

## Analyse de l'exome clinique par séquençage à haut débit

T. von Känel, A. Bottani, Institut Central des Hôpitaux, Hôpital du Valais, Sion,

### Contexte

Le séquençage à haut débit (en anglais NGS pour Next Generation Sequencing), le séquençage simultané de millions de fragments d'ADN, est utilisé depuis quelques années dans le diagnostic génétique, par exemple dans le dépistage des maladies génétiques (voir par ex. Caduceus Express 12-2014 et 11-2015) ou des tumeurs solides (Caduceus Express 09-2014 et 05-2016). Ces analyses se limitent généralement à un petit nombre de gènes et remplacent le coûteux séquençage Sanger.

Au cours des dernières années, les capacités des appareils NGS n'ont cessé de s'améliorer. De ce fait, et grâce à l'intégration de ces tests dans la liste des analyses de l'OFSP, le séquençage simultané de milliers de gènes peut désormais être proposé également dans le diagnostic [1, 2]. Les applications peuvent être subdivisées en trois domaines :

- Diagnostic génétique dans le cas des maladies monogéniques ou oligogéniques pour lesquelles il n'existe pas de panel NGS spécifique.
- Diagnostic de maladies dans lesquelles des mutations peuvent se présenter sur de nombreux gènes différents (par ex. épilepsies, surdité, maladies neurodégénératives).
- Analyse exploratoire de l'exome (région codante de tous les gènes) ou de l'exome *clinique* (uniquement les gènes dont la signification clinique est connue).

Dans les deux premiers cas ne sont évalués que les gènes pertinents pour le problème clinique. Si la préparation et l'évaluation sont réalisées méticuleusement, on n'observe qu'une faible perte de sensibilité par rapport à la méthode Sanger. La spécificité est également élevée et peut être renforcée par une confirmation des mutations par la méthode Sanger. Comme le séquençage Sanger classique, le séquençage à haut débit ne révèle que les mutations ponctuelles et les courtes délétions ; les aberrations chromosomiques et les délétions plus longues ne sont pas détectées.

### Avant l'analyse

Dans un premier stade, le médecin discute de l'analyse prévue avec le patient. Des consultations pré-test génétiques spécialisées sont recommandées et sont proposées par le spécialiste FMH en génétique médicale à l'Institut central des Hôpitaux à Sion. Un enregistrement précis du phénotype est un critère important, car il est susceptible d'influencer de manière déterminante le choix du test utilisé ainsi que l'évaluation. La survenue possible de découvertes fortuites doit également être discutée avec le patient. La méthode d'analyse appropriée est ensuite choisie en concertation avec le laboratoire de génétique, en veillant à éviter les pièges comme une couverture insuffisante des régions cibles.

Il convient également de solliciter une prise en charge auprès de la caisse d'assurance maladie. Pour l'analyse de 1 à 10 gènes, les médecins titulaires du titre postgrade fédéral « le plus étroitement lié à la maladie faisant l'objet de l'examen » peuvent déposer la demande ; lorsqu'il s'agit de plus de 10 gènes, le médecin demandeur doit être titulaire du titre FMH en génétique médicale. Les coûts conformément à la liste des analyses sont de 2900 TP pour 1 à 10 gènes évalués, de 3300 TP pour 11 à 100 gènes, et de 3800 TP pour plus de 100 gènes.

### Après l'analyse

Le séquençage proprement dit dans le laboratoire humide (Ill. 1) est suivi de l'évaluation bioinformatique dans laquelle les séquences générées sont alignées avec le génome de référence. Ne sont évalués que les gènes intéressants le médecin, ce qui réduit le risque de découvertes fortuites non désirées. L'évaluation de la pathogénicité des variants de séquences détectées s'appuie sur des bases de données de mutations et des paramètres bioinformatiques. Le mode de transmission génétique est lui aussi pris en compte dans l'évaluation : si une variante apparaît de novo dans un gène dominant, elle est davantage considérée comme pathogène que si elle avait été héritée d'un parent sain. Le bénéfice diagnostique est par conséquent plus important lorsque les parents sont séquencés simultanément [3] ; cette prestation n'étant toutefois pas prise en charge par la caisse d'assurance maladie, elle est proposée plutôt dans le cadre de projets de recherche.

Les variants de séquences pathogènes mises en évidence, ainsi que les éventuelles faiblesses de la méthode (par exemple une couverture insuffisante de certaines régions) sont signalées au médecin, qui transmet les résultats au patient. Dans le cas de résultats complexes, il est recommandé d'organiser une réunion multidisciplinaire entre le médecin prescripteur, le spécialiste FMH en génétique médicale et les spécialistes du laboratoire, ainsi qu'une consultation post-test du patient par le spécialiste FMH en génétique médicale.

### Avantages et inconvénients de l'analyse

Un avantage évident est la quantité de données générées, ce qui permet, si un résultat s'avère négatif, de décider ultérieurement de procéder à une évaluation d'autres gènes pertinents pour établir un diagnostic différentiel. Il est généralement déconseillé de procéder d'emblée à une évaluation exploratoire d'un grand nombre de gènes, car cette option augmente le risque de découvertes fortuites non désirées. En outre, même en prenant en compte les bases de données et les outils bioinformatiques les plus modernes, il reste souvent des variants dites « Variants of Unknown Significance » (VUS), dont la signification n'est pas claire ou connue à ce jour. De manière empirique, il existe une corrélation entre le nombre des gènes analysés et le nombre des VUS.

### Bilan

Le séquençage à haut débit permet l'analyse de l'exome clinique. L'analyse requiert, avant et après le test, un conseil génétique et est prise en charge par la caisse d'assurance maladie sur demande spécifique. Elle doit être réalisée en étroite collaboration entre le médecin traitant, le spécialiste FMH en génétique médicale et les spécialistes de laboratoire. Seule cette collaboration permet au patient de tirer un bénéfice maximum de l'analyse.

### Références

- [1] Biesecker LG et al. *Diagnostic clinical genome and exome sequencing*. N Engl J Med. 2014 Jun 19;370(25):2418-25
- [2] Bowdin S et al. *Recommendations for the integration of genomics into clinical practice*. Genet Med. 2016 May. doi: 10.1038/gim.2016.17
- [3] Lee H et al. *Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders*. JAMA. 2014 Nov 12;312(18):1880-7

### Personnes de contact

Thomas von Känel, PhD  
Dr Armand Bottani

thomas.vonkaenel@hopitalvs.ch  
armand.bottani@hopitalvs.ch

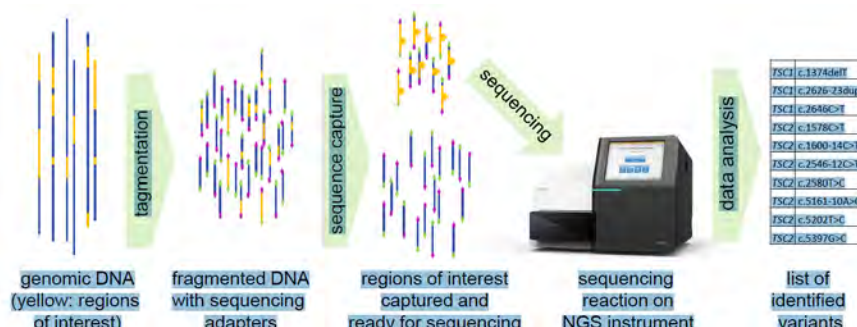


Fig. 1: Représentation simplifiée du test TruSightOne d'Illumina, qui est également présenté à l'Institut central des Hôpitaux en collaboration avec l'Hôpital cantonal d'Aarau. Le test permet le séquençage simultané de 4813 gènes dont ont connaît une signification clinique (« exome clinique »).