

**UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTES DE MEDECINE**

ANNEE 2013

2013 TOU3 1501

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

MEDECINE SPECIALISEE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement

par

Camille HERVE

Interne des Hôpitaux

le 11 janvier 2013

**EVALUATION DE LA PRATIQUE DU « TEST RER » POUR LE
DEPISTAGE DU SYNDROME DE LYNCH EN MIDI-PYRENEES :**

**Analyse rétrospective de 834 « tests RER » réalisés
consécutivement entre 2007 et 2010**

Directrice de thèse : **Professeur Rosine GUIMBAUD**

JURY

Président : M. le Professeur L. BUSCAIL
Assesseur : Mme le Professeur R. GUIMBAUD
Assesseur : Mme le Professeur J. SELVES
Assesseur : M. le Professeur L. ALRIC
Suppléant : Mme le Docteur J. CASTELLANO
Membre invité : Mme le Docteur D. BONNET
Membre invité : Mme le Docteur C. TOULAS



TABLEAU du PERSONNEL HU des Facultés de Médecine de l'Université Paul Sabatier au 1^{er} septembre 2011

Professeurs honoraires

Doyen Honoraire	M. LAZORTHES G.	Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE
Doyen Honoraire	M. PUEL P.	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL	Professeur Honoraire	M. CARTON
Doyen Honoraire	M. LAZORTHES Y.	Professeur Honoraire	Mme PUEL J.
Doyen Honoraire	M. CHAP H.	Professeur Honoraire	M. GOUZI
Professeur Honoraire	M. COMMANAY	Professeur Honoraire associé	M. DUTAU
Professeur Honoraire	M. CLAUX	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER
Professeur Honoraire	M. ESCHAPASSE	Professeur Honoraire	M. PASCAL
Professeur Honoraire	Mme ENJALBERT	Professeur Honoraire	M. MURAT
Professeur Honoraire	M. GAYRAL	Professeur Honoraire	M. SALVADOR M.
Professeur Honoraire	M. GEDEON	Professeur Honoraire	M. SOLEILHAVOUP
Professeur Honoraire	M. PASQUIE	Professeur Honoraire	M. BONEU
Professeur Honoraire	M. RIBAUT	Professeur Honoraire	M. BAYARD
Professeur Honoraire	M. SARRASIN	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE
Professeur Honoraire	M. GAY	Professeur Honoraire	M. FABIÉ
Professeur Honoraire	M. DOUSTE-BLAZY L.	Professeur Honoraire	M. BARTHE
Professeur Honoraire	M. ARLET J.	Professeur Honoraire	M. CABARROT
Professeur Honoraire	M. RIBET	Professeur Honoraire	M. GHISOLFI
Professeur Honoraire	M. MONROZIES	Professeur Honoraire	M. DUFFAUT
Professeur Honoraire	M. MIGUERES	Professeur Honoraire	M. ESCAT
Professeur Honoraire	M. DALOUS	Professeur Honoraire	M. ESCANDE
Professeur Honoraire	M. DUPRE	Professeur Honoraire	M. SARRAMON
Professeur Honoraire	M. FABRE J.	Professeur Honoraire	M. CARATERO
Professeur Honoraire	M. FEDOU	Professeur Honoraire	M. CONTÉ
Professeur Honoraire	M. LARENG	Professeur Honoraire	M. ALBAREDE
Professeur Honoraire	M. DUCOS	Professeur Honoraire	M. PRIS
Professeur Honoraire	M. GALINIER	Professeur Honoraire	M. CATHALA
Professeur Honoraire	M. LACOMME	Professeur Honoraire	M. BAZEX
Professeur Honoraire	M. BASTIDE	Professeur Honoraire	M. ADER
Professeur Honoraire	M. COTONAT	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE
Professeur Honoraire	M. DAVID	Professeur Honoraire	M. CARLES
Professeur Honoraire	Mme DIDIER	Professeur Honoraire	M. LOUVET
Professeur Honoraire	M. GAUBERT	Professeur Honoraire	M. BONAFÉ
Professeur Honoraire	M. GUILHEM	Professeur Honoraire	M. VAYSSE
Professeur Honoraire	Mme LARENG M.B.	Professeur Honoraire	M. ESQUERRE
Professeur Honoraire	M. BES	Professeur Honoraire	M. GUITARD
Professeur Honoraire	M. BERNADET	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES F.
Professeur Honoraire	M. GARRIGUES	Professeur Honoraire	M. ROQUE-LATRILLE
Professeur Honoraire	M. REGNIER	Professeur Honoraire	M. CERENE
Professeur Honoraire	M. COMBELLES	Professeur Honoraire	M. FOURNIAL
Professeur Honoraire	M. REGIS	Professeur Honoraire	M. HOFF
Professeur Honoraire	M. ARBUS	Professeur Honoraire	M. REME
Professeur Honoraire	M. LARROUY	Professeur Honoraire	M. FAUVEL
Professeur Honoraire	M. JUSKIEWENSKI	Professeur Honoraire	M. BOCCALON
Professeur Honoraire	M. PUJOL	Professeur Honoraire	M. FREXINOS
Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI	Professeur Honoraire	M. CARRIERE
Professeur Honoraire	M. RUMEAU	Professeur Honoraire	M. MANSAT M.
Professeur Honoraire	M. PAGES	Professeur Honoraire	M. ROLLAND
Professeur Honoraire	M. BESOMBES	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT
Professeur Honoraire	M. GUIRAUD	Professeur Honoraire	M. CAHUZAC
Professeur Honoraire	M. SUC	Professeur Honoraire	M. RIBOT
Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE	Professeur Honoraire	M. DELSOL
Professeur Honoraire	M. COSTAGLIOLA	Professeur Honoraire	Mme ARLET

Professeurs émérites

Professeur GHISOLFI	Professeur CARATERO
Professeur JUSKIEWENSKI	Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL
Professeur LARROUY	Professeur COSTAGLIOLA
Professeur ALBAREDE	Professeur JL. ADER
Professeur CONTÉ	Professeur Y. LAZORTHES
Professeur MURAT	Professeur L. LARENG
Professeur MANELFE	Professeur F. JOFFRE
Professeur LOUVET	Professeur J. CORBERAND
Professeur SOLEILHAVOUP	Professeur B. BONEU
Professeur SARRAMON	Professeur H. DABERNAT

P.U. - P.H.
 Classe Exceptionnelle et 1ère classe

P.U. - P.H.
 2ème classe

M. ADOUE D.	Médecine Interne, Gériatrie	Mme BEYNE-RAUZY O.	Médecine Interne
M. AMAR J.	Thérapeutique	M. BIRMES Ph.	Psychiatrie
M. ARNE J.L. (C.E)	Ophthalmologie	M. BRASSAT D.	Neurologie
M. ATTAL M. (C.E)	Hématologie	M. BUREAU Ch	Hépatogastro-Entéro
M. BLANCHER A.	Immunologie (option Biologique)	M. CALVAS P.	Génétique
M. BONNEVIALLE P.	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie.	M. CARRERE N.	Chirurgie Générale
M. BOSSAVY J.P.	Chirurgie Vasculaire	Mme CASPER Ch.	Pédiatrie
M. BROUSSET P. (C.E)	Anatomie Pathologique	M. CHAIX Y.	Pédiatrie
M. BUGAT R. (C.E)	Cancérologie	M. COGNARD C.	Neuroradiologie
M. CARRIE D.	Cardiologie	M. DE BOISSEZON X.	Médecine Physique et Réadapt Fonct.
M. CHAP H. (C.E)	Biochimie	M. FOURCADE O.	Anesthésiologie
M. CHAUVEAU D.	Néphrologie	M. FOURNIE B.	Rhumatologie
M. CHOLLET F. (C.E)	Neurologie	M. FOURNIÉ P.	Ophthalmologie
M. CLANET M. (C.E)	Neurologie	Mme GENESTAL M.	Réanimation Médicale
M. DAHAN M. (C.E)	Chirurgie Thoracique et Cardiaque	Mme LAMANT L.	Anatomie Pathologique
M. DABERNAT H.	Bactériologie-Virologie	M. LAROCHE M.	Rhumatologie
M. DALY-SCHVEITZER N.	Cancérologie	M. LAUWERS F.	Anatomie
M. DEGUINE O.	O. R. L.	M. LEOBON B.	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. DUCOMMUN B.	Cancérologie	M. MANSAT P.	Chirurgie Orthopédique
M. FERRIERES J.	Epidémiologie, Santé Publique	M. MAZIERES J.	Pneumologie
M. FRAYSSE B. (C.E)	O.R.L.	M. MOLINIER L.	Epidémiologie, Santé Publique
M. IZOPET J.	Bactériologie-Virologie	M. PAOLI J.R.	Chirurgie Maxillo-Faciale
M. LANG T.	Biostatistique Informatique Médicale	M. PARANT O.	Gynécologie Obstétrique
M. LANGIN D.	Nutrition	M. PATHAK A.	Pharmacologie
M. LAUQUE D.	Médecine Interne	M. PAUL C.	Dermatologie
M. LIBLAU R.	Immunologie	M. PAYOUX P.	Biophysique
M. MAGNAVAL J.F.	Parasitologie	M. PAYRASTRE B.	Hématologie
M. MALAVAUD B.	Urologie	M. PORTIER G.	Chirurgie Digestive
M. MARCHOU B.	Maladies Infectieuses	M. PERON J.M.	Hépatogastro-Entérologie
M. MONROZIES X.	Gynécologie Obstétrique	M. RECHER Ch.	Hématologie
M. MONTASTRUC J.L. (C.E)	Pharmacologie	M. RONCALLI J.	Cardiologie
M. MOSCOVICI J.	Anatomie et Chirurgie Pédiatrique	M. SANS N.	Radiologie
Mme MOYAL E.	Cancérologie	M. SOL J-Ch.	Neurochirurgie
Mme NOURHASHEMI F.	Gériatrie	Mme WEBER-VIVAT M.	Biologie cellulaire
M. OLIVES J.P.	Pédiatrie		
M. OSWALD E.	Bactériologie-Virologie		
M. PARINAUD J.	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.		
M. PERRET B. (C.E)	Biochimie		
M. POURRAT J.	Néphrologie		
M. PRADERE B.	Chirurgie Générale		
M. QUERLEU D. (C.E)	Cancérologie		
M. RAILHAC J.J. (C.E)	Radiologie		
M. RASCOL O.	Pharmacologie		
M. RISCHMANN P. (C.E)	Urologie		
M. RIVIERE D.	Physiologie		
M. SALES DE GAUZY J.	Chirurgie Infantile		
M. SALLES J.P.	Pédiatrie		
M. SERRE G. (C.E)	Biologie Cellulaire		
M. SIMON J.	Biophysique		
M. TELMON N.	Médecine Légale		
M. TREMOULET M.	Neurochirurgie		
M. VINEL J.P. (C.E)	Hépatogastro-Entérologie		
M. VOIGT J.J. (C.E)	Anatomie Pathologique		
		M. OUSTRIC S.	P.U. Médecine Générale

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1ère classe

M. ABBAL M.	Immunologie
M. ALRIC L.	Médecine Interne
M. ARLET Ph. (C.E)	Médecine Interne
M. ARNAL J.F.	Physiologie
Mme BERRY I.	Biophysique
M. BOUTAULT F. (C.E)	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
M. BUSCAIL L.	Hépatogastro-entérologie
M. CANTAGREL A.	Rhumatologie
M. CARON Ph.	Endocrinologie
M. CHAMONTIN B. (C.E)	Thérapeutique
M. CHAVOIN J.P. (C.E)	Chirurgie Plastique et Reconstructive
M. CHIRON Ph.	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
Mlle DELISLE M.B. (C.E)	Anatomie Pathologie
M. DIDIER A.	Pneumologie
M. DURAND D. (C.E)	Néphrologie
M. ESCOURROU J. (C.E)	Hépatogastro-entérologie
M. FOURTANIER G. (C.E)	Chirurgie Digestive
M. GALINIER M.	Cardiologie
M. GERAUD G.	Neurologie
M. GLOCK Y.	Chirurgie Cardio-Vasculaire
M. GRAND A. (C.E)	Epidémiol. Eco. de la Santé et Prévention
Mme HANAIRE H.	Endocrinologie
M. LAGARRIGUE J. (C.E)	Neurochirurgie
M. LARRUE V.	Neurologie
M. LAURENT G. (C.E)	Hématologie
M. LEVADE T.	Biochimie
M. MALECAZE F. (C.E)	Ophtalmologie
Mme MARTY N.	Bactériologie Virologie Hygiène
M. MASSIP P.	Maladies Infectieuses
M. MAZIERES B.	Rhumatologie
M. PESSEY J.J. (C.E)	O. R. L.
M. PLANTE P.	Urologie
M. PUGET J. (C.E.)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
M. RAYNAUD J-Ph.	Psychiatrie Infantile
M. REME J.M.	Gynécologie-Obstétrique
M. RITZ P.	Nutrition
M. ROCHE H. (C.E)	Cancérologie
M. ROSTAING L.	Néphrologie
M. ROUGE D. (C.E)	Médecine Légale
M. ROUSSEAU H.	Radiologie
M. SALVAYRE R. (C.E)	Biochimie
M. SAMII E K. (C.E)	Anesthésiologie Réanimation
M. SCHMITT L. (C.E)	Psychiatrie
M. SENARD J.M.	Pharmacologie
M. SERRANO E.	O. R. L.
M. SOULIE M.	Urologie
M. SUC B.	Chirurgie Digestive
Mme TAUBER M.T.	Pédiatrie
M. VELLAS B. (C.E)	Gériatrie

P.U. - P.H.

2ème classe

M. ACAR Ph.	Pédiatrie
Mme ANDRIEU S.	Epidémiologie
M. BERRY A.	Parasitologie
M. BONNEVILLE F.	Radiologie
M. BROUCHET L.	Chir. Thoracique et cardio-vasculaire
M. BUJAN L.	Uro-Andrologie
Mme BURA-RIVIERE A.	Médecine Vasculaire
M. CHABANON G.	Bactériologie Virologie
M. CHAYNES P.	Anatomie
M. CHAUFOUR X.	Chirurgie Vasculaire
M. CONSTANTIN A.	Rhumatologie
M. COURBON	Biophysique
Mme COURTADE SAIDI M.	Histologie Embryologie
M. DAMBRIN C.	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
M. DECRAMER S.	Pédiatrie
M. DELABESSE E.	Hématologie
M. DELORD JP.	Cancérologie
M. ELBAZ M.	Cardiologie
M. GALINIER Ph.	Chirurgie Infantile
M. GOURDY P.	Endocrinologie
M. GROLLEAU RAOUX J.L.	Chirurgie plastique
Mme GUIMBAUD R.	Cancérologie
M. KAMAR N.	Néphrologie
M. LEGUEVAQUE P.	Chirurgie Générale et Gynécologique
M. MARQUE Ph.	Médecine Physique et Réadaptation
Mme MAZEREEUW J.	Dermatologie
M. MINVILLE V.	Anesthésiologie Réanimation
M. OTAL Ph.	Radiologie
M. ROLLAND Y.	Gériatrie
M. ROUX F.E.	Neurochirurgie
M. SAILLER L.	Médecine Interne
M. SELVES J.	Anatomie Pathologique
M. SOULAT J.M.	Médecine du Travail
M. TACK I.	Physiologie
M. VAYSSIERE Ch.	Gynécologie Obstétrique
M. VERGEZ S.	O.R.L.
Mme URO-COSTE E.	Anatomie Pathologique

Professeur Associé de Médecine Générale
Dr VIDAL M.

Professeur Associé en Soins Palliatifs
Dr MARMET Th.

Professeur Associé de Médecine du Travail
Dr NIEZBORALA M.

M.C.U. - P.H.

M. APOIL P. A	Immunologie
Mme ARNAUD C.	Epidémiologie
M. BIETH E.	Génétique
Mme BONGARD V.	Epidémiologie
Mme CASPAR BAUGUIL S.	Nutrition
Mme CASSAING S.	Parasitologie
Mme CONCINA D.	Anesthésie-Réanimation
M. CONGY N.	Immunologie
M. CORRE J.	Hématologie
M. COULAIS Y.	Biophysique
Mme COURBON	Pharmacologie
Mme DAMASE C.	Pharmacologie
Mme de GLISEZENSKY I.	Physiologie
Mme DELMAS C.	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme DE-MAS V.	Hématologie
Mme DUGUET A.M.	Médecine Légale
Mme DULY-BOUHANICK B.	Thérapeutique
M. DUPUI Ph.	Physiologie
Mme FAUVEL J.	Biochimie
Mme FILLAUX J.	Parasitologie
M. GANTET P.	Biophysique
Mme GENNERO I.	Biochimie
M. HAMDI S.	Biochimie
Mme HITZEL A.	Biophysique
M. JALBERT F.	Stomato et Maxillo Faciale
Mme LAPEYRE-MESTRE M.	Pharmacologie
M. LAURENT C.	Anatomie Pathologique
Mme LE TINNIER A.	Médecine du Travail
M. LOPEZ R.	Anatomie
M. MONTOYA R.	Physiologie
Mme MOREAU M.	Physiologie
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire
M. PARIENTE J.	Neurologie
M. PILLARD F.	Physiologie
Mme PRERE M.F.	Bactériologie Virologie
Mme PUISSANT B.	Immunologie
Mme RAGAB J.	Biochimie
Mme RAYMOND S.	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme SABOURDY F.	Biochimie
Mme SAUNE K.	Bactériologie Virologie
M. SOLER V.	Ophtalmologie
Mme SOMMET A.	Pharmacologie
M. TAFANI J.A.	Biophysique
Mlle TREMOLLIERES F.	Biologie du développement
M. TRICOIRE J.L.	Anatomie et Chirurgie Orthopédique
M. VINCENT C.	Biologie Cellulaire

M.C.U. - P.H.

Mme ABRAVANEL F.	Bactério. Virologie Hygiène
Mme ARCHAMBAUD M.	Bactério. Virologie Hygiène
M. BES J.C.	Histologie - Embryologie
Mme BROUCHET-GOMEZ A.	Anatomie Pathologique
M. CMBUS J.P.	Hématologie
Mme CANTERO A.	Biochimie
Mme CARFAGNA L.	Pédiatrie
Mme CASSOL E.	Biophysique
Mme CAUSSE E.	Biochimie
Mme CLAVE D.	Bactériologie Virologie
M. CLAVEL C.	Biologie Cellulaire
Mme COLLIN L.	Cytologie
M. DE BOISSEZON X.	Médecine Physique et Réadaptation
M. DEDOUIT F.	Médecine Légale
M. DE GRAEVE J.S.	Biochimie
M. DELOBEL P.	Maladies Infectieuses
M. DELPLA P.A.	Médecine Légale
Mme ESQUIROL Y.	Médecine du travail
Mme ESCOURROU G.	Anatomie Pathologique
Mme GALINIER A.	Nutrition
Mme GARDETTE V.	Epidémiologie
Mme GRARE M.	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme GUILBEAU-FRUGIER C.	Anatomie Pathologique
M. HUYGHE E.	Urologie
Mme INGUENEAU C.	Biochimie
M. LAHARRAGUE P.	Hématologie
M. LAPRIE Anne	Cancérologie
M. LEANDRI R.	Biologie du dével. et de la reproduction
M. MARCHEIX B.	Chirurgie Cardio Vasculaire
M. MARQUES B.	Histologie - Embryologie
Mme MAUPAS F.	Biochimie
M. MIEUSSET R.	Biologie du dével. et de la reproduction
Mme M'RINI C.	Physiologie
M. MUSCARI F.	Chirurgie Digestive
Mme PERIQUET B.	Nutrition
Mme PRADDAUDE F.	Physiologie
M. PRADERE J.	Biophysique
M. RAMI J.	Physiologie
M. RIMAILHO J.	Anatomie et Chirurgie Générale
M. RONGIERES M.	Anatomie - Chirurgie orthopédique
M. TKACZUK J.	Immunologie
M. VALLET P.	Physiologie
Mme VEZZOSI D.	Endocrinologie
M. VICTOR G.	Biophysique
M. BISMUTH S.	M.C.U. Médecine Générale

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr MESTHÉ P.
Dr STILLMUNKES

Dr ESCOURROU B.
Dr BISMUTH M.

À notre Président de Jury,

Monsieur le Professeur Louis BUSCAIL

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Hépatogastro-entérologie

Vous nous faites l'honneur de présider notre jury de thèse.

Je tiens aussi à vous remercier pour les deux semestres passés dans votre équipe. Votre savoir, votre sens clinique et votre enthousiasme sont un exemple pour moi.

Votre disponibilité et votre écoute pour me guider dans mon projet professionnel m'ont été d'une aide précieuse.

Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À notre Jury de thèse,

Madame le Professeur Rosine GUIMBAUD

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Oncologie médicale

Je ne te remercierai jamais assez d'avoir accepté de diriger ce travail.

Ce fut un vrai plaisir de travailler avec toi, tant tes conseils sont éclairés et ta disponibilité inégalable. Et avec cet humour dont tu ne te départis jamais !

Qui aurait cru que je trouverais dans la ville rose une directrice de thèse avec le plan des pistes de ski du domaine des Trois Vallées sur les murs de son bureau ?!

J'espère pouvoir continuer à travailler avec toi, même à distance...

Madame le Professeur Janick SELVES

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Anatomie Pathologique

Ce travail n'aurait pas été le même sans ton expertise et ton professionnalisme, présents à toutes les étapes de son élaboration.

J'ai beaucoup appris à tes côtés, tant dans ma pratique clinique quotidienne que lors de ce travail. Même si, pour l'anatomie pathologique, il me reste encore (presque) tout à apprendre !

Je te remercie d'avoir accepté de juger ce travail. Sois assurée de toute ma gratitude et de tout mon respect.

Monsieur le Professeur Laurent ALRIC

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Médecine Interne

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail.

Vos connaissances, votre pédagogie et votre expérience clinique m'ont beaucoup apporté durant les six mois passés dans votre service. Votre curiosité, sur le plan scientifique comme sur le plan culturel, est très stimulante et communicative.

Trouvez ici le témoignage de ma plus grande estime.

Madame le Docteur Julie CASTELLANO

Chef de Clinique Assistante

Hépatogastro-entérologie

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury, je suis consciente de ce que cela représente pour toi... Il faut bien une première fois à toute bonne chose !

Je t'ai suivie de près dans cet internat et nous avons eu les mêmes priorités. Ce n'est donc pas un hasard si tu te retrouves à cette place aujourd'hui. Tu as toujours été de très bon conseil pour moi, professionnellement et surtout pour « l'essentiel », car tu l'as compris avant la plupart d'entre nous...

J'espère avoir encore l'opportunité d'apprendre auprès de toi, ici ou au pied de « mes » montagnes. La porte est grande ouverte...

Madame le Docteur Delphine BONNET

Praticien Hospitalier

Hépatogastro-entérologie

Ce jury n'aurait pas été le même sans toi... C'est toi qui m'a guidée vers l'oncologie digestive et les abîmes de l'oncogénétique, en douceur. Je ne serais pas là aujourd'hui si nos chemins ne s'étaient pas croisés au bon moment.

J'ai commencé mon cursus avec toi alors que tu finissais ton internat et voici mon tour de conclure, sous ton œil bienveillant. Travailler à tes côtés m'a apporté beaucoup ; tes connaissances, ta rigueur et ton humanité sont un exemple pour moi.

Au plaisir de continuer à travailler ensemble, même de loin.

Merci pour tout.

Madame le Docteur Christine TOULAS
Responsable de laboratoire d'oncogénétique
Pharmacologie moléculaire

Je vous remercie vivement d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse.

Je suis consciente de l'honneur que vous me faites en apportant une expertise de grande qualité dans ce jury.

Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de mes sincères remerciements.

À David,

« Juste un regard pour comprendre que c'est dans tes yeux que j'me sens le mieux »...

Car avec toi à mes côtés tout devient possible...

Tout s'illumine...

Sur les chemins menant de Montréal à Ushuaïa, en passant par Pokepsi...

Moi je dis oui pour le tien...

Et à notre petite crevette qui deviendra grande...

À ma famille

À mes parents, à cette maison du bonheur comme diraient certains, rien que d'y penser je me sens bien... Vous avez toujours su me guider, en douceur, et m'aider à m'envoler quand il le fallait... Même si cela vous était difficile, vous m'avez toujours soutenue... La Réunion, Montréal, Toulouse et enfin l'Amérique du Sud... Ces voyages et ces expériences, c'est à vous que je les dois... Partir, oui, mais pour mieux vous retrouver...

À ma sœur Charlotte, si différente et si semblable à la fois... Les brunes ne comptent pas pour des prunes... Mais que dire des blondes alors ! Que de détermination et d'énergie réunies dans ce petit bout de femme d'1m55 ! Mais ça ne t'empêche pas d'être une oreille attentionnée et un soutien de chaque instant... Je n'ai pas toujours su trouver les mots pour te le dire mais je t'admire beaucoup et suis fière d'être ta grande sœur... Surtout sur un terrain de rugby !

À mon frère Arthur, quoi que tu fasses, tu resteras mon petit « merdeux »... le petit dernier... mon petit frère quoi ! Tu as grandi trop vite et je suis épatée par l'homme que tu es devenu... Et pourtant, la tâche n'était pas facile, passer après deux grognasses comme nous !

À Rémi, tu as su dompter ma sœur, et pour cela tu auras toujours mon respect ! Contente de t'avoir accueilli dans la famille... Mais attention à ne pas faire trop de points quand même !

À ma famille d'adoption, Constance, Jean-Marc, Margaux et Bruno que je ne saurais jamais assez remercier pour leur accueil et leur écoute, tout au naturel... Je me suis tout de suite sentie à l'aise et cela, ça n'a pas de prix...

À ma marraine, tantine et œil attentionné, disponible à toute heure et prête à se mettre en quatre pour satisfaire les envies de ses filleuls... Toujours présente dans les moments qui ont marqué ma vie et soutien inébranlable... Merci pour la relecture et surtout pour TOUT le reste...

À mon parrain, pour savoir toujours trouver le mot qui nous fera rire ou sourire au bon moment... ou pas ! Et pour être présent pour sa filleule quand il le faut, tout simplement...

À mes grands-parents que j'aurais tant aimé mieux connaître, à mes cousins, cousines, oncles et tantes... À tous ces souvenirs d'enfance et ceux à venir, de la Corse à Juan-Les-Pins, en passant par les Olympiades et les balades au clair de lune...

À mes amis d'enfance et à ceux des montagnes

À *Gwenn-Marie*, ma Cendrillon toulousaine, qui restera le rayon de soleil de mon enfance... Je serai toujours ta Fée Carabosse et j'espère que Grenoble-Nice se fera mieux que Toulouse-Nice dans les années à venir...

À *mes trois acolytes de Lionel Terray et du Lycée du Grésivaudan* : *Luz*, ou l'alliance subtile d'exubérance et de naturel, ma *Manette*, les fous rires que tu m'as donnés n'ont d'égal que nos longues conversations enflammées (merci d'être là ce soir... ça veut dire beaucoup), et *Valou*, la seule fille que je connaisse qui enlève ses escarpins de 12 cm de haut pour enfiler des chaussures de ski ou des chaussons d'escalade ! Chacune en son genre, vous avez toujours été là pour moi et j'espère que cela continuera longtemps.

À *mes compagnons de cordée* qui, au fil des mètres de dénivelés engloutis, sont devenus des amis en or... Et surtout les copains d'abord ! Les premiers souvenirs remontent au Canada : *Noémie*, quelques mois pour l'appivoiser et rapidement on ne peut plus s'en passer. Puis la Turquie avec *Emilie*, *Doudou* et *Loulou* le charmeur de ses dames... Puis le temps des soirées déjantées et des expériences inavouables avec l'arrivée de *Jib* et *Tom*... Ensuite, c'est en 2004 sur les traces du GR10 et des Catalans que nous accueillons *Maud* et sa joie de vivre, *Phil* et *Séb* pour toujours plus de « déconnes » autour d'un Raymond ou d'un Sarko... Sur le GR5, c'est au tour de *Cécile* de nous rejoindre, et d'apporter sa touche de punch et de détermination dans le petit groupe. Sans oublier nos pièces rapportées, parce qu'elles le valent bien : *Andy*, *Angie*, *Céline*, *Kathie*, *Cyrille* et *Rod*... longtemps attendues, vite adoptées !!!

À *Fabien* et à *Ben*, amis attentifs et complices de soirées mémorables.

Au bord du terrain

Mes premiers crampons, c'est à Grenoble que je les ai chaussés mais c'est sur le terrain du TCMS que je les ai aiguisés. Mes bouffées d'oxygène du mardi et du jeudi soir, c'est à vous que je les dois... Rien de tel qu'un bon plaquage pour oublier tous nos déboires ! Alors tout simplement merci d'avoir été là, sur le terrain et dans les vestiaires, avec des pensées particulières pour *Eva*, *Laura*, *Wendy*, *Kro*, les *Mamans*, *Margot*, *Coco* et *Jean-Luc Moustache*. Vous avoir à mes côtés ce soir me montre bien que le rugby n'est pas un sport comme les autres... Et méfiance : Maurice will be back ! Cramponnement vôtre...

À l'Université Joseph Fourier

Des bancs de la faculté aux sous colles de sixième année en passant par la Croatie ou la Réunion, nous voilà rendues aux quatre coins de la France... L'internat passe, l'amitié reste. Que d'aventures passées et à venir alors merci à toutes les cinq : *Coline*, *Dom*, *Eléa*, *Sarah* et *Sophie*. Votre présence ici ce soir, quel stimulant (même si ce sera sans Chartreuse cette fois-ci !). Sans oublier les deux *Pierrot*, pas seulement photographe ou skipper mais bien plus que ça !

À la grande famille de la Gastro

À mes ex co-internes :

À *Nicolas*, tu m'as pris sous ton aile dès le premier semestre... et tu ne m'as jamais lâchée ! Plus qu'un co-interne, un véritable ami, un remonteur de moral hors-pair... et avec quel chic ! Blue forever.

À *Julie C.* (pour la peine, tu as gagné une 2^{ème} dédicace !), ma roommate de DES et de DESC... Comment je vais faire en avril sans toi ?! Toujours à l'écoute et de bon conseil, merci pour ces deux semestres passés ensemble... et surtout tous les à-côtés. Tu as tout compris, et *Nordine* et *Eliam* en sont la preuve vivante.

À *Matthieu G.* et sa *Marie* : je vous adore ! Quelle classe, quel humour et cela en toute simplicité ! Ne changez rien ! Ah, si, faites des gosses !

À *Sophie F.*, jamais co-interne mais il n'y a pas eu besoin de cela pour craquer devant cette aventurière et cette voyageuse au grand cœur ! Merci pour l'accueil en Bolivie (entre autres) et plein de bonheur pour la suite, tu le mérites...

À *Maeva*, tu ne te souviens sûrement pas mais mon premier contact visuel en gastro-entérologie, c'est toi ! Au milieu des soins intensifs de Rangueil, tant d'assurance m'avait déjà impressionnée... Mais j'ai appris à en connaître les dessous cachés et j'ai découvert une confidente sensible et attentive. Je te souhaite tout le bonheur que tu sais.

À *Nadim*, à tes grandes envolées passionnées ! Jamais co-interne non plus mais quel plaisir à chacun de nos tête-à-tête... Maître de notre avenir, n'est-ce pas ? Par contre, arrête avec Dave s'il te plaît... Ça le fait pas !

À *Adeline P.*, ta pêche attitude et tes compétences m'épatent. Merci pour ton oreille attentive dans les coups durs... Plein de bonnes choses pour la suite avec *Romane*, *Olivier* et le *petit dernier*.

À *Mathieu D.* : derrière Pr Daude et ta grosse voix avec un accent... indéfinissable, se cache un mec sensible et surtout un compagnon de soirée imbattable !

À *Elodie* (oui, d'ailleurs, pourquoi le Pin's ?!), j'ai su apprécier ta rigueur et ton humour pince-sans-rire pendant les six mois passés ensemble ! Bonne continuation.

À *Sylvain*, à peine connu, déjà reparti... Dommage car ensemble je suis sûre qu'on aurait accompli notre mission !

À *Audrey H.*, quel calme et quelle efficacité chez notre Miss France !

À *Alice*, un peu de fraîcheur et de spontanéité dans cet hôpital, ça ne fait pas de mal !

À tous ceux avec qui j'ai pris plaisir à travailler, même de loin : *Camille C., Pierre B., Laura, Jérémy* (je t'avais prévenu que tu signerais chez nous ! Dommage que tu te sois décidé si tard, on aurait formé une bonne équipe, j'en suis certaine !), *Julie L., Hélène, Adrian*. Et les nouvelles recrues aussi : *Cécile, Marion* et *Virginie*.

À ceux qui m'ont formée :

À *Audrey A.*, un de mes modèles en oncologie digestive... Dans la famille Bisounours (oui, David vous appelle comme ça en oncologie digestive), je voudrais la petite dernière devenue grande. Profite car tu le vaux bien !

À *Marie-Angèle*, je ne sais pas comment tu as fait car je n'ai jamais été au bon étage au bon moment, mais autant m'apprendre en si peu d'occasions... Chapeau ! Merci pour ta patience et pour les footings de décompression !

À *Aldine*, sœur de brushing... mais bien plus que ça ! Garde ce peps et cette énergie.

À *l'équipe du 4^{ème} étage*, merci de m'avoir inculqué un peu de votre savoir en Hépatologie (même si j'aurais aimé y revenir) : *Sophie M., Christophe, Jean-Marie, Karl, M. Vinel*.

À *l'équipe de Ranguel, Barbara, M. Moreau* et *M. Escourrou*, merci pour tout ce que vous m'avez appris et pour votre rigueur. Ces deux semestres ont été très formateurs.

À *Sophie T.*, quel plaisir d'apprendre à tes côtés... J'espère que je ne t'ai pas trop mal conseillée pour tes vacances alpines ! Tu me raconteras ?!

À *l'équipe tarbaise*, merci pour l'accueil « comme à la maison » et votre pédagogie : *M. Druart, M. Morin, André, Kamran* et *Pierre A.* (mon « chef de clinique » tarbais pour moi toute seule !).

À *l'équipe d'oncologie digestive* pour leur disponibilité et leurs compétences : *Corinne, Marion* et *Pascale*.

À toutes les équipes soignantes de médecine interne, du 4^{ème} et de Ranguel.

Aux infirmières d'endoscopie de Purpan et Ranguel.

Aux secrétaires des 3 services pour leur patience avec mes cassettes de courrier...

À toutes les petites mains sans qui je serais encore perdue dans les sous-sols d'anatomopathologie, plongée dans les dossiers d'oncogénétique ou enfouie sous des statistiques indéchiffrables : *Karine Gordien, Samira Boukari, Edith Chipoulet, Chantal Darnau* et *Monia Ouali*.

À tous ceux qui m'ont permis d'échapper aux gastéropodes pendant mon internat toulousain, car il le faut bien !

À toute la fine équipe de premiers semestres rencontrés sur une certaine colline : le minimum pour passer le cap de cette année dans ma chambre obscure d'internat, à finir à 21 heures ! Et tout particulièrement à *Cécile*, ma fille du Nord au grand cœur, plus qu'une rencontre, une révélation... Une fille d'exception... Comment fais-tu pour toujours savoir quand j'ai besoin de toi ? Quel mot me remontera le moral ? Quelle faiblesse me guette ? MERCI !!! Sans oublier *Thomas* et *Stéphanie* (à quand la prochaine tartiflette après une balade en raquettes ou une descente à ski ?!), *Jo* (toi aussi on t'attend pour planter la tente ! D'ici là, prends bien soin de Gisèle et finis les AVC félins !), *Marie* (arrête de courir dans les pierriers !), *Pauline* (les Portes du Queyras, quel pied !) et *Vassilena* (tu ne te défileras plus comme ça pour les prochains week-end aventures !).

Aux ch'tarbais pour ces soirées mémorables qui finissaient inmanquablement dans la piscine ! Dédicaces particulières à *Leslie* (tu me manques... dis, tu reviens quand ?!), *Zozo* et *Zozo* (mais qui est qui ?!), *Franck* (alias Super Mario !) et *Mickaël* (beau gosse !).

Aux belles surprises enfouies aux sous-sols de l'ICR : *M. Rives* (merci pour les évasions en ski de rando devant les contourages d'ORL), *Sabrina* et *Anne* (des assistantes passionnées et passionnantes), et l'équipe de choc des internes : *Anne-Pascale* (explosive et si fragile à la fois... Tu veux bien encore chanter et danser pour moi s'il te plaît ?! Je suis fan !), *Caro* ou la délicatesse incarnée, *Julie* ou le mariage subtil d'une princesse et d'un chirurgien, *Laeticia* mon Kinder préféré... et sa moitié, *François*, un couple détonnant avec qui il fait bon sortir et se faire une bonne bouffe ! On vous attend de pied ferme dans nos montagnes pour essayer les nouveaux skis de François !
Et dans les étages de l'ICR aussi avec *Sarah*, un petit bout de femme que je vous recommande !

Aux inclassables

À *Marion*, tu es la plus délurée des internes toulousaines que je connaisse ! Autant sur les gardes que devant un bon verre de vin rouge, c'est toujours un plaisir de te croiser. Et avec *Zozo*, on vous attend à la maison quand vous voulez !

À *Roux-Du-Bouc*, coup de foudre amical au fin fond de l'Amazonie péruvienne... Pour ta phrase magique qui me fait encore sourire : « Camille, mais je ne connais pas de Camille ?! » (bien représentatif de la bulle singulière dans laquelle on vivait...). Et pour être là, tout simplement... Merci...

À *Ronan*, *Romy* et *Thibault* : Québec nous voilà !

À toutes les personnes croisées en Amérique du Sud sans qui ce voyage n'aurait pas été le même : les deux *Gauthier*, *Gigi*, *Hélène* et *Nadav*, *Adeline* et *François*, *Justine* et *Cyril*...

**EVALUATION DE LA PRATIQUE
DU « TEST RER » POUR LE
DEPISTAGE DU SYNDROME DE
LYNCH EN MIDI-PYRENEES :**

**Analyse rétrospective de
834 « tests RER »
réalisés consécutivement
entre 2007 et 2010.**

SOMMAIRE

Liste des abréviations	5
I. INTRODUCTION	6
A. Syndrome de Lynch : définition, épidémiologie, prise en charge	6
B. Evolution du dépistage du syndrome de Lynch et recommandations françaises 2004	10
C. Etude prospective en Midi-Pyrénées 1999-2006	12
D. Organisation du dépistage du syndrome de Lynch en Midi-Pyrénées depuis 2006	13
E. Etat du dépistage en France	13
F. Objectif de l'étude	13
II. MATERIEL ET METHODES	14
A. Population étudiée	14
a) Critères et période d'inclusion	
b) Critères d'exclusion	
B. Matériel et méthode de recueil des données	15
C. Test RER (<i>REplication ERROR</i>)	16
a) Immunohistochimie (IHC)	
b) Instabilité microsatellitaire (MSI)	
c) Interprétation du test RER	
D. Caractérisation moléculaire des tumeurs colorectales « RER+ » avec extinction MLH1	19
E. Recherche de mutations constitutionnelles des gènes MMR	20
F. Définitions utilisées	21
G. Analyses statistiques	22

III. RESULTATS	23
A. Description de la population	23
a) Caractéristiques cliniques de la population globale	
b) Localisations tumorales	
c) Caractéristiques anatomopathologiques des 657 tumeurs coliques	
d) Caractéristiques des 71 patients chez lesquels le test RER a été réalisé sur un polype colique	
B. Données relatives à la prescription du test RER	28
a) Premières demandes	
b) Secondes demandes	
C. Analyse du test RER et des outils de biologie moléculaire	31
a) Premières demandes	
b) Secondes demandes	
c) Mutations KRAS, BRAF et recherche d'hyperméthylation du promoteur de MLH1	
d) RER et MICI	
D. Devenir des patients après réalisation du test RER	36
a) Consultation d'oncogénétique	
b) Recherche de mutations constitutionnelles	
c) Conclusions de l'enquête oncogénétique	
1. Conclusions chez l'ensemble des patients vus en oncogénétique	
2. Conclusions pour les 106 patients « RER+ »	
2.1 Lynch certain	
2.2 Lynch suspecté	
2.3 Forme sporadique	
2.4 Syndrome X	
2.5 Polypose	
2.6 Enquête oncogénétique incomplète ou en cours	
d) « RER+ » non vus en oncogénétique : résultats des questionnaires envoyés au prescripteur	
e) Dépistage des apparentés	
f) Schéma récapitulatif de l'étude et de ses conclusions	
E. Caractéristiques cliniques et anatomopathologiques des « RER+ »	50
F. Comparaison des patients porteurs d'un syndrome de Lynch aux « RER+ » sporadiques	50
G. Comparaison des RER non évaluables et des RER évaluables	51
H. Comparaison des patients KRAS sauvage et KRAS muté	52
I. Comparaison des patients BRAF sauvage et BRAF muté	52

IV. DISCUSSION	53
A. Evaluation de la qualité de la prescription des tests RER en Midi-Pyrénées	53
a) Evaluation du nombre de tests RER prescrits	
b) Evaluation du respect des indications et des modalités de prescription	
c) Disparité de prescription entre les établissements	
d) Analyse des causes d'absence de consultation d'oncogénétique en cas de « RER+ »	
e) Mesures correctives envisagées	
B. Evaluation de la qualité du test RER et des outils de biologie moléculaire	59
a) Instabilité microsatellitaire (MSI)	
b) Immunohistochimie (IHC)	
c) Concordance des deux techniques MSI et IHC	
d) Délais d'analyse des résultats	
e) Outils de biologie moléculaire BRAF et hyperméthylation du promoteur de MLH1	
C. Identification des syndromes de Lynch	63
a) Diagnostic de Lynch à partir des cas index	
b) Diagnostic de Lynch à partir des apparentés	
V. CONCLUSION	67
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	68
ANNEXE 1 : Recommandations 2009 de prise en charge des patients porteurs d'un syndrome de Lynch	75
ANNEXE 2 : Critères d'Amsterdam et de Bethesda	76
ANNEXE 3 : Courrier envoyé au médecin référent et/ou prescripteur chez les patients « RER+ » non vus en consultation d'oncogénétique	78
ANNEXE 4 : Fiche de prescription de test RER sur Oncomip	80
RESUME EN ANGLAIS : Screening of Lynch syndrome: an analysis of medical practice including 786 patients	81

Liste des abréviations

BRCA : *BReast CAncer susceptibility gene*

CCR : Cancer ColoRectal

CHG : Centre Hospitalier Général

CHR : Centre Hospitalier Régional

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CLCC : Centre de Lutte Contre le Cancer

CNIL : Commission Nationale de l'Information et des Libertés

DCC : Dossier Communiquant de Cancérologie

EpCAM : *Epithelial Cell Adhesion Molecule*

EPP : Evaluation des Pratiques Professionnelles

FNCLCC : Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer

HNPCC : *Human Non Polyposis Colorectal Cancer*

ICR : Institut Claudius Regaud

IHC : ImmunoHistoChimie

INCa : Institut National du Cancer

JFHOD : Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive

KRAS : *Kirsten RA Sarcoma viral oncogene homolog*

LOH : *Loss Of Heterozygosity*

dMMR, pMMR et MMR : *deficient MisMatch Repair, proficient MisMatch Repair et MisMatch Repair*

MLPA : *Multiple Ligation-dependant Probe Amplification*

MSI : *MicroSatellite Instability* (ou IMS = Instabilité MicroSatellitaire)

MSS : *MicroSatellite Stable*

ONCOMIP : Réseau régional de cancérologie de Midi-Pyrénées

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

RER : *Replication ERror*

RGT : Réarrangements génomiques de Grande Taille

VPP : Valeur Prédictive Positive

I. Introduction

A. Le syndrome de Lynch : définition, épidémiologie, prise en charge

Le cancer colorectal (CCR) est le 3^{ème} cancer le plus fréquent en France et la 2^{ème} cause de décès par cancer (1). On estime que 20 à 30 % des CCR ont une composante familiale ou héréditaire, mais que seulement 5 % des cas sont associés à une mutation germinale et à une présentation clinique caractéristique (2-5).

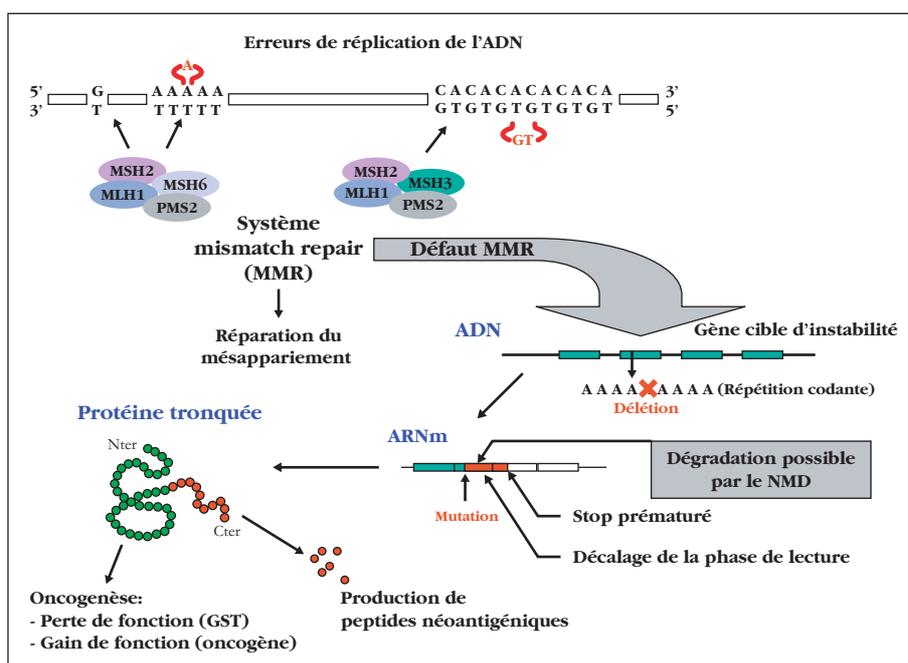
Les deux principales formes de prédisposition génétique aux cancers colorectaux sont :

- la polypose adénomateuse familiale ;
- le cancer colorectal héréditaire sans polypose (*Human Non Polyposis Colorectal Cancer* = HNPCC) qui comprend 2 entités qui ont longtemps été confondues, à tort :
 - le syndrome de Lynch ;
 - le syndrome X.

Le syndrome de Lynch est de transmission autosomique dominante. Il se caractérise par une mutation constitutionnelle d'un gène codant pour une des protéines du système MMR (*MisMatch Repair*), principalement MLH1 et MSH2, plus rarement MSH6, exceptionnellement PMS2. Plus récemment, il a été montré que le syndrome de Lynch pouvait également être dû à une délétion du gène EpCAM (*Epithelial Cell Adhesion Molecule*), aussi dénommé TACSTD1, qui entraîne une méthylation constitutionnelle du promoteur de MSH2 et son absence d'expression (6-8).

Les gènes du système MMR codent pour les protéines correspondantes, impliquées dans la réparation des erreurs de réplication de l'ADN. La mutation constitutionnelle d'un gène codant pour une de ces protéines conduit à la production d'une protéine non fonctionnelle. Lorsque la seconde copie du gène subit elle aussi une altération, la multiplication des erreurs de réplication, qui peuvent se localiser sur des gènes impliqués dans la voie de la cancérogénèse (*TGFβRII*, gène pro-apoptotique *BAX*, les facteurs de transcription *TCF-4* ou *E2F4* (9)), conduit à une augmentation du risque de voir apparaître des pathologies cancéreuses (cf. Figure 1).

Figure 1 : Inactivation du système MMR et ses conséquences (10)

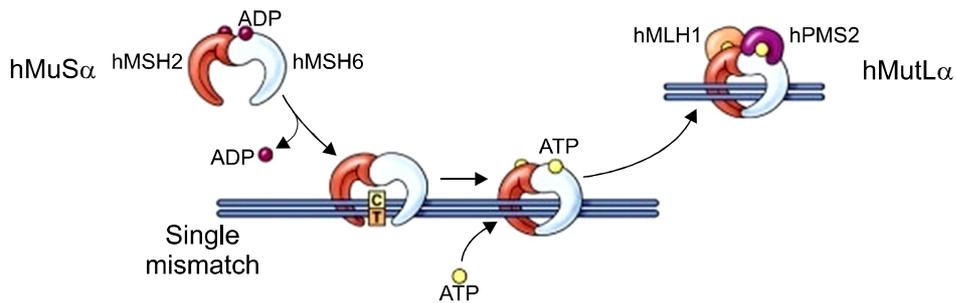


GST : gène suppresseur de tumeur, NMD : *nonsense mediated mRNA decay*, mécanisme de contrôle qualité des ARN messagers.

Ces altérations au niveau moléculaire se traduisent au niveau de la tumeur par un phénotype particulier appelé le phénotype dMMR (*deficient system MMR*, par opposition au pMMR, *proficient system MMR*), ou phénotype RER (*Replication Error*) associé au génotype MSI pour *MicroSatellite Instability* (= IMS, Instabilité MicroSatellitaire). Ce phénotype peut être recherché sur la tumeur par deux moyens.

- L'immunohistochimie (IHC) qui permet d'étudier sur une coupe histologique l'expression tissulaire des protéines MMR. À l'état normal, ces protéines sont exprimées dans le noyau de nombreuses cellules de l'organisme, qui servent ainsi de témoins internes positifs à la technique. En utilisant quatre anticorps dirigés contre les protéines MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2, dont les gènes correspondants sont mutés dans le syndrome de Lynch, on peut mettre en évidence une perte d'expression d'une de ces protéines dans les noyaux des cellules tumorales : cette perte d'expression signe le phénotype dMMR (ou « RER+ »). Les protéines du système MMR forment des hétérodimères fonctionnels : MLH1 et PMS2 forment MutL α , MSH2 et MSH6 forment MutS α (cf. Figure 2). Comme MLH1 et MSH2 sont des partenaires obligatoires dans leurs complexes respectifs, des anomalies dans leur expression entraînent une dégradation de leurs partenaires protéiques. Ainsi, une extinction de MLH1 va de pair avec une extinction de PMS2, une extinction de MSH2 va de pair avec une extinction de MSH6 (11,12). Il existe cependant de rares cas d'extinction isolée de MSH6 ou de PMS2, typiquement observés en cas de mutation constitutionnelle des gènes correspondants (13,14).

Figure 2 : Représentation simplifiée du fonctionnement du système MMR, adaptée de (4)



L'hétérodimère MSH2-MSH6 (=MutS α) reconnaît les mésappariements de l'ADN et se lie à l'ADN. L'hétérodimère MLH1-PMS2 (=MutL α) se lie ensuite à MutS α pour guider une exonucléase qui élimine plusieurs bases du brin d'ADN nouvellement synthétisé. La réplication peut alors reprendre avec appariement de bases correctes.

- L'instabilité microsatellitaire (MSI) : les microsatellites sont des séquences génomiques de longueur variable, faites de motifs simples mono, bi, tri ou tétra-nucléotidiques répétés en tandem. Ces séquences sont réparties dans le génome, essentiellement dans des régions non codantes mais également au sein de séquences codantes, et n'ont pas de rôle précis identifié. Ces séquences de microsatellites sont fréquemment le siège d'erreurs lors de la réplication de l'ADN : les mésappariements y sont fréquents, ces séquences nucléotidiques en tandem favorisant le glissement de l'ADN-polymérase. Lors du fonctionnement cellulaire normal, ces erreurs d'appariement sont réparées grâce aux protéines issues des gènes MMR (*pMMR = proficient system MMR*). Quand le système MMR dysfonctionne (*dMMR = deficient system MMR*), la cellule n'a plus la capacité de réparer les mésappariements de l'ADN qui découlent de ces erreurs de réplication. Ces variations de séquence au niveau des microsatellites, identifiables par une technique de biologie moléculaire de réaction en chaîne par polymérase (PCR), définissent l'instabilité microsatellitaire (IMS), en anglais *MicroSatellite Instability* (MSI). Il s'agit d'une technique bien standardisée mais qui nécessite un plateau technique de biologie moléculaire.

Ce phénotype tumoral RER, que l'on nommera « RER+ » dans la suite de l'exposé, est présent dans les tumeurs colorectales appartenant au syndrome de Lynch mais également dans 12 à 15 % des CCR sporadiques (15). Les CCR de phénotype « RER+ » sont donc majoritairement sporadiques, et ce phénotype est alors la conséquence d'une inactivation somatique bi-allélique du gène MLH1 induite par l'hyperméthylation de son promoteur (16,17). Il s'oppose au phénotype LOH (*Loss Of Heterozygosity*), qui constitue l'autre voie de la cancérogénèse et qui est impliqué dans la majorité des CCR (85 à 88 %). Ce phénotype LOH correspond à une instabilité chromosomique caractérisée par des anomalies numériques et structurales des chromosomes (18).

Le syndrome de Lynch prédispose aux CCR mais aussi aux cancers de l'endomètre, de l'intestin grêle et des voies urinaires hautes (spectre tumoral étroit), et expose à un

risque plus faible de cancers de l'ovaire, de cancers de l'estomac, de glioblastomes (syndrome de Turcot), de carcinomes sébacés (syndrome de Muir-Torre) et de cancers des voies biliaires (spectre tumoral large).

Bien que les études initiales réalisées dans les familles atteintes de syndrome de Lynch aient évalué à 70-80 % le risque de développer un CCR (15,19), les études plus récentes suggèrent un risque cumulé de 27 à 45 % de cancer du côlon chez les hommes et de 22 % à 38 % chez les femmes, avec un âge médian au diagnostic de 61,2 ans (20-23).

En ce qui concerne le risque de cancer de l'endomètre, le risque est évalué entre 32 % et 42 % (20-22). L'âge médian au diagnostic est de 62 ans.

Pour les autres localisations, le sur-risque est plus faible mais bien établi (15,19,24).

L'identification des sujets porteurs du syndrome de Lynch est importante puisqu'il a été montré qu'une surveillance coloscopique intensive de ces sujets permettait une réduction de la mortalité liée au CCR de l'ordre de deux tiers (25-27). Une surveillance gynécologique est également recommandée, bien que l'efficacité de celle-ci n'ait pas été démontrée par des études de qualité méthodologique similaire (28-30). Les recommandations précises de l'INCa publiées en 2009 concernant la prise en charge des personnes porteuses d'un syndrome de Lynch sont rappelées dans l'Annexe 1 (31).

Une fois identifiée la mutation chez le cas index (1^{ère} personne identifiée comme porteuse de la mutation constitutionnelle), sa recherche chez les apparentés (= test prédictif) permet, d'une part d'étendre ces mesures de dépistage à tous les membres de la famille identifiés comme porteurs de l'anomalie génétique, et d'autre part de soustraire les sujets indemnes à cette surveillance astreignante, inadaptée à leur niveau de risque qui est celui de la population générale. Cette étape se réalise dans le cadre d'une consultation d'oncogénétique spécifique.

Le syndrome X est la seconde forme de CCR héréditaire sans polypose (HNPCC). Initialement, la définition du syndrome HNPCC s'est faite sur des critères cliniques et familiaux, les critères d'Amsterdam I et II (cf. Annexe 2) que nous détaillerons au paragraphe suivant. Cependant, quand de larges cohortes ont été analysées à la recherche de mutations constitutionnelles des gènes MMR, ces critères se sont montrés imprécis avec seulement 46 % de patients ayant un phénotype « RER+ » ou une mutation d'une des protéines MMR (32,33). Certains auteurs ont donc proposé de distinguer le syndrome de Lynch d'un autre syndrome, dit « syndrome X », dans lequel la présentation clinique et familiale est compatible avec une origine génétique héréditaire dont les mécanismes précis ne sont pas identifiés à l'heure actuelle (32,34-36). Dans cette définition, le syndrome X ne présente donc pas le phénotype tumoral « RER+ » du syndrome de Lynch. Le syndrome X est indubitablement un groupe hétérogène, et des études complémentaires sont nécessaires pour préciser les causes génétiques de ce syndrome.

Il est important de différencier les deux formes de HNPCC car le syndrome X exposerait aux CCR, mais de façon moins agressive et à un âge de survenue plus tardif

que le syndrome de Lynch. En outre, le syndrome X n'exposerait pas aux autres cancers du spectre tumoral de Lynch (34). Un allègement de la surveillance et de la prise en charge de ces patients pourrait donc être envisagé, comme le proposent déjà certains auteurs (34,37).

B. Evolution du dépistage du syndrome de Lynch et recommandations françaises 2004

Le syndrome de Lynch représenterait environ 2 à 4 % des CCR mais il reste largement sous-diagnostiqué du fait de l'absence de présentation colique (ou extra-colique) pré-morbide rendant difficile l'identification des sujets porteurs de l'anomalie génétique.

En témoigne le nombre de publications à ce sujet et l'évolution au cours des dernières années des différents moyens de dépistage mis en place :

- Les critères d'Amsterdam I et II (cf. Annexe 2) : en 1991, le Groupe de Collaboration International sur le syndrome HNPCC s'est réuni pour la première fois à Amsterdam afin de développer des critères cliniques et familiaux stricts et ainsi d'homogénéiser les travaux sur le sujet (38). Ces critères ont été révisés en 1999 (critères d'Amsterdam II), afin d'ajouter dans la définition les cancers extra-coliques, non inclus dans les critères d'Amsterdam I (39). Mais ces critères restent peu sensibles dans la détection du syndrome de Lynch et également peu spécifiques. Par exemple, 43 % seulement des porteurs d'un syndrome de Lynch remplissent les critères d'Amsterdam I ou II (12,40) et environ 46 % des patients répondant aux critères d'Amsterdam I ou II ne sont pas porteurs d'une mutation du système MMR (33,34).
- Les critères de Bethesda (cf. Annexe 2) : en 1996, un travail international a été mené pour améliorer la sensibilité de détection des patients porteurs d'une mutation sur un gène MMR. Les critères originaux (41) puis révisés (42) ont été établis dans le but de sélectionner, chez les patients atteints de CCR, une sous-population dans laquelle réaliser un test tumoral RER (à l'époque, uniquement par instabilité microsatellitaire). Les insuffisances de ces critères ont par la suite été soulignées : mauvaise reproductibilité des critères histologiques ; difficulté d'utilisation par les cliniciens de ces critères trop nombreux et complexes ; manque de sensibilité également, puisque des études américaines et françaises récentes menées chez des patients porteurs de CCR non sélectionnés ont montré que la sensibilité des critères de Bethesda révisés était de l'ordre de 70 % (33,43-45) .
- Recommandations françaises 2004 : Devant le constat de ces difficultés et l'insuffisance du taux de dépistage du syndrome de Lynch, un groupe

d'experts français réuni à la demande du ministère de la Santé a rédigé un document qui propose (46) (cf. Figure 3 ci-dessous) :

- Une stratégie en 2 étapes pour les patients de 40 à 60 ans avec :
 - Réalisation première d'un test RER sur toute tumeur du spectre de Lynch associée à :
 - un âge au diagnostic inférieur à 60 ans,
 - ou un antécédent familial au 1^{er} degré d'une tumeur appartenant au spectre de Lynch.
 - En cas de positivité du test RER, indication à une consultation d'oncogénétique pour réaliser une analyse constitutionnelle des gènes du système MMR.
- Ou une consultation d'oncogénétique d'emblée pour les cas fortement suspects chez des patients atteints d'une tumeur du spectre de Lynch associée à :
 - un âge au diagnostic inférieur à 40 ans,
 - ou un antécédent personnel de CCR ou de cancer de l'endomètre,
 - ou présence des critères d'Amsterdam II.

Figure 3 : Recommandations françaises 2004 pour le dépistage du syndrome de Lynch (46)

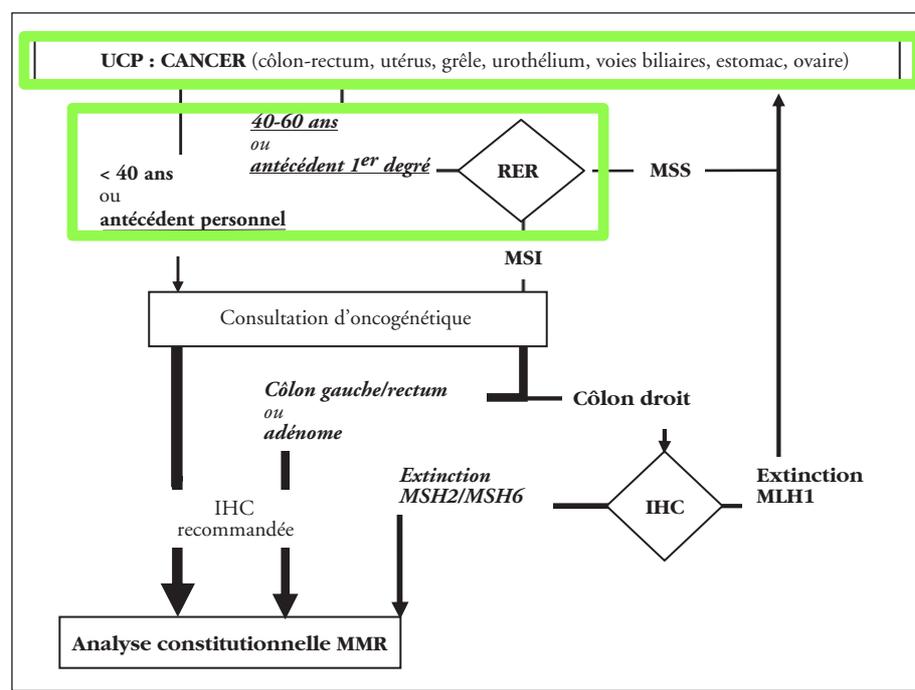


Figure 1. Indications de consultation d'oncogénétique et d'analyse génétique constitutionnelle des gènes MMR. Les indications d'analyse faisant intervenir exclusivement des critères cliniques sont indiquées en gras ; celles faisant appel à des critères biologiques sont indiquées en italique. Les indications de consultation sont rappelées dans la partie supérieure.

MSS : microsatellite stable ; MSI : microsatellite instable ; IHC : immuno histochimie ; UCP : unité de consultation multidisciplinaire de cancérologie.

Ces recommandations sont toujours d'actualité en France et sont reprises dans le Thésaurus National de Cancérologie Digestive (47).

De plus, 1 sujet sain sur 2700 à 3000 serait porteur d'un syndrome de Lynch (15,48,49). Ces chiffres soulignent encore une fois l'importance du dépistage des cas index, qui permettrait d'identifier ces porteurs sains parmi leurs apparentés.

Cependant, à ce jour, aucune enquête de pratique n'a évalué de façon exhaustive l'application de ces recommandations en France.

C. Etude prospective en Midi-Pyrénées 1999-2006 (50)

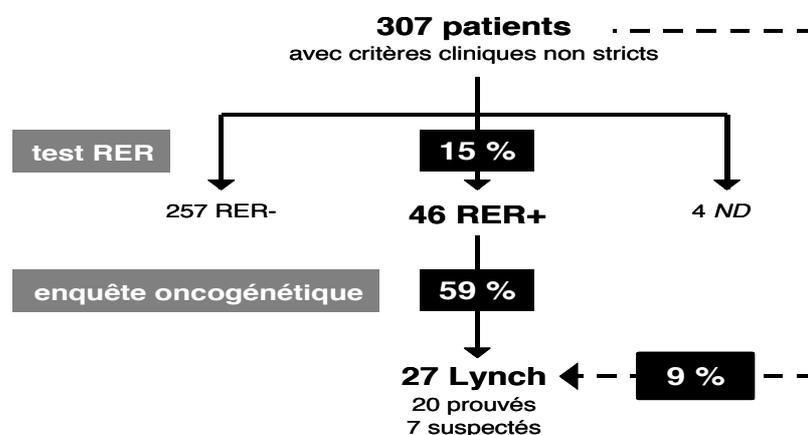
De 1999 à 2006, une étude prospective a été menée en Midi-Pyrénées, coordonnée par le Pr GUIMBAUD et le Pr SELVES et dont les résultats ont fait l'objet de la thèse du Dr BONNET (51).

307 patients pris en charge pour CCR en Midi-Pyrénées ont été inclus de façon prospective lorsqu'ils présentaient soit un âge inférieur à 50 ans, soit un antécédent personnel ou familial au 1^{er} degré de CCR ou de cancer de l'endomètre. Un test RER était réalisé chez tous, comprenant IHC et recherche de MSI. Une consultation d'oncogénétique était proposée aux patients avec un phénotype tumoral « RER+ » afin de rechercher une mutation au sein du système MMR.

Une telle stratégie a permis d'identifier un sous-groupe de patients « RER+ » au sein duquel 59 % étaient porteurs d'un syndrome de Lynch (cf. Figure 4 ci-dessous). Chez la plupart d'entre eux, ce diagnostic n'était pas cliniquement évident. Cette stratégie de dépistage, simple et permettant de diagnostiquer un nombre élevé de sujets porteurs du syndrome tout en limitant le nombre d'analyses génétiques inutiles, a donc été appliquée par la suite dans notre région.

À signaler toutefois un pourcentage non négligeable de patients avec un test « RER+ » non vus en consultations (20 %), sans raison évidente et ce malgré des relances de la part des investigateurs.

Figure 4 : Résultats de l'étude menée en Midi-Pyrénées de 1999 à 2006 (N=307)



ND= non déterminé

D. Organisation du dépistage du syndrome de Lynch en Midi-Pyrénées depuis 2006

Depuis cette étude, les demandes de test RER dans la région Midi-Pyrénées sont faites hors recherche clinique par les praticiens (oncologues, gastro-entérologues, chirurgiens digestifs...) selon les mêmes critères (en dehors du critère « âge moins de 50 ans » qui a été étendu à « âge moins de 60 ans ») grâce à des fiches de prescription dédiées. Ces demandes sont envoyées au laboratoire d'anatomopathologie ayant analysé le prélèvement tumoral, qui doit ensuite transmettre ces échantillons et la feuille de prescription à la plateforme régionale de génétique moléculaire des cancers (laboratoire du CHU de Toulouse). Pour finir, les résultats sont envoyés directement au médecin prescripteur qui décide ensuite de la prise en charge ultérieure.

E. Etat du dépistage en France

Malgré les recommandations émises en 2004 et la diffusion des pratiques du test RER, le rapport sur l'activité d'oncogénétique française de 2010 publié par l'INCa suggère que le nombre de cas de syndrome de Lynch diagnostiqués reste globalement stable depuis 2003 (entre 200 et 260 cas index identifiés par an), bien inférieur au taux estimé (800 à 1200 par an) (52).

Un article récent rapportant les résultats des premières expériences françaises révèle les difficultés de réalisation du processus global de dépistage, qui implique la coordination et la motivation de tous les acteurs (clinicien, anatomopathologiste, biologiste, oncogénéticien) (53).

Les résultats de ces études françaises sont tout à fait comparables aux données retrouvées dans la littérature internationale (54–58).

F. Objectif de l'étude

Devant ces constatations, il nous a paru indispensable de mieux évaluer les pratiques médicales en termes de réalisation des tests RER, afin de mesurer leur efficacité et leurs limites.

L'objectif principal de notre étude est donc d'évaluer l'application et la rentabilité diagnostique des recommandations de dépistage du syndrome de Lynch dans la région Midi-Pyrénées, en pratique courante et non plus dans le cadre d'une démarche prospective de recherche clinique.

Les objectifs secondaires de notre étude sont d'identifier les freins à la bonne application des recommandations et ainsi de proposer des solutions correctives.

II. Matériel et méthodes

A. Population étudiée

a) Critères et période d'inclusion

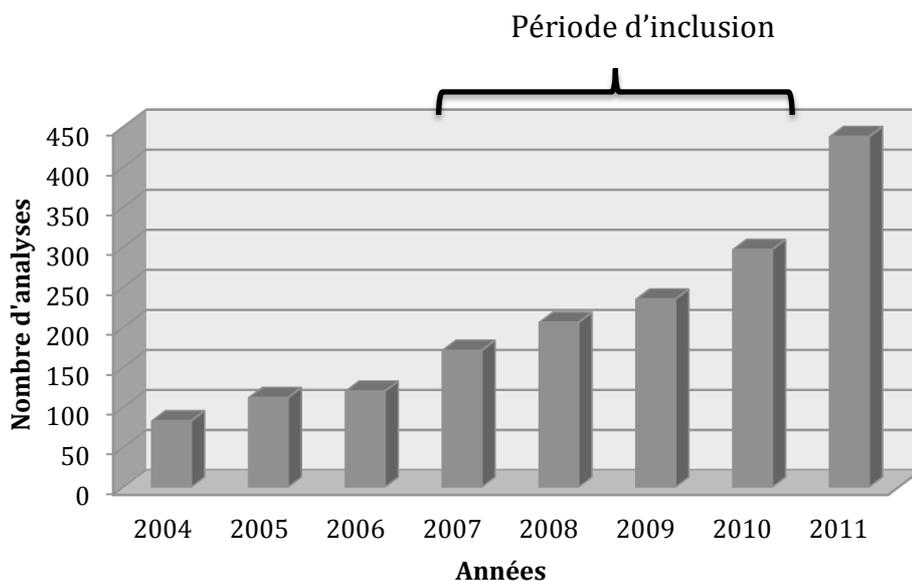
Toutes les prescriptions de test RER réalisées entre janvier 2007 et juin 2010 au CHU de Toulouse, sur des tumeurs coliques ou extra-coliques, ont été incluses dans notre étude. Comme nous l'avons vu ci-dessus, le CHU de Toulouse centralise toutes les demandes de test RER de la région Midi-Pyrénées, exception faite d'un seul laboratoire d'anatomie pathologique à Montauban qui réalise seulement une étude immunohistochimique (laboratoire non inclus dans notre étude).

Cette période d'inclusion a été déterminée selon 2 paramètres.

- Premièrement, le début de la période d'inclusion commence à la fin de l'étude prospective réalisée dans la région Midi-Pyrénées entre 1999 et fin 2006. Ainsi, l'évaluation de l'application des recommandations a été faite en situation de pratique courante.
- Deuxièmement, la fin de la période d'inclusion a été déterminée afin d'avoir un recul d'au moins 24 mois après les derniers patients inclus, soit en juin 2010. Ce recul a été jugé nécessaire et suffisant pour que les patients puissent être adressés en consultation d'oncogénétique et que les analyses génétiques indiquées soient réalisées.

Le graphique 1 représente l'évolution du nombre de tests RER prescrits depuis 2004 dans la région Midi-Pyrénées.

Graphique 1 : Nombre de tests RER prescrits en Midi-Pyrénées depuis 2004 (biologie moléculaire +/- immunohistochimie, sans compter IHC seule)



b) Critères d'exclusion

Certaines demandes de test RER ont été exclues de notre analyse :

- antécédent connu, personnel ou familial, de syndrome de Lynch,
- réalisation d'une immunohistochimie comme aide au diagnostic différentiel entre adénocarcinome colique et adénocarcinome d'une autre localisation,
- demande de test RER « anecdotique » ou inadéquate par le clinicien : cancer du sein, polype de Peutz-Jeghers.

B. Matériel et méthode de recueil des données

Les données ont été recueillies à partir d'une base prospective de données centralisant tous les CCR et toutes les demandes de tests RER de la région depuis 1999. Cette base est déclarée à la CNIL (déclaration n°1365952).

La base a été vérifiée puis complétée en rétrospectif pour certaines informations manquantes grâce au dossier anatomopathologique informatisé (APIX), aux dossiers médicaux informatisés du CHU de Toulouse (ORBIS), du Centre de Lutte Contre le Cancer de Toulouse l'Institut Claudius Regaud (MEDAR), et grâce au dossier communiquant de cancérologie (DCC) géré par le Réseau régional de cancérologie de Midi-Pyrénées, Oncomip.

Les données recueillies s'articulaient autour de 4 points :

- données cliniques et anatomopathologiques : âge au diagnostic, sexe, antécédents personnels et familiaux de CCR ou de cancer de l'endomètre, localisation tumorale, données anatomopathologiques ;
- données relatives à la prescription du test RER : date de la demande, spécialité et lieu d'exercice du prescripteur, indication du test ;
- test RER : nombre de tests réalisés, matériel tumoral utilisé (tumeur primitive ou métastase, biopsie ou prélèvement chirurgical), méthode d'analyses (IHC et/ou MSI), résultats, délai d'analyse ;
- suivi des patients après réalisation du test RER : consultation d'oncogénétique, délai entre les résultats du test RER et la consultation, analyse constitutionnelle des gènes MMR, conclusion de l'enquête oncogénétique et nombre d'apparentés dépistés pour chaque syndrome de Lynch diagnostiqué.

En cas de phénotype « RER+ » et d'absence de consultation d'oncogénétique, un courrier était envoyé au médecin référent et/ou au prescripteur pour identifier les raisons de cette absence de consultation (cf. Annexe 3). En l'absence de réponse dans les 3 mois, un courrier de relance était envoyé.

C. Test RER (*Replication Error*)

L'ensemble des analyses a été réalisé dans le cadre de la pratique courante sur la plateforme régionale de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée INCa depuis 2006. L'interprétation et la validation des résultats y sont effectuées par le Pr J. Selves (responsable des analyses moléculaires des tumeurs digestives de la plateforme).

Dans la majorité des cas, les deux techniques sont réalisées, immunohistochimie et instabilité microsatellitaire. Toutefois, dans certains cas, seule l'instabilité microsatellitaire est réalisée, notamment chez des patients âgés de 50 à 60 ans sans antécédent familial ou personnel de cancer du spectre de Lynch ou bien quand seule de la tumeur congelée est adressée à la plateforme.

a) Immunohistochimie (IHC)

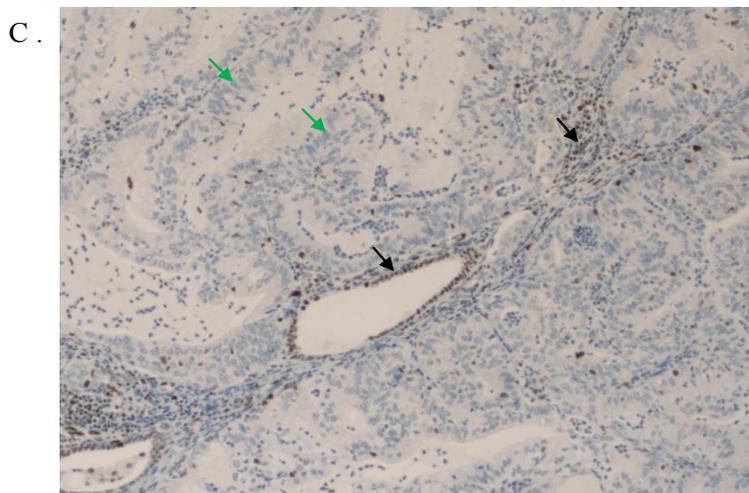
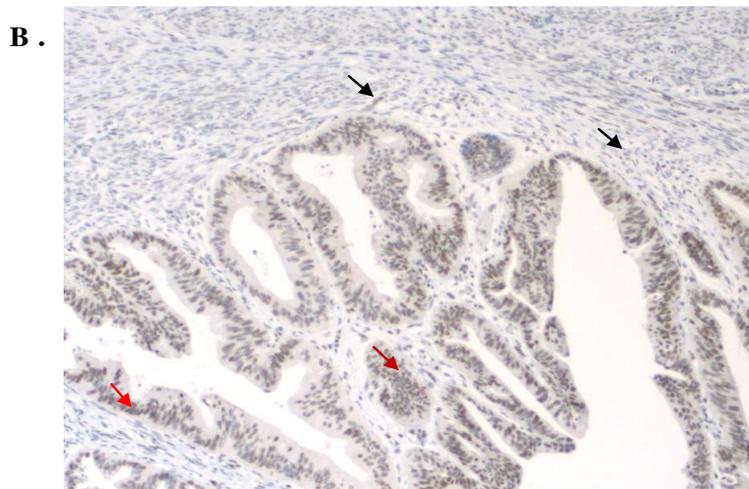
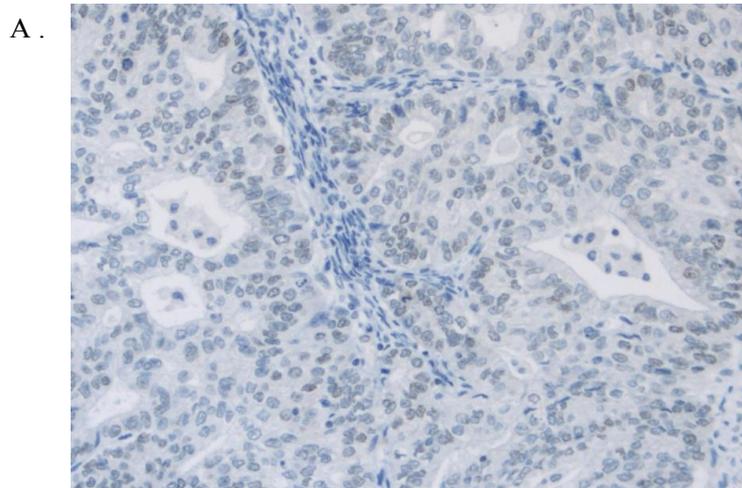
L'étude immunohistochimique est réalisée sur des lames de tissu inclus en paraffine de 4 µm d'épaisseur. Après déparaffinage et réhydratation, les lames sont prétraitées pour permettre le démasquage antigénique, puis sont incubées en présence de chacun des anticorps monoclonaux en suivant les recommandations du fabricant. Une étude en immunoperoxydase avec le système d'amplification ABC (*Dako*) est appliquée (cf. Figure 5).

L'étude de l'expression des protéines MLH1, MSH2 et MSH6 est réalisée systématiquement.

L'étude de PMS2 a été réalisée pour la grande majorité des demandes mais n'est devenue systématique qu'à partir de février 2008.

Figure 5 : Etude immunohistochimique avec anticorps anti-MLH1

- A. Marquage faible de MLH1 dans les cellules tumorales.
- B. Marquage positif des cellules tumorales (flèches rouges) pour MLH1 avec présence de témoins internes (flèches noires).
- C. Marquage négatif des cellules tumorales pour MLH1 (flèches vertes) avec présence de témoins internes.



b) Instabilité microsatellitaire (MSI)

Le panel recommandé de 5 marqueurs mononucléotidiques quasi-monomorphiques, BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-22 et NR-24, est utilisé (59).

La première étape de la recherche d'instabilité microsatellitaire est l'extraction de l'ADN tumoral après macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales à partir des coupes de tumeur, congelée ou fixée puis incluse en paraffine. L'ADN extrait est ensuite amplifié par Pentaplex-PCR avec, pour chaque marqueur microsatellitaire, un couple d'amorces dont l'une est marquée en 5' par un fluorochrome de couleur distincte. La taille des produits d'amplification est analysée à l'aide d'un séquenceur d'ADN fluorescent (Beckman Coulter®).

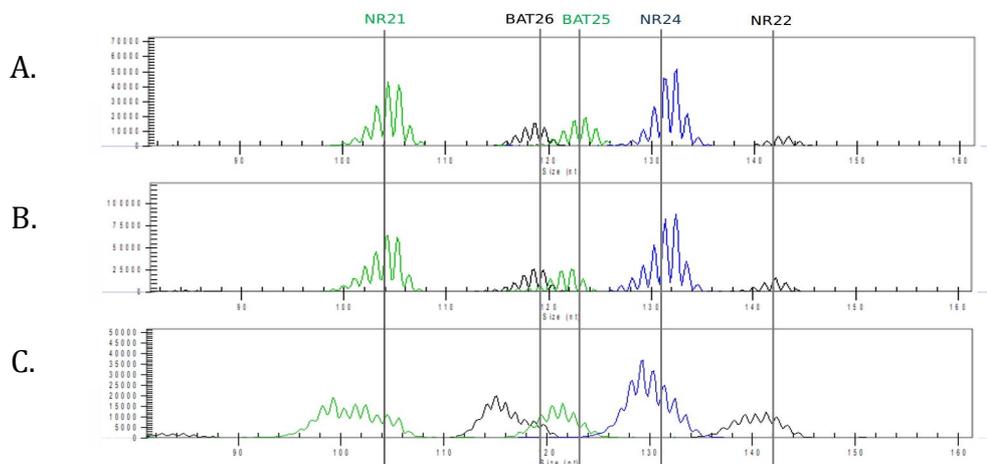
Conformément aux recommandations, une tumeur est dite « instable » si au moins 2 des cinq microsatellites testés sont instables. On parle alors de tumeur avec instabilité de haut niveau (*MSI-High*), par opposition aux tumeurs stables (*MSS*) ou de bas niveau (*MSI-Low*), c'est à dire avec un seul microsatellite instable sur les 5 testés (cf. Figure 6 ci-dessous).

S'il existe un doute concernant l'interprétation d'un profil microsatellitaire, de l'ADN de tissu normal est extrait afin de comparer ce dernier à l'ADN tumoral. Cette étape supplémentaire permet de faire la différence entre *MSI-Low*, lorsqu'un seul microsatellite semble instable, ou vrai polymorphisme lorsque le profil de l'ADN normal est comparable à l'ADN tumoral.

Si aucun signal n'est observé, un contrôle de l'amplification de plusieurs séquences domestiques de l'ADN (multiRAF-PCR) est réalisé pour vérifier la qualité de l'ADN extrait. Si ces séquences également ne sont pas amplifiées, l'ADN est alors considéré comme dégradé (par le fixateur) et non utilisable pour ces analyses moléculaires.

Figure 6 : Etude de l'instabilité microsatellitaire avec le panel Pentaplex

A. Profil stable (*MSS*). B. Profil « *MSI Low* » (sur BAT-25). C. Profil « *MSI High* ».



c) Interprétation du test RER

Au final, le test RER est considéré comme :

- positif (« RER+ ») en cas de MSI de haut niveau (*MSI-High*) et/ou d'une perte d'expression d'une protéine du système MMR en IHC,
- négatif (« RER- »)
 - s'il n'existe pas d'instabilité microsatellitaire (*MSS*) et un maintien d'expression des protéines MMR,
 - ou en cas de phénotype *MSS* sans évaluation des protéines MMR en IHC,
 - ou en cas de maintien d'expression des protéines MMR sans évaluation du statut MSI,
 - les tumeurs *MSI-Low* ont été intégrées dans le groupe *MSS*, conformément au consensus (42),
- non contributif quand aucune des 2 techniques n'a été faisable ou réalisable,
- discordant quand il existait une instabilité microsatellitaire sans extinction d'une protéine MMR en IHC ou une extinction d'une protéine MMR sans instabilité microsatellitaire.

D. Caractérisation moléculaire des tumeurs colorectales « RER+ » avec extinction MLH1

Afin de préciser l'origine somatique ou héréditaire des tumeurs colorectales « RER+ » avec extinction MLH1, deux outils validés sont à notre disposition. Dans les tumeurs extra-coliques, ces outils sont en cours d'évaluation.

Premièrement, il est démontré que dans les cas de tumeurs colorectales « RER+ » avec extinction MLH1, la présence d'une mutation de BRAF V600E est quasi pathognomonique d'une tumeur sporadique. En effet, dans une revue de la littérature récente, une mutation des protéines du système MMR n'a été retrouvée que parmi 1,4 % des patients « RER+ » avec une mutation BRAF (60) . L'incorporation de la recherche de cette mutation dans l'algorithme d'investigation du syndrome de Lynch a donc été recommandée (61,62), permettant de diminuer le recours aux analyses génétiques. Elle est présente dans environ 10 à 15 % des CCR mais dans 40 % des CCR « RER+ » (63,64).

Dans notre étude, cette mutation BRAF V600E a donc été recherchée dans certaines tumeurs « RER+ » avec extinction MLH1, soit à la demande de l'oncogénéticien soit par l'anatomopathologiste responsable de la biologie moléculaire des tumeurs digestives sur la plateforme Midi-Pyrénées. Cette recherche est faite par amplification allélique spécifique à l'aide de sondes Taqman sur un appareil de PCR temps réel (LC480, ROCHE®).

Le deuxième outil permettant de caractériser ces tumeurs « RER+ » avec extinction MLH1 est la recherche d'hyperméthylation du promoteur de MLH1, disponible sur la plateforme Midi-Pyrénées depuis fin 2009. Cette hyperméthylation, lorsqu'elle est effectuée sur la région C (région proximale = 3') du promoteur de MLH1, est fortement évocatrice d'une tumeur sporadique mais doit être interprétée avec prudence. En effet, il existe tout de même 5,5 % d'authentiques syndromes de Lynch chez ces patients « RER+ » avec hyperméthylation du promoteur de MLH1 selon une revue de la littérature récente (60). Chez ces patients, l'hyperméthylation du promoteur de MLH1 pourrait être soit le « second hit » (= second événement génétique inactivant l'allèle sain du gène MLH1) soit une hyperméthylation constitutionnelle du promoteur de MLH1. En effet, des études récentes montrent qu'il existe des mutations constitutionnelles du promoteur de MLH1, transmissibles ou de novo, chez des patients porteurs d'un syndrome de Lynch (65–68). Ces dernières s'opposent aux mutations somatiques du promoteur de MLH1, non héréditaires, et beaucoup plus fréquentes.

Dans notre étude, la recherche de la méthylation du promoteur de l'ADN est effectuée par une technique de MS-PCR (PCR spécifique de méthylation) mise au point dans la plateforme depuis 2009 (adaptée du protocole de Park (69)). Après traitement par bisulfite de l'ADN, deux couples d'amorces spécifiques du promoteur non méthylé et du promoteur méthylé, marquées par un fluorochrome, sont utilisés pour l'amplification des brins d'ADN méthylés et non méthylés. Après migration sur séquenceur capillaire, on détecte deux amplicons de taille différente : l'un correspond à la séquence promotrice de MLH1 méthylée et l'autre correspond à la séquence non méthylée. Ceci permet de classer les tumeurs en deux groupes : méthylation du promoteur de MLH1 et promoteur de MLH1 non méthylé.

E. Recherche de mutations constitutionnelles des gènes MMR

Chez les patients vus en consultation d'oncogénétique, les mutations constitutionnelles de gènes MMR sont recherchées, conformément aux recommandations et après consentement éclairé :

- chez tous les patients « RER+ », quels que soient l'âge et le contexte, sauf en cas d'extinction MLH1 avec mutation BRAF V600E,
- chez tous les patients de moins de 40 ans ou présentant les critères d'Amsterdam, qu'ils soient « RER+ » ou « RER- »,
- chez les patients ayant un phénotype RER non évaluable et suspects d'être porteurs d'un syndrome de Lynch (âge jeune et/ou antécédent personnel ou familial de cancer du spectre de Lynch).

Chez le cas index, cette recherche de mutation est guidée par l'IHC avec un séquençage direct des exons et des régions introniques adjacentes des gènes par la technique de Sangers sur ABI3130XL. Cette recherche est effectuée au laboratoire d'oncogénétique de l'Institut Claudius Regaud (ICR). Si une mutation est retrouvée, son résultat est confirmé par une seconde analyse de sang indépendante.

En l'absence de mutation retrouvée, cette recherche est complétée par une recherche de réarrangements génomiques de grande taille (RGT) (par qPCR sur LC480 ou par des kits MLPA) ou une recherche de délétion TACSTD1/EpCAM en cas d'extinction de MSH2 en IHC (par MLPA).

Ces recherches ont été effectuées au CHU de Rouen puis à l'ICR (premiers résultats de RGT MLH1 en décembre 2009, de RGT MSH2 en mai 2010 et d'EpCAM en avril 2012). En effet, des délétions de la région C-terminale du gène TACSTD1/EpCAM, localisées dans la région 5' du gène MSH2, ont été récemment mises en évidence, avec pour conséquence la méthylation du promoteur du gène MSH2 et son absence d'expression. Ces délétions sont donc également responsables de syndromes de Lynch (6-8,66).

Si l'ensemble de ces analyses est négatif, en cas de forte suspicion clinique, une nouvelle recherche de mutation est effectuée sur un deuxième prélèvement sanguin indépendant pour un test d'identité qui permet de s'affranchir d'erreur d'étiquetage de tube, par exemple. Si le contrôle d'identité est satisfaisant, selon le degré de suspicion clinique, il est parfois décidé de refaire l'analyse globale au cas où une mutation aurait été omise.

Pour les apparentés, le test prédictif se fait toujours sur deux prélèvements sanguins indépendants, conformément aux recommandations du « Groupe Génétique et Cancer » de la FNCLCC.

F. Définitions utilisées

Au terme des analyses tumorales (IHC, MSI, mutation BRAF, hyperméthylation du promoteur de MLH1) et constitutionnelles (recherche de mutation des gènes MMR et/ou EpCAM), les patients vus en consultation d'oncogénétique ont été classés en 6 catégories, après présentation en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP) d'Oncogénétique pour les cas difficiles.

- Syndrome de Lynch certain :
 - patient porteur d'une mutation délétère d'un gène codant pour une des protéines MMR,
 - ou patient avec une tumeur « RER+ » par extinction MSH2 et MSH6 sans mutation retrouvée.
- Syndrome de Lynch fortement suspecté : patient jeune et/ou présentant des antécédents familiaux évocateurs avec une tumeur « RER+ » par extinction MLH1 et PMS2, sans mutation BRAF, sans hyperméthylation du promoteur de MLH1, et sans mutation constitutionnelle identifiée. Discussion systématique de ces dossiers en RCP.

- Tumeur sporadique certaine :
 - tumeur « RER- » chez un patient sans critères d'Amsterdam,
 - ou tumeur « RER+ » par extinction MLH1 et PMS2 associée à une mutation de BRAF et/ou une hyperméthylation du promoteur MLH1,
 - ou tumeur « RER+ » chez des patients âgés sans contexte familial évocateur, par extinction MLH1 et PMS2, sans mutation BRAF¹, sans hyperméthylation du promoteur de MLH1² et sans mutation constitutionnelle identifiée. Discussion systématique de ces dossiers en RCP,
 - ou tumeur dont le RER n'est pas évaluable sans mutation constitutionnelle identifiée, sans contexte personnel ou familial évocateur de syndrome de Lynch.
- Syndrome X: tumeur « RER- » chez un patient avec des critères d'Amsterdam, sans mutation constitutionnelle identifiée.
- Polypose chez des patients avec une mutation MYH identifiée et/ou des caractéristiques cliniques, familiales et histologiques de polypose sans mutation retrouvée à l'heure actuelle.
- Patients inclassables du fait d'une enquête oncogénétique incomplète ou en cours.

G. Analyses statistiques

La mise à plat des données a permis de vérifier leur qualité et des corrections ont été apportées par un retour aux dossiers.

Les caractéristiques de la population d'étude ont été décrites :

- les variables qualitatives seront présentées pour la population globale ou par groupe : nombre de données manquantes, nombre et pourcentage pour chaque modalité de la variable,
- les données quantitatives seront présentées pour la population globale ou par groupe de la façon suivante: nombre de données manquantes, moyenne, variance, écart-type, minimum, maximum, médiane, quartiles.

La comparaison entre les différents groupes à étudier (« RER+ » et « RER- », Lynch et non Lynch, etc.) sera faite par le test du χ^2 ou le test exact de Fischer pour les variables qualitatives et par le test de t de Student ou le test de Mann Whitney pour les variables quantitatives.

¹ Pas de mutation BRAF ou mutation BRAF non analysée/non analysable

² Pas d'hyperméthylation du promoteur de MLH1 ou méthylation non analysée/non analysable

III. Résultats

A. Description de la population

a) Caractéristiques cliniques de la population globale

Entre janvier 2007 et juin 2010, 834 demandes de test RER ont été faites dans notre région. 12 demandes ont été exclues (6 syndromes de Lynch déjà connus, 3 en raison d'une IHC utilisée comme outil au diagnostic différentiel anatomopathologique et 3 pour des demandes de test RER « anecdotiques » de la part du clinicien (cancer du sein, tumeur endocrine, polype de Peutz-Jeghers)).

Sur les 822 demandes analysées, 786 patients ont été inclus dont 36 pour lesquels 2 demandes ont été faites pendant la période d'inclusion.

En 2007, il y a eu 227 demandes (53 en fin d'année 2006 enregistrées en 2007 et 174 en 2007), 195 en 2008, 232 en 2009 et 131 sur les 6 premiers mois de l'année 2010.

Les caractéristiques cliniques des patients sont rapportées dans le tableau 1.

L'âge médian au diagnostic était de 53 ans (8-87 ans). On comptait 397 femmes (50,5 %) et 389 hommes (49,5 %).

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques des patients N=786

		Valeur	Nombre (%)
Age au diagnostic	Médiane	53 ans	
	Ecart	8-87 ans	
	≤ 50 ans		304 (38,7 %)
	51-60 ans		287 (36,5 %)
	≥ 61 ans		168 (21,4 %)
	Info inconnue		27 (3,4 %)
Sexe	Féminin		397 (50,5 %)
	Masculin		389 (49,5 %)
Antécédent personnel de CCR ou de cancer de l'endomètre	Oui		38 (4,8 %)
	Non		613 (78 %)
	Info inconnue		135 (17,2 %)
Antécédent familial au 1^{er} degré de CCR ou de cancer de l'endomètre	Oui		254 (32,3 %)
	Non		342 (43,5 %)
	Info inconnue		190 (24,2 %)
Antécédent familial au 2nd degré de CCR ou de cancer de l'endomètre	Oui		138 (17,6 %)
	Non		347 (44,1 %)
	Info inconnue		301 (38,3 %)
Critères d'Amsterdam	Oui		48 (6,1 %)
	Non		523 (66,5 %)
	Info inconnue		215 (27,4 %)
Maladies associées	Pas de MICI		464 (59 %)
	MICI		5 (0,7 %)
	Info inconnue		317 (40,3 %)
Patients métastatiques au diagnostic	Oui		187 (23,8 %)
	Non		478 (60,8 %)
	Info inconnue		121 (15,4 %)

b) Localisations tumorales

Les demandes de test RER ont été faites sur différents types de tumeur dont les localisations sont détaillées dans le tableau 2.

Le test RER a été majoritairement réalisé sur des tumeurs coliques, chez 657 patients soit 83,6 % des cas.

Les localisations extra-coliques représentent 58 demandes (7,4 %) et sont dominées par les tumeurs de l'endomètre (20 demandes) et du grêle (13 demandes).

À noter également 71 demandes (9 %) sur des polypes coliques.

Tableau 2 : Localisations des tumeurs sur lesquelles le test RER a été réalisé N=786

Localisation de la tumeur	Valeur	%	
Côlon droit (du caecum jusqu'au transverse)	186	23,7 %	} Localisation coliques 657 (83,6 %)
Côlon gauche	270	34,4 %	
Rectum	135	17,2 %	
Localisations coliques multiples	30	3,8 %	
Localisation colique sans précision	36	4,6 %	
Localisations extra-coliques	58	7,3 %	} Localisation extra-coliques 58 (7,4 %)
- Endomètre	20		
- Duodénum/grêle	13		
- Cerveau	6		
- Urothélium (sauf vessie)	5		
- Appendice	4		
- Ovaire	3		
- Métastases de primitif inconnu	3		
- Autres	4		
Polypes coliques	71	9 %	} Polypes 71 (9 %)

c) Caractéristiques anatomopathologiques des 657 tumeurs coliques

Les caractéristiques anatomopathologiques des 657 tumeurs coliques sont détaillées dans le tableau 3.

Il s'agissait majoritairement de tumeurs différenciées ou moyennement différenciées (84,6 %), sans composante colloïde (26,5 %) et avec une stroma réaction lymphoïde faible (23,6 %).

Plus d'un quart des patients étaient métastatiques au diagnostic (26,8 % de stade IV). Les stades I représentaient 9,9 % des cas, les stades II 20,5 % des cas et les stades III 23,7 % des cas. Dans 3 cas (0,5 %), le stade Tis est expliqué par la radiochimiothérapie néoadjuvante qui a permis une nette régression de la tumeur (ypTisN0). En effet, la sensibilité du test RER est moins bonne sur les tumeurs non invasives Tis et il est préférable de le réaliser sur les biopsies coliques pré-thérapeutiques, ce qui a été fait dans 2 de ces 3 cas. Le stade était inconnu dans 18,6 % des cas.

Tableau 3 : Caractéristiques anatomopathologiques des tumeurs coliques N=657

		Nombre	%
Différenciation tumorale	Bien ou moyennement différenciée	556	84,6 %
	Peu différenciée	51	7,8 %
	Indifférenciée	3	0,5 %
	Information non connue	47	7,1 %
Composante colloïde de la tumeur	Absente	174	26,5 %
	Moins de 10 %	16	2,4 %
	10 à 50 %	38	5,8 %
	Plus de 50 %	24	3,7 %
	Présence de colloïde sans précision	46	7 %
	Information non connue	359	54,6 %
Stroma réaction lymphoïde	Faible	155	23,6 %
	Modérée	39	6 %
	Importante	46	7 %
	Information non connue	417	63,4 %
Emboles vasculaires	Absents	207	31,5 %
	Présents	163	24,8 %
	Information non connue	287	43,7 %
Infiltrations péri-nerveuses	Absentes	224	34,1 %
	Présentes	94	14,3 %
	Information non connue	339	51,6 %
Adénomes associés sur la pièce de colectomie	Absents	278	42,3 %
	Présents	67	10,2 %
	Information non connue	312	47,5 %
Stade T	ypTis	3	0,5 %
	T1	29	4,4 %
	T2	73	11,1 %
	T3	332	50,5 %
	T4	108	16,4 %
	Information non connue	112	17,1 %
Stade N	N0	254	38,6 %
	N1	164	25 %
	N2	121	18,4 %
	Information non connue	118	18 %
Stade M	M0	363	55,2 %
	M1	176	26,8 %
	Information non connue	118	18 %
Stade TNM	Stade 0 : ypTis N0 M0	3	0,5 %
	Stade I : T1-T2 N0 M0	65	9,9 %
	Stade II : T3-T4 N0M0	135	20,5 %
	Stade III : T1 à T4, N1-N2, M0	156	23,7 %
	Stade IV : M1, quelque soit T ou N	176	26,8 %
	Information non connue	122	18,6 %

d) Caractéristiques des 71 patients chez lesquels le test RER a été réalisé sur un polype colique

L'âge médian des patients chez lesquels a été réalisé un test RER est plus jeune que celui de la population globale : 42,5 ans (20-70 ans) contre 53 ans. Il y a un peu plus d'antécédents familiaux au 1^{er} degré (38 % vs 32,3 %), d'antécédents familiaux au 2nd degré (28,2 % vs 17,6 %) et de critères d'Amsterdam (8,5 % vs 6,1 %) dans cette population par rapport à la population globale.

Les caractéristiques anatomopathologiques des 71 polypes sur lesquels ont été réalisées les demandes RER sont résumées dans le tableau 4 ci-dessous.

La taille médiane des polypes, disponible pour 31 polypes, est de 2 cm (0,5-6,5cm).

Près de 70 % des demandes ont été réalisées sur des adénomes avec une composante vilieuse (46,5 % d'adénomes tubulo-vilieux et 22,5 % d'adénomes vilieux). Une seule demande a concerné un polype hyperplasique.

La majorité des demandes a concerné des adénomes en dysplasie de bas grade (32,4 %) ou des adénomes en dysplasie de haut grade, de catégorie 4.1 selon la classification de Vienne (28,2 %).

Tableau 4 : Caractéristiques anatomopathologiques des polypes coliques N=71

		Nombre	%
Histologie du polype	Adénome vilieux	16	22,5 %
	Adénome tubuleux	9	12,7 %
	Adénome tubulo-vilieux	33	46,5 %
	Plusieurs types histologiques	6	8,45 %
	Polype hyperplasique	1	1,4 %
	Information non connue	6	8,45 %
	Degré de dysplasie du polype	Pas de dysplasie	1
Dysplasie de bas grade = 3		23	32,4 %
Dysplasie de haut grade = 4.1		20	28,2 %
Carcinome in situ = 4.2		13	18,3 %
Carcinome intra-muqueux =4.4		7	9,9 %
Multiples degrés de dysplasie		4	5,6 %
Information non connue		3	4,2 %

B. Données relatives à la prescription du test RER

a) Premières demandes (N=786)

Sur 786 patients, 737 (93,8 %) ont eu 1 seule demande, 36 (4,6 %) ont eu 2 demandes pendant la période d'inclusion et 13 (1,7 %) ont eu 2 demandes mais 1 seule pendant la période d'inclusion (dont 7 demandes avant 2007 et 6 après 2010).

Les critères d'inclusion étaient précisés dans 60,7 % des cas et non précisés dans 30 % des cas. L'inclusion a été réalisée par l'anatomopathologiste de digestif du CHU de Toulouse sur le seul critère âge dans 9,3 % des cas, suite à un accord entre les praticiens hospitaliers pour déléguer cette tâche à l'anatomopathologiste. Si on enlève les cas prescrits par les généticiens qui sont les plus sensibilisés au problème, les critères sont précisés dans 47,2 % des cas et non précisés dans 39,3 % des cas.

Les critères d'inclusion sont détaillés dans le tableau 5. Il faut souligner que lorsque les critères d'inclusion n'étaient pas précisés sur la demande, l'information a pu être retrouvée dans la majorité des cas grâce au dossier communiquant de cancérologie sur Oncomip ou grâce aux dossiers informatiques du CHU et/ou du CLCC.

87,4 % des indications de test RER étaient sur des critères cliniques, dont plus de la moitié (56,2 %) sur le seul critère « âge moins de 60 ans ».

À noter que seules 17 demandes (2,2 %) étaient des indications non valides (7 demandes chez des patients ayant une polypose ou une polyadénomatoïse et 10 autres raisons non détaillées ici) et 24 demandes (3 %) ont été réalisées pour des indications non identifiées (dont 11 demandes sur des polypes).

Parmi les polypes, 19 demandes sur les 71 (26,8 %) n'étaient pas justifiées ou réalisées pour des raisons non valides.

Tableau 5 : Critères d'inclusion pour la réalisation du test RER N=786

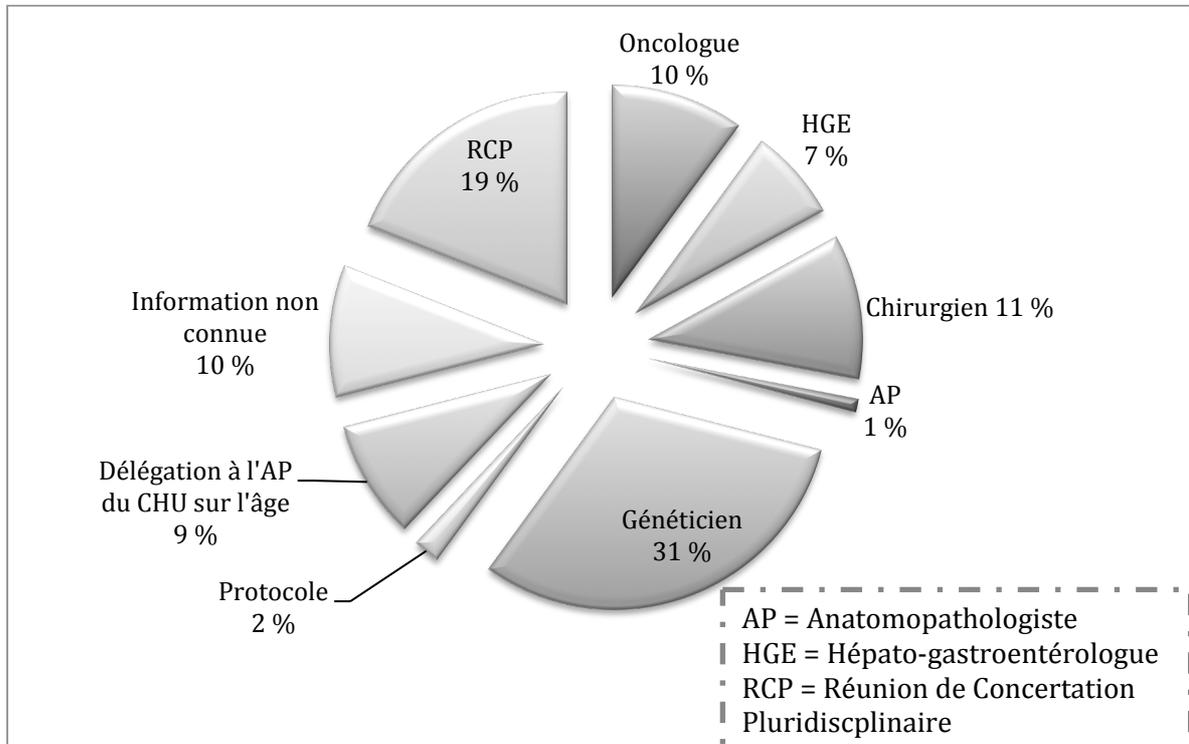
	Nombre	Pourcentage
Critères cliniques	687	87,4 %
- Age (moins de 60 ans)	386	
- Antécédents personnels de CCR ou de CE	18	
- Antécédents familiaux au 1 ^{er} degré de CCR ou de CE	69	
- Plusieurs tumeurs synchrones	8	
- Critères d'Amsterdam	41	
- Protocole	13	
- Autres	16	
- Plusieurs critères cliniques	136	
Critères morphologiques	5	0,6 %
Polypes	71	9 %
- Polypose (> 30 polypes)	5	
- Polyadénomatoase (10 à 30 polypes)	2	
- Autre indication non valide	1	
- Polype vilieux ou > 1 cm chez 1 patient de < 40 ans	13	
- Polype vilieux ou > 1 cm dans un contexte familial ou personnel de CCR ou de CE	23	
- Autres indications	5	
- Plusieurs de ces indications	11	
- Non précisées/non connues	11	
Autres		
- Décision de chimiothérapie	1	3 %
- Indication non valide	9	
- Information non connue	13	

Enfin, les graphiques 2 et 3 montrent la spécialité du prescripteur et son lieu d'exercice.

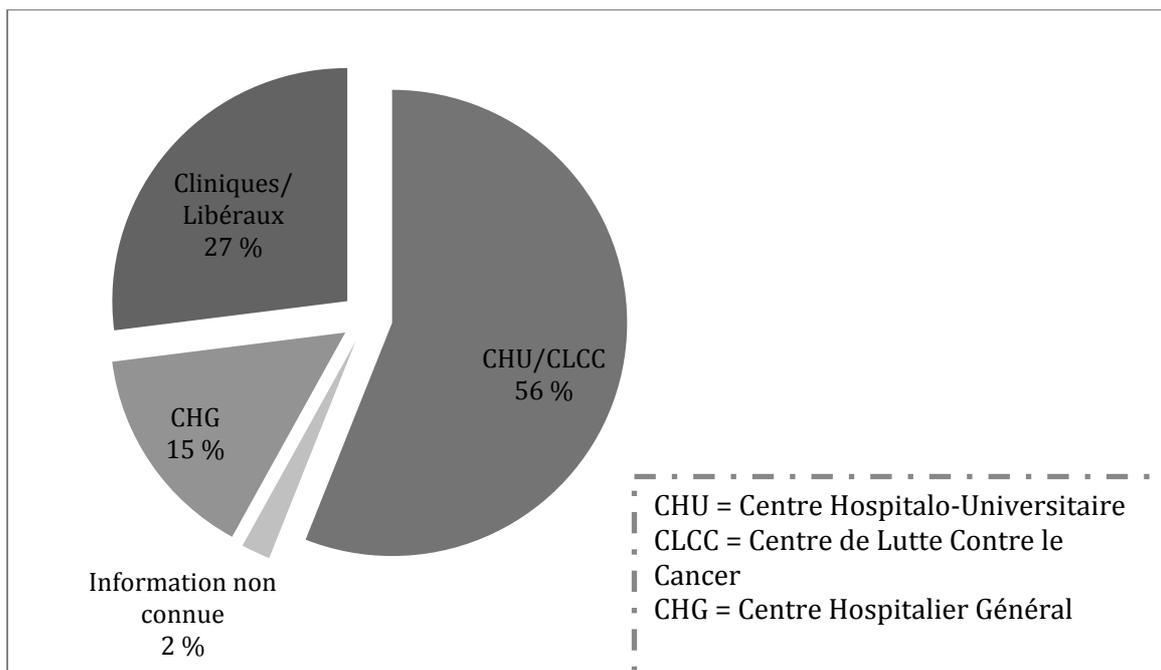
On observe que pratiquement un tiers des demandes a été fait par le généticien et un quart via les RCP. 10 % des demandes ont été faites par les oncologues ou les chirurgiens et 7 % par les hépato-gastroentérologues. 10 % des demandes sont faites par un anatomopathologiste dont 9 % par celui du CHU du fait de la délégation de tâche pour demande de test RER sur le critère « âge moins de 60 ans ».

Concernant le lieu d'exercice des prescripteurs, il s'agit d'un CHU ou d'un CLCC dans 56 % des cas, de cliniques privées ou de praticiens libéraux dans 27 % des cas et de Centres Hospitaliers Généraux (CHG) dans 15 % des cas.

Graphique 2 : Spécialités des prescripteurs N=786



Graphique 3 : Lieu d'exercice des prescripteurs N=786



b) Secondes demandes (N=36)

Les critères d'inclusion étaient identiques pour les premières et deuxièmes demandes. Les critères étaient précisés sur la demande dans 69,4 % des cas et non précisés dans 22,2 % des cas. L'inclusion a été réalisée par l'anatomopathologiste de digestif du CHU de Toulouse sur le seul critère âge dans 8,3 % des cas.

Sur la période d'inclusion, la 2^{ème} demande était justifiée dans 75 % des cas et non justifiée dans 25 % des cas. Si on regarde l'ensemble des secondes demandes (N=36 sur la période d'inclusion + N=13 hors période d'inclusion), la 2^{ème} demande était justifiée dans 81,6 %.

Les demandes ont été faites dans la majorité des cas par le généticien (66,7 % des cas), suivie par des demandes de RCP (8,3 %) et par l'anatomopathologiste du CHU sur le critère âge (8,3 %).

Le lieu d'exercice du prescripteur de la 2^{ème} demande est en grande majorité le CHU ou un CLCC (80,6 %). Dans 13,9 % des cas il s'agissait de cliniques privées ou de praticiens libéraux et dans 5,6 % des cas de CHG.

C. Analyse du test RER et des outils de biologie moléculaire

a) Premières demandes (N=786)

Le matériel envoyé pour le test RER était majoritairement de la tumeur primitive (84,7 %). Les autres matériels envoyés étaient des adénomes (9,2 %), des métastases (5,6 %) ou une récurrence tumorale (0,5 %).

Le prélèvement envoyé provenait à 62,8 % d'une exérèse chirurgicale et à 18,7 % d'une biopsie ou d'une ablation endoscopique. Dans 18,7 % des cas, cette information n'était pas connue.

62,8 % des extractions d'ADN ont été réalisées sur du tissu fixé, 33,3 % sur du tissu congelé et dans 3,8 % des tests il n'y a pas eu d'extraction d'ADN. Le tissu fixé pour cette extraction n'était précisé que dans 37,2 % des cas (27,7 % des tissus fixés dans du formol 10 % tamponné, 7,1 % dans de l'AFA, et 2,4 % avec d'autres types de fixateurs). Nous savons que la majorité des demandes pour lesquelles le fixateur n'est pas précisé correspond à des tumeurs fixées dans de l'AFA.

Le délai médian d'analyse sur les 786 demandes était de 123 jours (4-1232 jours). Quand la date de demande était connue (N=463), le délai médian de rendu des résultats (délai entre la demande du prescripteur et la réponse du laboratoire) était de 145 jours (4-1246 jours).

À noter fin 2009 des problèmes sur la plateforme Midi-Pyrénées avec 39 analyses RER non réalisées en totalité. Les résultats ont donc été rendus en 2012. Si on enlève ces 39 analyses, le délai médian d'analyse est de 120 jours (4-760 jours) et le délai médian de rendu de résultats de 141 jours (4-858 jours).

Les deux techniques IHC et MSI ont été réalisées dans 76,7 % des cas (qu'elles soient interprétables ou non). L'instabilité microsatellitaire seule a été réalisée dans 18,3 % des cas et l'IHC seule dans 5 % de cas. Les résultats de l'IHC et de l'instabilité microsatellitaire sont détaillés dans le tableau 6 tandis que les résultats globaux du test RER sont détaillés dans le tableau 7.

Au total, il y a eu sur les 1^{ères} demandes 103 « RER+ » (13,1 %), 633 « RER- » (80,5 %) et 50 tests RER ininterprétables (6,4 %).

Pour 450 tests RER, les deux méthodes (IHC et MSI) ont été utilisées avec un taux de concordance de 99,1 %.

Les 4 cas discordants sont :

- une tumeur colique avec extinction de MLH1 sans MSI, chez une patiente âgée qui n'a pas été vue en consultation d'oncogénétique ;
- une tumeur colique avec MSI et maintien des 4 protéines MMR. Un variant de signification inconnue de MLH1 a été retrouvé chez les deux filles atteintes du patient, variant considéré comme probablement délétère. Le patient, perdu de vue, n'a pas eu de recherche de mutation constitutionnelle. Chez les filles, on retrouve dans un cas un maintien d'expression de 3 protéines MMR sur 4 (MSH6 non évaluable) sans MSI faite et dans l'autre cas, 1 MSI avec maintien d'expression de MSH2, les autres protéines n'étant pas évaluables ;
- une tumeur colique avec extinction de MSH6 et MSI de bas niveau, la recherche de mutation de MSH6 étant en cours ;
- une tumeur colique avec extinction de MSH6 sans MSI, sans mutation retrouvée, dans une famille complexe pour laquelle les conclusions de l'enquête oncogénétique ne sont pas définitives.

Tableau 6 : Résultats d'IHC et de MSI sur les premières demandes N=786

		Nombre	%
Recherche de MSI	❖ MSI + = instabilité microsatellitaire = MSI-high	76	9,7 %
	❖ MSI - = pas d'instabilité microsatellitaire	517	65,8 %
	➤ Dont MSI-low (MSI de bas niveau)	(10)	
	➤ Dont MSS (Microsatellites stables)	(507)	
	❖ MSI non réalisée	39	4,9 %
	❖ Test ininterprétable ou ADN non amplifiable	154	19,6 %
IHC de MLH1	❖ Extinction de MLH1	67	8,5 %
	❖ Présence de MLH1	557	70,9 %
	❖ Non réalisée	144	18,3 %
	❖ Ininterprétable	18	2,3 %
IHC de MSH2	❖ Extinction de MSH2	18	2,3 %
	❖ Présence de MSH2	582	74 %
	❖ Non réalisée	145	18,5 %
	❖ Ininterprétable	41	5,2 %
IHC de MSH6	❖ Extinction de MSH6	25	3,2 %
	Dont extinction MSH6 sans extinction MSH2	(7)	
	❖ Présence de MSH6	510	64,9 %
	❖ Non réalisée	145	18,4 %
	❖ Ininterprétable	106	13,5 %
IHC de PMS2	❖ Extinction de PMS2	55	7 %
	Dont extinction PMS2 sans extinction MLH1	(2)	
	❖ Présence de PMS2	395	50,3 %
	❖ Non réalisée	235	29,9 %
	❖ Ininterprétable	101	12,8 %

Tableau 7 : Résultats globaux des tests RER sur les premières demandes N=786

N=786		Nombre	%
Total des tests « RER+ »		103	13,1 %
	<i>Exprimés en % du nombre de « RER+ »</i>		
	• Positifs MSI et IHC concordants	62	60,2 %
	• Positifs MSI et IHC discordants	4	3,9 %
	• Positifs sur MSI seule	13	12,6 %
	• Positifs sur IHC seule	24	23,3 %
Total des tests « RER- »		633	80,5 %
	<i>Exprimés en % du nombre de « RER- »</i>		
	• Négatifs MSI et IHC	384	60,7 %
	• Négatifs sur MSI seule	127	20 %
	• Négatifs sur IHC seule	122	19,3 %
RER ininterprétables		50	6,4 %
	<i>Exprimés en % du nombre de RER ininterprétables</i>		
	• Ininterprétables sur MSI et IHC	34	68 %
	• Ininterprétables sur MSI seule	9	18 %
	• Ininterprétables sur IHC seule	7	14 %

b) Secondes demandes (N=36)

Le matériel envoyé pour le test RER était majoritairement de la tumeur primitive (80,5 %). Les autres matériels envoyés étaient des adénomes (2,8 %) ou des métastases (16,7 %).

Le prélèvement envoyé provenait à 50 % d'une exérèse chirurgicale et à 19,4 % d'une biopsie ou d'une ablation endoscopique. Dans 30,6 % des cas, cette information n'était pas connue.

Le délai d'analyse était en moyenne de 128 jours (11-1083). Quand la date de demande était connue (N=16), le délai moyen de rendu des résultats (délai entre la demande du prescripteur et la réponse du laboratoire) était de 168,5 jours (16-1019).

Pour 17 demandes, les deux méthodes (IHC et MSI) ont été réalisées avec 1 cas discordant :

- une extinction de MLH1 et de PMS2 sans MSI, sur une tumeur de l'endomètre sachant que la tumeur colique présentait une extinction MLH1 et PMS2 ainsi qu'une MSI. Il n'y avait pas de mutation BRAF sur les deux tumeurs. La patiente est décédée avant d'avoir eu la recherche de mutation.

Les résultats pour ces 36 secondes demandes sont les suivants.

- Parmi les RER non évaluables à la 1^{ère} demande :
 - 3 nouveaux cas de « RER+ »,
 - 4 nouveaux cas de « RER- ».
- Parmi les « RER+ » à la 1^{ère} demande :
 - 7 cas confirmés en 2^{ème} demande,
 - 3 cas « RER- », les 2 tests RER ayant été faits sur des localisations tumorales différentes (pour la comparaison « RER+ » et « RER- », ces cas seront considérés non évaluables),
 - 2 RER non évaluables à la 2^{ème} demande.
- Parmi les « RER- » à la 1^{ère} demande :
 - 16 cas confirmés à la 2^{ème} demande,
 - 1 RER non évaluable à la 2^{ème} demande.

c) Mutations KRAS, BRAF et recherche d'hyperméthylation du promoteur de MLH1

Les résultats des recherches de mutations KRAS, de mutations BRAF et d'hyperméthylation du promoteur de MLH1 sont indiqués dans le tableau 8.

La mutation KRAS a été recherchée chez 169 patients soit 21,5 % de l'ensemble des patients. Il existait une mutation dans 34,3 % des cas.

La mutation BRAF a été recherchée dans 59 dossiers, soit 7,5 % des patients. Il existait une mutation BRAF dans 22 % des cas (7,7 % des « RER- » et 26,1 % des « RER+ »).

Si on ne regarde que les dossiers où cette recherche aurait pu être utilisée comme outil diagnostique pour différencier les patients porteurs d'un syndrome de Lynch des cas sporadiques, elle a été réalisée dans 63 % des cas (soit 46 patients sur 73). En effet, les 73 dossiers où cette recherche aurait pu être utile sont répartis comme suit :

- 71 extinctions de MLH1,
- 2 extinctions isolées de PMS2.

La recherche d'hyperméthylation du promoteur de MLH1 a été faite dans 17 cas, soit 2,2 % de l'ensemble des dossiers et 23,3 % des cas où elle aurait pu être utile comme outil diagnostique pour différencier les porteurs d'un syndrome de Lynch des cas sporadiques.

On retrouvait une hyperméthylation chez 9 patients (dont 2 BRAF mutés et 7 BRAF sauvages), l'absence d'hyperméthylation chez 5 patients (dont 5 BRAF sauvages) et la recherche était ininterprétable chez 3 patients.

Tableau 8 : Résultats des mutations KRAS, BRAF
et recherche d'hyperméthylation du promoteur de MLH1

		Nombre	%	
Recherche de mutation KRAS N=169	KRAS sauvage	108	63,9 %	
	Mutation KRAS	58	34,3 %	
	Non évaluable	3	1,8 %	
Recherche de mutation BRAF N=59	Chez « RER- »			
	• BRAF muté	1	1,7 %	
	• BRAF sauvage	12	20,3 %	
	Chez « RER+ »			
	• BRAF muté	12	20,3 %	
	• BRAF sauvage	33	55,9 %	
	• BRAF non évaluable	1	1,7 %	
Recherche de mutation BRAF comme outil diagnostique pour différencier Lynch/non Lynch : N=46	• Absence de mutation	33	71,7 %	
	• Mutation	12	26,1 %	
	• Ininterprétable	1	2,2 %	
Recherche d'hyperméthylation du promoteur de MLH 1 : N=17	• Pas d'hyperméthylation	5 (chez 5 BRAF sauvages)		
	• Hyperméthylation	9 (dont 2 BRAF mutés et 7 sauvages)		
	• Ininterprétable	3		

d) RER et MICI

À noter 5 patients atteints d'une MICI chez lesquels ont été réalisés des tests RER, sur le critère « âge moins de 60 ans » dans les 5 cas. Il y eu 3 « RER- » et 2 RER non évaluables (dont un en raison de l'épuisement du matériel).

D. Devenir des patients après réalisation du test RER

a) Consultations d'oncogénétique

Parmi l'ensemble des patients, 282 dossiers (35,9 %) ont été vus en consultation : 204 consultations du patient index et 78 consultations d'un des membres de la famille.

L'indication de la consultation était un âge inférieur à 40 ans dans 16,7 % des cas, un test « RER+ » dans 14,5 % des cas, les critères d'Amsterdam dans 13,5 % des cas et, dans 53,5 % des cas, des raisons diverses. L'information n'était pas connue dans 1,8 % des cas (consultations dans d'autres villes de France).

Parmi les 204 patients vus en consultation d'oncogénétique en tant que cas index, le délai médian entre le diagnostic du cancer et la consultation d'oncogénétique était de 9 mois (0,2 à 241,8 mois).

Dans 128 cas (62,7 %) la consultation d'oncogénétique était réalisée avant le test RER, dans 49 cas (24 %) la consultation était faite dans les 6 mois suivant les résultats du test RER, dans 17 cas (8,3 %) dans l'année et dans 9 cas (4,4 %) dans un délai supérieur à 1 an après le rendu des résultats. L'information était inconnue pour 1 cas (0,5 %).

Parmi les 106 patients « RER+ », 81 ont été vus en consultation d'oncogénétique (soit le patient, soit la famille).

Parmi les 25 patients restants :

- 2 patients n'ont pas eu le temps de consulter (rendu des résultats RER à l'été 2012 et fin du recueil de données en septembre 2012),
- 1 patient avait une consultation prévue après la fin de la période de recueil de données,
- 4 n'avaient pas d'indication à une consultation en raison d'une mutation BRAF.

Il y a donc 18 patients sur 106 soit 17 % qui auraient dû être vus en consultation d'oncogénétique et qui ne l'ont pas été. Pour ces patients, un courrier a été envoyé au(x) prescripteur(s) pour identifier les raisons de l'absence de cette consultation. Les réponses à ces questionnaires sont détaillées au paragraphe III. D. d.

b) Recherche de mutations constitutionnelles

Sur les 282 patients vus en consultation d'oncogénétique, 186 (66 %) ont eu une recherche de mutation constitutionnelle (soit le patient lui-même, soit un membre de sa famille) et 92 (32,6 %) ne l'ont pas eue. L'information était manquante dans 4 cas (1,4 % = consultation oncogénétique dans une autre ville que Toulouse).

Sur ces 186 patients, les recherches de mutations constitutionnelles ont été réalisées pour des gènes du système MMR chez 171 d'entre eux :

- 143 recherches de mutation de MLH1 dont 23 par séquençage direct et recherche de remaniement de grande taille (RGT),
- 129 recherches de mutation de MSH2 dont 12 par séquençage direct et RGT,
- 125 recherches de mutation de MSH6 dont 7 par séquençage direct et RGT,
- 1 recherche de mutation de PMS2,

- 9 recherches de mutation du gène EpCAM.

Chez 7 patients, des mutations à la recherche d'autres syndromes génétiques ont été recherchées, en plus de celles du système MMR : gène MYH (forme de polypose atténuée, 3 cas), gène APC (muté dans la polypose adénomateuse familiale, 2 cas), gène BMPR1A (gène de la polypose juvénile, 1 cas), gènes BRCA 1 et 2 (*BReast CAncer susceptibility gene*, 2 cas).

Chez 15 patients sur 186, des recherches de mutations constitutionnelles ont été réalisées sans qu'il n'y ait eu auparavant de recherche de mutations de gènes MMR (6 recherches de mutations BRCA1 et BRCA2, 8 recherches de mutations MYH, 1 recherche de mutation de la maladie de Von-Hippel-Lindau et 1 recherche du syndrome de Birt-Hogg-Dubé).

À l'heure actuelle, 49 mutations ont été identifiées :

- 18 mutations de MLH1 dont 2 par RGT,
- 15 mutations de MSH2,
- 7 mutations de MSH6,
- 1 mutation de PMS2,
- 4 mutations de EpCAM,
- 2 mutations de BRCA2 et 1 mutation de BRCA1,
- 1 mutation de MYH.

Parmi les 81 patients « RER+ » vus en consultation, 75 (91,5 %) ont eu une recherche de mutation constitutionnelle. Il n'a pas été retenu d'indication chez 5 patients (trois mutations BRAF et deux histoires familiales non typiques avec un test « RER- » chez un autre membre de la famille). Dans le dernier cas, la patiente est décédée avant la proposition de la recherche de cette mutation.

Parmi les 637 patients « RER- », 96 recherches de mutation constitutionnelle ont été réalisées, dont 90 sur des gènes du système MMR.

Ces recherches étaient motivées soit par un âge du patient au diagnostic inférieur à 40 ans, soit par une histoire familiale évocatrice de syndrome de Lynch.

Chez deux patients « RER- », il a été retrouvé une mutation d'un gène du système MMR :

- dans un cas, le phénotype « RER- » a été fait sur une tumeur qui n'appartient pas classiquement au spectre du syndrome de Lynch : il s'agit d'une tumeur vésicale où le tabagisme est le facteur étiologique principal. Chez ce patient à l'antécédent de CCR, il aurait été souhaitable de réaliser le phénotype RER sur la tumeur colique mais cette dernière était trop ancienne pour être testée ; seule la tumeur vésicale était disponible pour une telle analyse. Néanmoins étant donné qu'il présentait les critères d'Amsterdam, une mutation de MLH1 a tout de même été recherchée et identifiée ;

- dans l'autre cas, il s'agit d'un test « RER- » avec un maintien d'expression des protéines MLH1, MSH2 et PMS2. MSH6 était ininterprétable, de même que l'instabilité microsatellitaire. Devant la forte suspicion de Lynch (critères d'Amsterdam réunis), une recherche de mutation de MSH6 a été réalisée et s'est avérée positive.

c) Conclusions de l'enquête oncogénétique

1. Conclusions chez l'ensemble des patients vus en oncogénétique

Les résultats des conclusions de l'enquête oncogénétique sont fournis par le tableau 9 ci-dessous. Ces conclusions sont faites chez les 282 patients vus en consultation d'oncogénétique et chez les 25 patients « RER+ » non vus en consultation d'oncogénétique, soit un total de 307 patients.

Tableau 9 : Conclusions finales de l'enquête oncogénétique N=307

	Nombre	%
Forme sporadique de CCR	188	61,2 %
Syndrome de Lynch certain	53	17,3 %
Syndrome de Lynch suspecté	10	3,2 %
Syndrome X	15	4,9 %
Polypose	2	0,7 %
Enquête oncogénétique incomplète ou en cours	35	11,4 %
Conclusion non connue (consultation dans un autre centre)	4	1,3 %

2. Conclusions pour les 106 patients « RER+ »

2.1. Lynch certain : 46 patients (43,4 %)

46 syndromes de Lynch ont été identifiés dont les principales caractéristiques cliniques, tumorales et génétiques sont détaillées dans le tableau 10.

La proportion des différentes mutations est la suivante :

- 16 mutations MLH1 (dont 1 par RGT),
- 12 mutations MSH2,
- 5 mutations MSH6 (+1 variant de signification inconnue),
- 1 mutation de PMS2,
- 5 mutations de EpCAM,
- 1 patient avec une extinction MSH2 et MSH6 en IHC dont la recherche de mutation est en cours,
- 1 patient avec une extinction isolée de MSH6 en IHC et une instabilité de bas niveau dont la recherche de mutation est en cours,
- 4 patients avec une extinction MSH2 et MSH6 en IHC non vus en consultation,

- 1 patient avec une extinction MSH2 et MSH6 chez lequel aucune mutation n'a été identifiée sur MSH2, MSH6 et EpCAM (y compris par RGT).

Parmi ces 46 patients, 24 ont un âge inférieur ou égal à 50 ans, 13 un âge compris entre 51 et 60 ans et 8 sont âgés de plus de 61 ans. Dans 1 cas, l'âge au diagnostic est inconnu.

9 patients ont un antécédent personnel de CCR ou de cancer de l'endomètre, 34 un antécédent familial au 1^{er} degré de CCR ou de cancer de l'endomètre et 20 des critères d'Amsterdam positifs.

La localisation est colique droite dans 24 cas.

À noter 4 cas d'adénomes « RER+ » dont 3 ayant conduit au diagnostic de syndrome de Lynch. Le dernier cas a été classé dans le groupe des tumeurs sporadiques (cf. 2.3) : il s'agit d'une polypose digestive avec mutation BRAF sur l'adénome « RER+ » associé à un autre adénome « RER- » chez le même patient.

Tableau 10 : Caractéristiques des patients porteurs d'un syndrome de Lynch certain N=46

N° cas	Âge	Atcd perso (AP)	Atcds familiaux (AF)		Critères d'Amsterdam (CA)	Localisation tumorale	Motif d'inclusion	Test RER		BRAF muté	Méthyl. du promoteur de MLH1	Mutation identifiée
			1 ^{er} degré	2 ^{ème} degré				MSI	Extinction en IHC			
16	44	non	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	+	MLH1 NE ³	ND ⁴	ND	MLH1
20	61	oui	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	+	MLH1	ND	ND	MLH1
25	54	non	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	+	MSH2-MSH6	ND	ND	EpCAM
27	53	non	oui	oui	oui	Adénome	CA	NE	MLH1	ND	ND	MLH1
28	38	non	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	NE	MSH2-MSH6	ND	ND	EpCAM
31	31	non	oui	non	non	Appendice	Âge+AF	+	MSH2-MSH6	ND	ND	MSH2
52	76	oui	oui	oui	oui	Côlon SP ⁵	CA	ND	MLH1-PMS2	Non	ND	MLH1
79	29	non	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	+	MLH1-PMS2	Non	ND	MLH1
107	57	oui	oui	non	non	Récidive sur anastomose d'un cancer de l'estomac	Âge+AF	+	Maintien des 4 protéines MMR	ND	ND	UV ⁶ MLH1 (retrouvé chez ses 2 filles atteintes)
115	33	non	oui	non	non	Côlon droit	Âge+AF	+	MSH2-MSH6	ND	ND	MSH2
118	42	non	non	non	non	Côlon droit	Âge	+	MLH1-PMS2	Non	ND	MLH1
135	50	non	non	non	non	Côlon droit	Âge	+	MSH2	ND	ND	EpCAM
136	40	non	oui	non	oui	Côlon gauche	CA	NE	MSH2-MSH6	ND	ND	MSH2
192	51	ND	ND	ND	ND	Côlon SP	Âge	NE	MSH2-MSH6	ND	ND	Ø de Cs ⁷

³ Non évaluable.

⁴ Non déterminé.

⁵ Côlon sans précision

⁶ Variant de signification inconnue.

⁷ Pas de consultation d'oncogénétique réalisée.

Tableau 10 : Caractéristiques des patients porteurs d'un syndrome de Lynch certain N=46

N° cas	Âge	Atcd perso (AP)	Atcfs familiaux (AF)		Critères d'Amsterdam (CA)	Localisation tumorale	Motif d'inclusion	Test RER		BRAF muté	Méthyl. du promoteur de MLH1	Mutation identifiée
			1 ^{er} degré	2 ^{ème} degré				MSI	Extinction en IHC			
206	39	non	oui	oui	non	Côlon gauche	Âge+AF	+	MSH2-MSH6	ND	ND	MSH2
230	39	non	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	+	MLH1	ND	ND	MLH1
235	46	non	non	oui	non	Côlon droit	Âge	+	MSH6	ND	ND	MSH6
241	69	oui	ND	ND	ND	Côlon gauche	AP	+	MSH2-MSH6	ND	ND	∅ de Cs
262	45	non	non	non	non	Côlon gauche	Âge	+	MSH2 et MSH6 NE	ND	ND	UV MSH6
277	51	non	non	non	non	Côlon droit	Âge+AF Kcer grêle	+	MSH6	ND	ND	MSH6
291	47	non	non	non	non	Côlon gauche	Âge	+	MLH1-PMS2	ND	ND	MLH1
316	43	non	oui	oui	oui	Côlon gauche	CA	NE	MLH1-PMS2	ND	ND	MLH1
321	46	non	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	+	MSH2-MSH6	ND	ND	MSH2
350	57	oui	oui	oui	oui	Intestin grêle	CA	+	ND	ND	ND	MSH2
372	20	non	non	oui	non	Côlon droit	Âge	+	MLH1-PMS2	ND	ND	MLH1
403	70	non	oui	oui	non	Intestin grêle	AF	+	MSH6	ND	ND	MSH6
413	44	non	oui	non	non	Côlon droit	Âge+AF	+	MLH1-PMS2		ND	MLH1
421	53	non	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	+	MSH2 et MSH6 NE	ND	ND	MSH2
460	42	non	oui	non	oui	Côlon droit	CA	+	NE sauf MSH2 maintenu	ND	ND	UV MLH1, aussi + chez sa sœur atteinte
471	25	non	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	NE	MSH2-MSH6	ND	ND	MSH2
478	ND	ND	ND	ND	ND	Côlon SP	Non connu	+	MSH6	ND	ND	∅ de Cs

Tableau 10 : Caractéristiques des patients porteurs d'un syndrome de Lynch certain N=46

N° cas	Âge	Atcd perso (AP)	Atcds familiaux (AF)		Critères d'Amsterdam (CA)	Localisation tumorale	Motif d'inclusion	Test RER		BRAF muté	Méthyl. du promoteur de MLH1	Mutation identifiée
			1 ^{er} degré	2 ^{ème} degré				MSI	Extinction en IHC			
512	73	oui	oui	non	Non	Côlon gauche	AP+AF	Low	MSH6	ND	ND	en cours
517	37	non	oui	oui	oui	Intestin grêle	CA	+	MSH2-MSH6	ND	ND	MSH2 (+RGT), MSH6 (+RGT), EpCAM négatif
518	41	non	oui	non	non	Côlon droit	Âge+AF	+	MSH2-MSH6	ND	ND	Ø de Cs
524	52	non	oui	non	non	Côlon droit	Âge+AF	+	MSH2 et MSH6 NE	ND	ND	MSH2
530	52	non	oui	non	non	Côlon droit	Âge+AF	+	MSH6 NE	ND	ND	MSH6
548	53	oui	oui	oui	oui	Rectum	CA	+	MSH2-MSH6	ND	ND	MSH2
564	43	non	oui	non	non	Côlon droit	Âge+AF	+	MSH2 et MSH6 NE	ND	ND	MSH2
586	62	oui	oui	oui	oui	Côlon droit	CA	+	MSH2-MSH6	ND	ND	EpCAM
668	52	non	non	non	non	Côlon droit	Âge	+	PMS2	Non	Non	PMS2
707	66	non	oui	non	non	Côlon droit	AF	+	MSH6 NE	ND	ND	MSH6
708	32	non	non	non	non	Adénome	Ad. à < 40 ans, villex ou > 1 cm	+	MLH1-PMS2	Non	ND	MLH1
721	62	non	oui	non	oui	Rectum	CA	+	MSH2-MSH6	ND	ND	en cours
732	52	non	oui	oui	oui	Adénome	CA	NE	MLH1-PMS2	ND	ND	MLH1
785	58	oui	oui	non	non	Intestin grêle	Âge+AP+AF	ND	MSH2-MSH6	ND	ND	MSH2
786	34	non	oui	non	non	Côlon gauche	Âge+AF	+	MLH1-PMS2	Non	Non	MLH1

2.2. Lynch suspecté : 9 patients (8,5 %)

9 patients ont été classés comme ayant un syndrome de Lynch fortement suspecté, sans mutation constitutionnelle identifiée. Leurs caractéristiques cliniques, tumorales et génétiques sont détaillées dans le tableau 11.

- ✓ 6 patients ont une extinction de MLH1 et PMS2, sans mutation BRAF pour les 6 et sans hyperméthylation du promoteur de MLH1 pour 3 d'entre eux. Chez 5 d'entre eux, une recherche de mutation de MLH1 s'est avérée négative, y compris par RGT. Chez un patient, cette recherche est en cours. La suspicion de Lynch reste forte chez ces patients, soit en raison d'un âge inférieur à 50 ans au diagnostic, soit en raison d'antécédent personnel ou familial de CCR ou de l'endomètre, soit en raison de la localisation (côlon gauche, rectum, double localisation), soit enfin en raison de l'association de plusieurs de ces critères. Tous ces dossiers ont été discutés en RCP d'oncogénétique.
- ✓ 1 patient a une extinction isolée de PMS2 sans extinction de MLH1, avec une instabilité microsatellitaire. Ce patient n'a pas été vu en consultation pour la recherche de mutation en raison d'une évolution rapidement péjorative.
- ✓ 1 patient a une extinction de MSH2 et de MSH6 mais sur une IHC de mauvaise qualité et sans analyse de l'instabilité microsatellitaire du fait de la fixation. Ce patient n'a pas été vu en consultation pour la recherche de mutation, sans cause identifiée après réception des questionnaires envoyés aux prescripteurs.
- ✓ 1 patient a une MSI sans analyse des protéines MMR. Les recherches de mutations sur les gènes MLH1 (dont RGT), MSH2 et MSH6 sont négatives. La recherche de mutation du gène MSH2 par RGT est en cours.

Tableau 11 : Caractéristiques des patients porteurs d'un syndrome de Lynch suspecté N=9

N° cas	Âge	AP ⁸	AF ⁹		CA ¹⁰	Localisation tumorale	Motif d'inclusion	Test RER		BRAF muté	Méthyl. du promoteur de MLH1	Mutation recherchée
			1 ^{er} degré	2 ^{ème} degré				MSI	Extinction en IHC			
2	61	oui	oui	non	non	Côlon droit	AP+AF	+	MLH1-PMS2	non	NE ¹¹	MLH1, dont RGT ¹²
269	43	non	oui	non	non	Rectum	Âge+AF	+	MLH1-PMS2	non	ND ¹³	MLH1 en cours
286	44	non	oui	non	non	Rectum	Âge+AF	+	ND	ND	ND	MLH1 (dont RGT), MSH2, MSH6. RGT MSH2 en cours
312	26	non	non	non	non	Côlon gauche	Âge	+	MLH1-PMS2	non	non	MLH1 (dont RGT), MSH2, EpCAM
406	36	non	non	non	non	Double localisation	Âge et double localisation	+	MLH1-PMS2	non	NE	MLH1, dont RGT
441	47	ND	ND	ND	ND	Côlon gauche	Âge	+	PMS2	ND	ND	∅ vu en Cs ¹⁴
501	49	non	ND	ND	ND	Intestin grêle	Âge	ND	MSH2-MSH6 (mauvaise qualité IHC)	ND	ND	∅ vu en Cs
655	43	non	non	non	non	Côlon droit	Âge	+	MLH1-PMS2	non	non	MLH1, dont RGT
734	39	non	oui	non	non	Côlon droit	Âge+AF	+	MLH1-PMS2	non	non	MLH1, dont RGT

⁸ Antécédent personnel.

⁹ Antécédent familial.

2.3. Forme sporadique : 27 patients (25,5 %)

27 patients ont pu être classés comme porteurs d'une tumeur sporadique sur le profil suivant.

- ✓ 12 patients avec extinction MLH1 +/- PMS2 associée à une mutation BRAF (dont 2 avec une hyperméthylation du promoteur de MLH1). Chez 5 d'entre eux, une recherche de mutation du gène MLH1 s'est avérée négative (dont 2 par RGT).
- ✓ 7 patients avec extinction MLH1 +/- PMS2 sans mutation BRAF mais avec une hyperméthylation du promoteur de MLH1. Chez ces 7 patients, une recherche de mutation du gène MLH1 est revenue négative (6 par RGT).
- ✓ 4 patients âgés avec un phénotype « RER- » soit chez leurs apparentés (3 patients) soit sur une seconde localisation (1 patient). Chez un de ces 4 patients, une recherche de mutation constitutionnelle est négative.
- ✓ 1 patient âgé avec un antécédent personnel de CCR, sans contexte familial, avec une extinction de MLH1, sans évaluation possible de BRAF et sans mutation de MLH1 (conclusion de l'enquête oncogénétique après discussion RCP).
- ✓ 2 patients de 55 et 59 ans, avec un contexte familial pauvre, présentant une extinction de MLH1 sans mutation BRAF et avec une recherche de mutation de MLH1 négative (y compris par RGT). Ces deux dossiers ont également été discutés en RCP.
- ✓ 1 patient de 44 ans, sans contexte familial, avec une extinction de MLH1 sans mutation BRAF et une recherche de mutation de MLH1 négative (y compris par RGT). Après discussion en RCP, décision d'un rythme de surveillance intermédiaire : coloscopie tous les 3 ans à partir de l'âge de 30 ans.

2.4. Syndrome X : 2 patients (1,9 %)

Chez ces deux patients, les critères Amsterdam sont présents mais il existe dans la famille d'autres patients qui ont été testés et dont les résultats du test RER sont revenus négatifs. De plus, la recherche de mutation pour les gènes MLH1, MSH2, et MSH6 est négative pour ces deux patients.

Ces deux patients sont âgés et présentent une extinction en IHC de MLH1 et PMS2, sans MSI évaluable, sur des tumeurs coliques droites. Les recherches de mutation BRAF et d'hyperméthylation du promoteur de MLH1 n'ont pas été possibles en raison d'un ADN non amplifiable.

2.5. Polypose : 1 patient (0,9 %)

Chez un patient qui appartient à une famille très complexe, il existe une extinction de MSH6 en IHC sans MSI. Les recherches de mutations constitutionnelles sont négatives, y compris par RGT sur le gène MSH6. Compte tenu du fait qu'il existe dans cette famille d'autres cas « RER- », l'hypothèse actuelle serait celle d'une polypose dont le gène responsable n'a pas encore été mis en évidence.

2.6. Enquête oncogénétique incomplète ou en cours : 21 patients (19,8 %)

Sur ces 21 patients, 15 n'ont pas été vus en consultation. Chez 20 patients, il s'agit d'une extinction de MLH1 et de PMS2. Chez un patient, il existe une MSI sans évaluation des protéines MMR. Aucun patient ne présente les critères d'Amsterdam et sept ont moins de 50 ans.

d) « RER+ » non vus en oncogénétique : résultats des questionnaires envoyés au prescripteur

Sur les 18 patients « RER+ » qui auraient dû être vus en consultation d'oncogénétique, 43 courriers (27 courriers initiaux et 16 relances) ont été envoyés au prescripteur et/ou médecin référent, concernant 15 patients.

Chez deux patients, les noms et coordonnées du prescripteur se sont avérés incorrects. Chez un patient suivi au CHU, nous connaissions la raison de l'absence de consultation d'oncogénétique : un décès rapide avant la réception des résultats du test RER.

Pour ces 18 patients, l'âge moyen au diagnostic était de 54,3 ans. Aucun ne présentait de critères d'Amsterdam. Un patient présentait une tumeur du grêle, les 17 autres un CCR. 5 étaient métastatiques au diagnostic et 4 présentaient une tumeur de stade 3. 13 patients ont été inclus sur des critères cliniques (7 sur le critère « âge moins de 60 ans, 5 sur plusieurs critères cliniques et un pour un antécédent personnel de CCR à l'âge de 48 ans). Deux ont été inclus sur des critères morphologiques, deux pour des critères inconnus, un pour décider d'une chimiothérapie éventuelle.

Les demandes provenaient de cliniques privées ou de libéraux dans 8 cas, du CHU ou d'un CLCC dans 6 cas, d'un CHG dans 3 cas et l'information n'était pas connue pour le dernier patient.

Il y a eu au total 16 réponses sur 43 courriers soit un taux de réponse de 37 %. Ces 16 réponses concernaient 9 patients différents.

Le médecin était informé de la positivité du test RER dans 7/16 courriers, non informé dans 8/16 courriers et dans un cas le médecin étant parti à la retraite, son successeur n'a pas trouvé de trace de ce résultat dans le dossier.

Dans les cas où le médecin était informé de la positivité du test RER, 6/7 avaient la notion de l'indication de consultation d'oncogénétique. 1 des 7 questionnaires n'a pas été rempli pour cette question.

Chez les 7 médecins informés du « RER+ », 6 en ont informé leurs patients et 1 ne l'a pas informé mais en a informé son médecin traitant et le gastroentérologue référent.

Dans les suites, une consultation d'oncogénétique a été proposée dans 2 cas sur 7 et aucune consultation d'oncogénétique n'a été réalisée ailleurs qu'à Toulouse, à la connaissance des médecins.

Les raisons de cette absence de consultation d'oncogénétique ont pu être identifiées dans 7 cas sur 18 :

- le désintérêt d'un patient (1 cas),
- le décès rapide du patient dans 3 cas (dont le cas du CHU pour lequel le courrier n'a pas été envoyé car le patient était pris en charge par notre équipe),
- un âge avancé du patient (85 ans) (1 cas),
- un patient confié à son gastroentérologue habituel (1 cas),
- un patient âgé avec des comorbidités neuropsychiatriques (1 cas).

e) Dépistage des apparentés

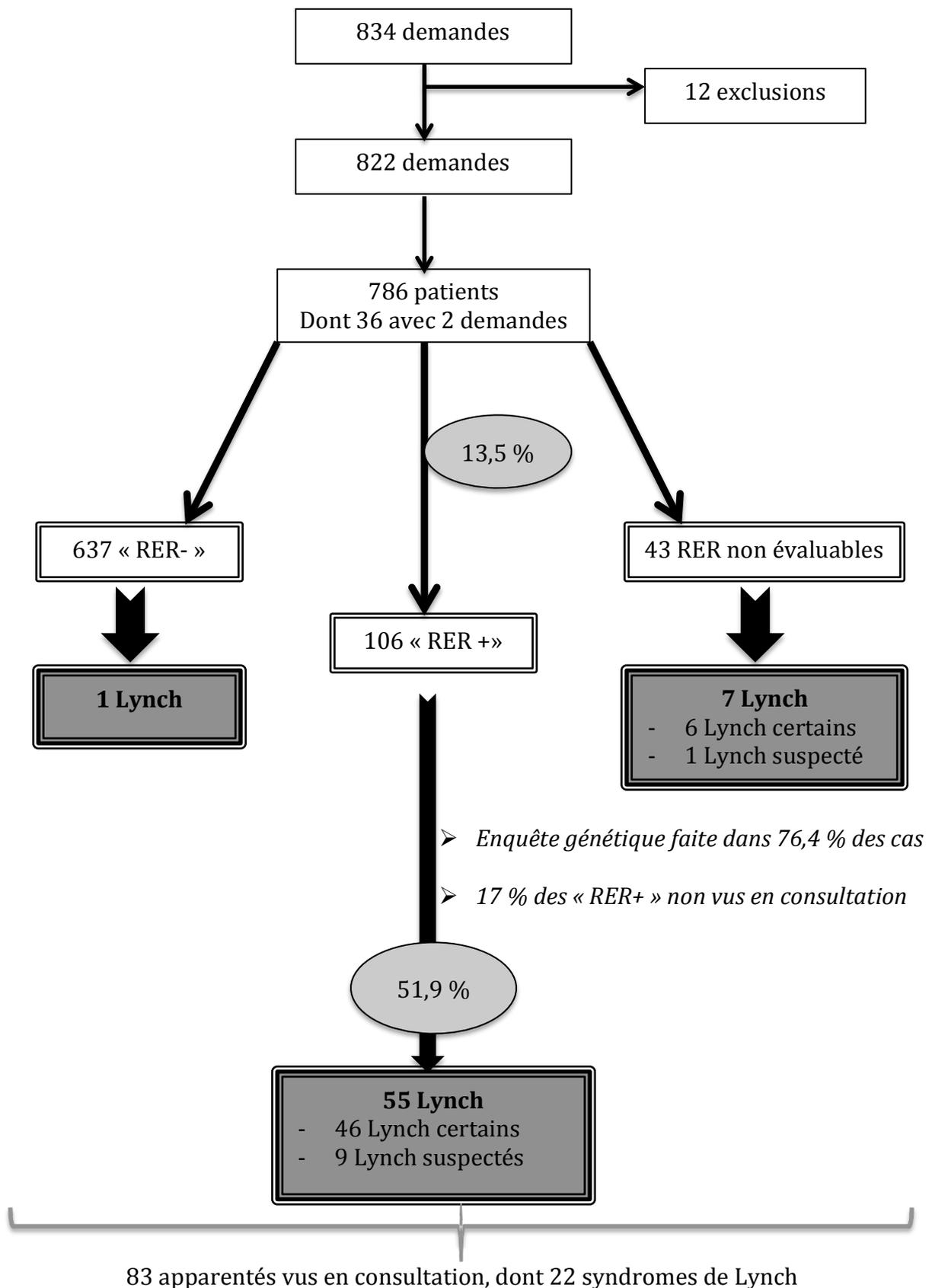
Il y a un total de 31 patients chez lesquels une mutation a été identifiée et qui ont eu un délai suffisant pour prévenir leurs proches.

Pour 10 de ces patients, aucun apparenté n'a été vu en consultation d'oncogénétique à Toulouse.

Pour les 21 autres patients, 83 apparentés au total se sont vus proposer lors de la consultation d'oncogénétique à Toulouse un test prédictif à la recherche de la mutation retrouvée chez le cas index.

À l'heure actuelle, parmi ces 83 tests prédictifs, 22 patients se sont avérés porteurs de la mutation responsable du syndrome de Lynch dans leur famille.

f) Schéma récapitulatif de l'étude et de ses conclusions



E. Caractéristiques cliniques et anatomopathologiques des « RER+ »

Les caractéristiques cliniques et anatomopathologiques des patients « RER+ » (N=103) et des patients « RER- » (N=637) ont été comparées.

Les patients dont le phénotype tumoral était « RER+ » présentaient les caractéristiques suivantes par rapport aux patients dont le phénotype tumoral était « RER- » :

- une tranche d'âge au diagnostic soit ≤ 50 ans soit ≥ 61 ans ($p=0,0071$),
- des antécédents personnels de CCR ou de cancer de l'endomètre plus fréquents ($p<0,0001$),
- des antécédents familiaux au 1^{er} degré de CCR ou de l'endomètre plus fréquents ($p<0,0001$),
- des antécédents familiaux au 2nd degré de CCR ou de l'endomètre plus fréquents ($p=0,0054$),
- des critères d'Amsterdam plus fréquents ($p<0,0001$),
- une localisation colique droite plus fréquente ($p<0,0001$),
- moins d'adénomes associés sur la pièce opératoire ($p=0,0203$),
- des tumeurs peu différenciées plus fréquentes ($p=0,0004$),
- une composante colloïde plus fréquente ($p=0,0002$),
- une stroma réaction lymphoïde importante plus fréquente ($p<0,0001$),
- des métastases au diagnostic moins fréquentes ($p=0,0048$),
- un envahissement ganglionnaire moins fréquent ($p=0,0436$).

Le sexe, la présence d'embols, d'infiltrations péri-nerveuses ou de mutation KRAS n'étaient pas différents au plan statistique. À noter qu'il y avait une tendance à la présence d'une mutation BRAF dans le groupe « RER+ » plus fréquente (22,7 % versus 7,7 %) mais de façon non significative ($p=0,5570$).

Concernant les motifs d'inclusion, il y avait plus de « RER- » chez les patients inclus pour adénomes » ($p=0,0014$). Il y avait plus de « RER+ » chez les patients inclus pour critères d'Amsterdam ou pour plusieurs critères cliniques que chez ceux inclus pour le seul critère « âge moins de 60 ans » ($p<0,0001$).

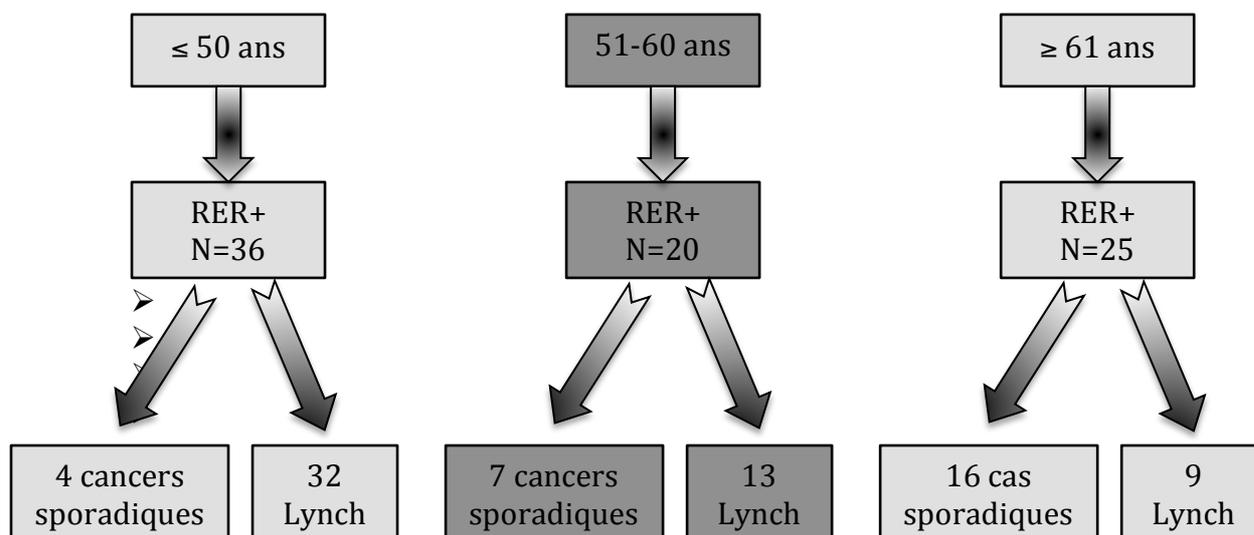
Il y avait plus de « RER+ » chez les patients ayant eu plusieurs demandes de test RER ($p<0,0001$).

F. Comparaison des patients porteurs d'un syndrome de Lynch aux cas « RER+ » sporadiques

Les caractéristiques cliniques et anatomopathologiques des patients porteurs d'un syndrome de Lynch certain ou suspecté « RER+ » (N=55) ont été comparées aux cas « RER+ » sporadiques (N=27).

Les patients porteurs d'un syndrome de Lynch avaient les caractéristiques suivantes par rapport aux cas « RER+ » sporadiques.

- Un âge ≤ 50 ans plus fréquent et un âge ≥ 61 ans moins fréquent ($p < 0,0001$). À noter que pour la tranche d'âge 51-60 ans, ce n'est pas significatif mais on identifie tout de même 13 syndromes de Lynch parmi les 20 patients de cette tranche d'âge.



- Des critères d'Amsterdam plus fréquents ($p = 0,0059$).
- Des antécédents familiaux au 1^{er} degré de CCR ou de cancer de l'endomètre plus fréquents mais de façon non significative ($p = 0,0646$).

À noter une proportion de femmes plus importante dans les cas « RER+ » sporadiques mais de façon non significative (70 % vs 49 %, $p = 0,0680$).

Les autres caractéristiques cliniques (antécédents personnels ou familiaux au 2nd degré de CCR ou de cancer de l'endomètre, localisation) et anatomopathologiques ne différaient pas de façon significative.

G. Comparaison des RER non évaluables et des RER évaluables

L'ensemble des RER évaluables sur la première demande (N=736) a été comparé aux RER non évaluables (N=50).

Les tests non évaluables présentaient les caractéristiques suivantes par rapport aux tests évaluables :

- tumeur avec une composante colloïde plus fréquente ($p = 0,0009$, sauf pour la sous-population « colloïde 10 à 50 % » où les résultats sont inversés) ;

- le matériel envoyé était plus souvent une biopsie qu'une exérèse chirurgicale ($p=0,0008$) ;
- l'extraction d'ADN était plus souvent réalisée sur du matériel fixé que sur du matériel congelé ($p<0,0001$) ;
- le type de fixateur en cas d'extraction d'ADN était plus souvent de l'AFA, du Bouin ou du Duboscq-Brasil que du formol 10 % tamponné ($p=0,0008$).

Il n'y avait pas de différence dans ces deux populations concernant les caractéristiques du patient, les autres caractéristiques tumorales ou les modalités de prescription.

H. Comparaison des patients KRAS sauvage et KRAS muté

Il n'y avait pas de différence significative dans les caractéristiques cliniques et anatomopathologiques entre les patients KRAS sauvage (N=108) et KRAS muté (N=58).

I. Comparaison des patients BRAF sauvage et BRAF muté

Il n'y avait pas de différence significative dans les caractéristiques cliniques et anatomopathologiques entre les patients BRAF sauvage (N=45) et BRAF muté (N=13), en dehors d'un âge plus avancé pour les patients BRAF muté ($p<0,001$). À noter qu'il y avait plus de femmes dans le groupe BRAF muté mais de façon non significative ($p= 0,0233$).

IV. Discussion

Cette étude rentre dans le cadre d'une démarche d'évaluation des pratiques professionnelles (EPP) qui a pour finalité d'améliorer la qualité de la prise en charge des patients en réduisant les écarts entre la pratique réelle et la pratique de référence. Nous allons donc analyser ces écarts pour tenter d'en identifier les causes et ainsi proposer les mesures correctives à mettre en place.

Tout d'abord, quelques remarques sur les caractéristiques de la population étudiée. Au niveau des caractéristiques cliniques, on note un pourcentage élevé de patients métastatiques au diagnostic (23,8 %) alors qu'il est habituellement de 18 à 20 % (70–72). D'un point de vue anatomopathologique, on note des proportions relativement élevées de tumeur avec une composante colloïde ou des stromas réactions lymphoïdes modérées à importantes.

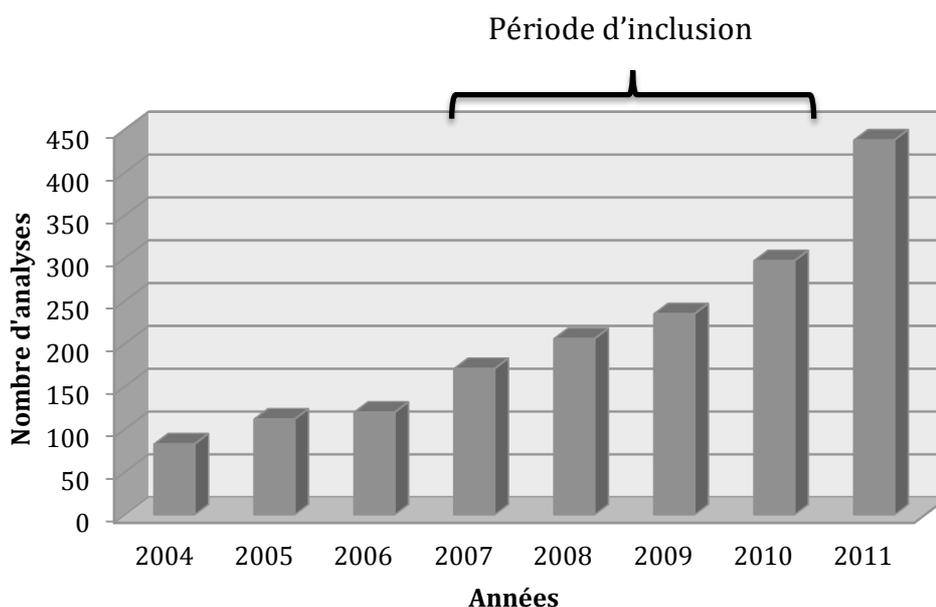
Néanmoins, il existe des taux importants d'information non renseignée pour ces données, et la plateforme de génétique moléculaire n'a pas pour rôle de refaire une lecture systématique des tumeurs. Il y a donc un biais d'information mais qui n'influe pas sur les objectifs de notre étude.

A. Evaluation de la qualité de la prescription des tests RER en Midi-Pyrénées

a) Evaluation du nombre de tests RER prescrits

Tout d'abord, lorsque nous nous intéressons au nombre de tests RER réalisés en Midi-Pyrénées entre 2007 et 2010, nous notons une progression constante des prescriptions (ci-dessous un rappel du graphique 1 représentant le nombre de tests RER en Midi-Pyrénées depuis 2004).

Graphique 1 : Nombre de tests RER prescrits en Midi-Pyrénées depuis 2004
(Biologie moléculaire +/- immunohistochimie, sans compter IHC seule)



Années	MSI +/- IHC
2004	83
2005	112
2006	120
2007	171
2008	206
2009	235
2010	297
2011	438

On peut estimer que l'application de critères cliniques « simplifiés » telle qu'elle est recommandée en France reviendrait à pratiquer un test RER chez approximativement 25 % des CCR (73-77). Entre 2007 et juin 2010, le nombre de CCR en Midi-Pyrénées était d'environ 1770 cas par an (chiffre fourni par l'Agence Régionale de Santé de Midi-Pyrénées). On considère donc que le nombre de tests RER réalisés dans notre région pour les CCR devrait être approximativement de 442 par an.

Il faut signaler que les chiffres du graphique ci-dessus correspondent à l'ensemble des tests RER prescrits mais que seulement 83,6 % d'entre eux sont réalisés dans le cadre des CCR.

Ainsi, malgré une constante augmentation des prescriptions de tests RER, les chiffres effectifs restaient encore insuffisants sur cette période.

Ces constatations avaient déjà amené notre équipe à proposer des solutions correctives avec, depuis 2011, une systématisation de la réalisation du test RER pour tous les patients de moins de 60 ans pour lesquels était demandée une recherche de mutation

KRAS sur la plateforme de génétique moléculaire de Midi-Pyrénées. Cette mesure a eu pour effet une augmentation de près de 50 % du nombre de tests RER prescrits en 2011 par rapport à 2010.

L'insuffisance ou la non connaissance par les cliniciens des patients porteurs de CCR qui devraient être candidats à la réalisation de tests moléculaires tumoraux ou à une consultation d'oncogénétique d'emblée a déjà été rapportée par plusieurs équipes au niveau international (78-82).

En parallèle, au plan national, un travail présenté aux Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive (JFHOD) en 2011 a montré que sur une cohorte française de 1188 CCR inclus entre juin 2006 et avril 2008 (cohorte FDRK), seulement 9,5 % des patients (20 % pour les moins de 60 ans) avaient bénéficié d'un test RER. De plus, les indications de test RER dans ce travail étaient plus larges car, dans certains centres, ce dernier est réalisé dans tous les cas de CCR (stratégie universelle) (83).

b) Evaluation du respect des indications et des modalités de prescription

Dans notre étude, les indications sont respectées dans la très grande majorité des cas avec seulement 2,2 % d'indications non valides et 3 % des tests où l'indication n'est pas connue.

Les praticiens adhèrent bien aux recommandations ; néanmoins les demandes de tests RER sont mal renseignées avec seulement 60,7 % des cas où l'indication du test RER est précisée sur la demande. En outre, ce chiffre tombe à 47,2 % si on soustrait les demandes faites par l'oncogénéticien. L'anatomopathologiste ne connaît donc que dans moins de 50 % des cas l'indication du test RER, et cette information est parfois partielle avec comme unique critère précisé l'âge alors qu'il existe des antécédents familiaux (informations recueillies pour l'étude grâce aux dossiers patients informatisés). Or, lors de tests RER douteux ou de mauvaise qualité, il peut être amené à renouveler les examens, ce qui est consommateur de temps et de moyens. En fonction du contexte clinique, la mise en œuvre de ces moyens sera variable, d'où la nécessité pour l'anatomopathologiste d'en être alerté.

En cas de seconde demande de test RER, cette dernière n'est pas justifiée dans 25 % des cas, principalement en raison de demandes émanant de deux prescripteurs différents à quelques semaines d'intervalle.

Les résultats sont aussi moins bons lorsqu'on s'intéresse au sous-groupe des demandes effectuées sur les polypes avec 26,8 % de demandes non justifiées ou dont l'indication n'a pas été retrouvée.

Pour finir, le prescripteur n'est pas précisé dans 10 % des cas et seul son lieu d'exercice est précisé. Il existe 2 % des demandes pour lesquelles même le lieu d'exercice n'est pas précisé. En cas de test « RER+ », on comprend ainsi aisément la

raison de l'absence de consultation d'oncogénétique en suivant (c'est le cas pour deux des tests « RER+ » de notre étude).

Dans les mesures correctives envisagées (cf IV. A. e), un axe comportera donc l'amélioration du remplissage des feuilles de prescription du test RER, car il peut y avoir des répercussions directes sur la suite de la prise en charge en cas d'informations mal ou non renseignées.

c) Disparité de prescriptions entre les établissements

Nous observons que 71 % des demandes de tests RER sont faites par les institutions publiques (56 % en CHU/CLCC et 15 % en CHG), alors qu'en France, la moitié des CCR est prise en charge dans les institutions privées (84).

En parallèle, nous remarquons que seulement 14,5 % des consultations d'oncogénétique sont faites en raison d'un test « RER+ ». Le test RER est réalisé dans 62,7 % des cas après la consultation d'oncogénétique. Or, les indications directes de consultation d'oncogénétique sans réalisation préalable d'un test RER sont rares (pour mémoire : critères d'Amsterdam II, âge inférieur à 40 ans ou antécédent personnel de CCR ou de cancer de l'endomètre).

Un des objectifs dans notre région sera donc d'inverser la tendance pour augmenter la prescription de tests RER, notamment par les institutions privées, tout en diminuant les consultations d'oncogénétique inutiles en cas de « RER- ». Ce projet passera par la poursuite de la formation des différents praticiens impliqués dans la prise en charge des CCR et des cancers de l'endomètre, avec un rappel sur les indications de test RER et sur les critères de consultation d'oncogénétique d'emblée.

Cette inégalité entre les centres hospitalo-universitaires (ou leurs équivalents à l'étranger) et les centres hospitaliers de proximité a déjà été soulignée dans d'autres pays (80,85) ainsi qu'en France (83). En effet, l'étude française sur la cohorte FDRK évoquée ci-dessus a montré un pourcentage de prescriptions de tests RER significativement différent en fonction du lieu de prise en charge du patient (11 % pour les CHU/CLCC, 4 % pour les CHR/CHG, 12 % pour les centres privés).

d) Analyse des causes d'absence de consultation d'oncogénétique en cas de « RER+ »

Nous avons déjà souligné que les demandes mal remplies pouvaient être un des facteurs expliquant l'absence de suivi des patients « RER+ ». Chez deux des dix-huit patients « RER+ » non vus en consultation d'oncogénétique, nous n'avons pas retrouvé les coordonnées exactes du prescripteur. Ces demandes étant relativement anciennes (2007), nous ne pouvons pas savoir avec certitude si, à l'époque, les coordonnées étaient correctes. Cependant, il est possible que les résultats du test RER

ne soient jamais arrivés aux prescripteurs. Dans cette éventualité, il se pose le problème du suivi de la prescription d'un test RER par le praticien.

Ensuite, nous pouvons noter que dans cinq cas (trois décès, un patient aux antécédents neuropsychiatriques et le désintérêt d'un patient), il existe une raison valable à l'absence de consultation d'oncogénétique. Dans trois autres cas, les patients étaient métastatiques au diagnostic, ce qui pourrait être une des causes de l'absence de consultation. Cela reste une hypothèse car nous n'avons pas reçu de réponse aux courriers envoyés aux médecins référents.

Néanmoins, même en cas de décès, les praticiens référents pourraient contacter le médecin traitant de la famille, ou la famille elle-même en fonction du contexte, afin de permettre le diagnostic et le dépistage du syndrome de Lynch chez les apparentés, compte tenu des bénéfices attendus d'une telle prise en charge.

De plus, parmi les patients décédés ou métastatiques, certains ont eu une survie de plusieurs mois. Compte tenu du contexte, il est plausible que les médecins référents n'aient pas souhaité inquiéter leur patient. Cependant, dans une revue récente de la littérature, il a été montré que la majorité des patients ont une attitude positive envers les propositions de consultation d'oncogénétique, et qu'une minorité de patients développent une anxiété ou une dépression importante dans les suites du prélèvement sanguin à visée génétique. En effet, la motivation principale des patients reste le risque de cancers pour leurs proches (86). Enfin, contrairement à ce que les médecins peuvent penser, les patients trouvent acceptables que cette démarche génétique leur soit proposée dès le diagnostic (87) et donc a fortiori dans les 4 mois suivant le diagnostic (délai médian de rendu des résultats du test RER sur la période étudiée).

Aucun médecin n'a répondu que les délais d'analyse des tests RER ou de consultation d'oncogénétique avaient été un frein à la réalisation du suivi. Nous pouvons tout de même supposer qu'en cas de patient métastatique au diagnostic avec une évolution rapidement péjorative, l'amélioration de ces délais réduirait le nombre de patients perdus de vue. L'amélioration des délais d'analyse du test RER sera discutée au paragraphe B.

Quant aux délais des consultations d'oncogénétique pour une nouvelle famille, ils sont actuellement d'environ 10 semaines, ce qui est au-dessus de la moyenne nationale (6,9 semaines selon le rapport d'oncogénétique 2010 de l'INCa (52)). Le recrutement d'un oncogénéticien digestif supplémentaire dans l'équipe va permettre une amélioration de ces délais et ainsi faciliter l'accès de ces patients aux consultations. De plus, la région Midi-Pyrénées étant la plus grande de France, et connaissant le rôle que la distance peut jouer dans l'accès aux centres référents (88,89), une « pré-consultation » d'oncogénétique a été mise en place au Centre Hospitalier de Rodez depuis 2010 et une autre va être mise en place à Tarbes prochainement.

À souligner également, des raisons non satisfaisantes à l'absence de consultation d'oncogénétique :

- un âge avancé, sans aucune information sur le contexte familial, n'est pas un argument suffisant pour justifier l'absence de consultation d'oncogénétique ;
- le fait d'avoir confié le patient à une autre équipe pour la suite de la prise en charge n'est pas non plus recevable et cela souligne l'importance de ne pas déléguer sans s'assurer du suivi ultérieur.

Pour finir, nous observons que parmi les 18 patients « RER+ » non vus en consultation d'oncogénétique, 8 étaient suivis dans le secteur privé alors qu'il ne représente que 27 % des prescriptions, soulignant une nouvelle fois l'importance des mesures correctives dans ce secteur.

En dépit de ces différents freins, **le taux de perdus de vue parmi les « RER+ » dans notre étude est de 17 %**, ce qui est un des taux les plus bas de la littérature, qui rapporte un taux de 21 à 76% de perdus de vue après la réalisation du test RER (81,90–92). De la même façon, la synthèse préliminaire de l'activité d'oncogénétique 2011, émise par l'INCa, montre que seuls 633 des 1361 « RER+ » identifiés sur les plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers en 2011 ont été vus en consultation d'oncogénétique, soit 53,5 % de perdus de vue.

Rappelons que dans l'étude prospective évaluant la même stratégie de dépistage menée en Midi-Pyrénées de 1999 à 2006 dans le cadre de la recherche clinique, le taux de perdus de vue était de 20 %, malgré des relances de la part des investigateurs (50). Il est encourageant de noter que les résultats se maintiennent en pratique courante et que, dans la grande majorité des questionnaires, la signification de la positivité du test RER est claire pour les prescripteurs, même si dans quelques cas la démarche n'a pas abouti.

e) Mesures correctives envisagées

Afin d'améliorer l'adéquation aux recommandations de dépistage du syndrome de Lynch dans notre région, nous envisageons plusieurs actions :

- Poursuite de la formation des différents praticiens impliqués dans la prise en charge des CCR et des cancers de l'endomètre :
 - Réunions de Formation Médicale Continue (FMC), comme par exemple la Journée Annuelle Régionale de Cancérologie Digestive, en se focalisant en particulier sur les indications de tests RER sur polypes, moins bien respectées.
 - Mise au point de nouveaux référentiels régionaux de bonnes pratiques cliniques en cancérologie digestive et en gynécologie et mise à jour des référentiels déjà en ligne sur le site Oncomip.
 - Importance des renseignements à fournir sur les demandes de test, alertes sur les potentielles répercussions en pratique clinique des demandes mal remplies.

- Poursuite de l'incitation à la consultation d'oncogénétique via les comptes rendus d'anatomopathologie en cas de « RER+ ».
- Systématisation de la prescription du test RER chez les patients de moins de 60 ans atteints de CCR par la mise en place d'alertes sur le Dossier Communiquant de Cancérologie (DCC) lors de la création d'une fiche de RCP par le praticien référent. Le clinicien fait la prescription du phénotypage directement sur le site Oncomip et transmet la demande ainsi générée au médecin anatomopathologiste détenteur du prélèvement tumoral (cf. Annexe 4).
Ces alertes ont été mises en place en avril 2012 avec, en parallèle, une formation sur le terrain des praticiens et des anatomopathologistes à ce nouvel outil de prescription.
- Courrier systématique de rappel envoyé au médecin référent pour tout patient « RER+ » non vu en consultation d'oncogénétique dans le mois suivant le résultat du test RER.
- Diminution des délais de consultation d'oncogénétique et optimisation de leur accessibilité par la mise en place de « pré-consultation » dans les centres éloignés de Toulouse.

À l'échelle nationale, des mesures pourraient également participer au meilleur dépistage du syndrome de Lynch, comme le souligne l'article de *Vasen* publié en 2010 dans *Familial Cancer* qui a évalué les pratiques de dépistage dans 14 pays européens (58):

- information et sensibilisation de la population aux CCR d'origine héréditaire ; par exemple par le biais de programmes télévisés, publicités, programmes de santé sur le lieu de travail ;
- amélioration de la formation des étudiants en médecine en génétique médicale dans les facultés françaises ;
- mise en place d'un recueil exhaustif de l'histoire familiale et définition de la conduite à tenir en fonction des données recueillies (notamment indication à une consultation d'oncogénétique d'emblée), via le programme de dépistage du CCR par test Hémocult II dans la population générale.

B. Evaluation de la qualité du test RER et des outils de biologie moléculaire

a) Instabilité microsatellitaire (MSI)

Beaucoup de tests MSI sont ininterprétables (19,6 %) alors que l'objectif fixé par l'accréditation serait de moins de 5 %.

L'équipe de la plateforme a beaucoup travaillé sur l'amélioration de la technique au vu de ces résultats. Les contrôles qualité sont passés avec succès avec un taux de tests ininterprétables bien inférieur à 5 %, mais les résultats actuels en routine restent imparfaits.

L'hypothèse principale est que ce taux élevé de tests ininterprétables est majoritairement secondaire à un problème de fixation. En effet, la majorité des extractions d'ADN sont réalisées sur des tissus fixés (63 %) alors que la congélation est le mode développé pour permettre une moindre dégradation de l'ADN et donc une meilleure amplification ultérieure. Une mauvaise fixation initiale par retard de prise en charge de l'échantillon (ouverture des pièces fraîches, fixation) pourrait altérer l'amplification ultérieure de l'ADN. De plus, l'AFA, le liquide de Bouin ou le fixateur Duboscq-Brasil sont des fixateurs qui altèrent la qualité des résultats de biologie moléculaire. La fixation par du formol 10 % tamponné semble ainsi être la meilleure, tant pour l'analyse de biologie moléculaire que pour l'IHC.

Ces hypothèses sont corroborées par la comparaison des RER évaluables versus les RER non évaluables. De fait, on note des différences significatives entre ces deux groupes, avec dans le groupe « RER non évaluables » une extraction d'ADN plus souvent réalisée sur du matériel fixé que congelé et plus de fixateurs type AFA, Bouin ou Duboscq-Brasil.

À noter également dans le groupe « RER non évaluables » un nombre de tests réalisés sur des biopsies significativement plus élevé que celui des tests réalisés sur des exérèses chirurgicales. Cette constatation peut être le résultat soit du problème de fixation évoqué ci-dessus, soit de la faible proportion de cellules tumorales dans l'échantillon, insuffisantes pour l'analyse RER.

Des améliorations peuvent donc être apportées dans ce domaine :

- une transmission de ces résultats aux anatomopathologistes de la région avec un rappel quant à l'importance d'utiliser un fixateur adéquat, le formol 10 % tamponné, aussi bien pour l'IHC que pour la biologie moléculaire ;
- un rappel aux hépato-gastro-entérologues afin qu'ils réalisent un nombre élevé de biopsies, notamment sur les tumeurs rectales et les tumeurs métastatiques. En effet, en cas de RER non évaluable, du matériel chirurgical peut généralement être récupéré, sauf dans certains cas de tumeurs rectales traitées par radiochimiothérapie néoadjuvante avec peu de résidus tumoraux sur la pièce opératoire ou en cas de tumeur métastatique inopérable.

b) Immunohistochimie (IHC)

L'IHC est un très bon outil également et on note qu'elle rattrape les insuffisances d'interprétabilité de la biologie moléculaire avec un résultat rendu sur l'IHC seule dans environ 19,5 % des cas.

Néanmoins ces résultats sont à nuancer avec de très bons résultats pour les protéines MLH1 et MSH2 (respectivement 2,3 % et 5,2 % de résultats ininterprétables) et des progrès à faire pour les protéines MSH6 et PMS2 (respectivement 13,5 % et 12,8 % de résultats ininterprétables).

Ainsi, les 4 protéines n'ont pu être interprétées que dans 70 % des cas où elles ont toutes été testées (on rappelle qu'au début de l'étude, PMS2 n'était pas réalisé systématiquement).

Certaines études suggèrent qu'il serait envisageable de réaliser l'IHC seule en première intention et de ne rechercher l'instabilité microsatellitaire qu'en cas de résultat ininterprétable (11,44,93,94). C'est une attitude qui pourrait être effectivement proposée au vu des bons résultats de cet outil avec toutefois quelques réserves. En effet, il faudrait exiger d'avoir les 4 protéines interprétables pour pouvoir conclure, et ainsi ne pas réaliser la biologie moléculaire.

D'ailleurs, un cas de notre étude illustre le piège de conclure à un résultat « RER- » sans la biologie moléculaire (ininterprétable) et sans IHC complète. En effet, il existait chez ce patient un maintien d'expression des protéines MLH1, MSH2 et PMS2. MSH6 était ininterprétable et il a été conclu par excès à un test « RER- ». Devant une forte suspicion clinique de syndrome de Lynch (critères d'Amsterdam), la recherche de mutation MSH6 a été réalisée et cette dernière s'est révélée positive.

Une modification des comptes rendus d'anatomopathologie est donc envisagée avec des réserves quant à l'interprétation de l'IHC sans MSI si l'une des protéines est ininterprétable.

c) Concordance des deux techniques MSI et IHC

Si l'on considère l'ensemble des demandes, les deux techniques (MSI et IHC) ont été réalisées et jugées interprétables dans 467 dossiers avec seulement 5 cas discordants, soit une concordance de 98,9 %, ce qui est en accord avec les données de la littérature (44,50,95).

d) Délais d'analyse des résultats

Pendant la période étudiée, les délais d'analyse des tests RER étaient en moyenne de 120 jours.

Ce délai était trop long pour plusieurs raisons.

- ✓ Cette période correspond à la mise en place de la recherche de mutation KRAS sur la plateforme de génétique moléculaire en Midi-Pyrénées. La recherche de mutation KRAS est un outil d'aide à la décision thérapeutique, et a donc été priorisée, conformément aux directives de l'INCa. De plus, il a fallu un temps de formation à cette nouvelle technique, aux dépens de la réalisation du test RER.
- ✓ Le test RER n'était pas remboursé sur cette période, contrairement à la recherche de mutation KRAS prise en charge par l'INCa.
- ✓ En terme de rentabilité, la recherche de MSI doit être réalisée sur un nombre minimum de tumeurs (10 à 15) et il faut donc réunir assez de demandes pour lancer les analyses de biologie moléculaire.

Le délai a actuellement été réduit à 17 jours en 2012 (18 jours en 2011). En effet, la recherche de mutation KRAS est maintenant bien standardisée sur la plateforme,

dégageant du temps pour la réalisation des tests RER. De plus, la recherche MSI est désormais prise en charge par l'INCa.

e) Outils de biologie moléculaire BRAF et hyperméthylation du promoteur de MLH1

Comme évoqué précédemment, la présence d'une mutation BRAF est quasi pathognomonique d'une tumeur sporadique dans les CCR avec extinction MLH1. En effet, dans une revue de la littérature récente, un syndrome de Lynch n'a été retrouvé que chez 1,4 % des patients « RER+ » avec une mutation BRAF (60). Dans notre étude, aucune mutation de MLH1 n'a été retrouvée chez 5 des patients mutés pour BRAF qui ont été testés, y compris par RGT dans deux cas.

L'incorporation de la recherche de cette mutation dans l'algorithme d'investigation du syndrome de Lynch a dès lors été recommandée (61,62), permettant de diminuer le recours aux analyses génétiques. Néanmoins, des précautions doivent être prises dans les cas fortement suspects de syndrome de Lynch, notamment en cas de critères d'Amsterdam. Il est donc nécessaire que le compte rendu d'anatomopathologie soit formulé dans ce sens.

La technique étant actuellement bien standardisée sur la plateforme, la recherche de cette mutation BRAF est devenue systématique en cas de CCR « RER+ » avec extinction MLH1.

Concernant la recherche d'hyperméthylation du promoteur de MLH1, la technique est encore en cours de validation sur la plateforme. Même si sa présence est fortement évocatrice d'une tumeur sporadique, elle doit être interprétée avec prudence et le compte rendu d'anatomopathologie doit être rédigé en ce sens. En effet, il existe tout de même 5,5 % d'authentiques syndromes de Lynch chez les patients « RER+ » avec hyperméthylation du promoteur de MLH1 selon une revue de la littérature récente (60). Comme nous l'avons déjà évoqué, ces cas correspondent soit au « second hit » soit à une hyperméthylation constitutionnelle du promoteur de MLH1. Dans notre étude, aucune mutation du gène MLH1 n'a été retrouvée chez 7 des 9 patients avec une hyperméthylation du promoteur de MLH1, y compris par RGT chez 6 d'entre eux. Pour les deux derniers cas, l'hyperméthylation était associée à une mutation BRAF et aucune analyse génétique n'a donc été réalisée.

Il n'y a pas dans notre étude de cas discordant retrouvant une mutation BRAF associée à une absence d'hyperméthylation du promoteur de MLH1.

Au vu de ces résultats et de la littérature récente, nous envisageons donc une modification des comptes rendus d'anatomopathologie pour aider les prescripteurs dans leur conduite à tenir après réception des résultats RER, BRAF et hyperméthylation du promoteur de MLH1, tout en évitant de surcharger la consultation d'oncogénétique s'il n'y a pas d'indication à cette dernière.

C. Identification des syndromes de Lynch

a) Diagnostic de Lynch à partir des cas index

Suite aux bons résultats de l'étude menée dans notre région concernant cette stratégie bioclinique en deux étapes (sélection des patients sur des critères cliniques peu restrictifs pour la réalisation du test RER et consultation d'oncogénétique en cas de « RER+ »)(50) et aux recommandations françaises de 2004 (46), cette stratégie a donc été poursuivie en Midi-Pyrénées. Comme nous l'avons déjà évoqué, d'autres équipes françaises préfèrent la stratégie universelle dans laquelle le test RER est réalisé pour tout nouveau cas de CCR.

Sur la période étudiée en pratique courante, ces bons résultats se maintiennent avec une **valeur prédictive positive (VPP) du test « RER+ » dans cette population sélectionnée de 51,9 %**. Ces résultats sont concordants avec d'une part l'étude menée en prospectif dans notre région où la VPP était de 58 % (50), et d'autre part avec les études similaires ayant adopté la même stratégie (73,96,97).

Il faut préciser que ces études ont toutes été réalisées à partir de CCR et que la VPP n'y a pas été évaluée en incluant les tumeurs extra-coliques et les polypes. Dans notre étude, la VPP reste à 51 %, que l'on prenne en compte ou non les tumeurs extra-coliques et les polypes.

Il faut souligner que pour les cancers de l'endomètre, la VPP de la stratégie bioclinique est moins bonne, entre 22 et 32 % selon les études (98-100), et que cette stratégie est plus discutée.

De plus, la thèse du Dr Staub soutenue en octobre 2012 rapporte 40 % de « RER+ » parmi les cancers de l'endomètre, contre 15 % dans les CCR. La méthylation du promoteur de MLH1 est associée à la quasi-totalité des cas d'extinction de la protéine MLH1 de ce travail (42/44), sans aucune mutation BRAF V600E identifiée. Ces cas sont donc très probablement sporadiques et les enquêtes oncogénétiques sont en cours pour émettre les conclusions finales (101).

L'INCa a émis en 2010 des recommandations concernant le dépistage du syndrome de Lynch chez les patientes atteintes d'un cancer de l'endomètre, par analogie à la stratégie développée dans le CCR, et cette stratégie bioclinique reste donc valable à l'heure actuelle (102). Toutefois, à la vue de ces constatations, la stratégie de dépistage du syndrome de Lynch dans les cancers de l'endomètre devrait être revue.

Une des questions soulevées par notre équipe était de savoir si le fait d'avoir élargi le critère d'inclusion sur l'âge de 50 à 60 ans avait permis d'identifier un plus grand nombre de syndromes de Lynch sans pour autant générer trop de cas de « RER+ » sporadiques (en d'autres termes, un gain de sensibilité sans perte importante de spécificité).

Pour 20 « RER+ » identifiés dans la tranche d'âge 51-60 ans, 13 sont des syndromes de Lynch dont 2 inclus sur le seul critère « âge moins de 60 ans ». Il est donc justifié de poursuivre les inclusions sur ce critère.

À noter parmi les RER non évaluables, le diagnostic de 7 syndromes de Lynch, et parmi les « RER- » l'identification d'une mutation MSH6 chez un patient (chez qui, rappelons-le, l'IHC n'était interprétable que sur 3 protéines et la biologie moléculaire ininterprétable mais qui présentait les critères d'Amsterdam et qui a donc bénéficié d'une recherche génétique).

Une communication auprès des prescripteurs devra être réalisée quant à l'importance de ne pas interrompre la démarche d'oncogénétique en cas de RER non évaluable, de même qu'un rappel des recommandations de 2004 (46) préconisant une consultation d'oncogénétique sans analyse tumorale préalable pour les cas suivants :

- critères d'Amsterdam II élargis (2 apparentés au 1^{er} degré au minimum et non 3),
- patient âgé de moins de 40 ans au diagnostic,
- patient atteint d'un cancer du spectre de Lynch ayant un antécédent personnel de CCR ou de cancer de l'endomètre.

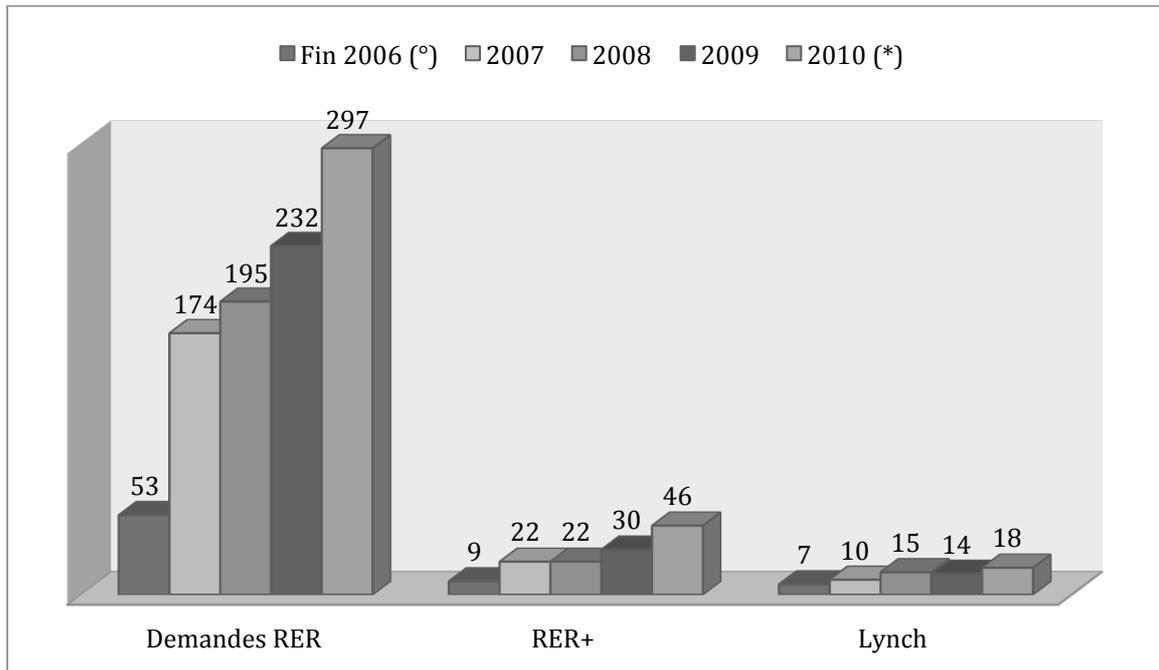
Sur les trois ans et demi de notre étude, 63 syndromes de Lynch ont ainsi été identifiés chez les cas index, avec un faible nombre d'enquêtes oncogénétiques en cours à la fin du recueil de données. Ces 63 patients correspondent à 59 familles différentes. En effet, deux demandes de test RER étaient faites en parallèle dans certains dossiers sur la période de l'étude.

En moyenne sur cette période, **18 cas de syndrome de Lynch par an** ont donc été identifiés. L'INCa évalue le nombre de syndromes de Lynch en France entre 800 à 1200 cas par an parmi les CCR (52). Sachant que 5 % de la population française vit en Midi-Pyrénées, on peut donc estimer que **parmi les 1800 cas de CCR diagnostiqués chaque année en Midi-Pyrénées, 40 à 60 seraient porteurs d'un syndrome de Lynch**. Parmi eux, un certain nombre est déjà connu pour être porteur d'une mutation mais développe tout de même un CCR (défaut de dépistage ou dépistage de petites tumeurs).

Ci-dessous, le graphique 4 montre l'évolution croissante du nombre de tests RER réalisés, du nombre de « RER + » et du nombre de nouveaux cas porteurs d'une mutation MMR sur la période étudiée.

Ces résultats vont dans le sens des estimations de l'INCa, avec une augmentation du nombre de diagnostics au fil des ans, tout en gardant à l'esprit la marge de progression possible.

Graphique 4 : Evolution des tests RER, des « RER+ » et des syndromes de Lynch de 2007 à 2010



° : Pour 2006, certaines demandes ont initialement été comptabilisées en 2007 et sont donc répertoriées dans l'étude. Elles sont isolées ici pour refléter l'évolution effective.

* : Pour 2010, l'étude n'a porté que sur 6 mois. Les chiffres de « RER+ » et de syndrome de Lynch ont donc été extrapolés pour l'intelligibilité du graphique (23 « RER+ » et 9 syndromes de Lynch identifiés sur 6 mois). Pour les demandes RER, le chiffre global en 2010 est fourni par la plateforme (IHC seule non comptabilisée).

Certaines des mesures correctives évoquées sont déjà en place. En 2011 et 2012, il a été identifié respectivement 7 et 3 syndromes de Lynch selon les chiffres du laboratoire d'oncogénétique de l'ICR. L'hypothèse principale pour expliquer ces mauvais résultats réside dans la systématisation de la réalisation du test RER pour toute demande de recherche de mutation KRAS chez un patient de moins de 60 ans. En effet, les prescripteurs n'étant pas sensibilisés au problème, le nombre de perdus de vue parmi les « RER+ » s'est possiblement majoré. De plus, le fait que les prescriptions de recherche de mutation KRAS soient faites dans un contexte métastatique peut aggraver ce phénomène. Par conséquent, il a été décidé la mise en place de courrier systématique de rappel envoyé au médecin référent pour tout patient « RER+ » non vu en consultation d'oncogénétique (mesure déjà évoquée dans le paragraphe IV. A. e).



L'ensemble des différentes mesures correctives envisagées à toutes les étapes du dépistage (sélection des patients pour le test RER, analyse tumorale et suivi des patients « RER+ ») sera donc nécessaire pour atteindre les objectifs et ainsi améliorer nos pratiques.

b) Diagnostic de Lynch à partir des apparentés

Concernant les apparentés, 83 tests prédictifs ont été réalisés à partir des 31 cas index ayant eu le temps nécessaire pour informer leur famille, permettant ainsi d'identifier 22 nouveaux Lynch.

Selon le rapport de l'activité d'oncogénétique en 2010 émis par l'INCa (52), le ratio global du nombre d'apparentés testés sur le nombre de cas index porteurs d'une mutation MMR ou EpCAM est de 3,23 (fluctuant de 2,28 en 2004 à 4,43 en 2008). En moyenne, plus de trois apparentés sont testés après identification d'un cas index porteur d'une mutation.

Le ratio en Midi-Pyrénées serait donc de 2,68, en prenant en compte que ce chiffre est sous-évalué. En effet, le nombre de tests prédictifs comptabilisés ici ne prend en compte que ceux effectués à partir d'un cas index diagnostiqué pendant la période étudiée et ce en Midi-Pyrénées. Les apparentés dépistés à partir d'un cas index diagnostiqué en dehors de Midi-Pyrénées ou en dehors des années 2007-2010 ne sont pas comptabilisés.

Ces résultats sont plutôt prometteurs et nous incitent à poursuivre la diffusion des informations concernant le syndrome de Lynch au reste de la famille à partir du cas index. Ces informations sont délivrées à ce dernier lors de la consultation d'oncogénétique et couplées à un courrier type à envoyer aux membres de leur famille.

Enfin, les patients porteurs d'un syndrome de Lynch sont informés de l'existence de l'association HNPCC-Lynch à laquelle ils peuvent adhérer s'ils le souhaitent.

Des études récentes montrent que l'information est délivrée dans la grande majorité des cas aux apparentés du 1^{er} degré mais qu'elle n'atteint ceux du second ou troisième degré que dans deux tiers des cas (103,104). Ces expériences nous encouragent à insister auprès des cas index sur la diffusion des informations au sein de leur famille, y compris la famille plus éloignée. Enfin, une évaluation des pratiques ciblée sur le dépistage des apparentés pourrait être bénéfique dans le cadre de l'amélioration de nos pratiques de dépistage du syndrome de Lynch dans son ensemble.

V. Conclusion

Le syndrome de Lynch est la première cause de cancer colorectal héréditaire, causé par la mutation d'une des protéines MMR ou du gène EpCAM. L'identification des patients porteurs de la mutation est un véritable challenge car elle offre l'opportunité de leur proposer un programme de dépistage précoce des CCR et des cancers de l'endomètre qui permet d'en réduire la morbidité et la mortalité.

Les recommandations françaises émises en 2004 proposent une stratégie bioclinique en deux étapes basée sur le phénotype tumoral « RER+ » de ces cancers, stratégie validée prospectivement par plusieurs études.

Malgré ces recommandations, le syndrome de Lynch reste largement sous-diagnostiqué en France.

Notre étude a permis d'évaluer l'application et la rentabilité diagnostique de ces recommandations en pratique courante dans notre région.

Elle a permis de mettre en évidence plusieurs faiblesses dans leur exécution.

- À l'étape de la prescription du test RER : sélection insuffisante par les cliniciens des patients candidats à sa réalisation, feuilles de prescription remplies de façon incorrecte ou incomplète, disparité de prescription entre les établissements publics et privés.
- À l'étape tumorale : MSI ininterprétable en raison de mauvaises fixations, longs délais d'analyse des résultats, problème d'interprétation du test RER et des outils de biologie moléculaire.
- Dans le suivi des patients « RER+ » : 17 % de perdus de vue, dont certains pour des raisons non identifiables ou non valables.

La rentabilité de cette stratégie est satisfaisante avec une valeur prédictive positive de 52 % permettant de diagnostiquer en moyenne 18 syndromes de Lynch par an.

À l'échelle régionale, ces constatations vont nous amener à proposer un plan d'amélioration de nos pratiques grâce à la mise en place de mesures correctives selon un calendrier précis, coordonnées par un responsable à chaque niveau d'action. Enfin, une réévaluation de nos pratiques est à prévoir au terme de ce plan d'amélioration pour en mesurer l'impact.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. INCa. Incidence et mortalité estimées des cancers, tous sexes confondus (5 principales localisations) en France métropolitaine en 2011. Disponible sur : <http://lesdonnees.e-cancer.fr/les-fiches-de-synthese/1-types-cancer/11-cancer-colorectal/42-epidemiologie-du-cancer-colorectal-en-france-metropolitaine-mortalite.html>
2. Rustgi AK. The genetics of hereditary colon cancer. *Genes Dev.* 15 oct 2007;21(20):2525-2538.
3. Tops CMJ, Wijnen JT, Hes FJ. Introduction to molecular and clinical genetics of colorectal cancer syndromes. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* avr 2009;23(2):127-146.
4. Jang E, Chung DC. Hereditary Colon Cancer: Lynch Syndrome. *Gut and Liver.* 2010;4(2):151.
5. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and Familial Colon Cancer. *Gastroenterology.* mai 2010;138(6):2044-2058.
6. Chan TL, Yuen ST, Kong CK, Chan YW, Chan AS, Ng WF, et al. Heritable germline epimutation of MSH2 in a family with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nature Genetics.* 10 janv 2006;38(10):1178-1183.
7. Ligtenberg MJL, Kuiper RP, Chan TL, Goossens M, Hebeda KM, Voorendt M, et al. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1. *Nature Genetics.* 2008;41(1):112-117.
8. Kovacs ME, Papp J, Szentirmay Z, Otto S, Olah E. Deletions removing the last exon of TACSTD1 constitute a distinct class of mutations predisposing to Lynch syndrome. *Human Mutation.* 2009;30(2):197-203.
9. Duval A, Hamelin R. Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers: toward a new concept of target genes for instability. *Cancer Res.* 1 mai 2002;62(9):2447-2454.
10. Hamelin R, Chalastanis A, Colas C, El Bchir J, Mercier D, Schreurs A-S, et al. Conséquences cliniques et moléculaires de l'instabilité des microsatellites dans les cancers humains. *Bulletin du cancer.* 95(1):121-132.
11. Shia J. Immunohistochemistry versus Microsatellite Instability Testing For Screening Colorectal Cancer Patients at Risk For Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome. *The Journal of Molecular Diagnostics.* juill 2008;10(4):293-300.
12. Colas C, Coulet F, Svrcek M, Collura A, Fléjou J-F, Duval A, et al. Lynch or not Lynch? Is that always a question? *Adv. Cancer Res.* 2012;113:121-166.
13. Senter L, Clendenning M, Sotamaa K, Hampel H, Green J, Potter JD, et al. The Clinical Phenotype of Lynch Syndrome Due to Germ-Line PMS2 Mutations. *Gastroenterology.* août 2008;135(2):419-428.e1.
14. Hendriks YMC, Wagner A, Morreau H, Menko F, Stormorken A, Quehenberger F, et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer due to MSH6 mutations: impact on counseling and surveillance. *Gastroenterology.* juill 2004;127(1):17-25.
15. Lynch HT, De la Chapelle A. Hereditary Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine.* 2003;348(10):919-932.
16. Cunningham JM, Christensen ER, Tester DJ, Kim CY, Roche PC, Burgart LJ, et al.

Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Cancer Res.* 1 août 1998;58(15):3455-3460.

17. Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, et al. Methylation of the hMLH1 Promoter Correlates with Lack of Expression of hMLH1 in Sporadic Colon Tumors and Mismatch Repair-defective Human Tumor Cell Lines. *Cancer Res.* 3 janv 1997;57(5):808-811.

18. Laurent-Puig P, Agostini J, Maley K. [Colorectal oncogenesis]. *Bull Cancer.* nov 2010;97(11):1311-1321.

19. Vasen H, Wijnen J, Menko F, Kleibeuker J, Taal B, Griffioen G, et al. Cancer risk in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer diagnosed by mutation analysis. *Gastroenterology.* avr 1996;110(4):1020-1027.

20. Bonadona V. Cancer Risks Associated With Germline Mutations in MLH1, MSH2 and MSH6 Genes in Lynch Syndrome. *JAMA: The Journal of the American Medical Association.* 8 juin 2011;305(22):2304.

21. Alarcon F, Lasset C, Carayol J, Bonadona V, Perdry H, Desseigne F, et al. Estimating cancer risk in HNPCC by the GRL method. *European Journal of Human Genetics.* 2007;15(8):831-836.

22. Jenkins MA, Baglietto L, Dowty JG, Van Vliet CM, Smith L, Mead LJ, et al. Cancer risks for mismatch repair gene mutation carriers: a population-based early onset case-family study. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* avr 2006;4(4):489-498.

23. Hampel H, Stephens JA, Pukkala E, Sankila R, Aaltonen LA, Mecklin J-P, et al. Cancer Risk in Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: Later Age of Onset. *Gastroenterology.* août 2005;129(2):415-421.

24. Watson P, Lynch HT. Cancer risk in mismatch repair gene mutation carriers. *Fam. Cancer.* 2001;1(1):57-60.

25. Järvinen HJ, Aarnio M, Mustonen H, Aktan-Collan K, Aaltonen LA, Peltomäki P, et al. Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology.* mai 2000;118(5):829-834.

26. De Jong AE, Hendriks YMC, Kleibeuker JH, De Boer SY, Cats A, Griffioen G, et al. Decrease in Mortality in Lynch Syndrome Families Because of Surveillance. *Gastroenterology.* mars 2006;130(3):665-671.

27. Järvinen HJ, Renkonen-Sinisalo L, Aktán-Collán K, Peltomäki P, Aaltonen LA, Mecklin J-P. Ten Years After Mutation Testing for Lynch Syndrome: Cancer Incidence and Outcome in Mutation-Positive and Mutation-Negative Family Members. *JCO.* 10 janv 2009;27(28):4793-4797.

28. Renkonen-Sinisalo L, Bützow R, Leminen A, Lehtovirta P, Mecklin J-P, Järvinen HJ. Surveillance for endometrial cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *International Journal of Cancer.* 2007;120(4):821-4.

29. Lécuru F, Huchon C, Metzger U, Bats AS, Le Frère Belda MA, Olschwang S, et al. Contribution of ultrasonography to endometrial cancer screening in patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer/Lynch syndrome. *Int. J. Gynecol. Cancer.* mai 2010;20(4):583-587.

30. Auranen A, Joutsiniemi T. A systematic review of gynecological cancer surveillance in women belonging to hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) families. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica.* 2011;90(5):437-44.

31. INCa. Principales recommandations de prise en charge des patients porteurs d'une mutation d'un gène MMR dans le syndrome de Lynch. 2009. Disponible sur :

<http://www.e-cancer.fr/soins/prises-en-charge-specifiques/oncogenetique>

32. Lindor NM. Lower Cancer Incidence in Amsterdam-I Criteria Families Without Mismatch Repair Deficiency: Familial Colorectal Cancer Type X. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 27 avr 2005;293(16):1979-1985.
33. Wolf B, Gruber S, Henglmüller S, Kappel S, Bergmann M, Wrba F, et al. Efficiency of the revised Bethesda guidelines (2003) for the detection of mutations in mismatch repair genes in Austrian HNPCC patients. *International Journal of Cancer*. 2006;118(6):1465-70.
34. Lindor NM. Familial Colorectal Cancer Type X: The Other Half of Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer Syndrome. *Surgical Oncology Clinics of North America*. oct 2009;18(4):637-645.
35. Jass JR. Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer: the rise and fall of a confusing term. *World J. Gastroenterol*. 21 août 2006;12(31):4943-4950.
36. Francisco I, Albuquerque C, Lage P, Belo H, Vitoriano I, Filipe B, et al. Familial colorectal cancer type X syndrome: two distinct molecular entities? *Fam. Cancer*. déc 2011;10(4):623-631.
37. Dove-Edwin I, De Jong AE, Adams J, Mesher D, Lipton L, Sasieni P, et al. Prospective Results of Surveillance Colonoscopy in Dominant Familial Colorectal Cancer With and Without Lynch Syndrome. *Gastroenterology*. juin 2006;130(7):1995-2000.
38. Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis. Colon Rectum*. mai 1991;34(5):424-425.
39. Vasen HFA, Watson P, Mecklin J, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroenterology*. juin 1999;116(6):1453-1456.
40. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, et al. Screening for the Lynch Syndrome (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer). *New England Journal of Medicine*. 2005;352(18):1851-1860.
41. Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Srivastava S, Jass JR, et al. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: Meeting Highlights and Bethesda Guidelines. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 12 mars 1997;89(23):1758-1762.
42. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, Chapelle A de la, Rüschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability. *Journal of the National Cancer Institute*. 18 févr 2004;96(4):261.
43. Palomaki GE, McClain MR, Melillo S, Hampel HL, Thibodeau SN. EGAPP supplementary evidence review: DNA testing strategies aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome. *Genetics in Medicine*. janv 2009;11(1):42.
44. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, et al. Feasibility of Screening for Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 22 sept 2008;26(35):5783-5788.
45. Julié C, Trésallet C, Brouquet A, Vallot C, Zimmermann U, Mitry E, et al. Identification in Daily Practice of Patients With Lynch Syndrome (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer): Revised Bethesda Guidelines-Based Approach Versus Molecular Screening. *The American Journal of Gastroenterology*. 2008;103(11):2825-2835.

46. Olschwang S, Bonaïti C, Feingold J, Frébourg T, Grandjouan S, Lasset C, et al. [Identification and management of HNPCC syndrome (hereditary non polyposis colon cancer), hereditary predisposition to colorectal and endometrial adenocarcinomas]. *Bull Cancer*. avr 2004;91(4):303-315.
47. Thésaurus National de Cancérologie Digestive (TNCD) : Référence professionnelle pour le traitement des cancers digestifs. Chapitre 3 et 4 : cancer du colon et du rectum. Disponible sur : <http://www.snfge.org/01-bibliotheque/0g-thesaurus-cancerologie/publication5/sommaire-thesaurus.asp>
48. Dunlop MG, Farrington SM, Nicholl I, Aaltonen L, Petersen G, Porteous M, et al. Population carrier frequency of hMSH2 and hMLH1 mutations. *British Journal of Cancer*. 5 déc 2000;83(12):1643-1645.
49. Hampel H, De la Chapelle A. The Search for Unaffected Individuals with Lynch Syndrome: Do the Ends Justify the Means? *Cancer Prevention Research*. 3 janv 2011;4(1):1-5.
50. Bonnet D, Selves J, Toulas C, Danjoux M, Duffas JP, Portier G, et al. Simplified identification of Lynch syndrome: A prospective, multicenter study. *Digestive and Liver Disease*. juin 2012;44(6):515-522.
51. Bonnet D. Evaluation d'une stratégie de dépistage du syndrome de Lynch chez les patients atteints de cancer colorectal: résultats d'une étude prospective, multicentrique. Thèse de médecine. Faculté de médecine de Toulouse III, Université Paul Sabatier, 2009. 2009TOU31563, 90 pages.
52. INCa. Synthèse de l'activité d'oncogénétique 2010. Collection Rapports & synthèses, ouvrage collectif édité par l'INCa, Boulogne-Billancourt, janvier 2012. Disponible sur : <http://www.e-cancer.fr/toutes-les-actualites/6913>
53. Bonnet D, Babba T, Hervé C, Aparicio T, Guimbaud R. Succès et échecs du dépistage des formes familiales. *Côlon & Rectum*. 2011;5(3):171-178.
54. Jahn S, Minai-Pour MB, Speicher MR, Reiner-Concin A, Hoefler G. Comprehensive Screening for Lynch Syndrome: Who Can Be the Driving Force in Daily Clinical Practice? *JCO*. 5 janv 2009;27(13):2292-2292.
55. Kastrinos F, Syngal S. Screening patients with colorectal cancer for Lynch syndrome: what are we waiting for? *J. Clin. Oncol*. 1 avr 2012;30(10):1024-1027.
56. Stoffel EM, Chittenden A. Genetic Testing for Hereditary Colorectal Cancer: Challenges in Identifying, Counseling, and Managing High-Risk Patients. *Gastroenterology*. nov 2010;139(5):1436-1441.e1.
57. Terdiman JP. It Is Time to Get Serious About Diagnosing Lynch Syndrome (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer With Defective DNA Mismatch Repair) in the General Population. *Gastroenterology*. août 2005;129(2):741-744.
58. Vasen HFA, Möslein G, Alonso A, Aretz S, Bernstein I, Bertario L, et al. Recommendations to improve identification of hereditary and familial colorectal cancer in Europe. *Fam. Cancer*. juin 2010;9(2):109-115.
59. Suraweera N, Duval A, Reperant M, Vaury C, Furlan D, Leroy K, et al. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology*. déc 2002;123(6):1804-1811.
60. Parsons MT, Buchanan DD, Thompson B, Young JP, Spurdle AB. Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. *J Med Genet*. 3 janv 2012;49(3):151-157.
61. Olschwang S, Paraf F, Laurent-Puig P, Wang Q, Lecuru F, Hamelin R, et al. Contributions récentes pour l'identification et le dépistage du syndrome de Lynch.

Gastroentérologie Clinique et Biologique. févr 2007;31(2):136-140.

62. Loughrey MB, Waring PM, Tan A, Trivett M, Kovalenko S, Beshay V, et al. Incorporation of somatic BRAF mutation testing into an algorithm for the investigation of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Fam. Cancer.* 2007;6(3):301-310.

63. Domingo E. BRAF screening as a low-cost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing. *Journal of Medical Genetics.* 1 sept 2004;41(9):664-668.

64. Tanaka H, Deng G, Matsuzaki K, Kakar S, Kim GE, Miura S, et al. BRAF mutation, CpG island methylator phenotype and microsatellite instability occur more frequently and concordantly in mucinous than non-mucinous colorectal cancer. *International Journal of Cancer.* 2006;118(11):2765-71.

65. Hitchins MP, Ward RL. Constitutional (germline) MLH1 epimutation as an aetiological mechanism for hereditary non-polyposis colorectal cancer. *J Med Genet.* 12 janv 2009;46(12):793-802.

66. Niessen RC, Hofstra RMW, Westers H, Ligtenberg MJL, Kooi K, Jager POJ, et al. Germline hypermethylation of MLH1 and EPCAM deletions are a frequent cause of Lynch syndrome. *Genes, Chromosomes and Cancer.* 2009;48(8):737-44.

67. Hitchins MP, Rapkins RW, Kwok C-T, Srivastava S, Wong JLL, Khachigian LM, et al. Dominantly Inherited Constitutional Epigenetic Silencing of MLH1 in a Cancer-Affected Family Is Linked to a Single Nucleotide Variant within the 5'UTR. *Cancer Cell.* 16 août 2011;20(2):200-213.

68. Crépin M, Dieu M-C, Lejeune S, Escande F, Boidin D, Porchet N, et al. Evidence of constitutional MLH1 epimutation associated to transgenerational inheritance of cancer susceptibility. *Human Mutation.* 2012;33(1):180-8.

69. Park S-J, Rashid A, Lee J-H, Kim SG, Hamilton SR, Wu T-T. Frequent CpG Island Methylation in Serrated Adenomas of the Colorectum. *The American Journal of Pathology.* mars 2003;162(3):815.

70. Gatta G, Capocaccia R, Sant M, Bell CM, Coebergh JW, Damhuis RA, et al. Understanding variations in survival for colorectal cancer in Europe: a EURO CARE high resolution study. *Gut.* oct 2000;47(4):533-538.

71. Faivre-Finn C, Bouvier-Benhamiche A-M, Phelip JM, Manfredi S, Dancourt V, Faivre J. Colon cancer in France: evidence for improvement in management and survival. *Gut.* 7 janv 2002;51(1):60-64.

72. Phelip JM, Grosclaude P, Launoy G, Colonna M, Danzon A, Velten M, et al. Are there regional differences in the management of colon cancer in France? *Eur. J. Cancer Prev.* févr 2005;14(1):31-37.

73. Salovaara R, Loukola A, Kristo P, Kääriäinen H, Ahtola H, Eskelinen M, et al. Population-based molecular detection of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* juin 2000;18(11):2193-2200.

74. Institut National de Veille Sanitaire. Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2005. 2009. Disponible sur : http://www.invs.sante.fr/publications/2009/estimation_cancer_1980_2005/index.html

75. Belot A, Grosclaude P, Bossard N, Jouglu E, Benhamou E, Delafosse P, et al. Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005. *Rev Epidemiol Sante Publique.* juin 2008;56(3):159-175.

76. Faivre J, Bouvier A-M, Bonithon-Kopp C. Epidemiology and screening of colorectal cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* avr 2002;16(2):187-199.

77. Bouvier A-M, Faivre J, Lejeune C. Stratégie de dépistage des cancers colorectaux chez les sujets à risque élevé. *Acta Endosc.* 1 juill 2002;32(4):623-631.
78. Grover S, Stoffel EM, Bussone L, Tschoegl E, Syngal S. Physician assessment of family cancer history and referral for genetic evaluation in colorectal cancer patients. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* sept 2004;2(9):813-819.
79. Harper SJ, McEwen AR, Dennett ER. Immunohistochemical testing for colon cancer--what do New Zealand surgeons know? *N. Z. Med. J.* 5 nov 2010;123(1325):35-40.
80. Overbeek LIH, Hoogerbrugge N, Van Krieken JHJM, Nagengast FM, Ruers TJM, Ligtenberg MJL, et al. Most Patients with Colorectal Tumors at Young Age Do Not Visit a Cancer Genetics Clinic. *Diseases of the Colon & Rectum.* août 2008;51(8):1249-1254.
81. Schofield L, Grieu F, Goldblatt J, Amanuel B, Iacopetta B. A state-wide population-based program for detection of lynch syndrome based upon immunohistochemical and molecular testing of colorectal tumours. *Fam. Cancer.* mars 2012;11(1):1-6.
82. Wong C, Gibbs P, Johns J, Jones I, Faragher I, Lynch E, et al. Value of database linkage: are patients at risk of familial colorectal cancer being referred for genetic counselling and testing? *Internal Medicine Journal.* 2008;38(5):328-33.
83. Benamouzig R. Instabilité microsatellitaire et cancer colorectal (CCR) : une recherche qui reste à développer. Poster JFHOD 2011. SNFGE. 2011. Disponible sur : <http://www.snfge.asso.fr/01-Bibliotheque/0A-Resumes-JFHOD/2011/5171.html>
84. Vernet C, Lepage C, Lejeune C, Faivre J, Bouvier A-M. Who is implicated in the care of digestive cancers? A population-based study over a 25-year period. *Gastroenterol. Clin. Biol.* nov 2006;30(11):1251-1255.
85. Beamer LC, Grant ML, Espenschied CR, Blazer KR, Hampel HL, Weitzel JN, et al. Reflex Immunohistochemistry and Microsatellite Instability Testing of Colorectal Tumors for Lynch Syndrome Among US Cancer Programs and Follow-Up of Abnormal Results. *JCO.* 4 janv 2012;30(10):1058-1063.
86. Landsbergen KM, Prins JB, Brunner HG, Kraaimaat FW, Hoogerbrugge N. Genetic testing for Lynch syndrome in the first year of colorectal cancer: a review of the psychological impact. *Fam. Cancer.* 2009;8(4):325-337.
87. Porteous M, Dunckley M, Appleton S, Catt S, Dunlop M, Campbell H, et al. Is it acceptable to approach colorectal cancer patients at diagnosis to discuss genetic testing? A pilot study. *British Journal of Cancer.* 20 oct 2003;89(8):1400-1402.
88. Blais S, Dejardin O, Boutreux S, Launoy G. Social determinants of access to reference care centres for patients with colorectal cancer--a multilevel analysis. *Eur. J. Cancer.* nov 2006;42(17):3041-3048.
89. Gentil J, Dabakuyo TS, Ouedraogo S, Poillot M-L, Dejardin O, Arveux P. For patients with breast cancer, geographic and social disparities are independent determinants of access to specialized surgeons. A eleven-year population-based multilevel analysis. *BMC Cancer.* 2012;12:351.
90. Canard G, Lefevre JH, Colas C, Coulet F, Svrcek M, Lascols O, et al. Screening for Lynch syndrome in colorectal cancer: are we doing enough? *Ann. Surg. Oncol.* mars 2012;19(3):809-816.
91. South CD, Yearsley M, Martin E, Arnold M, Frankel W, Hampel H. Immunohistochemistry staining for the mismatch repair proteins in the clinical care of patients with colorectal cancer. *Genet. Med.* nov 2009;11(11):812-817.
92. Wright DM, Arnold JL, Parry B, Hulme-Moir M, Winship IM, Parry S. Immunohistochemistry to detect hereditary nonpolyposis colorectal cancer in young

- patients: the 7-year Auckland experience. *Dis. Colon Rectum.* mai 2011;54(5):552-558.
93. Southey MC, Jenkins MA, Mead L, Whitty J, Trivett M, Tesoriero AA, et al. Use of Molecular Tumor Characteristics to Prioritize Mismatch Repair Gene Testing in Early-Onset Colorectal Cancer. *JCO.* 20 sept 2005;23(27):6524-6532.
94. De Jong AE, Van Puijenbroek M, Hendriks Y, Tops C, Wijnen J, Ausems MGEM, et al. Microsatellite instability, immunohistochemistry, and additional PMS2 staining in suspected hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 1 févr 2004;10(3):972-980.
95. Lindor NM, Burgart LJ, Leontovich O, Goldberg RM, Cunningham JM, Sargent DJ, et al. Immunohistochemistry Versus Microsatellite Instability Testing in Phenotyping Colorectal Tumors. *JCO.* 15 févr 2002;20(4):1043-1048.
96. Aaltonen LA, Salovaara R, Kristo P, Canzian F, Hemminki A, Peltomäki P, et al. Incidence of hereditary nonpolyposis colorectal cancer and the feasibility of molecular screening for the disease. *N. Engl. J. Med.* 21 mai 1998;338(21):1481-1487.
97. Barnetson RA, Tenesa A, Farrington SM, Nicholl ID, Cetnarskyj R, Porteous ME, et al. Identification and survival of carriers of mutations in DNA mismatch-repair genes in colon cancer. *N. Engl. J. Med.* 29 juin 2006;354(26):2751-2763.
98. Leenen CHM, Van Lier MGF, Van Doorn HC, Van Leerdam ME, Kooi SG, De Waard J, et al. Prospective evaluation of molecular screening for Lynch syndrome in patients with endometrial cancer ≤ 70 years. *Gynecologic Oncology.* mai 2012;125(2):414-420.
99. Lu KH, Schorge JO, Rodabaugh KJ, Daniels MS, Sun CC, Soliman PT, et al. Prospective Determination of Prevalence of Lynch Syndrome in Young Women With Endometrial Cancer. *JCO.* 20 nov 2007;25(33):5158-5164.
100. Berends MJW, Wu Y, Sijmons RH, Van der Sluis T, Ek WB, Ligtenberg MJL, et al. Toward new strategies to select young endometrial cancer patients for mismatch repair gene mutation analysis. *J. Clin. Oncol.* 1 déc 2003;21(23):4364-4370.
101. Staub A. Instabilité microsatellitaire et phénotype RER dans les cancers de l'endomètre. Thèse de médecine. Faculté de médecine de Toulouse III, Université Paul Sabatier, 2012. 2012TOU31573, 122 pages.
102. INCa. Recommandations de prise en charge spécialisée : cancer de l'endomètre. 2010. Disponible sur : <http://www.e-cancer.fr/soins/recommandations/cancers-gynecologiques>
103. Ishii N, Arai M, Koyama Y, Ueno M, Yamaguchi T, Kazuma K, et al. Factors affecting encouragement of relatives among families with Lynch syndrome to seek medical assessment. *Fam. Cancer.* déc 2011;10(4):649-654.
104. Stoffel EM, Ford B, Mercado RC, Punglia D, Kohlmann W, Conrad P, et al. Sharing genetic test results in Lynch syndrome: communication with close and distant relatives. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* mars 2008;6(3):333-338.

ANNEXE 1 :

Recommandations 2009 de prise en charge des patients porteurs d'un syndrome de Lynch (31)

Les personnes porteuses d'une mutation d'un gène *MMR* présentent un risque élevé de développer un cancer colorectal et de l'endomètre. Il existe également d'autres risques tumoraux, beaucoup plus faibles, associés à ces mutations.

I. PRISE EN CHARGE DU RISQUE COLORECTAL

À partir de quand ?

Le suivi doit débuter **dès l'âge de 20 ans**.

Comment ?

La surveillance doit être effectuée par **endoscopie colorectale complète avec chromoscopie par indigo-carmin**, réalisée **tous les 2 ans**, en insistant sur la bonne préparation colique.

Place de la colectomie :

La chirurgie prophylactique colorectale sur côlon sain n'est pas recommandée. Dans le cas d'un cancer diagnostiqué, le choix entre colectomie segmentaire ou colectomie subtotalaire avec anastomose iléorectale doit être discuté en fonction de l'âge du patient et de son souhait.

II. PRISE EN CHARGE DU RISQUE ENDOMETRIAL

À partir de quand ?

Le suivi doit débuter **dès l'âge de 30 ans**.

Comment ?

Dans l'état actuel des connaissances, la surveillance doit être basée au minimum sur l'échographie endovaginale, à réaliser tous les 2

ans. De plus, il est préconisé que le gynécologue réalise un prélèvement endométrial, de préférence par Pipelle de Cornier. En cas de dysplasie avérée, l'hystérectomie doit être réalisée.

Place de l'hystérectomie prophylactique :

L'hystérectomie avec ovariectomie prophylactique peut être envisagée chez les femmes porteuses d'une mutation d'un gène *MMR* après accomplissement du projet parental.

L'indication d'hystérectomie avec ovariectomie prophylactique est validée dans le cadre d'une réunion de concertation pluridisciplinaire spécifique.

La patiente doit être accompagnée de façon **pluridisciplinaire** dans la formulation de sa demande et dans sa décision finale. Elle doit bénéficier d'un **temps de réflexion**.

III. CE QU'IL FAUT SAVOIR POUR LES AUTRES RISQUES TUMORAUX

Il existe un risque augmenté de développer d'autres types de tumeurs chez les patients porteurs d'une mutation d'un gène *MMR* (ovaires, estomac, voies urinaires, voies biliaires, intestin grêle, peau).

Compte tenu des niveaux de risque et de l'absence de modalités consensuelles de surveillance, aucune prise en charge n'est actuellement systématiquement recommandée en dehors de l'estomac et des ovaires.

- Il est préconisé de coupler à la première coloscopie une gastroscopie afin de rechercher une éventuelle infection par *H. Pylori* et de procéder, le cas échéant, à son éradication.
- Il est préconisé de surveiller les ovaires lors de l'échographie endovaginale.

Comité d'oncogénétique de l'INCa : Pr Dominique Stoppa-Lyonnet, Pr Thierry Frébourg, Dr Catherine Bonaiti, Pr Dominique Bonneau, Pr Marc Delpech, Pr Jean-Pierre Lefranc, Dr Catherine Noguès, Pr Yann Parc, Pr Jean-Christophe Saurin, Dr Anne Tardivon, Pr François Thépot

ANNEXE 2 :

Critères d'Amsterdam et de Bethesda

1. Critères d'Amsterdam :

Tous les critères doivent être remplis.

a. Critères d'Amsterdam I (1991) (38)

- 1) Au moins trois apparentés atteints d'un cancer colorectal (CCR),
- 2) L'un d'entre eux est lié au 1^{er} degré aux deux autres,
- 3) L'un au moins a été atteint avant l'âge de 50 ans,
- 4) Deux générations successives au moins sont touchées,
- 5) La polypose adénomateuse a été exclue,
- 6) Les diagnostics de CCR ont été vérifiés. ..

b. Critères d'Amsterdam II (1999) (39)

Ces critères incluent désormais les cancers extra-coliques du spectre étroit du syndrome de Lynch.

- 1) Au moins trois apparentés atteints d'un cancer du spectre tumoral HNPCC (*incluant dans cette définition les CCR, cancers de l'endomètre, de l'intestin grêle, des voies urinaires excrétrices, excluant la vessie*)
- 2) à 6) : Critères non modifiés par rapport aux critères d'Amsterdam I.

2. Critères de Bethesda :

Les critères de Bethesda, originaux puis révisés, ont été établis dans le but de sélectionner, chez les patients atteints de CCR, une sous-population chez laquelle réaliser un test tumoral RER (à l'époque, représenté par la seule recherche d'instabilité microsatellitaire). La présence d'un seul des critères est suffisante.

a. Critères de Bethesda originaux (1997) (41)

- 1) Patient remplissant les critères d'Amsterdam,
- 2) Présence chez le même patient de 2 cancers métachrones ou synchrones du spectre tumoral HNPCC (*incluant ici les CCR, cancers de l'endomètre, de l'intestin grêle, des voies urinaires excrétrices (vessie exclue), de l'estomac, des voies biliaires*),
- 3) Patient atteint d'un CCR et ayant un antécédent au 1^{er} degré de CCR, d'adénome colorectal ou de cancer extra-colique du spectre tumoral HNPCC. L'un des deux cas est survenu avant 45 ans (40 ans si l'antécédent familial est un adénome),
- 4) Patient atteint d'un CCR ou d'un cancer endométrial avant l'âge de 45 ans,
- 5) Patient présentant avant 45 ans un cancer colique droit d'histologie indifférenciée,
- 6) Patient présentant avant l'âge de 45 ans un CCR avec cellules en bague à chaton,
- 7) Patient présentant des adénomes colorectaux avant l'âge de 40 ans.

b. Critères de Bethesda révisés (2004) (42)

- 1) Patient atteint d'un CCR avant l'âge de 50 ans,
- 2) Présence, chez le même patient, de 2 cancers métachrones ou synchrones du spectre tumoral HNPCC (*incluant ici les cancers colorectaux, de l'endomètre, de l'intestin grêle, des voies urinaires excrétrices (vessie exclue), de l'ovaire, de l'estomac, des voies biliaires, du pancréas, les glioblastomes, les adénomes sébacés, les kérato-acanthomes*), quel que soit l'âge de survenue,
- 3) Patient présentant avant l'âge de 60 ans un CCR d'histologie évocatrice de tumeur avec instabilité microsatellitaire (*présence d'une infiltration lymphocytaire, d'une réaction lymphocytaire « Crohn-like », d'une différenciation mucineuse, médullaire ou de cellules en bague à chaton*),
- 4) Patient atteint d'un cancer du spectre tumoral HNPCC et ayant un antécédent familial au 1^{er} degré de CCR diagnostiqué avant l'âge de 50 ans,
- 5) Patient atteint d'un CCR et présentant 2 antécédents familiaux ou plus, au 1^{er} ou 2nd degré, de cancers du spectre tumoral HNPCC, quel que soit l'âge de survenue.

ANNEXE 3 :

Courrier envoyé au médecin référent et/ou prescripteur chez les patients « RER+ » non vus en consultation d'oncogénétique

Cher Confrère,

Je me permets de vous contacter afin de compléter le recueil de données concernant mon travail de thèse. En effet, je suis actuellement Interne en Hépatogastro-Entérologie à Toulouse et je débute mon travail de thèse avec le Pr Guimbaud en Oncologie Digestive.

Ma thèse a pour objet **l'évaluation du dépistage du syndrome de Lynch (ou HNPCC) dans la région Midi-Pyrénées.**

Dans ce cadre de cette évaluation, nous souhaitons récupérer des informations pour **un patient que vous avez pris en charge pour un cancer colorectal** et chez qui a été réalisé un « test RER »¹⁵ à visée de dépistage de syndrome de Lynch ; test qui s'est révélé « positif »¹⁶ c'est à dire compatible avec l'existence d'un syndrome de Lynch (justifiant, donc, un avis oncogénétique)

Aussi je joins une feuille de données concernant **M. /Mme**

Je vous remercie de bien vouloir prendre un peu de temps pour la compléter au mieux avec les données dont vous disposez et de nous la retourner à l'adresse suivante :

*Mme Chantal DARNAU - Secrétariat d'Oncogénétique
Institut Claudius REGAUD
20-24 rue du pont St Pierre, 31052 Toulouse*

Si vous avez besoin d'informations complémentaires, n'hésitez pas à joindre le Pr R. Guimbaud par l'intermédiaire du secrétariat d'oncogénétique au 05 61 42 46 12.

Nous vous remercions très sincèrement de votre implication et collaboration nécessaires à la réalisation de ce travail d'évaluation de nos pratiques en cancérologie digestive. Je ne manquerai pas de vous tenir informé des résultats finaux (résultats et analyse finale attendus dans 18 à 24 mois).

Très cordialement.

*Camille HERVE
/ Pr R. Guimbaud*

¹⁵ Test réalisé dans le service d'Anatomo-Pathologie Purpan (par le Dr J. Selves) sur un échantillon tumoral colorectal par recherche « d'instabilité microsatellitaire (IMS) » et/ou par immunohistochimie des protéines MMR (MLH1, MSH2 et MSH6).

¹⁶ Présence d'une IMS et/ou d'une perte d'expression d'une des protéines MMR.

Nom du patient :
Prénom du patient :
Date de naissance :

1. Etiez-vous informé de la positivité du test RER ?

Oui Non

Si oui : aviez-vous notion de l'indication de l'indication d'une consultation oncogénétique ?

Oui Non

2. Avez-vous informé votre patient(e) de la positivité du test RER et/ou de l'indication d'une consultation d'oncogénétique ?

Oui Non

3. Savez-vous si une consultation d'oncogénétique lui a été proposée ?

Oui Non Je ne sais pas

4. Le (la) patient(e) est-il (elle) allé(e) en consultation d'oncogénétique ?

Oui Non Je ne sais pas

* Si Oui, dans quel institut / CHU / ville ? :

Commentaires :

.....
.....

* Si Non, quel est le motif de l'absence de réalisation de cette consultation ?

Refus ou désintérêt du patient

Décès du patient avant les résultats du test RER (ou dans un délai proche)

Patient(e) non revu(e) ni convoqué(e) depuis la réception des résultats du test RER

Autre(s) :

.....

ANNEXE 4 :

Fiche de prescription de test RER sur Oncomip

A COMPLETER PAR LE MEDECIN PRESCRIPTEUR DE L'EXAMEN ET A ENVOYER AU MEDECIN PATHOLOGISTE EN POSSESSION DU PRELEVEMENT TUMORAL DU MALADE

Identification du Malade
NOM :
PRENOM :
DATE DE NAISSANCE :

Date de la demande du test MSI / RER : / /
Matériel tumoral à analyser : Biopsie
Résection chirurgicale
Date de prélèvement : / /
Remarques :

Identification MEDECIN PRESCRIPTEUR
NOM /COORDONNEES :
Tel :
Fax :

Indication de la recherche :

Cancer colorectal < 60 ans OUI NON
ATCD personnel de
CCR OUI NON
Cancer du spectre étroit HNPCC OUI NON
ATCD familial (au 1^{er} degré **)
CCR OUI NON
Cancer du spectre étroit HNPCC OUI NON

Si possible, préciser :

Nom de l'apparenté atteint :

Lien de parenté :

Age de survenue du cancer chez l'apparenté :

Traitement adjuvant, CCR stade II OUI NON

*Cancer du corps de l'utérus (endomètre), voies urinaires hautes, intestin grêle
**1^{er} degré = parents, frères et sœurs, enfants

A COMPLETER PAR LE PATHOLOGISTE, ACCOMPAGNEE :

1. Du prélèvement tumoral (1 fragment de tumeur fixée et incluse en paraffine ou congelée/ choisir un bloc riche en cellules tumorales).
2. Du compte-rendu anapath.

ET A ENVOYER AU LABORATOIRE REALISANT LE GENOTYPAGE MSI / RER, A L'ADRESSE SUIVANTE :

**Service d'Anatomie Pathologiques du Pr P. Brousset, CHU Purpan,
Place du Dr Baylac - TSA 40031
Toulouse CEDEX 9 (Responsable : Dr Janick Selves;
Tel. Secrétariat 05 61 77 23 03 Fax 05 61 77 76 03)**



PAS DE FIXATION BOUIN, ni fixateur à base d'acide picrique. Eviter AFA.

Identification PATHOLOGISTE REFERENT (détenteur du matériel tumoral)
NOM/COORDONNEES :
TEL :
FAX :

MATERIEL TUMORAL TRANSMIS :

N° examen anapath + n° du bloc :
Tumeur primitive
Métastases : Hépatiques
Pulmonaires Autres :
Tissu congelé OUI NON
- Enregistrement en Tumorotheque OUI NON
- Si oui préciser le n° :
Bloc fixé en paraffine OUI NON
Préciser le fixateur (indispensable):

SCREENING OF LYNCH SYNDROME: AN ANALYSIS OF MEDICAL PRACTICE INCLUDING 786 PATIENTS

Introduction: Lynch syndrome (LS) is an hereditary form of colorectal cancer and endometrial cancer. It is caused by a germinal mutation in the MMR genes. Although identifying LS has a major interest, it remains under-diagnosed. Tumor phenotype « RER+ » is a hallmark feature associated with LS, anyway 15 % sporadic colorectal cancer also exhibit this phenotype. In France, since 2004, determination of the RER phenotype is recommended for all tumors belonging to Lynch spectrum developed in patients under 60 years old or in patients with a first-degree familial history of tumor spectrum. When a « RER+ » phenotype is identified, a genetic consultation is indicated to propose germline tests to identify the germinal mutation. The aim of this study was to evaluate medical practicing of recommendations in our region and its performances.

Patients and Methods: RER prescriptions performed between January 2007 and June 2010 were analyzed from a prospective database to gather test requests from the region. This database was completed in a retrospective way with missing informations thanks to electronic patient records. When a patient with a « RER+ » phenotype was not seen in genetic consultation, the prescriber was asked by mails why the patient did not come to the consultation.

Results: 834 RER requests in 786 patients were included (36 patients had 2 requests) : 84 % for colorectal cancers, 9 % for polyps, 7 % for extra-colonic tumor. Public hospitals did 71 % of the demands and private structures 27 %. Criteria for inclusion were present in 71 % of the requests and 5 % tests were non justified or performed for unknown indication. 106 of the 786 patients (13,5 %) had a « RER+ » phenotype and 81 (76 %) met the genetic practitioner : 55 were identified as LS carriers. 18 patients « RER+ » (17 %) were lost to follow-up, for 7 the reason has been found.

Conclusion: Screening recommendations for LS are mainly well-applied in our region but some weaknesses were recognised within the strategy, at each step of the process. Corrective proceedings will be performed to improve LS screening in Midi-Pyrénées.

EVALUATION DE LA PRATIQUE DU « TEST RER » POUR LE DEPISTAGE DU SYNDROME DE LYNCH EN MIDI-PYRENEES

Toulouse, le 11 janvier 2013

Introduction : Le syndrome de Lynch (SL) est une prédisposition héréditaire aux cancers colorectaux (CCR) et de l'endomètre, liée à une mutation germinale d'un gène MMR. Malgré l'intérêt de son diagnostic, le SL reste sous-évalué. Les tumeurs liées au SL ont un phénotype tumoral dit « RER+ », également rencontré dans 15 % des CCR. Depuis 2004, afin d'identifier les SL, il est recommandé en France de rechercher ce phénotype RER chez les patients atteints de cancer du spectre du SL à moins de 60 ans ou avec un antécédent familial au 1^{er} degré de cancer du spectre. En cas de test « RER+ », une consultation d'oncogénétique (Cs OG) est indiquée. L'objectif de notre étude était d'évaluer dans notre région l'application et la rentabilité diagnostique des recommandations de dépistage du SL.

Patients et Méthodes : Les prescriptions de test RER de janvier 2007 à juin 2010 ont été analysées à partir d'une base prospective de données centralisant toutes les demandes de la région, complétée en rétrospectif pour certaines informations grâce aux dossiers patients informatisés et au dossier communiquant de cancérologie. En cas de phénotype « RER+ » et d'absence de Cs OG, un courrier était envoyé au prescripteur pour identifier les causes d'absence de Cs.

Résultats : Parmi les 834 demandes de tests RER, 822 réalisées chez 786 patients ont été incluses (36 d'entre eux ont eu 2 demandes) : 84 % de CCR, 9 % de polypes, 7 % de tumeurs extra-coliques. 71 % des demandes provenaient du secteur public et 27 % du privé. Les critères de demande étaient précisés dans 71 % des cas et 5 % des tests étaient injustifiés ou prescrits pour des raisons inconnues. Sur ces 786 patients, 106 (13,5 %) avaient un phénotype « RER+ » et 81 d'entre eux (76 %) ont été vus en Cs OG : 55 ont été identifiés porteurs d'un SL. 18 patients « RER+ » (17 %) ont été perdus de vue, dont 7 patients pour lesquels la raison a pu être identifiée.

Conclusion : Les recommandations pour le dépistage du SL sont relativement bien appliquées dans notre région mais certaines faiblesses ont pu être identifiées, à toutes les étapes du diagnostic. Des mesures correctives sont donc envisagées à court terme afin d'améliorer les pratiques de dépistage du SL en Midi-Pyrénées.

TITLE: Screening of Lynch syndrome: an analysis of medical practice including 786 patients

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée clinique

MOTS-CLES : syndrome de Lynch, syndrome HNPCC, dépistage, évaluation des pratiques, cancer colorectal, instabilité des microsatellites, phénotype RER

Université Toulouse III - Paul Sabatier - Faculté de médecine Toulouse-Purpan,
37 Allées Jules Guesde - BP 7202. 31073 Toulouse Cedex 7

Directrice de thèse : Pr Rosine GUIMBAUD