

**Diagnostic extemporané de
l'envahissement ganglionnaire dans les
cancers du sein par analyse en biologie
moléculaire des ganglions sentinelles
(Méthode OSNA)**

Frédéric Marchal
Jean-Louis Merlin
Centre Alexis Vautrin
Vandoeuvre-les-Nancy

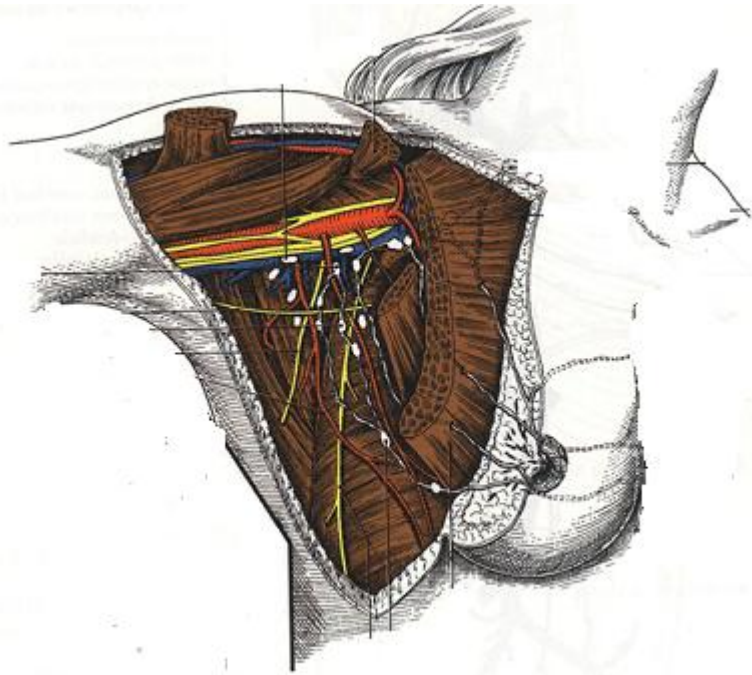
Plan

- Définition ganglion sentinelle
- Techniques extemporanées
- OSNA
- Conclusion

Plan

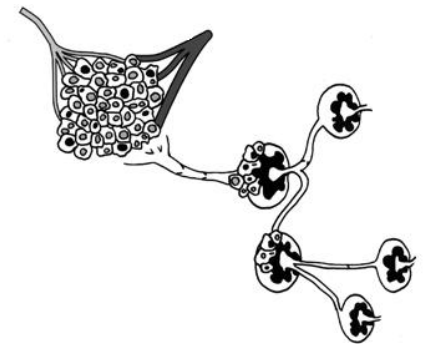
- **Définition ganglion sentinelle**
- Techniques extemporanées
- OSNA
- Conclusion

Définition



Individualisation du premier relais lymphatique drainant la tumeur et susceptible d'être le siège d'un envahissement métastatique

→ permet d'accéder à la connaissance du statut ganglionnaire, facteur pronostique déterminant



Ganglion sentinelle

le passé

- Morbidité du curage axillaire
 - Lymphocèle 60 à 95 %
 - Séquelles sensitives (paresthésies) 81 %
 - Séquelles motrices 27 %
 - Lymphoedème 10 à 30 %
 - Retentissement socio-professionnel



Ganglion sentinelle

le passé

- 1959 COULD pour cancer parotide
- 1977 CABANAS pour cancer verge
- 1992 MORTON pour les mélanomes malins cutanés
- 1993 KRAG pour cancer sein puis GIULIANO (1994)
- Utilisation de colorants bleus (bleu Isosulfiant, Patent, Méthylène, Evans, Ciel Pontamine), de radiotraceurs
- Utilisation combinée (Albertini 1996)

Ganglion sentinelle

le présent

- **Le prélèvement des Ganglions Axillaires Sentinelles (G.A.S.)**
 - Est faisable (**Taux de détection > 90 %**)
 - Apporte la même information que le curage axillaire (**Taux de Faux Négatifs < 5 %**)
 - Entraîne une moindre morbidité que le curage (**Morbidité du GS**)

Ganglion sentinelle principe

- **Détection**

- Isotopique

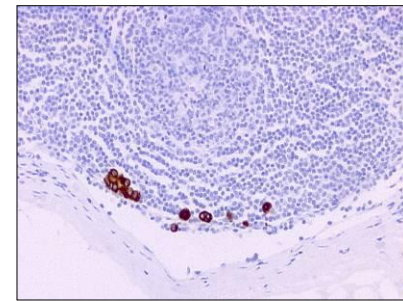
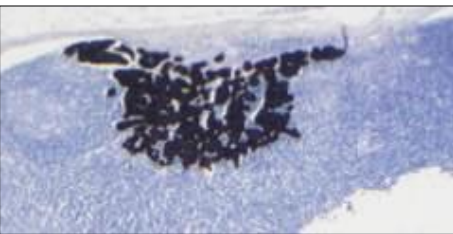
- Colloïdes marqués au Technétium (^{99m}Tc)

- Emetteur Gamma

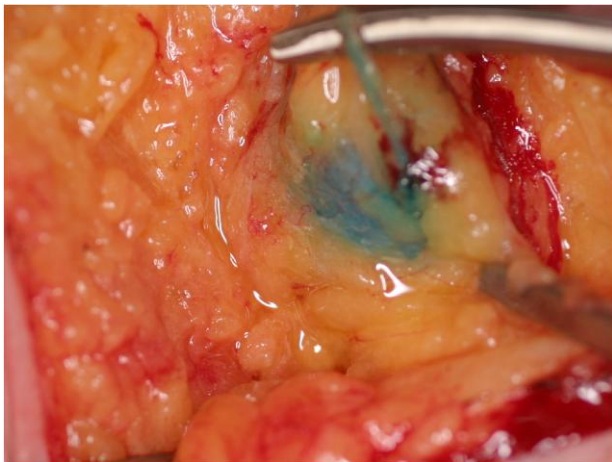
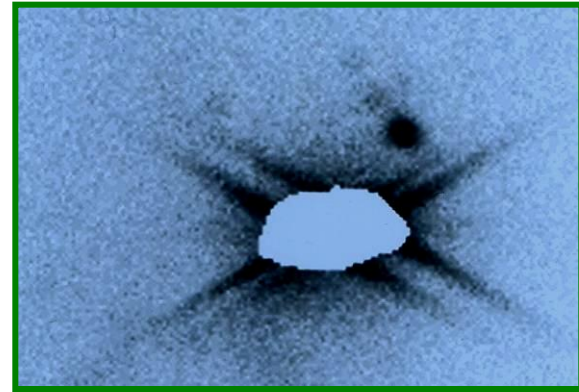
- Durée de vie 6h

- Colorimétrique

- Bleu patenté



Ganglion sentinelle principe



Ganglion sentinelle

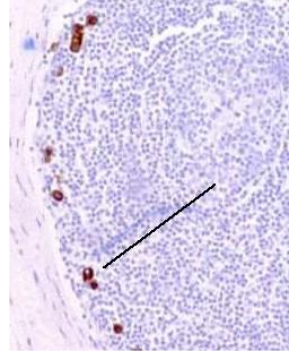
ce que l'on sait en 2012

- Privilégier la technique combinée
- Meilleur taux d'identification avec le site d'injection périaréolaire
- Taux de faux négatifs corrélé aux nombre de GAS prélevés
- Curage pour tout sentinelle envahi (15 à 26 % de curages positifs)

Ganglion sentinelle indications en 2012

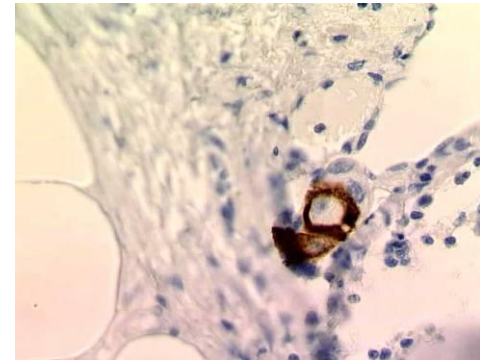
- Cancer invasif unifocal
- Tumeur T1 (< 2 cm), N0
- Sans traitement préalable
- Sans chirurgie mammaire préalable
- Après validation d'une courbe d'apprentissage par l'ensemble de l'équipe
- Moins de séquelles et moins cher que le curage (2947 vs 3331 Euros)

ETUDE HISTOLOGIQUE



- Histologie standard: étudie moins de 1% du GS
 - Détecte 1 cellule anormale parmi 10 000 cellules normales
- Immunohistochimie
 - augmente le taux de détection de 10%
 - 1 cellule anormale parmi 100 000 cellules normales
 - Micrométastases 0,2 – 2 mm & cellules isolées

AL Cochran Ann Surg Oncol 2004;11:156S-61S
MG Cook Curr Diagn Pathol 2003;9:296-301



Plan

- Définition ganglion sentinelle
- **Techniques extemporanées**
- OSNA
- Conclusion

Examen extemporané du GAS

- Deux techniques
 - Apposition
 - Congélation
- Sensibilité de 33 à 73% mais 22% pour micrométastases
- Risque de faux négatifs par perte de matériel
- Un ganglion sentinelle sur 2 est diagnostiqué par ces 2 techniques

Plan

- Définition ganglion sentinelle
- Techniques extemporanées
- **OSNA**
- Conclusion

Innovation : OSNA

► Approche conventionnelle ► Biologie moléculaire

► Analyse per-opératoire

Coupes en congélation
coloration H&E

- Sensibilité faible
(échantillonnage)

► Analyse post-opératoire

Coupes en paraffine:
H&E + IHC

- Sensibilité moyenne

- Deuxième Opération nécessaire
si le ganglion sentinelle est
positif dans l'analyse post-
opératoire

► Analyse per-opératoire

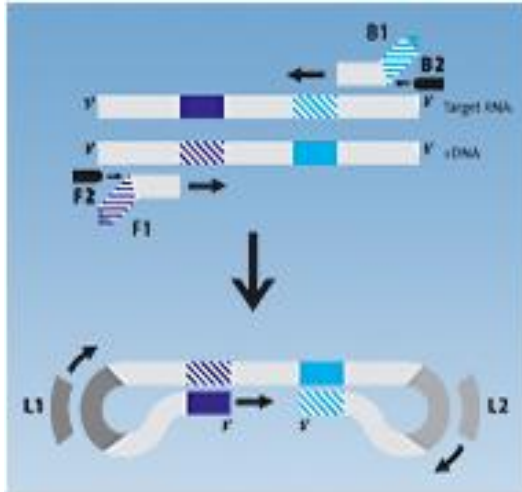
Ganglion sentinelle homogénéisé
en intégralité.

- Haute sensibilité
(pas d'erreur d'échantillonnage)

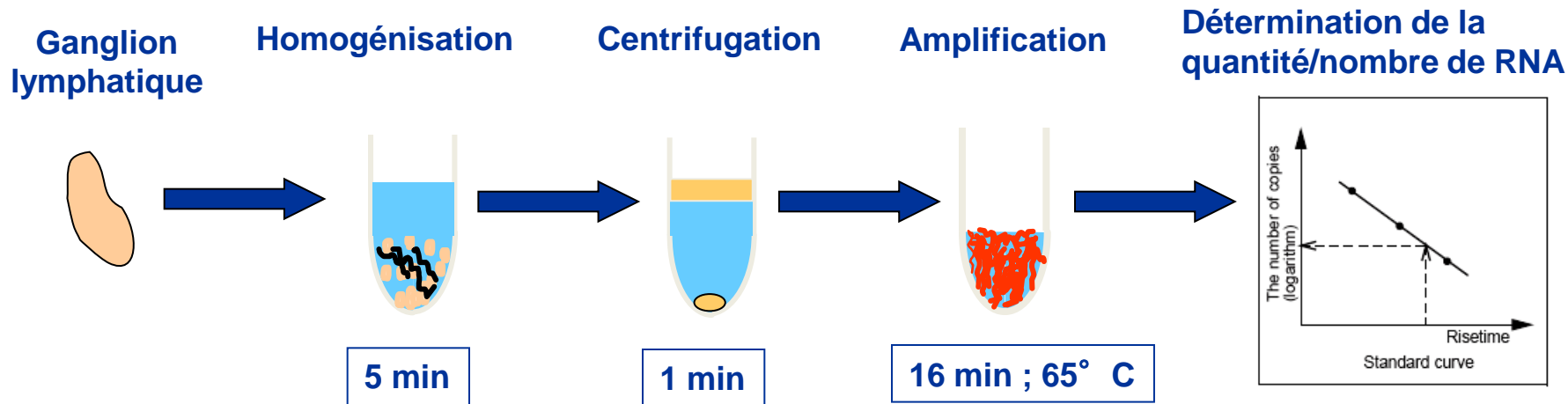
- Analyse post-opératoire
n'est pas nécessaire

- Evite la 2^{ème} opération

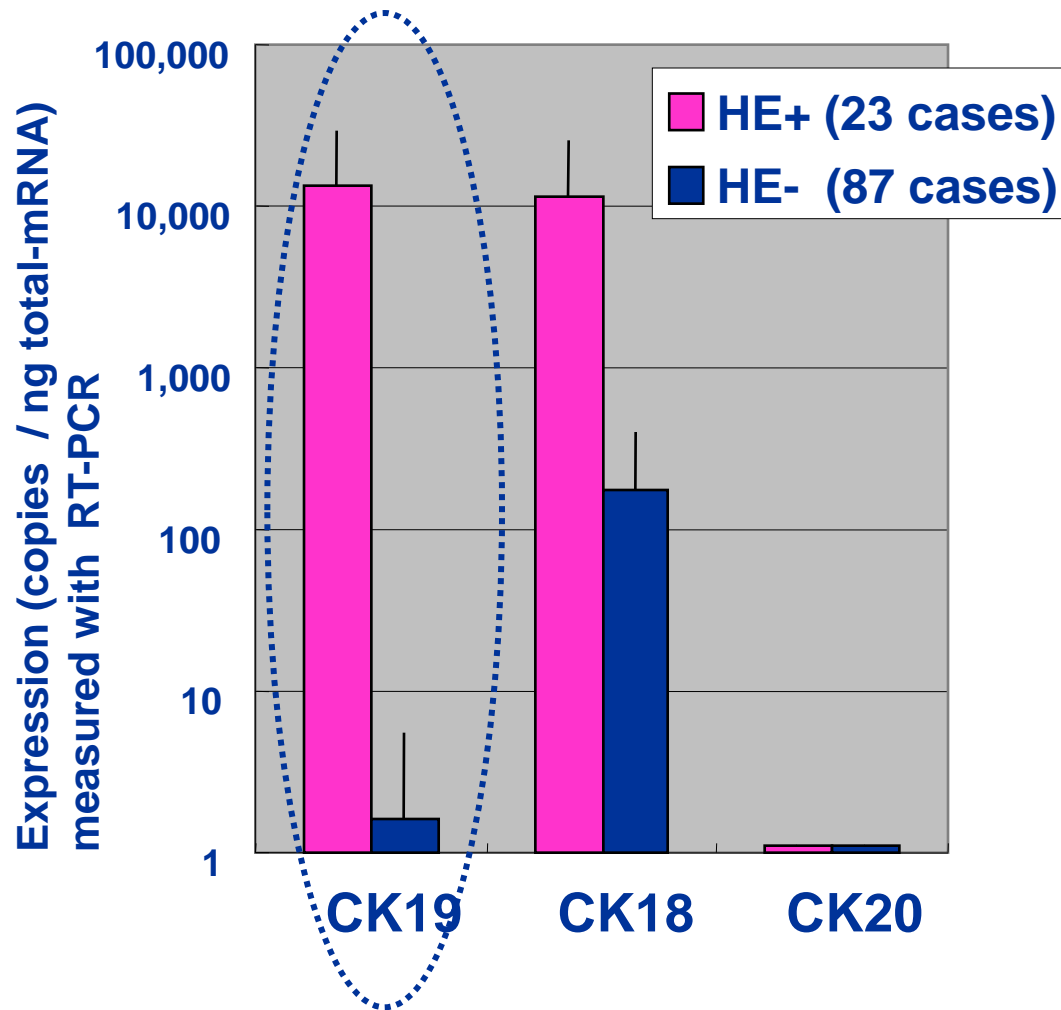
Technique OSNA



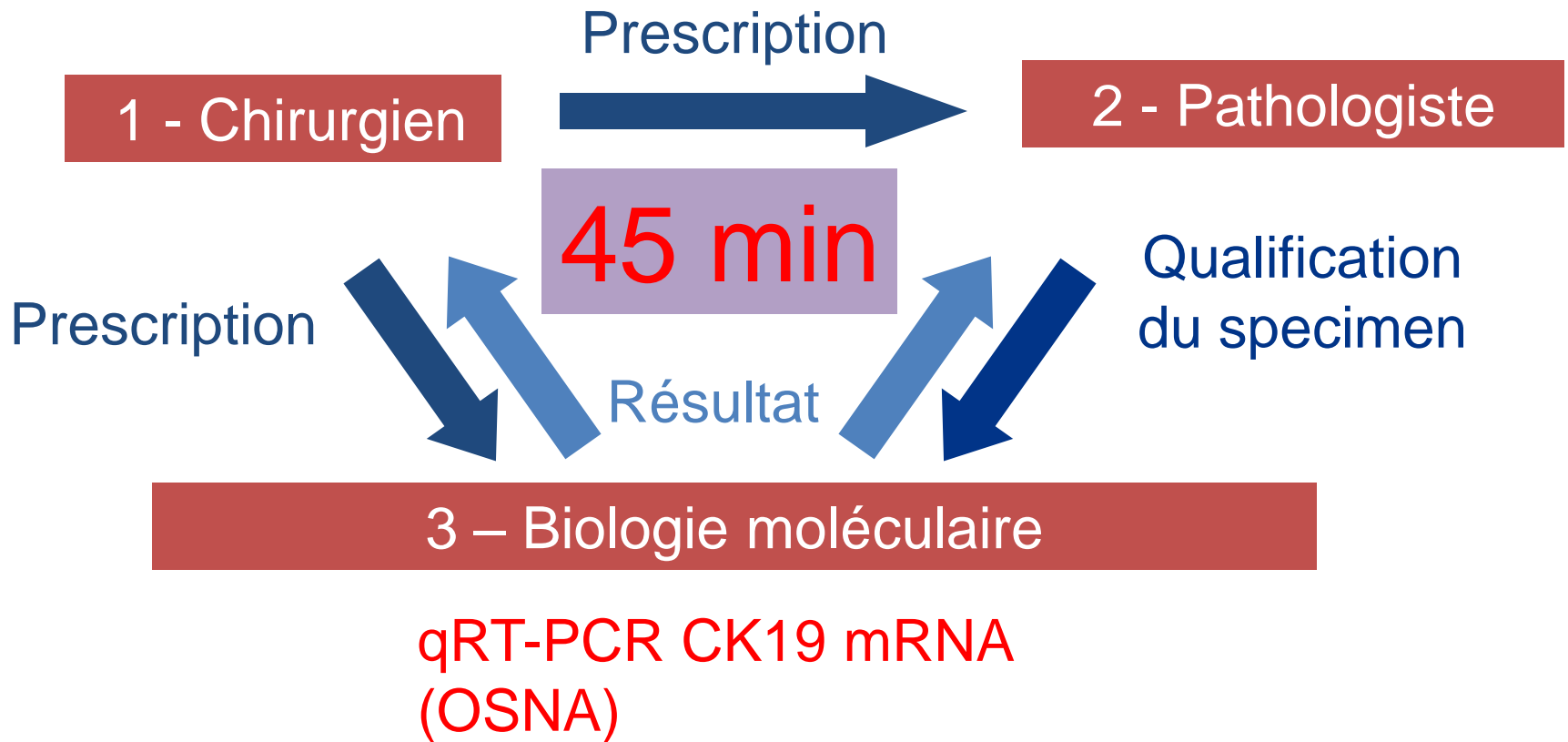
- ▶ **Méthode : OSNA**
= **One Step Nucleic acid Amplification**,
procédure isothermique sans
extraction préalable d'acides
nucléiques
- ▶ (LAMP = Loop-mediated Isothermal
Amplification)



Marqueur = CK19 mRNA



Circuit hospitalier



Pré-analytique

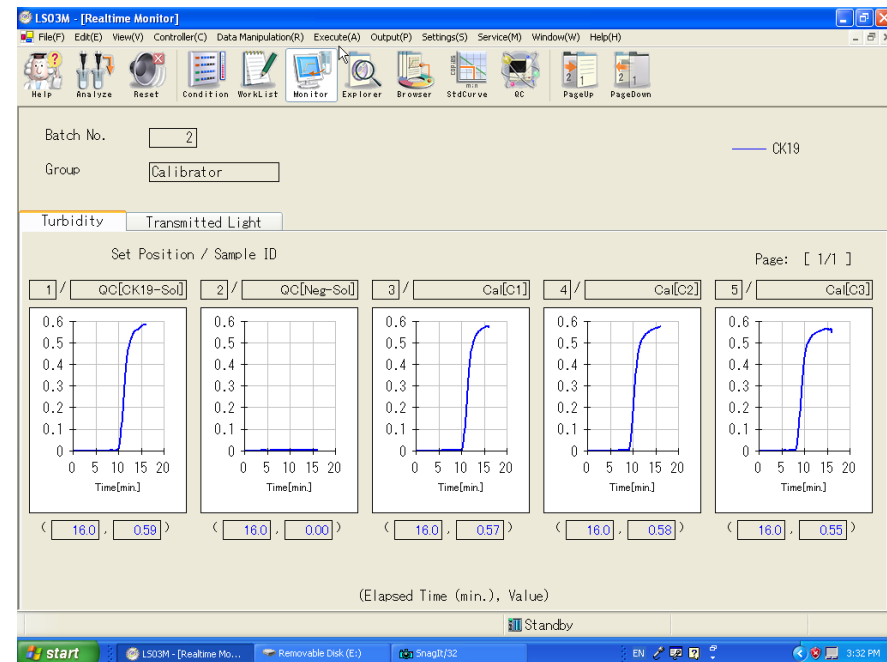
- Acheminement par pneumatique entre bloc opératoire et laboratoire de pathologie et biologie tumorale
- Qualification par pathologiste
- Analyse par technicien qualifié
- Extraction d'ARN (glace)




Analytique



- 1 à 4 ganglions < 0.6 g
- 20 min temps machine



Post-analytique

 **CENTRE ALEXIS VAUTRIN**
UNIVERSITÉ DE LORRAINE
LE CHATELAIN DE LORRAINE
www.alexisvautrin.fr

ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET BIOLOGIE DES TUMEURS
Docteur Agnès LEROUX
Dr Colette MIGEON - Dr Pascal GENIN - Dr Catherine BARRIER - Pr Jean-Louis MERLIN
Tél. 03 83 59 84 84 - Fax. 03 83 59 83 86 - Email : anapath.cav@nancy.frclcc.fr

DOCTEUR : [REDACTED]
CHIRURGIE

EXAMEN EXTEMPORANE

Date et heure : _____ Résultat à téléphoner au poste n° : _____

NOM : [REDACTED] Prénom : [REDACTED]
Age : [REDACTED] Dossier : [REDACTED]


NATURE DU PRELEVEMENT : ganglions axillaires droits : protocole OSNA

-Ganglion sentinelle n°1 : étage I de Berg, 0.9 cm de grand axe 0/1
-Ganglion sentinelle n°2 : étage I de Berg, 0.9 cm de grand axe 0/1
-Ganglion sentinelle n°3 : étage I de Berg, 0.6 cm de grand axe 0/1
-Ganglion sentinelle n°4 : étage I de Berg, 0.3 cm de grand axe 0/1

CONCLUSION DE L'EXAMEN EXTEMPORANE :
ABSENCE de métastase ganglionnaire (4 ganglions analysés en technique OSNA ; résultats 0)

Les ganglions non étudiés extemporanément feront l'objet d'une étude en histologie selon le protocole standard ganglion sentinelle sein.

Pr Jean-Louis Merlin Dr Agnès Leroux

 Fédération Française
DES CENTRES D'EXCELLENCE
CONTRE LE CANCER

6, Avenue de Bourgogne 54511 VANDŒUVRE - LES - NANCY Cedex

- Edition des compte rendus : métastases ganglionnaires (O/N)
- Validation des compte-rendus (contrôles + et - courbe d'amplification PCR)
- Double signature : pathologiste et biologiste
- Communication CR (interphone, papier)
- Délai total : env. 45 min
- Intégration Dossier patient

Expérience du Centre Alexis Vautrin

- Etude de validation nationale en 2007
- Routine depuis 2010
- Environ 250 patientes / an
- Etude sur les 100 premiers cas (S Klingler et al., ASCO 2012)
 - Comparaison avec série antérieure de 281 pts analysée en histologie
 - Impact sur taux de reprise chirurgicale
 - Impact sur délai avant chimio adjuvante

Résultats

- Populations comparables (age, MP, GAS analysés / pte)
- Taux de positivité : 29 (OSNA) vs 29.9 % (histo)
- Taux de reprise chirurgicale : 9 (OSNA) vs 39 % (histo)
- Délai avant Chimio adjuvante : 43 (OSNA) vs 59 j (histo)

Plan

- Définition ganglion sentinelle
- Techniques extemporanées
- OSNA
- **Conclusion**

Conclusion

- Ganglion sentinelle : technique validée pour les petites tumeurs du sein
- Techniques classiques d'extemporané : 50%
- Innovation diagnostique = technique OSNA
 - Technique de biologie moléculaire extemporanée
 - Réduction du taux de reprises chirurgicales
 - Réduction du délai avant chimio adjuvante