

Le NGS (*Next-Generation Sequencing*, Séquençage de Nouvelle Génération) a conduit depuis son avènement en 2005 à une révolution dans la dimension des analyses génétiques, par un changement majeur d'échelle des capacités de séquençage, avec de nombreuses applications initialement dans le domaine de la recherche, puis largement dans le domaine du diagnostic des maladies monogéniques hétérogènes [1]. Dans le cadre du second Plan National Maladies Rares (PNMR2 ; 2011-2014), les Laboratoires de Diagnostic Génétique des Centres Hospitaliers français ont été équipés progressivement en plateformes de NGS. L'implémentation du NGS dans les laboratoires hospitaliers français a permis l'intégration de ces analyses dans la démarche diagnostique pour de nombreuses pathologies génétiquement hétérogènes, dont les myopathies. Les analyses classiques par séquençage Sanger ont alors été progressivement remplacées par des approches NGS, majoritairement de type « panel de gènes » [1-3]. Néanmoins, en raison d'un manque initial de concertation des laboratoires sur le plan national, l'utilisation en routine diagnostique du NGS a rapidement été confrontée à des problèmes d'hétérogénéité à différents niveaux, notamment en termes de technologies utilisées (type de séquenceur), de listes de gènes analysés, de classification des variants identifiés, et d'intégration du NGS dans la démarche diagnostique. Ceci a conduit à une grande disparité dans l'offre diagnostique actuelle, complexifiant la visibilité pour les cliniciens prescripteurs (« *Quelle prescription d'analyses génétiques pour quelle indication, et où puis-je envoyer l'échantillon de mon patient atteint de myopathie ?* »).

Cette problématique a été abordée sur le plan national depuis 2015 dans le cadre de différentes Filières de Soins Maladies Rares, et en lien avec l'Association Nationale de Praticiens en Génétique Moléculaire (ANPGM), avec la constitution de commissions ou groupes de travail spécifiques. Ceci a permis d'initier des travaux d'homogénéisation nationale des analyses par NGS (Figure 1).

Dans le domaine des myopathies, le Sous-groupe Génétique Moléculaire de la Commission Outils diagnostiques de notre filière FILNEMUS a engagé différentes actions en ce sens, qui ont été présentées lors de la journée NGS-FILNEMUS en mars 2017 (vidéos des présentations disponibles sur le site www.filnemus.fr). Par

Vers une homogénéisation nationale des analyses par NGS dans la démarche diagnostique pour les myopathies

Martin Krahn^{1,2}, Mathieu Cerino^{1,2}, Emmanuelle Campana-Salort^{1,3}, Mireille Cossée^{4,5}



¹Aix Marseille Université, Inserm UMR_S 910, GMGF, 13385, Marseille, France.

²APHM, Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfants, 13385, Marseille, France.

³APHM, Hôpital Timone, Centre de référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, Marseille, France.

⁴CHRU Montpellier, Laboratoire de Génétique moléculaire, Montpellier, France.

⁵Université Montpellier, Laboratoire de Génétique de maladies rares, Montpellier, France.

martin.krahn@univ-amu.fr
mireille.cossee@inserm.fr

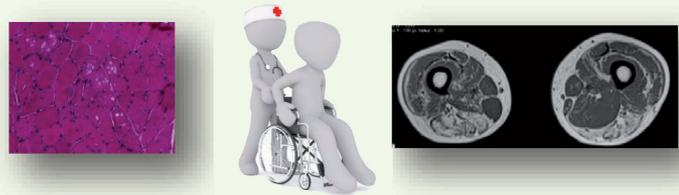
ailleurs, il est apparu rapidement que l'interprétation finale des résultats du NGS requiert une confrontation systématique aux données cliniques et paracliniques disponibles, dans l'idéal, lors d'une réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP) dédiée.

Nous avons souhaité présenter ici de manière synthétique, sous la forme d'un tableau détaillé (Tableau 1), un point d'étape clair récapitulant les différentes actions, finalisées, en cours ou prévues, depuis 2015 pour une homogénéisation nationale des analyses par séquençage de nouvelle génération dans la démarche diagnostique pour les myopathies. Ces actions seront activement poursuivies en coordination avec les futures plateformes nationales de séquençage à très haut débit (Plan France Médecine Génomique 2025). ♦

Towards a national standardisation of NGS studies in the diagnosis of myopathies

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement leurs collègues cliniciens et de laboratoire, ainsi que les membres du Sous-groupe Génétique Moléculaire de la Commission Outils Diagnostiques de FILNEMUS et des différents groupes de travail de l'ANPGM, pour leur implication dans l'homogénéisation nationale des analyses par NGS.



Document de recueil synthétique des données cliniques et paracliniques (en cours)



Proposition de consentement – Groupe de travail Fondation maladies rares
 Consentement pour l'examen des CARACTÉRISTIQUES GÉNÉTIQUES d'une personne et la conservation des échantillons dans une banque d'ADN ou un centre de ressources biologiques

| | |
|--|--|
| IDENTIFICATION DU PATIENT (dépouille ou nom, prénom et date de naissance) | IDENTITÉ DU REPRESENTANT LEGAL (si patient mineur ou majeur sous tutelle) Nom : _____ Prénom : _____ Lien avec le patient : _____ |
|--|--|

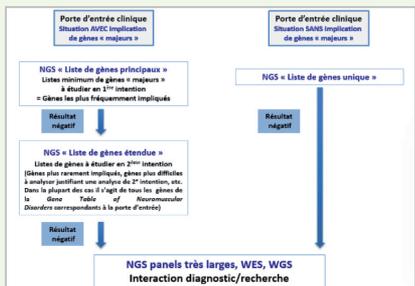
Je soussigné(e), reconnais avoir été informé(e) par le : Docteur Conseiller en génétique _____ sous la responsabilité du Dr _____

Homogénéisation du consentement éclairé



Homogénéisation des panels de gènes analysés par NGS

Arbres décisionnels incluant les panels de gènes (en cours)



Systématisation des interactions avec laboratoires de recherche pour la validation fonctionnelle de pathogénicité des variants (prévu)



Inventaire des laboratoires



Homogénéisation de la classification des variants (en cours)

ANPGM
 ASSOCIATION DES PRATICIENS DE GENETIQUE MOLECULAIRE (ANPGM)
 Recommandations ANPGM pour l'élaboration d'un compte rendu de résultats obtenus par analyse de Séquençage de Nouvelle Génération (NGS)
 Référence : BP-ANPGM_009 Numéro de version : 1
 Date de Création : 23/05/2014
 Date de la remise à jour : 11/07/2016

Homogénéisation du Compte-Rendu de NGS



Document de synthèse pour discussion des données cliniques, paracliniques en RCP (en cours)

Figure 1. Vue d'ensemble des actions d'homogénéisation nationale des analyses par NGS dans la démarche diagnostique pour les myopathies. Le descriptif détaillé des actions nationales FILNEMUS et hors FILNEMUS réalisées depuis 2015 ou prévues est présenté dans le tableau. RCP : Réunions de Concertation Pluridisciplinaires ; NGS : Séquençage de Nouvelle Génération.

| Étape dans la démarche diagnostique | Actions nationales FILNEMUS réalisées, et documents/outils disponibles | Actions nationales réalisées hors FILNEMUS, et documents/outils disponibles | Actions nationales en cours ou prévues |
|--|---|---|--|
| Caractérisation phénotypique (dont orientation diagnostique, RCP pré-analyses NGS) | <ul style="list-style-type: none"> - Établissement de l'inventaire national des services d'anatomie pathologique - Établissement de Listes de gènes nationales consensuelles (disponibles sur l'espace professionnel du site FILNEMUS, www.filnemus.fr) - Établissement de l'inventaire national des laboratoires, avec déclaration des listes de gènes analysées par les laboratoires respectifs (disponibles sur l'espace professionnel du site FILNEMUS, www.filnemus.fr) | <ul style="list-style-type: none"> - Mise à disposition d'un modèle national de consentement à l'étude des caractéristiques génétiques, et d'une Notice d'information pour un consentement à l'étude des caractéristiques génétiques (disponibles sur le site www.fondation-maladiesrareres.org/document/) | <ul style="list-style-type: none"> - Actualisation des arbres décisionnels par thématique, avec intégration des listes de gènes consensuelles (Action FILNEMUS) - Systématisation des RCP d'indication pour analyses NGS (Action CNMRs/FILNEMUS) - Choix d'un outil national de RCP |
| Prescription d'analyses NGS* et adressage de l'échantillon au laboratoire | | <ul style="list-style-type: none"> - Différentes actions d'homogénéisation des analyses (étapes pré-analytique, analytique et post-analytique), (Actions ANPGM et Réseau NGS-DIAG); - Actions ANPGM et Réseau NGS-DIAG, informations disponibles sur le site de l'Association Nationale des Praticiens en Génétique Moléculaire www.anpgm.fr); - dont homogénéisation des comptes-rendus d'analyses génétiques par NGS | <ul style="list-style-type: none"> - Différentes actions d'homogénéisation des analyses (étapes pré-analytique, analytique et post-analytique) dont homogénéisation de la classification des variants (initiée par FILNEMUS, ANDDI-RARE, DEFISCIENCE et Réseau NGS-DIAG) ; - et systématisation de l'interaction des laboratoires de diagnostic génétique avec les laboratoires de recherche pour la validation fonctionnelle de pathogénicité de variants (Action FILNEMUS) |
| Réalisation des analyses NGS par le laboratoire | <ul style="list-style-type: none"> - Mise en place d'un consortium national destiné aux titinopathies | <ul style="list-style-type: none"> - Elaboration d'un document de synthèse utilisable en RCP pour la discussion des données cliniques, paracliniques et génétiques (Action CNMRs/FILNEMUS) - Choix d'un outil national de RCP | <ul style="list-style-type: none"> - Elaboration d'un document de synthèse utilisable en RCP pour la discussion des données cliniques, paracliniques et génétiques (Action CNMRs/FILNEMUS) - Choix d'un outil national de RCP |

Tableau 1. Actions réalisées ou prévues depuis la création de FILNEMUS en 2015 pour l'homogénéisation nationale des analyses par NGS dans la démarche diagnostique pour les myopathies.

RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire ; CRMN : Centre de Référence - Maladies Neuromusculaires

*La réalisation d'analyses NGS par le laboratoire nécessite l'envoi systématique de certains documents lorsque l'échantillon est adressé au laboratoire :

- Synthèse des données cliniques et paracliniques disponibles pour le patient et sa famille
- Consentement/attestation de consultation signés par le patient (ou tuteur légal) et le médecin prescripteur
- Prescription de l'analyse
- Documents relatifs à la facturation RIHN (Référentiel des actes Innovants Hors Nomenclature) des analyses

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

3. Gorokhova S, Biancalana V, Lévy N, et al. Clinical massively parallel sequencing for the diagnosis of myopathies. *Rev Neurol* 2015 ; 171 : 558-71.

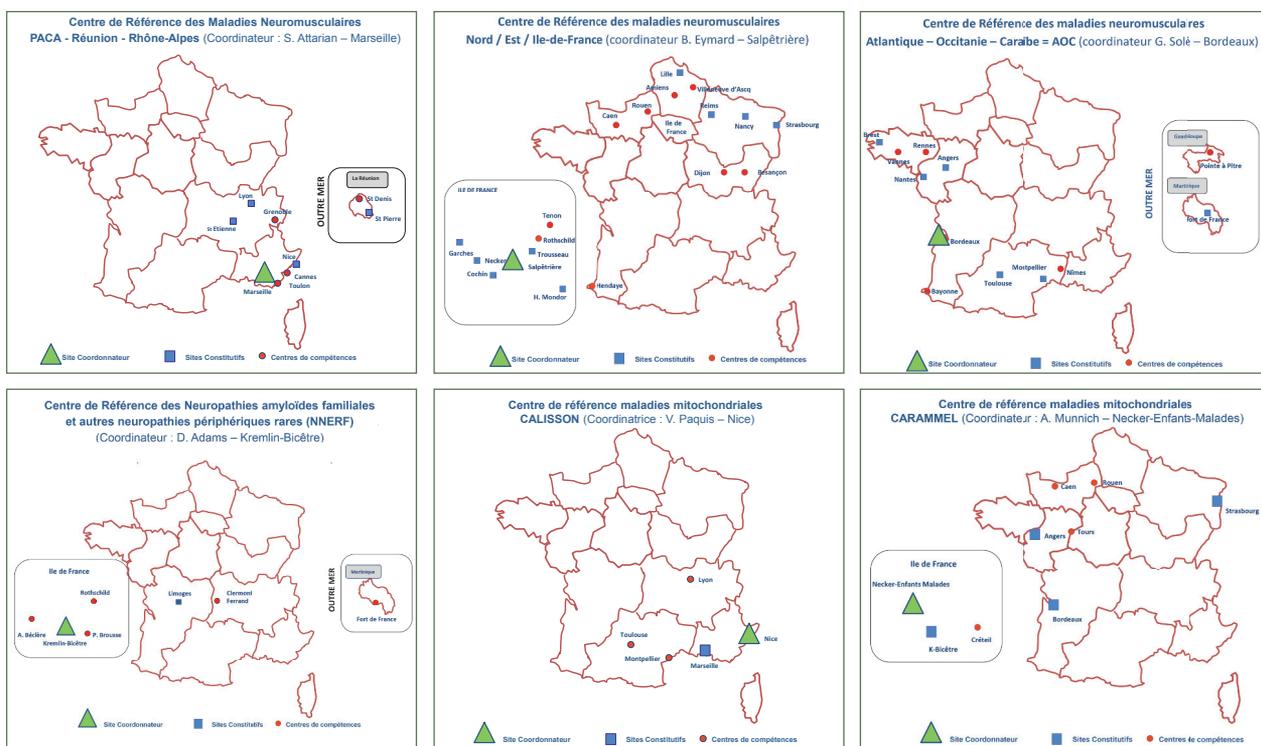
RÉFÉRENCES

1. Krahn M, Lévy N, Bartoli M. Le séquençage de nouvelle génération appliqué au diagnostic de maladies monogéniques hétérogènes : notions essentielles pour le dialogue entre cliniciens et généticiens. *Cah Myol* 2016 ; 13 : 31-3.
2. Krahn M, Arveiler B. Le séquençage de nouvelle génération : principe, applications en diagnostic et perspectives. In : *livre national d'enseignement-Génétique Médicale-DFGSM2/3*. Issy-les-Moulineaux : Elsevier-Masson, 2016.

TIRÉS À PART

M. Krahn

La cartographie de la filière FILNEMUS évolue... d'après l'arrêté ministériel du 15 septembre 2017



FILNEMUS est une des 23 Filières de Santé Maladies Rares (FSMR) retenues par le Ministère dans le cadre du second plan national maladies rares 2011-2016. Les affections relevant de la filière FILNEMUS incluent les maladies du muscle (myopathies), les maladies de la jonction neuromusculaire, les maladies rares du nerf périphérique et les amyotrophies spinales infantiles. À ce jour, on compte en France entre 40 000 et 50 000 personnes atteintes de pathologie neuromusculaire.

FILNEMUS rassemble les centres de références et les centres de compétence neuromusculaires et intègre également les laboratoires de diagnostic, l'ensemble des acteurs de la prise en charge pluridisciplinaire, les chercheurs travaillant sur la thématique neuromusculaire, les associations de patients, les acteurs du domaine médico-social ainsi que les sociétés savantes concernées par les maladies neuromusculaires.

FILNEMUS a pour objectifs d'améliorer le diagnostic et la prise en charge des patients atteints de maladies neuromusculaires et de favoriser les interactions entre les différents acteurs au service du patient.

Le site internet de FILNEMUS www.filnemus.fr est un outil d'informations et de communication à destination des professionnels concernés par la Filière ainsi que pour les patients atteints de maladies neuromusculaires et leur famille.

