

ÉTAT DES CONNAISSANCES

Principes et critères permettant de baliser
le recours au séquençage pangénomique
par rapport au séquençage ciblé d'un
nombre limité de gènes pour la recherche
de variants germinaux

Rapport en soutien aux travaux du RQDM

Une production de l'Institut national
d'excellence en santé
et en services sociaux (INESSS)

Direction de l'évaluation des médicaments et
des technologies à des fins de remboursement

Principes et critères permettant de baliser le
recours au séquençage pangénomique par
rapport au séquençage ciblé d'un nombre
limité de gènes pour la recherche de
variants germinaux

Rapport en soutien aux travaux du RQDM

Rédaction

Chantale Provost
Catherine Gravel
Léon Nshimyumukiza

Collaboration

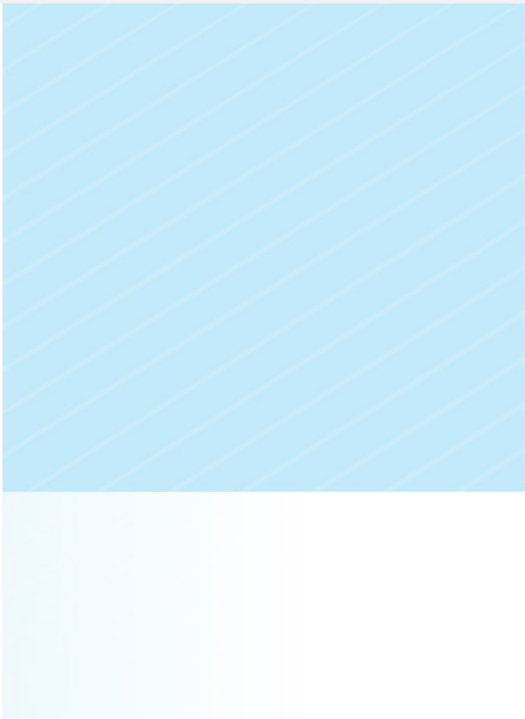
Rania Saidi

Coordination scientifique

Éric Potvin
Thomas Mortier

Direction

Mélanie Caron
Sylvie Bouchard



Le contenu de cette publication a été rédigé et édité par l'INESSS.

Membres de l'équipe de projet

Auteures et auteurs principaux

Chantale Provost, Ph. D.
Catherine Gravel, M. Sc., D.E.S.S.
Léon Nshimyumukiza, M. Sc., Ph. D.

Collaboratrice interne

Rania Saidi, M. Sc.

Coordonnateurs scientifiques

Éric Potvin, Ph. D.
Thomas Mortier, Pharm. D., M. Sc.

Directrices

Sylvie Bouchard, B. Pharm., D.P.H., M.B.A.
jusqu'au 31 janvier 2024
Mélanie Caron, Pharm. D., ICD D.

Repérage de l'information scientifique

Renaud Lussier, M.S.I., Ph. D.
Bin Chen, techn. docum.

Soutien administratif

Christine Lemire

Équipe de l'édition

Jean Talbot
Nathalie Vanier

Sous la coordination de
Catherine Olivier, Ph. D.

Avec la collaboration de
Carole Saint-Père, révision linguistique
Traductions Alain Gélinas inc., traduction

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2024
ISBN 978-2-550-98299-9 (PDF)

Tous droits réservés

© Gouvernement du Québec, 2024

Ce document peut être utilisé, reproduit, imprimé, partagé et communiqué, en tout ou en partie, à des fins non commerciales, éducatives ou de recherche uniquement, à condition que l'INESSS soit dûment mentionné comme source. Les photos, images, figures ou citations peuvent être associées à des droits d'auteur spécifiques et nécessitent une autorisation de la part de l'INESSS avant utilisation. Tout autre usage de cette publication, y compris sa modification en tout ou en partie ou visant des fins commerciales, doit faire l'objet d'une autorisation préalable de l'INESSS. Une autorisation peut être obtenue en formulant une demande à droitdauteur@inesss.qc.ca.

Pour citer ce document : Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Principes et critères permettant de baliser le recours au séquençage pangénomique par rapport au séquençage ciblé d'un nombre limité de gènes pour la recherche de variants germinaux. État des connaissances rédigé par Chantale Provost, Catherine Gravel et Léon Nshimyumukiza. Québec, Qc : INESSS; 2024. 58 p.

L'Institut remercie les membres de son personnel qui ont contribué à l'élaboration du présent document.

Autres contributions

L'institut tient à aussi à remercier les personnes suivantes qui ont contribué à la préparation de ce rapport en fournissant des données contextuelles et de l'information clés :

M. René Allard, adjoint au directeur, Centre québécois de génomique clinique (CQGC)

D^{re} Emmanuelle Lemyre, médecin généticienne, Directrice médicale Optilab, Chef du Département clinique de médecine de laboratoire, CHU Ste-Justine

D^r Sébastien Lévesque, médecin généticien, directeur médical du Laboratoire de génétique moléculaire du CIUSSS de l'Estrie – CHUS et président du comité de coordination clinique en génétique du Réseau québécois de diagnostic moléculaire (RQDM)

D^r Jean-François Soucy, médecin généticien, Chef de service médical, Service génétique biochimique et cytogénétique, CHU Ste-Justine

Déclaration d'intérêts

Les conflits d'intérêts et de rôles ont été déclarés et gérés conformément à la Politique de prévention, d'identification, d'évaluation et de gestion des conflits d'intérêts et de rôles des collaborateurs de l'INESSS. Outre leurs affiliations respectives ci-haut mentionnées, l'ensemble des collaborateurs participent au comité consultatif clinique du RQDM. Certains des collaborateurs ont également déclaré des activités de recherche qui visent à évaluer l'impact du séquençage rapide du génome entier pour l'investigation des patients hospitalisés en soins intensifs pédiatriques (étude PRAGMatiQ) conjointement financées par Génome Canada, Génome Québec, la Fondation des étoiles, le ministère de la Santé et des Services sociaux et la compagnie Illumina. Aucun financement externe n'a été obtenu pour les consultations effectuées dans la cadre de la réalisation de cet état des connaissances.

Responsabilité

Ce rapport est produit par l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS) qui assume l'entière responsabilité de sa forme et de son contenu définitif.

Il est à noter que les constats et conclusions de ce rapport sont issus de la littérature de synthèse et des données contextuelles disponibles au moment de la réalisation de ces travaux.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	I
SUMMARY.....	VI
SIGLES ET ACRONYMES	XI
GLOSSAIRE	XIII
INTRODUCTION.....	1
1 MÉTHODOLOGIE	2
1.1 Questions d'évaluation	2
1.2 Stratégies de repérage de l'information scientifique	3
1.3 Sélection des publications, évaluation de la qualité méthodologique et synthèse des données publiées.....	3
1.4 Données clinico-administratives.....	4
1.5 Validation et assurance qualité	5
2 RÉSULTATS – DIMENSIONS CLINIQUE, POPULATIONNELLE ET ORGANISATIONNELLE.....	6
2.1 Analyse comparative des avantages et limites du SNG pangénomique par rapport au SNG ciblé	11
2.1.1 Comparaison des principales caractéristiques techniques et organisationnelles	13
2.1.2 Comparaison des principales caractéristiques analytiques.....	17
2.1.3 Comparaison de la sensibilité empirique de détection des différents types de variants	19
2.1.4 Enjeux éthiques	23
2.2 Rendement diagnostique comparatif des approches par SNG.....	24
2.2.1 Rendement diagnostique comparatif du WGS et du WES selon des méta-analyses	25
2.2.2 Rendement diagnostique global des approches pangénomiques selon des méta-analyses	25
2.2.3 Rendement diagnostique comparatif du WGS et du WES selon des études primaires de réanalyse de cas non diagnostiqués	26
2.2.4 Coup d'œil sur le séquençage à lectures longues (<i>long reads</i>)	26
2.3 Critères et principes balisant le recours au séquençage pangénomique par rapport au séquençage ciblé.....	28
2.3.1 Principaux critères et principes de l'utilisation du SNG d'un nombre limité de gènes (panel ciblé)	28
2.3.2 Principaux critères et principes d'utilisation du SNG pangénomique	29
2.4 Étapes analytiques à suivre lors d'un séquençage pangénomique en contexte clinique.....	34
3 RÉSULTATS – DIMENSION ÉCONOMIQUE.....	36
3.1 Revue de la documentation scientifique	36
3.1.1 Description des études retenues	36
3.1.2 Résultats des études.....	36
3.1.3 Limites et faiblesse des études.....	37
3.2 Coûts des approches de SNG ciblées et pangénomiques au Québec	37

3.3	Impact budgétaire.....	40
3.4	Enjeux économiques	43
DISCUSSION.....		46
CONCLUSION		48
RÉFÉRENCES.....		49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Critères PIPOH utilisés pour sélectionner les documents.....	4
Tableau 2	Publications sélectionnées traitant du SNG ciblé et pangénomique pour le diagnostic des maladies génétiques	7
Tableau 3	Comparaisons relatives des principales caractéristiques techniques, organisationnelles, analytiques, de sensibilité empirique de détection des variants et des enjeux éthiques du SNG ciblé, du WES et du WGS.....	12
Tableau 4	Sommaire des indications d'utilisation des panels ciblés en fonction des sociétés savantes et instances gouvernementales consultées.....	28
Tableau 5	Sommaire des indications pour lesquelles une approche par SNG pangénomique (WGS/WES) devrait être considérée	30
Tableau 6	Coûts des panels ciblés par SNG inscrits au <i>Répertoire</i>	38
Tableau 7	Coûts par échantillon des approches pangénomiques (WES et WGS) au CQGC (technique seulement)	39
Tableau 8	Impact budgétaire du WGS comparativement au WES pour le diagnostic moléculaire en génétique constitutionnelle au Québec	43

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Représentation schématique des concepts de profondeur de lecture et de couverture génomique en séquençage de nouvelle génération	17
----------	--	----

RÉSUMÉ

Introduction

Le mandat du Réseau québécois de diagnostic moléculaire (RQDM), dont fait partie le Centre québécois de génomique clinique (CQGC), est de répondre aux besoins actuels et futurs du réseau de la santé et des services sociaux en matière de diagnostic moléculaire et de médecine personnalisée, principalement dans les domaines des maladies rares et de la cancérologie.

Dans un souci d'uniformiser, d'encadrer et d'assurer la qualité de l'offre de services de SNG actuellement développée au Québec, le MSSS a demandé à l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS) un état des connaissances sur les principes et critères permettant de baliser le recours au séquençage pangénomique par rapport au séquençage ciblé d'un nombre limité de gènes pour la recherche de variants germinaux. De façon générale, les questions adressées à l'INESSS visent à nourrir une réflexion globale sur l'approche analytique et l'exhaustivité des analyses génomiques qui devraient être proposées en fonction des différents contextes cliniques.

Méthodologie

Le présent état des connaissances est une synthèse des résultats d'une revue rapide de la littérature scientifique que l'INESSS a effectuée sur les principes et critères permettant de guider le choix de précéder par séquençage pangénomique par rapport au séquençage ciblé d'un nombre limité de gènes pour la recherche de variants germinaux. Les publications ont été sélectionnées selon des critères PIPOH¹ préalablement établis. Ces documents sont, entre autres, des rapports d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé, des revues systématiques, des lignes directrices, des guides de pratique clinique et des recommandations ou positions de sociétés savantes traitant du sujet.

Résultats – Analyse comparative des principaux avantages et limites du séquençage de nouvelle-génération (SNG) ciblé et du SNG pangénomique

Caractéristiques techniques et organisationnelles

Selon l'analyse comparative des caractéristiques techniques des approches de SNG, les panels ciblés présentent l'avantage de nécessiter un temps de génération des librairies et d'analyse des données relativement court. Le séquençage du génome entier (ou WGS, de l'anglais *whole genome sequencing*) présente un risque de biais de séquençage plus faible que le séquençage de l'exome (ou WES, de l'anglais *whole exome sequencing*) et les panels ciblés parce qu'il ne nécessite généralement pas d'étape de capture ou d'amplification des séquences d'intérêt. Les approches pangénomique (WES ou WGS) offrent une polyvalence supérieure, permettant des

¹ De l'anglais *Population, Intervention, Professions, Outcomes et Health care settings* (PIPOH).

mise à jour fréquentes des listes de gènes des panels *in silico* de l'offre de service, une personnalisation de l'analyse basée sur le phénotype du patient (panels *ad hoc*), une réévaluation des cas cliniques dans le temps et une uniformisation de la trajectoire des échantillons. La quantité massive de données générées, la complexité des analyses et le coût sont actuellement les principaux désavantages du WGS par rapport au WES et aux SNG ciblés.

Caractéristiques analytiques

Le WGS se distingue par sa capacité à interroger l'ensemble du génome nucléaire et mitochondrial. Il est également moins influencé par le contenu en GC (cytosines et guanines) et les séquences peu complexes de l'ADN, en plus de procurer une couverture plus uniforme et complète de l'exome que le WES lui-même. Il est donc considéré comme une approche non biaisée et nécessite une profondeur de lecture moyenne moins élevée (30X à 60X) que le WES (100X à 150X) pour une utilisation clinique. En revanche, les panels ciblés peuvent atteindre une profondeur de lecture élevée (500X à 1 000X), améliorant la sensibilité pour détecter certains types de variants, notamment les variants de faible fréquence allélique, à condition que les gènes et régions génomiques d'intérêt soient connus et inclus dans le panel.

Sensibilité empirique de détection des variants

La capacité de détection des variants de nucléotide simple (VNS) et des courtes insertions et délétions (indels) est similaire pour les trois approches. Le WGS se distingue et surpasse généralement le WES et les panels ciblés dans la détection des variants de nombre de copies (VNC), des variants structuraux (VS), des expansions de répétitions et des pertes d'hétérozygotie (LOH). Considérant sa couverture du génome nucléaire et mitochondrial, il permet également la détection des variants introniques profonds et des variants de l'ADN mitochondrial (ADNmt). Les panels ciblés se montrent plus efficaces pour détecter les variants de faible fréquence allélique et le mosaïcisme. Enfin, le rendement diagnostique des différentes approches par SNG peut varier en fonction du contexte clinique, de la couverture et de la qualité des séquences produites, des types de variants analysés et de l'état des connaissances des régions analysées.

Enjeux éthiques

Les variants de signification in certaine (VSI) et le risque de découvertes fortuites (variants pathogéniques non associés au phénotype investigué) constituent des enjeux éthiques fréquemment abordés dans la littérature. Ceux-ci sont généralement proportionnels à la taille de la région analysée et le risque est donc accru avec les approches pangénomiques. L'utilisation de filtres et de panels *in silico* ou *ad hoc* permet toutefois de réduire ces risques dans le contexte du SNG pangénomique.

Les panels ciblés ne sont pas concernés par le risque de découvertes fortuites puisque les gènes et les régions génomiques analysés sont spécifiques à une maladie ou un groupe de maladies données.

Rendement diagnostique

Les approches pangénomiques démontrent en général un rendement diagnostique plus élevé que les panels ciblés, notamment lorsque les gènes ou les régions potentiellement en cause sont difficiles à circonscrire et dans le contexte des conditions présentant une hétérogénéité phénotypique et génotypique modérée à élevée. Selon des analyses de sous-groupes de méta-analyses récentes, de façon générale, le rendement diagnostique des approches pangénomiques est significativement plus élevé dans les populations pédiatriques que dans les populations adultes. Le rendement diagnostique serait également plus élevé dans les études avec indications neurologiques. Toutefois, globalement, le rendement diagnostique du WGS ne diffère pas de manière significative de celui du WES selon des méta-analyses récentes, sauf chez les nourrissons avec condition aiguë.

Le gain diagnostique potentiel du WGS est mieux appuyé par des études de réanalyses de cas cliniques pour lesquels le WES n'a pas permis d'établir un diagnostic définitif. Parmi les variants pathogènes détectés par le WGS et non par le WES se trouvent des VNC, des expansions répétées, des variants introniques profonds et des variants de l'ADNmt non inclus dans la capture du WES.

Résultats – Principes et critères permettant de guider le choix de l'approche analytique par séquençage de nouvelle génération

Principaux critères et principes de l'utilisation du SNG ciblé

Selon la littérature scientifique et les sociétés savantes consultées, le recours au SNG ciblé est préconisé en présence d'un phénotype clair et spécifique dont les gènes ou variants causals sont faciles à circonscrire. Ils sont également recommandés dans les conditions présentant une hétérogénéité phénotypique ou génétique faible à modérée, et pour les maladies appartenant à une seule catégorie clinique pour laquelle un panel spécifique est plus rentable que le WES.

Principaux critères et principe de l'utilisation du SNG pangénomique

L'utilisation du séquençage pangénomique est indiquée dans le contexte des maladies rares ou pour lesquelles aucun test spécifique n'est disponible. Il est notamment recommandé en présence d'un phénotype atypique, complexe ou multisystémique, ainsi que pour les conditions présentant une hétérogénéité génétique ou phénotypique élevée. Il est également indiqué lorsque plusieurs diagnostics différentiels sont possibles ou suspectés, nécessitant plusieurs tests séquentiels pouvant entraîner des retards thérapeutiques. De plus, le SNG pangénomique est préconisé lorsque son coût est inférieur aux autres options diagnostiques disponibles.

Étapes analytiques à suivre lors de l'utilisation du séquençage pangénomique en contexte clinique

Lors du séquençage pangénomique en contexte clinique, les sociétés savantes préconisent une approche analytique en « entonnoir » ou en ouverture progressive. Cela implique une première étape d'analyse *in silico* ou *ad hoc* de panels de gènes validés en fonction du phénotype, suivie par l'examen du mendéliome, de l'exome ou du génome en l'absence de diagnostic moléculaire préalable. Dans les cas où l'analyse du mendéliome, de l'exome ou du génome est jugée appropriée, des stratégies de filtrage des variants basées sur le génotype et le phénotype sont recommandées afin d'obtenir un équilibre entre maximiser la sensibilité du test et réduire le nombre de variants nécessitant une analyse approfondie. Une attention particulière doit être accordée aux critères de divulgation des variants, en tenant compte du niveau de preuve d'association gène-maladie et du phénotype observé.

Résultats – Dimension économique

Revue de la documentation scientifique économique

Selon la littérature économique consultée, le WES serait globalement efficient dans le contexte des conditions cliniques hétérogènes ou non spécifiques, notamment dans les contextes de la déficience intellectuelle et du retard inexplicé du développement, les maladies musculaires pédiatriques, l'épanchement fœtal et l'anasarque fœto-placentaire non-immune et les maladies rares non diagnostiquées chez l'enfant. Le WGS ne serait globalement pas efficient, sauf chez les enfants de moins de 1 an atteints de maladies rares non diagnostiquées.

Coûts des approches de SNG ciblé et pangénomiques au Québec

L'analyse des coûts des approches ciblées et pangénomique au Québec démontre que la détermination de critères quantitatifs précis, quant au nombre de kilobases ou de gènes à séquencer à partir desquels il serait moins cher de passer de l'approche ciblé à l'approche pangénomique, ne peut être estimée de façon fiable. De ce fait, le choix de l'approche analytique devrait être basé sur une évaluation comparative des valeurs pondérées (VP) globales estimées pour réaliser les analyses. Enfin, l'analyse démontre que les coûts actuels par échantillon du WGS demeurent élevés par rapport à ceux du WES.

Impact budgétaire

L'analyse d'impact budgétaire de l'utilisation du WGS par rapport au WES dans le contexte des conditions cliniques hétérogènes ou avec phénotypes non spécifiques pourrait augmenter les dépenses de 14,3 M\$ (7,0 M\$ à 27,6 M\$) au cours des trois premières années. Les résultats de cette analyse demeurent incertains en raison des difficultés d'évaluer avec certitude le nombre d'analyses prévues et les coûts des outils bioinformatiques (licences, archivage des données) supplémentaires.

Discussion

Selon la littérature consultée, l'avenir du WES par rapport au WGS, ainsi que celui des panels ciblés, reste à définir. Le WES est déjà largement utilisé dans le diagnostic des maladies rares et, à mesure que les trousse de capture et de préparation des librairies d'exomes deviennent moins chères et plus efficaces, il remplace en partie l'utilisation du séquençage ciblé dans de nombreuses circonstances. Par ailleurs, l'analyse comparative des avantages et limites des approches pangénomiques suggère que le WES peut généralement fournir un diagnostic plus rapide et moins coûteux que le WGS, en plus de nécessiter qu'environ 2 % de l'espace de stockage d'un WGS. Les connaissances actuelles sur les régions codantes des protéines sont d'ailleurs beaucoup plus avancées. Toutefois, l'amélioration continue des pipelines bioinformatiques et des bases de données sur les régions non codantes vont vraisemblablement faire augmenter la valeur ajoutée du WGS dans le futur.

Avec les coûts de séquençage qui continuent à diminuer, le WGS devient donc une perspective plus réaliste à mesure que la différence réelle des coûts entre le WES et le WGS diminue. En outre, la visibilité et l'utilisation croissante des plates-formes de séquençage *long reads* apportent de nouvelles dimensions au débat entre le WGS et le WES, puisque cette technologie offre la capacité de détecter des variations génétiques importantes qui échappent au WGS *short reads*, entre autres.

Finalement, l'utilisation des panels de gènes reste une approche incontournable en présence d'un syndrome ou d'une condition spécifique. En effet, cibler le séquençage pour examiner uniquement un sous-ensemble de gènes peut réduire les coûts et la charge analytique. Il est donc important d'évaluer les avantages et les limites des différentes approches par SNG en fonction du contexte clinique et de l'objectif du test, et ce, afin d'orienter la décision vers l'approche la plus efficace et la plus susceptible d'offrir le meilleur service aux patients.

Conclusions

La réalisation du présent état des connaissances a permis de rassembler la littérature disponible et pertinente concernant les principes et critères permettant de guider le choix de procéder par un SNG pangénomique par rapport à un SNG ciblé d'un nombre limité de gènes dans le contexte du diagnostic moléculaire de maladies en génétique constitutionnelle.

La littérature analysée a permis de répondre à l'objectif principal visé par ces travaux, soit d'informer le MSSS sur les meilleures pratiques d'utilisation des différentes approches par SNG en contexte clinique. Finalement, les constats présentés dans ce rapport devraient permettre de soutenir le MSSS dans son accompagnement des cliniciens et des laboratoires du réseau qui souhaitent développer des analyses par SNG, notamment afin de déterminer dans quels contextes des analyses par SNG pangénomique ou par SNG ciblé devraient être réalisées pour la recherche de variants germinaux.

SUMMARY

Principles and criteria to guide the use of genome-wide sequencing versus targeted sequencing of a limited number of genes for the search of germline variants

Introduction

The mandate of the Réseau québécois de diagnostic moléculaire (RQDM), of which the Centre québécois de génomique clinique (CQGC) is a part, is to meet the current and future needs of the health and social services network in terms of molecular diagnostics and personalized medicine, mainly in the fields of rare diseases and cancer.

With a view to standardizing, providing a framework for and ensuring the quality of the next-generation sequencing (NGS) services currently being developed in Quebec, the MSSS has asked the Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS) to review the current state of knowledge on the principles and criteria that should guide the use of genome-wide sequencing versus targeted sequencing of a limited number of genes to search for germline variants. In general terms, the questions addressed to INESSS are intended to stimulate global reflection on the analytical approach and completeness of the genomic analyses that should be offered in different clinical contexts.

Methodology

The present state of knowledge is a synthesis of the results of a quick review of the scientific literature carried out by INESSS on the principles and criteria guiding the choice of genome-wide sequencing versus targeted sequencing of a limited number of genes for germline variants. Publications were selected according to previously established PIPOH² criteria. These documents include technology and health intervention assessment reports, systematic reviews, guidelines, clinical practice guides and recommendations or positions of learned societies dealing with the subject.

Results – Comparative analysis of the main advantages and limitations of targeted new-generation sequencing (NGS) and genome-wide NGS

Technical and organizational features

According to a comparative analysis of the technical characteristics of NGS approaches, targeted panels offer the advantage of relatively short library generation and data analysis times. *Whole genome sequencing* (WGS) has a lower risk of sequencing bias than *Whole Exome Sequencing* (WES) and targeted panels, because it generally does not require a capture or amplification step for sequences of interest. Genome-wide

² *Population, Intervention, Professions, Outcomes and Health care settings* (PIPOH).

approaches (WES or WGS) offer greater versatility, enabling frequent updates of *in silico* panel gene lists, customization of analysis based on patient phenotype (*ad hoc* panels), re-evaluation of clinical cases over time and standardization of sample trajectory. The massive amount of data generated, the complexity of analyses and the cost are currently the main disadvantages of WGS compared with WES and targeted NGS'.

Analytical Characteristics

WGS stands out for its ability to interrogate the entire nuclear and mitochondrial genome. It is also less influenced by GC content (cytosines and guanines) and low-complexity DNA sequences, and provides more uniform and complete coverage of the exome than WES itself. It is therefore considered an unbiased approach, and requires a lower average read depth (30X to 60X) than WES (100X to 150X) for clinical use. Targeted panels, on the other hand, can achieve high read depths (500X to 1,000X), improving sensitivity for detecting certain types of variants, particularly those of low allelic frequency, provided that the genes and genomic regions of interest are known and included in the panel.

Empirical Sensitivity of Variant Detection

The ability to detect single nucleotide variants (SNVs) and short insertions and deletions (indels) is similar for all three approaches. WGS stands out and generally outperforms WES and targeted panels in the detection of copy number variants (CNVs), structural variants (SVs), repeat expansions and loss of heterozygosity (LOH). Given its coverage of the nuclear and mitochondrial genomes, it can also detect deep intronic variants and mitochondrial DNA (mtDNA) variants. Targeted panels are more effective at detecting low-frequency variants and mosaicism. Finally, the diagnostic yield of the different NGS approaches may vary according to the clinical context, the coverage and quality of the sequences produced, the types of variants analyzed and the state of knowledge of the regions analyzed.

Ethical Issues

Variants of uncertain significance (VUS) and the risk of incidental findings (pathogenic variants not associated with the phenotype under investigation) are ethical issues frequently addressed in the literature. These are generally proportional to the size of the region analyzed, and the risk is therefore increased with genome-wide approaches. However, the use of filters and *in silico* or *ad hoc* panels can reduce these risks in the context of genome-wide NGS.

Targeted panels are not affected by the risk of incidental findings, since the genes and genomic regions analyzed are specific to a given disease or group of diseases.

Diagnostic Performance

Genome-wide approaches generally demonstrate a higher diagnostic yield than targeted panels, particularly when the genes or regions potentially involved are difficult to circumscribe and in the context of conditions with moderate to high phenotypic and

genotypic heterogeneity. According to subgroup analyses of recent meta-analyses, in general, the diagnostic yield of genome-wide approaches is significantly higher in pediatric populations than in adult populations. Diagnostic yield was also higher in studies with neurological indications. However, overall, the diagnostic yield of WGS does not differ significantly from that of WES according to recent meta-analyses, except in infants with acute conditions.

The potential diagnostic gain of WGS is better supported by reanalysis studies of clinical cases for which WES did not provide a definitive diagnosis. Among the pathogenic variants detected by WGS and not by WES are CNVs, repeat expansions, deep intronic variants and mtDNA variants not included in the WES capture.

Results – Principles and criteria to guide the choice of the next-generation sequencing analytical approach

Main criteria and principles for the use of targeted NGS

According to the scientific literature and the learned societies consulted, the use of targeted NGS is recommended in the presence of a clear and specific phenotype whose causal genes or variants are easy to circumscribe. It is also recommended in conditions with low to moderate phenotypic or genetic heterogeneity, and for diseases belonging to a single clinical category for which a specific panel is more cost-effective than WES.

Main criteria and principle for the use of genome-wide sequencing

The use of genome-wide sequencing is indicated in the context of rare diseases or those for which no specific test is available. It is particularly recommended in the presence of an atypical, complex or multisystemic phenotype, as well as for conditions with high genetic or phenotypic heterogeneity. It is also indicated when several differential diagnoses are possible or suspected, requiring several sequential tests that may lead to therapeutic delays. In addition, genome-wide sequencing is recommended when its cost is lower than other available diagnostic options.

Analytical steps to follow when using genome-wide sequencing in the clinical setting

When performing genome-wide sequencing in a clinical context, scientific societies recommend a “funnel” or progressive opening analytical approach. This involves an initial stage of *in silico* or *ad hoc* analysis of phenotype-validated gene panels, followed by examination of the mendeliome, exome or genome in the absence of prior molecular diagnosis. In cases where mendeliome, exome or genome analysis is deemed appropriate, genotype- and phenotype-based variant filtering strategies are recommended to achieve a balance between maximizing test sensitivity and reducing the number of variants requiring further analysis. Particular attention should be paid to variant disclosure criteria, considering the level of evidence of gene-disease association and the phenotype observed.

Results – Economic dimension

Review of economic scientific literature

According to the economic literature consulted, WES would be globally efficient in the context of heterogeneous or non-specific clinical conditions, notably in the contexts of intellectual disability and unexplained developmental delay, pediatric muscular diseases, fetal effusion and non-immune feto-placental hydrops, and undiagnosed rare diseases in children. WGS would not be efficient overall, except in children under 1 year of age with undiagnosed rare diseases.

Costs of Targeted and Genome-Wide Sequencing Approaches in Quebec

Analysis of the costs of the targeted and genome-wide sequencing approaches in Quebec shows that precise quantitative criteria, in terms of the number of kilobases or genes to be sequenced at which it would be cheaper to switch from the targeted to the genome-wide approach, cannot be reliably estimated. As a result, the choice of analytical approach should be based on a comparative assessment of the overall weighted values (*valeurs pondérées*) estimated for carrying out the analyses. Finally, the analysis shows that current WGS costs per sample remain high compared with those of WES.

Budgetary Impact

The budget impact analysis of using WGS versus WES in the context of heterogeneous clinical conditions or with non-specific phenotypes could increase expenditure by \$14.3 million (\$7.0 million to \$27.6 million) over the first three years. The results of this analysis remain uncertain due to difficulties in assessing with certainty the number of analyses planned and the costs of additional bioinformatics tools (licenses, data archiving).

Discussion

According to the literature consulted, the future of WES versus WGS, as well as that of targeted panels, remains to be defined. WES is already widely used in the diagnosis of rare diseases, and as exome capture and library preparation kits become cheaper and more efficient, it is partly replacing the use of targeted sequencing in many circumstances. Furthermore, comparative analysis of the advantages and limitations of genome-wide approaches suggests that WES can generally provide a faster and less expensive diagnostic than WGS, in addition to requiring only around 2% of the storage space of a WGS. Current knowledge of protein-coding regions is much more advanced. However, the continuing improvement of bioinformatics pipelines and databases on non-coding regions is likely to increase the added value of WGS in the future.

With sequencing costs continuing to fall, WGS therefore becomes a more realistic prospect as the real cost difference between WES and WGS diminishes. In addition, the growing visibility and use of *long-read* sequencing platforms bring new dimensions to the debate between WGS and WES, as this technology offers the ability to detect important genetic variations that elude WGS *short reads*, among others.

Finally, the use of gene panels remains an unavoidable approach in the presence of a specific syndrome or condition. Indeed, targeting the sequencing to examine only a subset of genes can reduce costs and analytical burden. It is therefore important to assess the advantages and limitations of the different NGS approaches in relation to the clinical context and the purpose of the test, in order to guide the decision towards the most efficient approach that is most likely to offer the best service to patients.

Conclusions

The present state of the art has made it possible to compile the available and relevant literature on the principles and criteria guiding the choice of proceeding with a genome-wide sequencing compared to a targeted NGS of a limited number of genes for the molecular diagnosis of diseases in constitutional genetics.

The literature analyzed has helped to meet the main objective of this work, which is to inform the MSSS about best practices in the use of different NGS approaches in clinical settings. Finally, the findings presented in this report should support the MSSS in its guidance of clinicians and laboratories in the network wishing to develop NGS analyses, in particular to determine in which contexts genome-wide or targeted NGS analyses should be carried out to search for germline variants.

SIGLES ET ACRONYMES

ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNmt	Acide désoxyribonucléique mitochondriale
AHS	Alberta Heath Service
APL	Alberta precision laboratories
ARN	Acide ribonucléique
BAM	Format cartographie d'alignement binaire (de l'anglais <i>binary alignment map</i>)
BSGM	British Society for Genetic Medicine
CCMG	Canadian College of Medical Geneticists
CGH	Hybridation génomique comparative (de l'anglais <i>comparative genomic hybridization</i>)
CMA	Analyse par micropuce chromosomique (de l'anglais <i>chromosomal microarray analysis</i>)
CQGC	Centre québécois de génomique clinique
DI	Déficiência intellectuelle
DUP	Disomie uniparentale
EMB	Evidence-Based Medicine
ESHG	European Society of Human Genetics
ÉTMIS	Évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé
FISH	Hybridation fluorescente <i>in situ</i> (de l'anglais <i>fluorescent in situ hybridization</i>)
GRC	Genetic Resource Centre
GTAC	Genetic Testing Advisory Committee
GWS	Séquençage pangénomique (de l'anglais <i>genome-wide sequencing</i>)
HEE	Health Education England
HQO	Health quality Ontario
HTCC	Health Technology Clinical Committee
INESSS	Institut National d'excellence en santé et en services sociaux
KCE	Centre fédéral d'expertise des soins de santé
LOH	Perte de fonction (de l'anglais <i>lost of function</i>)
MGI	Medical Genome Initiative
MSSS	Ministère de la Santé et des Services sociaux
NCI	National Cancer Institute
NHGRI	National Human Genome Research Institute
NIH	National Institutes of Health
NHS	National Health Services

OHTAC	Ontario Health Technology Advisory Committee
QALY	Année de vie gagnée ajustée selon la qualité (de l'anglais <i>quality-adjusted life year</i>)
PFMG 2025	Plan France médecine génomique 2025
RCEI	Ratio coût-efficacité incrémental
RCOG	Royal College of Obstetricians and Gynaecologists
RGD	Retard global de développement
ROH	Séquences d'homozygotie contiguës (de l'anglais <i>run of homozygosity</i>)
RQDM	Réseau québécois de diagnostic moléculaire
RSSS	Réseau de la santé et des services sociaux
SNG	Séquençage de nouvelle génération
SNP	Polymorphisme d'un seul nucléotide (de l'anglais <i>single-nucleotide polymorphism</i>)
STR	Expansion répétée et répétitions courtes en tandem (de l'anglais <i>short tandem repeat</i>)
TND	Troubles neurodéveloppementaux
TSA	Trouble du spectre de l'autisme
VAF	Fréquence allélique d'un variant (de l'anglais <i>variant allele frequency</i>)
VNC	Variant du nombre de copies
VS	Variants structuraux
VSI	Variants de signification incertaine
WES	Séquençage de l'exome entier (de l'anglais <i>whole exome sequencing</i>)
WGS	Séquençage du génome entier (de l'anglais <i>whole genome sequencing</i>)
WSHCA	Washington State Health Care Authority

GLOSSAIRE

Allèle

Version d'un gène à un endroit donné (locus) le long d'un chromosome [GeneReviews-NIH, 2023]. Un individu hérite de deux allèles pour chaque gène, un de chaque parent [NCI-Glossary, 2023].

Cas index

Voir la définition de « probant ».

Clinome

Voir le terme « exome clinique ».

Contenu en GC

Le contenu en GC, le taux de GC ou le pourcentage de GC (parfois aussi appelé coefficient de Chargaff) est la proportion de guanine (G) ou de cytosine (C) d'un brin d'ADN ou d'ARN, d'un gène, d'une région génétique, d'un chromosome ou d'un génome [Mooers et Holmes, 2000]. Comme la cytosine est toujours liée à la guanine dans une molécule d'ADN double brin, le taux de GC exprime aussi le pourcentage de liaisons G-C dans cette molécule. Par ailleurs, il y existe trois liaisons d'hydrogène entre une paire de bases G-C contre deux entre l'adénine (A) et la thymine (T). Ainsi, les liens G-C sont plus thermostables que les liens A-T et requiert donc plus d'énergie pour dénaturer l'ADN double brin [Hershberg, 2016].

Courtes répétitions en tandem (STR)

Les courtes répétitions en tandem (ou STR, de l'anglais *short tandem repeats*), également connues sous le nom de microsatellites ou répétitions de séquences simples, sont de courtes séquences d'ADN répétées en tandem qui impliquent une unité répétitive de 1 à 6 paires de bases. Ils forment généralement des séries d'une longueur allant jusqu'à 100 nucléotides. Lorsqu'elles sont d'une longueur anormalement longue pour un STR donné, on parle d'expansions de répétitions [Fan et Chu, 2007].

Couverture génomique (ou coverage)

La couverture, ou étendue de la couverture répond à la question « quelle partie de l'échantillon ou de la séquence ciblée est couverte par le séquençage? ». Elle peut être rapportée sous forme de pourcentage de bases couvertes par les lectures de séquençage. Par exemple, une couverture de 95 % indique que 95 % des bases de l'échantillon ou de la séquence ciblée ont été séquencées (à la profondeur n). [Illumina, 2023a; Basepair Support, 2020; Sims *et al.*, 2014].

Découvertes fortuites ou secondaires

Découvertes de variants pathogènes ou probablement pathogènes non liés à l'indication principale de l'analyse. Ces variants peuvent être repérés par hasard (découvertes fortuites) ou intentionnellement à l'aide d'une liste de gènes exploitables dans l'intention

de signaler des variants actionnables non liés à l'indication primaire (découvertes secondaires). L'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) tient à jour une telle liste de gènes exploitables et a publié des recommandations pour la déclaration des résultats secondaires dans le cadre du séquençage clinique de l'exome et du génome [Johnson *et al.*, 2022; Katz *et al.*, 2020].

Disomie uniparentale (DUP)

La disomie uniparentale (DUP) est une situation anormale dans laquelle les deux composants d'une paire de chromosomes sont hérités d'un seul parent, alors que le chromosome de l'autre parent pour cette paire est manquant [Shaffer *et al.*, 2001].

Exome

Un exome est la séquence de tous les exons d'un génome, reflétant la partie du génome codant pour les protéines. Chez l'homme, l'exome représente environ 1,5 % du génome [NHGRI-NIH, 2023].

Exome clinique

Test qui examine les régions du génome codant pour les protéines qui ont une association clinique connue avec une maladie. L'exome clinique contient environ 5 000 gènes responsables de maladies [HEE-NHS, 2023]. Mendéliome et clinome sont des synonymes d'exome clinique.

Exon

Séquence codante de l'ADN présente dans l'ARN messager mature [GeneReviews-NIH, 2023].

Expansions de répétitions

Courtes répétitions en tandem (ou STR, de l'anglais *short tandem repeats*) anormalement longue [Fan et Chu, 2007]. Voir aussi « courtes répétitions en tandem » et « microsatellite ».

Fréquence allélique du variant (VAF)

La fréquence allélique d'un variant (ou VAF, de l'anglais *variant allele frequency*) est le pourcentage de lectures de séquences observées correspondant à un variant d'ADN spécifique, divisé par la couverture globale à ce locus. Parce que le SNG fournit un échantillon presque aléatoire, la VAF est donc une mesure de substitution de la proportion de molécules d'ADN dans le spécimen original portant le variant. Pour les tests en génétique constitutionnelle, la VAF est une mesure de la zygosité diploïde : les loci hétérozygotes devraient avoir une VAF proche de 50 %, les loci homozygotes devraient avoir une VAF proche de 100 % et les loci de référence devraient avoir une VAF proche de 0 %. Les écarts par rapport à ces trois valeurs attendues doivent être considérés comme des erreurs potentielles dues à des appels de bases ou à des alignements incorrects [Strom, 2016], ou peuvent suggérer une duplication ou une délétion (variant de nombre de copies).

Génome

Matériel génétique complet d'un organisme, comprenant à la fois les gènes qui fournissent les instructions pour la production de protéines (1,5 % à 2 % du génome) et les séquences non codantes (98 % du génome) [HEE-NHS, 2023].

Génotype

Ensemble ou partie de l'information génétique (composition génétique) d'un individu. Le génotype d'un individu est donc la composition allélique de tous les gènes de cet individu [GénomeQuébec, 2023].

Hétérogénéité génotypique

Terme utilisé pour décrire les différents mécanismes génétiques qui produisent des phénotypes identiques ou similaires. Il existe deux types d'hétérogénéité génétique : l'hétérogénéité allélique et l'hétérogénéité de locus. On parle d'hétérogénéité allélique lorsque différents variants d'un même locus génétique provoquent des expressions phénotypiques identiques ou similaires d'une maladie ou d'une affection. L'hétérogénéité de locus se produit lorsque des variants à différents locus génétiques provoquent des expressions phénotypiques identiques ou similaires d'une maladie ou d'une affection [NCI-Glossary, 2023].

Hétérogénéité phénotypique

L'hétérogénéité phénotypique fait référence à des individus génétiquement identiques qui expriment des phénotypes différents, même lorsqu'ils se trouvent dans le même environnement [Rubin et Doebeli, 2017] et fait le plus souvent référence à la variation des symptômes chez les personnes atteintes d'une même maladie [Woodward *et al.*, 2022].

Indel

En génétique, le terme « indel » est une contraction des mots « insertion » et « délétion ». Il fait référence à l'insertion ou la suppression de nucléotides dans l'ADN génomique et inclut des événements de moins de 1 kb de longueur [Sehn, 2015].

Intron

Séquence non codante d'ADN retirée de l'ARN messager mature avant la traduction en protéine [GeneReviews-NIH, 2023].

Mendéliome

Voir le terme « exome clinique ».

Microsatellites

Courte séquence d'ADN généralement composée 1 à 6 nucléotides répétés plusieurs fois à un emplacement génomique donné. Les microsatellites sont un type de répétition en tandem. Voir aussi « expansions répétées » et « répétitions en tandem (STR) ».

Mosaïcisme

Lorsqu'il existe plusieurs populations de cellules génétiquement différentes au sein d'un même individu ou dans un même tissu [HEE-NHS, 2023; NCI-Glossary, 2023].

Pénétrance

La pénétrance fait référence à la probabilité qu'un état clinique se produise en présence d'un génotype particulier [NCI-Glossary, 2023].

Perte d'hétérozygotie (LOH)

La LOH, de l'anglais « *lost of heterozygosity* », désigne un type de mutation qui entraîne la perte d'une copie d'un segment d'ADN (contenant généralement un gène ou un groupe de gènes). Pour la plupart des parties du génome, les cellules humaines possèdent deux copies d'un segment génomique – une de chaque parent – de sorte que dans le cas de la LOH, une seule copie (allèle) serait encore présente [NHGRI-NIH, 2023].

Panel de gènes virtuel ou *in silico*

Il s'agit d'une liste prédéfinie de gènes qui seront analysés à partir des données de séquençage d'un panel plus large, de l'exome ou du génome entier. Ainsi, l'analyse bioinformatique (*in silico*) sera ciblée sur les gènes relatifs à un phénotype particulier.

Panel de gènes *ad hoc*

Création sur demande d'un panel de gènes personnalisé, selon le tableau clinique du patient.

Proband

En génétique, le probant (du latin probare – tester ou propositus) désigne la personne atteinte de la maladie à partir de laquelle on fait le conseil génétique. Habituellement, le probant est la première personne d'une famille qui porte la suspicion d'un trouble génétique à l'attention des professionnels de la santé. Si le propositus est atteint, on peut alors parler de cas index [NHGRI-NIH, 2023].

Profondeur de lecture

La profondeur de lecture (également appelée profondeur de séquençage) décrit le nombre de fois qu'un nucléotide donné du génome a été lu au cours d'une expérience de séquençage [HEE-NHS, 2023]. Elle est conventionnellement définie comme un nombre suivi de "X" et est souvent exprimée sous la forme d'une moyenne [Strom, 2016].

Séquence d'homozygotie contiguë (ROH)

Une séquence d'homozygotie contiguë (ou ROH, de l'anglais *run of homozygosity*) est une région génomique continue dans laquelle on retrouve des haplotypes identiques. Il s'agit donc d'une région du génome pour laquelle un individu est homozygote. La ROH peut suggérer une consanguinité [Naseri *et al.*, 2020; Ceballos *et al.*, 2018]

Séquençage pangénomique (GWS)

Le séquençage pangénomique (ou GWS, de l'anglais *genome-wide sequencing*) est un terme générique désignant le processus utilisé pour déterminer et analyser la séquence de la plupart des gènes, voire de tous les gènes, y compris l'interprétation des variants de séquence détectés, que ce soit par le séquençage et l'analyse de l'exome ou du génome entier [OHTAC-HQO, 2020].

Variant de nucléotide simple (VNS)

Altération de la séquence de l'ADN causée par un changement, une insertion ou une suppression d'une seule base nucléotidique. Celle-ci peut être bénigne, pathogène ou de signification incertaine [GeneReviews-NIH, 2023].

Variant de signification incertaine (VSI)

Variation d'une séquence génétique dont l'association avec le risque de maladie n'est pas claire [NCI-Glossary, 2023] ou qui correspond à la catégorie de preuves « signification incertaine » des lignes directrices et normes d'interprétation des variants de l'ACMG/AMP/CAP [Richards *et al.*, 2015].

Variant structural (VS)

Les variants structuraux font référence aux différences structurelles à grande échelle dans l'ADN génomique qui sont héritées ou polymorphes dans une espèce. Elles résultent d'un réarrangement chromosomique – inversion, translocation, délétion, duplication, insertion de nouvelles séquences [Natureportfolio, 2023].

INTRODUCTION

Problématique

Le mandat du Réseau québécois de diagnostic moléculaire (RQDM), dont fait partie le Centre québécois de génomique clinique (CQGC), est de répondre aux besoins actuels et futurs du réseau de la santé et des services sociaux dans le domaine du diagnostic moléculaire et de la médecine personnalisée, plus particulièrement dans les domaines des maladies rares et de la cancérologie. Il vise également à rapatrier dans le réseau public québécois la majeure partie des analyses cliniques réalisées par séquençage de nouvelle génération (SNG) dans des laboratoires hors Québec.

À cette fin, le RQDM, soutenu par le ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS), a entrepris un projet provincial de rehaussement technologique, de développement et de rapatriement d'analyses effectuées par SNG. Les activités de séquençage pangénomique seront effectuées au CQGC, qui est doté de séquenceurs à haut débit et d'une infrastructure nationale de bio-informatique. Certaines analyses germinales ou somatiques ciblées pourront continuer d'être développées et effectuées sur des séquenceurs de faible ou moyen débit dans les laboratoires de diagnostic moléculaire du réseau, en fonction de leur expertise et de leur vocation.

Dans le souci d'uniformiser, d'encadrer et d'assurer la qualité de l'offre de services de SNG actuellement développée au Québec, le MSSS a demandé à l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS) des états des connaissances sur les principes et critères guidant la décision de réaliser un séquençage de l'exome au lieu d'un séquençage ciblé d'un nombre limité de gènes. Les principes et critères de sélection des gènes à analyser, d'accès aux données de séquence de l'ensemble des gènes associés à une maladie monogénique (mendéliome), voire de l'exome complet, ainsi que des analyses en trio « parents-enfant » font aussi partie des questions d'évaluation. En résumé, les questions adressées à l'INESSS visent à nourrir une réflexion globale sur l'approche analytique et l'exhaustivité des analyses génomiques qui devraient être proposées en fonction des différents contextes cliniques.

Le présent état des connaissances traite spécifiquement des principes et critères encadrant le recours au séquençage de l'exome entier par rapport au SNG d'un nombre limité de gènes pour le diagnostic moléculaire des maladies en génétique constitutionnelle. La possibilité d'utiliser le séquençage du génome complet a aussi été incluse dans le présent état des connaissances vu la rapidité à laquelle les technologies évoluent, de la plus grande disponibilité et de la réduction graduelle des coûts de cette technologie.

1 MÉTHODOLOGIE

Le présent état des connaissances est une synthèse des résultats d'une revue rapide de la littérature scientifique que l'INESSS a effectuée sur les principes et critères encadrant le recours au SNG pangénomique (exome ou génome) par rapport au SNG d'un nombre limité de gènes pour le diagnostic moléculaire des maladies génétiques.

L'état des connaissances vise à déterminer les meilleures pratiques en la matière; il est à finalité informative et ne constitue ni un exposé de position (*position paper*), ni une série de recommandations.

1.1 Questions d'évaluation

Dans le contexte du séquençage de l'ADN germlinal à des fins diagnostiques, quels sont les principes et critères orientant le choix de procéder par séquençage pangénomique plutôt que par séquençage ciblé d'un nombre limité de gènes (panel de gènes) pour l'investigation d'une maladie ou d'un trouble génétique?

Les principales sous-questions d'évaluation sont les suivantes :

- Quels sont les avantages et les limites des tests par SNG du génome complet, de l'exome complet et par panel de gènes ciblés?
- Quels sont les contextes dans lesquels l'analyse du génome complet, de l'exome complet ou de panels de gènes ciblés est recommandée et ceux dans lesquels elle devrait être exclue?
- Quels sont les circonstances et contextes cliniques dans lesquels un panel *in silico*, tous les gènes associés aux maladies monogéniques (« mendéliome », environ 5 000 gènes), l'exome (20 000 gènes) ou le génome entier devraient être analysés?
- Dans quels contextes l'approche pangénomique est-elle efficace selon la littérature scientifique?
- À partir de combien de kilobases ou de gènes à séquencer serait-il préférable du point de vue économique, selon les données publiées et les données québécoises recueillies, de procéder par SNG pangénomique plutôt que par SNG ciblé?
- Quel serait l'impact budgétaire différentiel entre le WES et le WGS pour le diagnostic d'une maladie phénotypiquement et génotypiquement hétérogène (p. ex. déficience intellectuelle)?

1.2 Stratégies de repérage de l'information scientifique

Les stratégies de recherche, qui incluent des mots-clés du vocabulaire libre et contrôlé (MeSH), ont été élaborées en collaboration avec un conseiller en information scientifique (bibliothécaire) (annexe A du document *Annexes complémentaires*). Les documents publiés en français ou en anglais sans restriction temporelle ont été considérés.

Les bases de données bibliographiques suivantes ont été interrogées : MEDLINE, Embase et Evidence-Based Medicine (EBM) Reviews (Cochrane Database of Systematic Reviews, Health Technology Assessment et National Health Services [NHS] Economic Evaluation Database).

La recherche d'information a été complétée par la consultation de sites Web de sociétés savantes, d'organisations professionnelles, réglementaires et gouvernementales d'intérêt (annexe B du document *Annexes complémentaires*). Une recherche manuelle des bibliographies des publications jugées pertinentes a également été effectuée.

1.3 Sélection des publications, évaluation de la qualité méthodologique et synthèse des données publiées

Les publications considérées étaient les rapports d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (ETMIS), les revues systématiques avec ou sans méta-analyse, les lignes directrices, les guides de pratique clinique et les recommandations ou positions de sociétés savantes traitant du séquençage pangénomique, du génome complet, de l'exome et/ou de panels de gènes ciblés dans le contexte du diagnostic moléculaire d'une maladie génétique. Au besoin, des études primaires et des revues non systématiques ont été considérées lorsqu'elles présentaient des données d'intérêt qui n'étaient pas disponibles dans les rapports de synthèse sélectionnés.

Les publications ont été sélectionnées de façon indépendante par deux professionnelles scientifiques en fonction des critères PIPOH présentés dans le [tableau 1](#). [Harrison *et al.*, 2010; Fervers *et al.*, 2004].

Tableau 1 Critères PIPOH utilisés pour sélectionner les documents

Paramètre PIPOH	Critères
Population à qui s'adresse l'intervention	Adulte/enfant/fœtus suspecté d'une maladie génétique
Intervention	Séquençage du génome complet et/ou de l'exome et/ou par panels de gènes ciblés
Professionnels à qui s'adressent les travaux	Personnel des laboratoires de diagnostic moléculaire, généticiens médicaux, conseillers en génétique et autres professionnels impliqués dans la réalisation et l'interprétation des analyses de SNG aux fins diagnostiques, ou impliqués dans la prise en charge des patients concernés
Résultats de santé, équilibre risques/bénéfices (de l'anglais <i>Outcomes</i>)	Avantages et limites des analyses de SNG sur le plan clinique (p. ex. rendement diagnostique, innocuité), économique (p. ex. coût, efficience), organisationnel (p. ex. temps de réponse), éthique et social, recommandations et positions de sociétés savantes relatives aux analyses de SNG pangénomique
Milieu de soins (de l'anglais <i>Health care setting</i>)	Milieus cliniques comparables à celui du Québec, notamment avec un système public de soins et services de santé (sans s'y restreindre)

Les désaccords sur la sélection finale des publications ont été résolus en présence du coordonnateur scientifique. Le diagramme de sélection des publications est présenté dans l'annexe C du document *Annexes complémentaires*.

L'évaluation de la qualité méthodologique des publications retenues a été effectuée par une professionnelle scientifique à l'aide d'outils normalisés en fonction du type de publication. Les outils, les détails méthodologiques et les résultats de cette évaluation sont présentés dans l'annexe D du document *Annexes complémentaires*.

L'extraction de l'information pertinente, issue des publications sélectionnées, a été réalisée par la professionnelle responsable de l'évaluation. Les principaux constats sont résumés dans le rapport sous forme de synthèses narratives étayées par des tableaux au besoin.

1.4 Données clinico-administratives

Les données relatives aux analyses de laboratoire ont été extraites à partir de la base de données ministérielle Centralab qui contient les données de production des procédures de biologie médicale du réseau de la santé et des services sociaux (RSSS). Cette base de données comprend, entre autres, le nom de la grappe³, de l'établissement et de l'installation auquel le laboratoire est rattaché, le nombre de procédures effectuées, la

³ Grappes de services OPTILAB : <https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/soins-et-services/optilab/grappes-de-services/>

valeur pondérée⁴ ainsi que la provenance de la requête (p. ex. unité de soins d'urgence, unité de soins courants, clinique externe) pour chaque procédure inscrite au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*).

Pour chaque procédure d'intérêt, les variables suivantes ont été extraites pour les cinq dernières années : la valeur pondérée, le nombre de procédures effectuées et le coût engendré.

1.5 Validation et assurance qualité

La validation du document a été effectuée par la coordination scientifique et la direction responsable de sa production. La validation du gabarit utilisé et de la transparence des aspects méthodologiques a été réalisée en collaboration avec le Bureau – Méthodologie et éthique de l'INESSS. Le document n'a pas fait l'objet d'une lecture externe.

⁴ La valeur pondérée est la valeur associée à chacune des procédures du *Répertoire* qui reflète les ressources nécessaires (humaines et matérielles) à la réalisation de la procédure.

2 RÉSULTATS – DIMENSIONS CLINIQUE, POPULATIONNELLE ET ORGANISATIONNELLE

Vingt-trois publications traitant du SNG ciblé et pangénomique de l'ADN pour le diagnostic moléculaire de maladies en génétique constitutionnelle ont été sélectionnées ([tableau 2](#)). Parmi celles-ci figurent trois rapports d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (ETMIS), soit un de l'Ontario [OHTAC-HQO, 2020] et deux de l'État de Washington [HTCC-WSHCA, 2020; Whitehead *et al.*, 2019], une politique relative aux indications des analyses pangénomiques de l'Alberta [GRC-AHS, 2023] et neuf lignes directrices, recommandations ou énoncés de positions de sociétés savantes du Canada [Carter *et al.*, 2023; CCMG, 2023; GTAC-HQO, 2016; Boycott *et al.*, 2015], des États-Unis [Austin-Tse *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021], du Royaume-Uni [Mone *et al.*, 2021] et de l'Europe [Souche *et al.*, 2022; Hanquet *et al.*, 2018].

Quatre revues systématiques [Chung *et al.*, 2023; Nurchis *et al.*, 2022; Shickh *et al.*, 2021; Stefanski *et al.*, 2021] et quatre revues de littérature structurées non systématiques [Ng *et al.*, 2022; Blackburn *et al.*, 2020; Bick *et al.*, 2019; Dunn *et al.*, 2018] ont également été retenues, entre autres pour comparer les techniques de séquençage entre-elles, notamment sur le plan du rendement diagnostique, de même que pour documenter les avantages et les limites de ces approches analytiques.

Il est à noter que deux registres de tests nationaux, soit celui de l'Angleterre [NHS directory, 2024] et celui de la France [PFMG 2025, 2024], ont également été consultés afin de recenser les différents troubles génétiques et critères d'accès couverts par des analyses pangénomiques selon des programmes nationaux de médecine génomique.

Malgré une qualité méthodologique jugée faible à modérée concernant les guides et les recommandations selon la grille AGREE II (annexe D du document *Annexes complémentaires*), il est important de souligner qu'une certaine cohérence est observée entre les différents constats présentés, notamment en ce qui a trait au choix de l'approche par SNG en fonction de la spécificité du phénotype. En revanche, les risques de biais des revues systématiques, évalués par la grille ROBIS, sont tous jugés faibles (annexe D du document *Annexes complémentaires*).

Les paragraphes qui suivent présentent, dans un premier temps, une synthèse comparative des principaux avantages et limites du SNG ciblé et du SNG pangénomique. Ils sont suivis de données sur le rendement diagnostique ainsi que d'une recension des contextes dans lesquels les différentes approches analytiques sont respectivement recommandées ou non. Finalement, les étapes analytiques à suivre lors de l'utilisation du séquençage pangénomique en contexte clinique sont brièvement discutées.

Tableau 2 Publications sélectionnées traitant du SNG ciblé et pangénomique pour le diagnostic des maladies génétiques

[Auteur, année] Pays	Société savante	Type de publication	Intervention	Titre, contexte clinique
Rapport d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé				
[OHTAC-HQO, 2020] Canada	HQO	Rapport d'ETMIS	SNG pangénomique	<i>Genome-Wide Sequencing for Unexplained Developmental Disabilities or Multiple Congenital Anomalies: A Health Technology Assessment</i> Maladies développementales inexpliquées, anomalies congénitales multiples.
[HTCC-WSHCA, 2020] États-Unis	WSHCA	Rapport d'ETMIS, conclusions et décision du Comité clinique des technologies de la santé	WES	<i>Health Technology Clinical Committee Findings and Decision: Whole exome sequencing (May 15, 2020)</i> Troubles congénitaux ou neurodéveloppementaux inexpliqués, conditions de couverture et d'exclusion.
[Whitehead et al., 2019] États-Unis	WSHCA	Rapport d'ETMIS, rapport de preuves	WES	<i>Whole Exome Sequencing – Final evidence report (October 21, 2019)</i> Maladies génétiques complexes, phénotype mixte et hétérogène.
Lignes directrices, recommandations et positions de sociétés savantes				
[Carter et al., 2023] Canada	CCMG	Énoncé de position	WGS, WES, pangénomique et panels	<i>Genetic and metabolic investigations for neurodevelopmental disorders: position statement of the Canadian College of Medical Geneticists (CCMG)</i> Troubles neurodéveloppementaux (TND), retard de développement global (RDG), déficience intellectuelle (DI) et/ou trouble du spectre de l'autisme (TSA).
[CCMG, 2023]	CCMG	Recommandations	WGS, WES, pangénomique et panels	<i>Medical Genetics - Twelve Things Physicians and Patients Should Question</i> Maladies génétiques, sélection de la méthode SNG diagnostic.
[GRC-AHS, 2023] Canada	APL-AHS	Politique relative aux indications des analyses pangénomiques de l'Alberta	WES	<i>Whole Exome Sequencing Guidelines</i> Postnatal, post-mortem, maladies génétiques, comparaison avec les tests standards.

[Auteur, année] Pays	Société savante	Type de publication	Intervention	Titre, contexte clinique
[Austin-Tse <i>et al.</i> , 2022] États-Unis	MGI	Lignes directrices	WGS	Best practices for the interpretation and reporting of clinical whole genome sequencing Maladies génétiques rares / WGS clinique.
[Souche <i>et al.</i> , 2022] Europe	ESHG, EuroGentest	Lignes directrices (mise à jour de 2016)	WGS	Recommendations for whole genome sequencing in diagnostics for rare diseases Diagnostic des maladies rares.
[Rehder <i>et al.</i> , 2021] États-Unis	ACMG	Normes techniques des laboratoires cliniques	WGS, WES et panel	Next-generation sequencing for constitutional variants in the clinical laboratory, 2021 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) Variants constitutionnels, maladies génétiques hétérogènes, phénotypes complexes et hétérogènes.
[Mone <i>et al.</i> , 2021] Royaume-Uni	BSGM et RCOG	Énoncé d'opinion, revue systématique avec méta-analyse	WES	Congenital heart disease and the Diagnostic yield with Exome sequencing (CODE) study: prospective cohort study and systematic review Fœtus avec anomalies congénitales.
[Hanquet <i>et al.</i> , 2018] Belgique	KCE	Rapport scientifique, lignes directrices, pratique clinique	WGS et SNG pangénomique	The use of whole genome sequencing in clinical practice: Challenges and organisational considerations for Belgium Maladies complexes et hétérogènes, maladies héréditaires rares.
[GTAC-HQO, 2016] Canada	HQO	Recommandations, rapport du comité consultatif	WGS, WES et clinome	Use of Genome-Wide Sequencing for Undiagnosed Rare Genetic Diseases in Ontario Maladies génétiques rares non diagnostiquées, maladies monogéniques, hétérogénéité génétique.
[Boycott <i>et al.</i> , 2015] Canada	CCMG	Énoncé de position	SNG pangénomique	The clinical application of genome-wide sequencing for monogenic diseases in Canada: Position Statement of the Canadian College of Medical Geneticists Maladies monogéniques, diagnostic et applications cliniques, phénotypes complexes, hétérogénéité génétique.
Revue systématique avec ou sans méta-analyse				
[Chung <i>et al.</i> , 2023] Hong Kong	s.o.	Revue systématique avec méta-analyse	WES et WGS	Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of exome and genome sequencing in pediatric and adult patients with rare diseases across diverse populations

[Auteur, année] Pays	Société savante	Type de publication	Intervention	Titre, contexte clinique
				Rendement diagnostique, comparaisons WES et WGS, pédiatrique et adulte.
[Nurchis <i>et al.</i> , 2022] Italie	s. o.	Revue systématique avec méta-analyse	WGS et WES	<i>Whole genome sequencing diagnostic yield for paediatric patients with suspected genetic disorders: systematic review, meta-analysis, and GRADE assessment</i> Maladies rares et mendéliennes, rendement diagnostique, comparaisons WES et WGS, pédiatrique.
[Shickh <i>et al.</i> , 2021] Canada	s. o.	Revue systématique	SNG pangénomique	<i>The clinical utility of exome and genome sequencing across clinical indications: a systematic review</i> Avantages et désavantages du séquençage pangénomique, phénotypes complexes et atypiques, nourrissons.
[Stefanski <i>et al.</i> , 2021] États-Unis, Royaume-Uni, Allemagne	s. o.	Revue systématique avec méta-analyses	WES et panel	<i>Clinical sequencing yield in epilepsy, autism spectrum disorder, and intellectual disability: A systematic review and meta-analysis</i> Épilepsie, TSA, DI, comparaisons WES et panels.
Revue non systématique				
[Ng <i>et al.</i> , 2022] Singapour	s. o.	Mini-revue	Panels ciblés	<i>Using gene panels in the diagnosis of neuromuscular disorders: A mini-review</i> Avantages et risques des tests génétiques, utilité clinique, défis et limites de l'utilisation de panels de gènes.
[Blackburn <i>et al.</i> , 2020] Écosse	NHS Scotland	Recommandations, lignes directrices et revue structurée (mise à jour de 2016)	WGS, WES et panel ciblé et <i>in silico</i>	<i>Clinical genome analysis evidence review</i> Développements des technologies génomiques et leurs applications, stratégie à long terme pour la génomique clinique en Écosse, maladies rares.
[Bick <i>et al.</i> , 2019] États-Unis	s. o.	Revue structurée	WGS	<i>Case for genome sequencing in infants and children with rare, undiagnosed or genetic diseases</i> Nourrissons et enfants atteints de maladies rares, non diagnostiquées ou génétiques. Comparaisons du WGS et du WES.
[Dunn <i>et al.</i> , 2018] Australie	s. o.	Revue, concepts clés, algorithme diagnostique	WGS, WES, panels	<i>Next Generation Sequencing Methods for Diagnosis of Epilepsy Syndromes</i> Applications des tests génétiques pour le diagnostic de l'épilepsie.

[Auteur, année] Pays	Société savante	Type de publication	Intervention	Titre, contexte clinique
Répertoires et registres de tests nationaux				
[NHS directory, 2024] Royaume-Uni	NHS - England	Répertoire national de tests génomiques	WES, WGS, panels	<i>National genomic test directory for rare and inherited disease</i> Liste des tests génomiques disponibles pour les maladies rares et héréditaires, technologie par laquelle ils sont réalisés et patients admissibles
[PFMG 2025, 2024] France	PFMG 2025	Liste des préindications	WGS	<i>Les préindications et leur mise en place</i> Liste des indications et critères d'accès au séquençage génomique

Sigles et acronymes : ACMG : American College of Medical Genetics; AHS : Alberta Health Services; APL : Alberta precision laboratories; BSGM : British Society for Genetic Medicine; CCMG : Canadian College of Medical Geneticists; DI : Déficience intellectuelle; ESHG : European Society of Human Genetics; RGD : Retard global de développement; GRC : Genetic Resource Centre; GTAC : Genetic Testing Advisory Committee; HQO : Health quality Ontario; HTCC : Health Technology Clinical Committee; NHS : National Health Services; KCE : Centre fédéral d'expertise des soins de santé (Federaal Kenniscentrum voor de Gezondheidszorg); MGI : Medical Genome Initiative; PFMG 2025 : Plan France médecine génomique 2025; TND : Troubles neurodéveloppementaux; OHTAC : Ontario Health Technology Advisory Committee; RCOG : Royal College of Obstetricians and Gynaecologists; SNG : Séquençage de nouvelle génération; TSA : Trouble du spectre de l'autisme; WES : Séquençage de l'exome complet (de l'anglais *whole exome sequencing*); WGS : Séquençage du génome complet (de l'anglais *whole genome sequencing*); WSHCA : Washington State Health Care Authority.

2.1 Analyse comparative des avantages et limites du SNG pangénomique par rapport au SNG ciblé

Douze des publications et des sociétés savantes consultées énoncent des avantages et des limites du SNG ciblé de gènes (panel), de l'exome ou du génome entier [Carter *et al.*, 2023; CCMG, 2023; Ng *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022; Mone *et al.*, 2021; Rehder *et al.*, 2021; Shickh *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; OHTAC-HQO, 2020; Bick *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018; Boycott *et al.*, 2015]. Les principaux constats sont présentés dans les prochaines sous-sections et les données sur les caractéristiques analytiques, techniques et économiques ainsi que sur la sensibilité empirique de détection des variants des différentes approches par SNG sont présentées sous forme de tableau comparatif ([tableau 3](#)).

Pour plus de détails, l'ensemble des avantages et des limites répertoriés sont présentés et résumés dans les annexes E et F du document *Annexes complémentaires* (tableaux E-1 à E-4 et F-1 à F-3).

Tableau 3 Comparaisons relatives des principales caractéristiques techniques, organisationnelles, analytiques, de sensibilité empirique de détection des variants et des enjeux éthiques du SNG ciblé, du WES et du WGS

Caractéristique *	Panel ciblé	WES	WGS
Caractéristiques techniques et organisationnelles			
Risque de biais de séquençage	+	+	-
Taille de l'espace ciblé (Mpb)	~0,5	~50 ⁱⁱ	~3 200
Données générées et espace de stockage (Go)	1 ⁱⁱⁱ	8 ^{iv}	120 ^v
Temps d'analyse relatifs	+	++	+++
Permet la réévaluation des cas cliniques	Non	Oui	Oui
Permet les analyses exploratoires basées sur le génotype et le phénotype	Non	Oui (+)	Oui (++)
Permet les mises à jour fréquentes des cibles	Non	Oui	Oui
Coûts relatifs ^{vi}	\$	\$\$	\$\$\$
Caractéristiques analytiques			
Profondeur de lecture moyenne	500 - 1 000X	100 - 150X	30 - 60X
Couverture des exons	Oui (+++) ^{vii}	Oui (+) ^{viii}	Oui (++) ^{ix}
Couverture des introns	Non ^x	Non ^x	Oui
Couverture du génome mitochondrial	Non	Non ^{xi}	Oui
Couverture des régions riches en GC ^{xii}	+	+	++
Sensibilité empirique comparative de détection des variants ^{**}			
Variant de structure (VS)	-	-	+
Variant de nombre de copies (VNC)	+	+	++
Variant de nucléotide simple (VNS) et indel (< 150 pb)	++	++	++
Variant de faible fréquence allélique et mosaïcisme	++	+	-
Expansions répétées, répétitions courtes en tandem (STR) et microsatellites	- ^{xiii}	-	++
Perte d'hétérozygotie (ou LOH)	+	+	++
Séquence d'homozygotie contiguë (ou ROH)	-	++	++
Enjeux éthiques			
Risque associé à la découverte de variants de signification incertaine (VSI)	+	++	+++
Risque associé aux découvertes fortuites	-	+	++

Sources : Tableau traduit de Koboldt [2020], sous licence gratuite Open acces – Creative Commun Attribution 4.0 International License (<https://genomemedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13073-020-00791-w#rightslink>), et complété à partir des données issues de [IDT, 2023; Illumina, 2023c; Illumina, 2023d; Illumina, 2023b; Austin-Tse *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; van den Akker *et al.*, 2021; Bean *et al.*, 2020; Blackburn *et al.*, 2020; Krumm et Hoffman, 2020; Wallace et Bean, 2020; Yao *et al.*, 2020; Bick *et al.*, 2019; D'Haene *et al.*, 2019; Yu *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018; Illumina, 2018; Kong *et al.*, 2018; LaDuca *et al.*, 2017; Meienberg *et al.*, 2016; Rykalina *et al.*, 2014].

Sigles et acronymes : Go : Gigaoctets; indel : Délétion/duplication; jrs : Jours; LOH : Perte d'hétérozygotie (de l'anglais *loss of heterozygosity*); Mpb : Paires de mégabases (1 Mpb = 1 000 000 pb); ng : Nanogramme; ROH : Séquences d'homozygotie contiguës (de l'anglais *run of homozygosity*); STR : Expansions répétées et répétitions courtes en tandem (de l'anglais *short tandem repeat*); WES : Séquençage de l'exome entier (de l'anglais *whole exome sequencing*); WGS : Séquençage du génome entier (de l'anglais *whole genome sequencing*)

* À noter que l'information associée à certaines des caractéristiques a été ajustée en fonctions des données obtenues de sites Web de fabricants et de fournisseurs de solution de séquençage, comme précisé parmi les sources consultées.

** La performance empirique comparative de chaque stratégie de SNG pour la détection de variants de différentes classes est indiquée comme étant faible/absente (-), moyenne (+) ou élevée (++).

ⁱ Le temps de capture de l'exome peut prendre plusieurs jours et varie en fonction de certains facteurs (p. ex. technologie utilisée, protocole de capture, nombre d'échantillons traités simultanément). Selon les savoirs expérimentaux et les données partagées par le CQGC, la capture peut prendre de 1 à 3 jours.

ⁱⁱ Les troupes commerciales typiques de capture de l'exome ciblent environ 50 Mpb comprenant les séquences codantes, des sites d'épissage, des exons alternatifs et certains ARN non codants, bien que cet espace varie selon les fabricants [Koboldt, 2020].

ⁱⁱⁱ Pour un large panel de 300 gènes en fichier BAM [Krumm et Hoffman, 2020].

^{iv} Pour une profondeur de 100X en fichier BAM [Krumm et Hoffman, 2020; Illumina, 2018].

^v Pour une profondeur de 30X en fichier BAM [Krumm et Hoffman, 2020; Illumina, 2018].

^{vi} Les signes monétaires représentent les coûts relatifs approximatifs, mais il convient de noter que le coût du séquençage d'un panel ciblé dépend de sa taille. Par ailleurs, la diminution graduelle du coût du SNG de l'exome et du génome entier pourrait en faire des approches plus économiques que le séquençage ciblé dans un avenir rapproché.

^{vii} La couverture des gènes des panels ciblés est généralement supérieure à celle du WES pour ces mêmes gènes lorsque la quantité de nucléotides séquencés est la même (longueur de la séquence) [LaDuca *et al.*, 2017].

^{viii} La performance du WES est sensible à la conception et à l'enrichissement des captures de l'exome [Meienberg *et al.*, 2016].

^{ix} Le WGS fournit une couverture complète supérieure de l'exome par rapport au WES, car il ne nécessite pas d'étape de capture des exons [Souche *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; Bick *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018; Meienberg *et al.*, 2016].

^x Peut inclure des régions adjacentes aux exons et des régions introniques profondes (*deep intronic*) d'intérêt dépendamment de la conception des sondes de captures ou des amorces [Zhang *et al.*, 2023; Kumar *et al.*, 2021; van den Akker *et al.*, 2021; Yu *et al.*, 2019].

^{xi} Bien que les troupes commerciales typiques de capture de l'exome n'incluent généralement pas le séquençage de l'ADNmt, il est possible de bonifier la trousse de capture afin de séquencer l'exome et le génome mitochondrial simultanément.

^{xii} Les régions à forte teneur en GC (souvent présentes dans la région 5', y compris le premier exon) ne peuvent généralement pas être séquencées avec une confiance ou une qualité élevée [Bean *et al.*, 2020]. Toutefois, la performance du WGS est moins sensible au contenu en GC que le WES [Meienberg *et al.*, 2016].

^{xiii} Il est à noter que certains panels ciblent spécifiquement les répétitions courtes en tandem (STR) [Yu *et al.*, 2019].

2.1.1 Comparaison des principales caractéristiques techniques et organisationnelles

2.1.1.1 Données générées, temps d'analyse et coûts relatifs

Comme l'exome ne représente qu'environ 2 % du génome, la quantité de données générée par le WES est largement inférieure à celle du WGS, soit environ 50 Mpb pour une profondeur de lecture de 100X à 150X comparativement à environ 3 200 Mpb pour une profondeur 30X à 60X pour le WGS [Koboldt, 2020; Bick *et al.*, 2019]. Le WES nécessite donc moins d'espace de stockage, soit environ 8 gigaoctets (Go) contre 120 Go pour le WGS [Krumm et Hoffman, 2020; Illumina, 2018]. Aux fins de comparaison, un panel ciblé de 300 gènes produit environ 0,5 Mpb de séquence pour une profondeur de lecture moyenne allant de 500X à 1 000X, nécessitant environ 1 Go d'espace de stockage [Blackburn *et al.*, 2020; Koboldt, 2020; Krumm et Hoffman, 2020; Bick *et al.*, 2019].

Le WGS requiert donc des séquenceurs plus puissants, une capacité de calcul et un espace de stockage des données électroniques considérablement plus élevés. Les analyses bio-informatiques sont aussi généralement plus longues et plus complexes comparativement au WES et aux panels ciblés [Rehder *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; OHTAC-HQO, 2020]. Pour ces raisons, le coût relatif du WGS est plus élevé par

rapport aux deux autres approches [Blackburn *et al.*, 2020; OHTAC-HQO, 2020; Wallace et Bean, 2020; Hanquet *et al.*, 2018]. D'ailleurs, le coût relatif, le temps d'analyse et la quantité massive de données générées sont actuellement les principaux désavantages du WGS, selon la littérature consultée [Blackburn *et al.*, 2020; Wallace et Bean, 2020].

Toutefois, selon les savoirs expérimentiels, le temps et la complexité des analyses effectuées à partir du WES et du WGS peuvent être relativement semblables si l'analyse est basée sur les éléments interprétables cliniquement (panel virtuel *in silico* ou *ad hoc*). Par ailleurs, le temps d'analyse relatif des panels ciblés étant plus court, ils devraient être favorisés lorsque les indications cliniques le permettent.

Il est à noter que la dimension économique sera plus amplement abordée dans la [section 3](#) de ce rapport.

2.1.1.2 Polyvalence de l'approche analytique, réévaluation des cas cliniques et mises à jour

Selon la littérature consultée, un des principaux avantages du séquençage pangénomique réside dans la possibilité de personnaliser les analyses génétiques en fonction du phénotype du patient par l'utilisation de panels virtuels *in silico* ou *ad hoc* (sur mesure) [Austin-Tse *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022]. Il s'agit donc d'une approche plus large et sans hypothèse préliminaire, ce qui constitue un avantage pour le diagnostic des patients sans phénotype clair, contrairement aux panels ciblés qui sont basés sur un phénotype ou des signes cliniques précis [Rehder *et al.*, 2021].

Le séquençage pangénomique permet également la réanalyse des données de séquençage, notamment lorsque les premières analyses n'ont pas permis d'établir un diagnostic. Il permet également la réévaluation des cas cliniques au fil du temps en cas d'évolution du phénotype ou en cas d'avancées des connaissances des associations gènes-maladies [Ng *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; OHTAC-HQO, 2020; Bick *et al.*, 2019]. Il est donc possible de restreindre l'analyse initiale à un ensemble de gènes selon le phénotype du patient et, en cas de résultats négatifs, d'ouvrir l'analyse à un plus grand nombre de gènes, voire d'effectuer des analyses exploratoires par filtrage des variants axés sur le génotype et le phénotype du patient à partir du mendéliome, de l'exome ou du génome complet [Austin-Tse *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022]. Ce type d'analyse en « entonnoir » est discuté plus en détail dans la [section 2.4 \(Étapes analytiques à suivre lors d'un séquençage pangénomique en contexte clinique\)](#), tandis que les analyses exploratoires axées sur le génotype et le phénotype sont traitées dans un autre rapport précédemment publié par l'INESSS ([Principes et critères de sélection des gènes pour le diagnostic moléculaire des maladies en génétique constitutionnelle par séquençage de nouvelle génération \[SNG\]](#)) – section 2.3.5.

À l'inverse, comme les panels ciblés ne couvrent que les régions et gènes choisis lors de leur conception, d'autres panels ou tests complémentaires sont alors nécessaires pour parvenir à un diagnostic lorsqu'un résultat négatif est obtenu [Rehder *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020]. De ce fait, dans certaines situations plus complexes ou rares, les

panels ciblés peuvent devenir plus dispendieux qu'une approche pangénomique [HTCC-WSHCA, 2020; GTAC-HQO, 2016; Boycott *et al.*, 2015]. De plus, ils peuvent devenir rapidement obsolètes et leur mise à jour exige la conception de nouvelles sondes ou amorces nécessaires à la capture des cibles d'intérêt ainsi qu'une revalidation analytique complète du panel [Ng *et al.*, 2022].

À noter qu'avec la diminution graduelle des coûts du SNG pangénomique, de plus en plus de laboratoires qui offrent des services cliniques de SNG à travers le monde, qu'ils œuvrent dans le secteur public ou privé, utilisent le WES ou le WGS et les panels *in silico* et *ad hoc* comme approche analytique, au détriment des panels ciblés [NHS directory, 2024; PFMG 2025, 2024; Blackburn *et al.*, 2020]. Cette façon de faire permet notamment d'uniformiser la trajectoire des échantillons, de mettre à jour rapidement et fréquemment les listes de gènes des panels virtuels *in silico* de l'offre de services au fur et à mesure que les connaissances évoluent, et d'adapter les analyses aux maladies rares et complexes [Ng *et al.*, 2022; Shickh *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020].

En bref

Les principaux constats de l'analyse comparative des principales caractéristiques techniques, organisationnelles et économiques du SNG ciblé, du WES et du WGS, issus de la littérature consultée, sont les suivants :

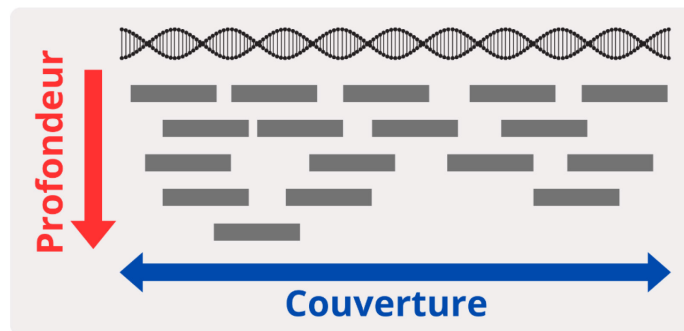
- Le WGS présente un risque de biais de séquençage moindre par rapport au WES et aux panels ciblés puisqu'il ne nécessite généralement pas d'étape de capture ou d'amplification des séquences d'intérêt;
- Le séquençage pangénomique (WES et WGS) est plus polyvalent que le SNG ciblé puisqu'il permet :
 - la mise à jour rapide et fréquente des listes de gènes des panels virtuels *in silico* de l'offre de service d'un laboratoire;
 - la personnalisation de l'analyse génétique en fonction du phénotype du patient à l'aide de panels *ad hoc*, ce qui permet de répondre aux besoins des maladies rares et complexes;
 - la recherche de nouveaux gènes par des analyses exploratoires basées sur le génotype et le phénotype du patient;
 - la réévaluation des cas cliniques au fil du temps en fonction de l'évolution des connaissances ou d'une évolution du phénotype;
 - l'uniformisation de la trajectoire des échantillons.
- Le coût et la quantité massive de données générées font partie des principaux désavantages du WGS.
- Le temps nécessaire à l'analyse étant beaucoup plus court pour les panels ciblés, ceux-ci devraient être favorisés lorsque les indications le permettent.

2.1.2 Comparaison des principales caractéristiques analytiques

2.1.2.1 Profondeur de lecture

La profondeur de lecture, également appelée profondeur de séquençage, décrit le nombre de fois qu'un nucléotide donné du génome a été lu au cours d'une expérience de séquençage ([Figure 1](#)) [HEE-NHS, 2023]. Elle est conventionnellement définie par un nombre suivi d'un « X » (p. ex. 60X) et souvent exprimée sous la forme d'une moyenne [Strom, 2016].

Figure 1 Représentation schématique des concepts de profondeur de lecture et de couverture génomique en séquençage de nouvelle génération



Comme présenté dans le [tableau 3](#), la profondeur moyenne minimale requise en contexte clinique pour l'appel de variants de nucléotide simple (ou VNS, de l'anglais *single nucleotide variant*) est usuellement inférieure pour le WGS, soit environ 30X à 60X contre environ 100X à 150X pour le WES, dépendamment de l'application et du modèle statistique utilisé [Illumina, 2023a; Souche *et al.*, 2022; Koboldt, 2020; Bick *et al.*, 2019; Kong *et al.*, 2018]. Ceci est notamment attribuable au fait que le WGS est une approche non biaisée et qu'il procure une couverture plus uniforme du génome.

Les panels ciblés, en se limitant aux régions et gènes pertinents pour une maladie donnée, peuvent être optimisés pour maximiser la couverture et la profondeur de lecture des régions d'intérêt [Rehder *et al.*, 2021; Bean *et al.*, 2020]. Ils peuvent généralement atteindre une profondeur moyenne de 500X à 1 000X [Ng *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; Koboldt, 2020; Hanquet *et al.*, 2018]. Les panels ciblés sont donc supérieurs aux approches pangénomiques pour la détection des variants actionnables connus pour être associés à un phénotype particulier et pour les variants en mosaïques et les applications en génétique somatique.

Par ailleurs, le WGS réalisé à une profondeur de lecture de 30X à 60X procure une profondeur de lecture du génome mitochondrial de 5 000X à 9 000X permettant la détection de VNS de l'ADN mitochondrial (ADNmt) à une fraction allélique supérieure ou égale à 5 % [Bick *et al.*, 2019]. Le WGS est donc considéré comme une méthode efficace pour le diagnostic moléculaire des troubles de l'ADNmt, y compris ceux pouvant

être associés à l'hétéroplasmie – coexistence de mitochondries normales et mutées au sein d'une même cellule [Bick *et al.*, 2019].

2.1.2.2 Couverture génomique

La couverture, ou étendue de la couverture, décrit la proportion de la séquence ciblée qui est suffisamment couverte au cours d'une expérience de séquençage ([Figure 1](#)). Elle est habituellement rapportée sous forme de pourcentage de bases couvertes par les lectures de séquençage. À titre d'exemple, une couverture de 95 % indique que 95 % des bases de l'échantillon ou de la séquence ciblée ont été séquencées (à la profondeur nX) [Illumina, 2023a; Basepair Support, 2020; Sims *et al.*, 2014].

Comme mentionné précédemment, les panels ciblés sont généralement dessinés pour offrir une couverture optimale des gènes et des régions génomiques d'intérêt pour le diagnostic de maladies spécifiques. Toutefois, certaines régions génomiques sont plus difficiles à séquencer, comme les régions hautement homologues, les régions à teneur élevée et faible en GC (moins de 30 % ou plus de 70 % se présentent souvent dans la région 5', y compris le premier exon), les homopolymères et les répétitions [Bean *et al.*, 2020]. Cela peut conduire à une couverture inadéquate ou incomplète de ces séquences. Dans ce contexte, si des gènes ou des régions d'intérêt pour une maladie ne sont pas bien couverts par SNG, ils doivent être comblés par des technologies orthogonales pour garantir une sensibilité clinique adéquate [Bean *et al.*, 2020].

Selon la littérature consultée, le WGS sans PCR ou capture est moins affecté par le contenu en GC et les régions hautement homologues ou répétitives de l'ADN, et procure donc une couverture plus uniforme du génome [Souche *et al.*, 2022; Bick *et al.*, 2019]. Il permet d'interroger l'ensemble du génome d'un individu, y compris les exons, les introns et autres ADN non codants, tels que les régions régulatrices non exoniques et d'épissage, les microsatellites ainsi que l'ADN mitochondrial [Chung *et al.*, 2023; Ng *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; Hanquet *et al.*, 2018].

En bref

Les principaux constats de l'analyse comparative des caractéristiques analytiques du SNG ciblé, du WES et du WGS, issus de la littérature consultée, sont les suivants :

- Le WGS présente les avantages spécifiques suivants :
 - possibilité d'interroger simultanément l'ensemble du génome nucléaire et du génome mitochondrial;
 - couverture plus complète de l'exome que le WES lui-même;
 - approche moins affectée par le contenu en GC de l'ADN que le WES et les panels ciblés;
 - approche non biaisée qui nécessite généralement une profondeur de lecture moyenne minimale usuellement inférieure à celle du WES pour une utilisation clinique, soit environ 30X à 60X pour le WGS contre environ 100X à 150X pour le WES.

Les panels ciblés, en se limitant aux gènes et régions d'intérêt, peuvent être dessinés pour procurer une couverture optimale et peuvent atteindre une profondeur de lecture moyenne de 500X à 1 000X, ce qui donne une meilleure sensibilité dans la détection et l'appel de certains variants de séquence (VNS et indels), notamment dans le contexte des variants en mosaïque, à condition que les gènes et régions potentiellement en cause soient connus et couverts par le panel.

2.1.3 Comparaison de la sensibilité empirique de détection des différents types de variants

2.1.3.1 Variants nucléotidiques simples (VNS) et courtes insertions et délétions (indels)

De façon générale, les trois techniques ont une capacité similaire de détection des VNS et des indels [Koboldt, 2020].

Certains auteurs soulignent toutefois que la sensibilité analytique du WES pour la détection des VNS et des indels peut parfois être inférieure à celle de certains panels de gènes ciblés pour certaines maladies faiblement hétérogènes, et dont les gènes ou les mutations d'intérêt sont relativement bien connus [Rehder *et al.*, 2021; Wallace et Bean, 2020]. La sensibilité et la spécificité analytiques peuvent entre autres être compromises

par une couverture ou une qualité des séquences⁵ insuffisante pour certaines des régions d'intérêt [Rehder *et al.*, 2021]. Dans ces circonstances, le WES peut théoriquement donner des résultats faux négatifs [Rehder *et al.*, 2021]. À l'opposé, certains faux négatifs engendrés par les panels ciblés peuvent être causés par l'absence d'un ou des gènes associés à la maladie du patient en raison de l'utilisation d'un panel non actualisé ou non adapté au phénotype du patient [Ng *et al.*, 2022].

2.1.3.2 Variants structuraux (VS) et variants du nombre de copies (VNC)

Selon la littérature consultée, le WGS est supérieur au WES et aux panels ciblés pour la détection des variants structuraux et des variants de nombre de copies (VNC). En effet, sa couverture plus uniforme du génome procure une meilleure résolution pour la détection des grands VNC et l'identification des points de cassure qui pourraient se trouver en dehors des exons, en plus de faciliter la classification de ces variants [Guo *et al.*, 2024; Ng *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; Hanquet *et al.*, 2018]. À titre d'exemple, les VNC pathogènes d'un exon unique ou d'un petit exon suivi de grands introns sont souvent manqués par le WES [Guo *et al.*, 2024; Bick *et al.*, 2019; Gambin *et al.*, 2017].

Les panels ciblés peuvent présenter une bonne sensibilité pour la détection de certains VNC qui pourraient se retrouver dans les régions couvertes par le panel, considérant leur grande profondeur de lecture [Koboldt, 2020]. Toutefois, des techniques complémentaires telles que l'hybridation génomique comparative (ou CGH, de l'anglais *comparative genomic hybridization*), l'amplification multiplex de sondes dépendante d'une ligature (ou MLPA, de l'anglais *multiplex ligation-dependent probe amplification*) et le qPCR (de l'anglais *quantitative polymerase chain reaction*) sont généralement utilisées parallèlement au WES et aux panels ciblés pour rechercher ou pour confirmer la présence de VNC [Koboldt, 2020].

Le WGS détecte aussi plus facilement les grands variants structuraux (VS) et certains réarrangements chromosomiques comme les translocations par insertion, les grandes inversions de même que les variants introniques profonds que le WES et les panels ne couvrent pas ou peuvent manquer [Guo *et al.*, 2024; CCMG, 2023; Chung *et al.*, 2023; Ng *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022; Koboldt, 2020; Bick *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018]. De plus, les réarrangements chromosomiques équilibrés (p. ex. les translocations et les inversions balancées), qui sont difficiles à détecter par CMA et WES, peuvent parfois être détectés par WGS [Bick *et al.*, 2019; Hochstenbach *et al.*, 2019].

⁵ Pour plus de détails sur les critères et paramètres analytiques permettant d'évaluer la qualité des séquences obtenues par SNG, le lecteur est invité à se référer aux recommandations de bonnes pratiques publiées par l'INESSS et intitulées [Validation analytique de tests cliniques effectués par séquençage de nouvelle génération \(SNG\) en génétique humaine et en oncologie](#).

2.1.3.3 Phase des variants, perte d'hétérozygotie (LOH) et séquences d'homozygotie contiguës (ROH)

Une paire de variants dans un gène peut apparaître en *cis* (même copie du gène) ou en *trans* (différentes copies du gène). Cette distinction a des conséquences importantes dans l'interprétation de l'effet fonctionnel de ces variants sur le gène [Mattioli *et al.*, 2020]. Il convient de noter que dans les cas impliquant un trouble récessif, le WGS permet de distinguer les variants en *cis* des variants en *trans*, ce qui évite la nécessité de tester d'autres membres de la famille pour établir la phase des variants [Bick *et al.*, 2019; Steininger *et al.*, 2018].

En outre, le WGS présente une dispersion plus faible dans la distribution de la couverture des allèles, ce qui génère une plus grande précision dans l'identification des positions hétérozygotes par rapport au WES et des panels ciblés, et donc une meilleure détection des pertes d'hétérozygotie (ou LOH, de l'anglais *loss of heterozygosity*) [Bick *et al.*, 2019; Lelieveld *et al.*, 2015]. Les séquences d'homozygotie contiguës (ou ROH, de l'anglais *run of homozygosity*) sont relativement bien détectées par le WES et le WGS. Des ROH étendues sur un seul chromosome peuvent suggérer une disomie uniparentale tandis que leur présence sur plusieurs chromosomes peut résulter de la consanguinité [Austin-Tse *et al.*, 2022; Gonzales *et al.*, 2022; Hiz Kurul *et al.*, 2022].

2.1.3.4 Expansions répétées, répétitions courtes en tandem (STR) et microsatellites

Les régions hautement répétitives de l'ADN, comme les répétitions courtes en tandem (ou STR, de l'anglais *short tandem repeat*) et les microsatellites sont généralement plus difficiles à séquencer [Chung *et al.*, 2023; Austin-Tse *et al.*, 2022]. Bien que les panels ciblés puissent être dessinés pour séquencer des STR spécifiques connus d'une maladie [Yu *et al.*, 2019], le SNG ciblé et le WES présentent une moins bonne performance dans le séquençage de ces régions que le WGS [Ng *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; Hanquet *et al.*, 2018].

Les outils et méthodes informatiques capables de détecter des loci STR étendus à partir de données du WGS offrent donc un moyen d'analyser et de signaler les STR cliniquement pertinents. La capacité d'identifier les STR, en plus des VNS et des VNC, améliore le potentiel diagnostique du WGS par rapport au WES et peut réduire le besoin d'analyses supplémentaires dans certaines conditions (p. ex. X fragile, dystrophie myotonique ou ataxie de Friedreich). Cependant, les algorithmes existants présentent des limites en matière de sensibilité et de spécificité. Dans ce contexte, le laboratoire doit fournir des informations sur les loci évalués et les limites de performances par rapport aux tests ciblés pour ces extensions [Austin-Tse *et al.*, 2022].

2.1.3.5 Mosaïcisme et variants de faible fréquence allélique

La détection des variants génétiques en mosaïque ou de faible fréquence allélique nécessitent souvent une profondeur de lecture moyenne plus élevée, soit de plus de 100X [Miller *et al.*, 2020; Cao *et al.*, 2019]. Comme mentionné précédemment, ces

niveaux sont généralement atteints par le WES (100X à 150X) et largement surpassés par les panels ciblés (500X à 1 000X) [Koboldt, 2020]. Comme le WGS demeure généralement trop dispendieux et exige des capacités de stockage importantes pour atteindre ces niveaux de profondeur, il n'est généralement pas considéré dans ces contextes précis [Souche *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; OHTAC-HQO, 2020; Hanquet *et al.*, 2018]. En revanche, les panels de gènes sont plus fréquemment considérés comme la méthode de choix pour cet usage, à condition que les gènes associés aux phénotypes soient connus [Bean *et al.*, 2020; Blackburn *et al.*, 2020; Koboldt, 2020].

À noter que le WGS peut tout de même permettre d'identifier certains cas de mosaïcisme génétique s'ils se situent dans les limites de détection de l'analyse, mais avec moins de profondeur et donc moins de certitude dans l'appel des variants que le WES et les panels de gènes ciblés [Carter *et al.*, 2023; Austin-Tse *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; Bick *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2017].

En bref

Les principaux constats de l'analyse comparative de la sensibilité empirique de détection des variants du SNG ciblé, du WES et du WGS, issus de la littérature consultée, sont les suivants :

- Les trois techniques ont une capacité similaire de détection des variants de nucléotide simple (VNS) et des indels;
- Le WGS est supérieur au WES et aux panels ciblés pour détecter les types de variants suivants :
 - variants structuraux (VS) et grands variants de nombre de copies (VNC), notamment ceux présentant des points de cassure en dehors des exons;
 - variants introniques profonds;
 - variants de l'ADN mitochondrial (ADNmt);
 - expansions de répétitions;
 - pertes d'hétérozygotie (ou LOH, de l'anglais *loss of heterozygosity*).
- Le WGS permet généralement de distinguer les variants en *cis* des variants en *trans*, ce qui évite la nécessité de tester d'autres membres de la famille pour établir la phase des variants;
- Les panels ciblés sont généralement plus efficaces pour détecter les variants de faible fréquence allélique et le mosaïcisme.

2.1.4 Enjeux éthiques

2.1.4.1 Variants de signification incertaine (VSI) et risques associés aux découvertes fortuites

Les variants de signification incertaine (VSI) sont des variations génétiques dont la signification clinique ou l'effet sur la fonctionnalité du gène et de la protéine qu'il encode sont actuellement inconnus. Pour leur part, les découvertes fortuites sont des variants pathogéniques ou probablement pathogéniques causant ou prédisposant à une maladie sans relation avec la pathologie ayant motivé l'examen génétique.

Ces variants présentent des défis en termes de gestion clinique, de conseil génétique et d'impact sur le patient et les membres de sa famille [Blackburn *et al.*, 2020; Hoffman-Andrews, 2017]. En effet, ce type de variant peut contribuer à l'anxiété de certains patients et nécessite habituellement un dépistage auprès des parents ou d'autres membres de la famille [Souche *et al.*, 2022; Blackburn *et al.*, 2020]. Les risques associés aux VSI et aux découvertes fortuites doivent donc être abordés lors du conseil génétique pour permettre au patient (ou aux parents dans les contextes pédiatriques) de prendre une décision éclairée et de consentir ou non à la divulgation de ce type de résultat [Souche *et al.*, 2022; Blackburn *et al.*, 2020].

Le nombre de variants de signification incertaine (VSI) et le risque de découvertes fortuites sont typiquement proportionnels à la taille de la région analysée [Ng *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021; Shickh *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; OHTAC-HQO, 2020; Hanquet *et al.*, 2018]. De ce fait, les analyses pangénomiques, comme le WES et, surtout, le WGS, sont plus susceptibles de générer ces types de résultat, bien que ce risque soit généralement mitigé par l'utilisation de panels *in silico* et *ad hoc* établis en fonction du phénotype du patient ou de filtres des variants basés sur le génotype et le phénotype (voir [section 2.4 Étapes analytiques à suivre lors d'un séquençage pangénomique en contexte clinique](#)) [Carter *et al.*, 2023; CCMG, 2023; Austin-Tse *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022].

Le risque associé aux découvertes fortuites n'est pas un enjeu pour les panels ciblés, puisqu'ils ne couvrent généralement que les gènes connus comme étant associés à une maladie ou à un groupe de maladies, à leurs diagnostics différentiels et que, dans certains cas, ils peuvent inclure certains gènes émergents (c.-à-d. dont les preuves sont sur le point d'être suffisantes pour établir avec certitude une association avec la maladie concernée) [CCMG, 2023; Ng *et al.*, 2022]. Pour plus de détails sur les niveaux de preuve d'association gène-maladie et des gènes à inclure dans un panel, consulter le rapport sur les [Principes et critères de sélection des gènes pour le diagnostic moléculaire des maladies en génétique constitutionnelle par séquençage de nouvelle génération \(SNG\)](#).

En bref

Selon la littérature consultée, les principaux constats de l'analyse comparative des enjeux éthiques potentiellement associés au SNG ciblé, au WES et au WGS sont les suivants :

- Les variants de signification incertaine (VSI) et les découvertes fortuites présentent des défis en termes de gestion clinique, de conseil génétique et d'impact sur le patient et les membres de sa famille;
- Le nombre de VSI et le risque de découvertes fortuites sont typiquement proportionnels à la taille de la région analysée. De ce fait, les analyses pangénomiques sont plus susceptibles de générer ces types de résultat;
- L'utilisation de filtres et de panels *in silico* ou *ad hoc* permet de mitiger les risques associés aux VSI et aux découvertes fortuites dans le contexte du SNG pangénomique;
- Les panels ciblés ne sont pas concernés par le risque de découvertes fortuites, puisque les gènes et les régions génomiques analysés sont spécifiques à une maladie ou à un groupe donné de maladies.

2.2 Rendement diagnostique comparatif des approches par SNG

Selon les ouvrages de synthèse consultés, les approches pangénomiques (WES et WGS) démontrent en général un rendement diagnostique plus élevé que les panels ciblés, notamment lorsque les gènes ou les régions potentiellement en cause sont inconnus ou difficiles à circonscrire [Abul-Husn *et al.*, 2023; Carter *et al.*, 2023; Ng *et al.*, 2022; Nurchis *et al.*, 2022; Shickh *et al.*, 2021; Stefanski *et al.*, 2021; OHTAC-HQO, 2020].

Par ailleurs, plusieurs des documents consultés mentionnent que la capacité supérieure du WGS à détecter certains types de variants lui confère un avantage diagnostique non négligeable par rapport aux WES, surtout s'ils sont comparés individuellement sans test complémentaire comme la CGH, la CMA ou le caryotype [Guo *et al.*, 2024; Abul-Husn *et al.*, 2023; Chung *et al.*, 2023; Ewans *et al.*, 2022; Ng *et al.*, 2022; Nurchis *et al.*, 2022; Shickh *et al.*, 2021; OHTAC-HQO, 2020].

Afin d'apprécier le potentiel gain diagnostique du WGS, quatre publications récentes ayant comparé le rendement diagnostique des approches pangénomiques pour le diagnostic des maladies rares ont été retenues, dont deux revues systématiques avec méta-analyses [Chung *et al.*, 2023; Nurchis *et al.*, 2022] et deux études de cohortes rétrospectives [Guo *et al.*, 2024; Ewans *et al.*, 2022]. Les principaux résultats et constats issus de ces études sont résumés dans les paragraphes suivants. Pour plus de détails,

l'ensemble des données extraites sur le rendement diagnostique est présenté dans le tableau G-1 de l'annexe G du document *Annexes complémentaires*.

2.2.1 Rendement diagnostique comparatif du WGS et du WES selon des méta-analyses

Globalement, le rendement diagnostique du WGS ne diffère pas de manière significative de celui du WES, selon les résultats primaires de deux revues systématiques récentes avec méta-analyses effectuées chez des patients pédiatriques [Nurchis *et al.*, 2022] et/ou adultes atteints de maladies rares [Chung *et al.*, 2023]. La seule exception serait chez les nourrissons avec condition clinique aiguë (*critically/acute ill infants*) pour lesquels le WGS entraîne une légère augmentation significative [RC de 1,54 (IC95 % 1,11 à 2,12)] du rendement diagnostique par rapport à celui du WES [Nurchis *et al.*, 2022]. Ces résultats sont issus d'une méta-analyse en réseau réalisée à l'aide de 3 études contrôlées randomisées incluant 302 cas analysés par WGS et 95 par WES [The NICUSeq Study Group, 2021; Kingsmore *et al.*, 2019; Petrikin *et al.*, 2018]. La qualité des preuves a été jugée élevée et le risque de biais faible, ce qui confère aux résultats une certaine fiabilité [Nurchis *et al.*, 2022].

Selon Chung *et al.* [2023], cette similarité des rendements diagnostiques du WES et du WGS pourrait s'expliquer par l'utilisation clinique beaucoup plus large du WES par rapport au WGS au cours de la dernière décennie, comme le suggère le nombre total d'études répertoriées pour chacune des approches (117 c. 31). De plus, les études recensées présentent une très forte hétérogénéité et les rendements diagnostiques montrent une grande variation qui peut s'expliquer, entre autres, par les différences des critères de sélection des patients, l'année de publication, les règles d'interprétation des variants, les types de variant considérés comme étant un résultat positif, l'analyse concomitante des parents ou d'autres apparentés et l'exhaustivité des analyses effectuées [Guo *et al.*, 2024].

2.2.2 Rendement diagnostique global des approches pangénomiques selon des méta-analyses

Selon des analyses réalisées dans des sous-populations, de façon générale, le rendement diagnostique des approches pangénomiques (WES et/ou WGS) est significativement plus élevé dans les populations pédiatriques, soit chez les nourrissons ($p < 0,001$) et les enfants ($p < 0,001$), que dans les populations adultes, avec un rapport de cotes (RC) de 1,6 (IC95 % de 1,22 à 2,10) selon les résultats de 10 études avec comparaisons intracohortes de ces populations [Chung *et al.*, 2023]. Le rendement diagnostique serait également plus élevé dans les études avec indications neurologiques, sans différence significative entre le WES et le WGS [Chung *et al.*, 2023].

Il est à noter que selon certaines analyses de sous-groupes, le WGS aurait une utilité clinique – définie comme un changement de la prise en charge du patient⁶ – significativement supérieure à celle du WES ($p < 0,01$), surtout chez les nourrissons ($p = 0,04$) [Chung *et al.*, 2023]. Ceci pourrait notamment s'expliquer par son utilisation plus fréquente dans cette population et le fait qu'il s'agit généralement de cas aigus (p. ex. soins intensifs néonataux).

2.2.3 Rendement diagnostique comparatif du WGS et du WES selon des études primaires de réanalyse de cas non diagnostiqués

Le gain diagnostique potentiel du WGS est mieux appuyé par des études de réanalyses de cas cliniques pour lesquels le WES n'avait alors pas permis d'établir un diagnostic définitif [Guo *et al.*, 2024; Ewans *et al.*, 2022]. Guo *et al.* [2024] ont récemment publié de telles données issues de 56 cas référés pour un WGS depuis 2017 et ayant préalablement obtenu un résultat négatif par WES. De ceux-ci, 29 (52 %) ont été résolus par une réanalyse des données du WES tandis que 27 (48 %) ont été résolus par WGS en raison de sa capacité à détecter certains variants. Parmi ces variants se trouvaient 13 VNC, 2 expansions répétées, 10 variants introniques profonds et 2 variants de l'ADN mitochondrial non inclus dans la capture du WES. Le WGS aurait également révélé une étiologie génétique supplémentaire dans 7 % des cas ayant déjà obtenu, par WES, un diagnostic n'expliquant pas entièrement la maladie du patient. Globalement, la supériorité technique du WGS aurait donné un rendement diagnostique additionnel de 8,6 % par rapport au WES [Guo *et al.*, 2024]. Des résultats similaires recueillis auprès de 38 familles suspectées d'un désordre mendélien et pour lesquelles le WES était négatif ont été publiés par Ewans *et al.* [2022]. Une réanalyse des données du WES, obtenues 2 ans auparavant, aurait finalement permis d'établir un diagnostic chez 18 % (7/38) des cas contre 34 % (13/38) pour le WGS effectué en seconde intention, ce qui correspondant à un rendement diagnostique supplémentaire spécifique au WGS de 19 % (6/31) [Ewans *et al.*, 2022].

2.2.4 Coup d'œil sur le séquençage à lectures longues (*long reads*)

Le séquençage à lectures longues (*long reads*) est une méthode émergente de SNG qui génère des fragments d'ADN considérablement plus longs que ceux obtenus par les techniques traditionnelles de SNG dites à lectures courtes (*short reads*).

En séquençant des milliers de bases en continu, les technologies *long reads* permettent de résoudre des régions génomiques complexes, d'améliorer la cartographie des gènes difficilement accessibles en raison de leur variabilité ou de leur répétitivité, d'identifier les allèles cohérités et les haplotypes, de favoriser l'identification des isoformes de

⁶ L'utilité clinique est définie par Chung *et al.* [2023] comme le pourcentage d'individus pour lesquels des changements de la prise en charge clinique ont été observés à la suite d'un diagnostic par WES ou WGS. Ceux-ci comprennent, sans s'y limiter, la surveillance, l'orientation vers des spécialistes, l'hospitalisation et l'indication ou la contre-indication d'investigations, de procédures, de chirurgies et de médicaments. Le conseil génétique et la planification familiale n'ont pas été inclus dans l'utilité clinique, car ils sont censés s'appliquer à tous les types de test de diagnostic génétique [Chung *et al.*, 2023].

transcription et d'améliorer la définition et l'assemblage *de novo* des génomes [Illumina, 2024; Amarasinghe *et al.*, 2020].

Selon les savoirs expérimentaux, cette technologie pourrait être utilisée pour reséquencer les cas pour lesquels le WGS à lectures courtes n'aurait pas permis d'établir un diagnostic définitif.

En bref

Les principaux constats de l'analyse comparative du rendement diagnostique du SNG ciblé, du WES et du WGS, issus de la littérature consultée, sont les suivants :

- Les approches pangénomiques (WES et WGS) démontrent en général un rendement diagnostique plus élevé que les panels ciblés, notamment lorsque le phénotype est complexe et que les gènes potentiellement causals sont difficiles à circonscrire;
- Selon les analyses de sous-groupe de méta-analyses récentes, de façon générale, le rendement diagnostique des approches pangénomiques (WES et/ou WGS) est significativement plus élevé dans les populations pédiatriques, que dans les populations adultes. Le rendement diagnostique serait également plus élevé dans les études avec indications neurologiques.
- Globalement, le rendement diagnostique du WGS ne diffère pas de manière significative de celui du WES, selon des méta-analyses récentes, sauf chez les nourrissons avec condition clinique aiguë.
- Le gain diagnostique potentiel du WGS est mieux appuyé par des études de réanalyses de cas cliniques pour lesquels le WES n'a pas permis d'établir un diagnostic définitif. Un rendement diagnostique additionnel spécifique au WGS de 8,6 % à 19 % a été rapporté dans 2 études récentes. Parmi les variants uniquement détectés par WGS se trouvent des VNC, des expansions répétées, des variants introniques profonds et des variants de l'ADNmt non inclus dans la capture du WES.

2.3 Critères et principes balisant le recours au séquençage pangénomique par rapport au séquençage ciblé

2.3.1 Principaux critères et principes de l'utilisation du SNG d'un nombre limité de gènes (panel ciblé)

Six des publications retenues proposent des critères ou des principes définissant les contextes dans lesquels il est recommandé de faire un séquençage ciblé d'un nombre limité de gènes [Carter *et al.*, 2023; CCMG, 2023; GRC-AHS, 2023; Rehder *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; Boycott *et al.*, 2015]. Ils sont présentés dans le [tableau 4](#) et divisés en fonction des dimensions clinique et économique.

Tableau 4 Sommaire des indications d'utilisation des panels ciblés en fonction des sociétés savantes et instances gouvernementales consultées

Indications pour l'utilisation des panels de gènes ciblés	Société savante ou instance gouvernementale, pays			
	ACMG États-Unis	AHS, Canada	NHS, Écosse	CCMG, Canada
Considérations cliniques				
Phénotype clair et hautement spécifique	X	X	X	X
Hétérogénéité phénotypique faible à modérée, avec des gènes causals faciles à circonscrire	X	X	X	X
Hétérogénéité génétique faible à modérée	X		X	X
Suspicion d'un mosaïcisme génétique	X		X	
Considérations économiques				
Phénotype qui semble appartenir à une seule catégorie clinique pour laquelle un panel phénotypique plus rentable que le WES est disponible	X	X		X

Sigles et abréviations : ACMG : American College of Medical Genetics [Rehder *et al.*, 2021]; AHS : Alberta Health Services [GRC-AHS, 2023]; CCMG : Canadian College of Medical Geneticists [Carter *et al.*, 2023; CCMG, 2023; Boycott *et al.*, 2015]; GRC : Genetic resource center; NHS : National Health Services [Blackburn *et al.*, 2020]; SNG : Séquençage de nouvelle génération.

Selon la littérature consultée, l'utilisation des panels ciblés est conseillée lorsque le phénotype est clair et hautement spécifique, avec des gènes causals faciles à circonscrire, ou en cas d'hétérogénéité phénotypique et génétique faible à modérée [CCMG, 2023; GRC-AHS, 2023; Rehder *et al.*, 2021; Boycott *et al.*, 2015]. Dans ces contextes, lorsqu'il est disponible, le panel multigénique ciblé est généralement plus rapide et plus rentable du point de vue économique, en plus d'offrir une couverture optimale des gènes et des régions d'intérêt clinique [GRC-AHS, 2023].

Par ailleurs, l'ACMG et le NHS soulignent également que le séquençage ciblé peut être particulièrement utile dans les cas de mosaïcisme génétique (p. ex. troubles dus à des variations post-zygotiques), à cause de sa profondeur de lecture plus élevée à moindre coût, toujours à la condition que le phénotype soit clair et que les gènes potentiellement en cause soient couverts par le panel [Blackburn *et al.*, 2020; Rehm *et al.*, 2013].

En bref

Selon la littérature scientifique et les principales sociétés savantes consultées, il est généralement recommandé de procéder au séquençage ciblé d'un nombre limité de gènes dans les contextes suivants :

- phénotype hautement spécifique et clair;
- gènes potentiellement causals faciles à circonscrire;
- hétérogénéité phénotypique ou génétique faible à modérée;
- phénotype qui semble appartenir à une seule catégorie clinique pour laquelle un panel phénotypique plus rentable que le WES est disponible;
- mosaïcisme génétique suspecté (p. ex., troubles dus à des variations post-zygotiques).

2.3.2 Principaux critères et principes d'utilisation du SNG pangénomique

Douze des publications retenues proposent des critères ou des principes définissant les contextes dans lesquels il est approprié de considérer le séquençage pangénomique (WGS, WES) ([tableau 5](#)) [Carter *et al.*, 2023; CCMG, 2023; Rehder *et al.*, 2021; Shickh *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; HTCC-WSHCA, 2020; OHTAC-HQO, 2020; Bick *et al.*, 2019; Whitehead *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018; GTAC-HQO, 2016; Boycott *et al.*, 2015]. Ils sont présentés dans le [tableau 5](#) en fonction des dimensions clinique, organisationnelle et économique, et plus amplement discutés dans les prochains paragraphes.

Six des documents sélectionnés mentionnent des contre-indications ou des cas d'exclusion concernant l'utilisation du séquençage pangénomique [Carter *et al.*, 2023; CCMG, 2023; GRC-AHS, 2023; HTCC-WSHCA, 2020; GTAC-HQO, 2016; Boycott *et al.*, 2015]. Le tableau sommaire des cas d'exclusion et des contre-indications est présenté dans le tableau F-1 et F-2 de l'annexe F du document *Annexes complémentaires*. Ces points sont toutefois discutés dans les sections suivantes.

Tableau 5 Sommaire des indications pour lesquelles une approche par SNG pangénomique (WGS/WES) devrait être considérée

Indication pour le SNG pangénomique	Publication, société savante et instance gouvernementale consultée, pays								
	Revue systématique	Lignes directrices et recommandations						Revue rapide	
	[Shickh <i>et al.</i> , 2021] Canada	ACMG États-Unis	AHS Canada	WSHCA États-Unis	KCE Belgique	HQO Canada	CCMG Canada	NHS, Écosse	[Bick <i>et al.</i> , 2019] États-Unis
Critères cliniques et populationnels									
Phénotype rare et non spécifique		X		X	X	X	X	X	X
Phénotype atypique	X	X		X		X	X		X
▪ Évolution clinique inattendue, progressive ou atypique de la maladie, qui ne peut être expliquée par une autre cause	x	x	x	x		x	x		x
▪ Signes ou symptômes supplémentaires non expliqués par un diagnostic moléculaire précédent						x			x
▪ Apparition précoce de la maladie		x		x			x		x
Phénotype complexe	X	X	X	X	X	X	X		X
▪ Suspicion de multiples maladies génétiques	x	x		x	x	x	x		x
▪ Implication multisystémique i			x	x		x			
Hétérogénéité phénotypique						X			
▪ ≥ 2 diagnostics différentiels			x			x			
Hétérogénéité génétique modérée à élevée	X	X		X	X	X	X	X	X
▪ Déficience intellectuelle			X ⁱⁱ	x	x	x	x ⁱⁱⁱ	x	
▪ Troubles neurodéveloppementaux	x	x	x	x	x	x	x ^{iv}	x	
▪ Myopathie		x ^v		x	x			x	
▪ Épilepsie vi	x			x	x		x	x	
▪ Maladie cardiovasculaire héréditaire vii					x		x	x	
▪ Rétinite pigmentaire							x		
▪ Immunodéficiences primaires								x	
▪ Malformations			x	x			x	x	
▪ Troubles neurodégénératifs (p. ex. ataxie cérébelleuse)		x					x	x	
▪ Troubles métaboliques		x		x				x	
▪ Troubles auditifs chez l'enfant viii								x	
▪ Prédispositions génétiques au cancer				x	x			x	

Indication pour le SNG pangénomique	Publication, société savante et instance gouvernementale consultée, pays								
	Revue systématique	Lignes directrices et recommandations						Revue rapide	
	[Shickh <i>et al.</i> , 2021] Canada	ACMG États-Unis	AHS Canada	WSHCA États-Unis	KCE Belgique	HQO Canada	CCMG Canada	NHS, Écosse	[Bick <i>et al.</i> , 2019] États-Unis
Maladie génétique pour laquelle un test monogénique ou un panel ciblé s'est révélé négatif		X	X		X		X		X
Critères organisationnels et économiques									
Lorsque des tests séquentiels pourraient entraîner des retards thérapeutiques		X							
Aucun panel ciblé ou adapté à la maladie n'est disponible		X		X			X		
Lorsque l'approche pangénomique est plus rentable (moins coûteuse) que les tests individuels ou les panels de gènes ciblés disponibles						X	X		

Sigles et abréviations : ACMG : American College of Medical Genetics [Rehder *et al.*, 2021]; AHS : Alberta Health Services [GRC-AHS, 2023]; CCMG : Canadian College of Medical Genetics [Carter *et al.*, 2023; CCMG, 2023; Boycott *et al.*, 2015]; GRC : Genetic resource center; GTAC : Genetic Testing Advisory Committee; HQO : Health Quality Ontario [OHTAC-HQO, 2020; GTAC-HQO, 2016]; HTCC : Health Technology Clinical Committee; KCE : Centre fédéral d'expertise des soins de santé [Hanquet *et al.*, 2018]; NHS : National Health Services [NHS directory, 2024; Blackburn *et al.*, 2020]; SNG : Séquençage de nouvelle génération; VNC : Variant du nombre de copies; VS : Variants structuraux; VSI : Variant de signification incertaine; WES : Séquençage de l'exome complet (de l'anglais *whole exome sequencing*); WGS : Séquençage du génome complet (de l'anglais *whole genome sequencing*); WSHCA : Washington State Health Care Authority [HTCC-WSHCA, 2020].

- i Le HQO recommande aussi le WES en tant que test de deuxième intention (c'est-à-dire lorsque la recherche de VNC par CMA n'aboutit à aucun diagnostic) pour les personnes présentant des troubles inexplicables du développement ou des anomalies congénitales multiples [OHTAC-HQO, 2020].
- ii Déficience développementale ou fonctionnelle modérée à sévère [GRC-AHS, 2023].
- iii Après CMA et WES. Le WGS permettrait d'identifier des VS et VNC *de novo* [Carter *et al.*, 2023].
- iv Le WES est recommandé comme test de deuxième intention pour les patients atteints de troubles neurodéveloppementaux ou de déficience intellectuelle. Les tests génétiques ne sont pas recommandés aux patients atteints de troubles neurodéveloppementaux en l'absence de retard global du développement, de déficience intellectuelle ou de trouble du spectre de l'autisme, à moins qu'ils ne soient accompagnés de caractéristiques cliniques évoquant une étiologie syndromique ou une maladie métabolique héréditaire [Carter *et al.*, 2023]. Lorsque le WGS deviendra un test clinique largement disponible, il devrait remplacer les tests du X fragile, la CMA et le WES en tant que test unique de choix pour les troubles neurodéveloppementaux [Carter *et al.*, 2023].
- v Avec la possibilité d'utiliser un panel *in silico* pour diminuer le nombre de VSI [Rehder *et al.*, 2021].
- vi Le NICE (National Institute for Health and Care Excellence) envisage le WGS pour les personnes atteintes d'épilepsie de cause inconnue qui sont âgées de moins de 2 ans lorsque l'épilepsie a débuté ou qui présentent des caractéristiques cliniques évocatrices d'un syndrome épileptique génétique spécifique (p. ex. syndrome de Dravet), ou qui présentent des caractéristiques cliniques supplémentaires comme un trouble de l'apprentissage, un trouble du spectre de l'autisme, une anomalie structurelle (p. ex. un dimorphisme ou une malformation congénitale), un déclin cognitif ou de la mémoire inexplicable [NICE, 2022].
- vii Dans ce contexte, l'identification de la mutation génétique a des implications importantes sur la prise en charge des patients et, dans ce scénario, un test par panel multigénique ciblé centré sur le cœur ou une approche par WES/WGS à couverture complète (*comprehensive coverage*) peut être le meilleur des choix [Boycott *et al.*, 2015].
- viii Le MSAC (Medical Services Advisory Committee) recommande le WES à cette fin [MSAC, 2022].

2.3.2.1 Dimension clinique et populationnelle

Selon les publications et les sociétés savantes consultées, le SNG pangénomique est généralement recommandé dans le contexte d'un phénotype rare et non spécifique, atypique ou complexe [Carter *et al.*, 2023; CCMG, 2023; GRC-AHS, 2023; Rehder *et al.*, 2021; Shickh *et al.*, 2021; Blackburn *et al.*, 2020; HTCC-WSHCA, 2020; OHTAC-HQO, 2020; Bick *et al.*, 2019; Whitehead *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018; GTAC-HQO, 2016; Boycott *et al.*, 2015]. À titre d'exemple, le CCMG précise que le séquençage pangénomique devrait être envisagé dans l'investigation d'un individu affecté, lorsque son phénotype ou ses antécédents familiaux suggèrent une étiologie monogénique dont la ou les mutations causales sont inconnues [Carter *et al.*, 2023; Boycott *et al.*, 2015].

Il est aussi préconisé en cas d'observation d'une hétérogénéité phénotypique et génétique modérée à élevée [GRC-AHS, 2023; Rehder *et al.*, 2021; Shickh *et al.*, 2021; Bick *et al.*, 2019; Whitehead *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018; GTAC-HQO, 2016; Boycott *et al.*, 2015]. L'apparition précoce de la maladie, des signes ou symptômes supplémentaires non expliqués par un diagnostic précédemment obtenu ou encore une implication multisystémique peuvent aussi justifier le recours au séquençage pangénomique, selon plusieurs des sociétés savantes consultées [CCMG, 2023; GRC-AHS, 2023; Bick *et al.*, 2019; Whitehead *et al.*, 2019; GTAC-HQO, 2016].

Parmi les maladies le plus fréquemment investiguées par séquençage pangénomique, selon la littérature sélectionnée, figurent, entre autres, les troubles neurodéveloppementaux (p. ex. déficience intellectuelle, développementale ou fonctionnelle modérée à sévère), certains troubles neurodégénératifs, métaboliques ou mitochondriaux et les anomalies congénitales non spécifiques [Carter *et al.*, 2023; GRC-AHS, 2023; Shickh *et al.*, 2021; HTCC-WSHCA, 2020; Whitehead *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018; GTAC-HQO, 2016; Boycott *et al.*, 2015]. Par ailleurs, le NHS a récemment mis à jour son répertoire des tests pangénomiques couverts par le système public, lequel contient actuellement près de 100 indications différentes essentiellement associées aux troubles cités plus haut [NHS directory, 2024]. La liste exhaustive de juin 2023 est présentée en annexe H dans le tableau H-1 du document *Annexes complémentaires*.

À noter que les lignes directrices de l' AHL, du WSHCA, du HQO et du CCMG précisent toutefois que le séquençage pangénomique ne devrait pas être utilisé dans les cas d'une déficience intellectuelle légère isolée ou d'un trouble d'apprentissage, d'autisme non syndromique, d'un trouble neurocomportemental isolé (p. ex. trouble déficitaire de l'attention) ou d'une maladie neuropsychiatrique isolée (p. ex. schizophrénie, syndrome de la Tourette) [Carter *et al.*, 2023; GRC-AHS, 2023; GTAC-HQO, 2016; Boycott *et al.*, 2015]. D'autres exemples de contre-indications au séquençage pangénomique, selon les sociétés savantes consultées, sont listés dans le tableau I-1 de l'annexe I du document *Annexes complémentaires*.

2.3.2.2 Dimension organisationnelle et économique de l'utilisation du SNG pangénomique

Certaines sociétés savantes recommandent l'approche pangénomique lorsqu'aucun test génétique correspondant au phénotype du patient n'est disponible, en cas de suspicion de plusieurs troubles génétiques chez un même patient ou en présence d'une maladie présentant au moins deux diagnostics différentiels suggérant l'intérêt de l'analyse de plusieurs panels de gènes [CCMG, 2023; Rehder *et al.*, 2021; Shickh *et al.*, 2021; OHTAC-HQO, 2020; Bick *et al.*, 2019; Whitehead *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018; Boycott *et al.*, 2015]. Par ailleurs, certaines des publications retenues suggèrent d'envisager le séquençage pangénomique lorsque des tests séquentiels pourraient entraîner des retards thérapeutiques [Rehder *et al.*, 2021]. Dans le cas où un test monogénique ou un panel ciblé s'est avéré négatif, il est aussi parfois conseillé de recourir au séquençage pangénomique [GRC-AHS, 2023; HTCC-WSHCA, 2020; Bick *et al.*, 2019; Hanquet *et al.*, 2018; Boycott *et al.*, 2015].

Le WSHCA et le HQO proposent également l'approche pangénomique lorsqu'elle est plus rentable (moins coûteuse) que les tests individuels ou les panels de gènes ciblés disponibles [HTCC-WSHCA, 2020; GTAC-HQO, 2016].

En bref

Selon la littérature scientifique et les principales sociétés savantes consultées, il peut être recommandé de faire un séquençage pangénomique dans les contextes suivants :

- phénotype rare ou non spécifique pour lequel aucun test adapté n'est disponible;
- phénotype atypique (p. ex. apparition précoce, évolution clinique inattendue);
- phénotype complexe ou implication multisystémique;
- hétérogénéité génétique ou phénotypique modérée à élevée;
- présence d'au moins deux diagnostics différentiels;
- nécessité de plusieurs tests séquentiels et retards thérapeutiques envisagés;
- coût du séquençage pangénomique plus faible que les autres options diagnostiques disponibles.

2.4 Étapes analytiques à suivre lors d'un séquençage pangénomique en contexte clinique

Trois des lignes directrices et des sociétés savantes consultées proposent des stratégies analytiques lors de l'utilisation du séquençage pangénomique en contexte clinique [Austin-Tse *et al.*, 2022; Souche *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021].

Selon l'ESHG et l'EuroGentest, il est de bonne pratique d'analyser initialement et de préférence un ou plusieurs panels de gènes *in silico* validés ou *ad hoc* [Souche *et al.*, 2022]. Il est aussi généralement recommandé de rechercher uniquement les variants pathogènes dans les gènes associés au phénotype du patient [Souche *et al.*, 2022]. Toutefois, lorsqu'aucun panel virtuel (*in silico*) de gènes ne semble adapté à la présentation clinique du patient, ou que les résultats des panels virtuels *ad hoc* sont négatifs, l'exome ou le génome entier pourrait, dans certaines conditions et sur avis du généticien, être analysé [Souche *et al.*, 2022]. Cette approche exploratoire constitue une façon de faire avancer les connaissances et est similaire à un contexte de recherche [Souche *et al.*, 2022].

Néanmoins, il est généralement préférable de ne pas analyser immédiatement l'ensemble de l'exome ou du génome, mais de limiter l'analyse à tous les gènes dont il est prouvé qu'ils sont à l'origine d'un trouble monogénique, et qui sont validés pour le diagnostic clinique. Ces gènes sont appelés « exome clinique », « clinome » ou « mendéliome » [Souche *et al.*, 2022]. Par la suite, l'analyse de l'exome entier et, finalement, du génome entier pourrait être considérée en cas de résultats négatifs.

Cette approche d'ouverture progressive des analyses, aussi appelée analyse de type « entonnoir », limite les découvertes fortuites et secondaires et minimise les variants de signification incertaine (VSI) [Souche *et al.*, 2022; Rehder *et al.*, 2021].

À titre d'exemple, en France, la Filière nationale des maladies rares neuromusculaires (FILNEMUS) a établi et publié une telle stratégie d'analyse des résultats de SNG pangénomique dans le contexte des myopathies [Krahn *et al.*, 2019]. Cette stratégie nationale consiste tout d'abord en l'analyse d'une « liste de gènes de base » suivie, en cas de résultat négatif, de l'analyse d'une « liste de gènes exhaustive ». Si un résultat négatif est obtenu après ces deux stratégies, la FILNEMUS propose l'utilisation de tests complémentaires ou de stratégies plus élargies telles que les panels *in silico* larges, le mendéliome, le WES et le WGS, de même que le recours éventuel à la recherche, le tout en fonction des données cliniques, des connaissances sur les spectres mutationnels des gènes et d'une revue de la littérature disponible [Krahn *et al.*, 2019]. La détermination initiale de l'évaluation clinique et phénotypique du patient est un point clé de cette stratégie, afin d'optimiser le dépistage des gènes les plus pertinents.

À noter que dans le contexte d'analyses pangénomiques qui iraient au-delà des panels de gènes *in silico* validés pour un phénotype particulier, une attention particulière doit être portée aux critères d'interprétation et de divulgation des variants, car ceux-ci sont dépendants du niveau de preuve de l'association du variant et du gène avec la maladie à

l'étude. Ce point est plus amplement discuté dans l'état des connaissances intitulé [Principes et critères de sélection des gènes pour le diagnostic moléculaire des maladies en génétique constitutionnelle par séquençage de nouvelle génération \(SNG\) – Rapport en soutien aux travaux du RQDM](#) publié par l'INESSS. Ce rapport aborde également les stratégies de filtrage des variants axées sur le génotype et le phénotype dans le contexte du SNG pangénomique afin d'obtenir un équilibre entre maximiser la sensibilité du test et réduire le nombre de variants qui nécessiteront une analyse approfondie [INESSS, 2023].

En bref

Selon certaines sociétés savantes, l'analyse d'un SNG pangénomique devrait être effectuée selon une approche de type « entonnoir » ou en ouverture progressive – c.-à-d. par l'analyse de panels de gènes *in silico* validés ou *ad hoc* en fonction du phénotype, suivie par l'analyse du mendéliome, de l'exome puis du génome si aucun diagnostic moléculaire n'est posé lors de l'étape précédente.

Dans les contextes cliniques pour lesquels l'analyse du mendéliome, du WES ou du WGS est jugée appropriée, des stratégies de filtrage et de priorisation des variants basées sur le génotype et le phénotype devraient être appliquées afin de maximiser la sensibilité et de réduire le nombre de variants qui nécessiteront une analyse approfondie.

Une attention particulière doit être portée aux critères établis de divulgation des variants selon le niveau de preuve d'association du gène avec le phénotype observé.

3 RÉSULTATS – DIMENSION ÉCONOMIQUE

La dimension économique dans le cadre de cette évaluation repose sur une revue rapide de la littérature, sur une analyse des coûts des différentes approches par SNG ainsi que sur une analyse d'impact budgétaire de l'utilisation du WGS par rapport à celle du WES en génétique constitutionnelle. Une analyse critique des études économiques relevées, notamment quant à la transférabilité des résultats au contexte québécois, a été réalisée. Il est à noter qu'étant donné le mandat reçu du MSSS, aucune modélisation de l'efficacité n'a été effectuée par l'INESSS. Enfin, une lecture des différents enjeux qui pourraient avoir une incidence sur la portée des conclusions formulées sur la dimension économique est également présentée.

3.1 Revue de la documentation scientifique

3.1.1 Description des études retenues

La revue de la littérature a permis de sélectionner quatre études pertinentes ayant évalué l'efficacité en comparant au moins deux des trois approches évaluées, soit le SNG ciblé, le WES et le WGS [Avram *et al.*, 2022; Lavelle *et al.*, 2022; OHTAC-HQO, 2020; Schofield *et al.*, 2017]. Ces études ciblaient plusieurs troubles tels que les maladies musculaires pédiatriques, l'épanchement fœtal et l'anasarque fœto-placentaire non immune, les troubles du développement inexplicables, les anomalies congénitales multiples ainsi que les maladies rares non diagnostiquées. Deux ont évalué l'efficacité du WES comparativement au séquençage par panels ciblés [Avram *et al.*, 2022; Schofield *et al.*, 2017]. Les deux autres études ont évalué l'efficacité du WES comparativement au WGS [Lavelle *et al.*, 2022; OHTAC-HQO, 2020]. Deux études ont évalué l'efficacité chez la population pédiatrique, une seule incluait à la fois des enfants et des adultes [HQO, 2020] et une concernait le contexte prénatal [Avram *et al.*, 2022]. Une étude provient du Canada (Ontario) [OHTAC-HQO, 2020], deux, des États-Unis [Lavelle *et al.*, 2022; Avram *et al.*, 2022] et une, de l'Australie [Schofield *et al.*, 2017]. Deux sont des analyses coût-efficacité [OHTAC-HQO, 2020; Schofield *et al.*, 2017] et deux, des analyses coût-utilité [Avram *et al.*, 2022; Lavelle *et al.*, 2022], dont l'une est réalisée selon la perspective du payeur de soins et l'autre, selon la perspective sociétale. Ces études ont utilisé un modèle décisionnel analytique hybride (à la fois un arbre décisionnel et un modèle de Markov). Les principales caractéristiques et les résultats des études retenues sont présentés dans l'annexe J du document *Annexes complémentaires*. L'évaluation de leur qualité méthodologique est présentée dans l'annexe K du document *Annexes complémentaires*.

3.1.2 Résultats des études

L'analyse des études économiques retenues suggère qu'en génétique constitutionnelle, le WES serait globalement efficace comparativement au séquençage par panels ciblés ou au WGS. Les résultats des deux études comparant le WES au séquençage par

panels ciblés [Avram *et al.*, 2022; Schofield *et al.*, 2017] montrent que l'efficience du WES est variable. Selon Schofield *et al.* [2017], en cas de maladies musculaires pédiatriques, le WES coûte plus cher que le séquençage par panels ciblés (340 317 \$ AUS contre 213 247 \$ AUS) et augmente le rendement diagnostique de 4 % (de 75 % à 79 %), ce qui correspond à un ratio coût-efficacité incrémental (RCEI) de 63 535 AUD, soit 63 358 \$ (transposés en dollars canadiens de 2023⁷) par diagnostic additionnel. Selon Avram *et al.* [2022], le WES domine (coûte moins cher et est plus efficace) le séquençage par panels ciblés dans le contexte du diagnostic prénatal de l'épanchement fœtal et de l'anasarque fœto-placentaire non immune. Quant aux résultats des deux études comparant le WES à celui du WGS [Lavelle *et al.*, 2022; OHTAC-HQO, 2020], ceux-ci montrent que le WES domine le WGS. Cependant, selon Lavelle *et al.* [2022], comparativement au WES, le WGS serait efficient chez les enfants de moins de 1 an atteints de maladies rares non diagnostiquées. Le RCUI varierait de dominant à 16 746 USD/QALY gagné, soit 23 873 \$/QALY (transposés en dollars canadiens de 2023) aux seuils généralement observés de 50 000 \$ ou 100 000 \$/QALY gagné.

Bien que seulement 2 des 4 études retenues aient réalisé des analyses de sensibilité probabilistes, les résultats de celles-ci sont demeurés robustes et se sont maintenus dans le sens de celles de base lorsque les paramètres et les hypothèses clés (coûts, rendements diagnostiques, prévalence des maladies) ont été modifiés [Avram *et al.*, 2022; Lavelle *et al.*, 2022].

3.1.3 Limites et faiblesse des études

Même si la qualité des études retenues a été jugée globalement bonne, leur limite principale concerne la validité externe, c'est-à-dire la généralisation et la transférabilité des résultats au contexte clinique québécois (annexe K du document *Annexes complémentaires*). En effet, certains paramètres importants ainsi que des coûts associés aux tests, au diagnostic, à la prise en charge à la suite d'un diagnostic positif ainsi qu'au suivi, qui varient tous de façon significative d'un système de santé à l'autre, pourraient être différents de ceux du contexte québécois.

3.2 Coûts des approches de SNG ciblés et pangénomiques au Québec

Plusieurs analyses de SNG par panels ciblés ou par panels virtuels réalisées à partir des données de séquençage pangénomique sont envoyées hors Québec. En 2019-2020, le coût moyen par SNG ciblé s'élevait à 1 245 \$ (variant de 313 \$ à 1300 \$). Le nombre moyen de gènes par analyse était de 80 (entre 1 et 351).

⁷ Les ratios coût-efficacité ou coût-utilité incrémentaux ont été convertis en dollars canadiens de 2023 selon la parité du pouvoir d'achat par l'outil de conversion de l'OCDE (OCDE [2023], Parités de pouvoir d'achat [PPA] [indicateur]. doi: 10.1787/c0bc06ba-fr [Consulté le 25 octobre 2023]) et ajusté à l'inflation selon la feuille de calcul de l'inflation de la Banque du Canada (<https://www.banqueducanada.ca/taux/renseignements-complementaires/feuille-de-calcul-de-linflation/>).

Actuellement, certaines analyses par panels ciblés qui sont inscrites au *Répertoire* sont réalisées ou sont en cours de développement et de rapatriement au Québec. Leur coût varie de 296 \$ à 1 108 \$ ([tableau 6](#)).

Tableau 6 Coûts des panels ciblés par SNG inscrits au *Répertoire*

Code (Gènes, n)*	Description de l'analyse	Valeur pondérée
55039 55042 (445 gènes)	Séquençage ciblé de gènes associés aux cardiomyopathies/arythmies/aortopathies héréditaires (cardiogénétique) (core panel) (SNG) (technique et interprétation)	865 (VP technique) 243 (VP interpretation)
55041 (445 gènes)	Séquençage ciblé de gènes associés à l'hypercholestérolémie familiale, hyperchylomicronémie familiale, hyperalphalipoprotéïnémie familiale et sitostérolémie (dyslipidémies familiales) (SNG)	842
55081 (1 gène)	Amyloïdose cardiaque héréditaire; TTR (séquençage, régions codantes complètes)	207
55132 (8 gènes)	Acidémie méthylmalonique avec homocystinurie; MMACHC, LMBR1D (séquençage)	218
55174 (2 gènes)	Charcot-Marie-Tooth lié à l'X type 1 (CMTX1); GJB1 (séquençage, régions codantes complètes)	235
55171 (18 gènes)	Cancer du sein, cancer de l'ovaire, héréditaire; BRCA1 et BRCA2 – recherche de mutations (SNG)	548
55221 (6 gènes)	Fibrose kystique (FK); CFTR (SNG)	296
55266 (3,5 gènes)	Phénylcétonurie (PCU); PAH (SNG)	880
55356 (10 gènes)	Séquençage des gènes SOD1, FUS et TARDBP (SNG)	378
55365 (18 gènes)	Séquençage des gènes liés au syndrome de Noonan/RASopathie (prénatal et postnatal) (SNG)	509
55374 (31 gènes)	Panel des cancers héréditaires pour les tumeurs solides (core panel) (SNG) (technique et interprétation)	566

* Pour les panels ciblés comportant moins de 10 gènes, une équivalence de nombre de gènes a été calculée en se basant sur une longueur médiane de 26 000 paires de bases (pb) par gène et sur une longueur médiane de 1 064 pb pour l'ARNm [Piovesan *et al.*, 2016]. La partie codante d'un gène étant le plus souvent celle qui est séquencée (c.-à-d. les exons représentés par l'ARNm mature), l'estimation des équivalences en nombre de gènes est principalement basée sur la longueur des ARNm extraite de RefSeq, OMIM ou GeneCard pour les gènes considérés. À titre d'exemple, le gène PAH qui comporte un ARNm long de 3 759 pb sera comptabilisé comme l'équivalent de 3,5 gènes.

Depuis 2021, un seul code correspondant à une analyse réalisée par séquençage pangénomique (75020 – Séquençage de l'exome germlinal pour l'investigation des maladies génétiques) a été inscrit au *Répertoire*. Sa valeur pondérée (technique seulement) est de 408 \$ et basée sur le séquençage de 64 échantillons sur une *flowcell*⁸ S2 du NovaSeq 6000. Celle de l'interprétation varie en fonction du nombre de gènes analysés et est généralement comprise entre 218 \$ et 268 \$. Toutefois, l'INESSS estime que si la trousse S4 de NovaSeq 6000 et, plus particulièrement, les trousse 10B et 25B de NovaSeq X Plus venaient à être les plus utilisées, cela aurait pour conséquence de réduire cette VP technique tout en présentant une qualité de séquençage comparable ([tableau 7](#)).

Actuellement, aucun code correspondant au séquençage du génome germlinal n'est inscrit au *Répertoire*. Les VP préliminaires approximatives soumises par le CQGC sont de 986 \$ pour 18 génomes par *flowcell* 10B et de 741 \$ pour 45 génomes par *flowcell* de 25B avec le NovaSeq X Plus. Selon le CQGC, ces VP sont basées sur l'obtention d'une profondeur de lecture moyenne de 45X à 50X par échantillon. Selon le CQGC, ces VP pourraient diminuer si, à la suite de la validation analytique du WGS, il est démontré qu'une profondeur inférieure à 45X s'avère adéquate pour une utilisation en contexte clinique. Selon la littérature consultée, une profondeur entre 30X et 60X est généralement adéquate pour une utilisation en clinique. À titre d'exemple, selon les spécifications techniques d'Illumina, des *flowcell* de type 10B et 25B peuvent permettre le séquençage d'environ 24 et 64 génomes, respectivement, à une profondeur de 30X. Le coût de l'interprétation des variants serait similaire à celui de l'interprétation effectuée à partir d'un WES.

Tableau 7 Coûts par échantillon des approches pangénomiques (WES et WGS) au CQGC (technique seulement)

Séquenceur	Format « <i>flowcell</i> »	Nombre de gènes	Nombre de kb séquencés	Nombre d'échantillons par lot	Coût par échantillon*
Valeur pondérée du séquençage d'exome germlinal (Roche KAPA HyperExome)					
NovaSeq 6000	S2	~20 000	43 000	64	441 \$
NovaSeq 6000	S4	~20 000	43 000	160	314 \$
NovaSeq X Plus	10B	~20 000	43 000	144	256 \$
NovaSeq X Plus	10B	~20 000	43 000	160	243 \$
NovaSeq X Plus	25B	~20 000	43 000	376	224 \$
Valeur pondérée du séquençage du génome (Illumina PCR-Free Tagmentation)					
NovaSeq X Plus	10B	s. o.	3 200 000	18	986 \$
NovaSeq X Plus	25B	s. o.	3 200 000	45	741 \$

Source : Données partagées par le CQGC

* Technique seulement. La valeur de l'interprétation des variants n'est pas incluse dans les coûts. Celle-ci peut varier en fonction du nombre de gènes analysés et est généralement comprise entre 218 et 268 \$.

⁸ Une *flowcell* (parfois traduit par cellule de flux) est une lame de verre creuse comportant un ou plusieurs canaux (*lanes*) et revêtue d'oligonucléotides complémentaires aux adaptateurs de séquençage, de sorte que des fragments d'ADN simple-brin liés à l'adaptateur peuvent se fixer par hybridation [Piro, 2020].

L'analyse de ces données, issues du contexte québécois, montre que la détermination de critères quantitatifs précis quant au nombre de kilobases ou de gènes à séquencer et à partir desquels il serait moins cher de passer de l'approche par SNG ciblé à celle du SNG pangénomique, ne peut être estimée de façon fiable. En effet, certaines analyses par SNG ciblé sont plus chères que celles effectuées à partir du SNG de l'exome ou du génome, alors que d'autres sont moins chères. Outre le nombre de kilobases ou de gènes séquencés, les VP sont tributaires du type de séquenceur et du type de trousse de séquençage utilisés, du format de la *flowcell* et du nombre d'échantillons analysés par réaction de séquençage (capacité de multiplexage), entre autres. De ce fait, le choix de l'approche analytique devrait être basé sur une évaluation comparative des VP globales estimées pour réaliser les analyses. Enfin, cette analyse montre que les coûts actuels du WGS par échantillon demeurent élevés par rapport à ceux du WES.

Il est à noter que la capacité à remplir une *flowcell* dans un délai jugé cliniquement utile doit être considérée afin d'assurer que celle-ci n'est pas utilisée à perte. Si la volumétrie attendue pour un panel ciblé ne répond pas aux demandes dans un temps raisonnable et à un coût moindre, il serait judicieux de considérer l'approche pangénomique pour une utilisation optimale des ressources.

3.3 Impact budgétaire

Une analyse visant à évaluer l'incidence budgétaire de l'utilisation du WGS par rapport au WES en génétique constitutionnelle a été réalisée par l'INESSS.

L'analyse de l'impact budgétaire prend en considération les coûts liés au SNG de l'exome ou du génome et de l'analyse des gènes associés aux troubles hétérogènes ou avec phénotypes non spécifiques pour lesquels une approche pangénomique est généralement jugée raisonnable. Les coûts présentés sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du système de soins de santé québécois. Cette analyse présente le différentiel de coûts entre les deux scénarios suivants :

- 1) Séquençage de nouvelle génération de l'exome (WES);
- 2) Séquençage de nouvelle génération du génome (WGS).

L'information qui a permis d'effectuer l'analyse d'impact budgétaire a été obtenue de diverses sources, y compris les données médico-administratives et la consultation d'experts impliqués dans la réalisation de ces analyses et dans la prise en charge de patients concernés.

Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont étayées ci-dessous :

- **Volumétrie** : Selon certains experts consultés, le volume attendu des analyses par SNG pangénomique peut-être estimé à partir de celui des CGH, ce test étant fréquemment réalisé en première intention pour la détection des VNC dans l'investigation des maladies non spécifiques. Selon les données de CentraLab, environ 7 700 analyses par CGH ont été réalisées au Québec en 2022-2023 en

contexte de génétique constitutionnelle. En tenant compte d'une augmentation de 9 % par année observée au cours des 5 dernières années, il est prévu que 9 129, 10 042 et 11 046 CGH seraient réalisées au cours des trois prochaines années.

- Pour le scénario où la technique utilisée est le WES :
 - Selon les cliniciens consultés, le WES serait réalisé en première intention dans 1/3 des cas, ce qui correspond à 3 043, 3 347 et 3 682 analyses par WES dans les trois prochaines années. Les autres analyses par WES seraient réalisées à la suite de la CGH dont la VP est de 578. Comme cette dernière a un rendement diagnostique d'environ 20 %, il est estimé que 4 869, 5 356 et 5 891 WES seraient réalisées dans les trois prochaines années à la suite de la CGH. Ainsi, un total de 7 912, 8 703, 9 573 WES sont à attendre dans les trois prochaines années.
 - Selon l'avis d'experts, l'analyse en trio parents-enfant serait réalisée chez environ 80 % des patients. L'analyse en trio est généralement recommandée dans ces contextes, car elle facilite l'identification des variants *de novo* chez le probant et réduit le nombre de résultats incertains et de variants qui doivent être examinés, entre autres⁹. Pour le reste des patients, il a été considéré que l'analyse serait effectuée en solo.
 - La VP estimée pour l'analyse de panels virtuels à partir du WES pour les types de maladies visées est basée sur celle proposée pour la déficience intellectuelle et le retard global du développement (DI/RGD) inscrite au *Répertoire*. La VP est basée sur le séquenceur NovaSeq 6000 à l'aide d'une *flowcell* S2 pouvant séquencer 64 échantillons et est estimée à 626 \$, soit 408 \$ pour la technique (code 75020) et 218 \$ pour l'interprétation (code 55360) lorsque l'analyse est réalisée en solo, alors qu'elle est de 1 442 \$ (1 224 \$ pour la technique et 218 \$ pour l'interprétation) lorsqu'elle est effectuée en trio. Par ailleurs, le CQGC prévoit qu'une fois la validation analytique terminée, le WES sera vraisemblablement réalisé sur un NovaSeq X Plus à l'aide d'une *flowcell* 10B pouvant séquencer simultanément 144 échantillons et dont la VP technique provisoire est de 256 \$. Cette valeur a été utilisée à partir de la 2^e année de cette analyse d'impact budgétaire. À noter que cette VP est conditionnelle à l'obtention d'un volume d'analyses suffisant pour remplir une cellule (144 échantillons) dans un délai cliniquement raisonnable.

⁹ Pour plus de détails sur les avantages de l'analyse en trio parents-enfant et les contextes cliniques dans lesquels cette approche devrait être privilégiée, voir l'état des connaissances intitulé [Principes et critères encadrant le recours au séquençage pangénomique en trio « parents-enfant » en génétique constitutionnelle](#) publié en décembre 2023.

- Pour le scénario où la technique utilisée est le WGS :
 - En posant comme hypothèse que le WGS peut remplacer la CGH pour la détection des VNC, son volume serait équivalent au total des analyses à effectuer. Ainsi, il est estimé que 9 129, 10 042 et 11 046 analyses par WGS seraient réalisées au cours des trois prochaines années.
 - Selon des experts consultés, le WGS serait réalisé en première intention pour le probant afin de réduire les coûts du séquençage en trio. L'analyse des VNC serait effectuée (équivalent de l'analyse par CGH) avec un rendement diagnostique estimé de 20 %. Par la suite, pour 80 % des cas, les génomes des parents seraient séquencés à mi-profondeur pour compléter le trio. Le WGS en trio en première intention avec séquençage des parents à mi-profondeur a été testé en analyse de sensibilité.
 - La valeur pondérée (technique seulement) du WGS, telle que proposée par le CQGC pour une couverture de 45X avec le Nova Seq X Plus, est de 741 \$ pour 45 génomes par *flowcell* 25B et de 986 \$ pour 18 génomes par *flowcell* 10B. Il est prévu que le coût de l'interprétation serait équivalent à celui du WES, soit de 218 \$. Pour une analyse en solo, le coût total serait donc de 959 \$ ou de 1 204 \$, selon le type de *flowcell* utilisé. Selon les experts, le coût total d'une analyse en trio serait équivalent à celui d'une analyse en duo (de 1 700 \$ ou de 2 190 \$, selon la *flowcell*) étant donné que le séquençage des parents s'effectuerait à mi-profondeur.
- Éléments non considérés :
 - Les coûts des outils et licences de bio-informatique ainsi que de la gestion et de l'archivage des données de séquençage n'ont pas été considérés étant donné que les infrastructures à mobiliser pour les activités du RQDM ne sont pas encore déterminées. Ces coûts devront obligatoirement être pris en compte dans le calcul des VP lorsque les infrastructures seront définies, puisqu'ils ont le potentiel d'engendrer un impact financier significatif en fonction, entre autres, de l'approche analytique préconisée et de la quantité de données générées par analyse (p. ex., analyse en solo, en trio, par WES ou WGS). La capacité accrue du WGS à détecter les VNC et les VS et à analyser les régions répétées nécessite également l'utilisation d'outils bio-informatiques supplémentaires dont les coûts devront être considérés.
 - Il est également à noter que les VP fournies ne tiennent pas compte du prix d'acquisition des séquenceurs.
 - Selon des experts consultés, il n'est pas exclu qu'à court ou moyen terme, le WGS *LowPass*¹⁰ remplace la CGH. Toutefois, la VP estimée pour cette

¹⁰ Il s'agit du séquençage à faible profondeur du génome entier, soit à une profondeur moyenne de 5X ou moins. Les coûts du séquençage de l'ensemble du génome sont donc réduits tout en conservant une vue d'ensemble du génome complet pour la détection des VS et des VNC.

analyse (588 \$) est similaire à celle de la CGH inscrite au *Répertoire* (578 \$).

Tableau 8 Impact budgétaire du WGS comparativement au WES pour le diagnostic moléculaire en génétique constitutionnelle au Québec

		AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario : Séquençage de l'exome					
Nombre d'analyses	CGH	6 086	6 695	7 364	20 145
	Exome (trio)	6 329	6 962	7 659	20 950
	Exome (solo)	1 582	1 741	1 915	5 238
Coûts	CGH	3 517 708 \$	3 869 479 \$	4 256 427 \$	11 643 613 \$
	Exome (trio)	9 127 052 \$	6 864 911 \$	7 551 402 \$	23 543 365 \$
	Exome (solo)	990 557 \$	825 043 \$	907 547 \$	2 723 147 \$
Coûts totaux SNG exome		13 635 318 \$	11 559 432 \$	12 715 375 \$	37 910 125 \$
Scénario : Séquençage du génome					
Nombre d'analyses	Génome (solo)	9 129	10 042	11 046	30 217
	Génome (trio)	7 303	8 034	8 837	24 174
Coûts	Génome (solo)	8 754 711 \$	9 630 182 \$	10 593 200 \$	28 978 093 \$
	Génome (trio)	7 003 769 \$	7 704 146 \$	8 474 560 \$	23 182 475 \$
Coûts totaux SNG génome		15 758 480 \$	17 334 328 \$	19 067 761 \$	52 160 568 \$
Impact net ⁱ		2 123 162 \$	5 774 896 \$	6 352 385 \$	14 250 443 \$
Analyses de sensibilité ⁱⁱ		Sur 3 ans, coûts les plus faibles			7 027 666
		Sur 3 ans, coûts les plus élevés			27 576 136 \$

Sigle et acronyme : CGH : Comparative Genomic Hybridization

i L'impact net correspond au différentiel du scénario « Séquençage du génome » et du scénario « Séquençage de l'exome ».

ii Des analyses de sensibilité ont été effectuées pour, notamment, évaluer l'impact de la variation des valeurs pondérées, du nombre d'analyses et des rendements diagnostiques.

Ainsi, selon les hypothèses retenues, l'utilisation du WES dans le contexte des troubles hétérogènes ou avec phénotypes non spécifiques coûterait près de 38 M\$ dans les trois prochaines années. L'utilisation du WGS comparativement au WES pourrait faire augmenter les dépenses de 14,3 M\$ au cours de la même période. Les analyses de sensibilité montrent que l'impact budgétaire de l'utilisation du WGS pourrait varier de 7,0 M\$ (si la VP du WES était maintenue à 408 \$) à 27,6 M\$ (si la VP du WGS atteignait 986 \$).

3.4 Enjeux économiques

L'INESSS n'est pas en mesure de statuer sur l'efficacité du séquençage pangénomique en génétique constitutionnelle dans un contexte québécois, étant donné qu'aucune évaluation économique n'a été réalisée dans ce contexte. Cependant, les résultats issus d'évaluations réalisées dans d'autres systèmes de santé laissent présager que le WES serait vraisemblablement efficace pour les maladies évaluées, comparativement au séquençage par panels ciblés ou du WGS. Le WGS serait globalement inefficace comparativement à celui de l'exome.

Par ailleurs, l'INESSS n'est pas en mesure de déterminer à partir de combien de kilobases ou de gènes séquencés il serait moins cher de passer de l'approche par SNG ciblé à celle du SNG pangénomique. De ce fait, le choix de l'approche analytique devrait être basé sur une évaluation comparative des VP globales estimées pour réaliser les analyses.

En utilisant comme proxy le nombre d'analyses par CGH jugé plus conservateur et sans inclure les coûts d'outils informatiques, l'impact budgétaire est considéré comme élevé. Néanmoins, en raison de la difficulté d'évaluer avec certitude le nombre d'analyses prévues et les coûts des outils bio-informatiques (licences, archivage des données), l'estimation de l'impact budgétaire du WES et celui du passage au WGS demeure incertain. Des travaux plus approfondis seraient nécessaires afin de déterminer, avec plus de précision, l'impact budgétaire de l'utilisation du SNG pangénomique.

En bref

Selon les études économiques repérées :

- Le WES serait globalement efficient dans le contexte des troubles hétérogènes ou non spécifiques, notamment dans les contextes évalués suivants :
 - déficience intellectuelle et retard inexpliqué du développement;
 - maladies musculaires pédiatriques;
 - hydrops fœtal et anasarque fœto-placentaire non immune;
 - maladies rares non diagnostiquées chez l'enfant.
- Le WGS ne serait globalement pas efficient, sauf chez les enfants de moins de 1 an atteints de maladies rares non diagnostiquées.

L'analyse des coûts des approches de SNG ciblées et pangénomiques au Québec a conduit aux constats suivants :

- La détermination du nombre de kilobases ou de gènes à séquencer, à partir duquel il serait moins cher de passer du SNG ciblé à une approche pangénomique, ne peut être estimée de façon fiable;
- Le choix de l'approche analytique devrait, entre autres, être basé sur une évaluation comparative des VP globales estimées pour réaliser les analyses;
- Les coûts actuels par échantillon du WGS demeurent élevés par rapport à ceux du WES.

Selon les analyses effectuées :

En utilisant le volume de CGH comme proxy du nombre d'analyses prévues, l'utilisation du WES coûterait près de 42 M\$ dans les trois prochaines années. L'utilisation du WGS par rapport au WES pourrait faire augmenter les dépenses de 14,3 M\$ (7,0 M\$ à 27,6 M\$) au cours de la même période.

L'estimation des impacts budgétaires demeure incertaine en raison des difficultés d'évaluer avec certitude le nombre d'analyses prévues et les coûts des outils bio-informatiques (licences, archivage des données). Des travaux plus approfondis seraient nécessaires afin de déterminer, avec plus de précision, les coûts associés à l'utilisation du SNG pangénomique.

DISCUSSION

Selon un rapport publié en 2020 par le NHS – Scotland [Blackburn *et al.*, 2020], dont l'objectif était d'éclairer le développement de la stratégie à long terme pour la génomique clinique en Écosse, l'avenir du WES par rapport au WGS, ainsi que celui des panels ciblés, reste à définir. Les principales réflexions proposées dans le rapport du NHS – Scotland sont ici reprises et complémentées par les constats du présent état des connaissances.

Le WES est déjà largement utilisé dans le diagnostic des maladies rares et, à mesure que les trousse de capture et de préparation des librairies d'exomes deviennent moins chères et plus efficaces, il remplace en partie l'utilisation du séquençage ciblé dans de nombreuses circonstances. Par ailleurs, l'analyse comparative des avantages et limites des approches pangénomiques suggère que le WES peut généralement fournir un diagnostic plus rapide et moins coûteux que le WGS, en plus de ne nécessiter qu'environ 2 % de l'espace de stockage d'un WGS. L'aspect du stockage est un des enjeux majeurs du SNG. Les connaissances actuelles sur les régions codantes pour les protéines sont d'ailleurs beaucoup plus avancées et la valeur ajoutée du séquençage des régions non codantes est actuellement débattue.

En Angleterre, bien que le *100 000 Genomes Project* ait jusqu'à présent utilisé le WGS, les analyses cliniques subséquentes se sont principalement concentrées sur les régions qui codent pour des protéines. Toutefois, l'utilisation du WGS contribue à pérenniser les données, car, au fur et à mesure que les connaissances sur l'implication des régions non codantes sur la santé s'améliorent, les données peuvent être réanalysées sans qu'il soit nécessaire de collecter et de reséquencer des échantillons supplémentaires [Blackburn *et al.*, 2020]. Cependant, il est important de souligner que certains cas qui n'auraient pas été résolus par le WGS à lectures courtes (*short reads*) pourraient nécessiter, dans l'avenir, un reséquençage à l'aide de la technologie à lectures longues (*long reads*). En effet, cette dernière a la capacité de détecter des variations génétiques importantes qui échappent au WGS *short reads*.

Selon le rapport du NHS – Scotland, les milieux cliniques pour lesquels le WGS pourrait être particulièrement avantageux sont certes ceux où la recherche sur des maladies génétiques complexes est active. L'amélioration des connaissances, qui bénéficie au patient, est ainsi facilitée par l'expertise et les infrastructures bio-informatiques en place [Blackburn *et al.*, 2020].

Avec les coûts de séquençage qui continuent à diminuer, le WGS devient une perspective plus réaliste à mesure que la différence réelle des coûts – qui n'est pas nécessairement proportionnelle – entre le WES et le WGS diminue. En outre, comme mentionné précédemment, la visibilité et l'utilisation croissante des plates-formes de séquençage *long reads* apportent de nouvelles dimensions au débat entre le WGS et le WES, car elles nécessitent des considérations techniques différentes. L'amélioration continue des pipelines bio-informatiques et des bases de données sur les régions non codantes fera vraisemblablement augmenter la valeur du séquençage du génome entier.

Maintenant, la question de savoir si ces changements justifieront l'utilisation du WGS en restera une de contexte et d'objectifs des analyses [Blackburn *et al.*, 2020].

Par ailleurs, le coût de l'analyse, du stockage des données et la capacité d'effectuer dans les temps une analyse cliniquement utile sur les données du WGS restent un point clé à prendre en compte pour déterminer s'il convient d'utiliser plus largement le WES ou le WGS en milieu clinique. Il convient de noter que l'augmentation des données génomiques produites à mesure que davantage de WES et de WGS sont réalisées crée des défis non seulement en termes de stockage, mais également en termes d'infrastructure et d'expertise nécessaires pour réaliser l'analyse de celles-ci. Il existe d'ailleurs un débat sur la question, à savoir s'il serait plus approprié d'archiver les données génomiques à long terme ou tout simplement d'effectuer un reséquençage.

Finalement, l'utilisation des panels de gènes reste une approche incontournable en présence d'un syndrome ou d'une maladie spécifique. En effet, cibler le séquençage pour examiner uniquement un sous-ensemble de gènes – les plus susceptibles d'héberger un variant pathogénique associé à la maladie suspectée en question – peut réduire le temps, les coûts et la charge analytique [Blackburn *et al.*, 2020]. Cependant, comme suggéré dans la section économique de ce rapport, certains panels ciblés peuvent être plus coûteux que les approches pangénomiques disponibles. Il est donc important d'évaluer les avantages et les limites des différentes approches par SNG en fonction du contexte clinique et de l'objectif du test, et ce, afin d'orienter la décision vers l'approche la plus efficiente et la plus susceptible d'offrir le meilleur service aux patients.

CONCLUSION

La réalisation du présent état des connaissances a permis de rassembler la littérature disponible et pertinente concernant les principes et critères guidant le choix de procéder par SNG pangénomique plutôt que par SNG ciblé d'un nombre limité de gènes dans le contexte du diagnostic moléculaire de maladies en génétique constitutionnelle.

La littérature analysée a permis de répondre à l'objectif principal de ces travaux, soit d'informer le MSSS sur les meilleures pratiques d'utilisation des différentes approches par SNG en contexte clinique. Finalement, les constats présentés dans ce rapport devraient permettre de soutenir le MSSS dans son accompagnement des cliniciens et des laboratoires cliniques du réseau qui souhaitent développer des analyses par SNG, notamment afin de déterminer dans quels contextes des analyses par SNG pangénomique ou par SNG ciblé devraient être réalisées.

RÉFÉRENCES

- Abul-Husn NS, Marathe PN, Kelly NR, Bonini KE, Sebastin M, Odgis JA, Abhyankar A, Brown K, Di Biase M, Gallagher KM, Guha S, Ioele N, Okur V, Ramos MA, Rodriguez JE, Rehman AU, Thomas-Wilson A, Edelmann L, Zinberg RE, Diaz GA, Grealley JM, Jobanputra V, Suckiel SA, Horowitz CR, Wasserstein MP, Kenny EE, Gelb BD. Molecular diagnostic yield of genome sequencing versus targeted gene panel testing in racially and ethnically diverse pediatric patients. *Genet Med* 2023;25(9):100880.
- Amarasinghe SL, Su S, Dong X, Zappia L, Ritchie ME, Gouil Q. Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biol* 2020;21(1):30.
- Austin-Tse CA, Jobanputra V, Perry DL, Bick D, Taft RJ, Venner E, Gibbs RA, Young T, Barnett S, Belmont JW, Boczek N, Chowdhury S, Ellsworth KA, Guha S, Kulkarni S, Marcou C, Meng L, Murdock DR, Rehman AU, Spiteri E, Thomas-Wilson A, Kearney HM, Rehm HL, Medical Genome I. Best practices for the interpretation and reporting of clinical whole genome sequencing. *npj genom* 2022;7(1):27.
- Avram CM, Caughey AB, Norton ME, Sparks TN. Cost-Effectiveness of Exome Sequencing versus Targeted Gene Panels for Prenatal Diagnosis of Fetal Effusions and Non-Immune Hydrops Fetalis. *Am J Obstet Gynecol MFM* 2022;4(6):100724.
- Basepair Support. What is the difference between coverage and read depth? [site Web]. Thu, 3 Dec, 2020 at 10:33 PM éd. New York, NY, USA : Basepair Inc; 2020. Disponible à : <https://support.basepairtech.com/support/solutions/articles/14000124252-what-is-the-difference-between-coverage-and-read-depth-how-many-reads-do-you-need-for-atac-seq-data> (consulté le 2023-09-15).
- Bean LJH, Funke B, Carlston CM, Gannon JL, Kantarci S, Krock BL, Zhang S, Bayrak-Toydemir P. Diagnostic gene sequencing panels: from design to report-a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2020;22(3):453-61.
- Bick D, Jones M, Taylor SL, Taft RJ, Belmont J. Case for genome sequencing in infants and children with rare, undiagnosed or genetic diseases. *J Med Genet* 2019;56(12):783-91.
- Blackburn L, Babb de Villiers C, Janus J, Johnson E, Kroese M. Clinical genome analysis evidence review: update 2020. update 2020 éd. Cambridge, UK : PHG Foundation - NHS Scotland; 2020. Disponible à : <https://www.sglc.scot.nhs.uk/wp-content/uploads/2020/08/Clinical-Genome-Analysis-Evidence-Review-2020-FINAL.pdf>.
- Boycott K, Hartley T, Adam S, Bernier F, Chong K, Fernandez BA, Friedman JM, Geraghty MT, Hume S, Knoppers BM, Laberge AM, Majewski J, Mendoza-Londono R, Meyn MS, Michaud JL, Nelson TN, Richer J, Sadikovic B, Skidmore DL, Stockley T, Taylor S, van Karnebeek C, Zawati MH, Lauzon J, Armour CM,

- Canadian College of Medical G. The clinical application of genome-wide sequencing for monogenic diseases in Canada: Position Statement of the Canadian College of Medical Geneticists. *J Med Genet* 2015;52(7):431-7.
- Cao Y, Tokita MJ, Chen ES, Ghosh R, Chen T, Feng Y, Gorman E, Gibellini F, Ward PA, Braxton A, Wang X, Meng L, Xiao R, Bi W, Xia F, Eng CM, Yang Y, Gambin T, Shaw C, Liu P, Stankiewicz P. A clinical survey of mosaic single nucleotide variants in disease-causing genes detected by exome sequencing. *Genome Med* 2019;11(1):48.
- Carter MT, Srour M, Au PB, Buhas D, Dyack S, Eaton A, Inbar-Feigenberg M, Howley H, Kawamura A, Lewis SME, McCreedy E, Nelson TN, Vallance H. Genetic and metabolic investigations for neurodevelopmental disorders: position statement of the Canadian College of Medical Geneticists (CCMG). *J Med Genet* 2023;60(6):523-32.
- CCMG. Medical Genetics - Twelve Things Physicians and Patients Should Question. April 2023 éd. Toronto, ON : Choosing Wisely Canada; 2023. Disponible à : <https://choosingwiselycanada.org/recommendation/medical-genetics/#1-4>.
- Ceballos FC, Hazelhurst S, Ramsay M. Assessing runs of Homozygosity: a comparison of SNP Array and whole genome sequence low coverage data. *BMC Genomics* 2018;19(1):106.
- Chung CCY, Hue SPY, Ng NYT, Doong PHL, Chu ATW, Chung BHY. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of exome and genome sequencing in pediatric and adult patients with rare diseases across diverse populations. *Genet Med* 2023;25(9):100896.
- D'Haene N, Meléndez B, Blanchard O, De Nève N, Lebrun L, Van Campenhout C, Salmon I. Design and Validation of a Gene-Targeted, Next-Generation Sequencing Panel for Routine Diagnosis in Gliomas. *Cancers (Basel)* 2019;11(6).
- Dunn P, Albury CL, Maksemous N, Benton MC, Sutherland HG, Smith RA, Haupt LM, Griffiths LR. Next Generation Sequencing Methods for Diagnosis of Epilepsy Syndromes. *Front Genet* 2018;9:20.
- Ewans LJ, Minoche AE, Schofield D, Shrestha R, Puttick C, Zhu Y, Drew A, Gayevskiy V, Elakis G, Walsh C, Ades LC, Colley A, Ellaway C, Evans CA, Freckmann ML, Goodwin L, Hackett A, Kamien B, Kirk EP, Lipke M, Mowat D, Palmer E, Rajagopalan S, Ronan A, Sachdev R, Stevenson W, Turner A, Wilson M, Worgan L, Morel-Kopp MC, Field M, Buckley MF, Cowley MJ, Dinger ME, Roscioli T. Whole exome and genome sequencing in mendelian disorders: a diagnostic and health economic analysis. *Eur J Hum Genet* 2022;30(10):1121-31.
- Fan H et Chu JY. A brief review of short tandem repeat mutation. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2007;5(1):7-14.
- Fervers B, Latreille J, Burgers J, Paquet L, Haugh MC, Poirier M, Coulombe M, Mlika-Cabanne N, Burnand B, Thierry P. PIPOH: A new tool for use in clinical practice guidelines adaptation. (Abstract) éd. Vienne : ESMO; 2004.

- Gambin T, Akdemir ZC, Yuan B, Gu S, Chiang T, Carvalho CMB, Shaw C, Jhangiani S, Boone PM, Eldomery MK, Karaca E, Bayram Y, Stray-Pedersen A, Muzny D, Charng WL, Bahrambeigi V, Belmont JW, Boerwinkle E, Beaudet AL, Gibbs RA, Lupski JR. Homozygous and hemizygous CNV detection from exome sequencing data in a Mendelian disease cohort. *Nucleic Acids Res* 2017;45(4):1633-48.
- GeneReviews-NIH. GeneReview Glossary [site Web]. Seattle, WA : National Library of Medicine - National Center for Biotechnology Information - NIH; 2023. Disponible à : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5191/> (consulté le 2023-08-01 au 2023-09-15).
- GénomeQuébec. Génotype [site Web]. 09.03.2023 éd. Montréal, QC : GénomeQuébec Inc. ; 2023. Disponible à : <https://genomequebec.com/glossary/genotype/> (consulté le 2023-09-15).
- Gonzales PR, Andersen EF, Brown TR, Horner VL, Horwitz J, Rehder CW, Rudy NL, Robin NH, Thorland EC, On Behalf Of The Acmg Laboratory Quality Assurance C. Interpretation and reporting of large regions of homozygosity and suspected consanguinity/uniparental disomy, 2021 revision: A technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2022;24(2):255-61.
- GRC-AHS. Whole Exome Sequencing Guidelines. Rev 1.01, 02 Jan 2023 éd. Calgary, AB : Alberta precision laboratories (APL) - Alberta Health Services (AHS); 2023. Disponible à : <https://www.albertahealthservices.ca/assets/wf/lab/wf-lab-gls-whole-exome-sequencing-guidelines.pdf>.
- GTAC-HQO. Use of Genome-Wide Sequencing for Undiagnosed Rare Genetic Diseases in Ontario. December 2016 éd. Toronto, ON : Ontario Health (Quality); 2016. Disponible à : https://www.health.gov.on.ca/en/pro/programs/gtac/docs/gtac_report_use_of_gws_for_undiagnosed_rare_genetic_diseases.pdf.
- Guo F, Liu R, Pan Y, Collins C, Bean L, Ma Z, Mathur A, Da Silva C, Nallamilli B, Guraju N, Chen-Deutsch X, Yousaf R, Chin E, Balciuniene J, Hegde M. Evidence from 2100 index cases supports genome sequencing as a first-tier genetic test. *Genet Med* 2024;26(1):100995.
- Hanquet G, Vinck I, Thiry N. The clinical application of genome-wide sequencing for monogenic diseases in Canada: Position Statement of the Canadian College of Medical Geneticists. KCE Report 300 éd. Brussels, Belgique : Centre fédéral d'expertise des soins de santé (KCE); 2018. Disponible à : https://kce.fgov.be/sites/default/files/2021-11/KCE_300_Whole_genome_sequencing_Report.pdf.
- Harrison MB, Légaré F, Graham ID, Fervers B. Adapting clinical practice guidelines to local context and assessing barriers to their use. *Cmaj* 2010;182(2):E78-84.

- HEE-NHS. Genomics glossary [site Web]. London, UK : Health Education England (HEE) Genomics Education Programme - NHS England; 2023. Disponible à : <https://www.genomicseducation.hee.nhs.uk/glossary/> (consulté le 2023-08-01 au 2023-09-15).
- Hershberg R. Codon Usage and Translational Selection. Dans : Kliman RM, réd. Encyclopedia of Evolutionary Biology. Oxford : Academic Press; 2016 : 293-8. Disponible à : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128000496001785>.
- Hiz Kurul S, Oktay Y, Töpf A, Szabó NZ, Güngör S, Yaramis A, Sonmezler E, Matalonga L, Yis U, Schon K, Paramonov I, Kalafatçilar İP, Gao F, Rieger A, Arslan N, Yilmaz E, Ekinci B, Edem PP, Aslan M, Özgör B, Lochmüller A, Nair A, O'Heir E, Lovgren AK, Broad Center for Mendelian G, Maroofian R, Houlden H, Polavarapu K, Roos A, Müller JS, Hathazi D, Chinnery PF, Laurie S, Beltran S, Lochmüller H, Horvath R. High diagnostic rate of trio exome sequencing in consanguineous families with neurogenetic diseases. Brain 2022;145(4):1507-18.
- Hochstenbach R, van Binsbergen E, Schuring-Blom H, Buijs A, Ploos van Amstel HK. A survey of undetected, clinically relevant chromosome abnormalities when replacing postnatal karyotyping by Whole Genome Sequencing. Eur J Med Genet 2019;62(9):103543.
- Hoffman-Andrews L. The known unknown: the challenges of genetic variants of uncertain significance in clinical practice. J Law Biosci 2017;4(3):648-57.
- HTCC-WSHCA. Health Technology Clinical Committee Findings and Decision: Whole exome sequencing. May 15, 2020 éd. Olympia, WA : Washington State Health Care Authority (WSHCA); 2020. Disponible à : <https://www.hca.wa.gov/assets/program/wes-final-findings-decision-20200515.pdf>.
- Huang AY, Zhang Z, Ye AY, Dou Y, Yan L, Yang X, Zhang Y, Wei L. MosaicHunter: accurate detection of postzygotic single-nucleotide mosaicism through next-generation sequencing of unpaired, trio, and paired samples. Nucleic Acids Res 2017;45(10):e76-e.
- IDT. xGen™ NGS Hybridization Capture [site Web]. 2023 éd. Coralville, Iowa : Integrated DNA technologies Inc. (IDT); 2023. Disponible à : <https://www.idtdna.com/pages/products/next-generation-sequencing/workflow/xgen-ngs-hybridization-capture> (consulté le 2023-10-25).
- Illumina. Deeper insights into complex regions of the genome - Long-read sequencing helps resolve challenging regions of the genome [site Web]. San Diego, CA : Illumina Inc.; 2024. Disponible à : <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/long-read-sequencing.html> (consulté le 2024-04-12).

- Illumina. Coverage depth recommendations [site Web]. 2023 éd. San Diego, CA : Illumina inc.; 2023a. Disponible à : <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/plan-experiments/coverage.html> (consulté le 2023-09-14).
- Illumina. Illumina DNA Prep with Exome 2.5 Enrichment [site Web]. San Diego, CA : Illumina Inc.; 2023b. Disponible à : https://www.idtdna.com/pages/products/next-generation-sequencing/workflow/xgen-ngs-library-preparation?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=00587_1c_03&utm_content=search&gclid=CjwKCAjw3oqoBhAjEiwA_UaLttEfCKekmQGoj7Zs0QXf-OF57-QhVdx1iYauzLXjEF0pYBMoOqPNcBoCa9sQAvD_BwE (consulté le 2023-09-14).
- Illumina. AmpliSeq for Illumina – a comprehensive targeted resequencing solution [site Web]. San Diego, CA : Illumina Inc.; 2023c. Disponible à : <https://www.illumina.com/products/by-brand/ampliseq.html> (consulté le 2023-09-15).
- Illumina. AmpliSeq for Illumina Custom DNA Panel [site Web]. San Diego, CA : Illumina Inc.; 2023d. Disponible à : <https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-custom-dna-panel.html> (consulté le 2023-09-27).
- Illumina. Find the method that's right for your research [site Web]. 2018 éd. San Diego, CA : Illumina inc.; 2018. Disponible à : <https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/techniques/wgs-wes-infographic-web.pdf> (consulté le 2023-09-11).
- INESSS. Principes et critères de sélection des gènes pour le diagnostic moléculaire des maladies en génétique constitutionnelle par séquençage de nouvelle génération (SNG). Rapport en soutien aux travaux du RQDM. 2023-05-29 | BIOLOGIE MÉDICALE ET GÉNOMIQUE éd. Québec, Canada : Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS); 2023. Disponible à : <https://www.inesss.qc.ca/publications/repertoire-des-publications/publication/principes-et-criteres-de-selection-des-genes-pour-le-diagnostic-moleculaire-des-maladies-en-genetique-constitutionnelle-par-sequencage-de-nouvelle-generation-sng.html>.
- Johnson K, Erfani H, Maktabi MA, Van den Veyver I, Nassef S. Lack of consensus among healthcare professionals at a large academic medical center on the use of exome sequencing for prenatal diagnosis. *J Genet Couns* 2022;07:07.
- Katz AE, Nussbaum RL, Solomon BD, Rehm HL, Williams MS, Biesecker LG. Management of Secondary Genomic Findings. *Am J Hum Genet* 2020;107(1):3-14.
- Kingsmore SF, Cakici JA, Clark MM, Gaughran M, Feddock M, Batalov S, Bainbridge MN, Carroll J, Caylor SA, Clarke C, Ding Y, Ellsworth K, Farnaes L, Hildreth A, Hobbs C, James K, Kint CI, Lenberg J, Nahas S, Prince L, Reyes I, Salz L, Sanford E, Schols P, Sweeney N, Tokita M, Veeraraghavan N, Watkins K, Wigby K, Wong T, Chowdhury S, Wright MS, Dimmock D. A Randomized, Controlled Trial of the Analytic and Diagnostic Performance of Singleton and Trio, Rapid

- Genome and Exome Sequencing in III Infants. *Am J Hum Genet* 2019;105(4):719-33.
- Koboldt DC. Best practices for variant calling in clinical sequencing. *Genome Med* 2020;12(1):91.
- Kong SW, Lee IH, Liu X, Hirschhorn JN, Mandl KD. Measuring coverage and accuracy of whole-exome sequencing in clinical context. *Genet Med* 2018;20(12):1617-26.
- Krahn M, Biancalana V, Cerino M, Perrin A, Michel-Calemard L, Nectoux J, Leturcq F, Bouchet-Seraphin C, Acquaviva-Bourdain C, Campana-Salort E, Molon A, Urtizberea JA, Audic F, Chabrol B, Pouget J, Froissart R, Melki J, Rendu J, Petit F, Metay C, Seta N, Sternberg D, Faure J, Cossee M. A National French consensus on gene lists for the diagnosis of myopathies using next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet* 2019;27(3):349-52.
- Krumm N et Hoffman N. Practical estimation of cloud storage costs for clinical genomic data. *Pract Lab Med* 2020;21:e00168.
- Kumar RD, Burrage LC, Bartos J, Ali S, Schmitt E, Nagamani SCS, LeMons C. A deep intronic variant is a common cause of OTC deficiency in individuals with previously negative genetic testing. *Mol Genet Metab Rep* 2021;26:100706.
- LaDuca H, Farwell KD, Vuong H, Lu HM, Mu W, Shahmirzadi L, Tang S, Chen J, Bhidé S, Chao EC. Exome sequencing covers >98% of mutations identified on targeted next generation sequencing panels. *PLoS ONE* 2017;12(2):e0170843.
- Lavelle TA, Feng X, Keisler M, Cohen JT, Neumann PJ, Prichard D, Schroeder BE, Salyakina D, Espinal PS, Weidner SB, Maron JL. Cost-effectiveness of exome and genome sequencing for children with rare and undiagnosed conditions. *Genet Med* 2022;24(6):1349-61.
- Lelieveld SH, Spielmann M, Mundlos S, Veltman JA, Gilissen C. Comparison of Exome and Genome Sequencing Technologies for the Complete Capture of Protein-Coding Regions. *Hum Mutat* 2015;36(8):815-22.
- Mattioli K, Oliveros W, Gerhardinger C, Andergassen D, Maass PG, Rinn JL, Melé M. Cis and trans effects differentially contribute to the evolution of promoters and enhancers. *Genome Biol* 2020;21(1):210.
- Meienberg J, Bruggmann R, Oexle K, Matyas G. Clinical sequencing: is WGS the better WES? *Hum Genet* 2016;135(3):359-62.
- Miller CR, Lee K, Pfau RB, Reshmi SC, Corsmeier DJ, Hashimoto S, Dave-Wala A, Jayaraman V, Koboldt D, Matthews T, Mouhlas D, Stein M, McKinney A, Grossman T, Kelly BJ, White P, Magrini V, Wilson RK, Mardis ER, Cottrell CE. Disease-associated mosaic variation in clinical exome sequencing: a two-year pediatric tertiary care experience. *Cold Spring Harb* 2020;6(3):06.

- Mone F, Eberhardt RY, Morris RK, Hurles ME, McMullan DJ, Maher ER, Lord J, Chitty LS, Giordano JL, Wapner RJ, Kilby MD, Collaborators CS. COngenital heart disease and the Diagnostic yield with Exome sequencing (CODE) study: prospective cohort study and systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021;57(1):43-51.
- Mooers AØ et Holmes EC. The evolution of base composition and phylogenetic inference. *Trends in Ecology & Evolution* 2000;15(9):365-9.
- MSAC. Application No. 1680 Genetic testing for childhood hearing impairment. 24-25 November 2022 éd. Canberra, Australia : Medical Services Advisory Committee (MSAC); 2022. Disponible à : <http://www.msac.gov.au/internet/msac/publishing.nsf/Content/1680-public>.
- Naseri A, Zhi D, Zhang S. Discovery of runs-of-homozygosity diplotype clusters and their associations with diseases in UK Biobank. *medRxiv* 2020;
- Natureportfolio. Structural variation articles from across Nature Portfolio [site Web]. Berlin, Allemagne : Springer Nature; 2023. Disponible à : <https://www.nature.com/subjects/structural-variation> (consulté le 2023-09-05).
- NCI-Glossary. NCI Dictionary of Genetics Terms [site Web]. Bethesda, MD : National Cancer Institute (NCI) - National Institutes of Health (NIH); 2023. Disponible à : <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/genetics-dictionary> (consulté le 2023-08-01 au 2023-09-15).
- Ng KWP, Chin HL, Chin AXY, Goh DL. Using gene panels in the diagnosis of neuromuscular disorders: A mini-review. *Front Neurol* 2022;13:997551.
- NHGRI-NIH. Talking Glossary of Genomic and Genetic Terms [site Web]. Bethesda, MA : National Human Genome Research Institute (NHGRI) - National Institutes of Health (NIH); 2023. Disponible à : <https://www.genome.gov/genetics-glossary> (consulté le 2023-08-01 au 2023-09-15).
- NHS directory. National Genomic Test Directory for rare and inherited disease. 8 January 2024 éd. London, UK : National Health Services (NHS) England; 2024. Disponible à : <https://www.england.nhs.uk/publication/national-genomic-test-directories/>.
- NICE. Epilepsies in children, young people and adults. 27 April 2022 éd. Londre, UK : National Institute for Health and Care Excellence (NICE) Guideline; 2022. Disponible à : <https://www.nice.org.uk/guidance/ng217>.
- Nurchis MC, Riccardi MT, Radio FC, Chillemi G, Bertini ES, Tartaglia M, Cicchetti A, Dallapiccola B, Damiani G. Incremental net benefit of whole genome sequencing for newborns and children with suspected genetic disorders: Systematic review and meta-analysis of cost-effectiveness evidence. *Health Policy* 2022;126(4):337-45.

- OHTAC-HQO. Genome-Wide Sequencing for Unexplained Developmental Disabilities or Multiple Congenital Anomalies: A Health Technology Assessment. Ont Health Technol Assess Ser. March 2020 éd. Toronto, ON : Ontario Health (Quality); 2020. Disponible à : <https://www.hqontario.ca/Portals/0/Documents/evidence/reports/hta-genome-wide-sequencing.pdf>.
- Petrikin JE, Cakici JA, Clark MM, Willig LK, Sweeney NM, Farrow EG, Saunders CJ, Thiffault I, Miller NA, Zellmer L, Herd SM, Holmes AM, Batalov S, Veeraraghavan N, Smith LD, Dimmock DP, Leeder JS, Kingsmore SF. The NSIGHT1-randomized controlled trial: rapid whole-genome sequencing for accelerated etiologic diagnosis in critically ill infants. *npj genom* 2018;3(1):6.
- PFMG 2025. Les préindications et leur mise en place [site Web]. 2024 éd. France : 2024. Disponible à : <https://pfmq2025.aviesan.fr/professionnels/preindications-et-mise-en-place/> (consulté le 2023-08-07 au 2024-03-04).
- Piovesan A, Caracausi M, Antonaros F, Pelleri MC, Vitale L. GeneBase 1.1: a tool to summarize data from NCBI gene datasets and its application to an update of human gene statistics. *Database (Oxford)* 2016;2016
- Piro RM. Chapter 7 - Sequencing technologies for epigenetics: From basics to applications. Dans : Kabelitz D et Bhat J, réd. *Epigenetics of the Immune System*. Academic Press; 2020 : 161-83. Disponible à : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128179642000071>.
- Rehder C, Bean LJH, Bick D, Chao E, Chung W, Das S, O'Daniel J, Rehm H, Shashi V, Vincent LM, Committee ALQA. Next-generation sequencing for constitutional variants in the clinical laboratory, 2021 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2021;23(8):1399-415.
- Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, Friez MJ, Funke BH, Hegde MR, Lyon E, Working Group of the American College of Medical G, Genomics Laboratory Quality Assurance C. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med* 2013;15(9):733-47.
- Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405-24.
- Rubin IN et Doebeli M. Rethinking the evolution of specialization: A model for the evolution of phenotypic heterogeneity. *J Theor Biol* 2017;435:248-64.
- Rykalina VN, Shadrin AA, Amstislavskiy VS, Rogaev EI, Lehrach H, Borodina TA. Exome sequencing from nanogram amounts of starting DNA: comparing three approaches. *PLoS ONE* 2014;9(7):e101154.

- Schofield D, Alam K, Douglas L, Shrestha R, MacArthur DG, Davis M, Laing NG, Clarke NF, Burns J, Cooper ST, North KN, Sandaradura SA, O'Grady GL. Cost-effectiveness of massively parallel sequencing for diagnosis of paediatric muscle diseases. *npj genom* 2017;2
- Sehn JK. Chapter 9 - Insertions and Deletions (Indels). Dans : Kulkarni S et Pfeifer J, réd. *Clinical Genomics*. Boston : Academic Press; 2015 : 129-50. Disponible à : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124047488000095>.
- Shaffer LG, Agan N, Goldberg JD, Ledbetter DH, Longshore JW, Cassidy SB. American College of Medical Genetics statement of diagnostic testing for uniparental disomy. *Genet Med* 2001;3(3):206-11.
- Shickh S, Mighton C, Uleryk E, Pechlivanoglou P, Bombard Y. The clinical utility of exome and genome sequencing across clinical indications: a systematic review. *Hum Genet* 2021;140(10):1403-16.
- Sims D, Sudbery I, Illott NE, Heger A, Ponting CP. Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. *Nat Rev Genet* 2014;15(2):121-32.
- Souche E, Beltran S, Brosens E, Belmont JW, Fossum M, Riess O, Gilissen C, Ardeschirdavani A, Houge G, van Gijn M, Clayton-Smith J, Synofzik M, de Leeuw N, Deans ZC, Dincer Y, Eck SH, van der Crabben S, Balasubramanian M, Graessner H, Sturm M, Firth H, Ferlini A, Nabbout R, De Baere E, Liehr T, Macek M, Matthijs G, Scheffer H, Bauer P, Yntema HG, Weiss MM. Recommendations for whole genome sequencing in diagnostics for rare diseases. *Eur J Hum Genet* 2022;30(9):1017-21.
- Stefanski A, Calle-Lopez Y, Leu C, Perez-Palma E, Pestana-Knight E, Lal D. Clinical sequencing yield in epilepsy, autism spectrum disorder, and intellectual disability: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsia* 2021;62(1):143-51.
- Steininger A, Ebert G, Becker BV, Assaf C, Möbs M, Schmidt CA, Grabarczyk P, Jensen LR, Przybylski GK, Port M, Kuss AW, Ullmann R. Genome-Wide Analysis of Interchromosomal Interaction Probabilities Reveals Chained Translocations and Overrepresentation of Translocation Breakpoints in Genes in a Cutaneous T-Cell Lymphoma Cell Line. *Front Oncol* 2018;8:183.
- Strom SP. Current practices and guidelines for clinical next-generation sequencing oncology testing. *Cancer Biol* 2016;13(1):3-11.
- The NICUSeq Study Group. Effect of Whole-Genome Sequencing on the Clinical Management of Acutely Ill Infants With Suspected Genetic Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatrics* 2021;175(12):1218-26.
- van den Akker J, Hon L, Ondov A, Mahkovec Z, O'Connor R, Chan RC, Lock J, Zimmer AD, Rostamianfar A, Ginsberg J, Leon A, Topper S. Intronic Breakpoint Signatures Enhance Detection and Characterization of Clinically Relevant Germline Structural Variants. *J Mol Diagn* 2021;23(5):612-29.

- Wallace SE et Bean LJH. Educational Materials — Genetic Testing: Current Approaches [site Web]. June 18, 2020 éd. Seattle, WA : GeneReviews® [Internet]; 2020. Disponible à : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279899/> (consulté le 2023-09-01).
- Whitehead N, Kahwati L, Moore A, Kennedy S, Hill C, Palmieri Weber R, Voisin C, Monroe L, Rachman S, Samll L. Whole Exome Sequencing - Final evidence report. October 21, 2019 éd. Olympia, WA : Washigton State Health Care Authority (WSHCA); 2019. Disponible à : <https://www.hca.wa.gov/assets/program/whole-exome-sequencing-final-rpt-20191022.pdf>.
- Woodward AA, Urbanowicz RJ, Naj AC, Moore JH. Genetic heterogeneity: Challenges, impacts, and methods through an associative lens. *Genet Epidemiol* 2022;46(8):555-71.
- Yao RA, Akinrinade O, Chaix M, Mital S. Quality of whole genome sequencing from blood versus saliva derived DNA in cardiac patients. *BMC Medical Genomics* 2020;13(1):11.
- Yu AC, Yim AK, Chan AY, Yuen LYP, Au WC, Cheng THT, Lin X, Li JW, Chan LWL, Mok VCT, Chan TF, Chan HYE. A Targeted Gene Panel That Covers Coding, Non-coding and Short Tandem Repeat Regions Improves the Diagnosis of Patients With Neurodegenerative Diseases. *Front Neurosci* 2019;13:1324.
- Zhang L, Shen M, Shu X, Zhou J, Ding J, Zhong C, Pan B, Wang B, Zhang C, Guo W. Intronic position +9 and -9 are potentially splicing sites boundary from intronic variants analysis of whole exome sequencing data. *BMC Medical Genomics* 2023;16(1):146.

**Institut national
d'excellence en santé
et en services sociaux**

Québec



Siège social

2535, boulevard Laurier, 5^e étage
Québec (Québec) G1V 4M3
418 643-1339

Bureau de Montréal

2021, avenue Union, 12^e étage, bureau 1200
Montréal (Québec) H3A 2S9
514 873-2563

inesss.qc.ca

