

*COLLÈGE NATIONAL
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIENS FRANÇAIS
Président : Professeur J. Lansac*

Extrait des Mises à jour en Gynécologie Médicale

—

**Volume 2009
publié le 9.12.2009**



*TRENTE-TROISIÈMES JOURNÉES NATIONALES
Paris, 2009*

Intérêt de l'examen extemporané dans la prise en charge chirurgicale des cancers du sein

G. BODY ¹, C. ARLICOT ¹, L. OULDAMER ¹, O. ACKER ¹, T. HÉBERT ¹,
H. MARRET ¹, F. ARBION ²
(Tours)

Résumé

L'exérèse complète de la tumeur et l'envahissement ganglionnaire sont deux facteurs essentiels, le premier étant le principal facteur pronostique du risque de récidence locale et le second du risque métastatique. Dans ce contexte, l'intérêt de l'examen extemporané concernant la qualité des berges d'exérèse du carcinome ainsi que la recherche de métastases au sein du (des) ganglion(s) sentinelle(s) est essentiel : une mauvaise évaluation peropératoire conduira systématiquement le chirurgien à pratiquer une reprise opératoire, toujours préjudiciable pour les patientes et pouvant être à l'origine de séquelles esthétiques au niveau du sein ou fonctionnelles au niveau axillaire.

L'évaluation des berges d'exérèse du carcinome par un examen macroscopique (le plus souvent réalisé seul), tout comme la radiographie de la pièce opératoire en cas de microcalcifications, est insuffisante, tout particulièrement en présence de carcinome

1 - Centre Olympe de Gouges - Hôpital Bretonneau - Service de gynécologie-obstétrique A -
2 boulevard Tonnellé - 37044 Tours cedex 9

2 - Hôpital Bretonneau - Service d'anatomie-pathologique - 2 boulevard Tonnellé -
37044 Tours cedex 9

intracanalair. L'examen cytologique des berges réalisé à partir d'empreintes obtenues par appositions de la pièce opératoire au niveau de ses différentes faces permet d'augmenter la sensibilité de détection des berges non saines.

Concernant l'examen extemporané du (des) ganglion(s) sentinelle(s), les méthodes histologiques et cytologiques semblent avoir des sensibilités identiques. Leurs taux de faux négatifs incitent toutefois à développer des techniques complémentaires (telles que l'immunohistochimie ou la technique moléculaire par RT PCR) ou alternatives (telles que l'imagerie, et surtout le prélèvement du ganglion sentinelle sous anesthésie locale en ambulatoire).

Mots clés : cancer du sein, examen histologique en extemporané, tumorectomie, ganglion sentinelle

INTRODUCTION

La chirurgie reste le traitement le plus efficace dans le contrôle local des cancers du sein, à condition de réaliser une exérèse complète de la tumeur. L'obtention d'une exérèse complète ne pose que très rarement de problème en cas de traitement radical, elle en pose beaucoup plus souvent en cas de traitement conservateur. Elle dépend de nombreux facteurs, parmi lesquels : l'expérience du chirurgien, l'étendue de l'exérèse chirurgicale (pouvant aller dans certains cas jusqu'à la quadrantectomie), le rapport entre le volume tumoral et la taille des seins, mais aussi la présence de carcinome intracanalair en périphérie de la tumeur infiltrante.

L'autre intérêt de la chirurgie est aussi de permettre la connaissance des facteurs pronostiques, au niveau de la tumeur (taille tumorale, grade histologique, présence d'emboles lymphatiques, dosage des récepteurs hormonaux, dosage de Her 2...), mais aussi au niveau ganglionnaire. L'envahissement ganglionnaire reste l'un des principaux facteurs pronostiques des cancers du sein, et aucun examen n'a supplanté à ce jour l'examen histologique des ganglions, obtenus soit à partir d'un prélèvement limité (ganglion sentinelle), soit à partir d'un curage.

Dans ce contexte, l'examen histologique extemporané occupe une place très importante dans la prise en charge des cancers du sein.

Savoir en peropératoire que les marges d'exérèse sont à distance de la tumeur et que l'examen du (des) ganglion(s) sentinelle(s) ne met pas en évidence de cellules carcinomateuses constitue une information importante mais qui ne préjuge en rien de sa confirmation par les résultats de l'examen histologique définitif. Les limites actuelles des techniques analysant en extemporané les berges d'exérèse de la tumeur ainsi que le (les) ganglion(s) sentinelle(s) exposent à des reprises opératoires selon une fréquence qui est loin d'être négligeable. Ces interventions sont toujours plus ou moins mal vécues par les patientes, peuvent poser des problèmes de programmation dans des blocs opératoires surchargés, et exposent aux risques d'entraîner des séquelles esthétiques (reprise du lit tumoral) et même parfois fonctionnelles (curage axillaire).

Il est donc important de faire le point sur la fiabilité de l'examen extemporané, concernant aussi bien l'étude des berges d'exérèse que celle du ganglion sentinelle. Un dernier point doit être souligné : outre le fait qu'il existe différentes techniques, pour chaque technique, les pathologistes y apportent souvent des variantes personnelles visant à améliorer sa fiabilité, ce qui rend difficile la comparaison des résultats entre les différentes études.

LA TUMEUR : LES MARGES D'EXÉRÈSE

La mesure la plus précise de la taille tumorale est donnée par l'examen macroscopique de la pièce opératoire. Pour les tumeurs ayant une taille voisine de 20 mm, cette mesure est déterminante dans la prise de décision pour la réalisation éventuelle d'un curage axillaire.

En effet, en France, la technique du ganglion sentinelle est systématiquement proposée aux patientes ayant une tumeur invasive unique de moins de 15 à 20 mm, non inflammatoire, sans adénopathie axillaire palpable ni chirurgie antérieure du sein ou du creux axillaire. La mesure prendra peut-être dans l'avenir une importance moindre si ces indications sont étendues aux cancers de plus grande taille, comme cela est déjà le cas dans plusieurs pays européens et nord-américains, où l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) valide cette pratique pour des cancers dont la taille va jusqu'à 50 mm.

Si la question est facilement résolue concernant la taille tumorale, il en va tout autrement concernant l'évaluation de la qualité des marges d'exérèse chirurgicales.

Généralités

L'intérêt de l'évaluation des marges est d'assurer une exérèse passant suffisamment à distance du carcinome pour éviter dans l'immédiat une reprise opératoire et dans un deuxième temps un risque accru de récurrence locale. La question de l'importance des marges, différentes pour les carcinomes infiltrants et pour les carcinomes intracanalaires, ne sera pas abordée ici, d'autant plus qu'elle ne fait l'objet d'aucun consensus et reste l'objet de nombreux débats [1], et enfin qu'elle ne peut être précisée que par l'examen microscopique exceptionnellement pratiqué dans le cadre d'un examen extemporané.

En moyenne, l'examen extemporané détecte 25 % de marges positives, et donc conduit à autant de reprises dans le même temps opératoire [2]. L'intérêt d'une évaluation extemporanée des marges d'exérèse est de pouvoir réaliser une recoupe dans le même temps en cas d'atteinte afin de [3, 4] :

- permettre un traitement complet en un temps et d'éviter à la patiente les risques d'une réintervention. C'est le cas pour 88 % des patientes ayant bénéficié d'une analyse extemporanée des marges, alors que sans évaluation extemporanée le taux de reprises chirurgicales est de 50 à 60 % [5],
- éviter à la patiente l'attente angoissante et toujours trop longue des résultats histologiques définitifs,
- ne pas retarder le début des traitements adjuvants,
- assurer à distance un résultat esthétique meilleur.

Par ailleurs, l'évaluation extemporanée des marges diminuerait le taux de récurrences locales [5, 6].

Les facteurs préopératoires d'atteinte prévisible des marges sont : une taille tumorale importante, le type lobulaire de la tumeur primitive, un statut ganglionnaire positif [7]. On peut y ajouter la présence d'un carcinome intracanalair en périphérie de la tumeur.

Technique

Une bonne évaluation des marges d'exérèse commence au bloc opératoire, par une technique opératoire adaptée (les ciseaux constituent le meilleur instrument, permettant d'obtenir des tranches de section nettes, non déchiquetées, et surtout non électrocoagulées), ainsi que par l'orientation de la pièce opératoire par le chirurgien (à l'aide de fils). C'est en principe le pathologiste qui réalise lui-même l'encrage des berges.

Plusieurs techniques sont disponibles. La plupart portent sur les berges de la pièce opératoire : il s'agit de l'examen macroscopique, de l'examen microscopique, éventuellement couplé à l'examen radiographique. À l'opposé, une technique porte sur l'examen des berges non plus de la pièce opératoire, mais de celles du lit tumoral.

• **L'examen macroscopique** a une place prépondérante pour l'évaluation des marges d'exérèse. Il constitue le seul examen réalisé par la plupart des équipes, dans le cas d'une tumeur palpable en peropératoire. Il est suffisant dans 50 % des cas [7]. Il est par contre insuffisant dans certaines situations, en particulier pour les carcinomes intracanalaires qui, le plus souvent, ne se présentent pas sous la forme d'une tumeur identifiable [8]. Le chirurgien s'appuie alors sur des radiographies de la pièce réalisées en cours d'intervention. Dans une étude (non encore publiée), menée entre le centre hospitalier régional universitaire de Tours et les centres anticancéreux de Nantes et de Rennes, portant sur 384 patientes opérées pour un carcinome intracanalair (159 non ménopausées et 225 ménopausées), le taux de reprises chirurgicales est très élevé, sans différence statistiquement significative entre les deux groupes : il est de 62,3 % chez les femmes non ménopausées et de 52,4 % chez les femmes ménopausées. Les techniques microscopiques (coupes en congélation ou empreintes), voire l'échographie peropératoire, ont montré leur supériorité sur la macroscopie seule [3].

• **L'examen radiographique couplé à l'examen histologique** est réalisé pour les tumeurs non palpables ou les carcinomes intracanalaires [9]. Cette attitude permettrait de réduire significativement le taux de reprises chirurgicales secondaires : un traitement complet peut être réalisé en un temps dans 84 % des cas, plutôt aux alentours de 40 à 50 % dans la littérature [9].

Le principe de cette technique est de comporter successivement une radiographie première de la pièce opératoire suivie d'un examen anatomopathologique à partir de coupes en congélation ou par un examen cytologique à partir d'empreintes. Chacune de ces deux techniques a ses avantages et ses inconvénients :

– l'examen histologique a longtemps été la méthode de référence. Dans la littérature, il a une sensibilité de 91 à 97 % et une spécificité de 89 à 100 % [5]. Il comporte toutefois un certain nombre de limites. Les coupes réalisées au niveau de chacune des faces de la tumeur ne permettent qu'un examen partiel des berges. On sait que les coupes en congélation n'étudient que 10 à 15 % de la surface de la tumeur [7] : il

a été évalué qu'il faudrait faire 3 000 lames avec une section de 6 µm d'épaisseur pour évaluer complètement les marges d'une tumeur de 2 cm [10]. La technique de la « peau d'orange » qui consiste à peler méthodiquement et complètement la pièce opératoire comme celle d'un fruit pour en analyser de façon exhaustive toutes les berges d'exérèse a été proposée dans cette même étude mais n'est pas réalisable en extemporané. De plus, les tissus congelés et examinés lors de l'examen extemporané sont perdus pour l'examen définitif. En outre, la congélation peut entraîner des artefacts tissulaires pouvant modifier l'interprétation des résultats. Enfin, cet examen a un coût sur le plan humain car il est chronophage (le temps nécessaire est supérieur à 25 minutes dans l'étude de Dener [5]) ;

– l'examen cytologique des berges est réalisé à partir d'empreintes obtenues par appositions de la pièce opératoire au niveau de ses différentes faces sur des lames de verre. S'il existe des cellules tumorales, elles vont s'étaler sur les lames [11]. Les lames peuvent ensuite être séchées et colorées. Les critères de malignité recherchés sont représentés par la perte de cohésion des cellules entre elles, leur organisation en amas tridimensionnels, l'existence d'anomalies cellulaires (augmentation du rapport nucléo-cytoplasmique). Cette technique a l'avantage d'être simple, rapide (2 à 3 minutes) [11], et complète en permettant une étude de la totalité de la surface de la pièce opératoire. Elle a par contre l'inconvénient de nécessiter une plus grande expérience de la part du pathologiste ; de plus les techniques sont pathologistes-dépendantes et de ce fait rendent difficiles les comparaisons entre les études. Les carcinomes lobulaires figurent parmi les causes d'échec de la méthode et augmentent donc le risque de reprise chirurgicale [5]. Toutefois, la fiabilité de cette technique est également importante puisque sa sensibilité varie de 80 à 100 % et sa spécificité de 85 à 100 % [12].

Il n'existe pas d'étude ayant comparé ces deux méthodes sur la même population. Comme pour l'examen extemporané du ganglion sentinelle, aucune de ces deux méthodes ne semble avoir de supériorité sur l'autre. L'avantage va cependant à l'examen cytologique, d'une part parce qu'il permet un examen complet des berges opératoires et d'autre part parce qu'il est le seul à pouvoir être réalisé en extemporané dans la mesure où il est beaucoup moins chronophage que l'examen histologique et qu'il n'en gêne pas la réalisation ultérieure.

- La technique des « marges rasées » (shaved margins) consiste à réaliser par le chirurgien un échantillon millimétrique non plus des berges de la pièce opératoire mais de chacune des 5 berges du lit

tumoral lui-même (berge supérieure, inférieure, médiale, latérale et profonde). Il s'agit déjà d'une recoupe millimétrique en soi [7] dont l'analyse par coupes congelées ou empreintes permet de préciser une éventuelle atteinte des berges. Elle a l'avantage de laisser intacte la pièce opératoire pour l'analyse histologique définitive. La sensibilité de cette technique est de 91 %, la spécificité de 100 % [13].

LES GANGLIONS : EXAMEN EXTEMPORANÉ DU GANGLION SENTINELLE

Généralités

Le ganglion sentinelle (GS) axillaire est le premier relais de l'aisselle sur les voies de drainage lymphatique du sein ; son étude reflète le statut ganglionnaire de l'aisselle [3, 14]. La détection du ganglion sentinelle ne pose guère de problème : dans pratiquement toutes les études actuelles, le taux de détection est proche de 100 %. Il en est ainsi dans notre expérience où le GS est systématiquement recherché par la méthode combinée : il est identifié par la méthode combinée dans 87,1 % des cas, la méthode colorimétrique seule dans 67 % et la méthode isotopique seule dans 61 % des cas. L'intérêt de son examen extemporané est de permettre la réalisation du curage axillaire, lorsqu'il est indiqué, dans le même temps opératoire [15]. Les avantages de cette technique sont nombreux :

- diminution du temps nécessaire à la mise en place des traitements adjuvants postopératoires,
- diminution du risque d'exposition de la patiente à une deuxième anesthésie générale,
- diminution des coûts de prise en charge lorsqu'il permet d'éviter un curage axillaire auparavant systématiquement pratiqué,
- diminution des difficultés liées à une intervention sur un site récemment opéré.

La réalisation d'un examen extemporané suppose une information complète préalable de la patiente en préopératoire car le résultat peut modifier le geste opératoire initialement prévu [16].

Les faux négatifs

Dans la littérature, le taux de faux négatifs désigne le rapport du nombre de ganglions faussement négatifs lors de l'examen extemporané sur le nombre de ganglions métastatiques identifiés lors de l'examen anatomopathologique définitif. Il convient de le différencier du nombre de faux négatifs rapportés au nombre d'examens extemporanés négatifs.

Le nombre de ganglions sentinelles examinés en extemporané est compris entre 1,8 et 2,4 dans les différentes études [22-24]. Ce nombre est de 2,1 dans notre expérience.

Les taux de FN dans la littérature varient entre 26 et 56 % [23]. Il a été montré que le taux de faux négatifs est plus élevé lorsque l'examen extemporané porte sur un seul ganglion que lorsqu'il porte sur trois ganglions. Dans le cas où l'examen extemporané porte sur trois ganglions et que l'un d'entre eux est métastatique, le curage ganglionnaire complémentaire est négatif dans 90 % des cas [25].

Les faux négatifs exposent au risque de reprise opératoire, risque qui est pour une patiente de l'ordre de 7 % [26]. Deux facteurs principaux ont une influence sur le taux de faux négatifs de l'examen extemporané :

- la taille de la tumeur primitive : la détection des métastases ganglionnaires est d'autant meilleure que la taille de la tumeur est plus grande ; le risque de faux négatifs est en conséquence plus important pour les patientes ayant une tumeur de petite taille (T1) et bien différenciée [27]. En effet, plus la taille tumorale augmente, plus le risque de macrométastases augmente ; de même, plus la taille est petite, plus le risque de micrométastases augmente ;

- la taille des métastases ganglionnaires : dans la littérature le taux de macrométastases est compris entre 10 et 20 %, celui des micrométastases entre 5 et 15 % pour les tumeurs classées T1 [28, 29]. Dans une étude faite entre trois centres de la région Centre (CHRU de Tours, CHR d'Orléans et CH de Blois), le pourcentage de micrométastases est de 7,3 %, (91 sur 1 244), chez des patientes ayant une tumeur de taille ≤ 20 mm dans 90,1 % des cas. Le taux de faux négatifs augmente quand la taille tumorale diminue : 33 % de faux négatifs pour les T1b, 19 % pour les T1c [30]. De même, le taux de micrométastases augmente quand la taille tumorale diminue [30]. On peut aussi ajouter que plus le taux de micrométastases augmente, plus le taux de faux négatifs augmente ;

- le problème des micrométastases ne doit pas être sous-estimé car la présence de celles-ci altère le pronostic à long terme : la méta-analyse

de Treseler recense huit études montrant que le taux de survie sans récurrence diminue et/ou que le taux de métastases à distance augmente [31] ;

– par contre, le grade histologique ne semble pas avoir d'influence sur les résultats de l'extemporané [32].

Indépendamment de ces facteurs, la technique de l'examen extemporané comporte en elle-même un risque incontournable de faux négatifs. En effet, cet examen ne permet qu'une étude partielle du ganglion examiné, qu'il s'agisse des méthodes histologiques ou cytologiques (cf plus bas). En réalisant trois coupes congelées de 5 µm tous les 2 mm, on obtient une évaluation de moins de 1 % du volume ganglionnaire total [33]. Il faudrait 75 sections d'un ganglion d'une taille de 1,5 cm de diamètre pour identifier les métastases de taille supérieure à 0,2 mm [34].

Coupes en congélation

L'examen extemporané commence par un examen macroscopique. Ce temps est essentiel pour décider quelle partie de la pièce opératoire devra bénéficier de l'examen microscopique [17]. Il comporte la mesure de la taille du (des) ganglion(s), la recherche de sa couleur bleue ou non, la réalisation de tranches de section tous les 2 mm. Il n'existe cependant pas de protocoles d'examen du ganglion sentinelle universellement reconnus, ce qui rend les pratiques très hétérogènes et la comparaison entre les études difficile. Une évaluation des pratiques réalisée par l'European Working Group for Breast Screening Pathology (EWGBSP) a relevé 123 protocoles différents au sein des 240 laboratoires d'anatomie pathologique ayant répondu à son questionnaire [18]. L'absence de consensus et la grande hétérogénéité des pratiques expliquent les difficultés d'interprétation et de comparaison des résultats des différentes études qui utilisent chacune un protocole différent [19].

À partir de ce travail et d'une revue de la littérature [20], ce groupe a émis des lignes de conduite devant servir de bases à l'établissement de référentiels nationaux en 2006 [21]. Cette étude conclut que les coupes en congélation autant que la cytologie d'empreintes sont de bons outils pour l'examen extemporané ; ils ont les mêmes sensibilités et spécificités.

Les chiffres de sensibilité dans la littérature varient de 54 à 94 % [26, 29, 30, 35]. Ces différences considérables dans les études sont dues

aux différences entre les techniques permettant de réaliser les coupes en congélation, les différences portant principalement sur l'espacement entre les coupes ainsi que sur le nombre de coupes réalisées. Par ailleurs, certains chiffres de sensibilité sont donnés par patiente, d'autres par ganglion.

La sensibilité de l'extemporané diminue avec la taille des métastases [35] : la sensibilité pour les micrométastases varie de 10 à 52 %, pour les macrométastases de 92 à 100 %. Par contre la spécificité approche les 100 % dans toutes les séries.

L'examen du ganglion consiste dans un premier temps à en retirer la graisse périphérique à l'aide d'un bistouri froid, à le mesurer, puis à le couper en deux. Dans notre pratique, une moitié du ganglion est congelée dans un cryostat pour analyse extemporanée, l'autre moitié gardée pour l'examen définitif. Pour d'autres équipes, ce sont les deux moitiés du ganglion qui sont congelées. Une fois solidifiée, des coupes de 5 µm d'épaisseur en moyenne sont réalisées dans la moitié congelée à l'aide d'un microtome. Ces coupes sont étalées sur une lame de verre puis colorées, séchées et examinées sous microscope. Le nombre de lames réalisées à partir de la moitié congelée est fonction de l'informativité des lames obtenues (visualisation de toute la surface ganglionnaire et de sa capsule). Le matériel congelé non utilisé pour l'examen extemporané, de même que l'autre moitié de ganglion, est ensuite inclus en paraffine pour examen définitif.

L'examen histologique extemporané comporte un certain nombre d'inconvénients :

- le matériel utilisé après congélation est autant de matériel perdu pour l'examen définitif. Cet inconvénient fait l'objet de débats non résolus : faut-il augmenter le nombre de coupes congelées pour l'extemporané pour augmenter la sensibilité de la technique ou, au contraire, garder du matériel pour l'examen de référence qui est l'examen définitif ? Veronesi [26] et Viale [36] ont l'un et l'autre réalisé une étude exhaustive en multipliant les coupes en extemporané (plus de 60) pour étudier la totalité de la surface ganglionnaire : si cette technique a l'avantage de permettre une réduction du taux de faux négatifs à 5,5 %, elle a l'inconvénient majeur de ne pouvoir entrer dans la pratique courante des laboratoires d'anatomie pathologique en raison des moyens humains importants et du temps nécessairement long qu'elle nécessite ;

- la congélation peut induire des artefacts tissulaires [37]. La phase de dégraissage du ganglion est importante car la graisse se congèle

moins facilement. De plus une congélation mal faite peut créer des artefacts tissulaires rendant difficile l'interprétation des lames ;

– enfin, la technique est plus chronophage que l'examen cytologique extemporané [37].

La stéréomicroscopie qui permet de restituer l'impression de relief à partir des lames examinées pourrait représenter un moyen d'orienter les coupes en congélation sur des zones suspectes [38]. En fait, elle ne présenterait pas de réel intérêt car elle ne détecte pas davantage les micrométastases ou cellules isolées que l'examen microscopique classique.

Empreintes cytologiques

Dans la littérature, la sensibilité des techniques d'examen cytologique extemporané varie de 33 à 95 % [37, 39-43]. De même que pour les coupes en congélation, la sensibilité augmente avec la taille de la tumeur primitive [44], ainsi qu'avec la taille des métastases [45] : sa sensibilité pour les macrométastases varie de 70 à 98 %, pour les micrométastases de 5 à 57 % [44]. Comme pour l'examen microscopique sur coupes en congélation, l'examen cytologique est donc beaucoup plus performant pour la détection des macrométastases que pour celle des micrométastases ; il n'a aucun intérêt pour la détection des cellules isolées. Ceci a conduit certains auteurs à conclure que l'examen cytologique ne devrait pas être utilisé pour les tumeurs classées T1a et T1b, car le seuil de sensibilité est statistiquement différent et trop faible pour les tumeurs de moins de 10 mm [46]. Ceci nous paraît excessif car la sensibilité plus faible de l'examen pour les petites tumeurs (de taille inférieure à 10 mm) est contrebalancée par le faible risque d'envahissement ganglionnaire.

Il existe trois méthodes pour réaliser l'examen cytologique extemporané [17] :

– apposition directe du ganglion sur la lame (technique la plus répandue),

– étalement par pression douce entre deux lames d'un fragment millimétrique de tissu prélevé au bistouri sur la pièce à analyser,

– réalisation de scarifications de la surface ganglionnaire à l'aide d'un bistouri puis étalement sur lames de verre. Certaines études auraient montré un intérêt de cette technique pour augmenter la sensibilité [47].

Les avantages de l'examen cytologique sont dominés par la préservation des tissus pour l'examen histologique définitif, la qualité de l'examen, et bien sûr la rapidité de réalisation de l'examen.

L'examen cytologique comporte un certain nombre d'inconvénients qui lui sont propres. Il nécessite un apprentissage et une expérience plus grande de la part du pathologiste (nécessité d'une « courbe d'apprentissage » pour les pathologistes non formés à cette technique). Les faux négatifs peuvent être dus à une mauvaise technique de réalisation des empreintes [48] ou à une mauvaise interprétation de l'aspect observé sur les lames. Il peut exister des difficultés d'interprétation avec certaines cellules (histiocytes, lymphocytes, cellules endothéliales) qui peuvent mimer l'aspect de cellules tumorales [48].

Par ailleurs, les carcinomes lobulaires infiltrants constituent une cause d'échec et donc de faux négatifs de l'examen cytologique du fait de quelques particularités qui leur sont propres : les cellules sont détachées les unes des autres (absence de cohésion entre les cellules), le nombre de cellules examinées est de ce fait plus faible, et les cellules carcinomateuses peuvent être confondues avec des cellules lymphoïdes car ces carcinomes sont souvent de bas grade nucléaire. Par contre, les faux négatifs ne sont pas liés à l'âge de la patiente, ou au grade histologique SBR en analyse multivariée.

Comparaison entre les deux méthodes

Il n'existe pas de différence statistique en matière de sensibilité entre les deux méthodes. Une seule étude [49] conclut à la supériorité des coupes en congélation sur les empreintes cytologiques après utilisation des deux techniques sur les mêmes ganglions.

L'utilisation des deux méthodes au cours d'un même examen extemporané sur le même ganglion ne semble pas améliorer la sensibilité de détection des micrométastases [15, 50] et ne montre pas de différence de sensibilité entre les 2 méthodes utilisées seules [51-53].

Il existe cependant une circonstance dans laquelle l'examen histologique semble plus performant que l'examen cytologique : il s'agit des carcinomes lobulaires infiltrants, dont la prévalence est de 10 à 15 %, alors que celle des carcinomes canaux infiltrants est de 85 à 90 % [23]. Les études comparant la sensibilité de l'extemporané en fonction du type lobulaire ou canalaire de la tumeur primitive sont cependant discordantes. Sur une cohorte de 616 patientes, Creager ne retrouve pas de différence de sensibilité de l'examen extemporané par

empreintes entre carcinomes canauxaires et lobulaires infiltrants [45]. Sur une cohorte de 1 972 patientes, Cox montre par contre une plus grande sensibilité de l'examen extemporané par empreintes pour les carcinomes canauxaires infiltrants (56 %) que pour les carcinomes lobulaires infiltrants (39 %), avec une différence statistiquement significative ($p < 0,05$) [40]. De même, dans une étude portant sur 5 298 patientes, Chan retrouve une sensibilité significativement plus importante de l'examen extemporané par coupes en congélation pour les carcinomes canauxaires infiltrants (62 %) que pour les carcinomes lobulaires infiltrants (52 %) ($p = 0,006$) [54]. Au total, quelle que soit la méthode utilisée, les études les plus importantes en nombre de patientes montrent une différence de sensibilité en faveur de l'examen histologique. Un certain nombre d'explications a déjà été apporté dans le paragraphe consacré à l'examen cytologique ; on y a vu en particulier que les métastases des carcinomes lobulaires infiltrants se présentent davantage sous forme de cellules isolées, plus difficiles à détecter, ce qui est confirmé par le fait que les molécules d'adhésion (E-Cadherine) y ont une expression plus faible [23, 54].

Nous avons récemment mené une étude (non encore publiée) dans la région Ouest de la France, entre les centres hospitaliers universitaires de Tours et Poitiers, les centres anticancéreux d'Angers, Nantes et Rennes. Les trois premiers pratiquent l'histologie par coupes en congélation pour l'examen extemporané, les deux derniers la cytologie par empreintes. Cette étude rétrospective, menée sur une période de 24 mois entre janvier 2007 et le 31 décembre 2008, porte sur 1 248 patientes. Elle compare deux groupes de patientes : un groupe ayant bénéficié d'un examen histologique extemporané (672 patientes) avec un groupe ayant fait l'objet d'un examen cytologique (576 patientes). Les résultats concernant la sensibilité sont en faveur du groupe histologie : 51 % contre 31,8 %, la différence étant statistiquement significative ($p < 0,001$). La sensibilité est très différente selon la taille des métastases, très supérieure en cas de macrométastases : respectivement dans les groupes histologie et cytologie, elle est de 83,5 et 62,7 % pour les macrométastases, 20 et 7 % pour les micrométastases, 8,5 et 0 % pour les cellules isolées ; les différences observées sont statistiquement hautement significatives ($p < 0,001$). De la même façon, elle est également meilleure pour les carcinomes canauxaires infiltrants que pour les carcinomes lobulaires infiltrants : respectivement dans les groupes histologie et cytologie, elle est de 54,6 % et 35,6 % pour les carcinomes canauxaires, de 29,1 % et 5,2 % pour les carcinomes lobulaires ; on remarque la très faible performance

de l'examen cytologique dans la détection des métastases ganglionnaires des carcinomes lobulaires.

Alternatives

- Certains auteurs proposent la réalisation d'examens complémentaires préopératoires du creux axillaire pour éviter la procédure du ganglion sentinelle à des femmes qui ont des adénomégalies qui n'étaient pas détectables par la clinique seule :

	Sensibilité	Spécificité
Lymphoscintigraphie	59,1	93,7
Échographie de l'aisselle	63,6	90,6
Lymphoscintigraphie + échographie	72,7	97,8
Lymphoscintigraphie + échographie + ponction à l'aiguille	72,7	100
Sensibilité calculée par rapport à l'examen définitif du ganglion sentinelle ou du curage en cas d'envahissement ganglionnaire [55].		

Lorsque ces examens se révèlent positifs, les auteurs préconisent la réalisation d'un curage axillaire d'emblée, sans recourir à la procédure intermédiaire du ganglion sentinelle [55].

- Réalisation préopératoire d'un PET TDM : sa sensibilité est de 77 %, sa spécificité de 100 %, sa valeur prédictive de 100 % [56]. Il ne semble pas s'agir d'un examen ayant un apport important ; il a de plus un coût élevé. Son intérêt pourrait se situer dans les situations où l'imagerie classique est prise en défaut, en particulier chez les femmes obèses ou lorsque l'échographie est peu contributive ; il a également l'avantage de permettre un bilan des lésions à distance au cours du même examen.

L'intérêt est que toutes ces techniques sont réalisables en ambulatoire.

- Ponction à l'aiguille d'un ganglion suspect sous contrôle échographique pour examen cytologique. Cette technique a une sensibilité de 68 %, une spécificité de 100 %, une valeur prédictive positive de 100 %, une valeur prédictive négative de 65 % [57]. Elle n'a d'intérêt que si l'examen cytologique retrouve une métastase : le curage axillaire est

alors réalisé d'emblée ; dans le cas contraire il faut recourir à la procédure du ganglion sentinelle.

Il s'agit d'une méthode simple et peu coûteuse qui permettrait d'éviter une procédure sentinelle dans 30 % des cas [57]. Le coût est évalué à 140 €, ce qui représente une économie de plus de 2 500 € par rapport au prélèvement du ganglion sentinelle [58].

- Prélèvement opératoire du ganglion sentinelle sous anesthésie locale en ambulatoire. Après une étude préliminaire menée par Aubard au CHRU de Limoges [59], la faisabilité de cette technique a été démontrée sur plus de 800 femmes [60]. La technique utilise un double repérage du ganglion sentinelle, par méthodes isotopique et colorimétrique. Le taux de détection du ganglion sentinelle est de 100 %, avec un nombre moyen de ganglions prélevés par patiente de 1,7. La durée de l'acte opératoire varie de 20 à 30 mn. Le succès de cette approche est fonction de l'expérience du chirurgien, de l'index de masse corporelle de la patiente, du nombre de ganglions détectés à la lymphoscintigraphie. Son avantage est de permettre une prise en charge du (des) ganglion(s) sentinelle(s) dans des conditions optimales et de donner en préopératoire au chirurgien le statut ganglionnaire avec la précision de l'examen histologique définitif. Pour les patientes dont l'examen histologique ne montre pas d'envahissement ganglionnaire (les plus nombreuses pour les tumeurs de taille ≤ 20 mm), le geste chirurgical se limite à l'exérèse de la tumeur ; pour les autres, la chirurgie au niveau du sein et de l'aisselle est faite dans le même temps opératoire, avec l'inconvénient cependant d'avoir eu deux temps opératoires.

Il existe enfin deux techniques visant à améliorer les performances de l'examen extemporané.

- L'immunohistochimie (IHC) : elle est utilisable lors de l'examen extemporané, autant avec les coupes en congélation qu'avec les empreintes cytologiques [51].

Une étude portant sur l'utilisation de l'IHC au cours de l'examen extemporané [61] a montré une diminution significative du nombre des faux négatifs par rapport aux coupes en congélation seules : ce taux passe de 16 à 5 % pour les macrométastases, de 56 à 36 % pour les micrométastases, et de 93 à 52 % pour les cellules isolées.

Elle comporte toutefois un certain nombre d'inconvénients. Elle augmente considérablement le temps de réponse, d'environ 20 à 25 min supplémentaires [48, 51]. Elle peut être faussement positive en

raison de la présence de cellules épithéliales bénignes mammaires au sein du ganglion, de cellules dendritiques ou de macrophages [62].

Sa sensibilité globale est de 80 % : 100 % pour les macro-métastases ; 50 % pour les micrométastases [51]. La sensibilité de l'examen microscopique extemporané par coupes congelées associé à l'IHC devient égale à la sensibilité de l'examen définitif à condition de multiplier les coupes [63] ; dans le cas contraire, elle n'augmente pas la sensibilité de façon significative. Le coût gagné sur les réinterventions permettrait un gain de 40 % par rapport au coût de l'IHC elle-même [61].

- La technique moléculaire : la polymérisation en chaîne par transcriptase inverse (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT PCR)). Cette technique est en cours d'évaluation actuellement ; elle peut être couplée aux autres techniques dans le cadre d'un examen extemporané, aussi bien histologique que cytologique [19]. Elle amplifie les ARN messagers du gène de la cytokératine 19 et de ceux de la mammoglobine par PCR [64]. Selon le niveau d'expression, elle permet de détecter les micro et les macrométastases.

Sa sensibilité est de 87,6 %, sa spécificité de 94,2 %, sa valeur prédictive positive de 86,2 %, sa valeur prédictive négative de 94,9 % [65].

Son principal avantage est sa haute concordance avec l'examen histologique définitif [66]. Elle présente quelques inconvénients. Elle nécessite un temps relativement important, de 36 à 46 min pour étudier un à trois ganglions [65]. Elle nécessite un local spécifique, « ARN free », afin d'éviter toute contamination extérieure. Lorsque plusieurs ganglions sont prélevés, ils ne peuvent être techniqués en même temps. L'examen nécessite une digestion du tissu : en cas d'examen positif, il existe un risque au moins théorique d'erreur liée à la présence de cellules épithéliales bénignes, ou de kératinocytes du technicien au sein du tissu analysé [31]. L'expression des gènes est corrélée à la taille de la métastase. Cette technique n'est en conséquence pas sensible pour les cellules isolées : il s'agit d'un inconvénient très relatif car il ne modifie pas l'indication du curage axillaire complémentaire en cas de positivité. Enfin, le recours à cette technique représente assurément un surcoût important qui reste à évaluer. De ce fait, cette technique pourrait être utilisée dans les cas où l'examen extemporané comporte un risque de faux négatif plus important, dans le cadre des petites tumeurs (≤ 10 mm) ou des carcinomes lobulaires infiltrants par exemple.

PERSPECTIVES AUTRES

Une taille de tumeur primitive supérieure à 20 mm n'influence pas le taux de faux négatifs du sentinelle et n'augmente pas le taux de récurrence axillaire (études randomisées prospectives avec recul supérieur à 3 ans). Pour ces deux raisons Barranger propose d'étendre les indications de recherche du sentinelle aux tumeurs de taille supérieure à 20 mm, comme cela est déjà fait aux États-Unis, au Canada et certains pays européens [67]...

CONCLUSION

L'exérèse complète de la tumeur avec des berges passant en tissus sains reste le principal facteur pronostique influant sur le risque de récurrence locale. Les techniques permettant l'évaluation peropératoire des berges d'exérèse se heurtent à des difficultés non résolues, tout particulièrement en présence de carcinome intracanalalaire.

Les limites de l'examen extemporané du ganglion sentinelle semblent résider tout à la fois dans [60] le type d'analyse pratiquée en extemporané (histologie ou cytologie), le temps dédié à cet examen, la taille des métastases ganglionnaires, et le type histologique du carcinome mammaire. Ces limites sont responsables du taux de réinterventions secondaires dont on souhaiterait pouvoir réduire le nombre. Ces limites ouvrent des perspectives à des techniques complémentaires ou alternatives. Les techniques complémentaires telles que l'immunohistochimie ou la Real Time PCR semblent pouvoir améliorer la sensibilité de détection des métastases ganglionnaires mais restent pour l'instant peu accessibles à la pratique courante en dehors de protocoles de recherche, en particulier du fait de leur coût. Le développement des techniques de stadification préopératoire de l'atteinte axillaire (imagerie, et surtout prélèvement du ganglion sentinelle sous anesthésie locale en ambulatoire) nous semble constituer une voie intéressante afin d'optimiser la prise en charge thérapeutique des patientes.

Bibliographie

- [1] Houvenaeghel G et al. Margin status in invasive breast cancer. *Bull Cancer* 2008;95(12):1161-70.
- [2] Olson TP et al. Frozen section analysis for intraoperative margin assessment during breast-conserving surgery results in low rates of re-excision and local recurrence. *Ann Surg Oncol* 2007;14(10):2953-60.
- [3] Balch GC et al. Accuracy of intraoperative gross examination of surgical margin status in women undergoing partial mastectomy for breast malignancy. *Am Surg* 2005;71(1):22-7;discussion 27-8.
- [4] Camp ER et al. Minimizing local recurrence after breast conserving therapy using intraoperative shaved margins to determine pathologic tumor clearance. *J Am Coll Surg* 2005;201(6):855-61.
- [5] Dener C et al. Interoperative frozen section for margin assessment in breast conserving enegy. *Scand J Surg* 2009;98(1):34-40.
- [6] Weinberg E et al. Local recurrence in lumpectomy patients after imprint cytology margin evaluation. *Am J Surg* 2004;188(4):349-54.
- [7] Klimberg VS, Harms S, Korourian S. Assessing margin status. *Surg Oncol* 1999;8(2):77-84.
- [8] Cabioglu N et al. Role for intraoperative margin assessment in patients undergoing breast-conserving surgery. *Ann Surg Oncol* 2007;14(4):1458-71.
- [9] Chagpar A et al. Intraoperative margin assessment reduces reexcision rates in patients with ductal carcinoma in situ treated with breast-conserving surgery. *Am J Surg* 2003;186(4):371-7.
- [10] Carter D. Margins of "lumpectomy" for breast cancer. *Hum Pathol* 1986;17(4):330-2.
- [11] Klimberg VS, Westbrook KC, Korourian S. Use of touch preps for diagnosis and evaluation of surgical margins in breast cancer. *Ann Surg Oncol* 1998;5(3):220-6.
- [12] Creager AJ et al. Intraoperative evaluation of lumpectomy margins by imprint cytology with histologic correlation: a community hospital experience. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126(7):846-8.
- [13] Weber S et al. The role of frozen section analysis of margins during breast conservation surgery. *Cancer J Sci Am* 1997;3(5):p273-7.
- [14] Rubio IT et al. Use of touch preps for intraoperative diagnosis of sentinel lymph node metastases in breast cancer. *Ann Surg Oncol* 1998;5(8):689-94.
- [15] Vanderveen KA, Ramsamooj R, Bold RJ. A prospective, blinded trial of touch prep analysis versus frozen section for intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2008;15(7):2006-11.
- [16] Michy T et al. Is there still a place for extemporaneous exam in breast cancer? *Gynecol Obstet Fertil* 2006;34(2):115-9.
- [17] Laucirica R. Intraoperative assessment of the breast: guidelines and potential pitfalls. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129(12):1565-74.
- [18] Cserni G et al. Discrepancies in current practice of pathological evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer. Results of a questionnaire based survey by the European Working Group for Breast Screening Pathology. *J Clin Pathol* 2004;57(7):695-701.
- [19] Viale G et al. Comparative evaluation of an extensive histopathologic examination and a 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(1):36-42.
- [20] Cserni G et al. Pathological work-up of sentinel lymph nodes in breast cancer. Review of current data to be considered for the formulation of guidelines. *Eur J Cancer* 2003;39(12):1654-67.
- [21] Perry N et al. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth edition--summary document. *Ann Oncol* 2008;19(4):614-22.
- [22] Celebioglu F et al. Intraoperative sentinel lymph node examination by frozen section, immunohistochemistry and imprint cytology during breast surgery--a prospective study. *Eur J Cancer* 2006;42(5):617-20.
- [23] Horvath JW et al. Comparison of intraoperative frozen section analysis for sentinel lymph node biopsy during breast cancer surgery for invasive lobular carcinoma and invasive ductal carcinoma. *World J Surg Oncol* 2009;7:34.

- [24] Nofech-Mozes S et al. Intraoperative consultation for axillary sentinel lymph node biopsy: an 8-year audit. *Int J Surg Pathol* 2009;17:17.
- [25] Blumencranz P et al. Scientific Impact Recognition Award. Sentinel node staging for breast cancer: intraoperative molecular pathology overcomes conventional histologic sampling errors. *Am J Surg* 2007;194(4):426-32.
- [26] Veronesi U et al. Sentinel lymph node biopsy as an indicator for axillary dissection in early breast cancer. *Eur J Cancer* 2001;37(4):454-8.
- [27] Gawlick U et al. Selective use of intraoperative sentinel lymph node pathological evaluation in breast cancer. *Am J Surg* 2008;196(6):851-5;discussion 855-6.
- [28] Perhavec A et al. Touch imprint cytology of the sentinel lymph nodes might not be indicated in early breast cancer patients with ultrasonically uninvolved axillary lymph nodes. *Ann Surg Oncol* 2008;15(8):2257-62.
- [29] Van de Vrande S et al. The value of intraoperative frozen section examination of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2009;35(3):276-80.
- [30] Wada N et al. Evaluation of intraoperative frozen section diagnosis of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2004;34(3):113-7.
- [31] Treseler P. Pathologic examination of the sentinel lymph node: what is the best method? *Breast J* 2006;12(5 Suppl 2):S143-51.
- [32] Schwartz GF et al. Value of intraoperative examination of axillary sentinel nodes in carcinoma of the breast. *J Am Coll Surg* 2008;207(5):758-62.
- [33] Van Diest PJ et al. Pathologic analysis of sentinel lymph nodes. *Semin Surg Oncol* 2001;20(3):238-45.
- [34] Farshid G et al. Computer simulations of lymph node metastasis for optimizing the pathologic examination of sentinel lymph nodes in patients with breast carcinoma. *Cancer* 2000;89(12):2527-37.
- [35] Langer I et al. Accuracy of frozen section of sentinel lymph nodes: a prospective analysis of 659 breast cancer patients of the Swiss multicenter study. *Breast Cancer Res Treat* 2009;113(1):129-36.
- [36] Viale G et al. Pathologic examination of the axillary sentinel lymph nodes in patients with early-stage breast carcinoma: current and resolving controversies on the basis of the European Institute of Oncology experience. *Virchows Arch* 2006;448(3):241-7.
- [37] Motomura K et al. Accuracy of imprint cytology for intraoperative diagnosis of sentinel node metastases in breast cancer. *Ann Surg* 2008;247(5):839-42.
- [38] Varga Z et al. Use of intraoperative stereomicroscopy for preventing loss of metastases during frozen sectioning of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Histopathology* 2008;52(5):597-604.
- [39] Limberis V et al. Intraoperative estimation of sentinel lymph nodes in breast cancer by imprint cytology. *Eur J Gynaecol Oncol* 2009;30(1):85-7.
- [40] Cox C et al. Accuracy of intraoperative imprint cytology for sentinel lymph node evaluation in the treatment of breast carcinoma. *Cancer* 2005;105(1):13-20.
- [41] Barranger E et al. Intraoperative imprint cytology of sentinel nodes in breast cancer. *J Surg Oncol* 2004;86(3):128-33.
- [42] Mullenix PS et al. Predictive value of intraoperative touch preparation analysis of sentinel lymph nodes for axillary metastasis in breast cancer. *Am J Surg* 2003;185(5):420-4.
- [43] Dabbs DJ, Fung M, Johnson R. Intraoperative cytologic examination of breast sentinel lymph nodes: test utility and patient impact. *Breast J* 2004;10(3):190-4.
- [44] Tew K et al. Meta-analysis of sentinel node imprint cytology in breast cancer. *Br J Surg* 2005;92(9):1068-80.
- [45] Creager AJ et al. Intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes for metastatic breast carcinoma by imprint cytology. *Mod Pathol* 2002;15(11):1140-7.
- [46] Zgajnar J et al. Low sensitivity of the touch imprint cytology of the sentinel lymph node in breast cancer patients—results of a large series. *J Surg Oncol* 2004;85(2):82-6; discussion 87.
- [47] Smidt ML et al. Intraoperative scrape cytology of the sentinel lymph node in patients with breast cancer. *Br J Surg* 2002; 89(10):1290-3.
- [48] Contractor K et al. Intra-operative imprint cytology for assessing the sentinel node in breast cancer: results of its routine use over 8 years. *Eur J Surg Oncol* 2009;35(1):16-20.

- [49] Mori M et al. Frozen section is superior to imprint cytology for the intra-operative assessment of sentinel lymph node metastasis in stage I breast cancer patients. *World J Surg Oncol* 2006;4:26.
- [50] Perez N et al. A practical approach to intraoperative evaluation of sentinel lymph node biopsy in breast carcinoma and review of the current methods. *Ann Surg Oncol* 2005; 12(4):313-21.
- [51] Krishnamurthy S et al. A prospective study comparing touch imprint cytology, frozen section analysis, and rapid cyokeratin immunostain for intraoperative evaluation of axillary sentinel lymph nodes in breast cancer. *Cancer* 2009;115(7):1555-62.
- [52] Brogi E et al. The results of frozen section, touch preparation, and cytological smear are comparable for intraoperative examination of sentinel lymph nodes: a study in 133 breast cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2005;12(2):173-80.
- [53] Lyman GH et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23(30):7703-20.
- [54] Chan SW et al. 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(1):143-9.
- [55] Lumachi F et al. Usefulness of combined sestamibi scintimammography, axillary ultrasoundography and FNA cytology in reducing the number of sentinel node procedures in patients with early-stage breast cancer. *Anticancer Res* 2009;29(2):491-4.
- [56] Kim J et al. Selective sentinel node plus additional non-sentinel node biopsy based on an FDG-PET/CT scan in early breast cancer patients: single institutional experience. *World J Surg* 2009;33(5):943-9.
- [57] Altomare V et al. Axillary lymph node echo-guided fine-needle aspiration cytology enables breast cancer patients to avoid a sentinel lymph node biopsy. Preliminary experience and a review of the literature. *Surg Today* 2007; 37(9):735-9.
- [58] Genta F et al. Cost/accuracy ratio analysis in breast cancer patients undergoing ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology, sentinel node biopsy, and frozen section of node. *World J Surg* 2007;31(6): 1155-63.
- [59] Aubard Y, Mollard J, Fermeaux V. How to avoid the uncertainties of intraoperative examination of the sentinel lymph node in breast cancer? *Gynecol Obstet Fertil* 2004;32(11):981-4.
- [60] Bouquier J et al. Sentinel lymph node biopsy under local anaesthesia: how to avoid the disadvantages of intraoperative examination? *Gynecol Obstet Fertil* 2008;36(1):79-84.
- [61] Holm M et al. Intraoperative immunohistochemistry staining of sentinel nodes in breast cancer: clinical and economical implications. *Breast* 2008;17(4):372-5.
- [62] Cserni G. Histopathologic examination of the sentinel lymph nodes. *Breast J* 2006;12(5 Suppl 2):S152-6.
- [63] Upender S et al. Intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes in breast carcinoma by imprint cytology, frozen section and rapid immunohistochemistry. *Diagn Cytopathol* 2009; 15:15.
- [64] Visser M et al. Intra-operative rapid diagnostic method based on CK19 mRNA expression for the detection of lymph node metastases in breast cancer. *Int J Cancer* 2008;122(11):2562-7.
- [65] Julian TB et al. Novel intraoperative molecular test for sentinel lymph node metastases in patients with early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(20):3338-45.
- [66] Martinez M et al. Clinical validation of a molecular assay for intra-operative detection of metastases in breast sentinel lymph nodes. *Eur J Surg Oncol* 2009;35(4):387-92.
- [67] Barranger E. Should sentinel node biopsy be limited by tumour size? *Gynecol Obstet Fertil* 2008;36(11):1073.