



**HAL**  
open science

# Intérêt de la cytométrie en flux dans l'analyse du liquide de drainage post curage ganglionnaire dans un contexte de mélanome

Juliette Surlemont

## ► To cite this version:

Juliette Surlemont. Intérêt de la cytométrie en flux dans l'analyse du liquide de drainage post curage ganglionnaire dans un contexte de mélanome. Chirurgie. 2021. dumas-03589107

**HAL Id: dumas-03589107**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03589107v1>**

Submitted on 28 Sep 2022

**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.

Université Picardie Jules Verne

Faculté de médecine

Année : 2021

Thèse N° : 2021 - 250

Intérêt de la cytométrie en flux dans l'analyse du liquide de drainage post curage ganglionnaire dans un contexte de mélanome.

Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en médecine

DES de chirurgie générale

DESC de chirurgie plastique, esthétique et reconstructrice

Présentée et soutenue publiquement le 26 novembre 2021

Par

Juliette SURLEMONT

Président du jury : Monsieur le Professeur Raphael SINNA

Membres du jury : Madame le Professeur Catherine LOK

Madame le Professeur Sylvie TESTELIN

Monsieur le Docteur Jean Philippe ARNAULT

Monsieur le Docteur Thomas BOYER

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Thomas BOYER

A mon maitre et Président du jury

*Monsieur le Professeur Raphaël SINNA  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
Chirurgie Plastique Reconstructrice et Esthétique*

Vous me faites l'honneur de présider ce jury et d'accepter de juger mon travail, je vous en remercie.

Je ne saurais comment vous remercier d'avoir fait de moi un chirurgien plasticien. J'espère avoir été à la hauteur de vos attentes et de celles de votre service, au sein duquel j'ai pu recevoir une formation complète et de qualité. L'ambiance et la dynamique que vous y faites régner sont uniques et permettent à chacun de s'épanouir tant sur le plan personnel que professionnel.

A mon maitre et juge,

*Madame le Professeur Catherine LOK  
Professeur des Universités-Praticien Hospitalier  
(Dermatologie-Vénérologie)  
Membre du Conseil de l'UFR de Médecine  
Chef du Service de Dermatologie*

Vous me faites l'honneur d'accepter de juger mon travail et je vous en remercie.

Merci pour l'intérêt que vous avez d'emblée porté à ce travail, j'espère qu'il aura été à la hauteur de vos attentes.

A mon maitre et juge,

*Madame le Professeur Sylvie TESTELIN*

*Professeur des Universités-Praticien Hospitalier*

*(Chirurgie Maxillo-faciale et Stomatologie)*

*Chef du Service de Chirurgie Maxillo-faciale CHU Amiens*

*Picardie*

*Chevalier dans l'Ordre de la Légion d'Honneur*

Vous me faites l'honneur d'accepter de juger mon travail et je vous en remercie.

Les 6 mois passés dans votre service ont été l'occasion de découvrir votre spécialité ainsi que la rigueur, la disponibilité et la gentillesse avec laquelle vous vous occupez de vos patients. Ajoutez à cela des qualités chirurgicales que tout interne aimerai posséder un jour ; vous resterez une source d'inspiration dans ma pratique future.

A mon maitre et juge,

*Monsieur le Docteur Jean-Philippe ARNAULT*

*Praticien Hospitalier*

*(Dermatologie-Vénérologie)*

Vous me faites l'honneur d'accepter de juger mon travail et je vous en remercie.

Je garde d'excellents souvenirs de toutes les RCP au cours desquelles nous avons eu l'occasion d'échanger ; merci pour vos explications médicales, j'espère que nous pourrons travailler régulièrement ensemble à l'avenir.

A mon maitre et directeur de thèse,

*Monsieur le Docteur Thomas BOYER*

*Maitre de Conférence Universitaire*

*(Hématologie Biologique)*

Merci d'avoir accepté de diriger et de juger ce travail.

Malgré nos univers éloignés, notre collaboration m'a toujours semblée fluide et facile. Merci pour votre disponibilité, votre ouverture d'esprit au cours de ce travail, et merci de m'accompagner pour ce moment si important dans une carrière médicale.

Au service de chirurgie plastique.

*Nizar*, tes qualités humaines et chirurgicales font de toi une personne exceptionnelle, je mesure la chance que j'ai eu de travailler avec toi. Merci pour ta gentillesse et ta bienveillance, ta bonne humeur constante, tes explications et ta confiance au bloc ; merci pour toutes les choses que tu m'as transmis.

*Pierre-Antoine*, ta patience au bloc est extrêmement appréciable pour apprendre et comprendre notre métier. Merci pour la bonne ambiance quotidienne et les bons plans culinaires, et merci pour ton sens de la ponctualité !

*Abeer*, co-interne puis chef, nous nous sommes toujours bien entendues et j'ai appris de nos échanges, qu'ils soient chirurgicaux ou personnels.

*Géraldine*, merci d'avoir été disponible pour répondre à mes questions au début de l'internat quand les choses étaient un peu floues pour moi ; nous avons peu travaillé ensemble mais cela a toujours été agréable.

*Marie Angèle, Véro, Isa et Mélanie*, nos pépites du bloc : merci pour la chaleur avec laquelle vous m'avez accueillie dans l'équipe, travailler avec vous est un plaisir au quotidien que j'espère retrouver bientôt.

*Valérie*, tes conseils et tes connaissances sont précieux en consultation : merci de contribuer à notre formation et de suivre notre évolution, merci de partager ma passion pour notre belle ville de Rouen.

*Christine, Béné, Fred*, les soins sans vous ne seraient pas les mêmes ; vous contribuez chacun à votre façon à l'ambiance qui y règne, et toujours en musique !

*Aux infirmier(e)s et aide-soignant(e)s du service*, vous participez à la bonne ambiance générale du service, et êtes d'un précieux soutien pour les tâches du service, que ce soit en plastique ou lors de notre passage en maxillo ; et merci pour les ravitaillements en biscottes !

*Aux secrétaires, Cynthia et Joëlle*, merci de ne pas me détester pour ces nombreux courriers à taper pendant mes semaines de GSM...



A mes co-internes de chirurgie plastique.

*Simon*, je n'avais jamais eu de co-interne plus vieux dans le service, et malgré le Covid j'ai essayé d'en tirer profit au maximum ; merci d'avoir organisé l'opération « Save Our Stomach », on formait une équipe de choc dont tu étais le chef, j'en garde des souvenirs mémorables.

*Gull*, tes chaussettes et ton obsession du rangement du bureau resteront gravés dans les mémoires ; merci pour ta joie de vivre et ta façon bien à toi de t'émerveiller de petites choses.

*Maxime*, drains thoraciques, cuisslift et dents de sagesse auront marqués notre parcours commun d'interne, toujours dans la bonne humeur et avec ton humour, dont toi seul a le secret.

*Rodolphe*, team banquette au relais pour refaire le monde, toujours présent.

*India*, notre complicité et solidarité dans le service a été assez spontanée ; il me tarde de te retrouver.

*Sarah*, discrète mais toujours attentive aux autres, je suis admirative de ton parcours et de ton exil français.

*Octave*, à nos discussions jeux de société, shopping, bonne franquette et chirurgie de la face ; je suis contente de ce semestre passé ensemble et j'espère qu'il y en aura d'autres.

*Marion*, on se connaît peu mais tu as contribué à ce travail à ta façon ; merci de m'avoir répondu pendant mon exil toulousain, nous aurons l'occasion d'apprendre à mieux nous connaître j'en suis sûre.

*Hadeel*, ton français et la rapidité avec laquelle tu t'es débrouillé dans le service m'ont impressionné quand tu es arrivée ; chapeau pour ton parcours.

### Au service de chirurgie pédiatrique.

*Xavier*, le meilleur chef de clinique avec qui commencer l'internat, disponible, drôle et maîtrisant son sujet, merci de m'avoir permis de débiter et de découvrir l'hôpital dans ces conditions.

Merci aux *Dr Haraux, Buisson, Ricard et Hamzy*, une équipe au sein de laquelle il était très agréable d'évoluer et de commencer mon apprentissage.

Je n'oublie évidemment pas le *Pr Gouron*, le *Dr Derroussen*, le *Dr Plancq* et le *Dr Klein*, toujours disponibles et pédagogues pendant les astreintes et avec qui j'ai beaucoup aimé travailler.

Mes antécédents familiaux font que je garde un souvenir ému de ces 6 premiers mois d'internat.

### Au service de chirurgie thoracique.

*Pascal*, merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir aidé à accéder à la formation de chirurgie plastique. Merci de m'avoir fait découvrir le père Fourras et ses énigmes : PERDU !

Merci à *Florence* pour ta patience et tes vocalises au bloc ; *Geoni et Alejandro*, je garde de bons souvenirs de ces quelques mois passés à travailler ensemble.

*Alex et Simon*, je garde en mémoire les lendemains de soirées une bouteille d'eau dans chaque poche, et les visites où, très attentifs, nous jouions au jeu du rond.

Au service d'ORL et CMF de Compiègne, ainsi qu'aux équipes du bloc, merci pour ce semestre un peu plus tranquille mais au cours duquel ma formation s'est enrichie tant en tête et cou qu'en chirurgie viscérale au cours des gardes.

A St Quentin,

*Dr Vernon*, la découverte de la chirurgie vasculaire à vos côtés s'est avérée très enrichissante et utile dans ma pratique quotidienne.

*Dr Al Olabi*, merci de ne pas m'avoir appelé Juliette une seule fois dans le semestre !

Aux équipes du bloc, merci pour l'ambiance quotidienne et ces weekends de garde gastronomiques.

Au service de chirurgie maxillo-faciale,

*Au Pr Devauchelle*, c'est un honneur d'avoir pu travailler et évoluer à vos côtés ; vous partagez votre expérience et vos anecdotes comme personne ; merci également d'avoir enrichi ma culture en musique classique.

*Aux Dr Bettoni et Olivetto*, tic et tac, je ne savais pas qu'il était possible (entre 2 lambeaux et 2 séances de musculation) de manger autant de délicat..! Merci pour ce que vous m'avez apporté pendant ces 6 mois.

*A Nolwenn*, grâce à qui je ne culpabilise plus de remplir autant mon dressing ; ta patience, ta douceur et tes qualités chirurgicales ont contribué à rendre ce semestre agréable et bénéfique pour moi : merci.

*Au Dr Gbaguidi*, j'attendais souvent le vendredi avec impatience ; j'ai beaucoup aimé découvrir la chirurgie des fentes à vos côtés, merci pour cela.

### A l'équipe toulousaine.

Ces 6 mois dans votre service ont incontestablement fait de moi un meilleur chirurgien, et je pense une meilleure personne. Merci pour votre accueil, merci à l'ensemble des chefs pour leur disponibilité et leur partage d'expérience au bloc comme en consultation ; merci à mes co-internes pour cette excellente ambiance pendant 6 mois.

*Pr Grolleau*, les mots compagnonnage et transmission ont pris tout leur sens pendant ces 2 mois passés avec vous ; j'ai apprécié chaque minute de travail, mais également chaque discussion que nous avons pu avoir, qu'elle soit médicale, culinaire ou sportive.

### A mes anciens co-internes.

*Damien*, tu n'auras pas réussi à me détourner vers l'urologie ; merci de m'avoir fait découvrir que je ne prenais pas le bon chemin pour aller aux urgences après 4 mois au CHU.

*Corentin, Vitto et Kader* : la dream team d'orthopédie pédiatrique du début d'internat, merci de m'avoir appris à lire une radio.

*Caro*, toujours présente pour faire face à l'adversité un cappuccino Milka à la main, notre année passée ensemble m'a permis d'apprendre à te connaître et à apprécier ton petit caractère.

*Axel, Muller*, retirer des gros bazars avec toi aura certainement fait partie des plus grands moments de mon internat. Bravo d'avoir réussi à quitter St Quentin, et bravo à moi de ne pas avoir terminé en gériatrie n'est-ce pas ?

*Gonzague*, golfeur toujours impeccable avec tes chemises, que ce soit pour retirer des kystes ou livrer à manger aux quatre coins de l'hôpital, ce fut un plaisir de travailler ensemble.

*Sarah J*, la seule interne à venir à cheval à l'hôpital : ne change rien.

### Aux Amiénois :

*Maité*, pilier de l'internat, pilier Amiénois tout court après ces 5 années ensemble ; je ne sais pas où la vie nous mènera mais j'espère que nos chemins resteront liés quoi qu'il arrive.

*Anouck*, deuxième pilier de l'internat, plieuse de plaid professionnelle et mangeuse de soupe ; tu as ton caractère, que l'on apprécie en apprenant à te connaître. Ces années de cohabitation à l'internat puis en coloc ont été importantes pour notre amitié, qui n'a pas cessé depuis.

*Côme et Laura* (Bree), le prêt d'aspirateur en premier semestre ça soude manifestement ! Vous contribuez à rendre la vie amiénoise plus agréable, merci pour votre accueil toujours impeccable, tant au niveau culinaire qu'au niveau rangement.

*Lucile*, petit rayon de soleil marseillais avec ton accent, merci pour ta spontanéité, ta gaité et tes dessins de chevaux !

*Eva*, il était toujours bon de venir chez vous et de papoter pendant des heures, sans nous arrêter. Je n'oublie pas *Yohan* sans qui ma première aventure réunionnaise n'aurait pas été la même ; j'aimais beaucoup nos discussions voyage et sport. Vous allez me manquer.

*Mélodie*, on se voit peu mais j'apprécie chaque moment passé ensemble et j'espère qu'ils seront plus nombreux à l'avenir.

### Aux colocs de la rue Cozette :

*Babag*, toujours présente pour cuisiner des cookies, les bons petits plats des diners colocs et boire des litres de thé, vivre avec toi était doux et facile.

*Rosalie*, assister à tes diners improbables et à tes oublis incessants d'emploi du temps me faisait beaucoup rire ! Je garde en mémoire ce confinement ensemble, nos craquages Sezane et Mc Flurry, notre weekend à Toulouse, et bien sûr *Léa* que je n'aurais pas rencontrée sans toi.

*Louis*, notre cohabitation n'aura pas duré longtemps mais elle m'aura permis d'apprendre les astuces de livraison à domicile, la batterie (ou pas) et le skate (ou pas non plus).

A mes copines améliorées, copines de toujours :

*Lisa*, nos aventures rouennaises, réunionnaises et italiennes nous avaient beaucoup rapprochées, que dire de ce semestre ensemble à Toulouse... Heureusement que tu étais là, fidèle au poste, fiable, bienveillante et à l'heure pour le dilemme Food du dimanche soir !

*Daphnée*, mon enfant, une jolie rencontre en P2 et l'on ne s'est plus quittées ; merci pour ces années passées ensemble, et à toutes celles à venir qui je le sais seront nombreuses.

*Marie*, tes petites attentions et ton humour font que l'on ne peut pas ne pas s'attacher à toi. Merci pour ces soirées endiablées à Rouen, à Forges ou au Rancho ; merci d'être l'amie que tu es.

*Mimi*, si tu n'avais pas fait partie de l'équipe des Totally Spies on ne se serait pas rencontrées, et ça aurait été bien dommage ; merci pour ta douceur et ta passion pour la raclette !

*Betty*, chaton, l'amie des plantes et des animaux ; si tu n'existais pas il faudrait t'inventer ! J'ai hâte de venir vous rendre visite dans la Manche, les moments passés ensemble sont rares et précieux.

*Olivia*, ne pas te voir me manque, mais je sais que tu es là, et c'est un bonheur immense de te retrouver dès que nous en avons l'occasion. J'espère que cela arrivera plus souvent, à Paris ou à Amiens.

A mes amis de longue date :

*Geneviève*, que de chemin parcouru depuis notre rencontre en terminale... Tu m'es extrêmement précieuse, je pense que tu en es consciente ; t'avoir à mes côtés aujourd'hui est très important. Tu pourras toujours compter sur moi, et j'espère pouvoir vite venir te voir dans l'Est.

*Séverine*, tu m'as vu grandir depuis mes 8 ou 9 ans, une raquette puis une coupe de champagne à la main. Nous avons vécu tellement de choses ensemble ; la distance ne diminue en rien la force de notre amitié ni notre proximité. C'est toujours un bonheur de vous voir avec René : à très vite à Amsterdam !

*Ludo*, ces trajets entre Yainville et Honfleur, ça crée des liens indestructibles ! Nos années d'internat auront marqué le début d'une belle amitié, qui ne disparaît pas malgré tes années à Lille, la médecine, Amiens... Vous formez une famille magnifique avec *Marion* (que j'adore et qui est parfaite pour toi) et vos enfants, je suis heureuse de vous avoir dans ma vie.

*François*, merci pour ton accompagnement au quotidien, ta bienveillance et ton optimisme qui font du bien ! A très bientôt en Corse ou dans le Sud-Ouest j'espère.

*Pierre et Gigi*, que dire de toutes ces années passées à voyager ensemble... Elles font partie de mes plus beaux souvenirs, et ont contribué à lier nos familles pour la vie ; merci d'être toujours là.

#### A ma famille,

*Alice*, tu fais partie des personnes qui me connaissent le mieux et qui comptent le plus pour moi ; merci de m'avoir choisi comme témoin, merci de partager ma passion pour le champagne, les sushis, Sezane... la liste est trop longue ! *Benjamin*, je suis toujours déçue quand je viens à Paris et que l'on ne se croise pas ; merci pour la chasse aux œufs et merci de supporter nos discussions sans fin.

*Véro*, ma marraine chérie, tu fais partie de la famille, fidèle au poste depuis toutes ces années. Toujours le message et la petite attention qui vont bien ; merci pour tout.

*Laurent et Françoise*, nos rendez-vous à Noël et à St Palais sont très importants et je ne les manquerai pour rien au monde ; mon Lolo, merci d'avoir accepté d'être mon parrain de substitution, cela nous a beaucoup rapproché et j'en suis très heureuse.

A mon clan, les personnes les plus importantes de ma vie.

*Papa*, grandir en t'ayant comme modèle est à la fois inspirant, challengeant et stressant ; ta gentillesse et tes qualités humaines et chirurgicales ne sont plus à démontrer, j'espère être à la hauteur du défi qui m'attend. Merci pour ton accompagnement depuis toutes ces années.

*Maman*, ta présence et ton soutien au bord des terrains de tennis, pendant ces longues années d'études puis d'internat n'ont jamais failli. Je ne pourrais jamais assez te remercier pour tout ce que tu as fait, et continue de faire, pour moi. Le chemin a été sinueux et semé d'embûches, je suis la aujourd'hui grâce à vous et j'en suis consciente.

*Mathilde*, je sais que quoi qu'il arrive tu seras toujours là, comme tu l'as été depuis toutes ces années. Je mesure la chance que j'ai d'avoir une sœur comme toi ; ta force de caractère m'impressionne, ton dévouement pour les personnes que tu aimes est une source d'inspiration ; *Flo*, tu fais partie du clan depuis plusieurs années, vous avez votre famille maintenant et tu peux en être fier ; *Aliénor*, tu pourras toujours compter sur ta marraine : en cas de coup dur ou pour manger des crêpes au Nutella.

*Louis*, mon Loulou, notre cohabitation rouennaise fait partie de mes meilleurs souvenirs. Je suis fière de l'homme que tu es devenu, heureuse de notre complicité et certaine que tu seras un brillant chirurgien et médecin. *Capucine*, tu fais désormais partie de la famille et c'est un vrai bonheur.

*Clément*, merci de me supporter et de me soutenir tous les jours. Je suis heureuse de t'avoir dans ma vie, et que nous soyons enfin réunis. A tous les jolis souvenirs qu'il nous reste à créer.



## ABREVIATIONS UTILISEES

SSM : Superficial Spreading Melanoma

MN : Mélanome Nodulaire

AJCC : American Joint Committee on Cancer

GS : Ganglion Sentinelle

TKI : Tyrosine Kinase Inhibitor

CTC : Cellules Tumoraes Circulantes

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

CMF : CytoMétrie en Flux

LDH : Lactates Deshydrogénases

TNM : Tumor Node Metastasis

PBS : Phosphate-Buffered Saline

SVF : Sérum de Veau Foetal

## TABLE DES MATIÈRES

Introduction.....	19
I)    Prise en charge et classification du mélanome	
a)    Épidémiologie du mélanome	
b)    Histologie, classification et prise en charge du mélanome	
c)    Technique du ganglion sentinelle	
II)   Indication et techniques chirurgicales des curages ganglionnaires	
a)    Indications du curage ganglionnaire	
b)    Curage axillaire : anatomie et technique chirurgicale	
c)    Curage inguinal : anatomie et technique chirurgicale	
III)  Principes et objectif de l'étude	
a)    Principes de la méthode Cellsearch	
b)    Principes de la cytométrie en flux (CMF)	
c)    Objectifs de l'étude	
Matériel et méthode.....	35
I)    Patients : inclusion, données cliniques recueillies	
II)   Modalités de prélèvement et de réalisation de la CMF	
III)  Analyses statistiques	
Résultats.....	40
Discussion.....	46
Conclusion.....	49
Bibliographie.....	50
Annexes.....	53



## Introduction

### I) Prise en charge et classification du mélanome

#### a) Épidémiologie du mélanome

Le mélanome est une tumeur cutanée développée aux dépens des mélanocytes, cellules de la membrane basale de l'épiderme. Il se présente dans la majorité des cas sous la forme d'une lésion pigmentée d'apparition récente, plus rarement sous la forme d'une lésion préexistante ayant présenté des modifications récentes.

Les caractéristiques cliniques suivantes (critères ABCDE) doivent faire suspecter le diagnostic de mélanome et faire réaliser le cas échéant une exérèse d'identification de la lésion (1) (2) :

- Asymétrie
- Bords irréguliers
- Couleur hétérogène
- Diamètre supérieur à 6mm
- Extension en taille ou évolution récente (*image 1*)

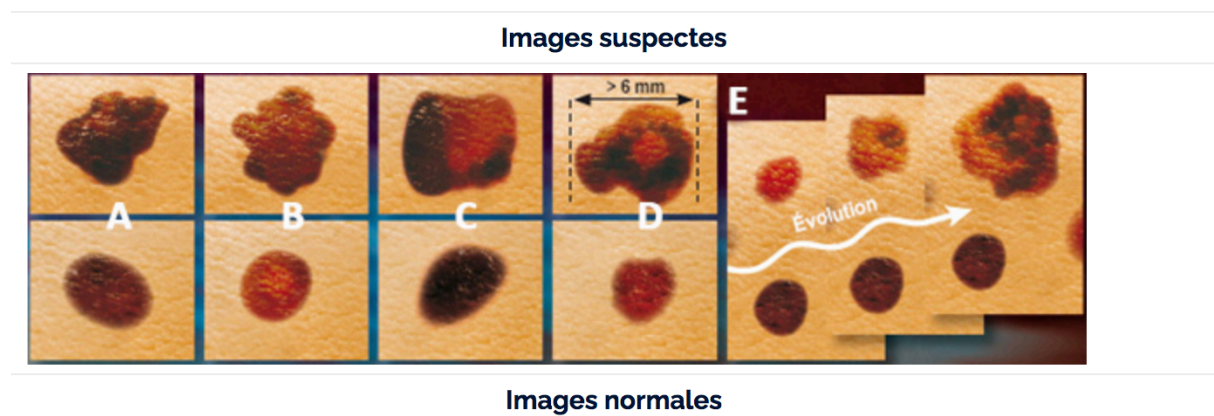


Image 1 : lésions suspectes de mélanome

Source : [https://www.has-sante.fr/jcms/pprd\\_2974838/fr/melanome-cutane-la-detection-precoce-est-essentielle](https://www.has-sante.fr/jcms/pprd_2974838/fr/melanome-cutane-la-detection-precoce-est-essentielle) (mettre le lien ou juste source : HAS santé ?)

Environ 15000 cas de mélanome sont détectés tous les ans en France (7ème cancer chez l'homme, 13ème chez la femme), et l'on dénombreait près de 1800 décès dus à cette pathologie en 2015(3). Le pronostic de cette tumeur cutanée est conditionné par le risque de récurrence, locale, et par le risque de dissémination à distance de la maladie (4). En effet, selon l'institut de surveillance épidémiologique américain, la survie à 5 ans est directement corrélée au stade de la maladie lors du diagnostic : 98% pour les stades localisés, 62% si une extension locorégionale est présente, et 15% pour les stades métastatiques (5).

La prise en charge de cette tumeur est principalement chirurgicale (6). Comme mentionné précédemment, une suspicion de mélanome doit entraîner la réalisation d'une exérèse sans marge de la lésion suspecte afin d'obtenir un diagnostic histologique précis.

Celui-ci précisera le type histologique tumoral, ainsi que les caractéristiques histologiques de la lésion (son épaisseur via le degré d'envahissement ou indice de Clark, le sous type histologique, l'indice de Breslow, la présence d'ulcération, l'indice mitotique) (7). Il convient également de déterminer grâce à cette intervention si l'exérèse est complète ou non.

#### b) Histologie, classification et prise en charge du mélanome

Quatre types de mélanome sont décrits, selon des critères anatomo-cliniques (*source EMC chirurgie plastique, chirurgie des tumeurs cutanées*) :

- Le mélanome à extension superficielle (SSM)
- Le mélanome nodulaire (MN)
- Le mélanome acro-lentigineux
- Le mélanome de Dubreuilh

La 8ème classification AJCC (8), publiée en 2020, permet une stadification du mélanome en tenant compte de l'épaisseur de la tumeur, de la présence d'ulcération, et du taux de LDH notamment (*annexe 1*).

Les recommandations de prise en charge du mélanome sont dictées par la Haute Autorité de Santé, l'Institut national du cancer et la société savante de dermatologie (sfdermato) (9) (3)(10).

Elles peuvent être schématisées comme suivant (*annexe 2*) :

- Mélanomes stade I et II : traitement chirurgical, puis réalisation d'une technique du ganglion sentinelle (GS) selon le Breslow.  
En cas de GS positif, un traitement adjuvant est indiqué (selon le statut *BRAF* de la lésion).
- Mélanome stade III : traitement chirurgical associé à un traitement adjuvant de façon systématique si réséqué et en rémission complète ; un curage ganglionnaire est réalisé en cas d'atteinte ganglionnaire résécable.
- Mélanome stade IV : traitement chirurgical si résécable, associé à un traitement adjuvant et à de la radiothérapie en cas de métastases symptomatiques (11).

A noter que le traitement chirurgical inclut l'exérèse diagnostique première, ainsi que le complément d'exérèse avec des marges adaptées au Breslow (*annexe 3*) ; le traitement adjuvant correspond à une bithérapie ciblée ou à de l'immunothérapie dans la majorité des cas.

Les thérapies ciblées disponibles dans le traitement du mélanome sont les inhibiteurs de BRAF (vémurafénib, dabrafénib et encorafénib) ainsi que les inhibiteurs de MEK (cobimetinib, tramétinib et binimetinib) ; l'association d'une molécule de chaque classe est indiquée lorsqu'une mutation du gène *BRAF* (V600E) est retrouvée.

L'immunothérapie est quant à elle principalement représentée par deux anticorps monoclonaux, inhibiteurs de PD-1 : le nivolumab et le pembrolizumab.

### c) Technique du ganglion sentinelle

La réalisation d'une technique du ganglion sentinelle (12) n'est pas actuellement reconnue comme un standard de prise en charge mais constitue un facteur pronostique. Cette technique est indiquée lorsque l'épaisseur du mélanome est supérieure à 1mm ou > 0.8mm et ulcéré (13).

La procédure associe à la fois un geste radiologique et un geste chirurgical. Une lymphoscintigraphie préopératoire est réalisée dans les heures précédant la chirurgie (injection d'un isotope radioactif au niveau de la cicatrice de mélanome suivie d'une tomoscintigraphie) ; ainsi, le premier relais ganglionnaire de la lésion est identifié et transmis à l'équipe chirurgicale (*annexe 4*).

Au bloc opératoire, l'utilisation d'une sonde gamma permet alors de repérer la localisation précise de la(des) adénopathie(s) radiomarquée(s) et d'en réaliser l'exérèse sélective.

Une analyse anatomopathologique de la pièce opératoire est ensuite pratiquée, permettant de classer le GS en ganglion indemne d'envahissement tumoral ou en adénopathie envahie et de préciser le degré d'envahissement, ce qui guidera la prise en charge ultérieure.

## II) Indication et techniques chirurgicales des curages ganglionnaires

### a) Indications du curage ganglionnaire

Le curage ganglionnaire est indiqué uniquement lorsque des métastases ganglionnaires sont détectées, soit par la technique du ganglion sentinelle soit par une imagerie suggestive ou par l'examen clinique (mélanome de stade III) (14). Il permet une stadification du cancer et est un geste curatif dans la majorité des cas (15) ; cependant, il semble ne pas améliorer la survie à long terme (16).

Une méta analyse publiée en 2020 (17), basée sur 3 études de grande envergure, semble rendre possible une surveillance échographique seule chez les patients ayant un ganglion sentinelle positif ; il est cependant précisé que le curage ganglionnaire permet un contrôle local de la maladie ainsi qu'une meilleure stadification de la maladie, au prix d'une morbidité non négligeable (18).

En comparaison, le curage inguinal semble être plus pourvoyeur de complications post opératoires que le curage axillaire (19) (20).

Dans notre service, 2 types de curages sont pratiqués dans le cadre de la prise en charge du mélanome :

- Le curage axillaire, chez les patients présentant un mélanome du membre supérieur, du thorax ou de localisation dorsale.
- Le curage inguinal, pour les patients dont la lésion est située au niveau des membres inférieurs.

A noter qu'une parotidectomie ou un évidement ganglionnaire cervical peuvent être réalisés pour des mélanomes de localisation céphalique notamment (21) ; ceux-ci sont, dans notre centre, effectués par les chirurgiens maxillo-faciaux dans la majorité des cas, et leur fréquence est moins importante.

#### b) Curage axillaire : anatomie et technique chirurgicale (22)

Le creux axillaire peut être modélisé comme un triangle à base supérieure et sommet inférieur.

3 structures anatomiques importantes délimitent cet espace (*figure 1, figure 2*) :

- en supérieur, le bord inférieur de la veine axillaire,
- en externe le muscle grand pectoral,
- et en interne le bord externe de la paroi thoracique.



**rosse axillaire (dissection) : vue antérieure**

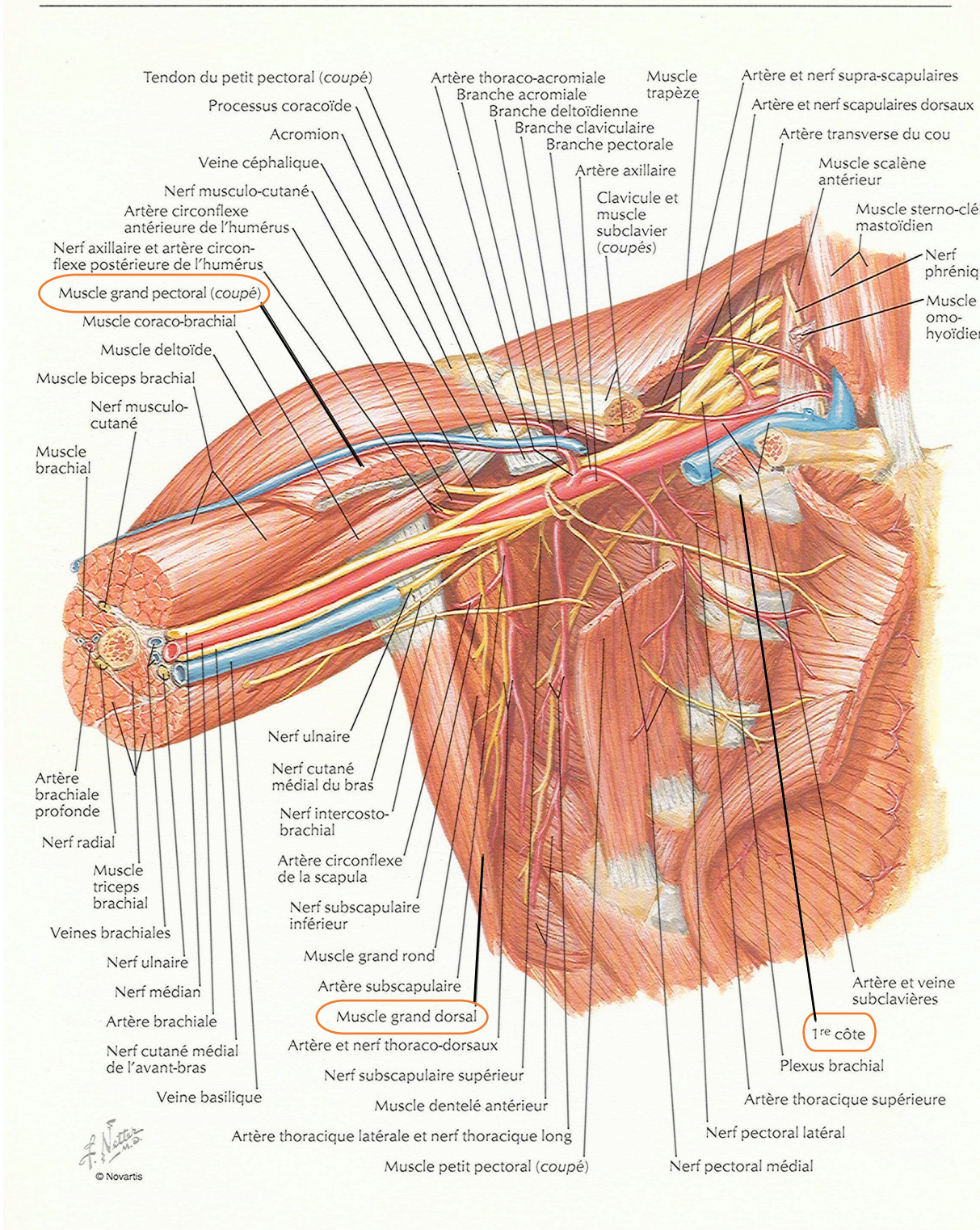


Figure 1 : limites anatomiques du curage axillaire (source : Atlas d'Anatomie, F.Netter)

## Paroi thoracique antérieure (suite)

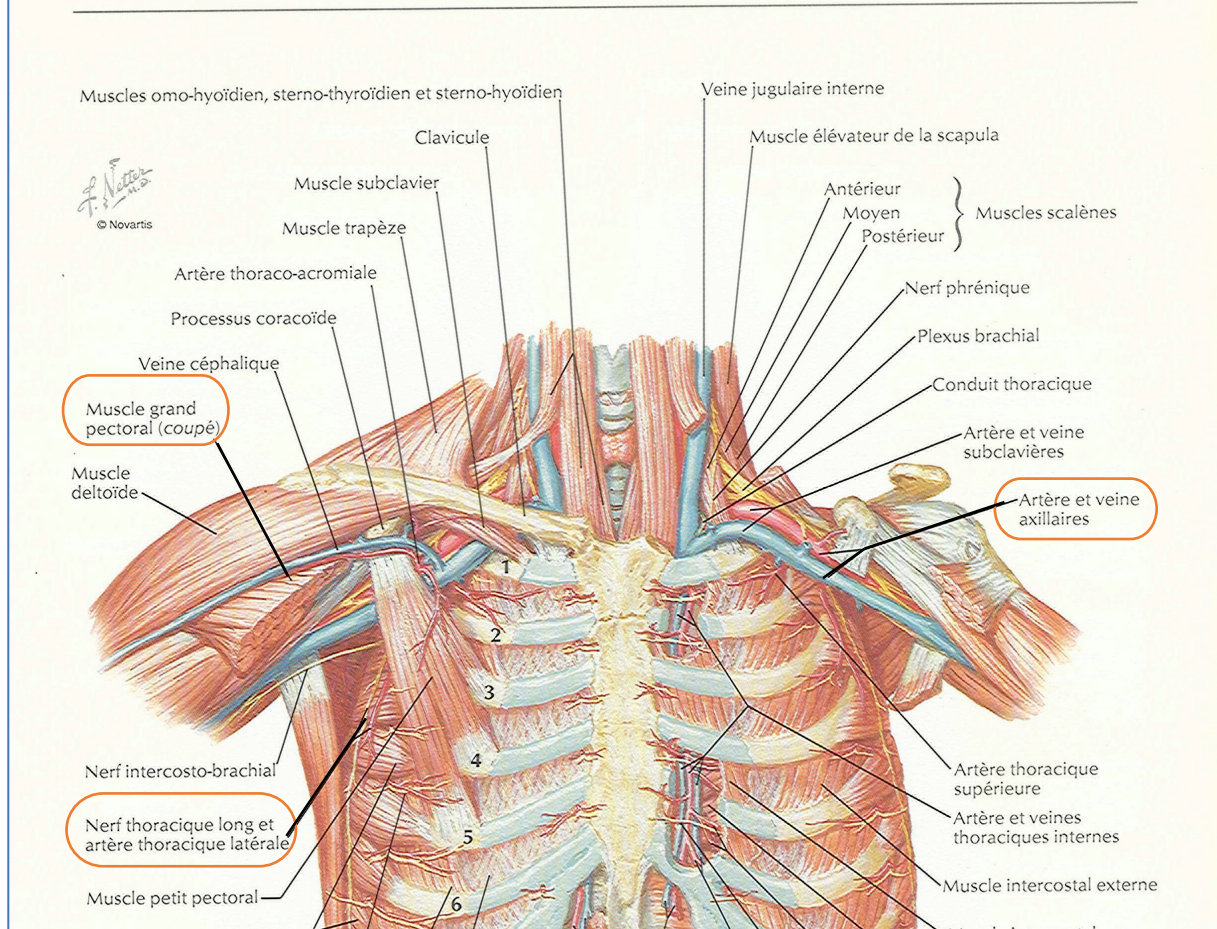


Figure 2 : anatomie de la paroi thoracique antérieure (source : Atlas d'Anatomie, F.Netter)

Si un ganglion sentinelle a été réalisé précédemment, la voie d'abord reprendra la cicatrice préexistante ; dans le cas contraire, elle suivra le bord externe du grand pectoral et se prolongera dans le creux axillaire afin de prendre une forme de « S italique ».

Le premier temps consiste en une dissection jusqu'au fascia clavi-delto-pectoral, qui sera incisé afin de plonger dans l'espace du creux axillaire. Une fois cet espace atteint, il s'agira de repérer les différents éléments anatomiques délimitant le curage : la veine axillaire à la partie supérieure, le nerf long thoracique à la partie externe (cheminant sur le muscle grand dentelé) et le pédicule vasculo-nerveux du muscle grand dorsal à la partie interne.

La limite inférieure du curage correspond au croisement entre le pédicule vasculo-nerveux du muscle grand dorsal et le nerf long thoracique.

Il existe 3 étages de drainage ganglionnaire, définis par Berg :

- Le premier étage, en externe du muscle petit pectoral
- Le deuxième étage, en arrière du muscle petit pectoral
- Et le troisième étage, en interne du muscle petit pectoral (*figure 3*).

Seule l'exérèse du premier étage sera réalisée au cours du curage axillaire, les étages deux et trois étant traités seulement en cas de lésion identifiée cliniquement ou par l'imagerie (23) (24).

L'objectif de ce geste chirurgical est la diminution de la masse tumorale et le contrôle locorégional de la maladie.

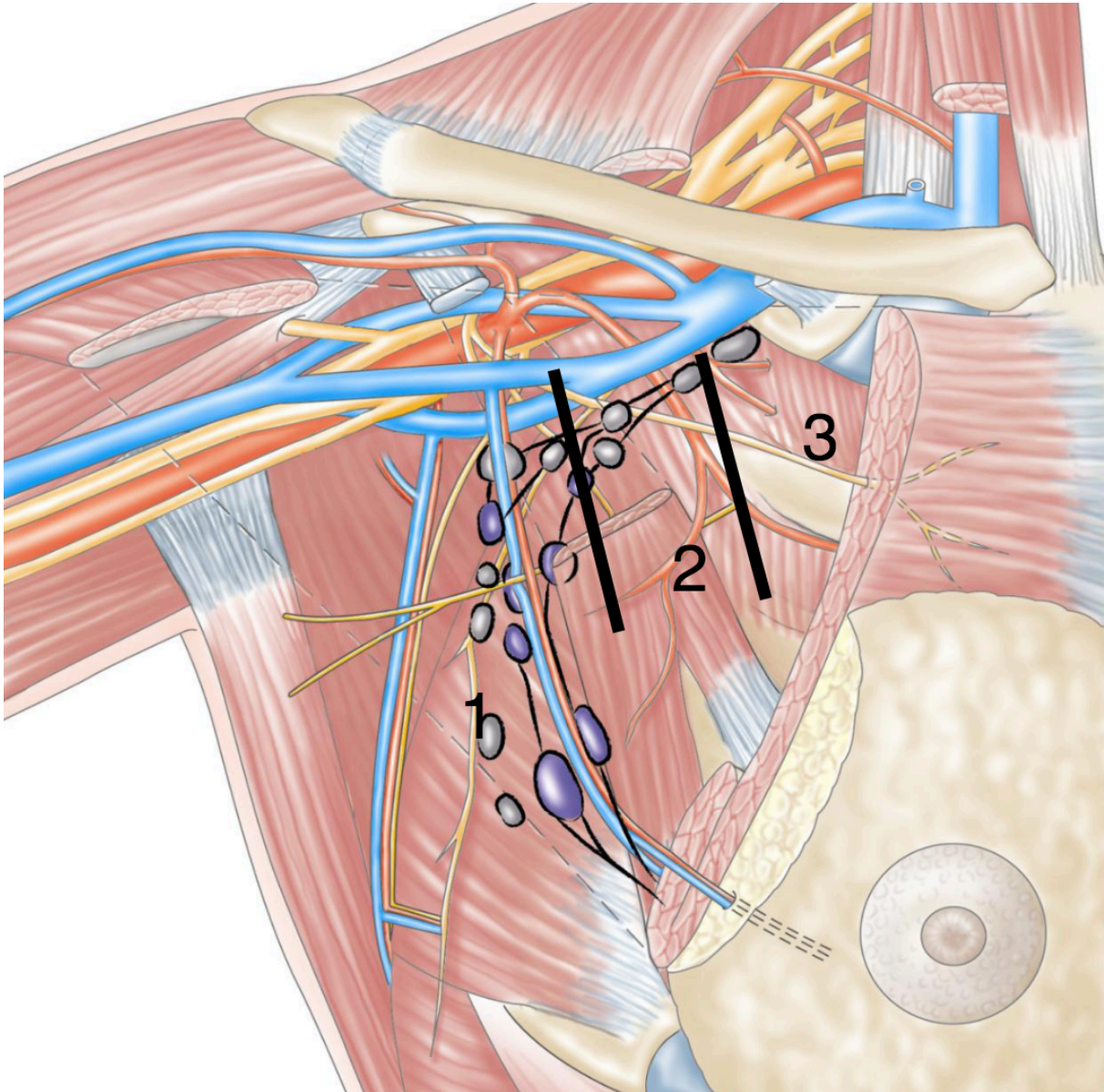


Figure 3 : étages ganglionnaires de Berg

Source : <http://www.amiform.com/web/documents-cancer-du-sein/le-ganglion-sentinel-et-le-curage-axillaire.pdf>

c) Curage inguinal : anatomie et technique chirurgicale (22)

La région inguinale peut également être définie comme un triangle, à base supérieure et à sommet inférieur.

Les structures anatomiques suivantes en constituent les limites :

- Le ligament inguinal en supérieur,
- Le muscle sartorius en externe,
- Le muscle long adducteur en interne (*figure 4*).

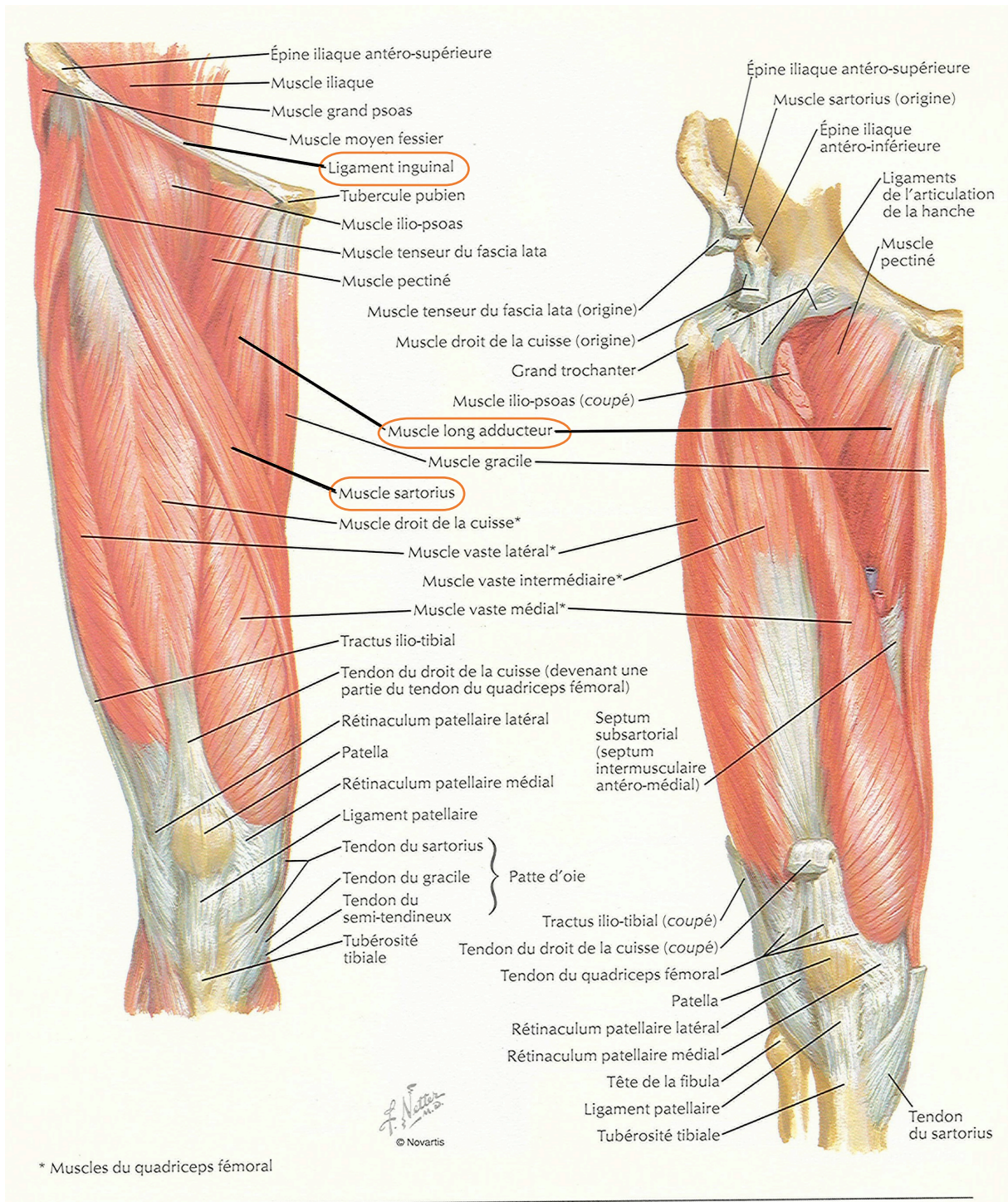


Figure 4 : limites anatomiques du curage inguinal (source : Atlas d'Anatomie, F.Netter)

Lors d'un curage inguinal la quasi-totalité des ganglions inguinaux doit être résectionnée (*figure 5*) :

- Superficiels : situés au-dessus du fascia lata, autour de la grande veine saphène ; ils sont divisés en 3 groupes (supérolatéral, supéromédial et inférieur)
- Profonds : situés sous le fascia cribiforme, au contact des vaisseaux fémoraux.

## Vaisseaux et nœuds lymphatiques du membre intérieur

VOIR AUSSI LES PLANCHES 378, 379

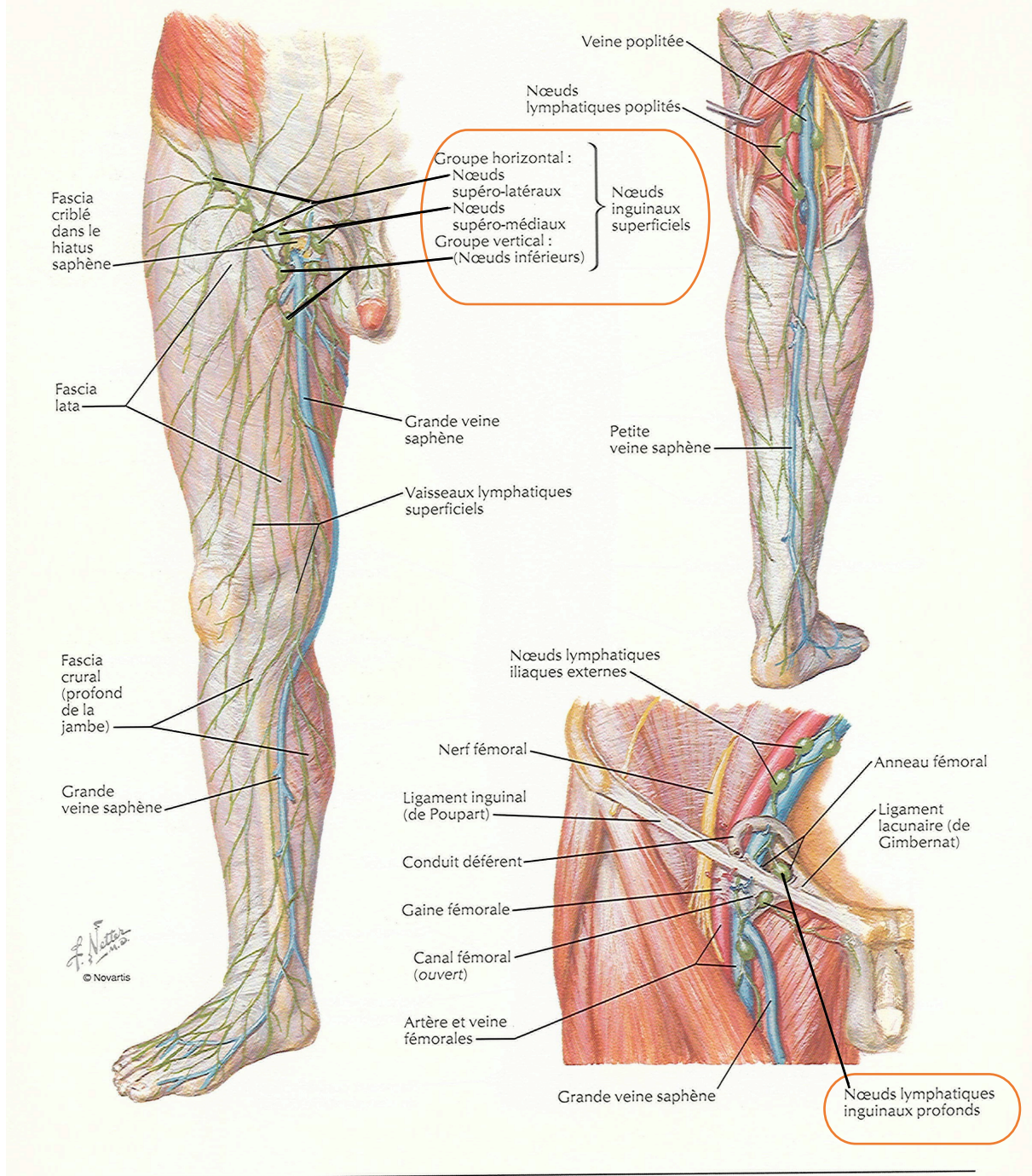


Figure 5 : groupes ganglionnaires inguinaux superficiels et profonds (source : Atlas d'Anatomie, F.Netter)



L'incision cutanée de la face antérieure de la cuisse est orientée de façon oblique en bas et en dedans. Un croissant cutané est réséqué afin de limiter le risque de nécrose due au décollement des berges après fermeture.

Lors de la réalisation du curage inguinal superficiel, les groupes supérolatéraux et médiaux sont emportés ; cela correspond à une dissection sous le fascia superficialis, et entre la veine grande saphène (en dehors) et le muscle long adducteur (en dedans).

Concernant le curage inguinal profond, la dissection des vaisseaux fémoraux de bas en haut est réalisée après incision du fascia cribiforme.

Certaines équipes préconisent un transfert musculaire (sartorius, gracilis) afin d'éviter l'exposition vasculaire en cas de désunion cicatricielle ; celui-ci n'est pas réalisé de façon systématique (25)(26).

### III) Principes et objectif de l'étude

#### a) Principe de la méthode Cellsearch

La recherche de cellules tumorales disséminées a déjà été effectuée chez les patients atteints de cancer colique, mammaire et prostatique (27)(28)(29).

Mastronicola et al ont réalisé une étude visant à détecter ces cellules dans les liquides de drainage chez les patients bénéficiant d'un curage ganglionnaire cervical (30). Ce geste était réalisé dans le cadre de la prise en charge de patients présentant, dans la majorité des cas, un carcinome épidermoïde de la cavité buccale. Des cellules tumorales étaient détectées dans près de 70% des cas, cela en utilisant la méthode Cellsearch®. Il s'agit d'une méthode de détection des cellules tumorales développée par le laboratoire Menarini© se déroulant en plusieurs étapes :

- Dans un premier temps, un échantillon liquidien est centrifugé afin de séparer les différents éléments cellulaires ; puis un second système permet, à l'aide d'anticorps spéciaux, de séparer magnétiquement les cellules tumorales circulantes (CTC) des éléments cellulaires restants.
- Des anticorps monoclonaux spécifiques des CTC (cytokératine) et des leucocytes sont ajoutés à la préparation, suivis d'un marquage d'ADN par du DAPI se fixant aux noyaux des CTC et des leucocytes.
- Les cellules sont ensuite placées dans une cartouche soumise à un champ magnétique ; cette manœuvre permet de classer les cellules selon une seule longueur d'onde.
- Pour finir, le système Celltrack Analyzer II© analyse la cartouche, et permet d'écarter les leucocytes (cellules CD45 et DAPI positives) et de repérer les CTC (cellules cytokératine et DAPI positives).

Source : <https://www.cellsearchctc.com/about-cellsearch/how-cellsearch-ctc-test-works>

Après lecture de cet article, notre équipe s'est intéressée à la recherche de cellules tumorales en cytométrie en flux dans le liquide de drainage après réalisation de curage ganglionnaire, axillaire ou inguinal, chez les patients atteints de mélanome.

#### b) Principe de la cytométrie en flux

La cytométrie en flux est une technique d'analyse à la fois quantitative et qualitative. Elle permet en effet de compter le nombre de cellules présentant des propriétés pré définies, et de les caractériser (taille, contenu cellulaire, protéines de surface...) via des techniques d'immunofluorescence.

La séquence analytique se déroule globalement de la façon suivante (*figure 6*) :

- Le prélèvement liquidien est lavé plusieurs fois afin de limiter les marquages parasites et non spécifiques, qui pourraient gêner l'analyse.

- Des anticorps couplés à des fluorochromes, sélectionnés selon le type de cellule que l'on souhaite détecter, sont ensuite ajoutés à cette préparation et incubés avec.
- Celle-ci est alors introduite dans la machine préalablement paramétrée, et la source lumineuse appliquée à l'échantillon.
- Les résultats sont alors analysés par le biologiste.

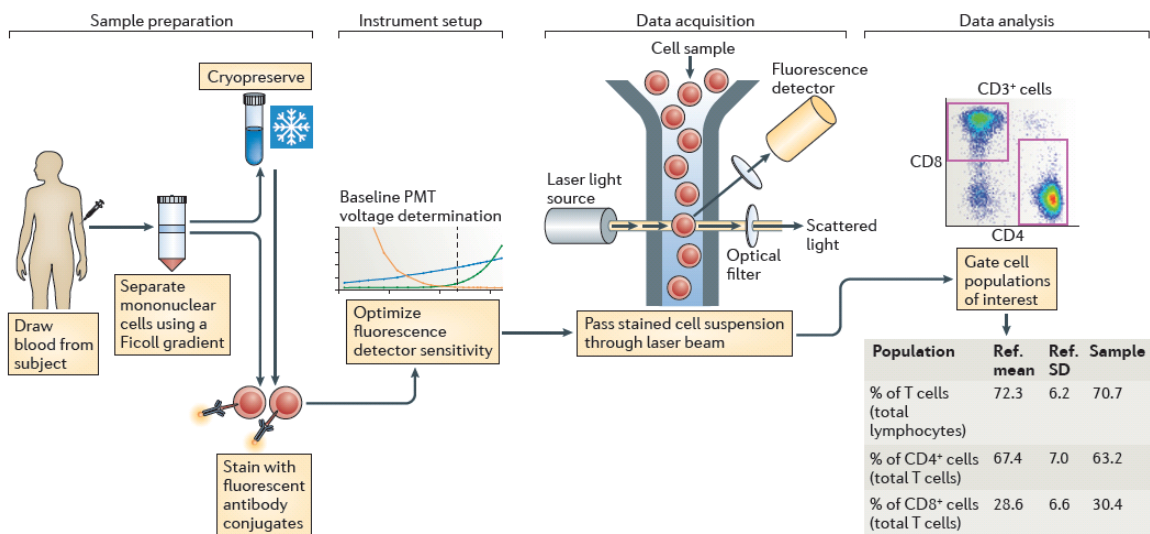


Figure 6 : principes de la cytométrie en flux (CMF)

### c) Objectifs de l'étude

L'objectif principal de notre étude était de rechercher la présence de cellules cancéreuses dans le liquide de drainage post curage ganglionnaire par cytométrie en flux et de comparer cette technique de détection avec l'histologie, qui demeure la technique de référence pour l'analyse des ganglions issus du curage.

Les objectifs secondaires étaient d'évaluer la corrélation avec l'indice de Breslow, ainsi qu'un éventuel impact sur la prise en charge ultérieure et la survie des patients.

## *Matériel et méthodes*

### I) Patients : critères d'inclusion, données recueillies

Notre étude, prospective et monocentrique, a été menée au CHU d'Amiens entre le premier mars 2020 et le six octobre 2021.

Les patients inclus ont bénéficié d'un curage ganglionnaire, axillaire ou inguinal, pour métastase ganglionnaire de mélanome, avec un prélèvement de liquide de drainage réalisé à J1 post opératoire.

Étaient exclus les curages réalisés pour d'autres pathologies que le mélanome (autres carcinomes cutanés, carcinome mammaire, prostatique...), ainsi que les patients chez qui le prélèvement liquidien n'avait pas pu être réalisé.

Les données épidémiologiques, cliniques, histologiques et anatomopathologiques recueillies grâce au logiciel DxCare (logiciel de gestion des données du CHU Amiens-Picardie) sont présentées dans le tableau 1.

#### Données épidémiologiques

- Âge
- Sexe

#### Données cliniques

- Date de première détection du mélanome
- Classification TNM
- Type d'intervention réalisée (GS, recoupe lésionnelle, type et latéralité du curage ganglionnaire)
- Marges chirurgicales
- Évolution clinique (récidive, apparition d'adénopathies, métastases à distance)
- Délai entre le diagnostic initial et le curage ganglionnaire
- Date de prélèvement du liquide de drainage
- Réalisation d'un traitement adjuvant
- Survie à 6 mois

#### Données histologiques et anatomopathologiques

- Type de mélanome
- Breslow
- Résultats anatomopathologiques du GS, de la recoupe éventuelle et du curage ganglionnaire
- Résultats de la recherche de cellules cancéreuses

Tableau 1 : données cliniques, histologiques et anatomopathologiques recueillies

## II) Modalité de prélèvement et de réalisation de la CMF

Concernant le prélèvement liquidien, celui-ci était réalisé sur tube EDTA, afin d'éviter tout caillottage, à J1 post opératoire. Cela correspondait à un volume prélevé de 5 mL maximum ; le volume minimum nécessaire à l'analyse étant de 1 mL.

Le liquide était ensuite envoyé au laboratoire d'hématologie où une analyse par cytométrie en flux était réalisée.

Dès réception, le liquide était filtré à l'aide d'un filtre de 100 µL avant une numération des éléments grâce à l'automate de cytologie, le XN-9100, utilisé au CHU d'Amiens pour la réalisation en routine des numérations formules sanguines. Parallèlement était réalisée une cytopspin afin d'observer au microscope les cellules présentes dans l'échantillon.

2 millions de cellules étaient ensuite récupérées et lavées dans du PBS+2% sérum de veau fœtal (SVF). Une partie de ces cellules était ensuite récupérée pour être lavée dans la même solution une deuxième fois. Chaque phase de lavage était suivie d'une phase de centrifugation.

Après ce deuxième lavage, le culot était remis en suspension et 100 µL de la suspension obtenue étaient récupérés afin de procéder au marquage des cellules.

Étaient rajoutés 5 µL des anticorps suivants : anti-CD81 FITC (clone JS64, Iotest, Beckman Coulter), anti-CD7 ECD (clone 8H8, Iotest, Beckman Coulter), anti-CD44 PC7 (clone G44-26, Beckton Dickinson), anti-CD56 APC (clone N901, Iotest, Beckman Coulter), anti-CD117 BV421 (clone 104D2, Beckton Dickinson) et anti-CD45 KO (clone J33, Iotest, Beckman Coulter). Le prélèvement était ensuite incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 15 minutes afin de marquer les cellules.

A la fin de l'incubation, 500 µL du réactif « lyse + fixateur Iotest3 » sont rajoutés pour une nouvelle incubation à l'obscurité et température ambiante de 10 minutes. Le prélèvement pouvait ensuite être passé dans le cytomètre en flux Navios. Les fichiers générés par l'acquisition des cellules marquées étaient ensuite analysés par le biologiste à l'aide du logiciel Kaluza.

La sensibilité du test réalisé était estimée à 0,1%, permettant la détection d'une cellule anormale parmi 1000 cellules normales.

L'une des particularités des cellules du mélanome, commune à la quasi-totalité des cellules cancéreuses, est leur autofluorescence. Cela peut être un facteur de confusion lors de l'étude des diagrammes de cytométrie, mais constitue en fait une aide dans l'identification des cellules cancéreuses.

### III) Analyses statistiques

L'évaluation de la valeur diagnostique de la cytométrie en flux sera déterminée par le calcul de la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN). Ces calculs nécessitent l'organisation des résultats sous forme d'un tableau de contingence tel que ci-dessous.

	Maladie présente	Maladie absente
Test positif	<p>A</p> <p>VP (Vrais Positifs) :</p> <p>Ce sont les individus atteints chez lesquels le test est positif</p>	<p>B</p> <p>FP (Faux positifs) :</p> <p>Le test est positif et les individus ne sont pas atteints</p>
Test négatif	<p>C</p> <p>FN (Faux Négatifs) :</p> <p>Ce sont les individus atteints chez lesquels le test est négatif</p>	<p>D</p> <p>VN (vrais négatifs) :</p> <p>Le test est positif et les individus ne sont pas atteints</p>

La sensibilité d'un examen pour un diagnostic est la probabilité que l'examen soit positif chez les individus atteints par la maladie recherchée.

$$Se = A/(A+C)$$

La spécificité d'un examen pour un diagnostic est la probabilité que l'examen soit négatif chez les individus non atteints par la maladie recherchée.

$$Sp = D/(B+D)$$

La valeur prédictive positive d'un examen pour un diagnostic est la probabilité que le diagnostic soit vrai si l'examen est positif.

$$VPP = A/(A+B)$$

La valeur prédictive négative d'un examen pour un diagnostic est la probabilité que le diagnostic soit faux si l'examen est négatif

$$VPN = D/(C+D)$$

Les variables quantitatives ont été comparées par un t-test de Student ou par un test de Mann Whitney. Le niveau de significativité retenu est 0.05.



## Résultats

Un total de 13 patients opérés au CHU d'Amiens entre le 1<sup>er</sup> mars 2020 et le 5 octobre 2021 ont été inclus dans notre étude : 6 hommes (46,1 %) et 7 femmes (53,9%) dont l'âge moyen était de 62,7 ans (45-88) (figure 7).

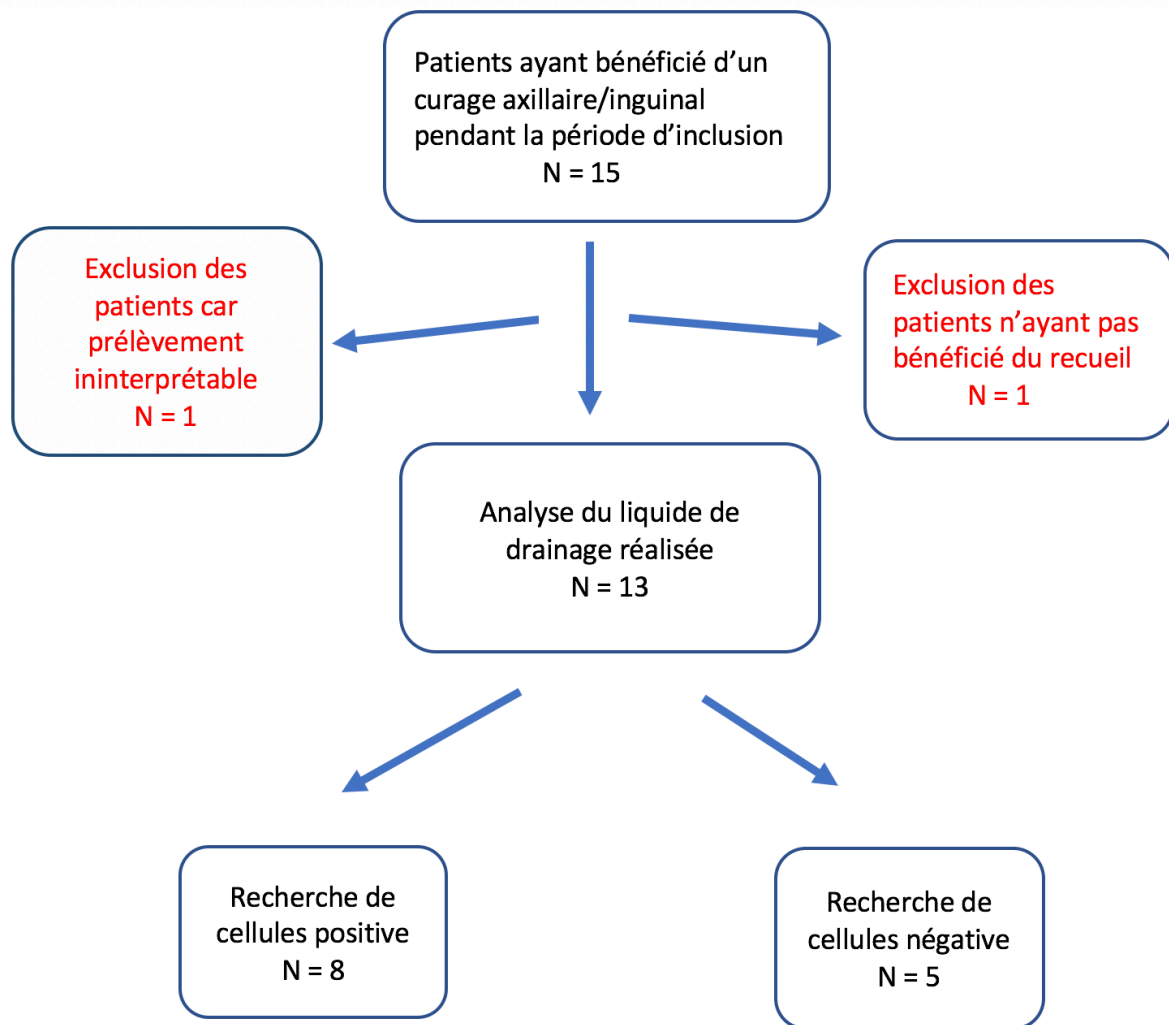


Figure 7 : diagramme de flux

Le type histologique de mélanome le plus fréquent était le mélanome nodulaire (n=5) ; la moyenne de Breslow était de 2,5 mm (0,46-13). Les caractéristiques principales des lésions sont regroupées dans le tableau 2.

	Nombre	Pourcentage (%)
<b>Type de mélanome</b>		
• SSM	4	30,8
• Nodulaire	5	38,5
• Acrolentigineux.	3	23
• Inconnu	1	7,7
<b>Stade TNM</b>		
• IA	1	7,7
• IIA	3	23
• IIB		
• III	3	23
• IIIA	1	7,7
• IIIB	2	15,45
• IIIC	2	15,45
• IV	1	7,7
<b>Breslow</b>		
• < 1 mm	2	15,4
• 1-2 mm	6	46,1
• > 2 mm	5	38,5

Tableau 2 : caractéristiques histologiques des mélanomes

Brièvement, les cellules étaient en premier lieu triées selon l'expression du CD45, les cellules tumorales étant CD45 négatives, les leucocytes (granuleux et lymphocytes) étant CD45 positifs. Ensuite, l'expression du CD44 et du CD81 est recherchée sur ces cellules CD45 négatives (les cellules de mélanome sont positives pour ces 2 marqueurs). On repère les cellules CD45 négatives et CD56 positives pour les éliminer de l'analyse (les cellules de mélanome sont CD56 négatives). Enfin, on réalise le croisement de toutes les fenêtres d'analyse pour détecter les cellules de mélanome.

Un exemple d'analyse des liquides de drainage par cytométrie en flux est détaillé ci-dessous (figures n°6 et 7).

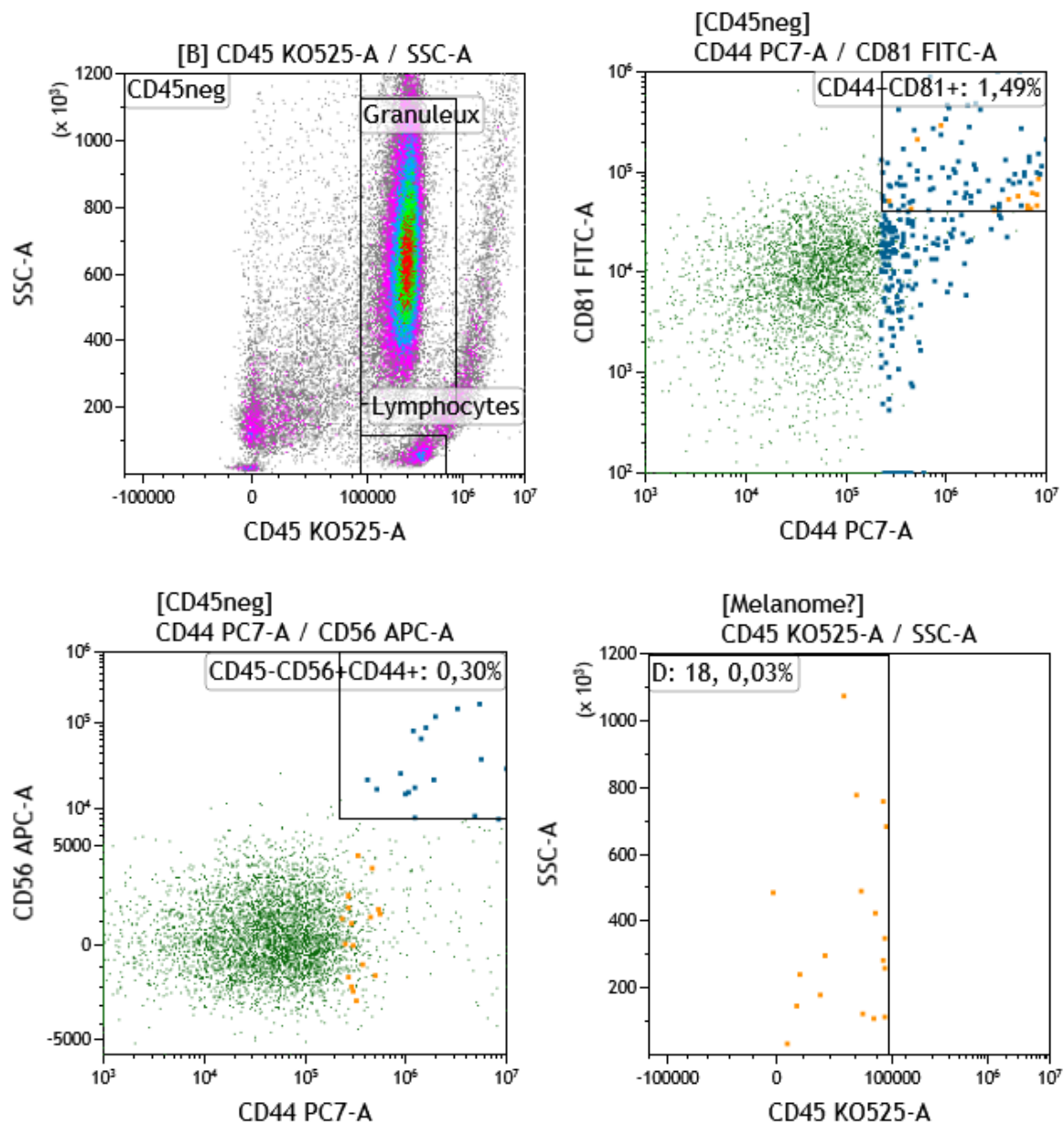


Figure 6 : exemple d'un liquide de drainage négatif

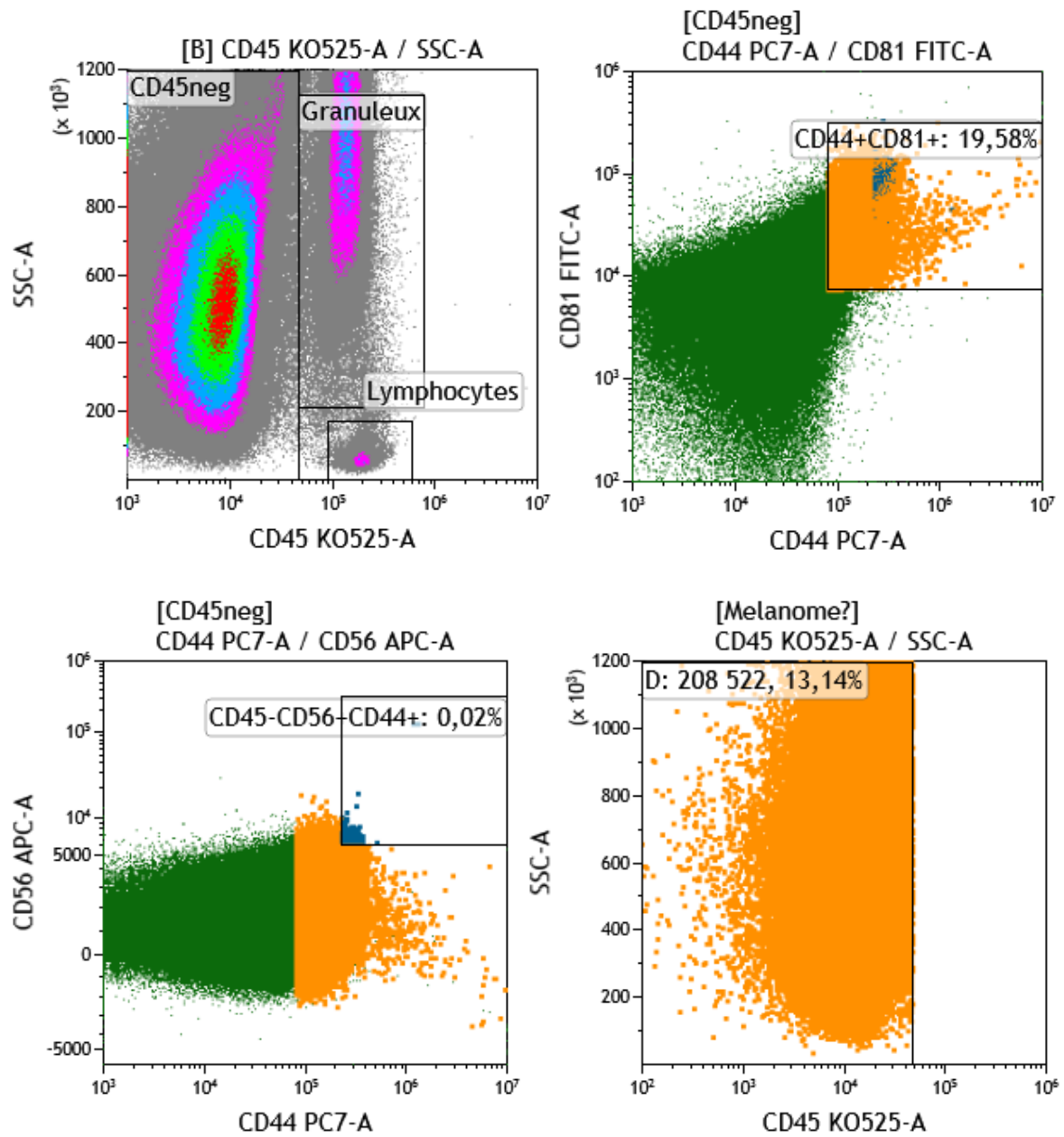


Figure 7 : exemple d'un liquide de drainage positif

Des métastases ganglionnaires étaient retrouvées dans 61% des cas, et la recherche de cellules par cytométrie en flux s'est avérée positive dans 61% (tableau 3), ce qui donne une sensibilité/spécificité/valeur prédictive positive/valeur prédictive négative de 100%.

	Stade	Breslow (mm)	Type curage	N+	R+	C+	% C+
1	III	2,4	Axillaire	1	0	Oui	1,8
2	IA	0,46	Axillaire	1	0	Oui	0,6
3	IIIC	2,1	Axillaire	0	0	Non	
4	IIIC	13	Axillaire	3	0	Oui	5
5	IIIB	3,1	Axillaire	0	0	Non	
6	IV	1,2	Axillaire	0	0	Non	
7	IIA	1,2	Inguinal	1	1	Oui	1,03
8	IIIA	1,4	Axillaire	0	0	Non	
9	IIA	3	Axillaire	1	0	Oui	7
10	IIA	1,5	Axillaire	0	0	Non	
11	IIIB	1,15	Inguinal	1	0	Oui	5,6
12	III	0,55	Axillaire	1	0	Oui	14
13	III	1,62	Inguinal	1	0	Oui	12,6

Tableau 3 : résultats du curage ganglionnaire et de la recherche de cellules ; corrélation entre ces 2 données (*N+* : nombre d'adénopathies envahies ; *R+* : présence d'une rupture capsulaire à l'examen anatomopathologique, 0 = non / 1 = oui ; *C+* : recherche de cellules tumorales positives ; %*C+* : % de cellules tumorales retrouvé dans l'analyse)

Le délai moyen entre le diagnostic de mélanome et la réalisation du curage axillaire était de 23 mois.

Il existait une tendance nette à la corrélation entre l'indice de Breslow et le résultat du curage ganglionnaire, en anatomo-pathologie ou par cytométrie en flux ( $p=0.06$ ).

## *Discussion*

Notre étude, monocentrique et prospective, portait sur les curages ganglionnaires, axillaires et inguinaux, dans la prise en charge des mélanomes. Les inclusions dépendaient donc des patients adressés en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire de dermatologie pour un mélanome de stade III ou IV ; peu de patients remplissaient ces critères.

Une récente mise à jour des recommandations de prise en charge des mélanomes cutanés (*annexe 2*) indique que le curage ganglionnaire n'a plus d'indication lorsque seules des micrométastases sont présentes et détectées par la technique du ganglion sentinelle. Cela pourrait diminuer l'indication des curages ganglionnaires, suggérant que les traitements adjuvants (immunothérapie, thérapies ciblées, chimiothérapies) associés à une surveillance clinique régulière seraient au moins aussi efficaces que la chirurgie, si ce n'est plus.

Cette attitude thérapeutique semble être approuvée et confirmée par l'équipe de Broman (31), dont l'étude suggère qu'une surveillance échographique active des patients ayant un ganglion sentinelle positif est au moins aussi efficace que la réalisation d'un curage ganglionnaire.

La détection des cellules de mélanome s'est faite via la méthode de cytométrie en flux, méthode différente de l'étude initiale ayant inspiré notre travail (30). D'autres techniques de détection cellulaire existent : auraient-elles pu permettre une détection plus sensible des cellules ? Pourrait-on envisager de réaliser des études comparatives entre ces différentes méthodes afin de sélectionner la plus adéquate pour nos travaux ?

Autre différence majeure entre notre étude et l'étude réalisée par l'équipe de Nancy : le volume de liquide analysé. En effet, 3 à 4 bouteilles de redon étaient recueillies puis filtrées et analysées, quand seulement 5 mL d'une unique bouteille l'étaient dans notre étude.

Lors de la réalisation de la technique du ganglion sentinelle, étape précédant la réalisation du curage, un décollement minime du creux axillaire ou inguinal est réalisé afin d'isoler l'adénopathie fixant après injection du marqueur radioactif. La fermeture de la zone opératoire est réalisée plan par plan, sans mise en place de dispositif de drainage. Or, il pourrait être intéressant de mettre en place un dispositif de drainage (possiblement moins invasif que lors du curage, c'est-à-dire de moindre calibre), de recueillir de liquide et de réaliser le même type d'analyse que dans notre étude. Cela permettrait de comparer les résultats après un geste chirurgical peu invasif, le ganglion sentinelle, et le curage

ganglionnaire, nettement plus invasif et pourvoyeur de complications. De plus, la mise en évidence de cellules suite au ganglion sentinelle pourrait constituer un élément pronostique et entraîner l'instauration de traitements adjuvants plus précocement.

La durée de suivi des patients était, au maximum, de 19 mois (pour le premier patient inclus). Une évaluation sur le plus long terme de la survie globale et sans récurrence serait souhaitable afin de mieux appréhender le pronostic global de la maladie, ainsi que l'efficacité des différentes thérapeutiques mises en place.

La recherche combinée de cellules cancéreuses dans le liquide de drainage et dans la moelle osseuse ou le sang (cellules tumorales disséminées ou circulantes) pourrait être une piste à explorer dans le futur ; en effet, selon cette étude publiée en 2019 (32), des cellules tumorales étaient retrouvées dans la moelle osseuse de 58% des patients.

De façon plutôt intéressante, une concordance parfaite sur la totalité des prélèvements a pu être observée entre l'analyse du liquide en cytométrie et le résultat histologique. Il est alors possible d'envisager que la manipulation chirurgicale de la pièce opératoire, par mécanisme d'écrasement des ganglions envahis pourrait être à l'origine d'une « effusion » de cellules dans le creux axillaire.

En accord avec les résultats de notre étude, un article récent (33) semble croire aux capacités et à l'intérêt de la cytométrie en flux pour la quantification de la « charge tumorale » des patients pris en charge pour un mélanome.

Comme mentionné, l'une des principales limites de notre étude était sa faible puissance du fait d'un nombre peu important de patients inclus. Cependant, au vu des résultats satisfaisants obtenus jusqu'alors, une poursuite de l'étude sur une durée plus importante pourrait permettre d'inclure un plus grand nombre de patient, et de réaliser un suivi à plus long terme des patients déjà inclus.

Dès le début de l'étude, les cellules tumorales étaient détectées grâce à l'utilisation de deux anticorps (CD44 et CD45). L'ajout, en cours d'étude, de l'anticorps CD81 a permis de rendre la détection cellulaire plus sensible ce qui peut expliquer les faibles pourcentages de positivité chez les deux premiers patients, le CD81 ayant été rajouté à partir du 4ème. L'ajout de ce marqueur s'est avéré très important pour la détection des cellules de mélanome, en permettant une meilleure discrimination avec les hématies, ces cellules étant également CD44-/CD45-.



Un biais de recrutement est également présent dans notre étude ; nous avons en effet initialement choisi de nous concentrer uniquement sur les patients bénéficiant d'un curage axillaire. Devant des difficultés de recrutement en cours d'étude, il a été décidé d'inclure les curages inguinaux réalisés pour mélanome dans notre service ; cela n'a en revanche pas impacté l'analyse en cytométrie ni les résultats, le type de prélèvement étant identique entre les 2 curages.

## *Conclusion*

La cytométrie en flux constitue un outil performant dans la détection des cellules cancéreuses dans le liquide de drainage post curage chez les patients présentant un mélanome.

Nous avons montré dans ce travail que la corrélation cytométrie/histologie était complète ; il semble désormais intéressant de poursuivre cette étude, à la fois pour permettre d'en augmenter la puissance et afin d'établir une éventuelle corrélation entre la présence de cellules dans ce liquide et la survie à long terme des patients.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Hazen BP, Bhatia AC, Zaim T, Brodell RT. The clinical diagnosis of early malignant melanoma: expansion of the ABCD criteria to improve diagnostic sensitivity. *Dermatol Online J.* nov 1999;5(2):3.
2. American Academy of Dermatology Ad Hoc Task Force for the ABCDEs of Melanoma, Tsao H, Olazagasti JM, Cordero KM, Brewer JD, Taylor SC, et al. Early detection of melanoma: reviewing the ABCDEs. *J Am Acad Dermatol.* avr 2015;72(4):717-23.
3. Guillot B, Dalac S, Denis M, Dupuy A, Emile JF, De La Fouchardiere A, et al. Actualisation des recommandations de prise en charge du mélanome stade I à III. *Bull Cancer (Paris).* sept 2016;103(9):743-52.
4. Hartman RI, Lin JY. Cutaneous Melanoma-A Review in Detection, Staging, and Management. *Hematol Oncol Clin North Am.* févr 2019;33(1):25-38.
5. Epidémiologie des cancers cutanés - Détection précoce des cancers de la peau [Internet]. [cité 23 nov 2020]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Depistage-et-detection-precoce/Detection-precoce-des-cancers-de-la-peau/Epidemiologie>
6. Joyce D, Skitzki JJ. Surgical Management of Primary Cutaneous Melanoma. *Surg Clin North Am.* févr 2020;100(1):61-70.
7. Scolyer RA, Rawson RV, Gershenwald JE, Ferguson PM, Prieto VG. Melanoma pathology reporting and staging. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* janv 2020;33(Suppl 1):15-24.
8. InfoCancer - ARCAGY - GINECO - Localisations - Autres cancers - Mélanome - Formes de la maladie - La stadification [Internet]. [cité 14 déc 2020]. Disponible sur: <http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/autres-types-de-cancers/melanome/formes-de-la-maladie/la-stadification.html/>
9. ALD n° 30 - Mélanome cutané [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 23 nov 2020]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_644443/fr/ald-n-30-melanome-cutane](https://www.has-sante.fr/jcms/c_644443/fr/ald-n-30-melanome-cutane)
10. Pour la pratique - Recommandations - Société Française de Dermatologie [Internet]. [cité 28 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.sfdermato.org/pour-la-pratique/recommandations.html>
11. Gisèle DO. Contexte scientifique. :24.
12. Crystal J, Faries MB. Sentinel Lymph Node Biopsy: Indications and Technique. *Surg Oncol Clin N Am.* juill 2020;29(3):401-14.
13. Guillot B, Dupuy A, Pracht M, Jeudy G, Hindie E, Desmedt E, et al. Actualisation des données concernant le mélanome stade III : nouvelles recommandations du groupe

- français de cancérologie cutanée. *Ann Dermatol Vénérologie*. mars 2019;146(3):204-14.
14. Dzwierzynski WW. Complete lymph node dissection for regional nodal metastasis. *Clin Plast Surg*. janv 2010;37(1):113-25.
  15. Liu WF, Yang FJ, Niu XH. [Research progress of sentinel lymph node biopsy and regional dissection in melanoma]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 23 juill 2019;41(7):481-5.
  16. Falk Delgado A, Zommorodi S, Falk Delgado A. Sentinel Lymph Node Biopsy and Complete Lymph Node Dissection for Melanoma. *Curr Oncol Rep*. 2019;21(6):54.
  17. Bello DM, Faries MB. The Landmark Series: MSLT-1, MSLT-2 and DeCOG (Management of Lymph Nodes). *Ann Surg Oncol*. janv 2020;27(1):15-21.
  18. Ul-Mulk J, Hölmich LR. Lymph node dissection in patients with malignant melanoma is associated with high risk of morbidity. *Dan Med J*. juin 2012;59(6):A4441.
  19. Serpell JW, Carne PWG, Bailey M. Radical lymph node dissection for melanoma. *ANZ J Surg*. mai 2003;73(5):294-9.
  20. Mall JW, Reetz C, Koplin G, Schäfer-Hesterberg G, Voit C, Neuss H. [Surgical technique and postoperative morbidity following radical inguinal/iliacal lymph node dissection--a prospective study in 67 patients with malignant melanoma metastatic to the groin]. *Zentralbl Chir*. sept 2009;134(5):437-42.
  21. Larson DL, Larson JD. Head and neck melanoma. *Clin Plast Surg*. janv 2010;37(1):73-7.
  22. Diller ML, Martin BM, Delman KA. Lymph node dissection for stage III melanoma. *Surg Oncol Clin N Am*. avr 2015;24(2):261-77.
  23. Nessim C, Law C, McConnell Y, Shachar S, McKinnon G, Wright F. How often do level III nodes bear melanoma metastases and does it affect patient outcomes? *Ann Surg Oncol*. juin 2013;20(6):2056-64.
  24. Tsutsumida A, Takahashi A, Namikawa K, Yamazaki N, Uhara H, Teramoto Y, et al. Frequency of level II and III axillary nodes metastases in patients with positive sentinel lymph nodes in melanoma: a multi-institutional study in Japan. *Int J Clin Oncol*. août 2016;21(4):796-800.
  25. Sharma P, Zargar H, Spiess PE. Surgical Advances in Inguinal Lymph Node Dissection. *Urol Clin North Am*. nov 2016;43(4):457-68.
  26. Valenzuela CD, Finlay D, Sabry Z, Mariadason JG, Wallack MK. Gracilis Muscle Flap After Superficial Inguinal Lymphadenectomy in an Irradiated Inguinal Field. *Am Surg*. 27 janv 2021;3134820982850.
  27. Joosse SA, Gorges TM, Pantel K. Biology, detection, and clinical implications of circulating tumor cells. *EMBO Mol Med*. janv 2015;7(1):1-11.

28. Alix-Panabières C, Pantel K. Characterization of single circulating tumor cells. *FEBS Lett.* 2017;591(15):2241-50.
29. Krebs MG, Hou J-M, Ward TH, Blackhall FH, Dive C. Circulating tumour cells: their utility in cancer management and predicting outcomes. *Ther Adv Med Oncol.* nov 2010;2(6):351-65.
30. Mastronicola R, Berteau C, Tu Q, Cortese S, Guillet J, Phulpin B, et al. Detection of disseminated tumor cells in aspirative drains after neck dissection. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Off J Eur Fed Oto-Rhino-Laryngol Soc EUFOS Affil Ger Soc Oto-Rhino-Laryngol - Head Neck Surg.* févr 2016;273(2):465-9.
31. Broman KK, Hughes T, Dossett L, Sun J, Kirichenko D, Carr MJ, et al. Active surveillance of patients who have sentinel node positive melanoma: An international, multi-institution evaluation of adoption and early outcomes after the Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial II (MSLT-2). *Cancer.* 1 juill 2021;127(13):2251-61.
32. Hellmich L, Witte K-E, Ebinger M, Ulmer A. Flow Cytometry for Detection and Quantification of Micrometastases in Sentinel Lymph Nodes from Patients with Primary Melanoma. *J Surg Res.* janv 2021;257:477-85.
33. Chernysheva O, Markina I, Demidov L, Kupryshina N, Chulkova S, Palladina A, et al. Bone Marrow Involvement in Melanoma. Potentials for Detection of Disseminated Tumor Cells and Characterization of Their Subsets by Flow Cytometry. *Cells* [Internet]. 21 juin 2019

# AJCC Melanoma of the Skin Staging Edition<sup>8th</sup>

## Definitions

### Primary Tumor (T)

**TX** Primary tumor cannot be assessed (for example, curettaged or severely regressed melanoma)

**T0** No evidence of primary tumor

**Tis** Melanoma in situ

**T1** Melanomas 1.0 mm or less in thickness

**T2** Melanomas 1.1 - 2.0 mm

**T3** Melanomas 2.1 - 4.0 mm

**T4** Melanomas more than 4.0 mm

**NOTE:** a and b subcategories of T are assigned based on ulceration and thickness as shown below:

T CLASSIFICATION	THICKNESS (mm)	ULCERATION STATUS
<b>T1</b>	≤1.0	a: Breslow < 0.8 mm w/o ulceration b: Breslow 0.8-1.0 mm w/o ulceration or ≤ 1.0 mm w/ ulceration.
<b>T2</b>	1.1-2.0	a: w/o ulceration b: w/ ulceration
<b>T3</b>	2.1-4.0	a: w/o ulceration b: w/ ulceration
<b>T4</b>	>4.0	a: w/o ulceration b: w/ ulceration

### Regional Lymph Nodes (N)

**NX** Patients in whom the regional nodes cannot be assessed (for example previously removed for another reason)

**N0** No regional metastases detected

**N1-3** Regional metastases based on the number of metastatic nodes, number of palpable metastatic nodes on clinical exam, and presence or absence of MSI<sup>2</sup>

**NOTE:** N1-3 and a-c subcategories assigned as shown below:

N CLASSIFICATION	# NODES	CLINICAL DETECTABILITY/MSI STATUS
<b>N1</b>	0-1 node	a: clinically occult <sup>1</sup> , no MSI <sup>2</sup> b: clinically detected <sup>1</sup> , no MSI <sup>2</sup> c: 0 nodes, MSI present <sup>2</sup>
<b>N2</b>	1-3 nodes	a: 2-3 nodes clinically occult <sup>1</sup> , no MSI <sup>2</sup> b: 2-3 nodes clinically detected <sup>1</sup> , no MSI <sup>2</sup> c: 1 node clinical or occult <sup>1</sup> , MSI present <sup>2</sup>
<b>N3</b>	>1 nodes	a: >3 nodes, all clinically occult <sup>1</sup> , no MSI <sup>2</sup> b: >3 nodes, ≥1 clinically detected <sup>1</sup> or matted, no MSI <sup>2</sup> c: >1 nodes clinical or occult <sup>1</sup> , MSI present <sup>2</sup>

### Distant Metastasis (M)

**M0** No detectable evidence of distant metastases

**M1a** Metastases to skin, sub cutaneous, or distant lymph nodes

**M1b** Metastases to lung

**M1c** Metastases to all other visceral sites

**M1d** Metastases to brain

**NOTE:** Serum LDH is incorporated into the M category as shown below:

M CLASSIFICATION	SITE	Serum LDH
<b>M1a-d</b>	Skin/subcutaneous/nodule (a), lung (b) other visceral (c), brain (d)	Not assessed
<b>M1a-d(0)</b>	Skin/subcutaneous/nodule (a), lung (b) other visceral (c), brain (d)	Normal
<b>M1a-d(1)</b>	Skin/subcutaneous/nodule (a), lung (b) other visceral (c), brain (d)	Elevated

ANATOMIC STAGE/PROGNOSTIC GROUPS							
Clinical Staging <sup>1</sup>				Pathologic Staging			
Stage 0	Tis	N0	M0	0	Tis	N0	M0
Stage IA	T1a	N0	M0	IA	T1a	N0	M0
Stage IB	T1b	..	..	IB	T1b	..	..
	T2a	..	..	IB	T2a	..	..
Stage IIA	T2b	N0	M0	IIA	T2b	M0	M0
	T3a	..	..		T2a	..	..
Stage IIB	T3b	..	..	IIB	T3b	..	..
	T4a	..	..		T4a	..	..
Stage IIC	T4b	..	..	IIC	T4b	..	..
Stage III	Any T	≥N1	M0	IIIA	T1-2a	N1a	M0
	..	..	..		T1-2a	N2a	..
	..	..	..		T0	N1b-c	M0
	..	..	..	IIIB	T1-2a	N1b-c	..
	..	..	..		T1-2a	N2b	..
	..	..	..		T2b-3a	N1a-2b	..
	..	..	..	IIIC	T0	N2b-c	M0
	..	..	..		T0	N3b-c	..
	..	..	..		T1a-3a	N2c-3c	..
	..	..	..		T3b-4a	Any N	..
	..	..	..		T4b	N1a-2c	..
	..	..	..	IIID	T4b	N3a-c	M0
Stage IV	Any N	Any N	M1	IV	Any T	Any N	M1

## Notes

<sup>1</sup> Nodes are designated as 'clinically detectable' if they can be palpated on physical exam and are confirmed melanoma by pathology following excision/biopsy.

<sup>2</sup> MSI comprise any satellite, locally recurrent, or in transit lesions.

<sup>3</sup> Clinical staging includes microstaging of the primary melanoma and clinical/radiologic evaluation for metastases. By convention it should be used after complete excision of the primary melanoma with clinical assessment for regional and distant metastases.

<sup>4</sup> Pathologic staging includes microstaging of the primary melanoma and pathologic information about the regional lymph nodes after partial or complete lymphadenectomy.

Annexe 2 : recommandations de prise en charge du mélanome cutané



Source : <https://www.vidal.fr/maladies/recommandations/melanome-cutane-4043.html#prise-en-charge>

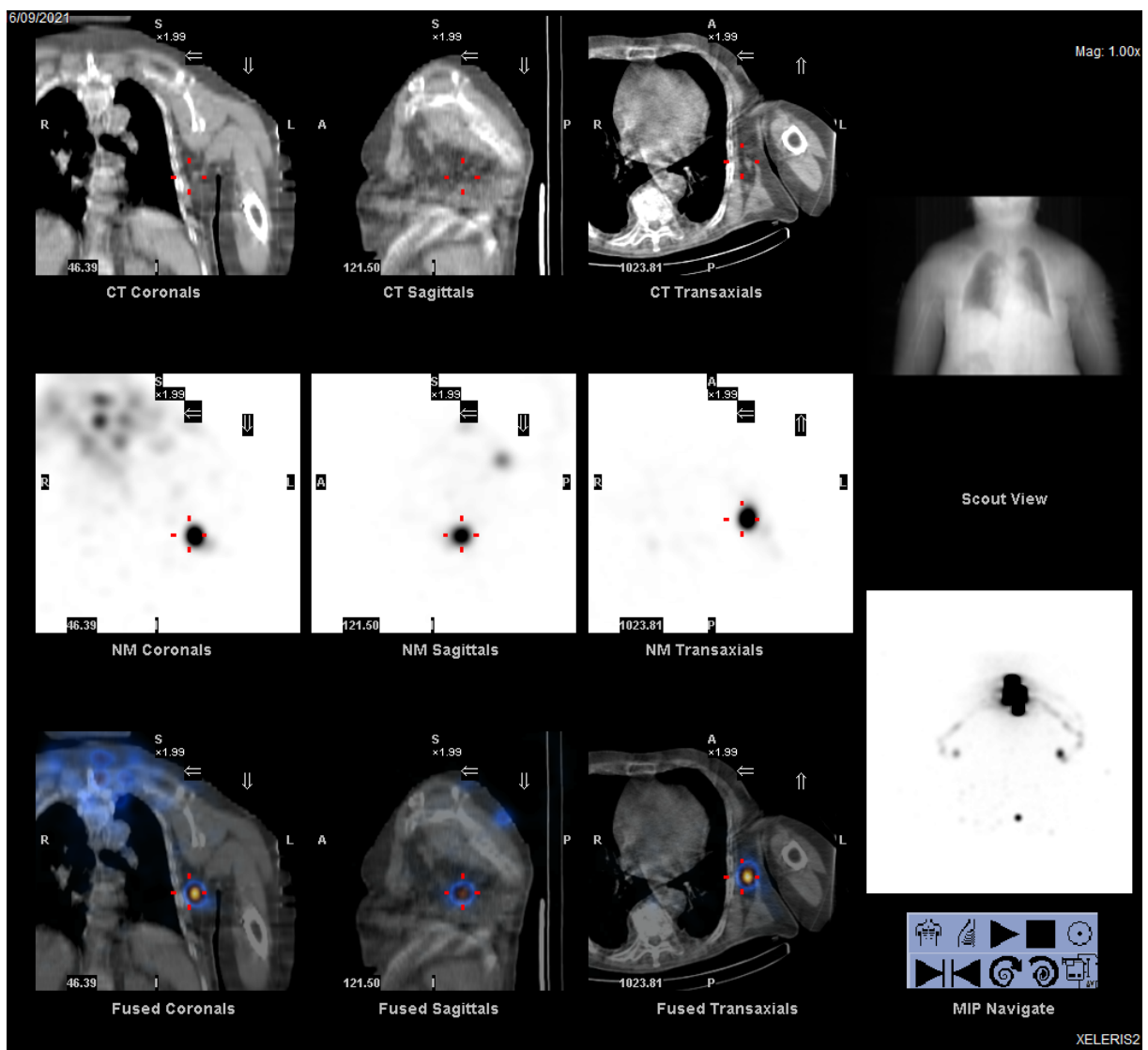
Annexe 3 : marges d'exérèse recommandées selon l'indice de Breslow

Épaisseur selon Breslow	Marges chirurgicales conseillées
Intraépidermique	0,5 cm
0–1 mm (pT1) :	1 cm
1,01–2 mm (pT2)	1–2 cm
2,01–4–mm (pT3)	2 cm
> 4 mm (pT4)	2–3 cm

Source : collège français de dermatologie



Annexe 4 : résultat radiologique d'une technique du ganglion sentinelle avec détection d'un ganglion axillaire gauche



## **Intérêt de la cytométrie en flux dans l'analyse de liquide de drainage post curage ganglionnaire dans un contexte de mélanome**

### **RÉSUMÉ**

**Introduction :** le mélanome est une tumeur cutanée fréquente, responsable d'environ 1800 décès chaque année en France.

Sa prise en charge est principalement chirurgicale ; pour les mélanomes de stade III et IV, un curage ganglionnaire peut être réalisé.

L'objectif principal de notre étude était la recherche, par cytométrie en flux, de cellules tumorales dans le liquide de drainage post curage ganglionnaire chez les patients atteints de mélanome.

**Matériel et méthodes :** nous avons mené une étude prospective, monocentrique, au CHU d'Amiens entre mars 2020 et septembre 2021.

Les patients opérés pour un curage ganglionnaire pour mélanome dans notre service étaient inclus.

Le liquide de drainage était recueilli à J1 post opératoire, puis analysé en cytométrie en flux.

**Résultats :** 13 patients ont été inclus dans notre étude.

La recherche de cellules tumorales était positive dans 61% des cas ; on ne notait pas de discordance entre le résultat anatomopathologique du curage et la recherche de cellules tumorales.

Il existait une corrélation entre le Breslow, le résultat du curage ganglionnaire et la recherche de cellules tumorales.

**Conclusion :** la cytométrie en flux est une méthode efficace et sensible pour détecter les cellules de mélanome dans le liquide de drainage post curage ganglionnaire.

**Mots clés :** cytométrie en flux ; curage ganglionnaire ; mélanome ; liquide de drainage ; cellules tumorales

## **Interest of flow cytometry in the analysis of post lymph node drainage fluid in the context of melanoma**

### **ABSTRACT**

**Introduction :** melanoma is a common skin tumor, responsible for approximately 1800 deaths each year in France.

Its management is mainly surgical; for stage III and IV melanomas, lymph node dissection may be performed.

The main objective of our study was to investigate the presence of tumour cells in the drainage fluid after lymph node dissection in melanoma patients using flow cytometry.

**Material and methods :** We conducted a prospective, single-centre study at Amiens University Hospital between March 2020 and October 2021.

Patients operated for lymph node dissection in the context of melanoma in our department were included.

Drainage fluid was collected on day 1 postoperatively and analysed by flow cytometry.

**Results :** 13 patients were included.

The search for tumour cells was positive in 61% of cases; there was no discrepancy between the anatomopathological result of the curage and the search for tumour cells.

There was a correlation between the Breslow test, the result of lymph node dissection and the search for tumour cells.

**Conclusion :** Flow cytometry is an effective and sensitive method for detecting melanoma cells in post-curage lymph node drainage fluid.

**Key words :** flow cytometry ; lymph node dissection ; melanoma ; tumour cells ; drainage fluid