

PROJET DE RECHERCHE 2007 :**Evaluation de la procédure UROVYSION (FISH)
dans la détection des cancers urothéliaux**

Coordinateurs : D. Sartenaer / J-M Verdebout / M-R Culot-Husson

INTRODUCTION

Le cancer de la vessie est un cancer très fréquent avec 90.000 nouveaux cas diagnostiqués en Europe et 260.000 dans le monde. Ce cancer présente un pourcentage élevé de récurrences, à peu près 80% des tumeurs récidivent après le traitement initial et 30% des tumeurs récurrentes progressent.

Les patients atteints d'un cancer de la vessie sont suivis principalement par cystoscopie et cytologie. Cependant, si la cytologie est une des méthodes les plus spécifiques, elle présente par contre une faible sensibilité pour ce type de cancer, surtout pour les bas grades. En ce qui concerne la cystoscopie, c'est une technique invasive et coûteuse.

C'est pourquoi plusieurs techniques alternatives sont actuellement commercialisées, comme par exemple le test BTA (Bladder Tumor Antigen) ou encore le test ImmunoCyt^{MC} / uCyt +^{Mc} (immunofluorescence) qui mettent en évidence des antigènes présents dans les cellules urothéliales tumorales. Ces techniques sont plus sensibles mais peu spécifiques.

Plus récemment, un test génétique pour le diagnostic et le monitoring de la récurrence des cancers urothéliaux a été développé par Halling et al (2000) sous forme d'un kit (UroVysion).

Le test UroVysion est une méthode non invasive, utilisant la technique d'hybridation in situ fluorescente (FISH), d'analyse d'échantillons d'urine fixés sur lame microscopique.

Le kit consiste en un mélange de 4 sondes ADN spécifiques des chromosomes 3,7,9 et 17.

Le test UroVysion consiste à détecter et à quantifier le nombre de copies des chromosomes 3,7,17 (trisomie, polysomie) et du locus 9p21 (délétion) par FISH sur des échantillons d'urine.

2006

En février 2006, nous avons contacté plusieurs équipes d'urologues pour solliciter leur collaboration dans l'étude d'évaluation de la procédure UroVysion. Trois d'entre elles ont répondu positivement : le Centre de Santé des Fagnes à Chimay, le CHNDRF à Charleroi et la clinique St-Luc à Bouge.

L'étude a démarré en mars 2006 suivant le protocole suivant :

1 comparaison de méthodes d'isolement des cellules à partir d'échantillons d'urine :

une série d'échantillons d'urine (patients + sujets sains) nous ont permis de tester plusieurs méthodes d'isolement : centrifugation classique, cytospin, filtration monocouche, et ce afin de sélectionner le meilleur rapport « coût/efficacité » du test UroVysion.

2 comparaison des résultats FISH avec ceux de la cytologie/histologie sur:

- échantillons d'urine de patients chez qui un diagnostic histologique de carcinome a été posé (avant traitement) + FISH sur biopsie si disponible
- échantillons d'urine chez des patients en cours de traitement : (chez ces patients, une analyse FISH rétrospective est réalisée sur le prélèvement histologique du diagnostic afin de déterminer les anomalies chromosomiques éventuellement présentes dans la tumeur initiale)
- échantillons d'urine chez des patients symptomatiques : hématurie, incontinence, infections, cytoscopie suspecte, etc...

3 conditionnement des prélèvements :

- volume d'urine idéal : dans la mesure du possible, au moins 30ml
- fixation: mélange urine/alcool (50/50)
pour l'alcool : méthanol ou éthanol (70%, 95% ou absolu)
attention : PAS de formaldéhyde

De mars à octobre 2006 (9 mois), le test UroVysion a été réalisé sur :

- 246 échantillons d'urines (patients) (+ 15 sujets sains)
- 41 biopsies vessie (patients) (+ 10 biopsies témoins)
dont 15 prospectives (diagnostic)
26 rétrospectives (suivi)

Une première évaluation est en cours de préparation pour un GLEM de pathologistes à l'IPG le 21 novembre 2006 (Dr Oana / IPG + Pr. H. NOEL /UCL).

Un résumé de cette évaluation pourrait être présenté lors de la prochaine réunion du comité de recherche (exposés des rapports/projets).

DEMANDE DE BUDGET 2007

L'évaluation devant être poursuivie en 2007 afin d'apprécier non seulement la sensibilité mais surtout la spécificité du test dans le diagnostic et le suivi des patients, se pose la question du financement de l'étude :

- d'une part, ces analyses ne font l'objet actuellement ni d'un financement dans le cadre des CDM (toujours en suspens), ni d'un remboursement INAMI en Génétique.
- d'autre part, l'évaluation devrait se poursuivre avec la collaboration d'autres centres (St-Joseph à Gilly, Bordet, autres ?...)

Si on ne tient compte que des échantillons d'urine et des biopsies-diagnostic et d'une augmentation d'environ 50% des cas pour 2007, le nombre d'analyses à prévoir serait le suivant : $(261/9) \times 12 + 50\% = 522$ analyses /an

L'évaluation devrait pouvoir se poursuivre sans engagement de personnel supplémentaire.

Actuellement : - personnel technique et secrétariat : 100% Génétique
- personnel scientifique : Génétique/Anapath

La demande de budget n'est donc demandée que pour les points suivants :

1 Prix du kit UroVysion (Vysis/Abbott)

prix catalogue : 2178,00 euros / 20 tests (TVAC)

TVAC (hors remise): 108,90 euros/test

TVAC (remise 30%): 76,23 euros/test

Méthode IPG : $76,23/3 = \underline{25,41 \text{ euros/test}}$

2 Autres consommables, amortissement du matériel spécifique

- prétraitement, enzyme de digestion, solutions d'hybridation + lavages, DAPI
- pot à urine, méthanol, seringue, membrane, joint silicone, porte-filtre, tube à centrifuger
- amortissement microscope à fluorescence + filtres spécifiques

10,00 euros / test

Coût pour chaque analyse : environ **36,00 euros**

BUDGET prévisionnel pour 2007 : 36,00 euros x 522 = 18.792 arrondis à **19.000 euros**

Références :

Halling KC, King W, Sokolova IA, Meyer RG, Burkhardt HM, Halling AC, Cheville JC, Sebo TJ, Ramakumar S, Stewart CS, Pankratz S, O'Kane DJ, Seelig SA, Lieber MM, Jenkins RB.

A comparison of cytology and fluorescence in situ hybridization for the detection of urothelial carcinoma.

J Urol. 2000 Nov;164(5):1768-75.

Skacel M, Fahmy M, Brainard JA, Pettay JD, Biscotti CV, Liou LS, Procop GW, Jones JS, Ulchaker J, Zippe CD, Tubbs RR.

Multitarget fluorescence in situ hybridization assay detects transitional cell carcinoma in the majority of patients with bladder cancer and atypical or negative urine cytology.

J Urol. 2003 Jun;169(6):2101-5

Obermann EC, Meyer S, Hellge D, Zaak D, Filbeck T, Stoehr R, Hofstaedter F, Hartmann A, Knuechel R.

Fluorescence in situ hybridization detects frequent chromosome 9 deletions and aneuploidy in histologically normal urothelium of bladder cancer patients.

Oncol Rep. 2004 Apr;11(4):745-51