

# Bonnes Pratiques

Pour les applications cliniques du séquençage à haut débit (SHD)

Document de consensus suisse  
de la Société suisse de génétique médicale (SSGM)

*Ce document, approuvé par le Comité de la SSGM a été soumis à l'OFSP le 6 janvier 2025 afin de remplacer la version actuellement mentionnée dans la Liste des Analyses de l'OPAS. Il est encore en cours d'examen par l'OFSP et la CFAMA.*

Version 2

Janvier 2025

## Comité de rédaction, version originale

M. Albarca Aguilera (PhD), Prof. S. Antonarakis (MD, PhD, FMH, FAMH), J-L. Blouin (PhD, FAMH), S. Fokstuen (MD, FMH), Prof. S. Gallati Kraemer (PhD, FAMH), M. Guipponi (PhD), E. Hammar (PhD), Prof.S. Hurst (MD, PhD), P. Makrythanasis (MD, PhD), Prof. A. Mauron (PhD).

Relecture, version originale : I. Filges (MD, FMH, FAMH)

## Comité de révision, version 2

J-L Blouin (PhD, FAMH), M. Guipponi (PhD, FAMH), E. Hammar (PhD), F. Masclaux (PhD), T. Nouspikel (MD, PhD, FAMH)

Relecture version 2 : I. Filges (MD, FMH, FAMH), M. Morris (DPhil, FAMH), A. Rauch (MD, FMH, FAMH), S. Unger (MD, FMH).

## Sommaire

1. Introduction générale .....	3
1.1 Historique .....	3
2. Les maladies mendéliennes et le séquençage à haut débit: applications et champ d'action.....	4
3. Conseil génétique, prescription et consentement éclairé.....	5
3.1 Introduction.....	5
3.1.1 Bases légales .....	5
3.1.2 Conseils génétiques pour les analyses par SHD .....	5
3.1.3 Prescription d'une analyse par SHD .....	5
3.2 Conseil génétique pré-test SHD .....	5
3.3 Consentement éclairé du patient en vue d'une analyse par SHD.....	6
3.3.1 Droit de ne pas savoir.....	6
3.3.2 Réutilisation des échantillons et des données d'analyse .....	6
3.3.3 Informations excédentaires (« incidentalomes »).....	6
3.4 Conseil génétique post-test SHD.....	7
4. Standards de qualité spécifiques au séquençage à haut débit.....	7
4.1 Responsabilités et qualifications.....	7
4.2 Principe de territorialité .....	7
4.3 Aspects pratiques de l'étape laboratoire.....	8
4.4 Analyse bioinformatique .....	9
4.4.1 Introduction.....	9
4.4.2 Qualité des données et couverture des régions ciblées.....	10
4.4.3 Détection d'inversions d'échantillons .....	10
4.4.4 Détection et annotation des variants.....	11
4.4.5 Interprétation de pathogénicité .....	11
4.4.6 Vérifications de variants.....	11
5. Garantie de la qualité .....	12
5.1 Exigences spécifiques aux analyses par SHD.....	12
6. Rapport interne et rapport final de l'analyse par séquençage à haut débit.....	12
7. Stockage et transfert des données .....	14
7.1 Transfert de données de séquençage .....	14
8. Checklist à l'intention des laboratoires.....	15
9. Références .....	16

# 1. Introduction générale

Le séquençage à haut débit (SHD) de l'ADN est une technique qui permet de séquencer plusieurs gènes (ou parties de gènes) simultanément, jusqu'à tout l'exome, voire le génome humain entier, ce qui rend les analyses moléculaires toujours plus efficaces, rapides et abordables. Le développement du SHD a été rendu possible grâce, entre autres, au développement de séquenceurs « à haut débit » qui ont la capacité de lire plusieurs millions de séquences en parallèle.

Comparé à la méthode de séquençage classique selon Sanger ou aux différentes analyses des chromosomes, le SHD est de loin l'analyse génétique la plus exigeante. Des connaissances et une compréhension approfondies de la technique elle-même, ainsi que des domaines du génome humain et de la médecine génétique sont nécessaires pour être en mesure d'effectuer un conseil génétique approprié, d'analyser et interpréter les résultats, et d'accomplir le traitement bioinformatique des données. Il faut également que la gestion et le stockage des données issues de ces analyses (de l'ordre du téraoctet -  $10^{12}$  octets) soient adaptés aux besoins des analyses par SHD. Par conséquent, des mesures de bonnes pratiques doivent être mises en place afin de garantir que l'application clinique du SHD apporte un réel bénéfice aux patients.

La loi fédérale sur l'analyse génétique humaine (LAGH ; RS 810.12)<sup>1</sup> et l'ordonnance sur l'analyse génétique humaine (OAGH ; RS 810.122.1)<sup>2</sup> définissent un cadre légal général s'appliquant aux analyses génétiques en Suisse. Le document de référence pour la prise en charge des prestations de laboratoire par l'assurance obligatoire des soins (AOS) conformément à la loi fédérale sur l'assurance-maladie (LAMal ; 832.10)<sup>3</sup> est la Liste des Analyses<sup>4</sup> qui constitue l'annexe 3 de l'Ordonnance sur les prestations de l'assurance des soins (OPAS ; RS 832.112.31)<sup>5</sup>. Le site Internet de l'OFSP représente une précieuse source d'informations et de clarification sur ces textes et leur application : <http://www.bag.admin.ch>.

Le présent document a été élaboré initialement dans le contexte de l'introduction du SHD dans la Liste des Analyses. Il se base sur des expériences pratiques effectuées en Suisse, ainsi que sur des documents de « Bonnes Pratiques » qui sont actuellement déjà en vigueur dans différents autres pays, tels que l'Angleterre, les Etats-Unis et la Belgique<sup>6-8</sup>.

Etant donné la constante et rapide évolution de cette technique, ce document, qui s'applique spécifiquement à l'application clinique du SHD pour les maladies génétiques mendéliennes et au cadre décrit dans le chapitre suivant, ne peut pas prétendre donner des réponses à long terme et doit être mis à jour de façon régulière, en tirant parti de l'expérience accumulée dans les institutions suisses offrant des analyses par SHD.

## 1.1 Historique

Version 1 (version initiale): Décembre 2014

Version 2 (le présent document): Janvier 2024

## 2. Les maladies mendéliennes et le séquençage à haut débit: applications et champ d'action

Le principal objectif d'une analyse par SHD est de répondre à la question clinique précise correspondant au contexte clinique du patient. L'analyse par SHD peut être envisagée en pratique clinique lorsque l'un des critères suivants est rempli:

- Il s'agit d'une maladie mendélienne/monogénique causée par différents variants pathogènes dans un gène de grande taille (plus de 13 exons selon la liste des analyses). Exemple : mucoviscidose.
- Il s'agit d'une maladie mendélienne/monogénique hétérogène (qui peut être causée par différents gènes). Exemples : rétinite pigmentaire, prédisposition héréditaire au cancer du côlon, du sein et/ou de l'ovaire, retard du développement.
- Le contexte clinique suggère une maladie mendélienne, mais le phénotype ne permet pas de poser un diagnostic clinique précis et/ou un diagnostic n'a pas pu être posé en utilisant les méthodes conventionnelles. Exemple : syndromes avec troubles de la croissance.
- Question du mosaïcisme, avec mutation monogénique ou mitochondriale.

Le champ d'action clinique du SHD pour les maladies mendéliennes se réfère toujours à une sélection de gènes bien définis dont la pathogénicité est raisonnablement établie. Cette sélection de gènes ("panel") permet de minimiser le risque d'obtenir des résultats excédentaires inattendus (comme prescrit par l'art. 9 LAGH) et doit avoir été établie avant d'effectuer le séquençage. Si le panel permet d'analyser des gènes responsables de multiples pathologies, seuls les gènes pertinents pour la maladie du patient doivent être analysés. Les autres gènes doivent impérativement être masqués et exclus de l'analyse des variants (à moins que le patient n'ait demandé à connaître les découvertes fortuites, « incidentalomes », voir Point 3.3.3 : Informations excédentaires).

En pratique, les approches suivantes peuvent être utilisées:

- Panel de capture : Séquençage uniquement de gènes sélectionnés et spécifiques à la maladie ou au groupe de maladies mendéliennes/monogéniques du patient, suivi de l'analyse bioinformatique des séquences en question. Ce type de panel, non extensible, est approprié pour des présentations cliniques clairement définies.
- Panel d'analyse : Séquençage de l'exome entier du patient suivi d'une analyse bioinformatique ciblée sur les gènes, ou les régions génomiques à valeur clinique, sélectionnés car connus pour être impliqués dans la maladie mendélienne du patient. Les séquences non incluses dans le panel d'analyse ne doivent pas être analysées.
- Cependant, vu les avancées rapides de la recherche et la constante identification de nouveaux gènes impliqués dans des maladies mendéliennes hétérogènes, le panel de gènes analysés suite à un SHD de l'exome peut être élargi au fur et à mesure. Ainsi, si une première analyse bioinformatique n'a pas permis d'identifier de variant causatif du tableau clinique du patient, il est possible à un médecin demandeur d'en prescrire une deuxième sur une sélection de gènes élargie en réutilisant les données brutes générées par le SHD effectué initialement. Bien que, selon l'évolution des technologies de séquençage, il puisse être préférable de répéter le séquençage avec la technologie la plus récente.

*Important : l'utilisation du SHD dans le but d'identifier un ou plusieurs nouveau(x) gène(s) impliqué(s) dans une maladie génétique concerne le domaine de la recherche et ne fait donc pas partie du cadre de l'application clinique de cette technique.*

### 3. Conseil génétique, prescription et consentement éclairé

#### 3.1 Introduction

##### 3.1.1 Bases légales

Les exigences légales concernant l'information en cas d'analyse génétique et le conseil génétique, le consentement éclairé, la prescription ainsi que la communication des résultats et des informations excédentaires sont énumérées dans la LAGH<sup>1</sup> (voir art. 5, 6, 20-22, 25-27). Pour plus de détails, voir la page « [Prescription de tests génétiques](#) » sur le site de l'OFSP.

Le présent document ne réitère pas ces exigences mais élabore sur certains points particuliers au SHD.

##### 3.1.2 Conseils génétiques pour les analyses par SHD

Le SHD étant une analyse génétique particulièrement exigeante, des conseils génétiques pré-test et post-test adaptés aux particularités du SHD sont nécessaires, indépendamment du nombre de gènes analysés. Le respect des standards médico-scientifiques est déterminant – la délégation d'activités et le choix de la personne à qui elles sont déléguées devrait être réservée au médecin spécialiste, dans la mesure où certaines activités requièrent des connaissances et un savoir-faire qui sont propres au médecin (spécialiste)<sup>21</sup>.

##### 3.1.3 Prescription d'une analyse par SHD

Vu que des compétences génétiques poussées sont nécessaires à l'application clinique du SHD et afin de garantir une prestation médicale correspondant aux exigences du cadre légal suisse, le médecin prescripteur d'une analyse par SHD doit avoir des connaissances pointues sur la technique elle-même, sur le génome humain, la médecine génétique et la pratique du conseil génétique. Le droit de prescrire une analyse génétique est réglé à l'art. 20 LAGH qui détaille les qualifications particulières requises pour le médecin prescripteur. Pour qu'une analyse par SHD soit prise en charge par l'AOS, les conditions de la Liste des Analyses, notamment sur la formation du médecin prescripteur, doivent être remplies. La prescription d'une analyse portant sur un à dix gènes ne peut être effectuée que par un médecin titulaire du titre postgrade fédéral "génétique médicale" ou d'un titre postgrade fédéral le plus étroitement lié à la maladie (loi sur les professions médicales [LPMéd; RS 811.11]). Si l'analyse porte sur plus de dix gènes, la prescription peut uniquement être rédigée par un médecin titulaire du titre postgrade fédéral (FMH) « génétique médicale » au sens de la LPMéd.

#### 3.2 Conseil génétique pré-test SHD

En général, le médecin qui prescrit une analyse par SHD est aussi celui qui effectue les conseils génétiques pré- et post-test, mais cette activité peut être déléguée à une personne qualifiée (Art. 21 al. 2, LAGH).

Lors du conseil génétique pré-test, le patient doit être informé sur les points prévus par l'article 6 de la LAGH<sup>1</sup> (informations en cas d'analyse génétique) ainsi que des articles 21 (conseil génétique en général) et 22 le cas échéant (en cas d'analyse prénatale). Dans le cadre du SHD, les aspects suivants sont particulièrement importants à mentionner, dans la mesure du possible et selon le jugement du clinicien:

- L'application du SHD adaptée à sa situation clinique
- Les avantages et les limites de l'approche par SHD
- Le nombre (approximatif) de gènes dont la pathogénicité est établie pour la maladie mendélienne en question
- Le(s) mode(s) de transmission de la maladie mendélienne en question
- La sensibilité et la spécificité cliniques (si connues) de l'analyse proposée
- Les différents points du document « Consentement éclairé » (voir Point 3.3)
- Les différents types de résultats possibles (voir Point 3.3)
- Les coûts de l'analyse et les modalités de remboursement (voir LAGH art.21, alinéa 3, lettre c)
- Les délais estimés pour l'obtention de résultats

Lors de ce conseil génétique pré-test, des formulaires d'information aux patients et de consentement éclairé doivent être transmis au patient. La Société Suisse de Génétique Médicale (SSGM) recommande l'utilisation des formulaires « Information au patient » et « Consentement éclairé en vue d'une ou plusieurs analyses génétiques » disponibles sur le site internet de la SSGM. Le patient a droit à un temps de réflexion suffisamment long avant de donner sa décision d'accepter ou non une analyse génétique par SHD et de rendre un éventuel formulaire de consentement éclairé rempli et signé.

### 3.3 Consentement éclairé du patient en vue d'une analyse par SHD

Comme toute analyse génétique, une analyse par SHD ne peut être effectuée qu'avec le consentement libre et éclairé de la personne concernée ou de ses répondants légaux (art. 5 et 6 de la LAGH<sup>1</sup>, voir les conditions particulières pour les personnes incapables de discernement dans l'art. 16 de la LAGH : si la protection de sa santé l'exige, ou selon les exceptions spécifiées au paragraphe. 2 dudit article). Le consentement peut être révoqué en tout temps, en toute liberté, sans obligation de donner de justifications. Néanmoins, si la révocation est exprimée après le début de l'analyse par SHD, l'analyse est susceptible d'être facturée.

#### 3.3.1 Droit de ne pas savoir

Le patient doit avoir bien compris la différence entre ces différentes catégories de résultats et leurs implications, et doit pouvoir décider de façon éclairée s'il souhaite en prendre connaissance (voir art. 8, 26 et 27 LAGH). Le patient peut aussi demander à recevoir les informations de manière différée, au moment qui lui semblera le plus opportun. D'autre part, il doit être informé que les connaissances avancent rapidement, et que la signification clinique de certains variants pourrait être élucidée par la suite.

#### 3.3.2 Réutilisation des échantillons et des données d'analyse

Le patient pourra indiquer s'il souhaite que son échantillon soit conservé pour une analyse additionnelle éventuelle, qui n'aura lieu que dans son intérêt et uniquement avec son consentement. De même, le patient peut consentir à ce que ses données d'analyse soient conservées au-delà de la durée prévue par la loi (art. 11 LAGH), afin de permettre une ou plusieurs réanalyses ultérieures.

De plus, il pourra également indiquer s'il donne son accord pour une éventuelle utilisation de son échantillon et de ses données de séquençage pour la recherche. La réutilisation du matériel biologique et des données génétiques pour la recherche est soumise à la Loi fédérale relative à la recherche sur l'être humain (art. 32)<sup>9, 10</sup>.

#### 3.3.3 Informations excédentaires (« incidentalomes »)

Les résultats peuvent également comprendre des variants de signification clinique incertaine (VUS, *variants of uncertain significance*) ainsi que des variants de signification indépendante du tableau clinique (*incidental findings*, « incidentalomes ») telle que:

- Prédilection à une maladie dite "actionnable", dont les symptômes peuvent être traités et dont l'apparition et l'évolution peuvent être surveillées et/ou influencées médicalement (ou éventuellement qui pourrait motiver un changement d'habitudes de vie du patient).
- Prédilection à une maladie pour laquelle il n'existe actuellement pas de traitement.
- Etat de porteur (sain) pour une maladie récessive pouvant survenir dans la descendance ou chez des apparentés.

Le risque d'obtenir des résultats excédentaires est minime dans le cadre des approches ciblées décrites plus haut (chapitre 2), mais ne peut pas être exclu. Le laboratoire doit informer les prescripteurs de cette possibilité, avant qu'une analyse ne soit réalisée (OAGH, Art. 19).

En principe, seul les VUS en lien avec le contexte clinique du patient sont susceptibles d'être rapportés alors que les informations excédentaires dont la nature pathogénique n'est pas clairement établie (*incidental VUS*) sont d'intérêt limité et ne devraient en général pas être rapportés. Néanmoins, c'est au patient de décider quelles informations

excédentaires doivent lui être communiquées (LAGH, art. 27), et il doit pour cela être préalablement informé des différentes catégories de résultats possibles et de leur importance.

Les variants pathogènes et les VUS dans des gènes associés à des maladies de l'adulte ne devraient pas être rapportés chez les enfants incapables de discernement, sauf si des mesures préventives ou thérapeutiques sont disponibles dans l'enfance (cf. articles 16, 26 et 27 al. 2 LAGH). De même, en cas d'analyse prénatale, les informations excédentaires ne peuvent être communiquées que si elles portent sur la santé du fœtus ou sur une grave maladie héréditaire au sein de la famille (Art. 27 al. 3. LAGH).

### **3.4 Conseil génétique post-test SHD**

Le choix de recevoir ou non certains résultats dépendra de la nature de ces derniers et des souhaits que le patient a exprimés lors du conseil génétique pré-test et indiqués dans le document « Consentement éclairé ». Lors du conseil génétique post-test, le patient doit avoir la possibilité de recevoir des réponses claires et compréhensibles sur le rapport d'analyse et les différents variants observés, dans son contexte clinique personnel et familial.

## **4. Standards de qualité spécifiques au séquençage à haut débit**

### **4.1 Responsabilités et qualifications**

Le laboratoire qui reçoit la demande d'analyse est responsable de l'ensemble du processus et doit satisfaire aux exigences de la LAGH<sup>1</sup> (art. 28) et de l'OAGH (art. 9 et suivants). Pour que l'analyse soit prise en charge par l'AOS, le laboratoire doit en outre être admis à pratiquer à charge de l'AOS et remplir les conditions de qualité exigées (LAMal). Selon l'article 28 LAGH et l'article 9 OAGH, il doit obtenir une autorisation de l'OFSP pour effectuer des examens de cytogénétique et de génétique moléculaire, ce qui implique une accréditation par le Service d'accréditation suisse (SAS)<sup>16</sup>.

Comme toutes les analyses génétiques, y compris les analyses commerciales à but diagnostic (*in vitro diagnostic*) ainsi que les tests « maison », les analyses génétiques par SHD sont réglementées par la loi fédérale sur les médicaments et les dispositifs médicaux (Loi sur les produits thérapeutiques LPth)<sup>12</sup>, ainsi que par l'ordonnance sur les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (ODiv RS 812.219)<sup>13</sup>.

Le chef du laboratoire doit prendre la responsabilité de toutes les étapes de l'ensemble du processus de l'analyse par SHD, y compris l'établissement du rapport final et de la facture (voir OAGH, art. 11, paragraphe 2). La plupart des analyses constitutionnelles par SHD ne doivent être effectuées que dans les laboratoires dont le chef est titulaire du titre FAMH en génétique médicale. Des exceptions sont prévues pour certaines pathologies, qui peuvent aussi être analysées dans un laboratoire relevant d'une autre spécialité, voir l'annexe 3 de l'OAGH pour une liste détaillée. C

Comme mentionné plus haut, le séquençage, l'analyse bioinformatique des séquences et l'interprétation des variants exigent une connaissance et une compréhension approfondies de la génétique médicale et de l'architecture du génome humain, ainsi qu'une formation spécifique à cette technique. Les personnes en charge des analyses par SHD devraient donc avoir bénéficié d'une formation spécifique, reconnue par une organisation professionnelle telle que la FAMH ou l'ISFM, au besoin par l'obtention d'un certificat de spécialisation. De plus, le SHD est encore dans une phase d'évolution rapide, notamment en ce qui concerne le développement de nouveaux séquenceurs et réactifs, ainsi que de nouveaux programmes d'analyse bioinformatique. Ceci implique une formation continue pour les personnes en charge de ces analyses, de leur interprétation, de leur prescription ou de leur transmission aux patients; formation reconnue, éventuellement organisée, par ces mêmes organisations professionnelles .

### **4.2 Principe de territorialité**

Les prestations remboursées dans le cadre de l'AOS sont soumises au principe de territorialité. Les assureurs-maladie suisses ne peuvent rembourser que des prestations qui ont été fournies en Suisse par des fournisseurs de prestations

admis en Suisse. Le principe de territorialité de la LAMal s'applique également aux analyses par SHD : pour obtenir un remboursement dans le cadre de l'assurance-maladie de base, toutes les étapes des analyses SHD doivent avoir lieu en Suisse. Toutefois, les différentes étapes peuvent avoir lieu dans différentes institutions localisées sur le territoire suisse. Les lieux où ont été effectuées chacune des étapes seront précisés dans les rapports internes et finaux, et la responsabilité de l'ensemble du processus incombe au responsable du laboratoire qui a reçu la demande d'analyse.

Des exceptions au principe de territorialité sont prévues, notamment la prise en charge par l'AOS des prestations fournies à l'étranger pour des raisons médicales. Les analyses de laboratoire effectuées à l'étranger sont à charge de l'AOS uniquement si elles ne peuvent être effectuées dans un laboratoire médical suisse selon la LAMal, qu'une réalisation à l'étranger est spécifiquement mentionnée dans la Liste des Analyses et que les conditions indiquées dans la position concernée de la Liste sont remplies. L'organisation de l'analyse, l'envoi des échantillons, la transmission des résultats d'analyse accompagnés d'une éventuelle traduction et la facture définitive doivent être effectuées par un laboratoire médical suisse au sens de l'art. 54, al. 3, de l'ordonnance sur l'assurance-maladie (OAMal ; RS 832.102). Pour les analyses génétiques plus spécifiquement, les conditions concernant la qualification du laboratoire étranger, l'information au médecin prescripteur et la protection des données indiquées à l'art. 21 OAGH doivent en outre être respectées.

L'exécution d'analyses de laboratoire à l'étranger en raison d'une production moins coûteuse n'est pas à charge de l'AOS, indépendamment de la forme légale des laboratoires étrangers.

### 4.3 Aspects pratiques de l'étape laboratoire

Les kits commerciaux (de préférence marqués CE-IVD) et appareils utilisés (séquenceurs, thermocycleurs, éventuels robots de pipetage) doivent avoir été validés localement: ils doivent garantir l'exactitude des résultats. Tout le processus d'analyse, de l'extraction d'ADN à l'interprétation des résultats doit être validé localement et cette validation documentée. Une éventuelle validation par le fournisseur peut être incluse dans le dossier de validation (en particulier si le processus est certifié CE-IVD) mais doit obligatoirement être complétée par une validation interne. Il est recommandé que le laboratoire analyse des échantillons de référence bien établis (e.g. *genome in a bottle*) pour chacun des différents types de variants susceptibles d'être rapportés : substitutions ponctuelles (SNVs, *single nucleotide variants*), insertions, délétions, etc.

La qualité et la quantité de l'ADN doivent être appropriées et correspondre aux valeurs indiquées dans le protocole du fournisseur de kit de préparation au séquençage et/ou dans le dossier de validation établi par le laboratoire. Le laboratoire doit documenter et communiquer aux prescripteurs les types d'échantillons acceptés et leurs conditions d'acceptation (quantité, conditions et délais de transport, etc.). Le laboratoire doit également indiquer aux prescripteurs ses délais de rendu de résultats et devrait mettre en place une procédure pour informer le prescripteur d'un éventuel retard.

Les standards habituels d'amplification de l'ADN doivent être respectés. En particulier, l'ADN utilisé doit être natif et ne doit pas provenir d'une amplification pan-génomique (car cette dernière implique un risque d'introduction de variants artéfactuels), sauf dans des cas exceptionnels où il est impossible d'obtenir de l'ADN en quantité suffisante. Une stratégie documentée devrait être mise en place pour détecter d'éventuelles contaminations des étapes comportant une PCR. Par exemple, inclure un contrôle sans ADN dans chaque série, ou procéder systématiquement à une analyse statistique des SNVs et de leurs fréquences alléliques.

La préparation des librairies et/ou des captures doit être effectuée dans des espaces de laboratoire adaptés, indemne de toutes traces de molécules pouvant causer une contamination de la préparation. Ces espaces devraient être répartis en un nombre suffisant de locaux fermés, possédant une ventilation adaptée et si possible une pression adéquate (positive/négative).

Il est recommandé d'utiliser les différents types de locaux fermés suivants :

- Des locaux dans lesquels il n'y a pas de produits amplifiés ni d'ADN natifs (salle 1: préparations initiales des « mix » de réactifs, pression positive souhaitable).



- Des locaux dans lesquels il n'y a pas de produits amplifiés (salle 2: ajout de l'ADN au « mix » réactionnel pression positive souhaitable).
- Des locaux contenant des produits faiblement amplifiés (salle 3: facultative mais souhaitable quand cela est possible pour la manipulation après les premiers cycles d'amplification, pour la purification et l'hybridation).
- Des locaux réservés à la manipulation de produits après la dernière amplification par PCR (salle 4: pression négative souhaitable).

De manière générale, la préparation des premières étapes de génération des bibliothèques (fragmentation, ligation des adaptateurs, préparation des phases d'amplification) s'effectue dans des locaux pré-PCR (salles 1-2/3) et jamais en post-PCR, tandis que les produits amplifiés doivent rester dans des salles post-PCR (salle 4). Aucun échantillon, réactif ou équipement (y compris gants et blouses de laboratoire) ne devrait passer de post-PCR en pré-PCR sans avoir subi une décontamination appropriée pour éliminer toute trace d'ADN amplifié.

Généralement, la procédure et les bonnes pratiques à respecter lors du séquençage proprement dit sont indiquées dans le manuel d'utilisation fourni par le fabricant et sont spécifiques à chaque type de séquenceur à haut débit.

## 4.4 Analyse bioinformatique

### 4.4.1 Introduction

Une analyse bioinformatique adéquate est particulièrement cruciale lors des analyses par SHD étant donné la quantité et la complexité des données produites dans le cadre de cette technique.

Les programmes utilisés peuvent être soit des programmes commerciaux, soit des programmes *open-source* (code-source public), soit des programmes développés localement. Un seul ou plusieurs programmes (généralement liés en un "pipeline") peuvent être utilisés lors des différents stades de l'analyse bioinformatique tels que l'alignement, la répartition des données, la transformation des fichiers, ainsi que l'identification, l'annotation et de l'interprétation clinique des variants. Il est conseillé d'utiliser des programmes et des algorithmes qui sont fréquemment décrits et cités et/ou reconnus dans des publications scientifiques et qui sont spécifiquement appropriés à la technique de SHD et au type de séquenceur utilisé par le laboratoire. Tous les programmes d'analyse bioinformatique et les bases de données, leur numéro de version ainsi que les paramètres d'utilisation doivent être précisés dans le rapport final de l'analyse, ou être disponibles sur demande.

Lorsque des programmes commerciaux ou *open-source* sont utilisés, il est indispensable que le laboratoire effectue préalablement une validation extensive, de préférence avec des données produites localement à partir d'échantillons de référence. Cette validation doit être tracée dans les documents Qualité avant toute utilisation et répétée à chaque fois qu'un nouveau programme ou qu'une nouvelle version d'un programme sont installés.

Lorsqu'un logiciel « maison » ou un pipeline d'analyse intégrant des logiciels *open-source* ou commerciaux est développé localement, les bonnes pratiques de développement de logiciel doivent être respectées. En particulier:

- L'environnement de développement doit être séparé de l'environnement de production de telle sorte que les travaux de développement, tests et corrections de bogues ne risquent pas de perturber la version en application.
- Avant d'être passée en production, toute version modifiée doit être validée extensivement. Les tests ne doivent pas être limités à la fonctionnalité ajoutée ou modifiée, mais doivent comprendre une batterie de tests unitaires, vérifiant chacun une fonction spécifique du programme, ainsi que des tests intégratifs testant l'ensemble du processus d'analyse, de préférence sur des données produites localement.
- Toute nouvelle version passée en production doit avoir un numéro séquentiel unique et les modifications introduites dans chaque version doivent être tracées. Un système de suivi de version (versionnage) doit être mis en place, par exemple en mentionnant le numéro de version du/des software(s) dans le rapport d'analyse. Si une erreur de programmation est découverte ultérieurement, il doit être possible d'identifier rapidement tous les échantillons analysés avec la version fautive, afin de les réanalyser après correction.
- Un manuel de l'utilisateur détaillé doit être disponible dans la documentation qualité, qu'il s'agisse d'un programme commercial, *open-source*, ou développé localement. Le code développé localement devrait être

commenté abondamment, et un manuel du programmeur détaillant la structure du programme et la manière de le déboguer devrait être disponible. Le principe de base est que le bon fonctionnement et le dépannage éventuel des logiciels d'analyse ne doivent jamais dépendre d'une seule personne.

Les gènes et/ou régions d'intérêt doivent être définis avant de procéder à l'analyse bioinformatique. Les références RefSeq devraient être utilisées pour définir les gènes d'intérêt et la version de la RefSeq doit être indiquée dans le rapport final d'analyse. Lors de l'analyse des régions non-exoniques, leurs coordonnées génomiques doivent être précisées. La version du génome de référence utilisé doit également figurer dans le rapport. Lors de l'analyse d'un grand nombre de gènes, il est acceptable d'inclure la liste des RefSeq (pour les isoformes analysées) en annexe, ou de la fournir sur demande (dans ce cas, le rapport d'analyse doit permettre de tracer la liste qui a été utilisée).

#### 4.4.2 Qualité des données et couverture des régions ciblées

Durant le traitement des données, divers scores de qualité sont produits. Pour chaque analyse de SHD, les informations suivantes doivent être collectées :

- Les scores de qualité pour chaque échantillon, sous forme de pourcentage de bases séquencées qui ont un phred score (un score définissant la qualité du séquençage pour chaque nucléotide) supérieur ou égal à 30. Un phred score de 30 correspond à une probabilité de 1/1000 que la base ait été mal identifiée (*miscalced*).
- La profondeur minimale de séquençage de chaque base pour que le séquençage d'une région donnée soit considéré suffisant est définie par chaque laboratoire et doit être précisée dans le rapport. Cette exigence minimale pourra être augmentée en fonction du séquenceur utilisé par le laboratoire (une précision moindre demandant une profondeur plus grande).
- La couverture des régions analysées, c'est à dire le pourcentage des régions d'intérêt qui sont couvertes à une profondeur donnée (par exemple : 8x ; 10x ; 20x ; 30 x; 50x et/ou 100x – les profondeurs à rapporter varient suivant le séquenceur et le protocole utilisés). La procédure permettant de définir ces régions doit être documentée par le laboratoire qui peut aussi définir un score de qualité minimal pour considérer qu'une région est proprement couverte. Le rapport peut également mentionner toute autre couverture lorsque cette information est jugée importante.
- Selon les recommandations européennes<sup>22</sup>, les analyses SHD peuvent être classées en 3 catégories selon la couverture des régions d'intérêt. Catégorie A: le laboratoire garanti une couverture complète des régions d'intérêt, en la complétant au besoin par d'autres méthodes. Catégorie B: Le laboratoire garantit la couverture des régions les plus critiques, en la complétant au besoin, et indique les régions non ou mal couvertes restantes. Catégorie C: le laboratoire n'utilise que le SHD et indique toutes les régions non ou mal couvertes (ou en tient une liste à disposition sur demande). Même si un laboratoire n'utilise pas ce système de classification, la stratégie choisie par le laboratoire pour la gestion des régions mal couvertes doit être disponible pour le médecin demandeur au moment de la prescription de l'analyse.
- Si la couverture finale est incomplète, une liste des régions non ou mal couvertes (profondeur ou qualité insuffisantes) devrait être jointe au rapport, ou disponible sur demande auprès du laboratoire.
- Lorsque le laboratoire a complété la couverture par une autre méthode (e.g. séquençage selon Sanger), cette méthode doit être décrite dans le rapport d'analyse et une liste des régions ainsi couvertes devrait être disponible sur demande.
- Si le laboratoire rapporte les variants de l'ADN mitochondrial, ou des situations de mosaïcisme/chimérisme, la limite inférieure de détection d'une anomalie doit être déterminée expérimentalement et documentée dans le dossier de validation pour chaque type de variant (SNV, insertion/délétion, etc.).

#### 4.4.3 Détection d'inversions d'échantillons

Avec le séquençage de l'exome ou de certains panels de gènes étendus, il est possible de déterminer le sexe du patient d'après la fraction de variants hétérozygotes sur le chromosome X et/ou la présence de séquences spécifiques au chromosome Y. Si cette information est disponible, elle devrait être corrélée avec les données administratives du patient afin de dépister (dans certains cas) d'éventuelles inversions d'échantillons. D'une manière générale, le laboratoire devrait mettre en place un système qui permette de vérifier lors de l'analyse la correcte identité de

l'échantillon séquencé. ~~Pour certains résultats particulièrement critiques (e.g. analyses présymptomatiques) il est souhaitable de demander deux échantillons indépendants, sans toutefois facturer plus d'une analyse.~~

#### 4.4.4 Détection et annotation des variants

Tout programme qui permet l'identification de variants (*variant caller*) peut être utilisé, mais doit être identifié dans le rapport interne et le rapport final (avec son numéro de version) ou être disponible sur demande.

L'annotation biologique des variants (e.g. type de variant, position dans le gène, effet sur la protéine, etc.) doit être effectuée de la même manière que lors de toute autre analyse moléculaire conventionnelle. Les étapes de filtrage des variants et les filtres utilisés dans l'identification des variants candidats potentiellement causatifs du phénotype observé doivent être précisés dans le rapport interne (cf. chapitre 6) ou disponibles sur demande (pas d'algorithme confidentiel connu du seul fabricant). Lorsque l'effet d'un variant diffère sur les différentes isoformes d'un même gène, une annotation devrait être disponible pour chacun des principaux transcrits.

#### 4.4.5 Interprétation de pathogénicité

L'interprétation de la pathogénicité des variants identifiés et de leur éventuel rôle dans la maladie du patient est le point le plus crucial, mais aussi le plus complexe des analyses par SHD. Une connaissance approfondie de la génétique humaine et une expérience pratique dans l'analyse des données SHD sont absolument essentielles. A l'heure actuelle, aucun programme d'interprétation automatique ne peut se substituer à l'esprit humain. Certains programmes sont utiles pour récolter rapidement le maximum d'informations sur un variant donné, mais l'interprétation de ces données doit être effectuée par un scientifique qualifié. Les indications de pathogénicité disponibles dans les bases de données publiques doivent être réévaluées par le laboratoire pour chaque variant examiné. A moins que l'interprétation ne soit évidente (e.g. quand il s'agit d'un variant pathogène bien établi), il est recommandé que l'interprétation de chaque variant soit effectuée de manière complètement indépendante par au moins 2 personnes qualifiées.

Il est recommandé de procéder à un filtrage par étapes, en maximisant d'abord la sensibilité avec des filtres peu exigeants, suivis d'un filtrage plus drastique, sous contrôle humain, afin d'augmenter la spécificité en éliminant au mieux les faux positifs.

Il est extrêmement utile pour chaque laboratoire de maintenir une base de données locale des variants rencontrés et de s'en servir pour évaluer la fréquence locale de tout variant identifié dans un nouvel échantillon. Ceci permet d'éliminer rapidement des variants absents des bases de données internationales mais présents localement, ainsi que des artefacts récurrents, spécifique aux conditions de séquençage utilisées.

La pathogénicité biologique n'implique pas forcément que le variant identifié soit responsable du tableau clinique complet. Dans certains cas, l'interprétation pourra nécessiter de consulter le médecin en charge du patient (éventuellement afin de réévaluer le patient), voire de discuter les résultats lors d'un colloque multidisciplinaire (*genome board*), afin d'établir d'éventuelles corrélations entre le gène considéré et le phénotype du patient et d'estimer ainsi la causalité des variants retenus. Si plusieurs variants sont rapportés, la contribution de chacun d'eux au phénotype du patient doit être discutée séparément.

#### 4.4.6 Vérifications de variants

Un paramètre essentiel à déterminer pour chaque variant retenu est la probabilité qu'il s'agisse d'un artefact. L'analyse informatique devrait comprendre un score de fiabilité, combinant la qualité du séquençage, celle de l'alignement et l'utilisation d'une base de données locale. Ces scores seront comparés avec les exigences minimales déterminées lors de la validation technique. S'il existe un doute sur la présence réelle du variant, celle-ci doit être confirmée par une méthode alternative. De même, s'il existe un doute sur la nature artéfactuelle d'un potentiel variant pathogène, son absence doit être confirmée par une méthode alternative.

Les critères et valeurs-seuils déclenchant cette vérification (e.g. scores de qualité, profondeur de séquençage, balance allélique) doivent être établis par le laboratoire et documentés pour chaque type de variant (SNV, insertion, délétion,

etc.) dans le dossier de validation de la technique et/ou dans le mode opératoire normalisé (MON/SOP). La procédure à suivre en cas de résultats non confirmés doit également être documentée.

## 5. Garantie de la qualité

Les fournisseurs de prestations qui sont admis à exercer à la charge de l'AOS doivent remplir un certain nombre de conditions, dont notamment des exigences liées à la qualité des prestations fournies (art. 35 et suivants de la LAMal.). Ils doivent par exemple disposer du personnel nécessaire qualifié et d'équipements permettant de participer aux mesures nationales de la qualité (art. 58g OAMal). Ces principes sont complétés par la LAGH<sup>1</sup>, respectivement par l'art. 9 de l'OAGH<sup>2</sup> et l'ordonnance sur les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (ODiv)<sup>13</sup>. Tout laboratoire effectuant des analyses génétiques humaines dans le domaine médical doit être en outre accrédité. Voir le site Internet de l'OFSP pour plus de détails<sup>14</sup>.

L'ensemble du processus d'analyse, comprenant la réception et la préparation de l'échantillon, le SHD, l'analyse bioinformatique, le stockage des données, l'analyse et l'interprétation des variants ainsi que l'élaboration du rapport, doit être précisé à travers une/des procédure(s) standard (SOP – *Standard operating procedure* / MON – Mode Opératoire Normalisé) approuvée par le Service d'accréditation suisse (SAS), respectivement par Swissmedic, dans le cadre d'une inspection.

### 5.1 Exigences spécifiques aux analyses par SHD

Les laboratoires effectuant des analyses par SHD doivent participer à des contrôles de qualité externes pathologie-spécifiques ou technique-spécifiques, établis par des centres de contrôles de qualité reconnus. Ces contrôles de qualité doivent, dans la mesure du possible, également comprendre les étapes relatives à l'interprétation des variants<sup>14</sup>.

Les laboratoires doivent également établir et documenter un système de contrôle de qualité interne, afin de s'assurer de la constance des résultats au fil du temps. Il peut s'agir par exemple de la réanalyse périodique d'un échantillon de contrôle ou d'un suivi statistique de paramètres de qualité prédéterminés (e.g. nombre de SNVs détectés, pourcentage de ceux-ci connus dans dbSNP, etc.).

## 6. Rapport interne et rapport final de l'analyse par séquençage à haut débit

Le rapport interne est un (ou plusieurs) document à l'usage interne du laboratoire qui rassemble tous les détails relatifs à l'analyse effectuée et doit permettre de retracer toutes les étapes de l'analyse en cas de besoin. Il permet de répondre facilement à l'obligation légale de tracer ces informations (obligation de respecter une norme telle que ISO 15189, selon la LAGH et la LAMal) et peut être transmis sur demande au médecin prescripteur, en tout ou en partie. Par exemple, des informations telles que la concentration et la qualité de l'ADN utilisé, la concentration et la taille de la librairie produite, les résultats de toutes les étapes, la couverture pour chaque gène analysé, et/ou les coordonnées des éventuels défauts de couverture, ainsi que tous les variants identifiés (y compris ceux qui n'ont pas été confirmés) peuvent figurer dans le rapport interne.

Le rapport final d'une analyse par SHD est un rapport qui a été validé par un scientifique qualifié et approuvé, et signé par un responsable de laboratoire titulaire d'un titre FAMH en génétique médicale. Il est adressé au médecin qui a prescrit l'analyse, bien que le patient ait le droit d'en demander copie (après conseil génétique). Ce rapport contiendra uniquement le(s) type(s) de résultats (voir plus bas) que le patient a choisi de connaître selon le consentement éclairé.

Le contenu du rapport final doit être spécifié dans la documentation qualité du laboratoire et comprendre au minimum les éléments suivants :

- **Indications:** L'indication médicale pour la prescription d'une analyse par SHD.
- **Demande:** Les gènes ou le(s) panel(s) de gènes à analyser.

- **Matériel analysé:** Le type et la provenance du matériel analysé (par exemple : ADN provenant de sang veineux, reçu du laboratoire X), ainsi que la référence de l'échantillon analysé.
- **Méthodes:** Les méthodes et/ou les kits utilisés pour:
  - L'extraction de l'ADN
  - La sélection des gènes
  - La préparation de la librairie
  - Le séquençage
  - Le traitement des données brutes en précisant les algorithmes d'alignement, de détection de variants, d'annotation, et de filtrage des variants. Tous les programmes d'analyse bioinformatique, leur numéro de version ainsi que les paramètres d'utilisation doivent être précisés dans le rapport (voir Point 4.4).
  - Les banques de données consultées, ainsi que les versions ou dates de mise à jour utilisées lors de l'identification des variants.
  - Si applicable, les méthodes utilisées (Sanger, PCR, MLPA, ...) pour confirmer les résultats, compléter la couverture ou déterminer la phase de variants multiples.

Pour des raisons de concision du rapport, il est acceptable de simplement mentionner les techniques utilisées et de tenir les détails à disposition sur demande.

Toute limitation technique (e.g. ne détecte pas les grandes délétions ou les expansions de triplets) doit être documentée par le laboratoire et mentionnée dans le rapport final.

- **Résultats :** Uniquement les variants dont l'existence ne fait pas de doute et que le patient a choisi de connaître lors de la consultation pré-test (et indiqués dans le document de consentement éclairé) figureront dans cette partie et seront communiqués au patient. De nos jours, les patients demandent souvent une copie du rapport de laboratoire, de plus l'assurance maladie pourrait également en demander une copie; ces points sont donc à considérer lors de la rédaction du rapport d'analyses. Chaque laboratoire devrait documenter sa politique à cet égard.

La zygosity doit être précisée pour chaque variant rapporté. Les variants doivent être rapportés d'une part dans un langage compréhensible pour un médecin non-généticien (possiblement dans la partie « interprétation »), et d'autre part selon la nomenclature HGVS en vigueur (voir le site internet d'HGVS<sup>19</sup>), en précisant l'annotation du changement nucléotidique avec le changement d'acide aminé et/ou le numéro de référence dbSNP (numéro rs) y compris sa fréquence (*minor allele frequency*, MAF) le cas échéant. La séquence de référence utilisée lors de l'annotation, y compris sa version, doit être mentionnée. Les coordonnées génomiques et la version du génome devraient également être indiqués (obligatoire pour les variants non exoniques).

Dans les cas où l'analyse par SHD n'a pas permis d'identifier de variant causatif, ceci sera également indiqué dans cette partie.

Il faut également envisager des situations où le patient peut souhaiter connaître les variants de façon différée. Il est donc nécessaire d'avoir un moyen de stocker dans la durée, pour pouvoir les retrouver plus tard, les informations pertinentes sans pour autant devoir les transmettre immédiatement au patient.

- **Interprétation des variants:** ici est indiquée la causalité (probable ou certaine) du ou des variant(s) observés correspondant au tableau clinique du patient.

La procédure à suivre lors de l'interprétation bioinformatique des résultats est précisée plus haut. Les détails de la prédiction du rôle des variants doivent être gardés à disposition du patient, s'il demande à les connaître ultérieurement.

L'interprétation de chacun des variants observés doit être établie selon une hiérarchie basée sur leur causalité dans une pathologie donnée, soit :

- Résultat(s) en lien direct avec la pathologie investiguée : variants a) connus comme pathogéniques ou probablement pathogéniques (selon des critères reconnus, qui doivent être cités dans le rapport, e.g. algorithme de l'ACMG<sup>20</sup>) et b) localisés dans des gènes dont la fonction est compatible avec le tableau clinique du patient;
- Résultat(s) dont la signification et le lien avec la pathologie sont incertains (VUS). Ces variants sont surtout rapportés s'ils sont localisés dans des gènes dont la fonction est compatible avec le tableau clinique;
- Les découvertes inattendues (informations excédentaires) seront rapportées selon le choix du patient, indiqué dans le consentement éclairé.
- Le laboratoire doit avoir une politique documentée pour une éventuelle réanalyse de VUS, e.g. indiquer que les éventuels VUS, même s'ils ne sont pas rapportés, peuvent être réévalués ultérieurement (e.g. d'ici 2-3 ans), sur demande du patient et/ou d'un clinicien en charge du dossier. Si le laboratoire a une politique systématique de réévaluation périodique des variants, l'intervalle de réévaluation devrait être indiqué dans le rapport.

Les implications cliniques des résultats et les éventuelles sources d'informations complémentaires ayant permis l'interprétation de ces derniers doivent également être mentionnées dans le rapport final.

- **Divers** : Dans les cas où les différentes étapes de l'analyse par SHD ont été effectuées dans différentes institutions, il faut énumérer ces dernières dans le rapport final en précisant le lieu où a été effectuée chaque étape.

## 7. Stockage et transfert des données

Sur le plan légal, la sécurité des données, la durée de conservation des échantillons et des données génétiques et l'utilisation des échantillons et des données génétiques à une autre fin sont réglés par les art. 10 -12 de la LAGH et les art. 3, 24 et 25 de l'OAGH. Le laboratoire doit se doter d'un dispositif conforme aux exigences de l'annexe 4 de l'OAGH. Le laboratoire doit conserver durant cinq ans les rapports d'analyse ainsi que les enregistrements et les documents établis sur la base du système de gestion de la qualité ou du contrôle de qualité externe (art. 25 OAGH). La durée de conservation des échantillons et des données génétiques est réglée par l'article 11 de la LAGH. En absence des conditions énumérées dans l'alinéa 1 ou de l'autorisation du patient pour une conservation à long terme (alinéa 2), les échantillons et les données génétiques doivent être supprimés ou détruits une fois la durée de conservation autorisée atteinte, conformément aux principes fondamentaux de la loi sur la protection des données<sup>17</sup>.

Pour le reste, le traitement des données génétiques est régi par les dispositions fédérales<sup>17</sup> et cantonales en matière de protection des données (art. 10 al. 2 LAGH). Le cas échéant, voir également le GDPR (*General Data Protection Regulation*) au niveau Européen.

Le laboratoire qui accepte le mandat médical prend la responsabilité qu'un règlement relatif au traitement des données soit mis en place et tenu à jour, conformément à l'article 11 de l'Ordonnance relative à la loi fédérale sur la protection des données (OPDo)<sup>18</sup>. Le laboratoire doit documenter sa politique de conservation des données et définir quels types de données sont conservés et pendant combien de temps, en fonction des lois fédérales et cantonales. Il n'est par exemple pas nécessaire de conserver les fichiers intermédiaires produits au cours de l'analyse, pour autant qu'ils puissent être reconstitués si nécessaire. ~~Ceci implique cependant la nécessité de conserver les anciennes versions des logiciels d'analyse.~~

### 7.1 Transfert de données de séquençage

Lorsque les données du séquençage doivent être transférées à une autre institution à la demande d'un médecin ou du patient lui-même (par exemple pour une réanalyse), le consentement du patient à ce transfert devrait être documenté par le laboratoire qui a généré les données. Les modalités de ce transfert (encryption, connexion sécurisée, pseudonymisation) doivent respecter les lois fédérales (notamment art. 3 OAGH) et cantonales.

## 8. Checklist à l'intention des laboratoires

Cette liste résume brièvement les conditions à remplir pour effectuer des analyses par SHD. Ces conditions sont détaillées plus haut dans le présent document.

### Pré-analytique

- Détails du consentement éclairé: types de variants à communiquer, conservation des échantillons, consentement pour la recherche.
- Information aux prescripteurs: conditions d'acceptation des échantillons, délais de rendu, politique d'annonce des retards, composition des panels disponibles (si approprié), stratégie de gestion des défauts de couverture.
- Pour une prise en charge AOS, si l'analyse porte sur 1 à 10 gènes prescription par un médecin titulaire du titre postgrade fédéral "génétique médicale" ou d'un titre postgrade fédéral le plus étroitement lié à la maladie (LPMéd). Si l'analyse porte sur plus de 10 gènes, prescription uniquement par des médecins titulaires du titre postgrade fédéral "génétique médicale" (LPMéd).

### Analytique

- Principe de territorialité conformément à la LAMal.
- En cas d'analyse sous-traitée ou partagée, la responsabilité incombe au laboratoire qui reçoit la demande.
- Formation spécifique et continue des responsables FAMH.
- Ségrégation des locaux, réactifs et équipements (au minimum pré-PCR et post-PCR).
- Validation par le laboratoire des instruments, techniques et réactifs utilisés. Utilisation d'échantillons de référence recommandée. A documenter pour chaque type de variants rapportés.
- De préférence, pas d'amplification pan-génomique. Stratégie de détection d'éventuelles contaminations de PCR.
- Validation documentée par le laboratoire des logiciels commerciaux, maison ou *open-source*.
- Bonne pratique de développement des logiciels maison: ségrégation de l'environnement de production, tests unitaires et intégratifs systématiques, versionnage et traçabilité, documentation exhaustive.
- Contrôles de qualité systématiques: scores de séquençage et d'alignement, profondeur, couverture, limite de détection. Valeurs-seuils à déterminer par le laboratoire selon la technique utilisée et à documenter.
- Politique documentée et publique pour la gestion des régions mal couvertes.
- Détection d'éventuelles inversions d'échantillons (autant que possible).
- Validation de la détection et annotation biologique des variants. Si approprié, à effectuer pour différentes isoformes.
- Interprétation de la pathogénicité par au moins 2 personnes. Filtrage par étapes, selon un protocole bien établi (par exemple, critères de l'ACMG) et documenté.
- Base de données locale des variants et artefacts rencontrés au laboratoire (recommandé).
- Interprétation de la causalité des variants retenus pour l'indication clinique donnée, pouvant nécessiter la participation du médecin connaissant le patient et/ou de colloques multidisciplinaires.
- Vérification des variants / exclusion des artefacts par une méthode alternative en cas de doute (selon des critères bien définis). Stratégie documentée à suivre en cas de divergences.
- Assurance qualité : modes opératoires normalisés inspectés par le SAS, accréditation par le SAS, participation annuelle à des Contrôles Qualité Externes (y compris interprétation si disponible).
- Contrôles internes: e.g. réanalyse périodique d'échantillons de contrôle, suivi statistique d'indicateurs prédéfinis.

### Post-analytique

- Documentation intermédiaire exhaustive, à usage interne mais avec obligation de communiquer certaines données sur demande (p. ex. couverture détaillée, liste des VUS, détails des méthodes, etc.).
- Rapport final, approuvé et signé par un responsable FAMH, ne contenant que les variants que le patient a souhaité connaître (selon le consentement).
- Annotations des variants selon la nomenclature HGVS avec RefSeq (si applicable) et par coordonnées génomiques (indispensable pour les variants non-exoniques). Indiquer la zygosity.
- Interprétation adaptée à la causalité des différents variants.
- Aperçu des méthodes utilisées (détails optionnels, mais doivent être disponibles sur demande).
- Indication d'éventuelles sous-traitances ou partage de l'analyse.
- Indication d'une éventuelle politique de réévaluation des variants.

- Stockage sécurisé des données et des échantillons. Documenter les types de données à conserver et pour quelle durée.
- Transfert sécurisé des données. Nécessite le consentement du patient si transféré à une institution externe.

## 9. Références

1. Loi fédérale du 15 juin 2018 sur l'analyse génétique humaine (LAGH ; RS 810.12)  
<https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2022/537/fr>  
 En allemand (GUMG): <https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2022/537/de>
2. Ordonnance du 23 septembre 2022 sur l'analyse génétique humaine (OAGH ; RS 810.122.1)  
<https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2022/585/fr>  
 En allemand (GUMV): <https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2022/585/de>
3. Loi fédérale sur l'assurance maladie du 18 mars 1994 (LAMal, RS 832.10)  
<http://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/19940073/index.html>  
 En allemand (KVG): <http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/19940073/index.html>
4. Liste des Analyses des prestations de l'assurance obligatoire des soins en cas de maladie (LA)  
<https://www.bag.admin.ch/bag/fr/home/versicherungen/krankenversicherung/krankenversicherung-leistungen-tarife/Analysenliste.html>  
 En allemand (AL) :  
<https://www.bag.admin.ch/bag/de/home/versicherungen/krankenversicherung/krankenversicherung-leistungen-tarife/Analysenliste.html>
5. Ordonnance du 29 septembre 1995 sur les prestations de l'assurance des soins (OPAS ; RS 832.112.31)  
<https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/19950275/index.html>  
 En allemand (KLV): <https://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/19950275/index.html>
6. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. Genetics in Medicine, vol 15; 733-747 (2013).  
 Révision 2021: Genetics in Medicine, vol 23; 1399-1415 (2021).
7. Practice guidelines for Targeted Next Generation Sequencing Analysis and Interpretation. Clinical Molecular Genetics Society (CMGS) (2012).
8. Whole-genome sequencing in health care – Recommendations of the European Society of Human Genetics. Van El CG et al., European Journal of Human Genetics vol 21; 580-584 (2013)
9. Loi fédérale du 30 septembre 2011 relative à la recherche sur l'être humain (LRH ; RS 810.30)  
<http://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/20061313/index.html>.  
 En allemand (HFG): <http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20061313/index.html>
10. Ordonnance du 20 septembre 2013 relative à la recherche sur l'être humain à l'exception des essais cliniques (ORH ; RS 810.301)  
<https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/20121177/index.html>  
 En allemand (HFV): <https://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20121177/index.html>
11. Ordonnance du 17 juin 1996 sur l'accréditation et la désignation (OAccD ; RS 946.512)  
<http://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/19960291/index.html>.  
 En allemand (AkkBV): <http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/19960291/index.html>



12. Loi fédérale du 15 décembre 2000 sur les médicaments et les dispositifs médicaux (LPth ; 812.21)  
<https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2001/422/fr>  
En allemand (HMG):  
<https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2001/422/de>
13. Ordonnance du 1<sup>er</sup> juillet 2020 sur les dispositifs médicaux (ODim ; RS 812.213)  
<https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2020/552/fr>  
En allemand (MepV) : <https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2020/552/de>  
  
Ordonnance du 4 mai 2022 sur les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (ODiv ; 812.219 )  
<https://www.fedlex.admin.ch/eli/oc/2022/291/fr>  
En allemand (IvDV) : <https://www.fedlex.admin.ch/eli/oc/2022/291/de>
14. Site internet de l'OFSP, page intitulée « Demandes & autorisations concernant l'analyse génétique .  
[www.bag.admin.ch/laboratoires-de-genetique](http://www.bag.admin.ch/laboratoires-de-genetique). En allemand : [www.bag.admin.ch/genetische-laboratorien](http://www.bag.admin.ch/genetische-laboratorien)
15. Site internet QUALAB (Commission suisse pour l'assurance de qualité dans le laboratoire médical)  
<http://www.qualab.ch>
16. Site internet du Service d'accréditation suisse (SAS)  
<https://www.sas.admin.ch/sas/fr/home/ueberuns/willkommen.html>  
En allemand : <https://www.sas.admin.ch/sas/de/home/ueberuns/willkommen.html>
17. Loi fédérale du 25 septembre 2020 sur la protection des données (LPD ; RS 235.1)  
<https://www.fedlex.admin.ch/eli/oc/2022/491/fr>.  
En allemand (DSG): <https://www.fedlex.admin.ch/eli/oc/2022/491/de>
18. Ordonnance du 31 août 2022 relative à la loi fédérale sur la protection des données (OPDo ; RS 235.1)  
<https://www.fedlex.admin.ch/eli/oc/2022/568/fr> .  
En allemand (DSV): <https://www.fedlex.admin.ch/eli/oc/2022/568/fr>
19. Varnomen: site de référence pour la nomenclature des variants <https://varnomen.hgvs.org/>
20. 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. Richards S et al. Genet Med vol 17; 405-424 (2015)
21. Conseil génétique: concepts, malentendus et perspectives. Filges I et al. Bull Med Suisses. 103:34-36 (2022)