

# Séquençage du génome comme test diagnostique

Gregory Costain MD PhD, Ronald D. Cohn MD, Stephen W. Scherer PhD DSc, Christian R. Marshall PhD

■ Citation : *CMAJ* 2021 October 25;193:E1626-9. doi : 10.1503/cmaj.210549-f

Voir la version anglaise de l'article ici : [www.cmaj.ca/lookup/doi/10.1503/cmaj.210549](http://www.cmaj.ca/lookup/doi/10.1503/cmaj.210549)

On a de plus en plus recours aux analyses génétiques de l'ADN constitutif des patients (de leur génome) dans la pratique médicale<sup>1-3</sup>. Séquençer le génome humain complet (environ 3,2 milliards de nucléotides) est désormais possible en quelques jours à quelques semaines, à un coût similaire à celui de certaines épreuves d'imagerie avancée ou d'une brève hospitalisation<sup>3,4</sup>. Le séquençage du génome est déjà intégré à des systèmes de soins de santé ailleurs dans le monde, particulièrement au Royaume-Uni<sup>5</sup>. Depuis 2021, le séquençage du génome est effectué comme test génétique en Ontario, au Canada.

## Qu'est-ce que le séquençage du génome?

Le séquençage du génome (ou profilage génomique complet) est un test complet qui permet de détecter presque toutes les variations de l'ADN d'un génome. Le séquençage permet de diagnostiquer la plupart des plus de 6000 maladies de la base de données OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man, [www.omim.org](http://www.omim.org)) dont on connaît actuellement l'origine génétique. Cela inclut la fibrose kystique, la dystrophie musculaire de Duchenne, l'hypercholestérolémie familiale, l'hémophilie A, le syndrome de Lynch, le syndrome de Marfan et la néoplasie endocrinienne multiple. La plupart de ces diagnostics étant rares (< 1 sur 2000 naissances vivantes) ou ultra-rares (< 100 cas rapportés dans la littérature médicale), ils sont moins susceptibles d'être soupçonnés a priori (p. ex., syndrome Kabuki, figure 1). Les patients peuvent présenter une constellation inhabituelle des caractéristiques ou être aussi atteints de maladies plus courantes, entre autres exemples : trouble du spectre de l'autisme, cardiomyopathie, cardiopathie congénitale, épilepsie, cancer, schizophrénie ou démence.

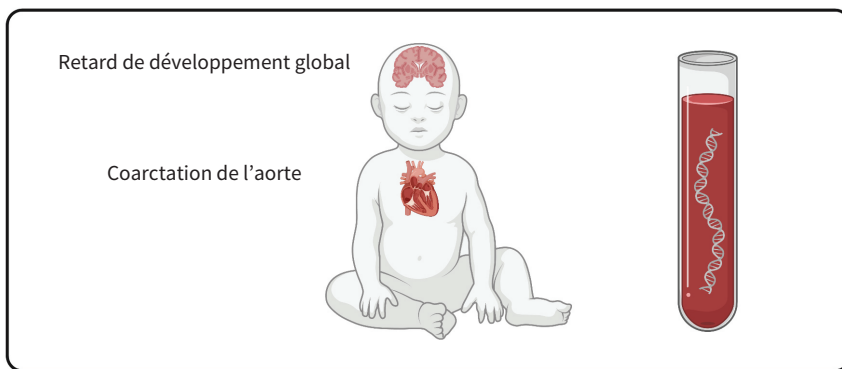
Le séquençage du génome a une portée plus vaste que les autres tests génétiques d'usage courant (encadré 1), et les données ainsi obtenues peuvent être analysées aussi bien pour vérifier une hypothèse que pour en générer. C'est pourquoi le séquençage du génome est probablement appelé à supplanter un jour le séquençage de l'exome, les grands panels de séquençage de nouvelle génération et les analyses chromosomiques sur micropuce.

## Points clés

- Le séquençage du génome est un test génétique complet qui commence à être intégré aux systèmes de santé ailleurs dans le monde.
- Les indications du test incluent les soupçons de maladies génétiques chez les enfants et les adultes pour qui une approche génétique ciblée est peu susceptible de donner des résultats concluants ou a déjà produit des résultats négatifs.
- La validité analytique, le rendement diagnostique et l'utilité clinique du séquençage du génome sont similaires ou supérieurs à ceux d'autres tests génétiques cliniques tels que le séquençage de l'exome, les analyses chromosomiques sur micropuce et les panels de séquençage de nouvelle génération.
- L'adoption du séquençage du génome là où c'est approprié en tant que test diagnostique moléculaire au Canada serait facilitée par une stratégie nationale cohérente de médecine génomique.

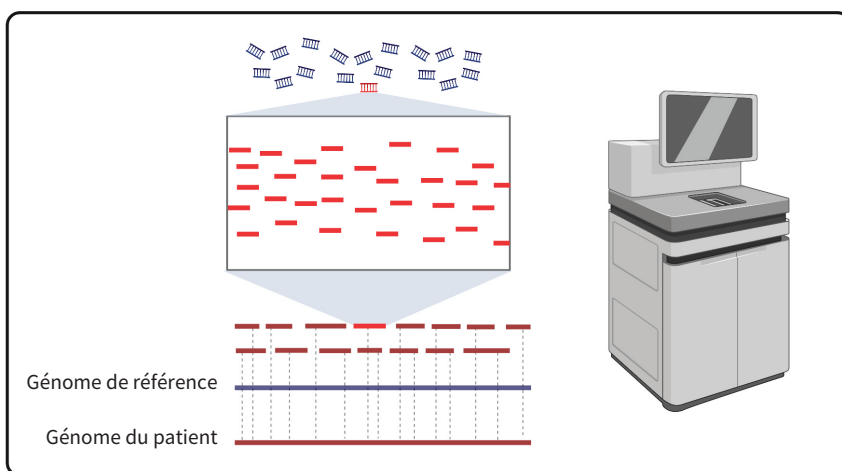
## Comment se fait le séquençage du génome?

Le séquençage du génome est un processus en 3 étapes (figure 1). Premièrement, un généticien ou autre professionnel de la santé recueille les renseignements nécessaires sur le phénotype et les antécédents familiaux. Deuxièmement, le génome est séquençé, puis les résultats sont passés en revue par un généticien de laboratoire. Troisièmement, un médecin compare les observations génétiques et le phénotype clinique. Les résultats principaux sont les variations génétiques qui peuvent expliquer en tout ou en partie le tableau clinique. La mise en évidence de ces variations est le principal objectif du séquençage du génome en tant que test diagnostique clinique. En Amérique du Nord, certains laboratoires exploreront en outre activement certains résultats secondaires, comme les variants de certains gènes spécifiquement associés à des maladies que la médecine peut traiter, sans qu'il y ait un lien avec le motif initial du test<sup>7</sup>. La communication des résultats fait partie intégrante du cadre qui régit le counseling génétique (encadré 2) et elle relève souvent du médecin généticien ou du conseiller en génétique.



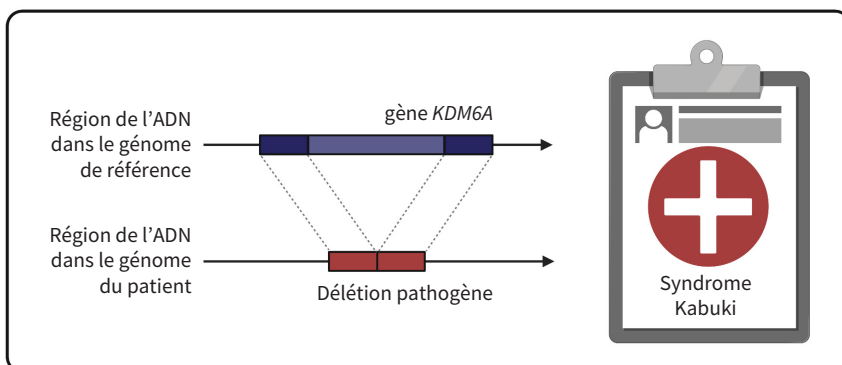
### Avant le séquençage

- 1 Recueillir les antécédents médicaux et familiaux
- 2 Fournir un counseling prétést
- 3 Recueillir les échantillons pour extraction de l'ADN



### Séquençage

- 4 Fragmenter l'ADN en petits segments
- 5 Générer des centaines de millions de lectures de séquences
- 6 Aligner les séquences sur un génome de référence



### Après le séquençage

- 7 Identifier les variants potentiellement associés à la maladie
- 8 Vérifier la corrélation avec le phénotype clinique
- 9 Remettre les résultats et offrir un counseling génétique

**Figure 1 :** Processus de séquençage du génome. L'illustration du centre est une adaptation de « Whole Genome Sequencing » par BioRender.com (2021); accessible en anglais au <https://app.biorender.com/biorender-templates>. Remarque : Les variants du gène *KDM6A* sont liés au syndrome Kabuki. Après un counseling approprié préalable au test, y compris une revue des résultats possibles, on prélève un échantillon d'ADN du patient, habituellement par prise de sang. Les échantillons provenant des parents biologiques sont souvent séquençés en parallèle pour fournir davantage d'information sur le bagage héréditaire. L'ADN est coupé en courts fragments et analysé au moyen d'un appareil de séquençage à haut débit qui génère des millions de séquences de nucléotides, ou « lectures ». Les lectures sont appariées à un génome de référence et assemblées comme si on faisait casse-tête en observant l'image sur la boîte. Le nombre moyen de lectures pour une position génomique donnée (« profondeur de lecture ») est généralement de 30 à 40. Les variations (différences) par rapport au génome de référence sont notées à l'aide d'outils bio-informatiques sophistiqués et de volumineuses bases de données sur les variations génétiques. Ces variations sont ensuite filtrées et étudiées par un analyste du génome pour identifier au moins une variation susceptible d'expliquer le tableau clinique observé.

### Encadré 1 : Présentation sommaire de certains tests génétiques cliniques<sup>6</sup>

Dans les cas où le phénotype du patient présente une hétérogénéité génétique connue, les tests suivants sont fréquemment employés dans la pratique clinique :

- Analyse chromosomique sur micropuce : test sur le génome complet qui ne détecte typiquement que les variations du nombre de copies (c.-à-d., déséquilibres chromosomiques).
- Panel de séquençage de nouvelle génération : test ciblé qui vise une liste prédéfinie de gènes et permet typiquement de détecter uniquement les variations dans les exons et les délétions ou duplications dans les gènes concernés.
- Séquençage de l'exome : test sur le génome complet qui permet typiquement de détecter uniquement les variations dans la séquence de l'exon, une sous-catégorie de délétions ou de duplications à l'échelle de l'exon ou une sous-catégorie de variations du nombre de copies.
- Séquençage du génome : cette approche offre de multiples avantages en tant que test complet unique : le séquençage du génome avec lectures courtes actuel permet de détecter avec fiabilité les variations dans la séquence, la structure et le nombre des copies, tant à l'intérieur qu'à l'extérieur des exons, de même que les répétitions en tandem courtes cliniquement pertinentes, les pseudogènes et les variations de l'ADN mitochondrial.

Le coût du séquençage de l'ADN est de moins en moins élevé et le test est de plus en plus précis grâce aux progrès technologiques. On parle toutefois ici d'un test clinique dont le coût se calcule en milliers de dollars canadiens pour une analyse familiale, sans compter les investissements initiaux en termes de personnel, d'équipement et d'infrastructure.

### Qui est candidat au séquençage du génome?

On demandera le séquençage du génome pour les enfants et les adultes qu'on soupçonne d'être atteints de maladies génétiques et chez qui les tests génétiques ciblés sont peu susceptibles de donner des résultats concluants ou ont déjà produit des résultats négatifs. En Ontario, le séquençage du génome fait l'objet d'une étude pilote de 2 ans dans le cadre du projet Genome-wide Sequencing Ontario ([www.gsontario.ca](http://www.gsontario.ca)), dont les résultats préliminaires seront publiés sous peu. Le test doit être demandé par un médecin généticien ou un médecin ayant une expertise comparable. Les critères d'admissibilité privilégient actuellement les personnes présentant de multiples anomalies congénitales inexplicables ou un retard développemental de modéré à grave, et concernent les scénarios où un diagnostic unificateur risque fort d'influencer la prise en charge.

### Quels sont les risques?

Le séquençage comme tel est sans danger; les conséquences potentiellement négatives du test sont plutôt liées à la façon dont ses résultats sont interprétés et divulgués. Premièrement, le séquençage du génome peut être considéré à tort comme un substitut du diagnostic. Les renseignements cliniques et les

### Encadré 2 : Présentation sommaire du counseling génétique

Les conseillers en génétique sont des professionnels de la santé dont la formation et l'expérience leur permet d'offrir des conseils génétiques. Au Canada, certains sont membres de l'Association canadienne des conseillers en génétique ([www.cagc-accg.ca/](http://www.cagc-accg.ca/)). La National Society of Genetic Counselors définit le counseling génétique comme un processus qui vise à aider les gens à comprendre les implications médicales, psychologiques et familiales de l'aspect génétique d'une maladie et à s'y adapter. Ce processus intègre les éléments suivants :

- Interprétation des antécédents familiaux et médicaux pour évaluer le risque de survenue ou de récurrence d'une maladie.
- Éducation sur l'hérédité, les tests, la prise en charge, la prévention, les ressources et la recherche.
- Conseil visant à promouvoir des choix éclairés et l'adaptation au risque ou à l'affection elle-même<sup>8</sup>.

Les sociétés professionnelles comme le Collège canadien des généticiens médicaux<sup>9</sup> et l'American College of Medical Genetics and Genomics<sup>10</sup> reconnaissent l'importance du counseling génétique avant et après la réalisation des tests dans le contexte du séquençage du génome complet (exome ou génome).

antécédents familiaux précis demeurent importants pour l'interprétation des résultats. Par ailleurs, un résultat positif pourrait ne pas expliquer la totalité des symptômes d'un patient, et un résultat négatif ne permet pas d'écarter une influence génétique ni d'invalider un diagnostic clinique clair<sup>11</sup>. Deuxièmement, la classification d'une variation génétique peut changer avec le temps, à mesure que les connaissances évoluent<sup>12</sup>. Certains groupes ethniques demeurent sous-représentés dans les volumineuses bases de données de référence des variations génomiques qui guident l'interprétation; les erreurs de diagnostic sont une possibilité chez ces groupes<sup>12</sup>. Troisièmement, les résultats d'un test génétique peuvent révéler des renseignements inattendus sur le patient, les membres de sa famille et leur relation. Ces éléments viennent renforcer l'importance d'un counseling pré- et post-test approfondi et la nécessité de recourir à des professionnels de la génétique dûment formés (encadré 2). Une autre précaution contre les préjudices potentiels liés à ces tests est la *Loi canadienne sur la non-discrimination génétique*, entrée en vigueur en 2017, qui vise à protéger les individus contre toute discrimination génétique sur la base des résultats de leurs tests<sup>13</sup>.

### Quel est l'état actuel des connaissances?

La plupart des données proviennent d'essais observationnels prospectifs portant sur des tests menés dans des populations cliniquement hétérogènes dans des cas où on soupçonne une maladie génétique rare<sup>1,2,4,5,14,15</sup>. Les paramètres principaux sont habituellement le rendement diagnostique ou le délai avant l'obtention du diagnostic. L'utilité clinique et le rapport coût-efficacité sont des paramètres d'intérêt secondaires. Le rendement diagnostique du séquençage du génome est plus élevé que ceux du séquençage de l'exome et des analyses chromosomiques sur

micropuce<sup>1,11,14,15</sup>, à un coût de plus en plus concurrentiel<sup>2</sup>. Les différentes catégories de phénotypes sont associées à des rendements diagnostiques différents<sup>2,3,5</sup>. Par exemple, le rendement peut être supérieur à 50% chez les personnes qui présentent un handicap intellectuel de grave à profond, mais inférieur à 10% dans la plupart des cohortes touchées par une seule anomalie congénitale majeure. Une revue exhaustive de la littérature a recensé 36 études sur des enjeux cliniques et de laboratoire qui appuient collectivement le séquençage du génome de préférence aux autres tests génétiques standards actuels (encadré 1)<sup>2</sup>.

L'utilisation du séquençage du génome avec résultats rapides est déjà bien établie en néonatalogie et aux soins intensifs pédiatriques, comme en témoignent 2 essais randomisés et contrôlés montrant un rendement diagnostique rapide et une utilité clinique accrue par rapport aux tests habituels<sup>1,4</sup>.

## Que nous réserve l'avenir?

Le séquençage du génome est appelé à devenir une analyse de premier plan chez les enfants et les adultes que l'on soupçonne d'être atteints de maladies génétiques présentant une forte hétérogénéité génétique (c.-à-d., un vaste tableau diagnostique différentiel et de nombreux gènes ou locus candidats)<sup>2,3,5,11,14,15</sup>. Cela contribuera à réduire la pratique actuelle de recourir à de nombreux tests génétiques successifs et raccourcira plusieurs parcours diagnostiques. Les résultats remis aux patients pourraient inclure des profils pharmacogénétiques, des renseignements sur le statut de porteur de maladies héréditaires et le profil de risque génétique à l'égard de maladies d'apparition plus tardive<sup>16</sup>. Le rôle du séquençage du génome comme outil de santé préventif chez des personnes manifestement en santé reste à déterminer<sup>16</sup>.

Il faudra plus de données probantes pour faire le point sur l'utilité clinique, le rapport coût-efficacité et de possibles conséquences involontaires associées au séquençage du génome pour notre système de santé. L'avantage du séquençage du génome par rapport au séquençage de l'exome reste modeste dans certaines cohortes; toutefois, l'écart s'élargira avec l'évolution des techniques d'analyse des données et la création de gros ensembles de données permettant les comparaisons<sup>2,11,15</sup>. La perspective d'une manne additionnelle d'informations cliniquement pertinentes provenant de secteurs encore inexplorés du génome est également un moteur qui stimule les investissements dans cette technologie<sup>2,5,11</sup>.

L'adoption du séquençage du génome comme test diagnostique au Canada là où c'est approprié bénéficierait d'une stratégie nationale coordonnée en médecine génomique alliant la recherche fondamentale et la recherche clinique, comme c'est le cas au Royaume-Uni et en Australie. Les projets de génomique appliquée, comme Care4Rare Canada ([www.care4rare.ca](http://www.care4rare.ca)), la clinique CAUSES de l'Hôpital pédiatrique de la Colombie-Britannique, le Centre intégré de génomique clinique pédiatrique de Montréal, le Silent Genomes Project ([www.bcchr.ca/silent-genomes-project](http://www.bcchr.ca/silent-genomes-project)), l'initiative Tous pour un de Génome Canada ([www.genomecanada.ca](http://www.genomecanada.ca)) et les efforts d'hôpitaux tertiaires individuels (p. ex., l'Hôpital pour enfants malades de Toronto)

continuent d'évoluer. Ces initiatives centrées sur des maladies en particulier tireraient profit d'une initiative de séquençage parallèle du génome de la population nationale pour étudier les déterminants génétiques de la santé. L'offre du séquençage du génome à des fins diagnostiques au Canada exigera aussi qu'on forme plus de personnel, y compris des médecins généticiens, des généticiens de laboratoire et des conseillers en génétique pour améliorer la littératie génétique de diverses populations du Canada. Assurer un accès équitable aux soins sur la base du code génétique, peu importe le code postal, est tout un défi pour des pays qui sont vastes comme le Canada et les États-Unis, mais nous suggérons néanmoins aux décideurs d'en faire une priorité.

## Références

- Clark MM, Stark Z, Farnaes L, et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genom Med* 2018;3:16.
- Bick D, Jones M, Taylor SL, et al. Case for genome sequencing in infants and children with rare, undiagnosed or genetic diseases. *J Med Genet* 2019;56:783-91.
- Manickam K, McClain MR, Demmer LA, et al.; ACMG Board of Directors. Exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability: an evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2021 July 1 [cyberpublication avant impression]. doi: 10.1038/s41436-021-01242-6.
- Dimmock DP, Clark MM, Gaughran M, et al.; RIGM Investigators. An RCT of rapid genomic sequencing among seriously ill infants results in high clinical utility, changes in management, and low perceived harm. *Am J Hum Genet* 2020;107:942-52.
- Turro E, Astle WJ, Megy K, et al. Whole-genome sequencing of patients with rare diseases in a national health system. *Nature* 2020;583:96-102.
- Wallace SE, Bean LJH. Educational materials: genetic testing — current approaches. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington; 2017, revised 2020 June 18.
- Miller DT, Lee K, Chung WK, et al. ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) [erratum publié dans *Genet Med* 2021;23:1582-4]. *Genet Med* 2021;23:1381-90.
- National Society of Genetic Counselors' Definition Task Force, Resta R, Biesecker BB, et al. A new definition of genetic counseling: national society of genetic counselors' task force report. *J Genet Couns* 2006;15:77-83.
- Boycott K, Hartley T, Adam S, et al. 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;52:431-7.
- Manickam K, McClain MR, Demmer LA, et al. Exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability: an evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2021 July 1 [cyberpublication avant impression] doi: 10.1038/s41436-021-01242-6.
- Marshall CR, Chowdhury S, Taft RJ, et al. Best practices for the analytical validation of clinical whole-genome sequencing intended for the diagnosis of germline disease. *NPJ Genom Med* 2020;5:47.
- Manrai AK, Funke BH, Rehm HL, et al. Genetic misdiagnoses and the potential for health disparities. *N Engl J Med* 2016;375:655-65.
- Genetic Non-discrimination Act (GNA)* (formerly Bill S-201) [fiche descriptive]. Oakville (ON): Canadian Association of Genetic Counsellors; revised 2018 June 28. Accessible ici : <https://www.cagc-accg.ca/doc/revise%20GNA%20fact%20sheet%20-%20Jun%2028%202018.pdf> (consulté le 20 juill. 2021).
- Lionel AC, Costain G, Monfared N, et al. Improved diagnostic yield compared with targeted gene sequencing panels suggests a role for whole-genome sequencing as a first-tier genetic test. *Genet Med* 2018;20:435-43.
- Costain G, Walker S, Marano M, et al. Genome sequencing as a diagnostic test in children with unexplained medical complexity. *JAMA Netw Open* 2020;3:e2018109.
- Reuter MS, Walker S, Thiruvahindrapuram B, et al. The Personal Genome Project Canada: findings from whole genome sequences of the inaugural 56 participants. *CMAJ* 2018;190:E126-36.

**Intérêts concurrents :** Stephen Scherer déclare avoir reçu des redevances d'Athena Diagnostics, de Lineagen et de Population Bio, et des honoraires de consultation de Population Bio et de Deep Genomics. Aucun autre intérêt concurrent n'a été déclaré.

Cet article a été révisé par des pairs.

**Affiliations :** Division de génétique clinique et métabolique (Costain, Cohn), Hôpital pour enfants malades (SickKids); Département de pédiatrie (Costain, Cohn), Université de Toronto; Génétique et biologie du génome (Costain, Cohn, Scherer), Institut de recherche de SickKids; Département de génétique moléculaire (Costain, Cohn, Scherer), Université de Toronto; Centre de génomique appliquée (Scherer, Marshall), SickKids; Département de médecine de laboratoire et de pathobiologie (Marshall), Université de Toronto; Diagnostic génomique (Marshall), Département de médecine de laboratoire pédiatrique, SickKids, Toronto, Ont.

**Collaborateurs :** Gregory Costain a rédigé le manuscrit, et Ronald Cohn, Stephen Scherer et Christian Marshall en ont révisé de façon critique le contenu intellectuel important. Tous les auteurs ont donné leur approbation finale pour la version destinée à être publiée et assument l'entière responsabilité de tous les aspects du travail.

**Propriété intellectuelle du contenu :** Il s'agit d'un article en libre accès distribué conformément aux modalités de la licence Creative Commons Attribution (CC BY-NC-ND 4.0), qui permet l'utilisation, la diffusion et la reproduction dans tout médium à la condition que la publication originale soit adéquatement citée, que l'utilisation se fasse à des fins non commerciales (c.-à-d., recherche ou éducation) et qu'aucune modification ni adaptation n'y soit apportée. Voir : <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>.

**Financement :** Les projets de recherche en génomique appliquée du groupe ont été financés en partie par Génome Canada, les Instituts de recherche en santé du Canada, la Fondation SickKids, le centre de médecine génétique du SickKids et le Centre McLaughlin de l'Université de Toronto. Le projet pilote sur le séquençage du génome complet en Ontario est réalisé en collaboration avec le Laboratoire de génétique du Centre hospitalier pour enfants de l'est de l'Ontario et le Laboratoire de diagnostic génomique de l'Hôpital pour enfants malades de Toronto (SickKids).

**Correspondance :** Gregory Costain, [gregory.costain@sickkids.ca](mailto:gregory.costain@sickkids.ca)

Le *JAMC* vous invite à soumettre vos textes pour la rubrique « Innovations » qui met en évidence les récentes avancées diagnostiques et thérapeutiques. De nouvelles utilisations de traitements existants seront également considérées. Pour la publication, les avantages de l'innovation, sa disponibilité et ses limites doivent être mis en évidence clairement, mais brièvement. Les éléments visuels (images) sont essentiels. Veuillez soumettre de brefs articles factuels (1000 mots et 5 références maximum) en ligne au <http://mc.manuscriptcentral.com/cmaj> ou envoyez un courriel à [andreas.laupacis@cmaj.ca](mailto:andreas.laupacis@cmaj.ca) pour échanger des idées.