

Eficacia y coste-efectividad de las técnicas moleculares en la valoración intra-operatoria del ganglio centinela

Efficacy and cost-effectiveness of molecular techniques in the intraoperative assessment of the sentinel lymph node.

Executive summary

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS
AETSA

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



MINISTERIO
DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES
E IGUALDAD



RED ESPAÑOLA DE AGENCIAS DE EVALUACIÓN
DE TECNOLOGÍAS Y PRESTACIONES DEL SISTEMA NACIONAL DE SALUD



JUNTA DE ANDALUCÍA
CONSEJERÍA DE SALUD Y BIENESTAR SOCIAL

Eficacia y coste-efectividad de las técnicas moleculares en la valoración intra-operatoria del ganglio centinela

Efficacy and cost-effectiveness of molecular techniques in the intraoperative assessment of the sentinel lymph node.

Executive summary

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS
AETSA

García Estepa, Raúl

Eficacia y coste-efectividad de las técnicas moleculares en la valoración intra-operatoria del ganglio centinela. Raúl García Estepa — Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía, 2013.

72 p; 24 cm. (Colección: Informes, estudios e investigación. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Serie: Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias)

1. Neoplasias de la mama 2. Método OSNA 3. Metástasis linfática / diagnóstico 4. Análisis coste-efectividad I. García Estepa, Raúl II. Martínez Férrez, Isabel M. III. Adam Blanco, Daniel IV. Márquez Peláez, Sergio V. Rodríguez López, Rocío VI. Andalucía. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias VII. España. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad VIII España. Ministerio de Economía y Competitividad

Autores: Raúl García Estepa, Isabel M. Martínez Férrez, Daniel Adam Blanco, Sergio Márquez Peláez, Rocío Rodríguez López

Este documento se ha realizado al amparo del convenio de colaboración suscrito por el Instituto de Salud Carlos III, organismo autónomo del Ministerio de Economía y Competitividad, y la Fundación Progreso y Salud de la Consejería de Igualdad, Salud y Políticas Sociales de la Junta de Andalucía, en el marco del desarrollo de actividades de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del SNS, financiadas por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad

Edita: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía
Consejería de Igualdad, Salud y Políticas Sociales
JUNTA DE ANDALUCÍA
Avda. de la Innovación, s/n. Edificio ARENA 1. Planta baja.
41020 Sevilla
España – Spain

ISBN: 978-84-15600-29-9

NIPO: 680-13-062-6

Este documento puede ser reproducido en todo o en parte, por cualquier medio, siempre que se cite explícitamente su procedencia

Eficacia y coste-efectividad de las técnicas moleculares en la valoración intra-operatoria del ganglio centinela

Efficacy and cost-effectiveness of molecular techniques in the intraoperative assessment of the sentinel lymph node.

Executive summary

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS
AETSA



MINISTERIO
DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES
E IGUALDAD



RED ESPAÑOLA DE AGENCIAS DE EVALUACIÓN
DE TECNOLOGÍAS Y PRÁCTICAS DEL SISTEMA NACIONAL DE SALUD



JUNTA DE ANDALUCÍA
CONSEJERÍA DE SALUD Y BIENESTAR SOCIAL

Conflicto de Interés

Los autores declaran que no tienen intereses que puedan competir con el interés primario y los objetivos de este informe e influir en su juicio profesional al respecto.

Índice

Resumen ejecutivo	11
Executive summary	15
Introducción	19
Objetivos.....	25
Material y Métodos	27
Revisión de la literatura	27
Resultados	31
Eficacia.....	31
Eficiencia económica.....	49
Discusión	55
Conclusiones	63
Referencias.....	65
Anexos	69
Anexo 1: Estrategias de búsqueda.....	69
Anexo 2: STARD listado de comprobación de estudios de pruebas diagnósticas.....	71

Índice de tablas y figuras

Tabla 1. Estudios incluidos y comparadores utilizados en cada uno de ellos.....	32
Tabla 2. Calidad de los estudios incluidos	34
Tabla 3. Valores de los índices diagnósticos de las pruebas OSNA y citología por impronta en el estudio de Feldman <i>et al.</i> 2011, en relación con la prueba de referencia	42
Tabla 4. Discordancias entre OSNA y pruebas inmunohistopatológicas en muestras de ganglios	46
Tabla 5. Resumen de los resultados de la prueba molecular OSNA para la detección de metástasis en ganglios axilares en pacientes con cáncer de mama	47
Tabla 6. Resultados de la prueba molecular OSNA para la detección de metástasis en pacientes con cáncer de mama	48
Tabla 7. Resultados de Guillén-Paredes <i>et al.</i> 2011	50
Tabla 8. Costes considerados en el modelo	51
Tabla 9. Porcentaje de ganglios positivos	51
Tabla 10. Sensibilidad de OSNA frente a histopatología (después de análisis de casos discordantes)	52
Tabla 11. Resultados en términos coste-efectividad del caso base	52
Figura 1. Esquema del modelo de evaluación	30
Figura 2. Diagrama de flujo de la selección de los artículos	31
Figura 3. Plano Coste-efectividad de los 81 escenarios de comparación creados	53

Abreviaturas

AJCC: American Joint Committee on Cancer

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

ASCO: American Society Clinical Oncology

BSGC: Biopsia del ganglio centinela

CADTH: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health

CK19: Citoqueratina 19

CRD: Centre for Reviews and Dissemination

FOXA1: Marcador forkhead box A1

H-E: Hematoxilina-eosina

HIS: Histopatología

ICER: Ratio coste-efectividad incremental, del inglés Incremental cost-effectiveness ratio

ICTRP: International Clinical Trials Registry Platform

ITC: Células tumorales aisladas, del inglés isolated tumor cells

µl: Microlitro

mm: Milímetros

NICE: National Institute for Health and Clinical Excellence

NS: Sin diferencias estadísticamente significativas

OSNA: One-Step nucleic acid amplification

PCR: Amplificación de ácidos nucleicos mediante reacción en cadena de la polimerasa

QRT-PCR: PCR cuantitativa con transcriptasa inversa

RT-lamp: Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification

SC: Sección congelada

SLN: Ganglio centinela, del inglés sentinel lymph node

SPDEF: Marcador SAM-pointed domain containing ETS transcription factor

TEC: Technology Evaluation Center

Resumen ejecutivo

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

La evaluación de los ganglios axilares en pacientes con cáncer de mama se utiliza como método para detectar la propagación de las células tumorales por los vasos linfáticos y se ha convertido en uno de los principales parámetros en la prognosis de mujeres con cáncer de mama. En los últimos años, se ha propuesto el análisis del denominado ganglio centinela para detectar la propagación del cáncer al sistema linfático. El ganglio centinela es el primer ganglio de la ruta de drenaje desde la mama a la cadena ganglionar axilar. Para el análisis del estado del ganglio centinela, la técnica diagnóstica considerada hasta el momento como prueba de referencia, es el análisis inmuno-histopatológico, proceso laborioso que se realiza de manera postoperatoria. Se han desarrollado técnicas intraoperatorias para la valoración del estado del ganglio centinela con el fin de elegir durante la intervención el procedimiento de cirugía más adecuado y evitar posteriores intervenciones. Las pruebas intraoperatorias disponibles hasta el momento son la impronta celular y la histología de secciones congeladas del ganglio. En estas dos pruebas, los resultados dependen de la pericia del técnico que procesa la muestra y de la experiencia del patólogo que interpreta los resultados. En los últimos años, el desarrollo de las técnicas moleculares ha permitido la aparición de otras pruebas intraoperatorias para detectar aquellos genes que se expresan en tejido mamario neoplásico pero no en tejido sano. La técnica molecular OSNA amplifica a tiempo real el ARNm de la proteína citoqueratina 19 (CK19) (marcador específico de células tumorales) por un procedimiento isotérmico a 65°C, específico y sensible denominado RT-LAMP (*Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification*).

OBJETIVOS

Valorar la eficacia y la relación coste-efectividad de la prueba intraoperatoria *one-step nucleic acid amplification* (OSNA) frente a las técnicas convencionales (postoperatorias e intraoperatorias) en la detección de metástasis en el ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama.

METODOLOGÍA

Se ha llevado a cabo una revisión sistemática de la literatura sobre la eficacia de la prueba molecular OSNA frente a las pruebas alternativas en la detección de metástasis en el ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama. Para ello, se han consultado las bases de datos del CRD (*Centre*

for Reviews and Dissemination), la biblioteca Cochrane y TEC (*Technology Evaluation Center*). Se ha realizado una búsqueda de estudios primarios en las bases de referenciales MEDLINE (incluido Pre-MEDLINE mediante OVID) y EMBASE hasta julio del 2011. Esta búsqueda se ha complementado con consultas a las bases de datos *Clinical Evidence*, *UpToDate*, NICE (*National Institute for Health and Clinical Excellence*), CADTH (*Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health*), ECRI, HAYES y a las páginas web concernientes a los ensayos clínicos en curso (*Clinicaltrials.gov*, *UK National Research Register*), *Current Controlled Trial* y el registro del ICTRP (*International Clinical Trials Registry Platform Search Portal*, WHO). Se ha realizado una lectura crítica por pares de los artículos seleccionados, con el fin de identificar los problemas metodológicos que pudieran influir en la validez interna y externa de los estudios; y valorar así, la calidad de la evidencia científica disponible. Las búsquedas se adaptaron para la localización de estudios de evaluación económica mediante la aplicación de filtros específicos para las bases de datos MEDLINE y EMBASE.

RESULTADOS

Se han localizado 11 estudios en los que se valora la eficacia de la prueba intraoperatoria OSNA frente a la prueba inmuno-histopatológica postoperatoria, considerada hasta el momento como la prueba de referencia (*gold standard*) y frente a las pruebas intraoperatorias que se usan en la actualidad como son la citología por impronta celular del ganglio centinela y la tinción de secciones congeladas del mismo.

Los estudios presentaban problemas de validez interna y externa, siendo en todos ellos el mayor problema el sesgo de muestreo del ganglio. Los 11 estudios muestran una alta concordancia entre la prueba OSNA y la prueba de referencia, mostrando un rango comprendido entre 91,7-98,2% en ganglios y 93-93,5% en pacientes. Las discrepancias encontradas entre la prueba OSNA y la de referencia fueron analizadas mediante pruebas moleculares adicionales (QRT-PCR y *Western Blot*) con el objetivo de detectar posibles problemas de muestreo. Según los datos aportados por los estudios incluidos en este informe, la sensibilidad estimada de la prueba molecular está comprendida en un rango entre 77,5-98,1% en ganglios y 77,8-80% en pacientes, y una especificidad entre 89-98,5% en ganglios y 96,3-97,2% en pacientes, frente al patrón de referencia, aumentando dichos parámetros al analizar las discrepancias.

La prueba OSNA mostró una mayor sensibilidad y una especificidad similar a la mostrada por la impronta celular y detectó más casos de metástasis en el ganglio centinela que la histología de secciones congeladas, especialmente en casos de micrometástasis.

Además, el tiempo en la realización de la prueba OSNA para 1 ganglio osciló entre 32-35,2 minutos, aunque existen pequeñas diferencias en la aceptación que cada estudio recogió como resultado.

De la literatura sólo un estudio de evaluación económica sobre OSNA cumplió los criterios de inclusión. Dicho trabajo presentaba información a favor de la utilización de la prueba OSNA frente a la biopsia del ganglio centinela pues se obtenían ahorros de 439,67 € por intervención. Los resultados del análisis coste-efectividad propio presentaron unas cifras medias de la ratio coste-efectividad incremental de OSNA frente a histopatología de 35.537 € por caso positivo detectado. El resultado de los 81 escenarios del análisis de sensibilidad ofrecieron unas ratios en el rango de valores de -6.943 € a 83.429,10 € por caso positivo detectado.

CONCLUSIONES

- La técnica molecular intraoperatoria OSNA presenta una alta concordancia, sensibilidad y especificidad frente al análisis histopatológico post-operatorio considerado el patrón de referencia.
- Presenta mayor sensibilidad que las pruebas intraoperatorias convencionales de impronta y tinción de cortes congelados.
- No se conoce la utilidad clínica y por lo tanto el beneficio en salud de la prueba OSNA. Son necesarios estudios prospectivos para determinar si esta nueva prueba realmente ayuda al pronóstico de los pacientes con cáncer de mama.
- Con la limitada información sobre eficiencia económica disponible y las estimaciones realizadas, la prueba OSNA podría ser considerada una alternativa al análisis histopatológico que ahorraría costes, si bien presenta menor capacidad diagnóstica.

Executive summary

BACKGROUND AND JUSTIFICATION

The assessment of the axillary lymph nodes in breast cancer patients is used as a method to detect the spread of the tumour cells through the lymphatic vessels and it has become one of the main parameters in the prognosis of women with breast cancer. In recent years, sentinel node analysis has been proposed to detect the spread of cancer to the lymphatic system. The sentinel node is the first lymph node in the drainage route from the breast to the axillary lymph node chain. For the analysis of the condition of the sentinel node, the diagnostic technique currently considered as the gold-standard is the immuno-histopathological analysis, a laborious process that is performed post-operatively. The intraoperative tests available to date are imprint cytology and the staining of frozen sections of the lymph node. In these two tests, the results depend on the skill of the technician who processes the sample and on the experience of the pathologist who interprets the results. In recent years, the development of molecular techniques has allowed the emergence of other intraoperative tests to detect those genes that are expressed in neoplastic breast tissue but not in healthy tissue. The one-step nucleic acid amplification (OSNA) molecular technique involves a real-time amplification of the mRNA of CK19 (specific marker of tumour cells) by a specific and sensitive isothermal procedure at 65°C, called RT-LAMP (Reverse Transcription – Loop Mediated Isothermal Amplification).

OBJECTIVES

To assess the efficacy and the cost-effectiveness of OSNA intraoperative test compared to conventional techniques (intraoperative and postoperative) in the detection of metastasis in the sentinel node in breast cancer patients.

METHODOLOGY

A systematic review of the literature was carried out on the efficacy of the OSNA molecular test *versus* alternative tests in the detection of metastasis in the sentinel lymph node in patients with breast cancer. For this purpose, the CRD database (Centre for Reviews and Dissemination), the Cochrane Library and TEC (Technology Evaluation Center) database were consulted. A search of primary studies was made in the reference databases of MEDLINE (including Pre-MEDLINE via OVID) and EMBASE up to July 2011. This search was complemented with searches in the databases: Clinical Evidence database, UpToDate, NICE (National Institute for

Health and Clinical Excellence), CADTH (Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health), ECRI, Hayes and ongoing clinical trials websites [Clinicaltrials.gov, UK National Research Register, Current Controlled Trials and ICTRP (International Clinical Trials Registry Platform Search Portal, WHO)]. A peer critical reading was made of the selected articles to identify the methodological problems that could affect the internal and external validity of the studies, and thus assess the quality of the scientific evidence. Search was structured in order to find articles with economic evaluation criteria by applying specific filters to the MEDLINE and EMBASE database.

RESULTS

The literature search identified 11 relevant studies which assessed the efficacy of intraoperative OSNA test against the immuno-histopathological postoperative test, currently considered the gold standard, and against intraoperative testing as imprint cytology and staining of frozen sections of sentinel node. The studies presented internal and external validity problems, the major problem of all of them were the sampling bias of the lymph node. The 11 studies showed a high agreement between OSNA test and the reference test, showing a range from 91.7 to 98.2% in nodes and a range from 93 to 93.5% in patients. The discrepancies found between the gold standard test and OSNA assay were analyzed by additional molecular tests (QRT-PCR and Western Blot) in order to confirm the results and thus to detect possible sampling problems.

According to data provided by the studies included in this report, the OSNA sensitivity was within a range between 77.5-98.1% (nodes) and 77.8-80.0% (patients) and OSNA specificity was 89.0-98.5% (nodes) and 96.3-97.2% (patients).

OSNA assay showed higher sensitivity and similar specificity than the imprint cytology and OSNA detected more cases of sentinel node metastases than frozen section histology, particularly micrometastases.

Furthermore, the time in conducting the OSNA test for 1 node ranged from 32 to 35.2 minutes.

There was just one economic evaluation study about OSNA that fulfilled the inclusion criteria. This article presented data that supported that using the OSNA diagnostic method versus the sentinel node biopsy would provide savings of € 439.67 per intervention. Our own cost-effectiveness analysis estimated a mean ICER of € 35,537 for every positive case detected with OSNA versus histopathology. The results of the 81 scenarios of the sensitivity analysis offered values that ranged from € -6,943 to € 83,429.10 for every positive case detected.

CONCLUSIONS

- The intraoperative OSNA assay presents a high agreement, sensitivity and specificity regard to the reference postoperative histopathological analysis.
- The intraoperative OSNA assay presents greater sensitivity than the conventional intraoperative tests of imprint cytology and staining of frozen sections.
- The OSNA clinical utility remains to be determined. Prospective studies would be required to determine their prognostic ability.
- With the limited information about economic efficiency available and the estimations performed, the OSNA test could be considered an alternative to histopathological analysis that would save costs, but it has lower diagnostic ability.

Introducción

La evaluación de los ganglios axilares en pacientes con cáncer de mama se utiliza como método para detectar la propagación de las células neoplásicas por los vasos linfáticos, que es la vía principal de diseminación de células tumorales en el cáncer de mama. Esta prueba se ha convertido en uno de los principales parámetros en la prognosis de mujeres con cáncer de mama¹. Por lo tanto, durante la realización de la cirugía para el cáncer de mama, se extirpan algunos de los ganglios axilares para su análisis. El estado (negativo, es decir la ausencia de micro o macrometástasis, o positivo, presencia de aquellas en el tejido) de los ganglios axilares junto con otros parámetros como: el tamaño del tumor, el tipo de tumor (grado de diferenciación celular, presencia de receptores hormonales, índice de proliferación), HER2, etc, va a determinar el abordaje terapéutico más adecuado a adoptar y asimismo, va a permitir clasificar a los pacientes según el número de ganglios linfáticos con metástasis, y así tendremos pacientes con ganglios negativos, con 1-3 ganglios positivos o afectados, con 4-9 ganglios positivos y pacientes con más de 10 ganglios afectados. La clasificación patológica de los ganglios linfáticos regionales es el factor pronóstico más importante para el cáncer de mama, permitiendo decisiones sobre la terapia adyuvante².

La disección de los ganglios axilares o linfadenectomía axilar lleva asociada una morbilidad importante, describiéndose entre los efectos adversos más comunes: seromas postquirúrgicos, limitaciones de movimiento del hombro y linfedema en el brazo.

En los últimos años, se ha propuesto el análisis del denominado ganglio centinela para detectar la propagación del cáncer al sistema linfático. El ganglio centinela es el primer ganglio de la cadena ganglionar axilar de drenaje desde la mama a la axila. Este análisis permitiría decidir durante el procedimiento quirúrgico el realizar o no la linfadenectomía axilar total. Con lo que la ausencia de ganglios afectados evitaría el vaciamiento ganglionar axilar, lo que se asociaría a una menor morbilidad.

La ruta de drenaje desde la mama a la axila se identifica mediante la inyección de un trazador (colorante más un coloide marcado radioactivamente), de manera que se puede identificar el primer ganglio de la ruta (ganglio centinela). La biopsia del ganglio centinela se considera una prueba para valorar la afectación de los ganglios axilares en cáncer de mama en estadios tempranos y se está convirtiendo en un procedimiento quirúrgico estándar en el tratamiento de estos pacientes¹.

La disección del ganglio centinela es una intervención menos invasiva que la disección total de los ganglios axilares evitando esta última en aquellos casos en los que el análisis del ganglio sea negativo y reduciendo el riesgo del paciente. La recurrencia de metástasis en pacientes con los ganglios axilares negativos tras la biopsia del ganglio centinela se ha estimado entre el 0,3 y el 0,8%³⁻⁵.

Para el análisis del estado del ganglio centinela, la prueba considerada hasta el momento como prueba de referencia, es el análisis inmunohistopatológico postoperatorio del tejido ganglionar. Este análisis consiste en la inclusión del tejido ganglionar en parafina, y el posterior corte seriado en secciones finas del tejido que son teñidos con hematoxilina-eosina (H-E) y se examinan por microscopía para detectar la presencia o ausencia de metástasis. La limitación de esta técnica es que del corte seriado de un ganglio centinela de tamaño medio se obtendría un número muy elevado de secciones que superaría habitualmente las 200 e incluso las 300, lo que haría inviable el estudio anatomopatológico sistemático de los ganglios de este tipo. Por ello, habitualmente se hacen secciones selectivas de los fragmentos, lo que puede añadir un sesgo de selección de muestra, sobre todo en el caso de las micrometástasis. Los ganglios que no presentan muestras visuales de metástasis son evaluados mediante técnicas inmunohistoquímicas con anticuerpos específicos para citoqueratina. Todo este análisis es laborioso y se realiza de manera postoperatoria, lo que conlleva la necesidad de una reintervención en el caso que se demuestren metástasis en el ganglio centinela para realizar la linfadenectomía axilar, lo que obligaría a un nuevo ingreso con implicación en la eficiencia clínica, coste económico y, sobre todo, en la respuesta psicológica de la paciente⁶.

La posibilidad de realizar una evaluación de manera intraoperatoria del ganglio centinela, permitiría decidir durante la intervención la necesidad de realizar la disección total de los ganglios axilares, en caso de que se hubiese detectado una metástasis del tumor en aquél, con lo que se evitaría la reintervención de la paciente para proceder al vaciamiento ganglionar axilar necesario. En los últimos 15 años, la evaluación intraoperatoria del ganglio centinela se ha establecido como el procedimiento de elección para la cirugía conservadora de ganglios linfáticos axilares, disminuyendo la morbilidad física y psicológica en el paciente y evitando los costes de una linfadenectomía posterior². Las pruebas intraoperatorias disponibles hasta el momento son la impronta celular ganglionar y el estudio anatomopatológico de secciones congeladas del ganglio centinela. Estas técnicas se realizan en un periodo corto de tiempo lo que permite al cirujano tomar una decisión durante el desarrollo de la intervención. Estas técnicas siempre van acompañadas por las técnicas inmunohistopatológicas postoperatorias,

tanto del tejido remanente del ganglio centinela previamente analizado como del tejido mamario extirpado y del tejido correspondiente al vaciamiento ganglionar axilar si se hubiera realizado con el fin de confirmar resultados intraoperatorios. En general, se asume que los resultados intraoperatorios son provisionales hasta que sean confirmados por los estudios anatomopatológicos de todas las piezas quirúrgicas tras la intervención.

La impronta de tejido ganglionar muestra una sensibilidad del 81% para macrometástasis (>2 mm) y una sensibilidad sólo del 22% para micrometástasis (0,2-2 mm)⁷. Esta técnica tiene la finalidad de estudiar el material celular procedente del ganglio centinela en fresco (sin fijar), que se obtiene mediante la impresión de la huella dejada por cada una de las caras de las secciones seriadas (de 2-4 mm de grosor) sobre un portaobjetos, o bien, mediante el frotis o rascado con un portaobjetos de cada una de las caras de las citadas secciones. Las muestras se fijan en alcohol o secándolas “al aire” y se tiñen con las técnicas convencionales (giemsa, hematoxilina-eosina), siendo el giemsa el que menor número de artefactos por deshidratación celular y pérdida de celularidad produce. Luego el propio grosor de las secciones ganglionares y los artefactos producidos durante el proceso de impronta, fijación y tinción, pueden generar un sesgo de selección muestral teniendo en cuenta que el diámetro máximo de una micrometástasis es menor al límite inferior del grosor de cada sección ganglionar. La otra técnica intraoperatoria utilizada es la congelación del tejido ganglionar a -20C°, del que se cortan secciones que son teñidas *in situ* con hematoxilina-eosina. Esta técnica presenta un mayor riesgo de distorsión morfológica del tejido que cuando se incluye éste en parafina. El estudio de estas secciones depende de varios factores, principalmente relacionados con la toma de muestras como puede ser el grado de sección del ganglio y el procedimiento de tinción, llegando a producir alteraciones en los resultados. Esta técnica presenta gran variabilidad en cuanto a falsos negativos pudiendo variar entre un 5% y un 52%⁸; no obstante muestra mayor sensibilidad que la impronta celular 63% (IC 95% de 57-69%)⁷. La inmunotinción rápida de la citoqueratina de forma intraoperatoria puede mejorar la sensibilidad de estas pruebas, sin embargo, este test no está ampliamente disponible⁹.

Estas dos técnicas intraoperatorias utilizadas de forma convencional dependen de la pericia del técnico que procesa la muestra y de la experiencia del patólogo que interpreta los resultados. Además, a pesar de los esfuerzos, los departamentos de patología no poseen una normalización adecuada en el procedimiento de evaluación de ganglios centinelas. Así, los protocolos para el estudio histopatológico varían bastante entre diferentes hospitales, dependiendo de los recursos disponibles y de los patólogos².

Existe por lo tanto, la necesidad de disponer de un método intraoperatorio rápido, estandarizado, específico, sensible, objetivo y reproducible que aumente los beneficios sobre el paciente al evitar segundas intervenciones; y que por otra parte, permita reducir los gastos hospitalarios aumentando la eficiencia de esta intervención.

En los últimos años, el desarrollo de las técnicas moleculares ha permitido la aparición de otras pruebas intraoperatorias basadas en la amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR de marcadores de ARNm específicos de cáncer de mama mediante transcriptasa inversa (RT-PCR). Estas técnicas permiten detectar aquellos genes que se expresan en tejido mamario tumoral pero no en tejido sano. Estudios realizados para identificar marcadores específicos de cáncer de mama, han mostrado que la citoqueratina 19 (CK19) es un buen marcador con una sensibilidad del 98,2%^{1,10-12}. Además, Hughes *et al.* 2006¹¹ mostraron que la sensibilidad no mejoraba cuando se utilizaban los marcadores CK19 más mamaglobina comparado con el marcador CK19 sólo.

Hasta el momento, se han descrito dos pruebas moleculares: GeneSearch™ BLN Assay desarrollado y comercializado por Veridex y OSNA (*One-Step Nucleic Acid Amplification*) de la compañía Sysmex. Sin embargo, en diciembre de 2009 la empresa que lo comercializaba GeneSearch™ BLN Assay lo retiró del mercado americano y europeo, por ello este informe se centra en el estudio y valoración de la técnica molecular OSNA.

La primera prueba consiste en una PCR con transcriptasa inversa a tiempo real en el que se evalúa la presencia de los marcadores de expresión génica: mamaglobina y citoqueratina 19 (CK19). Esta prueba no discrimina entre macro y micrometástasis.

La segunda prueba, OSNA, consiste en una PCR cuantitativa con transcriptasa inversa. Dicha prueba amplifica a tiempo real el ARNm de la CK19 por un procedimiento isotérmico a 65°C, específico y sensible denominado RT-LAMP (*Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification*). La prueba mide la cantidad de ARNm de la CK19 y lo correlaciona directamente con el tamaño de la metástasis. El tiempo de reacción es de 16 minutos, con un tiempo total de unos 30 minutos desde la preparación del ganglio hasta la obtención de resultados. Tiene capacidad para analizar el ganglio completo y es un método semicuantitativo, es decir, es capaz de discriminar entre:

- macrometástasis (++) :>5.000 copias/µl ARNm CK19.
- micrometástasis (+): 250-5.000 copias/µl ARNm CK19.
- ausencia de metástasis (-): <250 copias/µl ARNm CK19.

Para evitar amplificaciones inespecíficas y por consiguiente la aparición de falsos positivos, la prueba OSNA utiliza 6 cebadores en lugar de dos, precipita el ADN genómico a bajo pH y utiliza una temperatura de reacción isotérmica a 65°C. Además, esta técnica no requiere la purificación previa del ARN.

Objetivos

- Valorar la eficacia de la prueba intraoperatoria *one-step nucleic acid amplification* (OSNA) frente a las técnicas convencionales (postoperatorias e intraoperatorias) en la detección de metástasis en el ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama.
- Valorar la eficiencia económica en términos coste-efectividad de la técnica OSNA en la detección de metástasis en el ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama.

Material y Métodos

Revisión de la literatura

Se ha llevado a cabo una revisión sistemática de la literatura sobre la eficacia de la prueba molecular OSNA frente a las pruebas alternativas en la detección de metástasis en el ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama.

Búsqueda bibliográfica: bases de datos y estrategia

Se ha realizado una primera búsqueda bibliográfica enfocada a identificar informes de evaluación de tecnologías sanitarias y revisiones sistemáticas que valoraran la eficacia de las pruebas en las bases de datos del CRD (*Centre for Reviews and Dissemination*), la biblioteca Cochrane y TEC (*Technology Evaluation Center*).

Se ejecutó una búsqueda de estudios primarios en las bases referenciales MEDLINE (incluido Pre-MEDLINE mediante OVID) y EMBASE, hasta julio del 2011. Las estrategias diseñadas para la búsqueda en MEDLINE y EMBASE se muestran en el Anexo 1.

Estas estrategias se complementaron con consultas a bases de datos como Clinical Evidence, UpToDate, NICE (*National Institute for Health and Clinical Excellence*), CADTH (*Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health*), ECRI, HAYES y búsqueda manual a través de las referencias localizadas.

Además, la búsqueda se completó con la consulta de las páginas web concernientes a los ensayos clínicos en curso (*Clinicaltrials.gov*, *UK National Research Register*), *Current Controlled Trial* y el registro del ICTRP (*International Clinical Trials Registry Platform Search Portal, WHO*).

Los criterios de inclusión se establecieron con base en:

- **Población:** Pacientes con cáncer de mama susceptibles de tratamiento quirúrgico que no hayan recibido quimioterapia neoadyuvante.
- **Intervención:** Técnica molecular intraoperatoria OSNA en la valoración de ganglios linfáticos.
- **Comparación:** Técnica histopatológica postoperatoria, técnica intraoperatoria histopatológica de secciones congeladas y citología por impronta ganglionar.

- **Resultados:** Concordancia, sensibilidad y especificidad. Reducción de reintervenciones de vaciamientos ganglionares (por lo que disminuirían linfedemas y sus complicaciones), aumento en calidad de vida, disminución del tiempo quirúrgico, de tratamientos oncológicos y rehabilitador, de tiempos de hospitalización y de consultas de revisión postquirúrgicas.

Se ha realizado una lectura crítica por pares de los artículos seleccionados, con el fin de identificar los problemas metodológicos que pudieran influir en la validez interna y externa de los estudios. Para ello se han utilizado los estándares establecidos por la guía STARD para pruebas diagnósticas (Anexo 2).

Se excluyeron las comunicaciones a congresos y publicaciones como cartas, editoriales, revisiones no sistemáticas y todas aquellas que no incluyeran estudios originales que aportaran datos de eficacia o validación de la prueba.

Por último, se ha realizado la extracción y resumen de los resultados descritos en cada estudio.

Valoración de la eficiencia económica

Para analizar la eficiencia económica se realizó en primer lugar una revisión de la literatura y después un análisis coste-efectividad.

Para la revisión de literatura sobre aspectos económicos de OSNA se ejecutó una búsqueda estructurada en las bases de datos MEDLINE vía OVID y EMBASE. Se complementó con búsqueda en CRD, CEA Registry y búsqueda manual a través de las referencias localizadas. Las estrategias de búsqueda utilizadas se describen en el Anexo 1 junto con las relativas a la parte de eficacia y seguridad.

Los criterios de inclusión y exclusión para la selección de los estudios se adaptaron para incluir evaluaciones económicas (análisis comparativos de costes, análisis de minimización de costes, análisis coste-efectividad, análisis coste-utilidad, análisis coste-beneficio y análisis de impacto presupuestario) de la forma descrita a continuación:

- **Población:** Pacientes con cáncer de mama susceptibles de tratamiento quirúrgico que no hayan recibido quimioterapia neoadyuvante.
- **Intervención:** Técnica molecular intraoperatoria OSNA en la valoración de ganglios linfáticos.
- **Comparación:** Técnica histopatológica postoperatoria, técnica intraoperatoria histopatológica de secciones congeladas y citología por impronta ganglionar.

- **Resultados:** Costes de las pruebas y complicaciones, coste por caso detectado, por año de vida ganado, por año de vida ajustado por calidad, medidas de coste beneficio e impacto presupuestario.

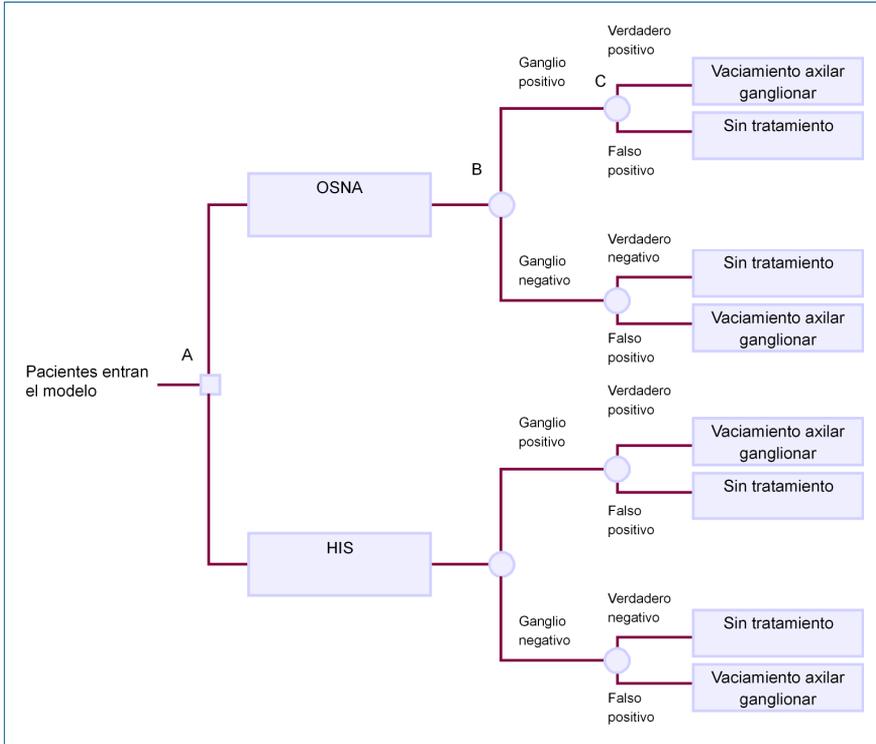
Las referencias localizadas se filtraron por título y resumen; posteriormente fueron seleccionadas a texto completo basándose en los criterios de selección antes definidos.

En el análisis coste-efectividad de la prueba OSNA se procedió a comparar este método de diagnóstico frente a la histopatología postoperatoria, utilizando para ello un análisis mediante árbol de decisión en el que se determinaban los potenciales beneficios del método intraoperatorio.

El árbol representa de forma esquemática las opciones de diagnóstico comparadas de forma que se considera que los pacientes que entran en el árbol de decisión (zona A) pueden ser asignados a histopatología o bien a OSNA. Una vez se les asigna una prueba diagnóstica, se analiza a cada paciente y el resultado de la prueba del análisis del ganglio centinela podía resultar positivo o negativo (zona B), pudiendo ser realmente positivo (o negativo) o falso positivo (o falso negativo) que se recoge en la zona C del gráfico. Los verdaderos positivos que exigen vaciamiento axilar ganglionar están determinados, pues, por la sensibilidad de la prueba, ya sea intraoperatoria o postoperatoria. Son dos, las posibles situaciones finales (“vaciamiento axilar” o “no requiere tratamiento”) que pueden darse en cada una de las cuatro ramas del árbol (OSNA con ganglio positivo o negativo, HIS con ganglio positivo o negativo), como quedan reflejadas en la Figura 1.

Los porcentajes de ganglios positivos, de rendimiento diagnóstico de cada prueba y de costes se tomaron de la literatura considerando los estudios incluidos en la presente revisión.

Figura 1. Esquema del modelo de evaluación



La medida de efectividad escogida fue la sensibilidad de la prueba basada en el porcentaje de ganglios positivos considerado y se calcularon las ratios de coste efectividad incrementales mediante la fórmula siguiente:

$$ICER = \frac{Coste_OSNA - Coste_HIS}{Eficacia_OSNA - Eficacia_HIS}$$

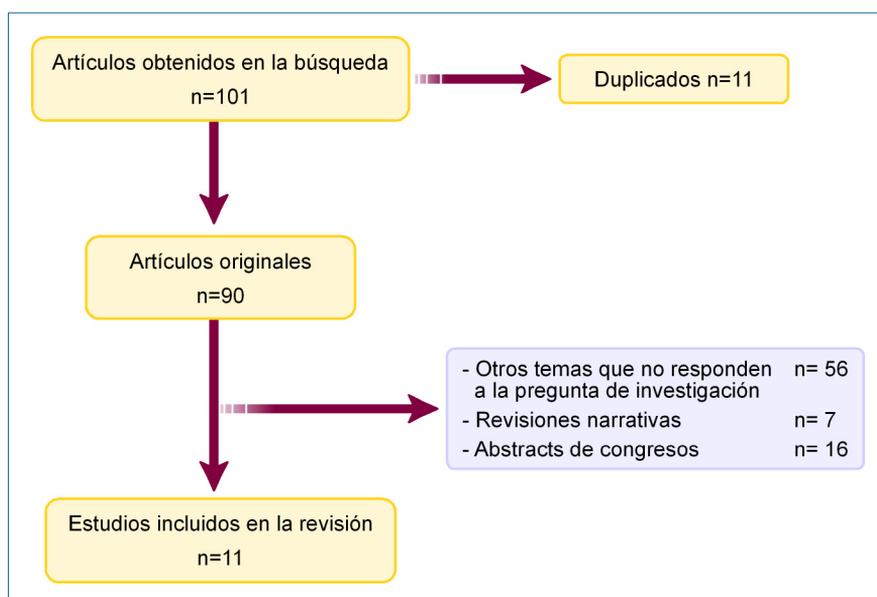
Se definió el caso base con los valores medios de eficacia y costes de ambas pruebas y se planteó la realización de análisis de sensibilidad determinísticos para crear distintos escenarios combinando los datos de costes de las pruebas, rendimiento diagnóstico y porcentaje de ganglios positivos.

Resultados

Eficacia

La estrategia de búsqueda realizada en las bases de datos MEDLINE y EMBASE identificó un total de 90 referencias diferentes una vez eliminadas las referencias duplicadas. Tras la lectura de título y resumen de las referencias identificadas, se excluyeron 79 por no cumplir los criterios de inclusión establecidos (Figura 2). Finalmente, se seleccionaron 11 referencias por aportar información relevante sobre el tema.

Figura 2. Diagrama de flujo de la selección de los artículos



Los 11 estudios incluidos en el informe valoraban la eficacia de la prueba intraoperatoria OSNA frente a la prueba inmuno-histopatológica postoperatoria, considerada hasta el momento como la prueba de referencia (*gold standard*) y frente a las pruebas intraoperatorias que se usan en la actualidad como son la citología por impronta celular del ganglio centinela y la tinción de secciones congeladas del mismo (Tabla 1).

Tabla 1. Estudios incluidos y comparadores utilizados en cada uno de ellos

Estudio	Finalidad	Comparador
Tsujimoto et al. 2007¹²	Validez analítica. Validez clínica (estudio multicéntrico).	Prueba histopatológica postoperatoria.
Visser et al. 2008¹³	Validez clínica.	Prueba histopatológica postoperatoria.
Schem et al. 2009¹⁴	Validez clínica.	Prueba histopatológica postoperatoria.
Tamaki et al. 2009¹⁵	Validez clínica (estudio multicéntrico).	Prueba histopatológica postoperatoria.
Feldman et al. 2011¹⁶	Validez clínica (estudio multicéntrico).	Prueba histopatológica postoperatoria y citología por impronta intraoperatoria.
Snook et al. 2011¹⁷	Validez clínica (estudio multicéntrico).	Prueba histopatológica postoperatoria.
Khaddage et al. 2011¹⁸	Validez clínica (estudio multicéntrico). Experiencia como uso rutinario.	Prueba histopatológica postoperatoria.
Bernet et al. 2011²	Validez clínica (estudio comparativo) y de impacto de las dos estrategias de diagnóstico en la decisión clínica o en el resultado en pacientes. Estudio a nivel de ganglios.	Prueba histopatológica intraoperatoria de secciones congeladas.
Bernet et al. 2011¹⁹	Validez clínica (estudio multicéntrico).	Prueba histopatológica intraoperatoria de secciones congeladas, citología por impronta e histopatología postoperatoria.
Choi et al. 2010²⁰	Validez clínica.	Pruebas histopatológicas intraoperatoria de secciones congeladas y postoperatoria.
Osako et al. 2011²¹	Validez clínica (estudio comparativo) y de impacto de las dos estrategias de diagnóstico en la decisión clínica o en el resultado en pacientes. Estudio a nivel de pacientes.	Prueba histopatológica intraoperatoria de secciones congeladas.

La valoración de la calidad de los estudios se ha recogido en la Tabla 2, donde se especifican las características de cada uno de ellos, que pudieran afectar a su validez interna. En los trabajos que valoraron la capacidad diagnóstica realizando las dos pruebas, OSNA e histopatología a las mismas muestras o pacientes para su posterior comparación de los resultados, el mayor problema fue el sesgo de muestreo; ya que no se puede realizar ambos análisis a la misma muestra. Los ganglios son divididos en secciones diferentes utilizando secciones alternantes para la prueba OSNA y las otras secciones para la histopatología y/o citología por impronta. Por consiguiente,

no es posible una comparación directa entre los resultados de las dos pruebas. De ahí, que el análisis de las discrepancias encontradas en cada estudio sea de gran importancia y los autores las hayan analizado de forma exhaustiva, intentando dilucidar o demostrar la existencia de sesgo de muestreo. De esta manera, los estudios de las muestras que presentaban resultados contradictorios entre la prueba OSNA y la prueba de referencia, se les realizaban otras pruebas moleculares para evaluar los resultados del OSNA. Estas otras pruebas eran generalmente estudios de Western Blot para la proteína CK-19 y estudios de qRT-PCR. Cuando todas las pruebas moleculares eran coincidentes se consideraba que la discrepancia entre el OSNA y la prueba referente se debía a sesgo de muestreo debido a la desigual distribución de la metástasis en la muestra. Los estudios estimaban los parámetros de capacidad diagnóstica antes y después de analizar los casos discordantes. Una vez dilucidados los casos de sesgo de muestreo, los estudios eliminaban esas muestras de la estimación, lo que en general aumentaba la sensibilidad de la prueba OSNA.

Tabla 2. Calidad de los estudios incluidos

Estudio	Puntos fuertes	Puntos débiles
<p>Tsujimoto et al. 2007¹²</p>	<p>Compara con la prueba de referencia adecuada, la histopatología postoperatoria. Describe brevemente las características clínicas de la población. El análisis histopatológico de cada ganglio es realizado por 3 patólogos. Los autores desglosan los resultados de los análisis de ganglios axilares, mostrando los datos correspondientes a los ganglios centinelas.</p>	<p>Validez analítica. No aportan datos sobre la reproducibilidad de los resultados, al no realizar varias medidas de cada amplificación para confirmar reproducibilidad de los resultados, no estiman el error estándar de la medida. No muestra la precisión de sus resultados al no dar los intervalos de confianza (IC). Validez clínica. Los evaluadores no están cegados. Los tres patólogos analizan el mismo ganglio pero diferentes secciones (sesgo muestra y sesgo de variabilidad interobservador). Aporta datos de concordancia entre las pruebas pero no los índices diagnósticos de sensibilidad y especificidad. al comentar que al tratarse de secciones diferentes de ganglio no se pueden comparar directamente los resultados. Análisis parcial de los casos discordantes, sólo analiza 3 de los 6 casos mediante Western Blot, no realizando otras pruebas adicionales como la QRT-PCR.</p>
<p>Visser et al. 2008¹³</p>	<p>Compara con la prueba de referencia adecuada, la histopatología postoperatoria. Describe brevemente las características clínicas de la población. Pruebas histopatológicas realizadas por 2 patólogos independientes con una evaluación cegada de sus resultados. Análisis de muestras discordantes por Western Blot y QRT-PCR.</p>	<p>No muestra la precisión de los índices diagnósticos estimados (sensibilidad y especificidad) al no dar los intervalos de confianza. Analizan un número elevado de ganglios pero el número de pacientes es pequeño, lo cual puede magnificar los resultados obtenidos.</p>

Tabla 2. Calidad de los estudios incluidos (continuación)

Estudio	Puntos fuertes	Puntos débiles
<p>Schem et al. 2009¹⁴</p>	<p>Compara con la prueba de referencia adecuada, la histopatología postoperatoria. Describe brevemente las características clínicas de la población. La evaluación de los resultados estuvo cegada. Para estimar la especificidad intentan controlar el sesgo de muestra, para ello realizan el análisis histológico más exhaustivo de los primeros 120 ganglios negativos. Análisis de muestras discordantes por Western Blot y QRT-PCR.</p>	<p>La especificidad es estimada considerando sólo 120 ganglios no los 343 que componen el estudio. El control de muestreo histológico de los 120 ganglios no evita el sesgo de muestreo del OSNA. La sección utilizada para el lisado del OSNA es diferente a la histológica. No aporta intervalos de confianza de los estimadores, por lo que se desconoce la precisión de los resultados. No hacen referencia al número de patólogos que intervienen en el análisis histopatológico. No recogen el espacio temporal de obtención de las muestras. El estudio podría tener conflicto de intereses, ya que fue financiado por Sysmex, fabricante de la prueba OSNA.</p>
<p>Tamaki et al. 2009¹⁵</p>	<p>Compara con la prueba de referencia adecuada, la histopatología postoperatoria. Presenta información de las características clínicas de los pacientes. Evaluación ciega de los resultados. Indica el flujo de pacientes justificando las pérdidas. Intentan controlar el sesgo de muestreo para dar datos más fiables de especificidad. Aporta la precisión de sus resultados dando los intervalos de confianza de las medidas de sensibilidad, especificidad y de concordancia entre la prueba OSNA y la de referencia.</p>	<p>A pesar de intentar controlar los problemas de muestreo, persiste el sesgo de muestra. El análisis histopatológico lo realizan 3 patólogos pero no evalúan la misma muestra, por lo que no hay realmente una evaluación por triplicado y puede haber sesgo de variabilidad interobservador. No detallan la metodología utilizada para el Western Blot y no realizan pruebas adicionales como QRT-PCR para los casos discordantes. La descripción de los casos discordantes es confusa en cuanto a los análisis histopatológicos, ya que mezclan resultados de tinción e inmuno-histoquímica. No distinguen entre micro y macrometástasis en la prueba OSNA, no pudiendo por lo tanto estimar la sensibilidad y especificidad de la prueba para micro y macrometástasis. La empresa Sysmex financió el estudio y contribuyó a la recogida de muestras y análisis de los datos. Algunos de los autores declaran tener conflicto de intereses con Sysmex.</p>

Tabla 2. Calidad de los estudios incluidos (continuación)		
Estudio	Puntos fuertes	Puntos débiles
Feldman et al. 2011 ¹⁶	<p>Estudio prospectivo que utiliza como comparador la prueba de referencia adecuada, la histopatología postoperatoria y la prueba intraoperatoria citología por impronta.</p> <p>Describe las características clínicas y demográficas de los pacientes incluidos en el estudio, detallando los resultados atendiendo a dicha descripción, aunque dicha población es muy heterogénea.</p> <p>Todas las muestras fueron enviadas a un laboratorio de referencia donde fueron evaluadas por al menos 2 patólogos independientes que fueron cegados respecto a los resultados histopatológicos del centro proveniente y de la prueba OSNA.</p> <p>Aporta la precisión de sus resultados dando los intervalos de confianza de las medidas de sensibilidad, especificidad, concordancia entre la prueba OSNA y la de referencia y entre la prueba OSNA y citología por impronta.</p> <p>Análisis de muestras discordantes por Western Blot y QRT-PCR.</p> <p>Estudio multicéntrico, incluye hospitales e instituciones académicas.</p>	<p>No recogen el espacio temporal de obtención de las muestras. Existe sesgo de muestreo, a pesar de los intentos de que éste desaparezca.</p> <p>No detallan la metodología utilizada para el Western Blot.</p> <p>No se muestra todos los resultados del análisis de los casos discordantes, ni se detalla dicho análisis cuando se compara la prueba OSNA frente a la citología por impronta.</p> <p>El estudio podría tener conflicto de intereses, ya que fue financiado por Sysmex America Inc.</p>
Snook et al. 2011 ¹⁷	<p>Estudio prospectivo que utiliza como comparador la prueba de referencia adecuada, la histopatología postoperatoria.</p> <p>El estudio tuvo una primera fase donde el equipo investigador se familiarizó con la técnica molecular.</p> <p>Análisis de muestras discordantes por Western Blot y QRT-PCR.</p> <p>Los patólogos fueron cegados con respecto a los resultados de la prueba OSNA.</p> <p>Describe las características histológicas de los ganglios y los relaciona con los pacientes incluidos en el estudio.</p> <p>Indica el flujo de pacientes y ganglios incluidos en el estudio.</p>	<p>No muestra la precisión de los índices diagnósticos estimados (sensibilidad y especificidad) al no dar los intervalos de confianza.</p> <p>No se especifica el número de patólogos que intervienen en el análisis histopatológico y si están cegados entre ellos.</p> <p>No recogen el espacio temporal de obtención de las muestras. Existe sesgo de muestreo, a pesar de los intentos de que éste desaparezca.</p> <p>No detallan la metodología utilizada para el Western Blot.</p>

Tabla 2. Calidad de los estudios incluidos (continuación)

Estudio	Puntos fuertes	Puntos débiles
<p>Khaddage et al. 2011¹⁸</p>	<p>Estudio prospectivo que utiliza como comparador la prueba de referencia adecuada, la histopatología postoperatoria.</p> <p>Presenta información de las características clínicas de los pacientes.</p> <p>Análisis de muestras discordantes por QRT-PCR.</p> <p>Se centran en la validez clínica de la prueba y posteriormente estudian su uso rutinario.</p> <p>Describe de forma precisa la metodología utilizada en el estudio de validez clínica y en el estudio de uso rutinario.</p> <p>Los investigadores estuvieron cegados en relación al resultado de ambas pruebas.</p> <p>Número reducido de ganglios centinelas en el estudio de validez clínica.</p> <p>Especifica los índices diagnósticos referente a los ganglios y a los pacientes.</p>	<p>No muestra la precisión de los índices diagnósticos estimados (sensibilidad y especificidad) al no dar los intervalos de confianza.</p> <p>No utiliza Western Blot para el análisis de casos discordantes.</p> <p>Existe sesgo de muestreo, a pesar de los intentos de que éste desaparezca.</p> <p>Se desconoce el número de patólogos que evaluaron la histopatología.</p> <p>No comenta el número de ganglios analizados en el uso rutinario de la prueba OSNA.</p> <p>El estudio podría tener conflicto de intereses, ya que fue financiado por Sysmex, fabricante de la prueba OSNA.</p>

Tabla 2. Calidad de los estudios incluidos (continuación)		
Estudio	Puntos fuertes	Puntos débiles
Bernet et al. 2011 ¹⁹	<p>Para el análisis de los casos discordantes se utilizó Western Blot, QRT-PCR e inmunohistoquímica.</p> <p>Define y especifica tres tipos diferentes de concordancia.</p>	<p>Compara con la prueba histopatológica, que en este estudio engloba citología o tinción fragmentos congelados con H-E, histopatología post-operatoria e inmunohistoquímica, por lo que no queda claro el comparador utilizado, ni qué técnica utiliza con cada ganglio.</p> <p>No muestra los valores de los índices diagnósticos, ni la precisión de éstos.</p> <p>Se desconoce el número de patólogos que intervienen en el análisis histopatológico, si son los mismos y si éstos están cegados.</p> <p>Existe sesgo de muestreo.</p> <p>En la QRT-PCR del análisis de los casos discordantes, sólo utiliza el marcador CK19.</p> <p>Detalla de forma muy somera las características de los ganglios incluidos en el estudio.</p> <p>No detalla la metodología utilizada para el Western Blot.</p> <p>No recoge el espacio temporal de obtención de las muestras.</p>
Choi et al. 2010 ²⁰	<p>Compara con histopatología intra y postoperatoria.</p> <p>Se muestran los resultados de los índices diagnósticos y sus intervalos de confianza en función de los pacientes incluidos en el estudio y no en función de los ganglios analizados.</p> <p>Define las características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.</p> <p>Los casos discordantes se analizaron mediante la información clínica, el estado de los ganglios axilares e inmunohistoquímica.</p> <p>Recoge el espacio temporal de la inclusión de los pacientes.</p>	<p>No se utilizó Western Blot ni QRT-PCR para el análisis de los casos discordantes.</p> <p>Se desconoce el número de patólogos que intervienen en el análisis histopatológico, si son los mismos y si éstos están cegados.</p> <p>Existe sesgo de muestreo.</p> <p>No muestra los resultados del análisis de los ganglios.</p> <p>El estudio podría tener conflicto de intereses, ya que fue financiado por Sysmex, fabricante de la prueba OSNA.</p>

Tabla 2. Calidad de los estudios incluidos (continuación)

Estudio	Puntos fuertes	Puntos débiles
<p>Bernet et al. 2011²</p>	<p>Compara con la prueba histopatológica intraoperatoria de secciones congeladas. Se utiliza el mismo protocolo y el mismo equipo de patólogos.</p>	<p>Estudio de ganglios con 2 brazos que pretende comparar la prueba OSNA con la prueba intraoperatoria de secciones congeladas. No existe aleatorización de los pacientes, no describe las características basales de la población reclutada. No menciona el número de pacientes incluidos en cada brazo del estudio. Un brazo de estudio es retrospectivo, mientras que el otro es prospectivo, por lo que del diseño metodológico del estudio no se pueden obtener conclusiones definitivas. No aporta la precisión de los resultados, recogiendo el intervalo de confianza.</p>
<p>Osako et al. 2011²¹</p>	<p>2 cohortes de pacientes diferentes en las que se compara la técnica OSNA con la prueba histopatológica intraoperatoria de secciones congeladas. Define claramente los criterios de exclusión de pacientes. Define las características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio. Se centra sólo en pacientes y no en ganglios. Cohortes con número elevado de pacientes. No existen diferencias en cuanto a las características de los pacientes incluidos en las cohortes. Aporta la precisión de los resultados, recogiendo el intervalo de confianza.</p>	<p>Se desconoce el número de patólogos que intervienen en el análisis de los ganglios y si están cegados entre ellos.</p>

Los 11 estudios muestran una alta concordancia entre la prueba OSNA y la prueba de referencia (rango encontrado 91,7%-98,2%), aunque ésta aumenta tras el análisis de los casos discordantes. Las discrepancias encontradas fueron analizadas fundamentalmente mediante pruebas moleculares adicionales (QRT-PCR y Western Blot) realizadas a los lisados utilizados para el OSNA con el objetivo de confirmar los resultados obtenidos por el OSNA.

El estudio de Tsujimoto *et al.* 2007¹² identificó 6 muestras discordantes entre la prueba OSNA y las pruebas inmuno-histopatológicas, detectándose 4 falsos positivos (con OSNA positiva e inmuno-histopatológica negativa) y 2 falsos negativos (con OSNA negativa e inmuno-histopatológica positiva). Estas discordancias fueron estudiadas mediante Western Blot para comprobar la presencia de proteína CK19 en los lisados utilizados en la amplificación. Estos estudios adicionales confirmaban los datos obtenidos por OSNA en sólo 3 casos; los otros 3 no fueron analizados. Estas discordancias podrían deberse a sesgos de muestreo. De igual modo, encontraron 6 casos donde la clasificación según la prueba OSNA no concordaba con la clasificación inmuno-histopatológica (OSNA detectaba micrometástasis y la inmuno-histopatológica detectaba macrometástasis).

El estudio de Visser *et al.* 2008¹³ encontró 18 muestras discordantes entre los resultados de la prueba molecular OSNA y la prueba de referencia. Se analizaron mediante Western Blot y QRT-PCR con los marcadores CK19, FOXA1 y SPDEF para determinar la causa de la discrepancia. Cuando alguna de estas otras pruebas moleculares confirmaban los resultados de OSNA los autores consideraron que había un sesgo de muestreo y que las células tumorales estaban presentes sólo en las secciones de una de las dos pruebas. De esta manera, estimaron que 7 de los 18 casos serían debidos a problemas de muestreo y el resto los consideraron discrepancias reales; pero si sólo se considerara el Western Blot (detección de proteína CK19 en el lisado) como prueba confirmatoria únicamente 5 de las 18 discrepancias podrían explicarse como verdaderos problemas de muestreo.

Schem *et al.* 2009¹⁴ encontraron 28 muestras discordantes que fueron analizadas siguiendo la misma metodología que Visser *et al.* 2009¹³; 13 discrepancias podrían deberse a problemas de muestreo y las restantes 15 podrían considerarse como verdaderas discordancias. Si sólo se tiene en consideración los resultados del Western Blot (detección de proteína CK19 en el lisado) únicamente 10 de las discrepancias podrían explicarse por problemas de muestreo. Este estudio aporta información sobre pacientes. Algunas de las 28 discrepancias correspondían a un mismo paciente, en concreto, 10 de las mismas provenían de 4 pacientes.

Estudiando estos 4 pacientes (histopatología negativa y OSNA positivo) se observaba que las muestras coincidían en los resultados de pruebas moleculares adicionales (QRT-PCR y Western Blot) con la histopatología, en un único paciente, sugiriendo por tanto, un verdadero falso positivo. Los otros tres pacientes presentaban resultados diferentes en las muestras analizadas, sugiriendo en algunos casos errores de muestreo y en otras, verdaderas discrepancias dentro del mismo paciente.

Tamaki *et al.* 2009¹⁵, realizaron dos ensayos clínicos:

- 1) para determinar la especificidad de la prueba OSNA comparándola con la prueba de referencia (inmuno-histopatológica).
- 2) para estimar la concordancia entre dichas pruebas.

Para ello, en el ensayo 1 dividieron el ganglio en 4 secciones (a, b, c y d), las secciones a y c se utilizaron para el lisado de la prueba OSNA y las secciones b y d fueron analizadas completamente con H-E e inmunohistoquímica. Por el contrario, en el ensayo 2 las secciones a y c fueron utilizadas de la misma manera que en el 1 pero las secciones c y d se analizaron sólo en su superficie. De esta manera, con el ensayo 1 estimaron la especificidad de la técnica molecular al hacer un estudio histológico más exhaustivo, mientras que la sensibilidad y concordancia entre técnicas la estimaron en el ensayo 2, donde el estudio histológico realizado, se asemejaba a la realidad.

En el ensayo 2 se obtuvieron 32 casos donde existían discrepancias entre técnica molecular OSNA y la prueba de referencia. De estos 32 casos, 10 presuntos falsos negativos (OSNA negativo–histopatología positiva) y 22 presuntos falsos positivos (OSNA positivo–histopatología negativa). El análisis de Western Blot para averiguar la causa de la discrepancias, mostró que de los 10 falsos negativos, 6 presentaban proteína en el lisado lo que indicaba discrepancias entre las pruebas moleculares, mientras que los otros 4 presentaban unanimidad en los resultados moleculares (no se detectaba proteína en los lisados), por lo que estos últimos 4 casos podrían considerarse como posibles sesgos de muestreo. En los 22 presuntos falsos positivos, 15 presentaban discrepancias entre las pruebas moleculares (no detectaban proteína y el OSNA daba positivo) y los otros 7 coincidían los resultados de las pruebas moleculares por lo que estos últimos podrían asociarse a problemas de muestreo.

Feldman *et al.* 2011¹⁶ identificaron 71 casos discordantes entre la prueba OSNA y la histopatología. De los 71 casos, 31 fueron presuntos falsos negativos (OSNA negativo-histopatología positivo) y 38 presuntos falsos positivos (OSNA positivo-histopatología negativo) y 2 casos en los que se modificó la evaluación histopatológica. El análisis de los casos discordantes se llevó a cabo mediante Western Blot y QRT-PCR con los marcadores CK19, FOXA1 y SPDEF permitió resolver 28 de estos casos (39,4%),

quedando sin resolver 43 casos (60,5%). De los 28 casos resueltos por el análisis de los casos discordantes, 19 se debieron al sesgo de muestreo, mientras que los otros 9 casos el estudio los explica como confusiones en el emplazamiento de la muestra y cambios en los resultados de la histopatología. Entre los casos resueltos por sesgo de muestreo, hay que destacar 9 casos en los que el OSNA detectó macrometástasis y la histopatología fue negativa, dando positivo en las pruebas del análisis posterior. De los 29 casos donde OSNA detectó micrometástasis e histopatología resultó negativa, 9 se consideraron problemas de muestreo, aunque el estudio no detalla los resultados del análisis posterior. Finalmente, cabe destacar que entre los 31 posibles falsos negativos, había 9 casos en los que la histopatología detectó macrometástasis y el OSNA fue negativo, y sólo 1 caso se asoció a problemas de muestreo, considerándose los 8 casos restantes como verdaderos falsos negativos. Además, en este estudio se hace un análisis detallado de los carcinomas lobulares (84 ganglios, 40 pacientes), mostrando los resultados de concordancia y de los índices diagnósticos (IC 95%: Concordancia 96,4% (89,9-99,3), sensibilidad 88,2% (63,6-98,5) y especificidad 98,5 (92,0-100,0)).

Feldman *et al.* 2011¹⁶ también utilizaron la prueba intraoperatoria citología por impronta, cuyos resultados se compararon frente a los de las pruebas OSNA e histopatología. Para ello, analizaron 532 ganglios centinelas correspondientes a 272 pacientes. En este punto, el estudio no muestra el análisis pormenorizado de los casos discordantes. En la Tabla 3, se muestran los valores de los índices diagnósticos de ambas pruebas intraoperatorias comparados con la histopatología.

Tabla 3. Valores de los índices diagnósticos (%) de las pruebas OSNA y citología por impronta (IC 95%) en el estudio de Feldman *et al.* 2011¹⁶, en relación con la prueba de referencia

Concordancia			Sensibilidad			Especificidad		
OSNA	Citología	P	OSNA	Citología	P	OSNA	Citología	P
93,4* (91,0-95,4)	93,8* (91,4-95,7)	NS NS	80,2* (69,9-88,3)	63,0* (51,5-73,4)	0,0229 0,018	95,8* (93,5-97,4)	99,3* (98,1-99,9)	0,007 0,324
95,8 § (93,7-97,3)			85,5 § (75,6-92,6)			97,5 § (95,6-98,8)		

* Antes del análisis de los casos discordantes.

§ Después del análisis de los casos discordantes.

NS: Sin diferencias estadísticamente significativas.

Entre paréntesis se muestran los valores del intervalo de confianza al 95%.

Snook *et al.* 2011¹⁷ localizaron 33 casos discordantes entre la prueba OSNA y la histopatología, que posteriormente analizaron mediante Western Blot y QRT-PCR utilizando los marcadores CK19, SPDEF y FOXA, usando el marcador beta-actina como control positivo. Los autores identificaron 21 presuntos falsos positivos (OSNA positivo-histopatología negativo) y 12 presuntos falsos negativos (OSNA negativo-histopatología positivo). En el análisis de los casos discordantes, los autores consideraron que si cualquier prueba apoyaba el resultado de la prueba OSNA se consideraba sesgo de muestreo. Tras el análisis de estos casos, los autores localizaron 17 casos de problemas de muestreo (4,1%), por lo que solamente 16 casos se consideraron como verdaderas discrepancias: 10 falsos positivos y 6 falsos negativos. Los autores aportaron información de los índices diagnósticos sobre pacientes y no sólo sobre ganglios (concordancia 93,4%, sensibilidad 89,8% y especificidad 94,5%).

Khaddage *et al.* 2011¹⁸ realizaron dos estudios. En el primero, se centraron en el estudio de la validez clínica de la prueba OSNA, para ello utilizaron 80 ganglios centinelas de 46 pacientes que fueron estudiados por histopatología a 5 niveles. En el segundo estudio se realizó la prueba OSNA de forma rutinaria, tal y como se realizaría en su implementación lo que supone un análisis histopatológico a un solo nivel. En este segundo estudio participaron 197 pacientes, no especificándose el número de ganglios que se analizaron.

En el estudio de validez clínica se localizaron 3 casos discordantes, 2 posibles falsos negativos (OSNA negativo-histopatología positivo) y 1 presunto falso positivo (OSNA positivo-histopatología negativo). Tras el posterior análisis de los casos discordantes por QRT-PCR, utilizando los marcadores CK19, FOXA1 y SPDEF, los autores concluyeron que los posibles falsos negativos se debieron a errores de muestreo y que el presunto falso positivo era una verdadera discrepancia. Estas tres muestras discrepantes se traducen a nivel de pacientes en una única discrepancia entre el OSNA y la histopatología, la prueba OSNA fue positiva y la histopatología negativa. Después del análisis de los casos discordantes, existen pocas diferencias entre los valores de los índices diagnósticos de la prueba OSNA por ganglios frente a por pacientes. Además, los autores aportaron información de los índices diagnósticos sobre pacientes antes y después del análisis de los casos discordantes. Después de dicho análisis los resultados fueron: concordancia 97,7%, sensibilidad 100% y especificidad 97,2%.

En el segundo estudio, los valores de los índices diagnósticos a nivel de pacientes fueron: concordancia 91,4%, sensibilidad 100% y especificidad 90,1%. En este estudio hubo implicación de ganglios no centinelas siendo del 54% para macrometástasis y del 10,3% para micrometástasis.

Bernet *et al.* 2011¹⁹ incluyeron 181 ganglios centinelas en el estudio. Los autores mostraron los resultados conforme a 3 niveles de concordancia entre la prueba OSNA y la histopatología.

Nivel I: Existe concordancia cualitativa y cuantitativa. Aquellos casos en los que se obtienen por ambos métodos el mismo diagnóstico y la misma clasificación TNM.

Nivel II: Existe concordancia cualitativa, pero no cuantitativa. Aquellos casos en los que existe el mismo diagnóstico en términos de presencia/ausencia de células tumorales, pero difieren en el tamaño del tumor.

Nivel III: Existe discordancia. Aquellos casos en los que el diagnóstico difiere cualitativamente.

Los autores observaron 168 casos (92,8%) de concordancia de nivel I, de los cuales 138 (76,2%) fueron negativos para metástasis y 30 (16,5%) fueron positivos. De los positivos, 25 casos (13,8%) fueron macrometástasis y 5 (2,7%) micrometástasis. 3 casos (1,6%) mostraron concordancia de nivel II y 10 casos (5,5%) mostraron concordancia de nivel III, que son los casos discordantes que se analizaron posteriormente mediante Western Blot y QRT-PCR con el marcador CK19. De los 10 casos discordantes, 4 fueron presuntos falsos negativos (OSNA negativo-histopatología positivo) y 6 fueron supuestos falsos positivos (OSNA positivo-histopatología negativo). Después del análisis de los casos discordantes, los autores observaron 9 casos de sesgo de muestreo y un auténtico falso positivo.

Bernet *et al.* 2011² diseñaron un estudio con 2 brazos, uno en el que se analizaron 478 ganglios mediante histología intraoperatoria de secciones congeladas y otro grupo en el que se analizaron 211 ganglios completos mediante la prueba OSNA. No es un estudio de capacidad de diagnóstico clásico, al no realizar las dos pruebas a comparar al mismo paciente. El análisis histológico localizó 116 (24,2%) casos positivos y 362 (75,7%) casos negativos para metástasis. De los 116 ganglios positivos, 75 (64,6%) fueron macrometástasis, 28 (24,1%) micrometástasis y 13 (11,2%) células tumorales aisladas. La prueba OSNA detectó 173 (81,9%) ganglios negativos y 38 (18%) ganglios positivos, de los cuales, 13 (34,2%) fueron macrometástasis, 18 (47,3%) micrometástasis y 7 (18,4%) células tumorales aisladas. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los dos métodos para la detección de ganglios positivos/negativos ($P=0,28$). Sin embargo, sí hubo diferencias estadísticamente significativas a favor de la prueba OSNA para la detección de micrometástasis y células tumorales aisladas ($P=0,0001$). No obstante, estos resultados deben recogerse con precaución, ya que aunque los pacientes sean de la misma área geográfica con tumores similares en cuanto al tamaño y grado, y el mismo estado

clínico axilar, el estudio incluye importantes sesgos resultantes de la comparación de 2 grupos de estudio diferentes.

En el estudio de Choi *et al.* 2010²⁰ se analizaron 286 ganglios pertenecientes a 199 pacientes. El objetivo del estudio fue comparar la prueba OSNA frente a las pruebas histopatológicas. En este estudio, los ganglios fueron analizados por la histopatología intraoperatoria por secciones congeladas y por la histopatología postoperatoria, considerada el patrón de referencia, que englobaba la tinción con H-E e inmunohistoquímica. Los casos de micro y macrometástasis fueron confirmados por uno o ambos métodos histopatológicos.

El estudio muestra los resultados en función de los pacientes y no de los ganglios analizados, mostrando una concordancia del 93% (185/199; IC 95% 0,88-0,96), una sensibilidad de 77,8% (28/34; IC 95% 0,61-0,90) y una especificidad de 96,3% (157/163; IC 95% 0,92-0,99). Los autores localizaron 14 casos discordantes (14/199, 7,03%), 6 presuntos falsos positivos (OSNA positivo-histopatología negativo) y 8 supuestos falsos negativos (OSNA negativo-histopatología positivo). Estos casos fueron analizados mediante la información clínica de los pacientes, el estado de los ganglios axilares y de la evaluación de la expresión de la proteína CK19 en los focos metastásicos de los ganglios linfáticos mediante inmunohistoquímica. Los autores explican que la mayoría de las discordancias son debidas a sesgos de muestreos y a la incapacidad de la prueba OSNA de detectar metástasis en cánceres de mama con baja expresión de CK19.

Osako *et al.* 2011²¹ compararon el método intraoperatorio de histología de secciones congeladas con la prueba OSNA para la detección de metástasis en 2 cohortes de pacientes de 618 y 531 pacientes, respectivamente. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las características clínicas de los pacientes incluidos en ambas cohortes. La prueba OSNA detectó mayor número de metástasis en general que la histología por secciones congeladas (SC) (OSNA 121 de 531: 22,8%; IC 95%: 19,3%-26,6% / SC 109 de 618: 17,6%; IC 95%: 14,8%-20,9%; $p=0,036$). También hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos en la detección de micrometástasis (OSNA 46 de 531: 8,7%; IC 95%: 6,5%-11,5% / SC 28 de 618: 4,5%; IC 95%: 3,1%-6,6%; $p=0,0064$). Sin embargo, no hubo diferencias a la hora de la detección de macrometástasis.

Cuando se comparó la capacidad de detección de metástasis de cada método en relación con las características de los pacientes, los principales resultados fueron que la prueba OSNA fue capaz de detectar más ganglios positivos en pacientes mayores de 40 años, pacientes postmenopáusicas, de tumores sin invasión de grasa y sin invasión linfovascular.

En la Tabla 4, se muestran los datos sobre las discrepancias encontradas entre los ganglios analizados en los diferentes estudios, los datos proporcionados en los mismos y los que se obtendrían al eliminar posibles sesgos de muestra.

Tabla 4. Discordancias entre OSNA y pruebas inmuno-histopatológicas en muestras de ganglios

Estudio	Proporción de casos discordantes % (N)	Proporción no explicada por muestreo % (N)	Proporción de falsos positivos % (N)	Proporción de falsos negativos % (N)
Tsujimoto <i>et al.</i> 2007 ¹²	1,8% (6/325)	50% (3/6) [†]	1,5% (4/267)*	4,4% (2/45)*
Visser <i>et al.</i> 2008 ¹³	5,2% (18/346)	72,2% (13/18)	5,4% (15/279)* 3,64% (10/274)	4,7% (3/64)* 4,7% (3/64)
Schem <i>et al.</i> 2009 ¹⁴	8,2% (28/343)	64,3% (18/28)	11% (26/237)* 7,86% (18/229)	1,9% (2/106)* 0% (0/104)
Tamaki <i>et al.</i> 2009 ^{†15}	7,1% (32/450)	65,6%(21/32)	5,9% (22/370)* 4,13% (15/363)	12,5% (10/80)* 7,9% (6/76)
Feldman <i>et al.</i> 2011 ¹⁶	6,6% (69/1044)•	72,4% (50/69)	4,2% (38/906)* 2,25% (20/888)	22,4% (31/138)* 21,9% (30/137)
Snook <i>et al.</i> 2011 ¹⁷	8% (33/412)	48,5% (16/33)	6,5% (21/323)* 3,2% (10/312)	16,6% (12/72)* 9,09% (6/66)
Khaddage <i>et al.</i> 2011 ¹⁸	3,75% (3/80)	33,3% (1/3)	1,6% (1/63)* 1,6% (1/63)	11,7% (2/17)* 0% (0/15)
Bernet <i>et al.</i> 2011 ¹⁹	5,52% (10/181)	10% (1/10)	4,1% (6/144)* 0,71% (1/139)	10,8% (4/37)* 0% (0/33)

† Solo se analizan 3 de las 6 discrepancias. Se desconoce si las otras 3 son errores de muestreo o no.

* Posibles sesgos de muestreo. **En negrita** se indican los datos estimados de falsos positivos y negativos una vez eliminados los posibles sesgos de muestreo (verdaderas discrepancias).

†† Ensayo clínico 2.

• Sin tener en cuenta los 2 cambios de la evaluación histopatológica.

Los resultados de los estudios en cuanto a los índices de calidad de la prueba diagnóstica OSNA vienen resumidos en la Tabla 5.

Tabla 5. Resumen de los resultados de la prueba molecular OSNA para la detección de metástasis en ganglios axilares en pacientes con cáncer de mama

Estudio	n	n ganglios	Comparación	Concordancia	Sensibilidad	Especificidad
Tsujimoto et al. 2007 ¹²	101	325	histopatología a 3 niveles	98,2% SLN 96,3%	Total 95,5% ++ 85%(34/40) + 60%(3/5)	98,5%
Visser et al. 2008 ¹³	32	346	histopatología a 5 niveles	94,8%	Total 95,3% ++94,3%(50/53) + 45,4%(5/11)	94,6%
Schem et al. 2009 ¹⁴	93	343	histopatología a 5 niveles	91,7%	Total 98,1% ++92,7%(90/97) + 0%(0/9)	89,0%
Tamaki et al. 2009 ¹⁵	34 [†] 164 ^{††}	124 450	histopatología a 3 niveles	92,9% (IC 95% 90,1-95,1%) ^{††}	95,0% (IC 95% 75,1-99,9%) [†] 87,5% (IC 95% 78,3-93,8%) ^{††}	97,1% (IC 95% 91,8-99,4%) [†] 94,1% (IC 95% 91,0-96,3%) ^{††}
Feldman et al. 2011 ¹⁶	496	1044	histopatología a 3 niveles	93,4% (95% IC 91,7-94,8)* 95,8% [§]	77,5% (IC 95% 69,7-84,2)* 82,7% [§] ++81% (77/95)* + 27,9%(12/43)*	95,8% (IC 95% 94,3-97)* 97,7% [§]
Snook et al. 2011 ¹⁷	203	412	histopatología a 5 niveles	92%* 96% [§]	84,6%* 91,7% [§] ++98% (48/49) [§] + 33,3% (9/27) [§]	93,7%* 96,9% [§]
Khaddage et al. 2011 ¹⁸	46	80	histopatología a 5 niveles	96,3%* 98,7% [§]	88,2%* 100% [§] ++84,6%(11/13) [§] +0% (0/3) [§]	98,4%* 98,4% [§]
Bernet et al. 2011 ¹⁹	-	181	histopatología a 1 nivel	94,5%* 99,45 [§]	89,2%* 100% [§] ++100%(32/32) [§] + 100%(10/10) [§]	95,8%* 99,3% [§]

SLN (*sentinel lymph node*); ++ macrometástasis; + micrometástasis; † ensayo 1; †† ensayo 2;
* antes del análisis de los casos discordantes; § después del análisis de los casos discordantes.

A continuación, en la Tabla 6 se pueden observar los valores de los índices de la prueba molecular OSNA en relación con los pacientes analizados en los estudios.

Tabla 6. Resultados de la prueba molecular OSNA para la detección de metástasis en pacientes con cáncer de mama

Estudio	n	Concordancia	Sensibilidad	Especificidad
Snook <i>et al.</i> 2011 ¹⁷	194	93,4% [§]	89,8% [§]	94,5% [§]
Khaddage <i>et al.</i> 2011 ¹⁸	46	93,5%* 97,7% [§]	80,0%* 100% [§]	97,2%* 97,2% [§]
Choi <i>et al.</i> 2010 ²⁰	199	93%* (0,88-0,96)	77,8%* (0,61-0,90)	96,3%* (0,92-0,99)

* Antes del análisis de los casos discordantes; § Después del análisis de los casos discordantes; Entre paréntesis se muestran los valores del intervalo de confianza al 95%.

En algunos de los estudios localizados^{16,17,19,20,21} se midió el tiempo en la realización de la prueba OSNA como una de las variables de resultado. Sin embargo, en cada caso los autores de cada estudio especifican la acepción de tiempo que han utilizado como resultado.

Feldman *et al.* 2011¹⁶ definieron el tiempo de respuesta desde la homogenización de los ganglios hasta la obtención del resultado. Para este resultado utilizó 187 ganglios de 92 pacientes. La media intercuartílica para 1, 2 y 3 ganglios fue de 33, 39,6 y 45,2 minutos respectivamente.

Snook *et al.* 2011¹⁷ midieron el tiempo desde el principio de la preparación del ganglio hasta el final del análisis por la prueba OSNA para 193 pacientes. El tiempo medio fue de 32 (22-97) minutos para 1 ganglio, 42 (30-73) minutos para 2 ganglios, 51 (38-73) para 3 ganglios y 62 (46-90) minutos para 4 ganglios.

Bernet *et al.* 2011¹⁹ midieron el tiempo transcurrido desde la recepción del ganglio hasta la obtención del informe intraoperatorio en 55 ganglios. Este estudio se dividió en 3 fases, en la última de ella en la que se analizaron 29 ganglios, se redujo dicho tiempo a una media de 31 (23-35) minutos. No obstante, la duración media del prueba OSNA de este estudio (55 ganglios) fue de 39,6 (26-70) minutos.

Choi *et al.* 2010²⁰ definieron el tiempo de respuesta como el tiempo que transcurre desde la homogenización y la obtención del resultado. La media de tiempo para los 199 pacientes fue de 39 minutos, siendo 35,2 minutos para pacientes con 1 ganglio, 44,8 minutos con 2 ganglios, 50,4 minutos con 3 ganglios y 50 minutos con 4 ganglios.

Osako *et al.* 2011²¹ definieron el tiempo de respuesta como el tiempo transcurrido desde la llegada del ganglio al laboratorio hasta la obtención del resultado. La mediana y la media del tiempo de respuesta de la prueba OSNA en la evaluación de 461 pacientes fueron de 41 y 43 minutos, respectivamente.

Eficiencia económica

Con las estrategias de búsqueda utilizadas se obtuvieron tan sólo 2 referencias en EMBASE (Nizar *et al.* 2010²² y Nishimura *et al.* 2009²³), 1 en MEDLINE (Guillén-Paredes *et al.* 2011⁶) y un informe de evaluación de tecnologías sanitarias²⁴. Finalmente sólo un trabajo cumplió los criterios de inclusión y ha sido incorporado a la revisión.

Se trata del trabajo de Guillén-Paredes *et al.* 2011 donde los autores analizaron la eficiencia económica de análisis del ganglio centinela según el método OSNA frente al estudio histopatológico postoperatorio diferido (biopsia el ganglio centinela, BSGC) mediante el análisis de los costes económicos de la aplicación intraoperatoria del método OSNA en comparación con el estudio histológico e inmunohistoquímico convencional diferido, llevado a cabo en un hospital español.

El análisis económico se realizó de forma retrospectiva con los dos grupos comparados:

- Grupo 1 pacientes tratadas con Biopsias del Ganglio Centinela (BSGC) intervenidas entre el 15 octubre 2008 y el 14 de mayo 2009, 45 pacientes fueron incluidas.
- Grupo 2 tratadas con OSNA intervenidas entre el 15 de mayo y el 15 de diciembre de 2009, se incluyeron 35 pacientes.

Ambos grupos fueron comparables en todas la variables (tamaño tumoral, tipo histológico, número de ganglios centinelas y resultados de la BSGC), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas excepto en la edad, mayor en el grupo 1 frente al grupo 2 (61,89 vs. 55,54 años de media).

Los costes considerados, obtenidos del departamento de contabilidad analítica del hospital fueron:

1. Coste medio de un día de estancia hospitalaria en la planta del servicio Cirugía General y Digestivo: 133,29 €/día.
2. El coste por minuto de intervención (incluyendo sala de operaciones, instrumental habitual, personal de enfermería, auxiliares, celadores, 2 cirujanos y un anestésista) considerado fue de 9,3 €/min.
3. El análisis de un ganglio centinela, según la técnica convencional se consideró con el mismo coste en los dos grupos: 235 €/ganglio.
4. El coste del análisis del ganglio centinela mediante la técnica OSNA fue de 190€ para 4 muestras.

Los resultados más relevantes fueron que la estancia media hospitalaria fue de 2,44 días para el grupo 1 (sumando la primera y la segunda intervención cuando fue necesaria) frente a 1,54 días en el grupo 2

(OSNA) siendo estadísticamente significativa la diferencia ($p < 0,001$). Los costes globales medios por paciente de ambas intervenciones fueron de 1.425 € en el grupo 1 y de 1.012,58 € en el grupo 2. En la tabla 7 se desglosan cada uno de los costes considerados.

Tabla 7. Resultados de Guillén-Paredes et al. 2011⁶

Costes medios	Grupo 1 BSGC	Grupo 2 OSNA	Diferencia
Estancia hospitalaria	325,22 €	205,53 €	-119,69
Quirófano	774,54 €	617,05 €	-157,49
Laboratorio	352,5 €	190 €	-162,50
TOTAL	1.452,25 €	1.012,58 €	-439,67

Se afirmaba que, dadas las elevadas sensibilidad y especificidad del método OSNA (95,3% y 94,7% respectivamente), la rapidez y los costes, puede concluirse que el análisis intraoperatorio de ganglio centinela mediante el método OSNA supuso un ahorro de costes significativo frente al estudio convencional, que permite en el mismo acto operatorio la cirugía axilar en caso necesario evitando una segunda intervención para linfadenectomía, y por tanto, con disminución de tiempo de intervención quirúrgica así como disminución de la estancia media hospitalaria.

Aunque los autores afirmaron en la metodología y en el título que realizan un análisis coste-beneficio, realmente este trabajo es un análisis comparativo de costes. No se indicó la perspectiva de análisis, aunque puede afirmarse que el estudio se realiza desde la perspectiva del sistema de salud, considerando únicamente los costes directos sanitarios y, por tanto, no se consideraron costes indirectos ni pérdidas de productividad. En ningún momento se valoran económicamente las consecuencias clínicas más allá del coste de estancia hospitalaria, es decir, la parte de beneficios del pretendido análisis coste-beneficio, por ello este trabajo no puede considerarse una evaluación económica completa, ni por ende, un análisis coste-beneficio. No se presentaron valoraciones económicas de las complicaciones asociadas a las intervenciones en cada grupo o las consecuencias a más largo plazo. Al tratarse de un análisis a corto plazo no requirió la aplicación de una tasa de descuento. No se realizó análisis de sensibilidad determinístico ni probabilístico.

Análisis económico propio

En el análisis coste efectividad realizado, los datos de costes de cada opción fueron extraídos del estudio de Guillén Paredes *et al.* 2011⁶, único estudio localizado y válido por realizarse en el entorno del Sistema Nacional de Salud de España que se resumen en la tabla 8. Para introducir una posible variabilidad que pueda ajustar el análisis a distintos centros se consideró una variación de hasta un $\pm 20\%$ de coste de las pruebas, estableciéndose un coste mínimo y máximo de ambas pruebas.

Tabla 8. Costes considerados en el modelo			
	Media*	Mínimo	Máximo
OSNA - Hospitalización - Intervención y análisis	1.012,58 € 205,53 € 807,05 €	810,06 €	1.215,5 €
Histopatología (HIS) - Hospitalización - Intervención y análisis	1.452,22 € 325,22 € 1.127,04 €	1.161,78 €	1.742,66 €

* Tomado de Guillén-Paredes *et al.* 2011⁶.

La información considerada en el modelo sobre porcentaje de ganglios positivos (Tabla 9) se ha tomado de un estudio realizado por la Universidad de York para la prueba GeneSearchTM como método de diagnóstico alternativo (Cutress *et al.* 2010²⁵).

Tabla 9. Porcentaje de ganglios positivos			
	Media	Mínimo	Máximo
Ganglios positivos	28%	26%	32%

Tomado de Cutress *et al.* 2010²⁵.

Los datos de rendimiento diagnóstico fueron extraídos de aquellos artículos de la presente revisión sistemática que comparaban el análisis molecular intraoperatorio del ganglio centinela mediante OSNA con respecto a la prueba histopatológica a 5 niveles^{13,14,17,18} (Tabla 10), de forma que se ha creado un rango de valores posibles que puede tomar la sensibilidad de la prueba OSNA frente a histopatología para la evaluación económica. Es importante señalar que dado que se compara con el *gold standard* nunca será superior OSNA al *gold standard* en términos de eficacia comparada, a lo sumo, será una sensibilidad de 100% que resultaría igual al *gold standard* (cuando toma el valor 1 en el modelo).

Tabla 10. Sensibilidad de OSNA frente a histopatología (después de análisis de casos discordantes)

	Visser et al. 2008 ¹³	Schem et al. 2009 ¹⁴	Snook et al. 2011 ¹⁷	Khaddage et al. 2011 ¹⁸	Media (rango)
Sensibilidad	0,953	0,981	0,917	1	0,9585 (0,917-1)

Se asume 100% sensibilidad para la prueba histopatológica (*gold standard*).

Con los datos del caso base para el análisis (datos medios de coste y eficacia, Tabla 11) encontramos que la prueba OSNA obtiene una eficacia en términos de detección menor que la histopatología pero también un coste menor. Por tanto, en el plano coste-efectividad nos encontraríamos en el cuadrante sudoeste y un resultado del ratio coste-efectividad incremental (ICER) de 35.537 euros por caso positivo detectado.

Tabla 11. Resultados en términos coste-efectividad del caso base

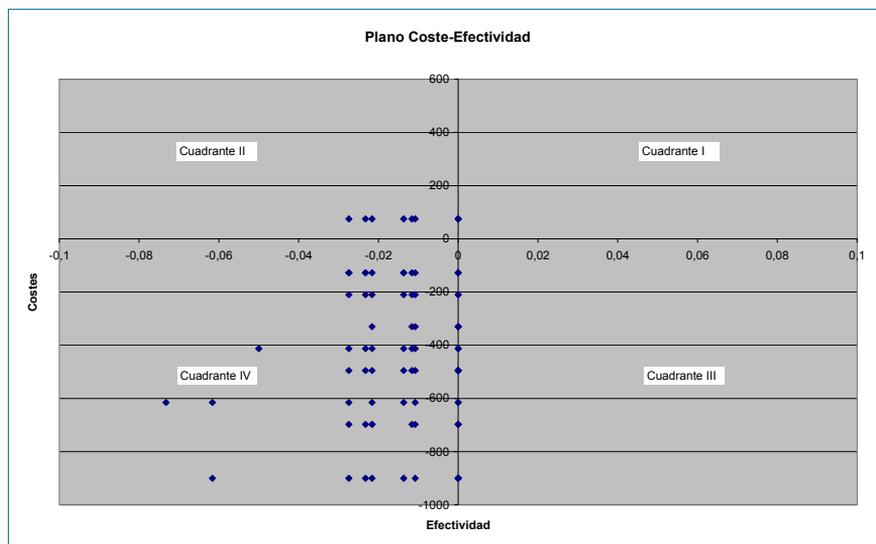
	Coste	Eficacia	Incremento Coste	Incremento Eficacia	ICER € por caso positivo detectado
HIS	1.425,52	0,28			
OSNA	1.012,58	0,26838	-412,94	-0,01162	35.537

Elaboración propia.

La evaluación incluyó análisis de sensibilidad determinísticos para los costes con los valores de la Tabla 8, porcentaje de ganglios positivos según los datos de la Tabla 9 y sensibilidad de las pruebas diagnósticas con el rango de la Tabla 10. En total se construyeron 81 escenarios con las diferentes combinaciones de los valores posibles para la sensibilidad (mínima, media y máxima), porcentaje de ganglios positivos (mínimo, medio y máximo), coste de HIS (mínimo, medio y máximo) y coste de OSNA (mínimo, medio y máximo).

El resultado de los 81 escenarios creados para el modelo ofrece un ICER promedio de 15.275,29 euros por caso positivo detectado con la prueba OSNA frente a la histopatología (desviación estándar 19.402,79 €) y un rango de valores de -6.943 € a 83.429,10 € por caso positivo detectado. La representación en el plano coste-efectividad (Figura 3) muestra los escenarios. Puede verse cuando la eficacia se consideró idéntica entre las pruebas, los datos se encontraban sobre el eje vertical. El resto de escenarios se sitúan en los cuadrantes a la izquierda (II y IV) con seis escenarios donde se indica menor eficacia y mayor coste de la prueba OSNA (cuadrante II) y el resto con menor coste para OSNA (cuadrante IV).

Figura 3. Plano Coste-efectividad de los 81 escenarios de comparación creados



Elaboración propia.

Discusión

En la valoración de la capacidad diagnóstica de una técnica o prueba deben evaluarse la validez analítica, la validez clínica y la utilidad clínica.

La validez analítica nos muestra la capacidad de la prueba de medir lo que queremos medir, la validez clínica nos indica si la prueba clasifica bien a los pacientes, en su condición de sano/enfermo para su tratamiento y por último la utilidad clínica nos aporta el impacto que dicha prueba tiene en la salud de la población.

Validez analítica

En cuanto a la validez analítica de la prueba OSNA, es fundamental seleccionar el parámetro de medida más adecuado, por ello la elección del marcador idóneo para detectar la metástasis es un factor de gran importancia. En un estudio previo con QRT-PCR en el que analizaron 90 ganglios independientes se observó que la sensibilidad del diagnóstico con el marcador de CK19 fue del 94,1% y su especificidad del 98,6% con una concordancia del 94,1% con las pruebas inmuno-histopatológicas¹¹.

En el estudio de Tsujimoto *et al.* 2007¹² estudiaron 6 marcadores con el fin de encontrar un marcador específico para la detección de metástasis en el cáncer de mama, de esos 6 marcadores descartaron 2 por no presentar una alta expresión en tejido tumoral y 1 porque se expresaba de forma relativamente alta en tejido sano. De los otros tres marcadores, seleccionaron finalmente el CK19 por presentar mayor nivel de expresión en ganglios positivos y mayor ratio de expresión entre ganglios positivos y ganglios negativos. Realizaron esta selección de marcadores en un estudio con 11 ganglios positivos y 15 negativos de 26 pacientes, lo que a priori parece un tamaño de muestra escaso. Además, Alvarenga *et al.* 2011²⁶ evidenciaron que la mayoría de los casos de cáncer de mama fueron positivos para CK19, independientemente del tipo histológico, por lo que la prueba OSNA se podría utilizar en todos los tipos de cáncer de mama con un ratio potencial bajo de falsos negativos. Este marcador CK19 también se ha empezado a utilizar en la detección de metástasis en ganglios en pacientes con cáncer gástrico y colorrectal^{27, 28}.

Por otra parte, se desconoce la reproducibilidad de la prueba al no presentar datos repetitivos de las medidas, por lo que no se puede valorar la robustez de la prueba ni la precisión de dichas medidas al no aportar información sobre los errores de las mismas.

La técnica molecular OSNA permite diferenciar entre micrometástasis y macrometástasis, en función de la cantidad de marcador presente en los lisados. Se establece que los límites entre micrometástasis y macrometástasis son de $2,5 \times 10^2 - 5 \times 10^3$ y de $> 5 \times 10^3$ copias/ μ l de ARNm de CK19 respectivamente, considerando un número $< 2,5 \times 10^2$ copias/ μ l de ARNm como un resultado negativo⁹. Esta clasificación se ve afectada por el sesgo de muestreo ya que el número de copias ampliadas dependerá del número de células afectadas que se encuentren en la sección de ganglio utilizada pudiendo, de esta manera, presentarse discrepancias a la hora de la clasificación de la metástasis entre la prueba OSNA y el análisis inmuno-histopatológico.

La Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) indica que las células tumorales aisladas (ITC del inglés *isolated tumor cells*) tienen una importancia clínica desconocida, y no hay datos suficientes para recomendar el tratamiento apropiado, incluida la disección de ganglios linfáticos axilares, basándose en su localización¹. Por esta razón, las células tumorales aisladas detectadas histopatológicamente se consideró como resultado negativo¹². Al contrario que las técnicas histopatológicas, la prueba OSNA no permite detectar células tumorales aisladas, aunque algunos estudios clasifican como presencia de células tumorales aisladas cuando el número de copias de CK19 por μ l está entre 100 y $250^{2,19}$, si bien esto no está validado. Dentro de la controversia existente en la importancia de las células tumorales aisladas, estudios recientes han asociado la presencia de dichas células con una reducción de la tasa de supervivencia libre de enfermedad a 5 años y que el tratamiento adyuvante mejoraba la supervivencia de estos pacientes^{29,30}. En este caso, si se consideraran las células tumorales aisladas como casos positivos de presencia de metástasis, las sensibilidades mostradas por los estudios incluidos serían inferiores a las estimadas.

Una de las limitaciones de la técnica es que la cantidad de ARN en el lisado congelado de muestras de ganglios para un posterior análisis de los casos discordantes, puede disminuir afectando al resultado de la prueba OSNA, disminuyendo el número de copias del ARNm de CK19 por microlitro. La disminución de cantidad de ARN puede deberse al efecto congelación-descongelación, al almacenamiento en buffer de homogeneización y al aislamiento del ARN como paso previo para las QRT-PCR¹⁷. Sin embargo, la prueba OSNA presenta la ventaja que se puede analizar el ganglio completo, lo que disminuiría la proporción de falsos negativos, mientras que en la histopatología para disminuir dicha proporción sería necesario analizar múltiples niveles del ganglio, lo que conllevaría mayor consumo de tiempo y recursos. Además, la histopatología se basa en el aspecto morfológico de las células malignas y no de la expresión genética,

que es sin duda más preciso, más cuantificable y en principio menos propenso a la variación entre los observadores.

Validez clínica

En cuanto a la validez clínica de la prueba OSNA, los estudios encontrados realizan la valoración de la prueba frente al patrón de referencia (técnica inmuno-histopatológica post-operatoria) y frente a otras pruebas intraoperatorias disponibles (impronta celular y tinción con hematoxilina-eosina de fragmentos congelados de tejido). Según los datos aportados por los estudios incluidos en este informe, la sensibilidad estimada de la prueba molecular OSNA en ganglios axilares está comprendida en un rango entre 77,5%-98,1% previo al análisis de los casos discordantes, mientras que la estimada para la impronta celular en el estudio de Feldman *et al.* 2011¹⁶ es del 63% (IC 95% de 51,5%-73,4%) coincidiendo con el metanálisis de Tew *et al.* 2005⁷, y para la de fragmentos congelados es del 76% (IC 95% de 65%-84%)^{7,31}. No se ha podido obtener los valores de los índices diagnósticos de esta técnica de los estudios incluidos en esta revisión, debido al diferente diseño metodológico de los estudios que incluyen dicha técnica y que no separan sus resultados del análisis histopatológico postoperatorio.

Según estos datos, la prueba molecular es más eficaz que las alternativas intraoperatorias en la detección de metástasis en los ganglios en pacientes con cáncer de mama. Si bien, los datos aportados por los estudios de la prueba OSNA están basados tanto en ganglios centinelas como en ganglios axilares, los datos de las otras pruebas intraoperatorias sí están estimados específicamente para el ganglio centinela. Además, los resultados de los estudios muestran que la prueba OSNA presenta mayor sensibilidad en la detección de macrometástasis que de micrometástasis.

Los estudios muestran una alta concordancia entre la prueba OSNA y la pruebas histopatológicas, encontrándose dicha concordancia en un rango comprendido entre 91,7% y 98,2%.

Al igual que ocurre con cualquiera de las otras pruebas histopatológicas, la presencia de falsos positivos en la prueba OSNA implicaría el riesgo de realizar, de manera innecesaria, disecciones axilares completas a pacientes con cáncer, lo que conllevaría un aumento en la morbilidad de estos pacientes y un detrimento de su calidad de vida. Por el contrario, los falsos negativos de la prueba implicarían no realizar una intervención en fase temprana del cáncer, empeorando la prognosis, esperando los resultados de las pruebas postoperatorias y someter al paciente a una segunda intervención para la disección axilar completa.

Todos los estudios de valoración de la capacidad diagnóstica del OSNA en los que se realizan las dos pruebas, (la de interés y la de referencia), presentan discrepancias en muchos casos debidas al sesgo de muestreo. Este sesgo surge al tener que dividir la muestra en varias secciones para sus respectivos análisis, poniendo de manifiesto el problema de muestreo existente en todos los estudios identificados. Esto afecta a la concordancia entre las pruebas, así como a las estimaciones de los índices diagnósticos de la prueba OSNA. De hecho, como se observa en la Tabla 5, la eliminación de los sesgos de muestreo implicaría un posible aumento de la sensibilidad y especificidad de la prueba. La propia prueba de referencia presenta problemas de muestreo ya que no se analiza todo el ganglio sino secciones del mismo y esto introduce una posible alteración en los resultados. La posibilidad de analizar la totalidad del ganglio mediante pruebas moleculares evitaría el sesgo de muestreo aunque en el análisis se consumiría toda la muestra no pudiéndose realizar otras técnicas confirmatorias. Los estudios comparativos que valoraron la prueba OSNA usando los ganglios completos frente a la prueba intraoperatoria de histopatología de secciones congeladas²¹ y frente a la prueba de referencia de histopatología postoperatoria² mostraron que en estos casos el OSNA detectaba un mayor porcentaje de metástasis que la otra prueba intraoperatoria y el mismo porcentaje de casos positivos que la prueba de referencia postoperatoria. Estos resultados corroboran los obtenidos en los estudios donde existía sesgo de muestreo. Por lo tanto, las técnicas moleculares podrían mejorar las detecciones de metástasis al evitar los sesgos cometidos por el muestreo, si bien, son necesarios más estudios y con datos sobre un mayor número de pacientes con el fin de poder valorar de manera más apropiada la eficacia de dichas pruebas.

Entre los estudios localizados los hay de carácter preclínico donde no se aportan resultados sobre los pacientes y 3 de ellos^{17,18,20} donde se muestran los resultados de la prueba OSNA sobre pacientes. Algunos estudios utilizan un gran número de ganglios pero pocos pacientes; así el estudio de Visser *et al.* 2008¹³ incluye 346 ganglios pero sólo 32 pacientes; en este estudio encontraron 18 resultados discordantes entre las pruebas, pero se desconoce el número de pacientes afectados por estas discordancias. Si estos 18 ganglios corresponden a 18 pacientes, la proporción de pacientes con diagnóstico confuso sería de más del 56% mientras que si pertenecieran a un único paciente la proporción de pacientes afectados sería de sólo 3,1%. Mientras que el estudio de Tsujimoto *et al.* 2007¹² sólo presenta discordancias en 6 muestras e incluye 101 pacientes.

Por el contrario, excepto Khaddage *et al.* 2011¹⁸ que incluye un número reducido de pacientes (46), Snook *et al.* 2011¹⁷ y Choi *et al.* 2011²⁰ estudian un número considerable de pacientes, 194 y 199, respectivamente.

Desde el punto de vista de los pacientes y no de los ganglios, los valores de sensibilidad oscilaron entre 77,8-80% antes del análisis de los casos discordantes y entre 89,8-100% después de dicho análisis. A su vez, los valores de especificidad oscilaron entre 96,3-97,2% antes del análisis de los casos discordantes y entre 94,5-97,2% después de dicho análisis. En el análisis por pacientes se observa que la sensibilidad de la prueba OSNA disminuye un poco, mientras que la especificidad se mantiene en el mismo rango. Se hace necesaria información sobre la población y no sólo sobre los ganglios para poder hacer una valoración más exacta de la prueba a nivel clínico. En el caso específico de Snook *et al.* 2011¹⁷ identificaron 13 pacientes después del análisis de los casos discordantes, en los que los resultados de la prueba OSNA e histopatología difirieron. Entre ellos, 8 pacientes se clasificaron con ganglios positivos según la prueba OSNA y por lo tanto se les tendría que realizar la disección axilar innecesaria y someterlo a terapia adyuvante adicional. Por otro lado, los cinco pacientes que se clasificaron con ganglios negativos según el resultado de la prueba OSNA no se les sometería a disección ganglionar ni posterior terapia adyuvante, si la decisión del clínico se basara en este resultado. No obstante, con el aumento de la comprensión del cáncer de mama, debido al éxito de terapias dirigidas, la confianza en el estado de los ganglios linfáticos, como el único factor determinante en las estrategias terapéuticas adyuvantes está disminuyendo. La información biológica, como estrógenos, progesterona y receptores de HER2, y el índice de proliferación Ki67 está influyendo cada vez más en estas decisiones, por lo que hubiera sido poco probable que a estos cinco pacientes se le hubiera retenido la terapia adyuvante a causa del resultado negativo de la prueba OSNA.

Los resultados obtenidos en los diferentes estudios localizados en esta revisión son confirmados por el estudio de Frère-Belda *et al.* 2012³². Es un estudio reciente localizado posteriormente a la fecha de finalización de búsqueda en el que analizaron 503 ganglios, obteniéndose una sensibilidad de 80,9% (IC 95% 69,0-89,8%) y una especificidad de 93,9% (IC 95% 91,2-96,0%), aumentando los valores de estos parámetros después del análisis de los casos discordantes. De los 503 ganglios, 350 fueron también analizados por histopatología intraoperatoria de secciones congeladas, mostrando una sensibilidad de 63,6% (IC 95% 40,6-82,8%) y una especificidad de 100% (IC 95% 97,7-100%), y 163 por citología por impronta, obteniéndose una sensibilidad de 47,1% (IC 95% 22,9-72,2%) y una especificidad 100% (IC 95% 97,5%-100%). Mediante el análisis de los pacientes se obtuvo una sensibilidad de 78,6% (IC 95% 63,1-89,7%) y una especificidad de 88,0% (IC 95% 82,4-93,3%), aumentando los valores de los índices diagnósticos tras el análisis de los casos discordantes.

Feldman *et al.* 2011¹⁶, que es el estudio que incluye mayor número de pacientes y ganglios, obtuvieron valores de sensibilidad más bajos que el resto de los estudios anteriores, sin embargo el valor de especificidad está localizado en el rango de valores hallados para este índice en el resto de los estudios. Las razones por las que el valor de sensibilidad fue más bajo que el resto de los estudios fueron las siguientes: evaluación únicamente de ganglios centinelas; cortes a intervalos de 1 mm y no a 2 mm, lo que provoca un examen histopatológico más detallado; y un gran número de micrometástasis. Por lo tanto, la mayor probabilidad de sesgo muestreo, junto con la mayor probabilidad de detección de micrometástasis en ganglios centinelas en comparación con los ganglios linfáticos axilares, muy probablemente contribuyó a las diferencias en los resultados. Además, al utilizar intervalos de 1 mm, la probabilidad de localizar casos discordantes en la detección de micrometástasis será mayor que para macrometástasis, como así resulta, ya que éstas serán localizadas por un método u otro, pero no por ambos.

Se observa cierta variabilidad en la proporción de discordancias en los estudios localizados, aunque en todos los estudios dicha variabilidad está por debajo del 10%. En el caso concreto de Khaddage *et al.* 2011¹⁸ debido al hecho de que todo el ganglio, excepto la parte central 1 mm, fue analizado por OSNA, la proporción de material sin investigar y de riesgo asociado de los errores de muestreo se redujo bastante.

Los estudios localizados coinciden en la alta especificidad de la prueba OSNA, indicando la baja probabilidad que posee este método en la obtención de falsos positivos. Sin embargo, la sensibilidad de la prueba a nivel de pacientes se ve muy afectada por las posibles discrepancias entre pruebas, variando entre 77,8-80%, lo que indica que podría obtenerse un número relativamente alto de falsos negativos.

El tiempo estimado para la evaluación de un ganglio con la técnica OSNA, según los estudios localizados, se aproxima a los 35-40 minutos, coincidiendo prácticamente con el análisis intraoperatorio de secciones congeladas que tiene una duración de 30-40 minutos³³. Aunque, el tiempo en la realización de la prueba es importante, posee mayor importancia la detección de metástasis con mayor exactitud.

Utilidad clínica

Hasta el momento, se desconoce la utilidad clínica de la prueba OSNA. No hay estudios que aporten información sobre el impacto de la prueba en la salud de los pacientes. Son necesarios ensayos clínicos prospectivos para determinar si esta nueva prueba realmente mejora el pronóstico de los pacientes con cáncer de mama y su calidad de vida. Se desconoce el impacto de esta prueba sobre

resultados como cirugías evitadas, disecciones de ganglios axilares innecesarias, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.

Hay que tener en cuenta que los tratamientos actuales recomendados en las guías de práctica clínica están basados en criterios histológicos y no moleculares. No hay datos a largo plazo sobre la evolución de los pacientes con ganglios negativos desde el punto de vista histopatológico e inmunohistoquímico, pero positivos desde el punto de vista molecular, pN0 (mol +). Estos pacientes que potencialmente podrían ser reclasificados mediante el uso de análisis molecular, debido a la mayor precisión del reflejo de la carga tumoral. Se necesita investigación adicional para determinar la historia natural y tratamiento óptimo de estos pacientes con respecto a terapias adyuvantes¹⁷. La relevancia clínica de los ganglios centinelas histopatología negativo/OSNA positivo necesita ser evaluada en estudios a largo plazo³².

La prueba OSNA aumenta la capacidad de detección de metástasis en ganglios en relación con la histopatología de secciones congeladas, principalmente la detección de micrometástasis. Sin embargo, no está muy claro el impacto clínico de estas micrometástasis, es decir, existe controversia sobre si hay que realizar una disección axilar completa en pacientes con micrometástasis y si ésta tiene impacto en el pronóstico de los pacientes. Una de las razones de esta controversia se debe a que la histopatología no es un método estandarizado, y su capacidad para medir el volumen total de la metástasis con exactitud, particularmente en las metástasis de pequeño volumen, es limitada. No obstante, el seguimiento de la cohorte evaluada con el OSNA, debido a que utiliza el ganglio completo y de forma estandarizada, puede desvelar el impacto clínico de las micrometástasis.

La actual estadificación ganglionar del American Joint Committee on Cancer (AJCC) se basa en los resultados de exámenes histopatológicos, pero debido a que no están normalizados y que están limitados en su capacidad para detectar metástasis con precisión debido a la observación parcial de un ganglio, puede ser posible establecer un nuevo sistema de estadiaje de ganglios utilizando los resultados de la prueba OSNA^{21,34}.

La prueba OSNA, como cualquier otro método diagnóstico, presenta ventajas e inconvenientes. Entre las ventajas destaca que es un método estandarizado con alto grado de automatización, objetivo, sensible, específico, con capacidad de calcular con exactitud el volumen de las metástasis, intraoperatorio evitando segundas intervenciones y que puede utilizar el ganglio entero, disminuyendo de este modo los sesgos de muestreos. Entre los posibles inconvenientes se pueden citar los siguientes:

- No aporta información sobre la localización ni la evaluación morfológica de las lesiones.

- Existen casos de expresiones de ARNm de CK19 sin enfermedad neoplásica, originando falsos positivos. Por otro lado, se obtienen falsos negativos, ya que existe un pequeño porcentaje de tumores CK19 negativos. El hecho de que la prueba OSNA está diseñada para usar todo el ganglio, estos casos no podrían ser analizados para su correcto diagnóstico. Se ha establecido que el 98,2% de los adenocarcinomas de mama expresan CK19¹⁰.
- No es conveniente utilizar este método en pacientes sometidas previamente a cirugía mamaria, ya que la CK19 que se expresa en las células epidérmicas, al migrar éstas al interior de la mama con las maniobras quirúrgicas y llegar al ganglio centinela, podría ser detectada por el método OSNA e interpretar el resultado como un falso positivo⁶.

En cuanto a los resultados de eficiencia económica, el único estudio incluidos en la revisión y realizado en el marco del Sistema Nacional de Salud español afirma que merece la pena la utilización de OSNA. Nuestros resultados sugieren que puede ser más económico pero en muchos escenarios este beneficio económico requiere de una disminución de eficacia. Si bien estos resultados son matizables por dos aspectos importantes. El primero, el hecho de comparar frente a *gold standard* es inicialmente una dificultad puesto que a lo sumo se igualará la eficacia de la prueba, nunca mejoraría si se considera un 100% de sensibilidad para el patrón de referencia. El segundo son los costes considerados en el estudio de Guillén-Paredes *et al.* 2011 que son una única fuente y pueden variar en función de consideraciones de perspectiva del análisis, tiempos de intervención y formas de contabilización de los costes.

La ASCO recoge en sus recomendaciones sobre la biopsia del ganglio centinela, en estadios tempranos de cáncer de mama, que las técnicas moleculares deben ser evaluadas dentro de ensayos clínicos controlados antes de ser aplicadas de forma rutinaria en el manejo de los pacientes¹.

Es importante resaltar, que hasta el momento una de las dos pruebas moleculares existentes en el mercado (GeneSearchTM) ha sido retirada del mercado por la propia compañía que la comercializaba y la otra prueba (OSNA) solamente dispone información procedente de 11 estudios financiados algunos de ellos por la compañía Sysmex, fabricante de dicha técnica.

Conclusiones

- La técnica molecular intraoperatoria OSNA presenta una alta concordancia, sensibilidad y especificidad frente al análisis histopatológico postoperatorio considerado el patrón de referencia.
- Presenta mayor sensibilidad que las pruebas intraoperatorias convencionales de impronta y tinción de cortes congelados.
- No se conoce la utilidad clínica y por lo tanto el beneficio en salud de la prueba OSNA. Son necesarios estudios prospectivos para determinar si esta nueva prueba realmente ayuda al pronóstico de los pacientes con cáncer de mama.
- Con la limitada información sobre eficiencia económica disponible y las estimaciones realizadas, la prueba OSNA podría ser considerada una alternativa al análisis histopatológico que ahorraría costes, si bien presenta menor capacidad diagnóstica.

Referencias

1. Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield MR, Benson III AB, Bodurka DC, Burstein HJ, et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23:7703-20.
2. Bernet L, Martinez M, Cano R, Sevilla F, Torró J, Ballester B, et al. Molecular diagnosis of sentinel lymph nodes for breast cancer: one step ahead for standardization. *Diagn Mol Pathol*. 2011;20:18-21.
3. van der Ploeg IMC, Nieweg OE, van Rijk MC, Valdés Olmos RA, Kroon BBR. Axillary recurrence after a tumour-negative sentinel node biopsy in breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Eur J Surg Oncol*. 2008;34:1277-84.
4. Bulte CS, van der Heiden-van der Loo M, Hennipman A. Axillary recurrence rate after tumour negative and micrometastatic positive sentinel node procedures in breast cancer patients, a population based multicenter study. *Eur J Surg Oncol*. 2009;35:25-31.
5. Groetelaers RP, van Berlo CL, Nijhuis PH, Schapers RF, Gerritsen HA. Axillary recurrences after negative sentinel lymph node biopsy under local anaesthesia for breast cancer: a follow-up study after 5 years. *Eur J Surg Oncol*. 2009;35:159-63.
6. Guillén-Paredes MP, Carrasco-González L, Cháves-Benito A, Campillo-Soto A, Carrillo A, Aguayo-Albasini JL. One-step nucleic acid amplification (OSNA) assay for centinela lymph node metastases as an alternative to conventional postoperative histology in breast cancer: A cost-benefit analysis. *Cir Esp*. 2011;89:456-62.
7. Tew K, Irwing L, Matthews A, Crowe P, Macaskill P. Meta-analysis of sentinel node imprint cytology in breast cancer. *Br J Surg*. 2005; 92:1068-80.
8. Tanis Pj, Boom RP, Koops HS, Faneyte IF, Peterse JL, Nieweg OE, et al. Frozen section investigation of the sentinel node in malignant melanoma and breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2001;8:222-6.
9. Krishnamurthy S, Meric-Bernstam F, Lucci A, Hwang RF, Kuerer HM, Babiera G, et al. A prospective study comparing touch imprint cytology, frozen section analysis, and rapid cytokeratin immunostain for intraoperative evaluation of axillary sentinel lymph nodes in breast cancer. *Cancer*. 2009;115:1555-62.

10. Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology*. 2002;40:403-39.
11. Hughes SJ, Xi L, Raja S, Gooding W, Cole DJ, Gillanders WE, et al. A rapid, fully automated, molecular-based assay accurately analyses sentinel lymph nodes for the presence of metastatic breast cancer. *Ann Surg*. 2006;243:389-98.
12. Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, Kaneko T, Iwase T, Akiyama F, et al. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2007;13:4807-16.
13. Visser M, Jiwa M, Horstman A, Brink AA, Pol RP, van Diest P, 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;122:2562-7.
14. Schem C, Maass N, Bauerschlag DO, Carstensen MH, Löning T, Roder C, et al. One-step nucleic acid amplification-a molecular method for the detection of lymph node metastases in breast cancer patients; results of the German study group. *Virchows Arch*. 2009;454:203-10.
15. Tamaki Y, Akiyama F, Iwase T, Kaneko T, Tsuda H, Sato K, et al. Molecular detection of lymph node metastases in breast cancer patients: results of a multicenter trial using the one-step nucleic acid amplification assay. *Clin Cancer Res*. 2009;15:2879-84.
16. Feldman S, Krishnamurthy S, Gillanders W, Gittleman M, Beitsch PD, Young PR, et al. A novel automated assay for the rapid identification of metastatic breast carcinoma in sentinel lymph nodes. *Cancer*. 2011;117:2599-607.
17. Snook KL, Layer GT, Jackson PA, de Vries CS, Shousha S, Sinnett HD, et al. Multicentre evaluation of intraoperative molecular analysis of sentinel lymph nodes in breast carcinoma. *Br J Surg*. 2011;98:527-35.
18. Khaddage A, Berremila SA, Forest F, Clemerson A, Bouteille C, Seffert P, et al. Implementation of molecular intra-operative assessment of sentinel lymph node in breast cancer. *Anticancer Res*. 2011;31:585-90.
19. Bernet L, Cano R, Martinez M, Dueñas B, Matias-Guiu X, Morell L, et al. Diagnosis of the sentinel lymph node in breast cancer: a reproducible molecular method: a multicentric Spanish study. *Histopathology*. 2011; 58:863-9.

20. Choi YL, Ahn SK, Bae YK, Park IA, Min JW, Lee KW, et al. One-step nucleic acid amplification (OSNA): intraoperative rapid molecular diagnostic method for the detection of sentinel lymph node metastases in breast cancer patients in Korean cohort. *J Breast Cancer*. 2010; 13:366-74.
21. Osako T, Iwase T, Kimura K, Yamashita K, Horii R, Yanagisawa A, et al. Intraoperative molecular assay for sentinel lymph node metastases in early stage breast cancer: a comparative analysis between on-step nucleic acid amplification whole node assay and routine frozen section histology. *Cancer*. 2011;117:4365-74.
22. Nizar S, Shrotria S, Shambayati B, Albertini F. Intraoperative sentinel node analysis in breast cancer - a pilot study of OSNA and imprint cytology. *Eur J Surg Oncol*. 2010;36:1113.
23. Nishimura K, Sugiyama D, Moronobu A, Kawano S, Kumagai S. Cost utility analysis on one-step nucleic acid amplification method for the detection of axillary metastasis in breast cancer. *Cancer Res*. 2009; 69(2 Suppl 1):Abstract nr 1014.
24. Burke M, Patton T. The cost impact of implementing operative testing for the diagnosis of patients with metastatic breast cancer in England. York: York Health Economics Consortium; 2010.
25. Cutress RI, McDowell A, Gabriel FG, Gill J, Jeffrey MJ, Agrawal A, et al. Observational and cost analysis of the implementation of breast cancer sentinel node intraoperative molecular diagnosis. *J Clin Pathol*. 2010;63:522-9.
26. Alvarenga CA, Paravidino PI, Alvarenga M, Dufloth R, Gomes M, Zefereino LC, et al. Expression of CK19 in invasive breast carcinomas of special histological types: implications for the use of one-step nucleic acid amplification. *J Clin Pathol*. 2011;64:493-7.
27. Horibe D, Ochiai T, Shimada H, Tomonaga t, Nomura F, Gun M, et al. Rapid detection of metastasis of gastric cancer using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *Int J Cancer*. 2007;120:1063-9.
28. Taniyama K, Motoshita J, Sakane J, Makita K, Akai Y, Daito M, et al. Combination analysis of a whole lymph node by one-step nucleic acid amplification and histology for intraoperative detection of micrometastasis. *Pathobiology*. 2006;73:183-91.
29. de Boer M, van Deurzen CH, van Dijck JA, Borm GF, van Diest PJ, Adang EM, et al. Micrometastases or isolated tumor cells and the outcome of breast cancer. *N Engl J Med*. 2009;361:653-63.

30. Tjan-Heijnen VC, Pepels MJ, de Boer M. Prognostic impact of isolated tumor cells and micrometastases in axillary lymph nodes of breast cancer patients. *Breast Dis.* 2010;31:107-13.
31. Ali R, Hanly AM, Naughton P, Castineira CF, Landers R, Cahill RA, et al. Intraoperative frozen section assessment of sentinel lymph nodes in the operative management of women with symptomatic breast cancer. *World J Surg Oncol.* 2008;6:69.
32. Frère-Belda MA, Bats AS, Gillaizeau F, Poulet B, Clough KB, Nos C, et al. Diagnostic performance of one-step nucleic acid amplification for intraoperative sentinel node metastasis detection in breast cancer patients. *Int J Cancer.* 2012;130:2377-86.
33. Viale G, Bosari S, Mazzarol G, Galimberti V, Luini A, Veronesi P, et al. Intraoperative examination of axillary sentinel lymph nodes in breast carcinoma patients. *Cancer.* 1999;85:2433-8.
34. Osako T, Iwase T, Kimura K, Yamashita K, Horii R, Akiyama F. Accurate staging of axillary lymph nodes from breast cancer patients using a novel molecular method. *Br J Cancer.* 2011;105:1197-202.

Anexos

Anexo 1: Estrategias de búsqueda

Ovid-MEDLINE (hasta julio 2011)

1. *Breast Neoplasms
2. ((breast* or mamma*) and (cancer* or neoplasm* or tumor* or tumour* or carcinoma* or metastas?s)).ti.
3. or/1-2
4. (*Lymphatic Metastasis/di or Sentinel Lymph Node Biopsy/) and (Keratin-19/ or Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction/)
5. (Osna* or "one-step nucleic acid amplification" or CK19-Osna).ti,ab.
6. ((sentinel or lymph* or axillar*) and node* and metastas*).ti. and ((quantitative and (RT-PCR or reverse?transcripta*)) or QRT-PCR or RT-LAMP or (loop?mediated and isothermal?amplification)).ti,ab.
7. or/4-6
8. and/3,7
9. "Sensitivity and Specificity"/ or "Predictive Value of Tests"/ or (sensitiv* or specific* or (predictive adj2 value*) or likelihood or ((false or true) adj2 (positiv* or negativ*))).ti,ab.
10. 8 and 9

EMBASE (hasta julio 2011)

1. 'breast cancer'/exp/mj
2. breast*:ti OR mamma*:ti AND (cancer*:ti OR neoplasm*:ti OR tumor*:ti OR tumour*:ti OR carcinoma*:ti OR metastas?s:ti)
3. #1 OR #2
4. 'nucleic acid amplification'/de
5. osna*:ab,ti OR 'one-step nucleic acid amplification':ab,ti OR 'ck19 osna':ab,ti

6. sentinel:ti OR lymph*:ti OR axillar*:ti AND node*:ti AND metastas*:ti AND (quantitative:ab,ti AND ('rt pcr':ab,ti OR reverse?transcripta*:ab,ti) OR 'qrt pcr':ab,ti OR 'rt lamp':ab,ti OR (loop?mediated:ab,ti AND isothermal?amplification:ab,ti))
7. #4 OR #5 OR #6
8. 'cancer diagnosis'/de OR 'sensitivity and specificity'/de OR 'sensitivity analysis'/de OR 'diagnostic accuracy'/de OR 'diagnostic error'/exp OR sensitivity*:ab,ti OR specificit*:ab,ti OR (predictive:ab,ti AND value*:ab,ti) OR likelihood:ab,ti OR (false:ab,ti OR true:ab,ti AND (positiv*:ab,ti OR negativ*:ab,ti))
9. #3 AND #7 AND #8

Anexo 2: STARD listado de comprobación de estudios de pruebas diagnósticas

Section and Topic	Item #	
TITLE/ABSTRACT/KEYWORDS	1	Identify the article as a study of diagnostic accuracy (recommend MeSH heading 'sensitivity and specificity').
INTRODUCTION	2	State the research questions or study aims, such as estimating diagnostic accuracy or comparing accuracy between tests or across participant groups.
METHODS		
<i>Participants</i>	3	The study population: The inclusion and exclusion criteria, setting and locations where data were collected.
	4	Participant recruitment: Was recruitment based on presenting symptoms, results from previous tests, or the fact that the participants had received the index tests or the reference standard?
	5	Participant sampling: Was the study population a consecutive series of participants defined by the selection criteria in item 3 and 4? If not, specify how participants were further selected.
	6	Data collection: Was data collection planned before the index test and reference standard were performed (prospective study) or after (retrospective study)?
<i>Test methods</i>	7	The reference standard and its rationale.
	8	Technical specifications of material and methods involved including how and when measurements were taken, and/or cite references for index tests and reference standard.
	9	Definition of and rationale for the units, cut-offs and/or categories of the results of the index tests and the reference standard.
	10	The number, training and expertise of the persons executing and reading the index tests and the reference standard.
	11	Whether or not the readers of the index tests and reference standard were blind (masked) to the results of the other test and describe any other clinical information available to the readers.
<i>Statistical methods</i>	12	Methods for calculating or comparing measures of diagnostic accuracy, and the statistical methods used to quantify uncertainty (e.g. 95% confidence intervals).
	13	Methods for calculating test reproducibility, if done.

Section and Topic	Item #	
RESULTS		
<i>Participants</i>	14	When study was performed, including beginning and end dates of recruitment.
	15	Clinical and demographic characteristics of the study population (at least information on age, gender, spectrum of presenting symptoms).
	16	The number of participants satisfying the criteria for inclusion who did or did not undergo the index tests and/or the reference standard; describe why participants failed to undergo either test (a flow diagram is strongly recommended).
<i>Test results</i>	17	Time-interval between the index tests and the reference standard, and any treatment administered in between.
	18	Distribution of severity of disease (define criteria) in those with the target condition; other diagnoses in participants without the target condition.
	19	A cross tabulation of the results of the index tests (including indeterminate and missing results) by the results of the reference standard; for continuous results, the distribution of the test results by the results of the reference standard.
	20	Any adverse events from performing the index tests or the reference standard.
<i>Estimates</i>	21	Estimates of diagnostic accuracy and measures of statistical uncertainty (e.g. 95% confidence intervals).
	22	How indeterminate results, missing data and outliers of the index tests were handled.
	23	Estimates of variability of diagnostic accuracy between subgroups of participants, readers or centers, if done.
	24	Estimates of test reproducibility, if done.
DISCUSSION	25	Discuss the clinical applicability of the study findings.

