marc BOIVIN

Docteur Jean-Louis ADAM

Docteur Paolo DI PATRIZIO

Docteur Sophie SIEGRIST

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Jean-Marie ANDRÉ - Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Pierre BEY – Professeur Patrick BOISSEL

Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ – Professeur Simone GILGENKRANTZ Professeur Michèle KESSLER - Professeur Henri LAMBERT - Professeur Alain LARCAN
Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Pierre MONIN - Professeur Jean-Pierre NICOLAS
Professeur Luc PICARD - Professeur Michel PIERSON - Professeur Jacques POUREL – Professeur Jean-François STOLTZ Professeur Michel STRICKER - Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur Colette VIDAILHET Professeur Michel VIDAILHET

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A)
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)
Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)

Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume Uni)

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
*Centre Universitaire de Formation et de
Perfectionnement des Professionnels de Santé d'Hô
Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)*
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS
(1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
*Research Institute for Mathematical Sciences de
Kyoto (JAPON)*

Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)

SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

REMERCIEMENTS

A notre Maître et Président du Jury,
Monsieur le Professeur François GUILLEMIN,
Professeur de Cancérologie, option clinique

*Vous nous faites l'honneur de présider cette thèse et nous vous en remercions.
Nous souhaitons exprimer notre gratitude pour votre enseignement et votre disponibilité
lors de notre passage au centre Alexis Vautrin.
Nous avons pu admirer votre rigueur et votre détermination au bloc opératoire.
En espérant que ce travail soit à la hauteur de votre confiance.
Veuillez trouver l'expression de notre profond respect.*

A notre Maître et Juge,
Monsieur le Professeur Pierre OLIVIER,
Professeur de médecine nucléaire,

*Nous sommes reconnaissante que vous ayez accepté de juger ce travail.
Ce travail est l'expression de notre considération et de notre profonde gratitude.*

A notre Maître, Directeur de thèse et Juge,

Monsieur le Professeur Frédéric MARCHAL,

Professeur de cancérologie, radiothérapie, option cancérologie (type mixte : clinique)

*Vous nous avez fait l'honneur de nous confier ce travail,
de le diriger et de le juger, nous vous en remercions.
Nous avons eu le privilège de bénéficier de votre enseignement et
nous vous remercions de votre disponibilité et de vos conseils.
Nous sommes reconnaissante pour votre soutien sans faille.
En espérant que ce travail soit à la hauteur de votre confiance.*

**A notre Maître et Juge,
Monsieur le Professeur Jean Louis MERLIN,**
Professeur de pharmacie, biologie cellulaire, oncologie

*Nous vous remercions d'avoir accepté de juger ce travail
et de l'intérêt que vous lui portez.*

*Nous vous remercions de votre disponibilité
et de vos conseils pour sa réalisation.*

*En espérant que ce travail soit à la hauteur de notre considération
et de notre profonde gratitude.*

A notre Juge,

Monsieur le Docteur Laurent MAKKE

Docteur en médecine, spécialité gynécologie Obstétrique.

Nous vous remercions d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous sommes reconnaissant de votre disponibilité

et de vos conseils au cours de notre internat.

Merci pour votre soutien et ton enseignement.

A ceux qui m'ont aidée pour la réalisation de ce travail

A Monsieur le Docteur Philippe RAUCH, pour votre aide précieuse à la réalisation de ce travail. Pour votre disponibilité et votre patience au cours de la relève des données.

Pour votre enseignement et votre gentillesse lors de mon passage au centre Alexis Vautrin.

Soyez assuré de ma profonde gratitude.

A Madame le Docteur Agnès LEROUX, pour votre aide précieuse à la réalisation de ce travail.

Soyez assurée de ma profonde gratitude.

A Monsieur le Docteur Jean François BETALA BELINGA, pour votre aide indispensable à la réalisation des statistiques ayant permis l'élaboration de ce travail.

A Monsieur le Docteur Frédéric WUILQUE pour son aide à la réalisation de ce travail.

Mes sincères remerciements

A tous les médecins de la maternité A. PINARD pour leurs enseignements et leur disponibilité au cours de mon internat.

A mes chefs de clinique pour leur disponibilité et leur soutien.

A mes co-internes,

Aude pour nos délires passés et à venir. Je te souhaite plein de bonheur...

Marie pour nos délires en DU et surtout pour la *Lunacup* ...

Julie pour les allés / retours à Metz. Je te souhaite plein de bonheur...

Aline pour nos lundi soir « *Shushi* »

Emilie, le « *PIOUPIOU* » te remercie pour ton aide.

Et à tous les autres....

A mes colocataires des internats de Metz et Thionville...

A tout le personnel de la Maternité de Nancy, l'équipe de suites de couche, du PATUGO et de grossesses à risque avec qui j'ai fait mes premiers pas d'interne.

A l'équipe de salle de naissance et aux sages femmes qui m'ont fait vivre mes premiers accouchements.

A l'équipe de gynécologie et du bloc opératoire.

Aux médecins et à l'équipe des Maternités de Metz et de Thionville.

A Monsieur le Docteur Verhaeghe pour votre rigueur et votre dévouement pour les patients.

A toute l'équipe du service de Chirurgie et du bloc opératoire du Centre Alexis Vautrin.

Aux médecins du service de Chirurgie du Centre Alexis Vautrin

Aux médecins et à l'équipe de l'hôpital de Toul.

Aux médecins et à l'équipe de radiothérapie du Centre Alexis Vautrin, merci pour votre accueil et votre patience.

Un merci tout particulier à Hélène pour ta disponibilité et ta gentillesse.

A mes cointernes de radiothérapie,

Anne-Agathe, Anne-Sophie, Charlotte, Florence

Philippe et François pour ces si charmantes photos de fond d'écran, tellement fines et délicates...

A Anne-Sophie et à Pambos pour des révisions d'internat dans la bonne humeur en espérant garder le contact.

Et à tous les autres qui ont traversé 10 ans de médecine à mes côtés...

A ma famille,

A Maman pour ton Amour, ton humour, ta patience et ta douceur. Tu es toujours là pour trouver des solutions à tous mes problèmes. Tu m'as protégée et permis de grandir pour en arrivé là. Merci....

A Papa, merci pour ton soutien. J'espère que tu seras fier de moi.

A Anne ma Grande sœur pour ta patience, nos fous rires... mais non je ne suis pas un boulet

A Aymar pour nos fous rires et surtout le Cognac...

A Baptiste et Lise pour être les Loulous les plus parfait qu'on pouvait espérer.

A Mamie et Odile parce que chez vous je me sens toujours une petite princesse.

A Marie pour les mardi soir piscine et tes bons petits plats.

A Hélène pour tes petits gâteaux et surtout les dollars.

A Dominique pour tous ces déménagements.

A Pauline, Maxime et Pierre que j'embrasse

A Mamie et Papy pour les vacances à la mer, je pense à vous

A Marcel pour être là pour maman, je t'embrasse

A Catherine et Michel pour m'avoir accueilli dans votre famille

A Amélie et Clarisse pour ces 20 ans d'amitié ou presque, pour nos fous rires et nos délires passés et à venir.

A Alex avec tout mon Amour, merci d'être à mes côtés.

LISTE DES ABREVIATIONS

EWGBSP	The European Working Group for Breast Screening Pathology
CAP	College Of American Pathologists
EGP2	Epithelial glycoprotein 2
p1B	Trefoil factor 3
SBEM	Small breast epithelial mucin
CK 19	Cytokératine 19
MGB1	Mammaglobuline 1
RT-PCR	Reverse transcriptase – polymerase chain reaction
QRT-PCR	Quantitative reverse transcriptase – polymerase chain reaction
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ADN	Acide désoxyribonucléique
OSNA	One-step nucleic acid amplification
RT-LAMP	Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification
HER 2	Human Epidermal growth factor Receptor 2
SBR	Scarff Bloom et Richardson
LIN	Néoplasie lobulaire in situ
CIC	Carcinome intra canalaire
CCI	Carcinome canalaire infiltrant
CLI	Carcinome lobulaire in situ
FZ	Frozen section
IC	Cytologie d'apposition
HES	Hématoxiline –éosine-safran
ASCO	American society of clinical oncology
MSKCC	Memorial sloan-Kettering cancer center
AJCC	American joint committee on cancer
RCP	Réunion de concertation pluridisciplinaire

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	1
Liste des abréviations.....	10
TABLE DES MATIERES	11
INTRODUCTION	13
Généralités.....	13
L'examen extemporané standard	14
La RT-PCR et QRT-PCR.....	17
Matériel et méthode.....	23
Objectif de notre étude	23
Type d'étude.....	23
Notre population.....	23
Collecte des données	24
Matériel.....	25
Tests statistiques.....	28
RESULTATS.....	29
La population	29
Le mode de diagnostic (tableau 2).....	29
Les ganglions sentinelles (tableau 1)	29
Les caractéristiques tumorales.....	31
Le type de chirurgie (tableau 4)	34
Le temps de procédure :	34
Les patientes avec une atteinte ganglionnaire (tableau 5)	34
La population N+	35
Les discordances :.....	42
Le taux de reprise chirurgicale (tableau 10).....	43
L'envahissement des ganglions non sentinelles (tableau 12).....	43
DISCUSSION	45
Evaluation de la méthode OSNA dans la littérature.....	45
La détection des métastases	47
Les facteurs cliniques pouvant influencer la sensibilité de l'OSNA.....	50
Les facteurs anatomopathologiques pouvant influencer la sensibilité de l'OSNA	50
L'envahissement des ganglions non sentinelles	52
Pronostic des micrométastases et cellules isolées	53
Le taux de reprise chirurgicale	57
Le point de vue économique	58
Limites de notre étude.....	59
Conclusion	60
BIBLIOGRAPHIE.....	61
ANNEXES	71
Annexe 1	71
Annexe 2	72
Annexe 3	73

Annexe 4	74
Annexe 5	75
Annexe 6	76
Annexe 7	77
Annexe 8	78
Annexe 9	79
Annexe 10	83

INTRODUCTION

Généralités

En France, on estime à 52 000 le nombre de nouveaux cas de cancer du sein en 2009.[1] Le nombre de décès est de 12 000 par an.[1] Le taux de survie en France est proche de 80% à 5 ans, en partie grâce au dépistage organisé. En effet cela permet un diagnostic plus précoce avec la possibilité d'un geste conservateur.

En 1993 et 1994, Krag *et al.* puis Giuliano *et al.* publient les premières études d'évaluation du ganglion sentinelle dans le cancer du sein. [2-3] Le ganglion sentinelle est le premier relais lymphatique d'un organe. En cas de dissémination tumorale, il est le premier ganglion envahi.

Actuellement, la méthode du ganglion sentinelle est devenue le standard pour la stadification ganglionnaire régionale des cancers du sein unifocaux et inférieurs à 2cm. [4] Le statut ganglionnaire est un facteur pronostic important du cancer du sein avec la taille tumorale, le grade histologique, la présence ou non de récepteurs hormonaux et le statut C-erb-B2. Aucune métastase ganglionnaire n'est retrouvée pour environ 70% des patientes atteintes d'un cancer du sein de moins de 2cm, unifocal et sans adénopathie clinique palpable. [5]

Aujourd'hui, le but de la chirurgie cancérologique mammaire est d'être le moins invasive possible. La technique du ganglion sentinelle a ainsi permis de diminuer considérablement les séquelles fonctionnelles au niveau du membre supérieur. Les complications principales du curage axillaire sont les douleurs résiduelles (26%), le lymphoedème (5 à 30% contre 0 à 5% en cas de ganglion sentinelle) [6-9] et le risque d'ankylose de l'épaule (12%). [10]

Mais il n'existe pas de consensus pour la prise en charge de ces ganglions en anatomopathologie [11] et une seconde chirurgie reste possible dans cette situation. Cette deuxième chirurgie peut être plus difficile sur un terrain déjà opéré et entraîne un retard de prise en charge par les traitements adjuvants. [12] Par ailleurs, cette seconde chirurgie est source de stress pour les patientes et génère une augmentation des dépenses de santé. Les différentes études dans la littérature ne retrouvent pas

d'augmentation des complications à long terme après un curage axillaire différé par rapport à un curage axillaire immédiat. [13] Goyal *et al.* ne mettent pas en évidence dans leur étude de différence entre le curage axillaire différé et immédiat au sujet du lymphœdème, des dysesthésies, de l'ankylose de l'épaule, des infections post-opératoires et de la convalescence. La durée opératoire du curage axillaire est allongée de manière significative si celui-ci est réalisé de manière différée. (33 min vs 25 min, $p=0,004$). La longueur totale d'hospitalisation est augmentée de manière significative (première et deuxième intervention) mais la durée d'hospitalisation est identique qu'il s'agisse d'un curage immédiat ou différé. [14]

L'examen extemporané standard

Différentes techniques anatomopathologiques d'examen extemporané ont été développées pour éviter cette seconde intervention. Mais ces méthodes peuvent être difficiles à utiliser en pratique courante et nous retrouvons dans la littérature une sensibilité et une spécificité très variables pour ces techniques. Elles sont également très chronophages pour l'anatomopathologiste. Les coupes à congélation (Frozen Section) et la cytologie d'apposition ou empreinte sont les 2 méthodes les plus utilisées aujourd'hui. L'examen extemporané n'est pas obligatoire mais certains le recommandent. En 2003, le groupe européen EWGBSP recommande de réaliser un examen extemporané pour l'analyse des ganglions sentinelles. [15] La technique d'apposition est la méthode recommandée par le CAP et le groupe européen. Enfin, les groupes de consensus conseillent de privilégier la cytologie d'apposition. [16] L'examen doit être réalisé par un anatomopathologiste entraîné qui doit réaliser 3 niveaux de coupe sur les tranches de 2mm. [17]

Les coupes à congélation

Il s'agit d'une étude histologique. Le ganglion est soit coupé en 2 soit coupé en tranches de 2 à 3mm. Les coupes sont ensuite congelées à -20 à -25° C avant d'être coupées en tranches fines avec un cryomicrotome. Les coupes sont colorées et posées sur lame avant d'être lues par l'anatomopathologiste. L'inconvénient majeur de cette technique est le risque de perte de matériel pour l'examen définitif et la sous-évaluation du statut

ganglionnaire. Une taille minimale du ganglion est de 2 mm pour Jensen et son équipe. [18]

Dans la littérature, la sensibilité des coupes à congélation est variable de 44% à 95,8% pour Upender *et al.*[19-26] Chan et son équipe réalisent en 2008 une large étude regroupant 5298 patientes et montre une sensibilité de 61% pour cette technique. Cette étude montre également une sensibilité statistiquement supérieure de l'examen extemporané en cas de carcinome canalaire infiltrant versus carcinome lobulaire infiltrant (62% vs 52% : $p=0,006$). [27]

Dans la méta-analyse de Tew *et al.* la sensibilité des coupes à congélation est de 76%. [28] Leur spécificité est bonne, proche de 100%. [19]

La sensibilité de l'examen extemporané par coupe à congélation augmente avec le nombre de coupes. Certaines équipes étudient la totalité du ganglion en extemporané avec une sensibilité de 94,5% mais il ne reste pas de matériel pour l'analyse définitive. Le temps d'analyse est très long et nécessite plusieurs anatomopathologistes entraînés. [29]

La cytologie d'apposition

Il s'agit d'une méthode de cytologie rapide. Le ganglion est coupé en 2 et les 2 tranches de sections sont apposées sur une lame. Le ganglion peut être coupé en plusieurs tranches dont chaque face est apposée sur une lame. Une coloration est réalisée sur les lames. L'avantage de cette technique est qu'il n'y a pas de perte de matériel. L'étude des lames nécessite un anatomopathologiste entraîné à ce type d'examen. Dans la littérature, la sensibilité de la technique d'apposition est variable.[28]

Barranger *et al.* retrouvent dans leur étude une sensibilité de 33%. [31] Cox *et al.* réalisent une étude sur 2137 patientes et retrouve une sensibilité de 53% pour une spécificité de 99%. [32]

Dans l'étude de Motomura *et al.* la sensibilité est de 91%. Pour cette équipe, la cytologie d'apposition avec plusieurs coupes est un technique plus sensible que les coupes à congélation et dans sa seconde étude en 2008, il regroupe 631 patientes avec une analyse par cytologie d'apposition en sectionnant le ganglion tous les 2 mm et montre une sensibilité de 85% pour une spécificité de 97%. La sensibilité pour les micrométastases dans cette étude est de 66%. [25,33]

La méta-analyse de Tew et al. met en évidence une sensibilité de 63% (de 34 à 95%) et la spécificité de 99% (de 94 à 100%).[20-21,28,30] Dans le cas des micro-métastases, la sensibilité n'est que de 22% (de 5 à 57%). [28]

Les différents auteurs trouvent une sensibilité très variable également concernant les micrométastases avec des taux variant de 12% pour Rubio *et al.* et 58% pour Turner et son équipe. [34-35]

L'augmentation du nombre de tranches de section apposées n'augmente pas la sensibilité de la technique d'apposition. [36]

L'immunohistochimie

Les techniques d'immunohistochimie rapides sont peu développées en pratique courante.

L'immunohistochimie est réalisée sur des coupes à congélation grâce à des anticorps anti-cytokératine. Cette analyse est réalisée de façon très rapide grâce à la chaleur et à l'utilisation des kits regroupant l'anti-cytokératine et l'étape de l'amplification. Dans la littérature, la sensibilité de cette méthode varie de 83 à 93% quand on l'associe aux coupes à congélation. Pour Krishnamurthy *et al.* la sensibilité de l'examen extemporané est de 50% pour la cytologie d'apposition, 72% pour les coupes à congélation, 78% pour l'immunohistochimie rapide, 78% pour les coupes à congélation associées à la cytologie d'apposition et 83% pour les coupes à congélation associées à l'immunohistochimie. [37-38]

Pour Nährig *et al.*, l'immunohistochimie ultra-rapide a une sensibilité de 88% et une spécificité de 100% dans leur étude portant sur 50 patientes. Cette technique a permis également la détection de cellules isolées pour une des 3 patientes dans cette situation. Dans cette étude, l'immunohistochimie semble plus efficace pour la détection des métastases ganglionnaires des carcinomes lobulaires infiltrants.[39]

En cas de carcinome lobulaire infiltrant, la détection en per-opératoire des métastases ganglionnaires est très difficile pour les anatomopathologistes. Ainsi Junnu et Leikola ont étudié la sensibilité de l'immunohistochimie rapide préférentiellement pour le type lobulaire. Ils montrent une amélioration de la sensibilité par rapport aux coupes à congélation uniquement en cas de carcinome lobulaire infiltrant. (Sensibilité de 87% pour IHC vs 66% pour FS seule : $p=0,02$). [40]

Quand plusieurs techniques d'examen extemporané sont associées pour augmenter la sensibilité, le risque de perte de matériel et de faux négatif sur l'examen définitif augmentent considérablement.

L'objectif était de développer une technique reproductible, rapide et fiable pour l'analyse peropératoire du ganglion sentinelle, permettant ainsi de réaliser le curage axillaire dans le même temps opératoire. [21] Ceci permettrait de diminuer le taux de reprise chirurgicale avec les conséquences physiques et psychiques qu'elle engendre pour les patientes.

La RT-PCR et QRT-PCR

L'identification de l'envahissement métastatique du ganglion sentinelle par RT-PCR (*reverse transcriptase – polymérase chain reaction*) [41-44] et QRT-PCR (*quantitative reverse transcriptase chain reaction*) [45] est analysée dans plusieurs études. Le but est d'obtenir une meilleure efficacité que l'immunohistologie standard. Les ARN messagers de différents marqueurs sont utilisés comme celui de la cytokératine 19, de l'epithelial glycoprotein 2(EGP2), du trefoil factor 3 (p1B) et de la small breast epithelial mucin (SBEM). Ces essais ont permis de montrer une supériorité de 10% pour la détection des métastases ganglionnaires. [46] Des essais n'utilisant que deux marqueurs : Cytokératine 19 (CK 19) et Mammaglobuline 1 (MGB 1) ont également montré leur intérêt comparé à l'histologie standard avec une sensibilité de 94,1% et une spécificité de 98,6%. [45]

Cette amplification par RT-PCR des ARNm des différentes protéines est très longue. Elle commence toujours par une étape d'isolement de l'ARNm puis la RT-PCR permet la synthèse du brin d'ADN complémentaire (ADNc) avant l'étape de amplification et de quantification. Ces étapes durent plusieurs heures et nécessitent des changements de température.

Mais il a fallu développer une technique permettant la réalisation de ces analyses en peropératoire, en utilisant une technique rapide d'amplification.

L'OSNA (One-step nucleic acid amplification)

La méthode OSNA est une analyse semi-automatique des ganglions lymphatiques utilisant une technique de biologie moléculaire. Elle permet l'amplification de l'ARN messager de la cytokératine 19 dans le ganglion lymphatique. [47]

La cytokératine 19 est une molécule exprimée à la surface des cellules tumorales mammaires. [48]

Dans cette méthode, l'amplification d'acide nucléique se fait en une seule étape directement à partir des lysats tissulaires, il n'y a pas d'amplification d'ADN ni d'étape d'isolement de l'ARM messager. (49-54) Ceci est basé sur une réaction : la RT-LAMP (*reverse transcription loop-mediated isothermal amplification*) qui permet une détection puis une amplification directe de l'ARN messager à partir d'un lysat à la différence de la RT-PCR. [11,55-57]

Les amorces d'ADN utilisées sont particulières avec une forme en double boucle. Elles permettent ainsi une amplification plus rapide. La technique utilise 6 amorces différentes et très sensibles.

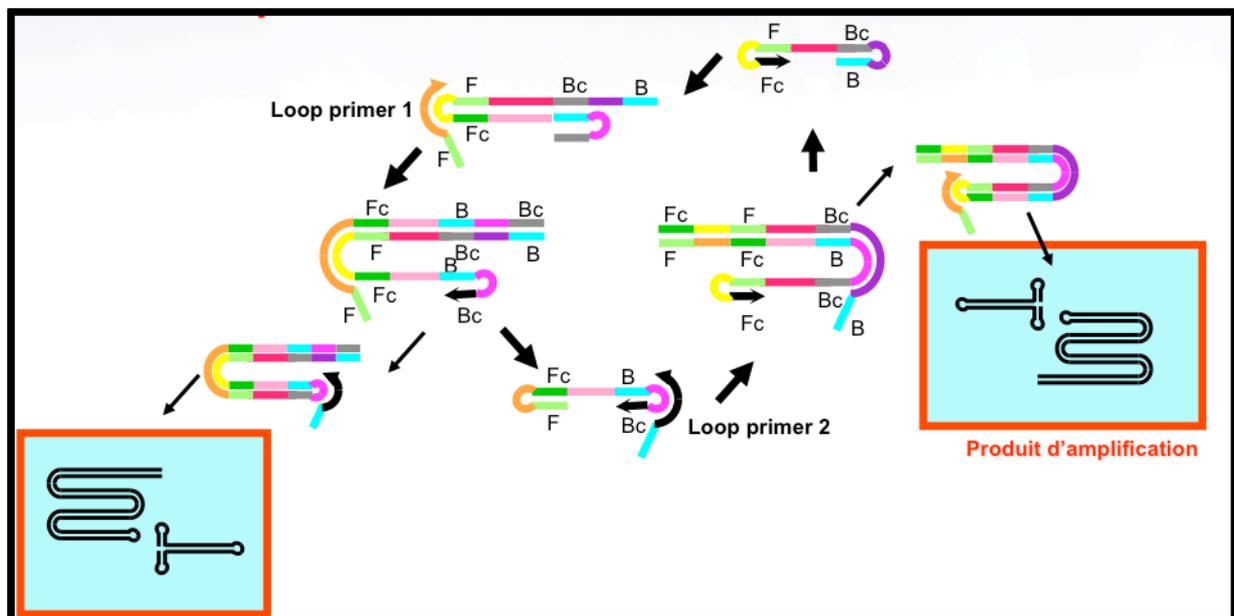


Image 1 : Amplification des amorces par RT-LAMP (image extraite de document de formation OSNA Sysmex®)

L'amplification se fait à une température stable de 65°C, il n'y a pas d'étape de modification thermique comme au cours d'une amplification PCR classique ce qui réduit également le temps d'analyse.

La quantification du nombre de copies se fait grâce à la turbidité de la solution. En effet, la synthèse d'acides nucléiques entraîne une production de pyrophosphate de magnésium qui entraîne une modification de transparence de la solution. C'est cette opacité qui est mesurée pour quantifier le nombre de copies d'ARNm de la CK 19.

Sysmex® fournit aux laboratoires le Kit permettant la réalisation de la technique. Le Kit contient les 2 solutions spécifiques (Lynorhag et Lynoamp) et le RD-100i qui permet l'analyse RT-LAMP. Les différentes étapes pratiques sont décrites dans notre partie matériel.

Tsujimoto *et al.* ont recherché l'ARNm le plus spécifique pour la détection de l'envahissement ganglionnaire dans le cancer du sein à partir des 45 marqueurs présents dans le cancer du sein. Ils ont ainsi exclu la mammaglobuline 1(MGB1) et CEA pour le manque de sensibilité et la Mucine car le taux de positivité est trop haut dans les ganglions indemnes. La CK 19 est sélectionnée pour sa sensibilité de 90 % en RT-PCR. [53]

La méthode OSNA consiste à détecter la présence d'ARNm de la cytokératine 19 (CK 19) au sein des ganglions sentinelles.

Cette technique est basée sur deux postulats : les tumeurs mammaires expriment toutes une cytokératine 19 et le nombre de copies d'ARNm de la cytokératine 19 est représentatif de la présence de cette protéine.

Dans l'étude de Chu *et al.*, les auteurs ont recherché la présence de différentes kératines dans les carcinomes canaux et lobulaires du sein. Sur 250 tumeurs étudiées, 246 expriment la cytokératine 19. Le taux de positivité est de 98,2%. [48]

Alvarenga *et al.* [58] se sont intéressés aux types histologiques plus rares des cancers du sein et ont étudié en immunohistochimie la présence de la CK 19. Ils considèrent que la tumeur est positive si plus de 10% des cellules tumorales expriment la CK 19 à leur surface. Nous retrouvons un taux de 100% pour les carcinomes micro-papillaires, apocrines, tubulaires, mucineux, médullaires et mixtes. Pour les carcinomes papillaires

et métaplasiques le taux est respectivement de 85 et 80%. Dans l'étude de Tsujimoto *et al.*, 2,2% des 896 cancers du sein analysés n'expriment pas la CK 19.

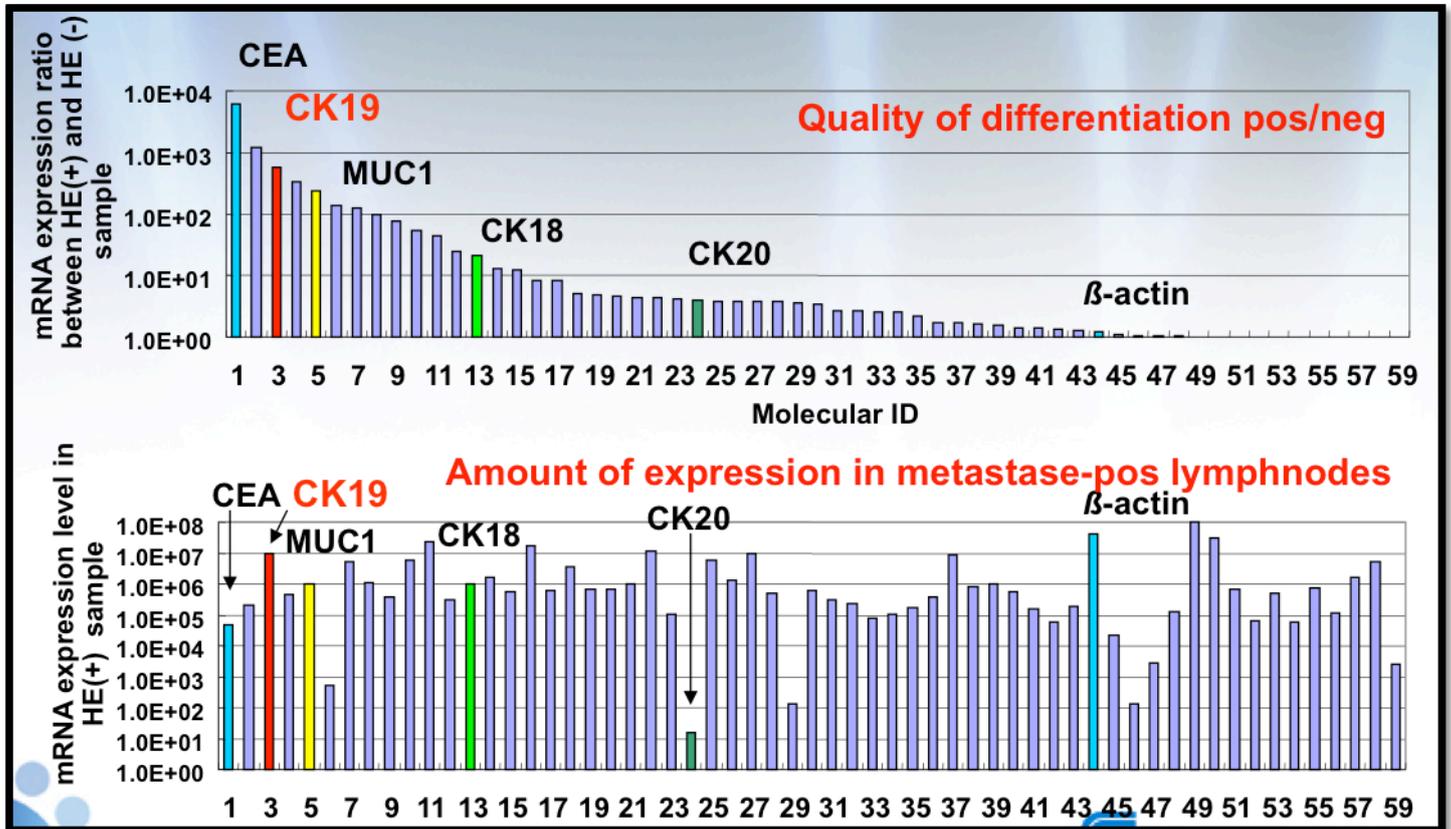


Image 2 : Spécificité et sensibilité de la CK 19 (image issue de la présentation SYSMEX®)

Gene Search : Veridex®

Cette méthode est basée sur la même technique d'amplification de l'ARN messager que la méthode OSNA. L'amplification se fait sur l'ARNm de la cytokératine 19 et sur l'ARNm de la mammaglobuline. Ces deux protéines sont absentes du tissu ganglionnaire sain mais sont présentes au niveau des tumeurs mammaires. Le « GeneSearch » est calibré comme l'OSNA pour la détection des métastases de plus de 0,2mm.

La technique anatomopathologique est similaire à la méthode OSNA, l'échantillon de ganglion est homogénéisé avec la solution de Veridex®, le GeneSearch ARN Sample Preparation Kit pour purifier l'ARNm. Puis le lysat homogénéisé est placé dans l'appareil « Cepheid Smart Cycler II » avec les mélanges réactionnels adaptés et fourni par

Veridex®. L'amplification est alors réalisée. [12] Un contrôle est réalisé en recherchant un marqueur présent dans toutes les cellules et servant de contrôle interne. Le résultat est ensuite rendu comme positif, négatif ou invalide. La positivité correspond à la présence d'une ou des deux protéines. (CK 19 et mammaglobuline)

La sensibilité, la spécificité et le taux de concordance de cette technique sont respectivement de 96,4%, 99% et 98,4% pour la série du Centre Oscar-Lambret de Lille. [12]

Pour Blumencranz *et al.* [59] la sensibilité de la méthode est meilleure pour les macrométastases que pour les micrométastases. Dans cette étude, la technique GeneSearch éviterait 98% des secondes interventions si les micrométastases sont ignorées et 88% si les micrométastases sont prises en compte.

Pour Veys et son équipe [60] qui publient une série de 253 patientes, le taux de concordance entre la méthode *Gene Search* et l'histologie standard associée à l'immunohistochimie est de 93% pour une sensibilité de 87% et une spécificité de 94%.

Martin Martinez *et al.* publient une étude sur 78 patientes et retrouvent une sensibilité de 92% et une spécificité de 97%. Leur taux de concordance est de 96%. [61]

Viale *et al.* publient une série de 293 patientes avec un taux de concordance de 90,8% et une spécificité de 95%. La sensibilité est variable en fonction de la taille de la métastase [62]:

- Métastase > 2mm : sensibilité de 98,1%.
- Métastase >1mm : sensibilité de 94,7%.
- Métastase >0,2mm : sensibilité de 77,8%.

Dans cette étude, les auteurs montrent une sensibilité moins bonne pour les micrométastases.

Mansel *et al.* analysent 124 ganglions concernant 82 patientes présentant un cancer du sein. Leur taux de concordance est de 93,9% avec une sensibilité de 88,9% et une spécificité de 94,6% pour la méthode *Gene Search* comparée à l'histologie standard et l'immunohistochimie. Les métastases de moins de 0,2mm ne sont pas détectées par la méthode. [63]

L'étude de Julian et son équipe [64] compare la méthode *Gene Search* à l'histologie conventionnelle et à l'immunohistochimie mais également à l'examen extemporané par coupes à congélation et cytologie d'apposition. Cette étude confirme la supériorité de la méthode *Gene Search* comparée à l'examen per-opératoire (FS ou IC). Les auteurs

montrent également que l'association de la méthode par biologie moléculaire rapide à l'histologie standard permet un diagnostic plus fiable des métastases ganglionnaires. Ils expliquent ce phénomène par l'exhaustivité de l'analyse du ganglion sentinelle.

Cette méthode est interrompue depuis décembre 2009 à cause de l'arrêt de commercialisation par le laboratoire.

MATERIEL ET METHODE

Objectif de notre étude

L'objectif principal de notre étude était de montrer comment la technique OSNA (*one step nucleic acid amplification*) peut faire baisser le taux de reprises chirurgicales dans la prise en charge du cancer du sein inférieur à 2 centimètres. En effet, le diagnostic peropératoire permettait la réalisation du curage axillaire dans le même temps opératoire en cas de ganglion sentinelle positif.

L'objectif secondaire de l'étude était de déterminer s'il existait des facteurs cliniques et histologiques qui rendraient la technique OSNA plus sensible.

Type d'étude

Notre travail était une étude rétrospective monocentrique concernant toutes les patientes dont les ganglions sentinelles étaient analysés selon le protocole OSNA au Centre Alexis Vautrin du 19 octobre 2007 au 15 Juin 2011.

Notre population

Critères d'inclusion

Nous avons inclus dans cette étude toutes les patientes ayant bénéficié de la technique *one step nucleic acid amplification* (OSNA) pour l'analyse de leurs ganglions sentinelles au Centre Alexis Vautrin du 19 octobre 2007 au 15 juin 2011.

Ces patientes répondaient aux recommandations de Saint Paul de Vence de 2009 concernant la réalisation du ganglion sentinelle.

Les patientes présentaient un carcinome mammaire infiltrant T1N0 ou T2N0, unifocal, n'ayant pas reçu de chimiothérapie néoadjuvante. La preuve histologique a été obtenue en préopératoire grâce à la réalisation d'une ponction-cytologie, d'une microbiopsie ou d'une macrobiopsie stéréotaxique. Les patientes n'avaient pas d'antécédents de chirurgie mammaire.

Critères d'exclusion

Etaient exclues toutes les patientes :

- Participant à un essai thérapeutique nécessitant la réalisation d'un curage axillaire en complément de la technique du ganglion sentinelle. Trois essais étaient en cours au Centre Alexis Vautrin pendant la période de notre étude : GATA, GAS 2+ et GANEA.
- Présentant un carcinome *in situ* sans contingent infiltrant.

Au total notre population étudiée (groupe 1) comptait 100 patientes.

Pour notre population de référence (groupe 2), nous avons inclus 289 patientes sélectionnées au hasard parmi les 1030 patientes ayant bénéficié de la technique du ganglion sentinelle de août 2005 à mai 2011 avec les mêmes critères d'inclusion et d'exclusion que pour le groupe 1. Pour 8 patientes, la détection du ganglion sentinelle avait échoué.

Au final, 281 patientes ont été retenues pour ce groupe.

Dans le groupe 1 nous retrouvons deux phases pour notre étude :

La première phase du 19 octobre 2007 au 10 janvier 2008 pendant laquelle la méthode OSNA était en cours d'évaluation. La moitié des ganglions a été analysée en histologie standard et en immunohistochimie et l'autre moitié par la méthode OSNA.

La seconde phase du 24 avril 2010 au 15 juin 2011 où la totalité du ganglion a été analysée par la méthode OSNA. Si la taille du ganglion le permettait, une tranche centrale a été prélevée et analysée en histologie et immunohistochimie. Si le ganglion était trop petit, une cytologie a été réalisée sur les résidus présents sur la lame utilisée pour broyer le ganglion.

Collecte des données

Les données ont été collectées à partir des dossiers informatiques des patientes. Les informations ont été recueillies dans le programme 4D.

Les données recueillies comprenaient l'âge, le statut ménopausique, la localisation tumorale, le type de chirurgie mammaire et la méthode de détection du ganglion sentinelle.

Les caractéristiques histologiques des tumeurs comprenaient la taille tumorale, le type histologique, le grade nucléaire, l'invasion lymphatique et nerveuse, le statut hormonal l'expression du gène HER2 et la présence d'un carcinome *in situ* associé.

L'analyse de cette série a été faite par patiente et non par ganglion.

Matériel

Identification des ganglions sentinelles :

Dans notre étude, l'identification des ganglions sentinelles se fait par une méthode combinée. Nous associons un repérage radio-isotopique et un repérage colorimétrique. En pratique, la veille de l'intervention la patiente se rend dans le Service de médecine nucléaire où une injection de radio-isotope (Sulfure de rhénium marqué au Technétium 99) en sous aréolaire est réalisée. Une lymphoscintigraphie est réalisée 2 à 4 heures après l'injection pour le repérage des ganglions sentinelles. En l'absence de contre-indication en particulier allergique, 1,5 à 2 mL de Bleu Patenté sont injectés en sous-aréolaire en début d'intervention. Le chirurgien décide d'injecter en 1 ou 2 points. Cette injection est suivie d'un massage mammaire pour une diffusion plus rapide du colorant. Au bloc opératoire, le chirurgien utilise une sonde gamma de détection de marque *Europrobe®2* pour la localisation des ganglions sentinelles.

Conformément aux recommandations, sont considérés comme ganglions sentinelles les ganglions chauds et/ou bleus et/ou associés à un canalicule bleuté.

L'histologie standard au Centre Alexis Vautrin

Dans le groupe 2 de référence, les ganglions sentinelles sont étudiés en histologie standard. Les ganglions sont inclus en totalité puis analysés en plusieurs niveaux de coupes sériées à 150 µm d'intervalle. Une coloration à l'hématoxyline, éosine et safran (HES) est réalisée. Plus le nombre de niveau de coupe est élevé plus l'examen est sensible.

En l'absence de métastase, une étude immunohistochimie est réalisée sur les autres coupes. Cette méthode utilise des anticorps anti-cytokératines qui permettent de

repérer les cellules tumorales. Les anatomopathologistes du Centre Alexis Vautrin utilisent des anticorps anti-cytokératines AE1 et AE3.

L'OSNA (One-step nucleic acid amplification)

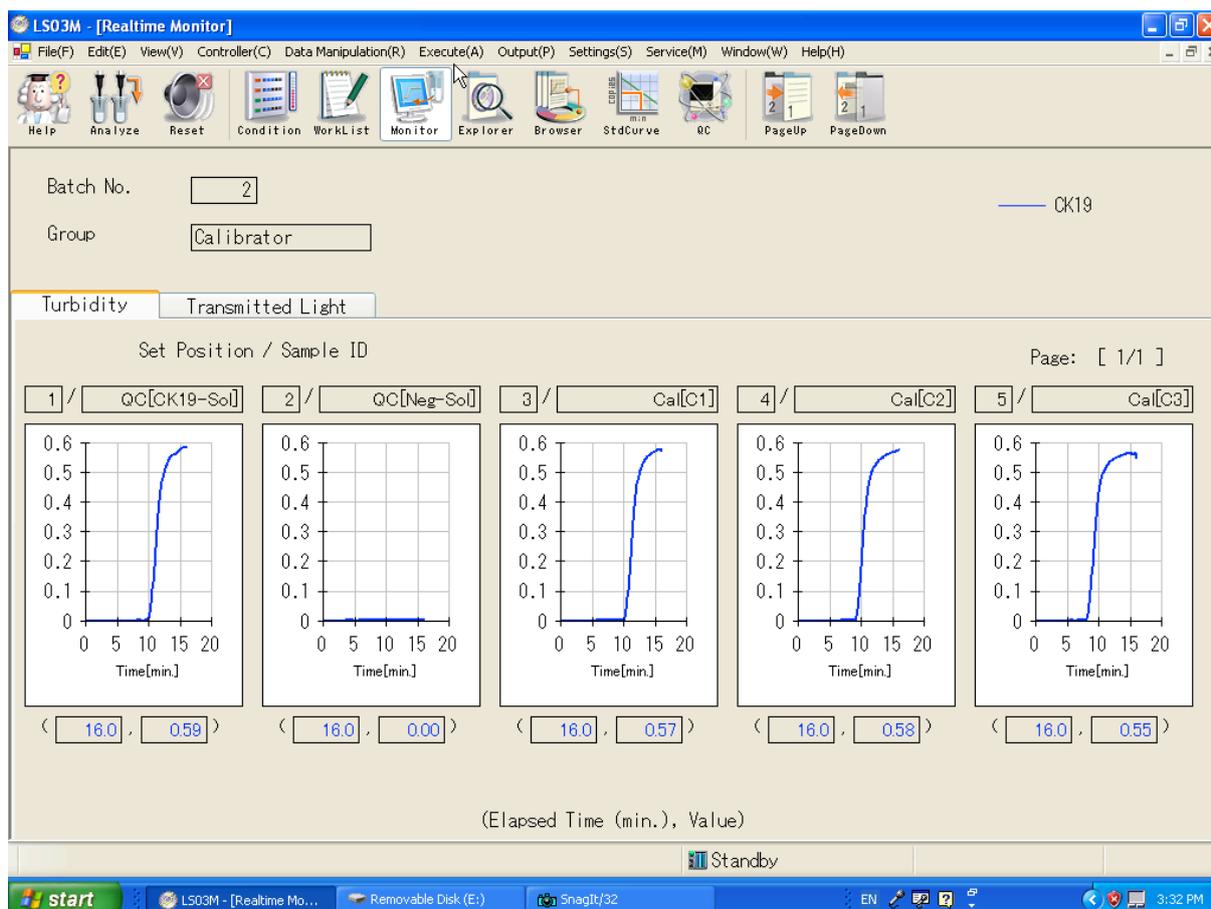
En pratique, la première étape pour l'anatomopathologiste est de retirer le tissu graisseux péri-ganglionnaire (*Annexe 1*). Si le ganglion pèse plus de 0,6 g, il est coupé en deux pour être analysé comme deux ganglions différents. Si la taille du ganglion le permet (supérieur à 0,6cm) (*Annexe 2*), une tranche centrale est prélevée et analysée en histologie et immunohistochimie. Une technique d'apposition est également réalisée avec cette tranche. (*Annexe 3*) Dans le cas contraire, une cytologie est réalisée sur les résidus du scalpel utilisé pour le découpage du ganglion. Quatre ganglions peuvent être analysés dans le même temps. [50]

Cette étape est suivie d'un découpage (*Annexe 4*) et broyage du ganglion ou des ganglions (*Annexe 5*). Le ganglion en totalité est homogénéisé avec 4 mL de la solution Lynorhag (Sysmex®) [49-51, 53, 65]. Cette solution permet de stabiliser les molécules d'ARNm et les protège de l'activité des ribonucléases. Elle diminue les effets des inhibiteurs d'ARN. Un millilitre de lysat est ensuite prélevé et centrifugé avec la solution Lynorhag. La centrifugation permet d'éliminer un maximum d'inhibiteurs de PCR comme la graisse (*Annexe 6*). Puis 20 µL de lysat sont prélevés et centrifugés puis disposés dans la machine RD-100i (Sysmex®) avec un tube de lysat dilué (*Annexe 7 et 8*).

Le Lynoamp permet l'amplification d'ARNm grâce à la réaction RT-LAMP (*reverse transcriptase-loop mediated isothermal amplification*). Le Lynoamp contient l'enzyme, les 6 amorces, les contrôles et les calibreurs (C1 à C3).

En effet, chaque jour l'appareil RD-100i sysmex est calibré grâce à 3 solutions à différentes concentrations en ARNm de cytokératine 19 (C1 : $2,5 \cdot 10^3$, C2 : $2,5 \cdot 10^5$ et C3 : $2,5 \cdot 10^7$ copies d'ARNm de CK19 par mL). Un échantillon de chaque type est conservé à -80°C. Un témoin positif contenant plus de 5000 copies d'ARNm/µL et un témoin négatif sont utilisés pour chaque test afin de valider la procédure. [51]

La quantification du nombre de copies d'ARNm est corrélée à la turbidité due à la production de pyrophosphate de magnésium. [56] Cette analyse dure 30 à 40 min. [11, 50-51, 65-66]



*Image 3 : Réponse positive et négative des calibrateurs et des témoins positifs et négatifs
(Turbidité due au sulfate de magnésium)*

(Image extraite du guide de formation sysmex®)

Cette technique analyse la totalité du ganglion sentinelle donc permet d'évaluer la taille totale de la métastase.

Le résultat est rendu sous différentes formes :

- (-) Négatif
- (+) Positif (250-5000 copies d'ARN m de CK19/ μ L) correspondant aux micrométastases [51]
- (++) Positif (\geq 5000 copies d'ARN m de CK19/ μ L)
- (+)I Positif par inhibition

Ces deux derniers résultats correspondent aux macrométastases. [51] La positivité par inhibition est considérée comme macro-métastases par défaut dans notre étude car le nombre de copies est non évaluable. Ceci permet de ne pas sous-estimer la taille de la

métastase. En pratique, la réponse rendue au chirurgien est « positif » ou « négatif » sans quantification du nombre de copies.

Une recherche de cytokératine 19 est systématiquement réalisée sur la tumeur afin de valider le protocole OSNA.

Quatre ganglions au maximum sont analysés pour une même patiente. S'il est prélevé plus de 4 ganglions, ils sont poolés 2 par 2 si leur taille le permet ou les ganglions les moins suspects sont analysés en histologie standard.

Tests statistiques

Les différentes données cliniques des patientes et les caractéristiques anatomopathologiques des tumeurs des deux groupes de patientes sont comparées à l'aide du test du Khi-deux sur les variables qualitatives. Les valeurs quantitatives concernant ces deux groupes sont comparées à l'aide du test de Student.

Un test de Breslow, Day et Tarone est utilisé pour l'homogénéité de détection des métastases en fonction de la technique utilisée.

Le seuil de positivité est défini à 0,05.

RESULTATS

La population

Au total 100 patientes ayant bénéficié de la méthode OSNA pour l'analyse de leurs ganglions sentinelles au Centre Alexis Vautrin du 19 octobre 2007 au 15 juin 2011 ont été retenues pour notre étude (groupe 1).

Notre population de référence comportait 281 patientes pour lesquelles la technique du ganglion sentinelle a été pratiquée d'août 2005 à mai 2011 (Groupe 2).

Les caractéristiques des patientes de chaque population sont représentées dans le tableau 1.

L'âge moyen des patientes du groupe 1 (OSNA) était de 60,2 ans contre 59 ans dans le groupe 2 ($p=0,32$)

Dans le premier groupe, 75 % des patientes étaient ménopausées et dans le groupe 2, ce taux était de 69,9%. ($p=0,26$)

Le poids moyen des patientes était respectivement de 71 et 66,9kg pour nos 2 populations. ($p=0,06$)

Le mode de diagnostic (tableau 2)

La découverte de la pathologie mammaire se faisait par la palpation d'une masse par la patiente ou son médecin dans 24 cas (24%) dans la population 1 et dans 56 cas (19,93%) dans la population 2. ($p=0,4$)

Le type de biopsie préopératoire réalisée est répertorié dans le tableau 2. Une microbiopsie a été le plus souvent pratiquée dans les 2 populations.

Les ganglions sentinelles (tableau 1)

L'identification des ganglions sentinelles a été réalisée par une méthode combinée (radio-isotopique et colorimétrique) chez 84 patientes (84%) du groupe 1 (OSNA) et chez 245 patientes (88,24%) du groupe 2. ($p=0,8$) La méthode radio-isotopique associée à une lymphoscintigraphie a été systématique dans les deux populations. Nous avons

noté un taux d'échec d'identification de 2,1%. Ceci a permis d'isoler 2,4 ganglions sentinelles en moyenne par patiente dans le groupe 1 et 2,5 ganglions par patiente du groupe 2. ($p=0,41$) Pour des extrêmes à 7 ganglions pour le groupe 1 et 8 ganglions pour le groupe de référence.

Caractéristiques	OSNA		Histologie standard		p
	N	%	N	%	
Nombre de patientes	100		281		
Age					
≤ 50 ans	22	22%	82	29,2%	0,22
51-69	57	57%	157	55,9%	
≥ 70 ans	21	21%	42	14,9%	
Statut ménopausique					
non-ménopausées	25	25%	87	31%	0,26
ménopausées	75	75%	194	69%	
Identification du GGs					
Isotopes	100	100%	281	100%	
Isotopes+bleu	84	84%	245	87,2%	0,8

Tableau 1 : Caractéristiques de la population

Caractéristiques	OSNA		histologie standard		p
	N	%	N	%	
Nombre de patientes	100		281		
Mode de diagnostic					
clinique (masse)	24	24%	56	19,9%	0,4
radiologique	66	66%	154	54,8%	0,051
autre	10	10%	71	25,3%	0,9
Type de biopsie					
cytoponction	2	2%	30	10,7%	0,004
microbiopsie	86	86%	206	73,3%	
macrobiopsie	2	2%	16	5,7%	
cytoponction et microbiopsie	7	7%	22	7,8%	
cytoponction et macrobiopsie	0	0%	3	1,1%	
microbiopsie et macrobiopsie	3	3%	5	1,8%	
Cytop, microb, macrobiopsie	0		1	0,4%	

Tableau 2 : Mode de diagnostic

Les caractéristiques tumorales

Les caractéristiques des tumeurs sont regroupées dans le *tableau 3*.

La localisation tumorale

Les tumeurs étaient principalement localisées dans les quadrants externes : soit 54% (n=54) des tumeurs des patientes du groupe 1 et 69% (n=193) des tumeurs de la population de référence. ($p=0,01$)

La taille tumorale (voir classification TNM, Annexe 9)

La taille tumorale moyenne était respectivement de 13,4 et 14,2mm dans chaque population. ($p=0,5$) Nous avons compté 6 tumeurs classées pT1a, 35 tumeurs classées pT1b, 46 tumeurs classées pT1c et 13 tumeurs classées pT2 dans le groupe 1. Concernant le groupe 2, nous avons répertorié un cas de tumeur micro-invasive, 20 tumeurs classées pT1a, 83 tumeurs classées pT1b, 132 tumeurs classées pT1c et 45 tumeurs classées pT2. ($p=0,81$)

Le type histologique

Les types histologiques étaient majoritairement des carcinomes canaux infiltrants : 69 tumeurs du groupes 1(69%) et 222 tumeurs du groupe 2 (79%). Nous avons noté 14 cas de carcinomes lobulaires infiltrants dans la population 1(14%) et 36 cas dans la population 2 (12,81%). ($p=0,03$)

La différence est significative concernant les types histologiques.

Les autres types histologiques (17 du groupe 1 et 23 du groupe 2) regroupaient des carcinomes mixtes, des carcinomes mucineux, tubuleux, papillaires et micropapillaires.

Le grade de Scarff Bloom et Richardson

Dans le groupe 1, 18 tumeurs avaient un grade SBR 1 (18%), 53 tumeurs avaient un grade SBR 2 (53%) et 29 tumeurs avaient un grade SBR 3 (29%). Dans le groupe 2, 60 tumeurs avaient un grade SBR 1 (21,4%), 135 tumeurs avaient un grade SBR 2 (48%) et 84 tumeurs avaient un grade SBR 3 (29,9%). On a retrouvé 2 cas dans le groupe 2 de tumeurs non gradables. Il n'y a pas de différence significative entre ces 2 groupes. ($p=0,67$) Les deux tumeurs dont le grade n'était pas renseigné correspondaient à un carcinome micro-invasif et un carcinome papillaire solide infiltrant.

Le statut hormonal

Les récepteurs aux œstrogènes étaient positifs dans 85 cas dans le premier groupe (85%) et dans 250 cas pour le groupe 2 (88,97%). ($p=0,25$) Les récepteurs à la progestérone étaient positifs pour 64 patientes du groupe 1 (64%) et pour 188 patientes du groupe 2 (66,90%). ($p=0,57$)

Le statut HER 2

Concernant le statut HER2, 4 tumeurs étaient positives dans le groupe 1 (4%) et 27 dans le groupe 2 (9,61%). ($p=0,08$)

Les embolies

Nous avons retrouvé un engainement périnerveux chez 12 patientes du groupe 1 (12%) et chez 30 patientes du groupe 2 (10,7%). ($p=0,72$).

La présence d'embolies lymphatiques a été identifiée dans 27 cas parmi les patientes du groupe 1 (27%) et dans 43 cas dans le groupe 2 (15,3%). ($p=0,009$)

La présence d'embolies vasculaires a été identifiée chez 8 patientes du groupe 1 et chez 18 patientes du groupe 2. ($p=0,58$)

L'association à un carcinome canalaire in situ ou à un carcinome lobulaire in situ

Un carcinome canalaire *in situ* était associé au carcinome infiltrant dans 68 cas chez les patientes du groupe 1 (68%) et dans 224 cas parmi les patientes du groupe 2 (79,7%). ($p=0,03$) La taille moyenne du carcinome *in situ* était respectivement de 25,6 et 32,7mm dans chacun des 2 groupes. ($p=0,38$)

Un carcinome lobulaire *in situ* (LIN2 ou 3) était présent dans 33 tumeurs du groupe 1 (33%) et 57 tumeurs du groupe 2 (20,3%). ($p=0,01$)

Pour la composante *in situ* les marges sont de 4 mm en moyenne dans le groupe OSNA et 6,3 mm dans le groupe histologie standard.

Caractéristiques	Population OSNA		Population de référence		p
	N	%	N	%	
Nombre de patientes	100		281		
Localisation tumorale					
QSE	32	32%	77	27,4%	0,001
QSI	11	11%	41	14,6%	
QIE	12	12%	102	36,3%	
QII	6	6%	7	2,5%	
QE	10	10%	14	5%	
Qint	7	7%	6	2,1%	
QS	12	12%	21	7,5%	
QI	7	7%	9	3,2%	
zone centrale	3	3%	4	1,4%	
Taille tumorale					
pTmi	0		1	0,4%	0,5
pT1a (≤ 5mm)	6	6%	20	7,1%	0,81
pT1b (5 à 10 mm)	35	35%	83	29,5%	
pT1c (10 à 20 mm)	46	46%	132	47%	
pT2 (> 20 mm)	13	13%	45	16%	
Type histologique					
CCI	69	69%	222	79%	0,03
CLI	14	14%	36	12,8%	
autres types	17	17%	23	8,2%	
Grade nucléaire					
SBR 1	18	18%	60	21,4%	0,67
SBR 2	53	53%	135	48%	
SBR 3	29	29%	84	29,9%	
non gradable	0		2	0,7%	
Engainement périnerveux					
+	12	12%	30	10,7%	0,72
-	88	88%	251	89,3%	
Emboles lymphatiques					
+	27	27%	43	15,3%	0,009
-	73	73%	238	84,7%	
Emboles vasculaires					
+	8	8%	18	6,4%	0,58
-	92	92%	263	93,6%	
Récepteurs hormonaux					
RE+	85	85%	250	88%	0,25
RE-	15	15%	30	10,7%	
RP+	64	64%	188	66,9%	0,57
RP-	36	36%	92	32,7%	
non gradable			1	0,4%	
Statut HER2					
+	4	4%	27	9,6%	0,08
-	96	96%	253	90%	
non gradable			1	0,4%	
Carcinome in situ associé	68	68%	224	79,7%	0,03
bas grade	4	4%	7	2,5%	
grade intermédiaire	37	37%	124	44,1%	
haut grade	16	16%	66	23,5%	
Non gradable	11	11%	27	9,6%	

Tableau 3 : Caractéristiques histologiques des tumeurs

Le type de chirurgie (tableau 4)

Nous avons rapporté 12 cas de mastectomie totale (12%) et 88 cas de mastectomie partielle (88%) dans le premier groupe. Deux cent cinquante patientes du groupe 2 ont bénéficié d'une chirurgie conservatrice au niveau mammaire (89%) et 31 patientes d'une mastectomie totale (11%). ($p=0,75$)

Caractéristiques	Population OSNA		Population de référence		P
	N	%	N	%	
Type de chirurgie					0,75
mastectomie totale	12	12%	31	11%	
mastectomie partielle	88	88%	250	89%	
Nombre de patientes	100		281		

Tableau 4 : Type de chirurgie

Le temps de procédure :

Le temps moyen de la procédure entre l'arrivée du ganglion dans le laboratoire d'anatomopathologie et la transmission du résultat au bloc opératoire était de 42 minutes en moyenne. Ce temps était de 42 min 30 s en moyenne pour l'analyse d'un ganglion et de 43 min en moyenne pour l'analyse de 4 ganglions. Le temps minimum de procédure était de 10 min et le temps maximum de 1 heure et 44 minutes.

Les patientes avec une atteinte ganglionnaire (tableau 5)

Nous avons utilisé comme résultat, la métastase ganglionnaire la plus volumineuse présentée par la patiente.

Dans le groupe 1, 29% des patientes présentaient une atteinte ganglionnaire diagnostiquée par la méthode OSNA. Quinze patientes présentaient une macrométastase : (++) ou (I+) et 14 une micrométastase : (+) avec la méthode OSNA.

Dans la population de référence, 84 patientes présentaient une atteinte ganglionnaire (29,9%). Pour 22 d'entre elles, cet envahissement régional a été diagnostiqué uniquement par l'immunohistochimie, l'histologie standard étant négative. Parmi ces 84 patientes, 33 présentaient une macrométastase et 35 une micrométastase. Seize patientes présentaient une atteinte sous forme de cellules isolées (N0i+).

Nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre la méthode OSNA et l'histologie standard pour la détection des macro et micrométastases ($p=0,35$).

OSNA				Histologie standard et IHC				
Résultats	N	%	IC 0,95	Résultats	N	%	IC 0,95	P
Positif	29	29,0%	20,1-37,9%	Positif	68	24,2%	19,2-29,2%	0,35
(++) ou (I+)	15	15%	8-22%	Macrométastase	33	11,7%	8-15,6%	
(+)	14	14%	7,2-20,1%	Micrométastase	35	12,5%	8,6-16,3%	
				Cellules isolées	16	5,7%		
				TOTAL	84	29,9%	24,5-35%	
Négatif	71	71%	62,1-79,9%	Négatif	197	70,1%	64,7-75,5%	

Tableau 5 : Les patientes N+

La population N+

Les patientes ont été réunies en 2 groupes, le groupe A correspondant aux patientes N+ dont l'analyse a été réalisée avec la méthode OSNA et le groupe B correspondant aux patientes N+ dont l'analyse a été réalisée en histologie standard associée à l'immunohistochimie.

Nous avons réuni dans le *tableau 6* les caractéristiques cliniques des patientes présentant une atteinte ganglionnaire.

L'âge moyen des patientes N+ du groupe A était de 57,1 ans (28,3 à 81,6 ans) et de 56,3 ans (34,9-75,7) pour les patientes N+ du groupe B. ($p=0,73$)

Le poids moyen était respectivement de 67,4 et 67,8 Kg pour ces 2 populations de patientes. ($p=0,94$)

Dix huit patientes ont présenté une atteinte ganglionnaire parmi les 75 patientes ménopausées du groupe OSNA (24%). Dans le groupe histologie standard, 52 patientes ménopausées ont présenté une atteinte ganglionnaire parmi les 194 patientes ménopausées (26,8%). Nous ne retrouvons pas de différence significative entre les deux groupes. ($p=0,27$)

Nous retrouvons une différence significative concernant la répartition dans les différentes classes d'âge. ($p=0,02$)

Caractéristiques	OSNA (A)			HES et IHC (B)			p
	N	N GS+	%	N	N GS+	%	
Nombre de patientes	100	29		281	84		
Age							
≤ 50 ans	22	6	27,3%	82	31	37,8%	0,02
51-69	57	18	31,6%	157	43	27,4%	
≥ 70 ans	21	5	23,8%	42	10	23,8%	
Statut ménopausique							
non-ménopausées	25	11	44%	87	32	36,8%	0,27
ménopausées	75	18	24%	194	52	26,8%	
Identification du GGs							
Isotopes	100	29	29%	281	84	29,9%	
Isotopes+bleu	84	27	32,1%	245	73	29,8%	0,87

Tableau 6 : Caractéristiques de la population N+

Le mode de diagnostic (tableau 7)

Parmi les 24 patientes dont le mode de découverte du cancer est la palpation d'une masse dans la population OSNA, 14 ont présenté une atteinte ganglionnaire (58,3%).

Dans le groupe histologie standard, 14 des 56 patientes avec le même mode de diagnostic ont présenté une atteinte ganglionnaire (25%). ($p=0,0009$)

Dix huit pour cent des patientes du groupe OSNA dont le mode de diagnostic est le dépistage par l'imagerie contre 36,6% dans le groupe histologie standard. ($p<0,00001$)

Parmi les patientes du groupe histologie standard, 61 patientes avec une atteinte ganglionnaire ont bénéficié d'une microbiopsie contre 29 du groupe OSNA ($p=0,83$). Il s'agit du mode de prélèvement le plus utilisé dans notre centre. La répartition des modes de prélèvement n'était pas différente entre les 2 groupes.

Caractéristiques	OSNA (A)			HES et IHC (B)			p
	N	N GS+	%	N	N GS+	%	
Nombre de patientes	100	29	29%	281	84	29,9%	
Mode de diagnostic							
clinique (masse)	24	14	58,3%	56	14	25%	0,0009
radiologique	66	12	18,2%	154	56	36,4%	<,00001
autre	10	3	30%	71	14	19,7%	
Type de biopsie							
cytoponction	2	0	0%	30	9	10,7%	0,83
microbiopsie	86	29	33,7%	206	61	29,6%	
macrobiopsie	2	0	0%	16	7	43,8%	
cytoponction et microbiopsie	7	4	57,1%	22	5	22,7%	
cytoponction et macrobiopsie	0	0	0%	3	1	33,3%	
microbiopsie et macrobiopsie	3	0	0%	5	1	20%	

Tableau 7 : Le mode de diagnostic pour la population N+

Les ganglions sentinelles (tableau 6)

L'identification des ganglions par la méthode radio-isotopique est systématique dans les 2 groupes. Nous n'avons pas trouvé de différence significative pour la détection de l'atteinte ganglionnaire avec l'une ou l'autre méthode en cas d'injection de bleu patenté. ($p=0,87$)

Les caractéristiques tumorales (tableau 8)

La localisation tumorale

Les tumeurs du quadrant supéro-externe étaient les plus fréquentes avec respectivement 12 cas et 26 cas parmi les patientes avec un ganglion sentinelle positif de chaque population (OSNA et histologie standard)

Aucune tumeur des patientes avec une atteinte ganglionnaire du groupe OSNA n'appartenait au quadrant inféro-interne ou interne. Nous avons compté 3 tumeurs du quadrant supéro-interne, 4 tumeurs du quadrant inféro-externe, 5 tumeurs du quadrant externes, 1 tumeur du quadrant supérieur, 3 tumeurs du quadrant inférieur et 1 tumeur centrale. Dans le groupe histologie standard avec une atteinte ganglionnaire, aucune tumeur n'appartenait au quadrant inférieur ou central, 14 tumeurs appartenait au quadrant supéro-interne, 26 au quadrant inféro-externe, 3 au quadrant inféro-interne, 5 au quadrant externe, 4 au quadrant interne et 6 au quadrant inférieure.

Nous n'avons pas trouvé de différence significative dans la répartition des tumeurs par quadrant. ($p=0,56$)

La taille tumorale

La taille tumorale moyenne était de 14,5 mm dans le groupe A avec des extrêmes de 2 et 40mm. Dans le groupe B, la taille tumorale moyenne était de 16,5mm avec des extrêmes compris entre 1 et 60mm. ($p=0,32$)

Nous avons compté 3 patientes avec une atteinte ganglionnaire parmi les patientes présentant une tumeur pT1a (50%), 8 patientes en cas de tumeurs pT1b (22,9%), 13 patientes en cas de tumeurs pT1c (28,3%) et 5 patientes en cas de tumeurs pT2 (38,5%) dans la population A.

Dans la seconde population (groupe B), nous avons compté une patiente avec une atteinte ganglionnaire parmi les patientes présentant une tumeur micro-invasive (1,2%), 3 patientes en cas de tumeurs pT1a (15%), 16 patientes en cas de tumeurs pT1b (19,3%), 45 patientes en cas de tumeurs pT1c (34,1%) et 19 patientes en cas de tumeurs pT2 (42,2%). Nous n'avons pas trouvé de différence significative dans la répartition de positivité en fonction de la taille tumorale. ($p=0,53$) Il semble tout de même que le taux d'envahissement ganglionnaire était plus important dans le groupe OSNA parmi les patientes présentant une tumeur classée pT1a. (50% dans le groupe OSNA versus 15% dans le groupe histologie conventionnelle)

Le type histologique

Vingt deux patientes N+ du groupe A présentaient un carcinome canalaire infiltrant, 2 patientes présentaient un carcinome lobulaire infiltrant et 5 patientes un carcinome d'un autre type histologique. Parmi ces 5 patientes nous avons compté 4 carcinomes mixtes (canalaire et lobulaire) et 1 carcinome papillaire infiltrant.

Dans le groupe B, nous avons dénombré 66 carcinomes canaux infiltrants, 12 carcinomes lobulaires infiltrants et 6 cancers d'un autre type.

Nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les 2 techniques dans la détection des métastases dans les ganglions sentinelles en fonction du type histologique. ($p=0,8$)

Le grade Scarff Bloom et Richardson

Dans la population A, 5 cancers étaient de grade SBR 1, 14 cancers étaient de grade SBR 2 et 10 cancers étaient de grade SBR 3.

Dans la population B, 12 cancers étaient de grade SBR 1, 39 cancers étaient de grade SBR 2, 32 cancers étaient de grade SBR 3 et dans un cas de carcinome micro invasif n'était pas gradable.

Nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les 2 techniques dans la détection des métastases dans les ganglions sentinelles en fonction du grade SBR. ($p=0,06$)

Le statut hormonal

Parmi les patientes du groupe OSNA possédant des récepteurs aux œstrogènes positifs, 29,4% des patientes présentaient une atteinte ganglionnaire (n=25) dans le cas où les récepteurs à la progestérone étaient positifs, 31,3% des patientes avaient un ganglion sentinelle positif (n=20).

Concernant les cas où l'analyse des ganglions sentinelles a été réalisée par l'histologie conventionnelle, 74 (29,6%) patientes présentaient une atteinte ganglionnaire et des récepteurs aux œstrogènes positifs et 31,9% des patientes avaient un ganglion sentinelle atteint et les récepteurs à la progestérone positifs et (n=60).

Nous n'avons pas trouvé de différence significative de détection des métastases dans les ganglions sentinelles liée à la présence de récepteurs aux œstrogènes ($p=0,8$) ou à la progestérone ($p=0,7$).

Le statut HER 2

Nous avons recensé un cas d'atteinte ganglionnaire parmi les 4 tumeurs porteuses de récepteurs HER 2 (25%) dans le groupe OSNA et 8 cas parmi les 27 tumeurs porteuses de récepteurs HER 2 du groupe histologie standard (29,6%). ($p=0,83$)

Les embolies

On a retrouvé un engainement périnerveux chez 3 patientes avec une atteinte ganglionnaire du groupe OSNA et chez 15 patientes avec une atteinte ganglionnaire du groupe histologie standard. ($p=0,3$).

La présence d'embolies lymphatique a été identifiée dans 12 cas parmi les patientes avec une atteinte ganglionnaire du groupe OSNA et dans 28 cas du groupe histologie standard. ($p=0,24$)

La présence d'embolies vasculaires a été identifiée chez 4 patientes avec une atteinte ganglionnaire du groupe OSNA et chez 11 patientes avec une atteinte ganglionnaire du groupe Histologie standard. ($p=0,6$)

L'association à un carcinome canalaire in situ ou un carcinome lobulaire in situ

Un ganglion sentinelle a été identifié comme positif par la méthode OSNA chez 20 patientes présentant un carcinome canalaire *in situ* associé au carcinome infiltrant (29,4%) et dans 68 cas parmi les 224 patientes du groupe histologie standard positive (30,4%). ($p=0,21$)

Un carcinome lobulaire *in situ* (LIN2 ou 3) était présent dans 8 tumeurs du groupe OSNA positif et 13 tumeurs du groupe histologie standard positive. ($p=0,17$)

	OSNA groupe A			HES et IHC groupe B			P
Caractéristiques	N	N GS+	%	N	N GS+	%	
Nombre de patientes	100	29		281	84		
Localisation tumorale							
QSE	32	12	37,5%	77	26	33,8%	0,56
QSI	11	3	27,3%	41	14	34,1%	
QIE	12	4	33,3%	102	26	25,5%	
QII	6	0	0%	7	3	42,9%	
QE	10	5	50%	14	5	35,7%	
Qint	7	0	0%	6	4	66,7%	
QS	12	1	8,3%	21	6	28,6%	
QI	7	3	42,9%	9	0	0%	
zone centrale	3	1	33,3%	4	0	0%	
Taille tumorale							0,53
pTmi	0	0	0%	1	1	1,2%	
pT1a (< 5mm)	6	3	50%	20	3	15%	
pT1b (5 à 10 mm)	35	8	22,9%	83	16	19,3%	
pT1c (10 à 20 mm)	46	13	28,3%	132	45	34,1%	
pT2 (> 20 mm)	13	5	38,5%	45	19	42,2%	
Type histologique							
CCI	69	22	31,9%	222	66	29,7%	0,8
CLI	14	2	14,3%	36	12	33,3%	
autres types	17	5	29,4%	23	6	26,1%	
Grade nucléaire							
SBR 1	18	5	27,8%	60	12	20%	0,06
SBR 2	53	14	26,4%	135	39	28,9%	
SBR 3	29	10	34,5%	84	32	38,1%	
non gradable	0	0	0%	2	1	50%	
Engainement périnerveux							
+	12	3	25%	30	15	50%	0,3
-	88	26	29,5%	251	69	27,5%	
Emboles lymphatiques							
+	27	12	44,4%	43	28	65,1%	0,24
-	73	17	23,3%	238	56	23,5%	
Emboles vasculaires							
+	8	4	50%	18	11	61%	0,6
-	92	25	27,2%	263	73	27,8%	
Récepteurs hormonaux							
RE+	85	25	29,4%	250	74	29,6%	0,8
RE-	15	4	26,7%	30	9	30%	
RP+	64	20	31,3%	188	60	31,9%	0,7
RP-	36	9	25%	92	23	25%	
non gradable		0	0%	1	1	100%	
Statut HER2							
+	4	1	25%	27	8	29,6%	0,83
-	96	28	29,2%	253	75	29,6%	
non gradable		0		1	1	100%	
Carcinome in situ associé	68	20	29,4%	224	68	30,4%	0,21
bas grade	4	1	25%	7	1	14,3%	
grade intermédiaire	37	15	40,5%	124	33	26,6%	
haut grade	16	4	25%	66	28	42,4%	
non gradable	11	0	0%	27	6	22,2%	

Tableau 8 : Caractéristique histologique des tumeurs dans les populations N+

Le type de chirurgie (Tableau 9)

Nous avons rapporté 2 cas de mastectomie totale et 27 cas de mastectomie partielle parmi les patientes N+ du groupe OSNA (groupe A). Soixante et onze patientes du groupe B ont bénéficié d'une chirurgie conservatrice au niveau mammaire et 13 patientes d'une mastectomie totale ($p=0,43$).

Caractéristiques	OSNA (A)			HES et IHC (B)			p
Type de chirurgie	N	N GS+	%	N	N GS+	%	<i>0,43</i>
mastectomie totale	12	2	16,7%	31	13	41,9%	
mastectomie partielle	88	27	30,7%	250	71	28,4%	
Nombre de patientes	100	29	29%	281	84	29,9%	

Tableau 9 : Type de chirurgie chez les patientes N+

Le délai avant le début du traitement adjuvant chez les patientes N+

Le temps avant le traitement adjuvant est le temps écoulé entre la première chirurgie et le début de la chimiothérapie, de la radiothérapie, de l'hormonothérapie ou avant la deuxième chirurgie si celle-ci est réalisée après la chimiothérapie.

Le délai avant le traitement adjuvant dans le groupe A est de 44 jours en moyenne. Dans le groupe B, ce temps est de 58 jours en moyenne. ($p=0,01$)

technique	N	Moyenne (jours)	Moyenne e de l'IC à 95%		Minimum	Maximum	P
HES et IHC	80	58.8	51.6859	65.9391	14	212	0,01
OSNA	29	43.4	38.3988	48.4288	20	82	
Différence		15.4	3.2250	27.5725			

Tableau 10 : Le temps avant le traitement adjuvant

Les discordances :

On retrouve un cas de discordance dans la deuxième phase de l'étude. Nous rappelons que dans cette phase, la totalité du ganglion est broyé et analysé par la méthode OSNA. Une étude immunohistochimique est réalisée sur les résidus de ganglion. Cette analyse a ainsi permis de mettre en évidence des cellules tumorales isolées alors que le résultat de la méthode OSNA est négatif. Cette patiente n'a pas été réopérée.

Le taux de reprise chirurgicale (tableau 10)

Dans le groupe OSNA, on note un taux de reprise chirurgicale de 9% : soit pour un curage axillaire, soit pour des marges chirurgicales insuffisantes. Pour 3 patientes, ayant bénéficié du protocole OSNA au cours de sa phase d'évaluation, le curage axillaire est réalisé au cours d'une seconde intervention car le résultat n'avait pas été rendu en peropératoire au chirurgien. On peut considérer que ces patientes n'auraient pas été réopérées dans le cadre d'une analyse OSNA réelle.

Six patientes (6%) seulement auraient été réopérées grâce au protocole OSNA contre 109 dans la population de référence (38,8%). Quarante trois patientes (15,3%) sont reprises au bloc opératoire exclusivement pour un curage axillaire dans la population de référence.

Concernant les reprises par mastectomie, 5 patientes ont une seconde intervention dans le groupe 1 (5%) et 36 dans le groupe 2 (12,81%).

Au total, 9% des patientes du groupe OSNA ont été reprises au bloc opératoire contre 38,8% des patientes du groupe histologie standard. (**$p=0,01$**)

Population	OSNA		histologie standard		P
	N	%	N	%	
Nombre de patientes	100		281		
Pour marges	5	5%	36	12,8%	
Pour curage	3	3%	43	15,3%	
curage & marges	1	1%	30	10,7%	
TOTAL des reprises	9	9%	109	38,8%	0,01

Tableau 11 : Type de reprise chirurgicale

L'envahissement des ganglions non sentinelles (tableau 12)

Nous avons également recherché le taux d'envahissement des ganglions non sentinelles en fonction de la taille des métastases ganglionnaires.

Au total, 18,1% des curages axillaires réalisés ont retrouvé une atteinte des ganglions non sentinelles.

Dans 9 cas sur les 114 patientes avec une atteinte ganglionnaire, le curage axillaire n'a pas été réalisé. Il s'agissait de 5 cas d'envahissement sous forme de cellules tumorales isolées et de 4 cas d'envahissement micrométastatique.

Quand le ganglion sentinelle était porteur d'une macrométastase, d'une micrométastase ou de cellules isolées, l'envahissement du curage axillaire complémentaire est respectivement observé dans 23%, 15,6% et 8,3%.

Résultat curage	Macrométastases		Micrométastases		Cellules isolées		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Négatif	37	77%	38	84,4%	11	91,7%	86	81,9%
Positif	11	23%	7	15,6%	1	8,3%	19	18,1%
non réalisé	0		4		5		9	
TOTAL	48		49		17		114	

Tableau 12 : Envahissement des ganglions non sentinelles

DISCUSSION

Evaluation de la méthode OSNA dans la littérature

Méthode

Depuis quelques années, différentes études ont recherché la sensibilité et la spécificité de la méthode OSNA. Dans ces études, les ganglions sentinelles ont été coupés en 2 à 4 tranches nommées a, b, c, et d. Les tranches a et c sont analysées par la méthode OSNA et les tranches b et d en histologie standard. [49-50, 53-54, 65-68]

La méthode OSNA a fait la preuve de son efficacité. L'histologie conventionnelle associée à l'immunohistochimie a été utilisée comme le standard dans ces études. En cas de discordance une technique de QRT-PCR était réalisée.

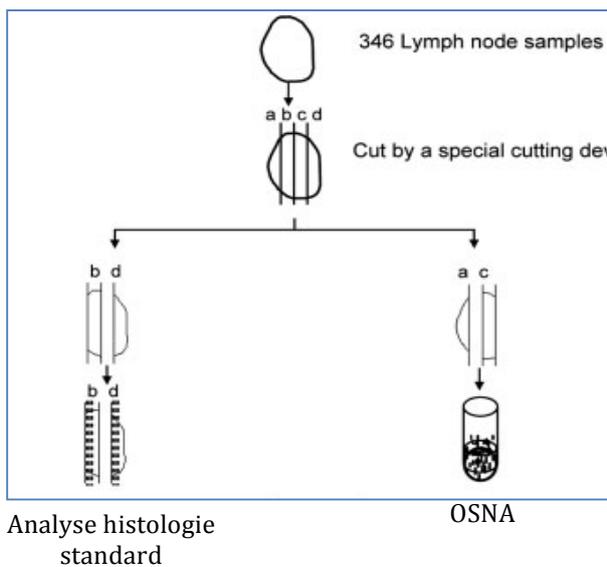


Image 1 : Méthode de répartition alternée des tranches du ganglion sentinelle (Visser et al.)[49]

Sensibilité et spécificité

Sa sensibilité varie dans les études de 82,7% pour Feldman *et al.* [67] à 100% pour les équipes de Schem [50] et Khaddage [66]. La spécificité de la méthode est de 100% dans l'étude de Tsujimoto *et al.* (cf: tableau 13)

Feldman et son équipe ont trouvé une sensibilité plus faible de l'OSNA parce qu'ils ont choisi de couper des tranches plus fines (1mm vs 2mm) et d'analyser de façon plus exhaustive la 2^{ème} moitié du ganglion.

Toutes ces études ont confirmé que la méthode OSNA était une méthode applicable en pratique courante. Cette technique a été décrite comme reproductible, fiable et rapide pour l'examen per opératoire du ganglion sentinelle dans le cancer du sein.

Auteur	Nombre de patientes	nombre de ganglions axillaires	sensibilité de l'OSNA	spécificité de l'OSNA	Taux de concordance
Tsujimoto, 2011 [53]	101	325	95,6%	100%	98,2%
Visser, 2008 [49]	32	346	95,3%	97,1%	96,8%
Schem, 2009 [50]	93	343	100%	95,6%	95,5%
Khaddage, 2011 [66]	46	80	100%	98,4%	98,7%
Snook, 2011 [65]	194	395	91,7%	96,9%	96%
Tamaki, 2011 [54]	34	124	95,0%	97,1%	92,6%
Feldman, 2011 [67]	496	1044	82,7%	97,7%	95,8%
Bernet, 2011 [68]	-	181	98,2%	94,8%	99,5%

Tableau 13 : Spécificité et sensibilité de l'OSNA dans la littérature

Les discordances :

Dans ces différentes études, la plupart des cas discordants entre l'histologie standard et la méthode OSNA sont dus à un biais d'allocation des tissus du ganglion. En effet, la partie du ganglion analysée par la technique OSNA est différente de celle analysée en histologie standard. La métastase peut envahir tout le ganglion ou n'être présente que dans une partie de celui-ci. [50-69]

Après exclusion de ces discordances, la sensibilité et la spécificité de la méthode OSNA est acceptable pour l'utilisation de cette méthode en pratique courante.

Tamaki et son équipe [54] ont retrouvé 2 cas de faux négatif où la tumeur n'exprimait pas la cytokératine 19. Ils n'ont pas donné de renseignements sur l'histologie de ces 2 tumeurs.

Les faux positifs

Les faux positifs sont rares. Ils correspondent à la contamination du prélèvement par des cellules épithéliales bénignes ou des cellules mammaires bénignes exprimant la cytokératine 19. L'inclusion de cellules épithéliales mammaires dans le ganglion axillaire peut créer le même phénomène. [51] Pour éviter ces faux positifs, il convient de minimiser les risques de contamination en prélevant les ganglions sentinelles avec rigueur et en retirant de façon soigneuse le tissu péri-ganglionnaire. Un scalpel stérile différent doit être utilisé pour chaque ganglion afin de ne pas contaminer un ganglion sain avec du tissu métastatique d'un autre ganglion. Ainsi tout le matériel entrant en contact avec le ganglion doit être changé entre chaque échantillon.

Les faux positifs dus aux cellules mammaires correspondant à une glande mammaire surnuméraire ou aux *Mullerian inclusions* bénignes présentes dans les ganglions axillaires ne peuvent être évités.

Les faux négatifs

Le taux de faux négatif est également très bas (0,5%) [51] et correspondrait aux tumeurs n'exprimant pas la cytokératine 19.

Pour Parikh et al. 20,5% des tumeurs triples négatives des patientes de moins de 40 ans n'expriment pas la cytokératine 19. [70]

Les anatomopathologistes de notre centre réalisent de façon systématique une recherche d'expression de la CK 19 sur la tumeur primitive. Cette pratique permet d'éviter ces faux négatifs.

La détection des métastases

Nous avons choisi pour notre étude de comparer la méthode OSNA à l'histologie standard associée à l'immunohistochimie.

Nous n'avons pas trouvé de différence significative entre le taux de positivité dans nos deux populations (29% vs 29,9%).

Nous n'avons pas trouvé de différence significative entre la détection des micro ou des macrométastases dans cette étude. ($p=0,35$)

Dans la littérature, plusieurs auteurs ont comparé la méthode OSNA avec l'histologie conventionnelle.

Sysmex® a fourni un taux de 28,2% de positivité sur les larges études réalisées depuis l'utilisation de la méthode OSNA de façon courante. Notre résultat est proche de ce chiffre. (29% vs 28,3%)

Bernet Vegué *et al.* [71] ont comparé la positivité dans un groupe de ganglions sentinelles analysés en histologie standard et en immunohistochimie (n=478 ganglions) avec un groupe de ganglions sentinelles analysés en totalité avec la méthode OSNA (n=211 ganglions). Dans leur étude, ils n'ont pas retrouvé de différence significative concernant la discrimination « négatif » ou « positif » ($p=0,28$). Mais ils ont noté une différence significative dans la répartition macrométastases, micrométastases et présence de cellules isolées. Cette différence est en faveur de l'OSNA qui serait plus discriminant pour les métastases de petite taille et les cellules tumorales isolées ($p=0,0001$). Contrairement aux autres auteurs, Bernet *et al.* ont considéré que la positivité dans le tube dilué (< 100 copies d'ARNm de CK19/ μ L) correspondait à la présence de cellules isolées. Ceci n'était pas recommandé par Sysmex®. D'après la littérature et Sysmex®, les cellules isolées (métastases $\leq 0,2$ mm) ne sont pas identifiées par la méthode OSNA. Dans cette étude, les 2 populations n'ont pas été randomisées au hasard. Les auteurs ne se sont pas intéressés aux caractéristiques cliniques et histologiques pouvant influencer la sensibilité de la méthode OSNA.

Une seconde étude a comparé la méthode OSNA à l'analyse extemporanée des ganglions sentinelles par coupes à congélation. Osako *et al.* [51] ont ainsi comparé le taux de ganglions sentinelles positifs chez 531 patientes dont l'analyse a été réalisée grâce à la méthode OSNA avec le taux de ganglions sentinelles positifs chez 618 patientes dont l'analyse a été réalisée grâce à la méthode de coupe à congélation. Contrairement à nous, les auteurs ont mis en évidence une différence significative entre la méthode OSNA et les coupes à congélation. Cette différence est en faveur de la méthode OSNA (22,8% de positivité versus 17,6% : $p=0,036$) Cette différence est observée particulièrement dans la

détection des micrométastases (8,7% vs 4,5% : $p=0,0064$). En effet, la différence n'était pas significative pour la détection des macrométastases. (14,1% vs 13,1% : $p=0,68$)

Ceci peut être expliqué de 2 façons différentes :

- Dans notre étude, nous avons considéré les patientes avec une atteinte sous forme de cellules isolées (N0i+) comme positive. Cette option a été choisie car la majorité des patientes dans cette situation ont subi un curage axillaire (12/16). Ceci augmente le taux de positivité dans le groupe histologie standard et immunohistochimie et diminue la sensibilité de la méthode OSNA comparée à la technique conventionnelle, la méthode OSNA ne détectant pas les atteintes sous forme de cellules isolées.

Dans la littérature et particulièrement dans l'étude de Osako les patientes N0i+ ont été considérées comme négatives car les nouvelles recommandations conseillent de ne pas pratiquer de curage axillaire systématique dans ce cas. Mais chaque équipe a une conduite à tenir différente face à ces cellules isolées.

-De plus Osako et son équipe ont choisi de comparer la méthode OSNA avec la méthode des coupes à congélation (FZ) en extemporané avec des coupes de 2mm. Dans notre étude, nous avons choisi de comparer l'OSNA à l'histologie standard associée à l'immunohistochimie. Nous savons d'après les données de la littérature que la sensibilité de la FZ est moindre comparée à celle de l'histologie standard associée à l'immunohistochimie, principalement pour les micrométastases (Sensibilité de 44 à 95,8% dans la littérature). Les anatomopathologistes de notre Centre réalisent une étude minutieuse des ganglions sentinelles avec des niveaux de coupe nombreux et une étude immunohistochimique. Cela explique en partie l'absence de différence significative dans la détection des micrométastases.

Feldman *et al.* [67] ont différencié dans leur étude un sous-groupe dont l'étude du ganglion sentinelle était réalisée en peropératoire par cytologie d'apposition(IC). Ils ont trouvé une différence significative entre l'OSNA et l'IC pour la détection des macrométastases. (Sensibilité de l'OSNA, 85.5%; Sensibilité de l'IC, 63%; $p =0,0018$)

Dans la littérature ou dans notre étude, l'OSNA n'est pas plus sensible que l'histologie standard associée à l'immunohistochimie quand la totalité du ganglion est analysée par l'une ou l'autre méthode si nous considérons les cellules isolées comme positives. Mais l'OSNA est plus sensible que les autres méthodes d'analyse peropératoire.

Les facteurs cliniques pouvant influencer la sensibilité de l'OSNA

Nous avons trouvé dans notre étude une différence significative pour cette caractéristique. En effet, la répartition des patientes avec une atteinte ganglionnaire dans le groupe OSNA comparée au groupe histologie standard montre une détection plus importante de métastases chez les patientes de plus de 50 ans dans le groupe OSNA. (OSNA : 23/78 patientes, 29,5% ; histologie standard : 53/199 patientes, 26,6% : $p=0,02$)

Nous avons trouvé une différence significative entre le mode de diagnostic clinique ou radiologique. Dans la population OSNA, le mode de diagnostic clinique a été trouvé plus fréquemment ($p=0,0009$). A l'inverse, dans le groupe histologie standard, le mode de diagnostic radiologique a été trouvé plus fréquemment ($p<0,00001$). Cet élément est indépendant de la taille tumorale.

Dans la littérature, de rares auteurs se sont intéressés aux facteurs pouvant influencer la sensibilité de l'OSNA.

Osako et son équipe se sont intéressés aux facteurs cliniques pouvant améliorer la sensibilité de la méthode OSNA. Pour Osako et son équipe [51], la méthode OSNA détecterait plus de métastases chez les patientes ménopausées (FZ 12,3% vs OSNA 25,5% : $p=0,0001$) et chez les patientes de plus de 40ans (FZ 16,5% vs OSNA 23,4% : $p=0,036$).

La répartition en fonction de l'âge est à analyser avec réserve. Une relation entre les 2 facteurs ne peut être clairement identifiée à partir de ces données. Dans notre étude, nous ne montrons pas de relation entre l'âge et l'envahissement ganglionnaire. Nous ne montrons pas d'augmentation des atteintes ganglionnaires chez les patientes jeunes et âgées. [51-72]

Les facteurs anatomopathologiques pouvant influencer la sensibilité de l'OSNA

Dans notre étude, nous n'avons retrouvé aucun facteur histologique tumoral influençant la détection des métastases par l'OSNA. Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre nos 2 populations concernant la localisation tumorale, la taille

tumorale, le type histologique, le grade nucléaire, la présence d'embolies lymphatiques ou vasculaires, la présence de récepteurs hormonaux et le statut HER 2.

Pour Osako *et al.* [51] la méthode OSNA détecterait plus de métastases ganglionnaires quand il existait un envahissement de la graisse péri ganglionnaire ($p=0,012$) ou des embolies lymphatiques et vasculaires ($P=0,042$). Nous n'avons pas retrouvé cette différence dans notre étude. L'envahissement de la graisse péri-ganglionnaire n'était pas précisé dans notre étude. Ils ont décrit une meilleure détection des métastases pour les tumeurs micro-invasives dans le groupe OSNA. Cette situation peut être expliquée par la taille plus petite des métastases dans ces tumeurs. [73-76] Dans notre étude, il n'y avait pas de tumeurs micro-invasives dans le groupe OSNA.

Concernant les petites tumeurs classées pT1a, le taux de positivité semble plus élevé dans le groupe OSNA, 50% des patientes pT1a de ce groupe avaient une atteinte ganglionnaire. Dans le groupe de référence, ce taux est de 15%. Il semblerait que la méthode OSNA détecterait mieux les métastases pour les tumeurs de petite taille que l'histologie conventionnelle associée à l'immunohistochimie.

Si nous avons considéré la présence de cellules isolées comme négative dans notre étude, nous aurions trouvé une influence significative de la taille tumorale dans la détection des métastases ganglionnaires par la méthode OSNA. La méthode OSNA serait meilleure que l'histologie standard pour la détection des métastases ganglionnaires pour les tumeurs de petite taille (pT1a et pT1b) ($p=0,03$). Comme pour Osako et les métastases ganglionnaires des tumeurs microinvasives, cette situation peut être expliquée par la taille plus petite des métastases en cas de petite tumeur.

En effet, la méthode OSNA analyse la totalité du ganglion sentinelle et pourrait détecter les micrométastases de façon plus exhaustive que l'histologie standard. Cette différence est accentuée si nous considérons la présence de cellules isolées comme négative.

Dans notre étude comme dans la littérature, l'utilisation d'un radio-isotope et d'un colorant bleu (bleu patente au Centre Alexis Vautrin : OSNA 32,1% vs HES 29,8% : $p=0,87$) ne modifie pas l'efficacité de la méthode OSNA. [53]

Le taux d'identification des ganglions sentinelles au CAV par une méthode combinée est de 93,1%.

L'envahissement des ganglions non sentinelles

Nous avons retrouvé dans notre population de référence 16 patientes classées N0i+ et une patiente dans notre population OSNA (cas discordant). Parmi ces 17 patientes, 12 ont subi une seconde intervention avec un curage axillaire.

Dans notre étude, une patiente parmi les 12 classées (N0i+) ayant eut un curage axillaire avait 3 ganglions positifs sur le curage définitif (8,3%). Les 12 patientes réopérées ont été prises en charge avant 2010.

Dans le cas où une micrométastase a été découverte dans le ganglion sentinelle, le taux de positivité du curage axillaire est de 15,6%. Enfin, dans le cas où le ganglion sentinelle était porteur d'une macrométastase, le taux de positivité du curage axillaire est de 23%. Au total, 18,1% des curages réalisés ont retrouvé une atteinte des ganglions non sentinelles dans notre étude. Notre taux est plus faible que dans la littérature. Cela peut être expliqué par notre faible effectif de patientes N+ au niveau du ganglion sentinelle et par le choix de nos patientes pour le ganglion sentinelle.

Nous retrouvons une atteinte limitée au ganglion sentinelle dans 40 à 60% des cas dans la littérature. [78] Beaucoup de patientes subissent ainsi un curage axillaire « abusif ».

Le taux d'envahissement des ganglions non sentinelles varie en fonction du type d'atteinte métastatique. En effet, l'analyse des ganglions sentinelles en histologie standard et en immunohistochimie permet de différencier les macrométastases (> 2mm), les micrométastases (>0,2mm et ≤ 2mm) et les cellules tumorales isolées (<0,2mm). [79] Pour ces 3 situations, les taux d'atteinte des ganglions non sentinelles sont variables dans la littérature. Dans l'essai AMAROS, ces taux sont respectivement de 41, 18 et 18% en cas d'atteinte par une macro, une micrométastase ou des cellules tumorales isolées. [80]

Dans sa méta-analyse, Van la Parra et son équipe [78] ont recherché les facteurs clinico-pathologiques pouvant influencer l'envahissement des ganglions non sentinelles quand le ganglion sentinelle est positif. Le taux d'envahissement des ganglions non sentinelles variait de 24 à 65,7% (en moyenne 38%) ce qui est plus élevé que dans notre population (18,1%). Ce taux n'était plus que de 17% pour les métastases de moins de 2mm. (15,6% dans notre étude) et de 51% en cas de macrométastases. Les facteurs de risque d'envahissement des ganglions non sentinelles retrouvés dans cette étude sont :

- La taille de la métastase ganglionnaire (>2mm)**
- Une rupture capsulaire du ganglion

- >1 ganglion sentinelle envahi
- <1 ganglion sentinelle indemne
- Un ratio >50% de ganglions sentinelles envahis
- Une taille tumorale > 2cm**
- La présence d'embolies lymphatiques ou vasculaires sur la pièce**

Trois de ces facteurs sont communs à ceux retenus par l'ASCO [4]:

- La taille de la métastase ganglionnaire
- La taille tumorale
- La présence d'embolies vasculaires

Dans notre étude nous nous sommes intéressés exclusivement à la taille de la métastase ganglionnaire et nous avons montré une différence liée à la taille des métastases dans le ganglion sentinelle (15,6% pour les micrométastases vs 23% pour les macrométastases).

Ces études nous font penser que l'utilisation de modèles mathématiques pourrait éviter un curage axillaire systématique pour certaines patientes. Le risque est de méconnaître une atteinte ganglionnaire non sentinelle.

L'utilisation de nomogramme est également évaluée dans plusieurs études. Le seuil accepté par les auteurs est un risque de 10% pour ne pas pratiquer de curage axillaire complémentaire. Nous avons retrouvé dans la littérature 9 modèles mathématiques [81] : les nomogrammes du Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC), le Mayo nomogramme développé par Degnim *et al.*, le nomogramme de Cambridge développé par Pal *et al.*, le nomogramme de Stanford développé par Kohrt *et al.* Trois scores ont également été développés : le score de Tenon, le score du M.D. Anderson Cancer Center (MDA score), et le score de Saidi *et al.* et 2 modèles de partitions récursives développés par Kohrt *et al.* (RP-ROC et CART). Coutant *et al.* [81] ont regroupé dans leur étude ces différents modèles mathématiques qui semblent être prometteurs mais dont la validation définitive sur de larges populations en prospectif reste à faire.

Pronostic des micrométastases et cellules isolées

La méthode OSNA permet de repérer les métastases supérieures à 0,2mm. [49-50] Elle ne permet pas de mettre en évidence les cellules tumorales isolées dans les ganglions

sentinelles. L'utilisation de cette méthode implique que nous avons choisi d'ignorer l'atteinte ganglionnaire sous forme de cellules isolées. Dans notre population standard, nous avons considéré cette atteinte comme positive.

Notre unique cas de discordance au niveau du ganglion sentinelle dans la 2^{ème} phase de l'étude en faveur de l'immunohistochimie correspondait à la présence de cellules isolées sur les résidus tumoraux du scalpel.

Mais pouvons-nous assimiler le pronostic des patientes N0i+ à celui des patientes N0 ?

Actuellement, la pratique du curage axillaire est en pleine controverse chez les patientes N0i+. [83] La présence de cellules isolées est-elle prédictive d'une atteinte régionale plus importante ? La 6^{ème} édition de l'AJCC considère ces atteintes comme négative. [Annexe 9,84]

Cserni *et al.* dans leur méta-analyse ont regroupé 25 études qui ont recherché le risque d'atteinte des ganglions non-sentinelles en cas de métastases de petite taille au niveau des ganglions sentinelles. Ils ont estimé le taux d'envahissement des ganglions non sentinelles à 20,2% et ils ont montré que ce risque était lié à la taille de la métastase ganglionnaire. Si seule l'immunohistochimie mettait en évidence la métastase, le taux était alors de 9%. [85]

Pour Viale *et al.*, ce taux était de 21,8% dans son étude concernant 109 patientes présentant une atteinte micrométastatique du ganglion sentinelle. Il a montré que le taux d'envahissement des ganglions non sentinelles était corrélé à la taille de la métastase. Il a distingué ainsi deux populations dans son étude. La première population était porteuse de micrométastases de plus de 1mm et la seconde présentait une atteinte sous forme de micrométastases de moins de 1mm ou de cellules tumorales isolées. Le taux d'envahissement des ganglions non sentinelles était respectivement de 30,2% et 16,2%. La différence était significative. ($p=0,02$) [86]

Viale *et al.* n'ont pas montré d'autres facteurs histologiques pouvant influencer l'atteinte des ganglions non sentinelles.

Si nous nous intéressons plus spécifiquement aux patientes présentant une atteinte ganglionnaire sous forme de cellules isolées. (N0i+)

Dans l'étude de Cox *et al.* le taux d'envahissement des ganglions non sentinelles en cas d'atteinte sous forme de cellules isolées chez 107 patientes était de 9,3%.[87] Ceci est comparable à notre étude mais notre effectif de patientes N0i+ était faible.

Reed et son équipe ont suivie pendant 4,9 ans, 1259 patientes qui présentaient un cancer du sein et qui ont bénéficié de la technique du ganglion sentinelle. Vingt cinq patientes présentaient une atteinte axillaire sous forme de cellules tumorales isolées. Aucune des 13 patientes (N0i+) ayant subit un curage axillaire n'avait d'atteinte des ganglions non sentinelles. Deux patientes (8%) N0i+ ont présenté une récurrence à distance, contre 14 % des patientes avec une micrométastase dans le ganglion sentinelle. Reed a conclu que le curage axillaire ne doit pas être systématique en cas d'envahissement du ganglion sentinelle par des cellules isolées. [88]

Pour Rijk *et al.* le taux d'envahissement des ganglions non sentinelles en cas de ganglion sentinelle porteur de cellules tumorales isolées est de 7%.[89]

Dans sa méta-analyse, Van Deurzen [90] a regroupé 29 études dont l'étude multicentrique de Houvenaeghel (n=187 patientes N0i+) pour obtenir un effectif de 836 patientes avec une atteinte ganglionnaire sous forme de cellules tumorales isolées. Le taux d'atteinte des ganglions non sentinelles variait de 0 à 27%. Le taux global dans la méta-analyse était de 12,3% (IC à 95% : 9,5-15,7%). Cette disparité a été expliquée par le fait qu'il n'y a pas d'homogénéité dans la définition des cellules tumorales isolées entre les différentes études.

Ces différentes études sont plutôt favorables à l'abstention de curage axillaire en cas d'envahissement du ganglion sentinelle par des cellules isolées.

De Boer et son équipe ont publié dans le *New England Journal of medicine* en 2009 une large étude sur le suivi des patientes atteintes d'un cancer du sein à un stade précoce. Ils ont suivi 2707 patientes pendant 5,1 ans. Ils ont comparé le taux de suivi sans récurrence de 3 groupes de patientes : [91]

- Les patientes sans atteinte ganglionnaire qui n'ont pas reçu de thérapie adjuvante systémique. (Chimiothérapie ou hormonothérapie)

- Les patientes avec une atteinte ganglionnaire sous forme de cellules isolées ou de micrométastases qui n'ont pas reçu de traitement adjuvant systémique.

- Les patientes avec une atteinte ganglionnaire sous formes de cellules isolées ou de micrométastases qui ont reçu un traitement adjuvant systémique.

Ils ont mis en évidence une diminution significative du taux de survie sans récurrence à 5 ans pour les patientes présentant une atteinte sous forme de cellules isolées sans traitement adjuvant systémique versus les patientes sans atteinte ganglionnaire qui n'ont pas reçu de traitement adjuvant (77,2% vs 85,7%, $p < 0,001$). Le taux d'incidence d'un événement pendant les 5 premières années est de 1,50 (IC 95% : 1,15-1,94) pour les patientes ayant des cellules tumorales isolées au niveau axillaire et qui n'ont pas eu de traitement complémentaire systémique comparé aux patientes sans envahissement ganglionnaire et sans traitement complémentaire systémique.

Ils ont mis également en évidence une diminution significative du taux de survie sans récurrence à 5 ans pour les patientes avec une atteinte ganglionnaire sous forme de cellules isolées qui n'ont pas reçu de traitement adjuvant systémique comparé au même type de patientes qui ont reçu un traitement adjuvant systémique (77,2% vs. 83,0%, $p = 0,04$). Le taux d'incidence de survenu d'un événement pendant les 5 premières années est de 0,57 (IC 95% : 0,45-0,73) pour les patientes N0i+ recevant un traitement adjuvant systémique comparé aux patientes N0i+ ne recevant pas de traitement.

Pour De Boer, l'envahissement ganglionnaire axillaire par des cellules isolées reste ainsi un élément influençant le pronostic de la maladie. Dans sa méta-analyse [82], De Boer est arrivé aux mêmes conclusions mais les études avaient de petits effectifs et il n'y avait pas de standardisation concernant la classification micrométastase et cellule isolée.

Dans notre centre, ces cas sont discutés de façon systématique en RCP (Réunion de concertation pluridisciplinaire) afin de décider de la prise en charge de ces patientes. Le référentiel ONCOLOR utilisé comme aide à la décision au cours des RCP de notre Centre recommande de ne pas pratiquer de curage axillaire en cas de cellules tumorales isolées dans le ganglion sentinelle mais garde une réserve car ceci doit être confirmé par la RCP. Les recommandations de Saint Paul de Vence en 2009 continuent à conseiller la réalisation du curage axillaire en cas d'envahissement du ganglion sentinelle par des cellules tumorales isolées et certaines équipes ont choisi de continuer de réaliser un curage axillaire dans ce cas.

Le taux de reprise chirurgicale

Comme nous l'attendions, l'utilisation de la méthode OSNA fait baisser de façon significative le taux de reprise chirurgicale pour la réalisation du curage axillaire. (9% vs 38,8%, $p=0,01$)

Si nous nous intéressons aux reprises pour curage axillaire exclusivement, le taux est de 3% pour le groupe OSNA versus 15,3% pour le groupe histologie standard. Si nous considérons toutes les reprises chirurgicales ou un curage axillaire est réalisé, le taux est de 4% pour le groupe OSNA et 26% pour le groupe histologie standard. Concernant les reprises pour marges chirurgicales insuffisantes, le taux était de 5% dans le groupe OSNA et 12,8% dans le groupe histologie standard. Cette situation peut s'expliquer par la présence significativement plus fréquente de carcinome canalaire in situ dans le groupe histologie standard (68% pour l'OSNA versus 79,7% pour l'histologie standard : $p=0,03$). Ce carcinome in situ était marginal dans 28 cas dans le groupe histologie standard versus 1 cas dans le groupe OSNA. Les marges chirurgicales moyennes dans les deux groupes pour la composante infiltrante sont respectivement de 8,8 mm dans le groupe OSNA et 10 mm dans le groupe histologie standard. Pour la composante in situ ces marges sont de 4 mm en moyenne dans le groupe OSNA et de 6,3 mm dans le groupe histologie standard. Ceci peut nous faire penser que l'utilisation de la méthode OSNA influence les pratiques chirurgicales avec des reprises moins fréquentes concernant les marges chirurgicales car les patientes ne sont pas réopérées pour le curage axillaire.

Comme nous l'indiquons dans nos résultats, les 3 cas de reprise chirurgicale pour curage axillaire ont eu lieu pendant la phase d'évaluation où le résultat de l'OSNA était rendu de façon différée. La méthode OSNA est une technique utilisée en extemporané dont l'objectif est d'éviter de reprendre chirurgicalement les patientes pour le curage axillaire.

Dans la littérature, le taux de ré-intervention est très variable selon les équipes : de 20 à 50% en cas d'utilisation de la technique du ganglion sentinelle. [92] Dans leur étude, Talsma *et al.* [92] ont retrouvé un taux de 28,9% de ré-intervention (555 /1923 patientes) mais toutes leurs patientes n'avaient pas de diagnostic préopératoire. Avec les méthodes classiques d'examen extemporané, le taux de reprise est de 16,1% à 19,2% dans la littérature contre 30,8% en l'absence d'examen extemporané sur le ganglion sentinelle. Le centre Oscar-Lambret de Lille annonce un taux de reprise de 17% pour curage axillaire avec l'utilisation de l'examen extemporané standard. [12]

Dans notre étude, ce taux chute à 9% dans le groupe OSNA vs 38,8% dans le groupe histologie standard. Ces taux comprennent les reprises pour curage axillaire et marges chirurgicales insuffisantes. En effet, la sensibilité de l'OSNA est meilleure que pour l'examen extemporané classique par Frozen section ou Cytologie d'apposition (IC). Ces derniers ont respectivement une sensibilité de 44% à 95,8% et de 33% à 96% versus 82,7% à 100% pour l'OSNA. Le taux de reprise chirurgicale reste non négligeable après un examen extemporané standard (FZ ou IC). Après l'analyse OSNA, ce taux est quasi nul pour le curage axillaire car il n'y a plus de matériel pour faire un examen définitif. Les reprises concernent exclusivement les marges chirurgicales au niveau mammaire.

Cela permet une organisation du bloc opératoire plus simple car la programmation d'une deuxième chirurgie pour la même patiente est rare. La patiente est assurée que le traitement chirurgical se fera en un temps au niveau axillaire, ceci diminue le stress post opératoire concernant le résultat du ganglion sentinelle.

Sur le plan médical, le traitement adjuvant est délivré significativement plus rapidement à la patiente avec un délai moyen de 58,8 jours (IC 95% : 51-65 jours) en cas d'examen histologique standard *versus* 43,4 jours (IC 95% : 38-48 jours) après la méthode OSNA. La différence est de 15 jours en moyenne pour les patientes. Ce traitement peut-être la chimiothérapie, la radiothérapie ou l'hormonothérapie.

Le point de vue économique

Le coût total annuel pour le centre sur la base des données de notre population de patientes OSNA est de 535 875 euros si une tranche centrale est prélevée. En l'absence de prélèvement de tranche centrale, ce coût est de 527 170 euros. Ces chiffres ont été calculés sur la base de 200 patientes par an et 1,5 ganglions sentinelles par patiente.

Le coût pour l'histologie standard associée à l'immunohistochimie est de 565 962 euros. Pour une patiente, ces valeurs sont respectivement de 2679 euros, 2636 euros et 2830 euros.

Le bénéfice pour le centre par patiente est de 150 euros avec la tranche centrale versus 194 euros avec l'utilisation de l'OSNA seul. Si nous prenons en compte le défaut de remboursement, ce bénéfice est de 94 euros avec le prélèvement de la tranche centrale versus 54 euros. L'absence d'acte d'anatomopathologie explique cette différence de 40 euros. Nous notons ainsi une perte financière mais un gain de temps pour le laboratoire. (*Annexe 10*)

Cette analyse a été réalisé par l'entreprise *Sysmex*[®] à partir de nos données.

Limites de notre étude

Notre étude est une étude rétrospective, les données manquantes ne pouvaient pas être retrouvées.

Le mode de sélection de nos deux populations doit nous faire analyser nos résultats avec une certaine réserve car ces deux populations n'ont pas été randomisées au hasard dans chacun des groupes.

Nos deux populations étaient comparables concernant les caractéristiques des patientes, le mode de diagnostic et l'identification des ganglions sentinelles. Nous avons retrouvé une différence significative concernant le mode de biopsie et le quadrant du sein atteint ($p=0,01$). La présence d'emboles lymphatiques est également plus élevée dans le groupe OSNA ($p=0,009$).

La répartition en fonction du type histologique était également différente significativement ($p=0,03$) avec un nombre plus important de type histologique rare dans le groupe OSNA.

La présence d'un carcinome canalaire in situ était également plus fréquente dans le groupe histologie standard. ($p=0,03$) Ce phénomène pouvait augmenter le taux de reprise chirurgicale dans ce groupe.

L'interprétation des résultats doit être prudente et une étude prospective avec répartition aléatoire des patientes dans 2 cohortes pourrait être intéressante.

CONCLUSION

La méthode OSNA (*One step nucleic acid amplification*) est une technique de biologie moléculaire, rapide, fiable et reproductible. Différentes études ont montré que sa sensibilité et sa spécificité en faisaient une méthode valable en pratique clinique. Mais dans ces études, seulement la moitié du ganglion était analysé par la méthode OSNA.

Notre étude a permis de comparer deux populations ayant bénéficié chacune d'une des 2 méthodes : OSNA et histologie standard associée à l'immunohistochimie sur la totalité des ganglions. Ceci a permis de montrer qu'il n'y avait pas de différence significative entre l'OSNA et l'histologie standard pour déterminer si un ganglion était atteint ou pas. De plus, la technique OSNA permet de ne pas réopérer les patientes pour le curage axillaire et le taux de ré-intervention est significativement différent entre les 2 populations (9% vs 38,8% : $p=0,01$)

Contrairement à la littérature nous ne retrouvons pas de supériorité de l'OSNA pour la détection des micrométastases. En effet, l'analyse des ganglions sentinelles au Centre Alexis Vautrin est réalisée en histologie standard avec un nombre important de niveau de coupe et l'histologie est associée systématiquement à l'immunohistochimie.

L'utilisation de la méthode OSNA nous fait ignorer la présence ou non de cellules tumorales isolées au sein du ganglion sentinelle. Nous acceptons ainsi de ne pas proposer de traitement complémentaire à ces patientes. Les données de la littérature sont discordantes sur ce point mais majoritairement favorables à cette abstention thérapeutique.

Notre étude porte sur un faible effectif OSNA car la méthode a été récemment introduite au Centre Alexis Vautrin (Novembre 2007 pour la phase d'évaluation et Décembre 2010 pour l'utilisation en pratique courante) et un effectif plus important apporterait de la puissance à l'étude.

Si l'utilisation de l'OSNA se développe il sera indispensable d'investir dans une seconde machine pour analyser de façon simultanée les ganglions sentinelles de plusieurs patientes. Actuellement, 4 ganglions au maximum sont analysés simultanément.

BIBLIOGRAPHIE

1. BRETTE J.P., MATHELIN C., GAIRARD B., BELLOCQ J.P. *Cancer du sein*, Elsevier Masson 2007.
2. GIULIANO A.E., KIRGAND M., GUENTHER J.M., MORTON D.L. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994;3:391-401.
3. KRAG D.N., WEAVER D.L., ALEX J.C., FAIRBANK J.T. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg.Oncol.* 1993;2:335-9.
4. LYMAN G. H., GIULIANO A. E., SOMERFIELD M.R., et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2005 ;23 :7703-20.
5. CARTER C.L., ALLEN C, HENSON D.E. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24 740 breast cancer cases. *Cancer* 1989 ;63(1) :181-7.
6. KANE J.M., WINSTON J.S., WATROBA N., HURD T.C. Intraoperative pathologic evaluation of a breast cancer sentinel lymph node biopsy as a determinant for synchronous axillary lymph node dissection. *Ann Surg Oncol* 2001; 8:361-7.
7. LARSON D., WEINSTEIN M., GOLDBERG I. Edema of the arm as a function of the extent of axillary surgery in patients with stage I- II carcinoma of the breast treated with primary radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986;12:1575-1582.
8. GOLSHAN M., MARTIN W.J., DOWLATSHAHI K. Sentinel lymph node biopsy lowers the rate of lymphedema when compared with standard axillary lymph node dissection. *Am.Surg.* 2003;69:209-11.
9. VERVERS J .M., ROUMEN R.M., VINGERHOETS A.J. Risks, severity and predictors of physical and psychological morbidity after axillary dissection. *Eur. J. Cancer* 2001;37:991-9.
10. ERNST M.F., VOOGD A.C., BALDER W., KLINKENBIJL J.H., ROUKEMA J.A.: Early and late morbidity associated with axillary levels I-III dissection in breast cancer. *J Surg Oncol* 2002 ;79:151-5.

11. DAUPLAT M.-M., PENAULT-LLORCA F. Ganglion sentinelle et détection moléculaire du statut ganglionnaire. *Médecine Nucléaire* 2010 ;34 :23-26.
12. HOUPEAU J.L. ,BARANZELLIA M.-C., GIARDA S., CHAUVETA M.-P., ROBINA Y.-M., FARREA I., ANDREA C., VILAINA M.-O., BONNETERREA J. Évaluation de l'analyse peropératoire des ganglions « sentinelle » par biologie moléculaire (technique Gene Search BLN Assay) dans le cancer du sein : à propos de 126 patientes. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction* 2011 ;40 :297-304 .
13. OLSON J.A. Jr, McCALL L.M., BEITSCH P., WHITWORTH P.W., REINTGEN D.S., BLUMENCRANZ P.W., et al. American College of Surgeons Oncology Group Trials Z0010 and Z0011. Impact of immediate versus delayed axillary node dissection on surgical outcomes in breast cancer patients with positive sentinel nodes :results from American College of Surgeons Oncology Group Trials Z0010 and Z0011. *J Clin Oncol.* 2008 ;26(21) :3530-5.
14. GOYAL A., NEWCOMBE R.G., CHHABRA A., MANSEL R.E. Morbidity in breast cancer patients with sentinel node metastases undergoing delayed axillary lymph node dissection (ALND) compared with immediate ALND. *Ann Surg Oncol.*2008 ;15(1) :262-7.
15. CSERNI G., AMENDOEIRA I., APOSTOLIKAS N., BELLOCQ J.P., BIANCHI S., BUSSOLATI G., et al. Pathological work-up of sentinel lymph nodes in breast cancer. Review of curret data to be considered for the formulation of guideline. *Eur J Cancer* 2003 ;39 :1654-67.
16. FITZGIBBONS P.L., PAGE D.L., WEAVER D., THOR A.D., ALRED D.C., CLARCK G.M. et al. Prognostic factor in breast cancer. College of American Pathologists Concensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000 ;124 :966-78.
17. SCHWARTZ G.F., GIULIANO A.E., VERONESI U. Consensus conference comitee. Proceedings of the consensus conference on the role of the sentinel lymph node biopsy in carcinoma of the breast . *Cancer* 2002 ;94 :2542-51.
18. JENSEN A.J., NAIK A.M., POMMIER R.F., VETTO J.T., TROXELL M.L. Factors influencing accuracy of axillary sentinel lymph node frozen section for breast cancer. *Am J Surg.*2010 ;199(5) :629-35.
19. SHIVER S.A., CREAGER A.J., GEISINGER K., PERRIER N.D., SHEN P., LEVINE E.A. Intraoperative analysis of sentinel lymph nodes by imprint cytology for cancer of the breast. *Am J Surg* 2002;184(5):424-7.

20. NAGASHIMA T, SUZUKI M, YAGATA H, NIKAIDO T, HORIUCHI F, KODA K et al. Intraoperative cytologic diagnosis of sentinel node metastases in breast cancer. *Acta Cytol* 2003; 47: 1028 – 1032.
21. LEIDENIUS M.H., KROGERUS L.A., TOIVONEN T.S., VON SMITTEN K.J. The feasibility of intraoperative diagnosis of sentinel lymph node metastases in breast cancer. *J Surg Oncol* 2003; 84: 68–73.
22. SAUER T, ENGH V, HOLCK AM, SORPEBOL G, HEIM M, FURU I et al. Imprint cytology of sentinel lymph nodes in breast cancer. Experience with rapid, intraoperative diagnosis and primary screening by cytotechnologists. *Acta Cytol* 2003; 47: 768 – 773.
23. BEACH RA, LAWSON D, WALDROP SM, COHEN C. Rapid immunohistochemistry for cytokeratin in the intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes for metastatic breast carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003; 11: 45–50.
24. FORTUNATO L., AMINI M., FARINA M., et al. Intraoperative examination of sentinel nodes in breast cancer: is the glass half-full or half-empty? *Ann Surg Oncol* 2004;11:1005-10
25. MOTOMURA K., INAJI H., KOMOIKE Y., KASUGAI T., NAGUMO S., NOGUCHI S. et al. Intraoperative sentinel lymph node examination by imprint cytology on frozen sectioning during breast surgery. *Br J Surg* .2000 ;87(5) :597-601.
26. UPENDER S., MOHAN H., HANDA U., ATTRI A.K. Intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes in breast carcinoma by imprint cytology, frozen section and rapid immunohistochemistry. *Diagn Cytopathol*.2009 ;37(12) :871-5.
27. CHAN S.W., LAVIGNE K.A., PORT E.R., FEY J.V., BROGI E., BORGAN P.I., CODY H.S. Does the Benefit of Sentinel Node Frozen Section Vary Between Patients With Invasive Duct, Invasive Lobular, and Favorable Histologic Subtypes of Breast Cancer? *Ann Surg* 2008;247: 143–149.
28. TEW K., IRWIG L., MATTHEWS A., CROWE P., MACASKILL P. Meta-analysis of sentinel node imprint cytology in breast cancer. *Br J Surg* 2005;92(9):1068-80.
29. VERONESI U., PAGANELLI G., VIALE G., GALIMBERTI V., LUINI A., ZURRIDA S., et al. Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer :results in large series. *J Natl Cancer Inst*.1999 ;91(4) :368-73.
30. DABBS D.J., FUNG M., JOHNSON R. Intraoperative cytologic examination of breast sentinel lymph nodes: test utility and patient impact. *Breast J* 2004; 10(3):190-4.

31. BARRANGER E., ANTOINE M., GRAHEK D., CALLARD P., UZAN S. Intraoperative imprint cytology of sentinel nodes in breast cancer. *J Surg Oncol* 2004;86(3):128-33.
32. COX C., CENTENO B., DICKSON D. Accuracy of intraoperative imprint cytology for sentinel lymph node evaluation in the treatment of breast carcinoma. *Cancer* 2005 ;105 :13-20.
33. MOTOMURA K., NAGUMO S., KOMOIKE Y., KOYAMA H., INAJI H. Accuracy of imprint cytology for intraoperative diagnosis of sentinel node metastases in breast cancer. *Ann Surg* 2008 ;247 :839-42.
34. RUBIO I.T., KOROURIAN S., COWAN C., et al. Use of touch preps for intraoperative diagnosis of sentinel lymph node metastases in breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 1998;5:689–694.
35. TURNER R.R., HANSEN N.M., STERN S.L., et al. Intraoperative examination of the sentinel lymph node for breast carcinoma staging. *Am J Clin Pathol.* 1999;112:627–634.
36. CREAGER A.J., GEISINGER K. R., SHIVER S.A., PERRIER N.D., SHEN P., ANN SHAW J. et al. Intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes for metastatic breast carcinoma by imprint cytology. *Mod Pathol.*2002 ;15(11) :1140-7.
37. AIHARA T., MUNAKATA S., MORINO H. Touch imprint cytology and immunohistochemistry for the assessment of sentinel nodes in patients with breast cancer. *Eur J Oncol.* 2003 ;29 :845-8.
38. KRISHNAMURTHY S., MERIC-BERNSTAM F., LUCCI A., HWANG R.F., KUERER H.M., BABIERA G., AMES F.C., FEIG B.W., ROSS M.I., SINGLETARY E., HUNT K.K., BEDROSIAN I. A prospective study comparing touch imprint cytology, frozen section analysis and rapid cytokeratin immustain for intraoperative evaluation of axillary sentinel lymph nodes in breast cancer. *Cancer.*2009 ;115 :1555-62.
39. NÄHRIG J.M., RICHTER T., KUHN W., AVRIL N., FLATAU B., KOWOLIK J., HÖFLER H., WERNER M. Intraoperative Examination of Sentinel Lymph Nodes by Ultrarapid Immunohistochemistry. *The Breast Journal* 2003 ;9 : 277– 281.
40. LEIKOLA J.P., TOIVONEN T.S., KROGERUS L.A., VON SMITTEN K.A.J., LEIDENIUS M.H.K. Rapid Immunohistochemistry Enhances the Intraoperative Diagnosis of Sentinel Lymph Node Metastases in Invasive Lobular Breast Carcinoma. *CANCER* 2005 ;104 :14-19.

41. MIN C.J., TAFRA L., VERBANAC K.M. Identification of superior markers for polymerase chain reaction detection of breast cancer metastases in sentinel lymph nodes. *Cancer Res* 1998;58:4581-4.
42. MANZOTTI M., DELL'ORTO P., MAISONNEUVE P., ZURRIDA S., MAZZAROL G., VIALE G. Reverse transcription- polymerase chain reaction assay for multiple mRNA markers in the detection of breast cancer metastases in sentinel lymph nodes. *Int J Cancer* 2001;95: 307-12.
43. NOGUCHI S., AIHARA T., NAKAMORI S., et al. The detection of breast carcinoma micrometastases in axillary lymph nodes by means of reverse transcription-polymerase chain reaction. *Cancer* 1994;74: 1595-600.
44. BOSTICK P.J., HUYNH K.T., SARANTOU T., et al. Detection of metastases in sentinel lymph nodes of breast cancer patients by multiple-marker RT-PCR. *Int J Cancer* 1998;79:645-51.
45. HUGHES S.J., XI L., RAJA S., et al. A rapid, fully automated, molecular-based assay accurately analyzes sentinel lymph nodes for the presence of metastatic breast cancer. *Ann Surg* 2006;243:389-98.
46. WEIGELT B., VERDUIJN P., BOSMA A., et al. Detection of metastases in sentinel lymph nodes of breast cancer patients by multiple mRNA markers. *Br J Cancer* 2004;90:1531-1537.
47. SATO N., HOMMA K., TAKABATAKE D., NISHIMURA R., TSUJIMOTO M., et al. Multi-institutional evaluation of sentinel lymph node examination by One-step Nucleic acid Amplification assay in breast cancer : Performance of metastases detection and prediction of additional non-sentinel lymph node involvement . *Communiton ASCO* 2011.
48. CHU P.G., WEISS L.M. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology* 2002;40:403-439.
49. VISSER M., JIWA M., HORSTMAN A., BRINK A. A. T. P., POL R. P., VAN DIEST P., SNIJDERS P. J. F., MEIJER C. J. L. M : Intra-operative rapid diagnostic method based on CK19 mRNA expression for the detection of lymph node metastases in breast cancer. *International Journal of Cancer* 2008 ;122 :2562-2567.
50. SCHEM C., MAASS N., BAUERSCHLAG D. O., CARSTENSEN M. H., LÖNIN T., RÖDER C., BATIC O., JONAT W., TIEMANN K. : One-step nucleic acid amplification-a molecular method for the detection of lymph node metastases in breast cancer

- patients ;results of the German study group. *Virchows Archives* 2009 ;454 :203-210.
51. OSAKO T., IWASE T., KIMURA K., YAMASHITA K., HORII R., YANAGISAWA A., AKIYAMA F. Intraoperative molecular assay for sentinel lymph node metastases in early stage breast cancer. *Cancer* 2011 ;00 :1-10.
 52. LAYFIELD D. M., AGRAWAL A., ROCHE H., CUTRESS R.I. Intraoperative assessment of sentinel lymph nodes in breast cancer. *British Journal of Surgery* 2011 ;98 :4-17.
 53. TSUJIMOTO M., NAKABAYASHI K., YOSHIDOME K., et al. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clinical Cancer Research* 2007 ;13 :4807-4816.
 54. TAMAKI Y., AKIYAMA F., IWASE T., et al. Molecular detection of lymph node metastases in breast cancer patients : results of a multicenter trial using the one-step nucleic acid amplification assay. *Clinical Cancer Research* 2009 ;15 :2879-2884.
 55. NOTOMI T., OKAYAMA H., MASUBUCHI H., et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research* 2000 ;28 :E63.
 56. MORI Y., NAGAMINE K., TOMITA N., NOTOMI T. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochemical and biophysical research communications* 2001 ;289 :150-154.
 57. NAGAMINE K., HASE T., NOTOMI T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Mol Cell Probes* 2002;16:223 -9.
 58. ALVARENGA C. A., PARAVIDINO P. I., ALVARENGA M., DUFLOTH R., GOMES M., ZEFERINO L. C., SCHMITT F. Expression of CK19 in invasive breast carcinomas of special histological types: implications for the use of one-step nucleic acid amplification. *Journal of clinical pathology* 2011 ;64 : 493-497.
 59. BLUMENCRANZ P., WHITWORTH P.W., DECK K., ROSENBERG A., REINTGEN D., BEITSCH P., CHAGPAR A., JULIAN T., SAHA S., MAMOUNAS E., GIULIANO A., SIMMONS R. Sentinel node staging for breast cancer: intraoperative molecular pathology overcomes conventional histologic sampling errors. *Am J Surg* 2007 ;194 :426-432.
 60. Veys I., Durbecq V., Majjaj S., Schobbens J.C., Noterman D., Sirtaine N., Martin Martinez M.D., Hertens D., Feoli F., Bourgeois P., Nogaret J.M., Denis Larsimont D.

- Eighteen months clinical experience with the GeneSearch breast lymph node assay. *Am J Surg* 2009 ;198 :203-209.
61. MARTIN MARTINEZ M.D., VEYS I., MAJAJ S., LESPAGNARD L., SCHOBBERNS J.C., ROUAS G., FILIPPOV V., NOTERMAN D., HERTENS D., FEOLI F., BOURGEOIS P., DURBECQ V., LARSIMONT D., NOGARET J.M. Clinical validation of a molecular assay for intra-operative detection of metastases in breast sentinel lymph nodes. *The journal of cancer surgery* 2009 ;35 :387-392.
 62. VIALE G., DELL'ORTO P., BIASI M.O., et al. Comparative evaluation of an extensive histopathologic examination and real-time reverse-transcription-polymerase chain reaction assay for mammaglobin and cytokeratin 19 on axillary sentinel lymph nodes of breast carcinoma patients. *Ann Surg* 2008;247:136-42.
 63. Mansel R.E., Goya A., Douglas-Jones A., Woods V., Goyal S., Monypenny I., Sweetland H., Newcombe R.G., Jasani B. Detection of breast cancer metastasis in sentinel lymph nodes using intra-operative real time GeneSearch™ BLN Assay in the operating room: results of the Cardiff study. *Breast Cancer Res Treat* 2009 ;115:595–600.
 64. JULIAN T.B., BLUMENCRANZ P., DECK K., WHITWORTH P., BERRY D.A., BERRY S.M., ROSENBERG A., CHAGPAR A.B., REINTGEN D., BEITSCH P., SIMMONS R., SAHA S., MAMOUNAS E.P., GIULANO A. Novel intraoperative molecular test for sentinel lymph node metastases in patients with early-stage breast cancer. *Journal of clinical oncology* 2008 ;26 :3338-3345.
 65. SNOOK K. L., LAYER G. T., JACKSON P. A., DE VRIES C. S., SHOUSHA S., SINNETT H. D., NIGAR E., SINGHAL H., CHIA Y., CUNNICK G., KISSIN M. W. Multicentre evaluation of intraoperative molecular analysis of sentinel lymph nodes in breast carcinoma. *British Journal of Surgery* 2011 ;98 :527-535.
 66. KHADDAGE A., BERREMILA S. A., FOREST F., CLEMENSON A., BOUTEILLE C., SEFFERT P., PEOCH M. Implementation of molecular intra-operative assessment of sentinel lymph node in breast cancer. *Anticancer Research* 2011 ;31 :585-590.
 67. FELDMAN S., KRISHNAMURTHY S., GILLANDERS W., et al. A Novel Automated Assay for the Rapid Identification of Metastatic Breast Carcinoma in Sentinel Lymph Nodes. *Cancer* 2011 ;117 :2599-2607 .

68. BERNET L., CANO R., MARTINEZ M., et al. Diagnosis of the sentinel lymph node in breast cancer: a reproducible molecular method: a multicentric Spanish study. *Histopathology* 2011 ;58 :863–869.
69. DANIELE L., ANNARATONE L., ALLIA E., MARIANI S., ARMANDO E., BOSCO M., MACRI L., CASSONI P., D'ARMENTO G., BUSSOLATI G., CSERNI G., SAPINO A. Technical limits of comparison of step-sectioning, immunohistochemistry and RT-PCR on breast cancer sentinel nodes: a study on methacarn fixed tissue. *J Cell Mol Med* 2009;13:4042-50.
70. PARIKH R.R., QIFENG YANG Q., HIGGINS S. A., M.D., HAFFTY B. G. Outcomes in young women with breast cancer of triple-negative phenotype: the prognostic significance of ck19 expression. *J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 2008 ;70 : 35–42.
71. BERNET VEGUE L., MARTINEZ BENACLOCHA M., CANO MUNOZ R., SEVILLA CHICA F., TORRO J., BALLESTER SAPINA B., DE LA CAMARA DE LAS HERAS J.M. Molecular diagnosis of sentinel lymph nodes for breast cancer: One Step Ahead for Standardization. *Diagn Mol Pathol* 2011 ;20(1) :18-21.
72. WILDIERS H., VAN CALSTER B., VAN DE POLL-FRANSE L.V., et al. Relationship between age and axillary lymph node involvement in women with breast cancer. *Journal of clinical oncology* 2009;27: 2931-2937.
73. HANSEN N.M., GRUBE B., YE X., et al. Impact of micrometastases in the sentinel node of patients with invasive breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27:4679-4684.
74. CHEN S.L., HOEHNE F.M., GIULIANO A.E. The prognostic significance of micrometastases in breast cancer: a SEER population-based analysis. *Ann Surg Oncol.* 2007;14:3378-3384.
75. WADA N., IMOTO S., HASEBE T., OCHIAI A., EBIHARA S., MORIYAMA N. Evaluation of intraoperative frozen section diagnosis of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2004;34:113-117.
76. TRUONG P.T., VINH-HUNG V., CSERNI G., WOODWARD W.A., TAI P., VLASTOS G. The number of positive nodes and the ratio of positive to excised nodes are significant predictors of survival in women with micrometastatic node-positive breast cancer. *Eur J Cancer.* 2008;44:1670-1677.
77. PUYGRENIER M.: Le ganglion sentinelle dans le cancer du sein : expérience du Centre Alexis Vautrin. Thèse de Doctorat en médecine, Faculté de Médecine Nancy 2006.

78. VAN LA PARRA R.F.D., PEER P.G.M., ERNST M.F., BOSSCHA K. Méta-analysis of predictive factors for non-sentinel lymph node metastases in breast cancer patients with a positive SLN. *The Journal of Cancer Surgery* 2011 ;37 :290-299.
79. GREEN F. L., AMENDOEIRA I., APOSTOLIKAS N. American Joint Committee on Cancer Cancer staging Manual. 6th ed. New York, NY :Springer ;2002.
80. STRAVER M.E., MEIJNEN P., VAN TIENHOVEN G., VAN DE VELDE C.J., MANSEL R.E., BOGAERTS J., DUEZ N., CATALIOTTI L., KLINKENBIJL J. H., WESTENBERG H.A., VAN DER MIJLE H., SNOJ M., HURKMANS C., RUTGERS E.J. Sentinel node identification rate and nodal involvement in the EORTC 10981-22023 AMAROS trial. *Ann Surg Oncol* 2010 ;17(7) :1854-1861.
81. COUTANT C., ROUZIER R., OLIVIER C., BEZU C., MARPEAU O., DELPECH Y., UZAN S., DARAÏ E. Modèles prédictifs d'envahissement des ganglions non sentinelles en cas de métastases des ganglions sentinelles dans le cancer du sein. *Gynécologie obstétrique et fertilité* 2009 ;37 :160-166.
82. DE BOER M., VAN DIJCK J. A., BULT P., BORM G. F., TJAN-HEIJNEN V.: Breast cancer prognosis and occult lymph node metastases, isolated tumor cells, and micrometastases. *Journal national of the cancer institut* 2010 ;102 :410-425.
83. DEGNIM A. C., ZAKARIA S., BOUGHEY J.C., SOOKHAN N., REYNOLDS C., DONOHUE J. H., FARLEY D. R., GRANT C. S., et HOSKIN T. Axillary Recurrence in Breast Cancer Patients with Isolated Tumor Cells in the Sentinel Lymph Node [AJCC N0(i+)]. *Ann Surg Oncol* (2010) 17:2685–2689.
84. SINGLETARY S.E., ALLRED C., ASHLEY P., BASSETT L. W., BERRY D., BLAND K.I, et al. Staging system for breast cancer : revisions for the 6th edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *Surg Clin North Am* 2003 ;83(4) :803-19.
85. CSERNI G., GREGORI D., MERLETTI F., SAPINO A., MANO M.P., PONTI A., SANDRUCCI S., BALTA´B. AND BUSSOLATI G. Meta-analysis of non-sentinel node metastases associated with micrometastatic sentinel nodes in breast cancer. *Br J Surg* 2004 ;91 :1245-52.
86. VIALE G., MAIORANO E., PRUNERI G., MASTROPASQUA M.G., VALENTINI S., GALIMBERTI V., et al. Predicting the Risk for Additional Axillary Metastases in Patients With Breast Carcinoma and Positive Sentinel Lymph Node Biopsy. *Ann Surg* 2005 ;241 :319-25.

87. COX C.E., KILUK J.V., RIKER A.L., COX J.M., ALLRED N., RAMOS D.C., et al. Significance of sentinel lymph node micrometastases in human breast cancer. *J Am Coll Surg*. 2008;206:261–8.
88. REED J., ROSMAN M., VERBANAC K. M., MANNIE A., CHENG Z., TAFRA L. Implications of Isolated Tumor Cells and Micrometastases in Sentinel Nodes of Patients with Invasive Breast Cancer: 10-Year Analysis of Patients Enrolled in the Prospective East Carolina University/ Anne Arundel Medical Center Sentinel Node Multicenter Study. *J Am Coll Surg* 2009;208:333-340.
89. VAN RIJK M.C., PETERSE J.L., NIEWEG O.E., et al. Additional axillary metastases and stage migration in breast cancer patients with micrometastases or submicrometastases in sentinel lymph nodes. *Cancer* 2006 ;107 :467-471.
90. VAN DEURZEN C. H. M., DE BOER M., MONNINKHOF E.M., BULT P., VAN DER WALL E., TJAN-HEIJNEN V.C.G., VAN DIEST P.J. Non-Sentinel Lymph Node Metastases Associated With Isolated Breast Cancer Cells in the Sentinel Node. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1574–1580.
91. DE BOER M., VAN DEURZEN C, VAN DIJCK J.A., BORM G.F, VAN DIEST P.J., M.D., ADANG E.M., et al. Micrometastases or Isolated Tumor Cells and the Outcome of Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2009 ;361 :653-63.
92. TALSMA A.K., REEDIJK A.M.J., DAMHUIS R.A.M., WESTENEND P.J., VLES W.J. Re-resection rates after breast-conserving surgery as a performance indicator : Introduction of a case-mix model to allow comparison between Dutch hospitals. *The Journal of Cancer Surgery* 2011 ;37 :357-63.

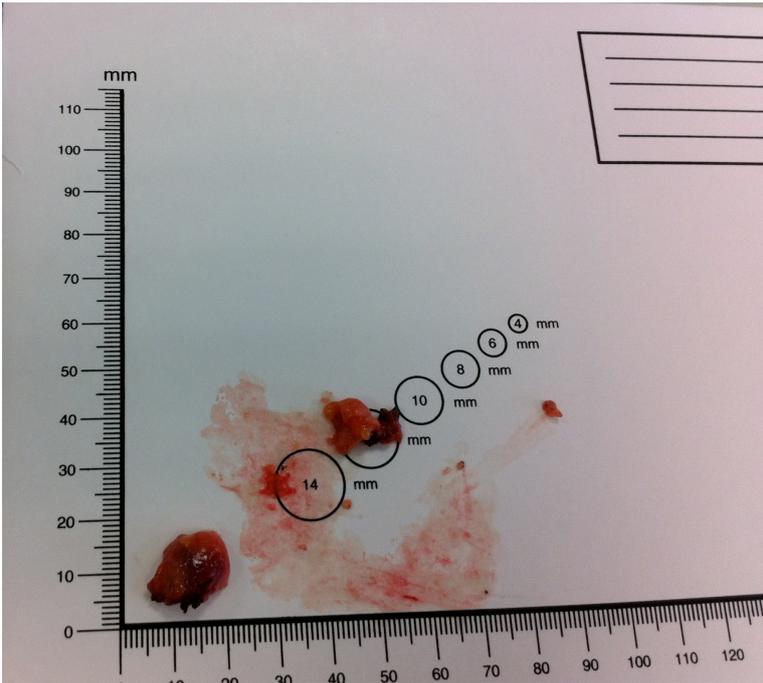
ANNEXES

Annexe 1



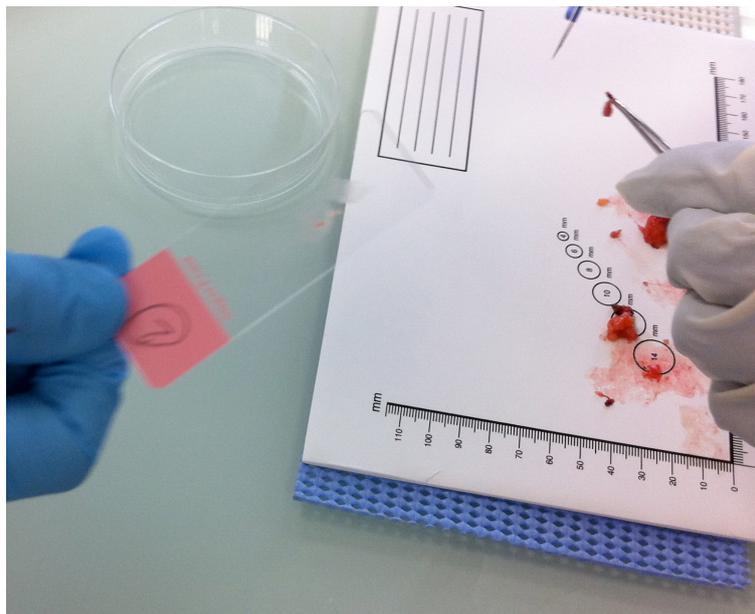
*Photo 1 : Un ganglion sentinelle avant tout traitement anatomopathologique
(Photo personnelle prise au laboratoire du C.A.V)*

Annexe 2



*Photo 2 : Mesure du ganglion sentinelle
(Photo personnelle prise au laboratoire du C.A.V)*

Annexe 3



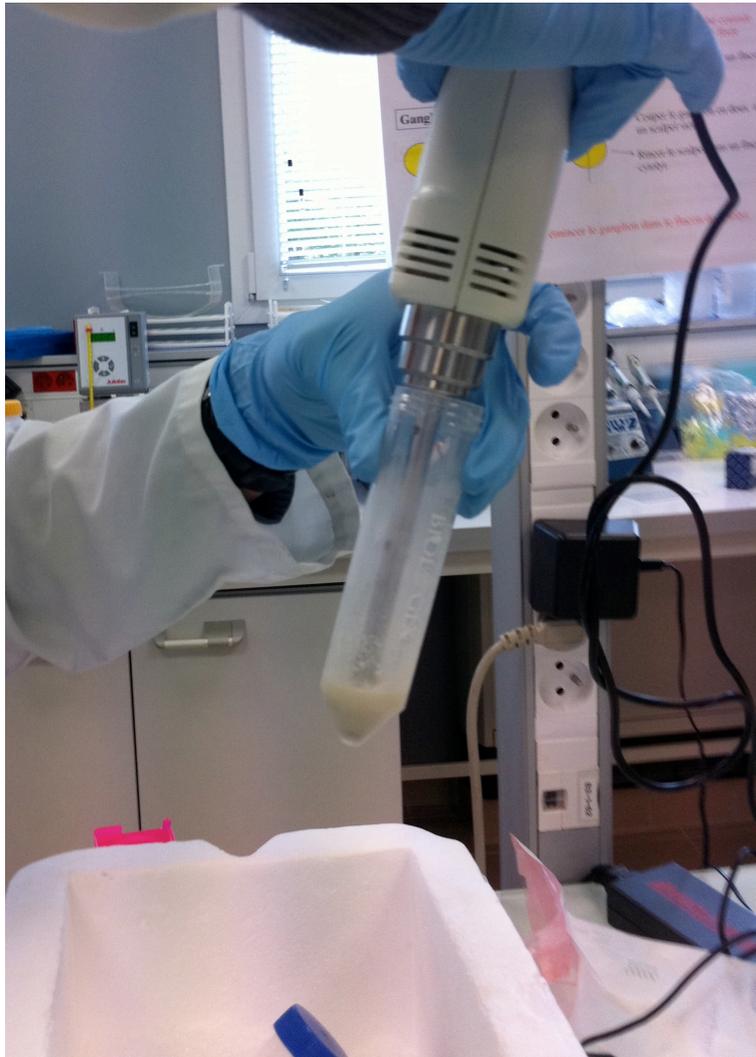
*Photo 3 : Prélèvement d'une tranche centrale
(Photo personnelle prise au laboratoire du C.A.V)*

Annexe 4



*Photo 4 : Le ganglion est découpé avant d'être broyé avec la solution Lynorhag
(Photo personnelle prise au laboratoire du C.A.V)*

Annexe 5



*Photo 5 : Le ganglion est broyé avec la solution Lynorhag dans la glace
(Photo personnelle prise au laboratoire du C.A.V)*

Annexe 6



*Photo 6 : Centrifugation du Lysat
(Photo personnelle prise au laboratoire du C.A.V)*

Annexe 7



*Photo 7 : Disposition des tubes de lysat dans le RD-100i (Sysmex®)
(Photo personnelle prise au laboratoire du C.A.V)*

Annexe 8



*Photo 8 : RD-100i (Sysmex®)
(Photo personnelle prise au laboratoire du C.A.V)*

Annexe 9

Classification TNM selon AJCC

Tumeur primitive (T)

(T pour une classification clinique ou radiologique, pT pour une classification anatomopathologique)

- Tx** Détermination de la tumeur primitive impossible
- T0** Pas de signe de tumeur primitive (non palpable)
- Tis** Carcinome *in situ* : carcinome intracanalair, ou carcinome lobulaire *in situ*, ou maladie de Paget du mamelon sans tumeur décelable
- Tis (DCIS)** Carcinome canalaire *in situ*
- Tis (LCIS)** Carcinome lobulaire *in situ*
- Tis (Paget)** Maladie de Paget du mamelon sans tumeur décelable
- Note** : une maladie de Paget avec tumeur décelable est à classer en fonction de la taille de la tumeur.
- T1** Tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension
- T1mic** Micro-invasion $\leq 0,1$ cm dans sa plus grande dimension
- T1a** Tumeur $> 0,1$ cm et $\leq 0,5$ cm dans sa plus grande dimension
- T1b** Tumeur $> 0,5$ cm et ≤ 1 cm dans sa plus grande dimension
- T1c** Tumeur > 1 cm et ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension
- T2** Tumeur > 2 cm et ≤ 5 cm dans sa plus grande dimension
- T3** Tumeur > 5 cm dans sa plus grande dimension
- T4** Tumeur de toute taille avec extension directe à la paroi thoracique (a) ou à la peau (b)
- Note** : la paroi thoracique comprend les côtes, les muscles intercostaux et grand dentelé, mais ne comprend pas le muscle pectoral
- T4a** Extension à la paroi thoracique
- T4b** Oedème y compris la « peau d'orange », ou ulcération cutanée du sein, ou nodules de perméation cutanés limités au même sein
- T4c** A la fois 4a et 4b
- T4d** Carcinome inflammatoire

Adénopathies régionales (N) (clinique ou radiologique)

- Nx** Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire (du fait, par exemple, d'une exérèse antérieure)
- N0** Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional
- N1** Ganglions axillaires homolatéraux suspects mobiles
- N2** Ganglions axillaires homolatéraux suspects fixés entre eux ou à d'autres structures, ou présence clinique d'adénopathies mammaires internes en l'absence d'adénopathies cliniques axillaires
 - N2a** Ganglions axillaires homolatéraux fixés
 - N2b** Ganglions mammaires internes homolatéraux cliniquement apparents sans adénopathies axillaires cliniques
- N3** Ganglions sous-claviculaires homolatéraux (niveau III axillaire) ou mammaires internes avec présence d'adénopathies axillaires ou ganglions sus-claviculaires présents (avec ou sans la présence de ganglions axillaires ou mammaires internes)
 - N3a** Ganglions suspects sous-claviculaires et axillaires homolatéraux
 - N3b** Ganglions mammaires internes et ganglions axillaires homolatéraux suspects
 - N3c** Ganglions sus-claviculaires homolatéraux suspects

Adénopathies régionales (étude anatomopathologique pN)

- pNx** Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire (pas de contrôle ou exérèse antérieure)
- pN0** Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional histologique et absence d'études supplémentaires pour la recherche de cellules isolées
- pN0(i-)** Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude négative en immunohistochimie
- pN0(i+)** Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude positive en immunohistochimie, envahissement \leq 0,2 mm
- pN0(mol-)** Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude moléculaire négative (RT-PCR)
- pN0(mol+)** Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude moléculaire positive (RT-PCR)
- pN1Mi** Présence de micrométastases ($> 0,2$ mm, aucune > 2 mm)
- pN1** Métastase dans 1 à 3 ganglions axillaires et/ou mammaires internes avec envahissement microscopique détecté par la technique du ganglion sentinelle sans signe clinique
- pN1a** Métastase dans 1 à 3 ganglions axillaires
- pN1b** Métastase ganglionnaire mammaire interne microscopique repérée par la technique du ganglion sentinelle mais non suspectée cliniquement
- pN1c** Métastase ganglionnaire axillaire dans 1 à 3 ganglions et métastase mammaire interne avec envahissement microscopique détecté par la technique du ganglion sentinelle sans signe clinique
- pN2** Métastase ganglionnaire axillaire dans 4 à 9 ganglions ou présence clinique d'adénopathies mammaires internes en l'absence d'adénopathies cliniques axillaires
- pN2a** Métastase ganglionnaire axillaire dans 4 à 9 ganglions (au moins un envahissement > 2 mm)
- pN2b** Métastase ganglionnaire mammaire interne clinique en l'absence d'envahissement axillaire
- pN3** Métastase ganglionnaire axillaire touchant au moins 10 ganglions, ou envahissement sous-claviculaire (niveau III), ou envahissement mammaire interne homolatéral et axillaire concomitant, ou envahissement axillaire touchant plus de 3 ganglions avec présence de métastases mammaires internes détectées par la technique du ganglion sentinelle sans signe clinique ou ganglion sus-claviculaire envahi
- pN3a** Envahissement ganglionnaire axillaire touchant au moins 10 ganglions (avec un envahissement > 2 mm au minimum) ou métastase ganglionnaire sous-claviculaire
- pN3b** Ganglion mammaire interne homolatéral suspect avec envahissement d'au moins 1 ganglion axillaire ou d'au moins 3 ganglions axillaires avec envahissement mammaire interne détecté par la technique du ganglion sentinelle sans signe clinique
- pN3c** Métastase ganglionnaire sus-claviculaire homolatérale

Métastases (M)

Mx Renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance

M0 Absence de métastases à distance

M1 Présence de métastase(s) à distance

Annexe 10

		N (gs ou patientes)	Technique conventionnelle	OSNA (tranche centrale)	OSNA	
Réactifs et consommables analyse définitive	euros		30 000	1 500	0	Coût / niveau IHC: 15 euros - H&E: 5 euros
Coût total réactif histologie	euros		30 000	1 500	0	
Réactifs + Instrument OSNA		200 patientes	0	43 000	43 000	
Coût temps technicien + pathologiste OSNA	euros		0	10 000	10 000	50 €/patiente (75 min technicien 10 min pathologiste)
Coût total OSNA	euros			53 000	53 000	
Temps technicien analyse extempo	heure		0	0	0	30 minutes / GS (actual)
Temps technicien analyse définitive	heure	200 Patientes	460	90	0	2.30 par patiente
Coût temps technique (total)	euros		13 800	2 700	0	coût horaire technicien 30 €
Temps pathologiste analyse définitive	heure	300 GS	300	100	0	1 heure par GS
Coût temps pathologiste (total)	euros		23 100	7 700	0	coût horaire pathologiste 77 €
Temps bloc tumorectomie + GS (- extempo)	minute	198 patientes	12 276	0	0	62 min / GS conventionnelle
Coût Temps bloc tumorectomie +GS	euros		220 968	0	0	18 €/mn bloc
Coût jours d'hospitalisation	euros	198 patientes	133 848	0	0	338 € / jour; 2 jours d'hospitalisation
Coût total Tumorectomie + GS sans extempo	euros		354 816	0	0	
Temps bloc tumorectomie + GS + extempo neg	minute	145 patientes	0	11 165	10 934	73 min / interv. pour extempo et 77 min pour OSNA
Coût Temps bloc tumorectomie + GS + extempo neg.	euros		0	200 970	196 812	18 €/mn bloc
Coût jours d'hospitalisation	euros	145 patientes	0	98 020	95 992	338 € / jour; 2 jours d'hospitalisation
Coût total tumorectomie + GS + extempo neg.	euros		0	298 990	292 804	
Temps bloc tumorectomie + GS + CA pour extempo positive	minute	55 patientes	204	5 940	6 264	102 min (108 min si OSNA) / intervention
Coût bloc tumorectomie + GS + CA pour extempo positive	euros		3 672	106 920	112 752	18 €/mn bloc
Coût jours d'hospitalisation	euros	55 patientes	2 366	65 065	68 614	338 € / jour; 3.5 jours d'hospitalisation
Coût total tumorectomie + GS + CA pour extempo positive			6 038	171 985	181 366	
Temps bloc curage axillaire à distance	minute	56 patientes	3 472	186	0	62 minutes par intervention
Coût temps bloc pour curage à distance	euros		62 496	3 348	0	18 € / min bloc
Coût jours d'hospitalisation	euros	56 patientes	75 712	4 056	0	338 € / jour; 4 jours d'hospitalisation
Coût total chirurgie pour curage à distance	euros		138 208	7 404	0	
Coût total OSNA	euros		0	53 000	53 000	
Coût total pathologie / an	euros		66 900	11 900	0	
Coût total pathologie / patiente	euros		335	60	0	
Cotation pathologie	Euro		140	84	0	
Cotation pathologie	AHN		0	1 300	1 300	
Coût total chirurgie / an	euros		499 062	470 975	474 170	
Coût total chirurgie / patiente	euros		2 495	2 355	1 185	
Coût total annuel			565 962	535 875	527 170	
Coût total /patiente			2 830	2 679	2 636	
Bénéfice / patiente				150	194	
Bénéfice / patiente avec défaut de remboursement				94	54	
Bénéfice / patiente %				5,32%	1,91%	

Annexe 10 : Etude Economique

RESUME

Introduction : La technique du ganglion sentinelle dans l'évaluation du statut ganglionnaire dans les cancers du sein de petite taille est aujourd'hui une méthode utilisée en pratique courante. Cette technique laisse toujours la possibilité d'une seconde intervention pour la patiente. Le but de ce travail est de montrer comment l'utilisation de l'examen extemporané par biologie moléculaire (Protocole OSNA : One-step nucleic acid amplification) permet d'éviter cette seconde intervention pour la réalisation du curage axillaire.

Matériel et méthode : Cette étude a porté sur 381 patientes ayant bénéficié de la technique du ganglion sentinelle pour une tumeur infiltrante du sein au Centre Alexis Vautrin de août 2005 à juin 2011. Pour 100 patientes, l'analyse du ganglion sentinelle a été réalisée par une méthode de biologie moléculaire en extemporané. Pour les 281 patientes de la population de référence, l'analyse a été réalisée par une méthode d'histologie standard en coupes sériées associée à l'immunohistochimie.

Résultats : Chez les 100 patientes ayant bénéficié du protocole OSNA, 29% présentaient une atteinte ganglionnaire diagnostiquée par la biologie moléculaire. Parmi les 281 patientes de la population de référence, 29,9% présentaient une atteinte ganglionnaire. Quinze (15%) patientes du groupe OSNA contre 33 (11,7%) de la population de référence présentaient une atteinte ganglionnaire macrométastatique et 14 (14%) patientes contre 35 (12,5%) de la population de référence présentaient une atteinte micrométastatique. Seize (5,7%) patientes de la population de référence présentaient une atteinte sous forme de cellules tumorales isolées. Dans le groupe OSNA, le taux de ré-intervention était de 9% contre 38,8% dans la population standard. Le taux d'envahissement des ganglions non sentinelles était de 18,1%. Ce taux était respectivement de 23%, 15,6% et 8,3% en cas de macrométastase, de micrométastase et de cellules tumorales isolées dans le ganglion sentinelle.

Discussion : Dans notre étude, nous n'avons pas mis en évidence de différence significative pour la discrimination ganglion sain et ganglion atteint entre la méthode OSNA et l'histologie conventionnelle associée à l'immunohistochimie. Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative dans la répartition macro et micrométastase entre les deux méthodes ($p=0,35$). Aucun facteur anatomopathologique n'influence la sensibilité de la méthode OSNA. L'OSNA pourrait détecter de façon plus efficace les métastases des tumeurs de petite taille (pT1a) (50% de positivité dans le groupe OSNA versus 15% dans le groupe de référence). Nous avons mis en évidence une différence significative entre le taux de ré-intervention entre les 2 populations (OSNA : 9% vs HES et IHC : 38,8%, $p=0,01$).

Conclusion : La méthode OSNA est une technique fiable, reproductible et rapide pour l'analyse du ganglion sentinelle dans le cancer du sein. Elle permet de diminuer de façon significative le taux de ré-intervention dans la prise en charge conservatrice des cancers du sein.

A molecular method (One-step nucleic acid amplification) for the detection of lymph node metastases in breast cancer: a serie of 100 patients in Centre Alexis Vautrin

THÈSE : MÉDECINE SPÉCIALISÉE – ANNÉE 2011

MOTS CLEFS : Cancer du sein - ganglion sentinelle - examen extemporané - biologie moléculaire.

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY-1
Faculté de Médecine de Nancy
9, avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex