



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ÉVALUER

LES TECHNOLOGIES DE SANTÉ

**RAPPORT
D'ÉVALUATION**

Séquençage haut débit ciblant un panel de gènes dans la prise en charge médicale des aminoacidopathies les plus fréquentes

Validé par le Collège le 17 juillet 2025

Table des figures

Figure 1. Organigramme PRISMA (<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et la phénylcétonurie	24
Figure 2. Organigramme PRISMA (<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et les troubles du cycle de l'urée	38
Figure 3. Organigramme PRISMA (<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et la leucinose	48
Figure 4. Organigramme PRISMA (<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et la tyrosinémie de type 1	59
Figure 5. Organigramme PRISMA (<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et l'homocystinurie par déficit en CBS	70

Table des tableaux

Tableau 1. Liste des consultations	16
Tableau 2. Critères PICOS - phénylcétonurie	23
Tableau 3. Principales caractéristiques des études incluses pour la phénylcétonurie	25
Tableau 4. Évaluation de la qualité méthodologique des études incluses pour la phénylcétonurie	26
Tableau 5. Concordance NGS/Sanger et validation ClinGen/GeneReviews pour la phénylcétonurie/HPA	27
Tableau 6. Résumé des réponses aux questions de l'évaluation de la phénylcétonurie	28
Tableau 7. Critères PICOS – troubles du cycle de l'urée	37
Tableau 8. Principales caractéristiques des études incluses pour les troubles du cycle de l'urée	39
Tableau 9. Évaluation de la qualité méthodologique des études incluses pour les troubles du cycle de l'urée	40
Tableau 10. Concordance NGS/Sanger et validation ClinGen/GeneReviews pour les troubles du cycle de l'urée	41
Tableau 11. Résumé des réponses aux questions de l'évaluation des troubles du cycle de l'urée	42
Tableau 12. Critères PICOS - leucinose	46
Tableau 13. Principales caractéristiques des études incluses pour la leucinose	49
Tableau 14. Évaluation de la qualité méthodologique des études incluses pour la leucinose	49

Tableau 15. Concordance NGS/Sanger et validation ClinGen/ <i>GeneReviews</i> pour la leucine	51
Tableau 16. Réponses aux questions de l'évaluation de la leucine	51
Tableau 17. Critères PICOS – tyrosinémie de type 1	57
Tableau 18. Résumé des réponses aux questions de l'évaluation de la tyrosinémie de type 1	60
Tableau 19. Critères PICOS – homocystinurie par déficit en CBS	69
Tableau 20. Réponses aux questions de l'évaluation de l'homocystinurie par déficit en CBS	71

Descriptif de la publication

Titre	Séquençage haut débit ciblant un panel de gènes dans la prise en charge médicale des aminoacidopathies les plus fréquentes
Méthode de travail	Analyse critique de la littérature identifiée par une recherche systématique fondée sur des critères explicites ; recueil de l'opinion d'experts, d'organismes professionnels et des institutions publiques de santé
Objectif(s)	Évaluation de l'intérêt médical de la technique de séquençage haut débit ciblant un panel de gènes dans le domaine des cinq aminoacidopathies les plus fréquentes en vue d'apprécier l'opportunité d'une prise en charge de cet acte par l'Assurance maladie
Cibles concernées	Professionnels de santé, patients/usagers, industriels, institutionnels
Demandeur	Direction générale de l'offre de soins (DGOS)
Promoteur(s)	Haute Autorité de santé (HAS)
Pilotage du projet	Florent AMSALLEM (chef de projet, service évaluation des actes professionnels - SEAP), sous la direction de Nadia SQUALLI (adjointe au chef de service) et de Cédric CARBONNEIL (chef du SEAP), avec la contribution de Louise TUIL (assistante, SEAP)
Recherche documentaire	Recherche conduite par Virginie HENRY (documentaliste) et Estelle DIVOL-FABRE (assistante documentaliste), sous la responsabilité de Frédérique PAGES (cheffe du service documentation - veille)
Auteurs	Florent AMSALLEM, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Nadia SQUALLI, adjointe au chef de service, SEAP
Validation	Version du 17 juillet 2025
Actualisation	
Autres formats	

Ce document ainsi que sa référence bibliographique sont téléchargeables sur www.has-sante.fr 

Haute Autorité de santé – Service communication et information
5 avenue du Stade de France – 93218 SAINT-DENIS LA PLAINE CEDEX. Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00
© Haute Autorité de santé – juillet 2025 – ISBN :

Sommaire

1. Contexte	10
1.1. La demande	10
1.2. Aminoacidopathies	10
1.2.1. Définition et épidémiologie	10
1.2.2. Diagnostic et traitement des aminoacidopathies	11
1.2.2.1. Principes diagnostiques des aminoacidopathies	11
1.2.2.2. Principes thérapeutiques et de prise en charge des aminoacidopathies	13
2. Périmètre et méthode d'évaluation	14
2.1. Périmètre de l'évaluation	14
2.2. Objectif de l'évaluation	14
2.3. Méthode d'évaluation	14
2.3.1. Analyse de la littérature	15
2.3.1.1. Stratégie de recherche bibliographique	15
2.3.1.2. Processus de sélection des études et collecte des données	15
2.3.1.3. Évaluation de la qualité méthodologique des études	15
2.3.1.4. Résumé des données	16
2.3.2. Recueil de l'opinion d'experts, du point de vue des parties prenantes et institutions publiques de santé	16
2.3.2.1. Modalités de consultation des experts	17
2.3.2.2. Modalités de consultation des parties prenantes	17
3. Phénylcétonurie	19
3.1. Contexte	19
3.1.1. Stratégie diagnostique	19
3.1.1.1. Dépistage néonatal (DPN)	19
3.1.1.2. Diagnostic différentiel des hyperphénylalaninémies néonatales	19
3.1.1.3. Présentation clinique des patients non dépistés	20
3.1.1.4. Examens paracliniques	20
3.1.1.5. Classification des patients	21
3.1.2. Stratégie thérapeutique	21
3.1.2.1. Régime alimentaire	21
3.1.2.2. Traitement médicamenteux	21
3.1.2.3. Suivi régulier	21
3.1.2.4. Éducation thérapeutique	22
3.1.2.5. Prise en charge des patients diagnostiqués tardivement	22

3.2.	Justification de l'utilisation des tests génétiques	22
3.3.	Questions de l'évaluation et critères de sélection de la littérature	22
3.4.	Analyse de la littérature	23
3.4.1.	Critères de sélection de la littérature	23
3.4.2.	Résultats de la sélection de la littérature	24
3.4.2.1.	Sélection des études	24
3.4.2.2.	Caractéristiques des études incluses	25
3.4.2.3.	Évaluation de la qualité méthodologique des études incluses	26
3.4.3.	Concordance des tests	26
3.4.3.1.	Description des résultats des études incluses	26
3.4.3.2.	Analyse des résultats des études incluses	27
3.5.	Conclusion de l'analyse de la littérature	28
4.	Troubles du cycle de l'urée	30
4.1.	Contexte	30
4.1.1.	Stratégie diagnostique	30
4.1.1.1.	Présentation clinique	30
4.1.1.2.	Dosage de l'ammoniémie	31
4.1.1.3.	Diagnostic différentiel	31
4.1.1.4.	Confirmation diagnostique	32
4.1.1.5.	Diagnostic prénatal	32
4.1.1.6.	Dépistage néonatal	33
4.1.2.	Stratégie thérapeutique	33
4.1.2.1.	Prise en charge de l'hyperammoniémie aiguë	33
4.1.2.2.	Prise en charge à long terme	34
4.1.2.3.	Suivi du patient	34
4.1.2.4.	Greffe hépatique	34
4.1.2.5.	Recommandations spécifiques à certains déficits	34
4.1.2.6.	Autres déficits associés au cycle de l'urée	35
4.2.	Justification de l'utilisation des tests génétiques	36
4.2.1.	Diagnostic	36
4.2.2.	Diagnostic différentiel	36
4.2.3.	Traitement	36
4.3.	Questions d'évaluation et critères de sélection de la littérature	36
4.4.	Analyse de la littérature	37
4.4.1.	Critères de sélection de la littérature	37
4.4.2.	Résultats de la sélection de la littérature	38
4.4.2.1.	Sélection des études	38

4.4.2.2.	Caractéristiques des études incluses	39
4.4.2.3.	Evaluation de la qualité méthodologique des études incluses	39
4.4.3.	Concordance des tests	40
4.4.3.1.	Description des résultats des études incluses	40
4.4.3.2.	Analyse des résultats des études incluses	41
4.5.	Conclusion	42
5.	Leucinoase	43
5.1.	Contexte	43
5.1.1.	Stratégie diagnostique	43
5.1.1.1.	Présentation clinique	43
5.1.1.2.	Examens paracliniques	44
5.1.1.3.	Diagnostic différentiel	45
5.1.2.	Stratégie thérapeutique	45
5.1.2.1.	Régime alimentaire	45
5.1.2.2.	Greffe hépatique	45
5.1.2.3.	Alternatives thérapeutiques	45
5.1.2.4.	Éducation thérapeutique	45
5.2.	Justification de l'utilisation de tests génétiques	46
5.2.1.	Diagnostic	46
5.2.2.	Diagnostic différentiel	46
5.2.3.	Traitement	46
5.3.	Questions de l'évaluation et critères de sélection de la littérature	46
5.4.	Analyse de la littérature	47
5.4.1.	Critères de sélection de la littérature	47
5.4.2.	Résultats de la sélection de la littérature	47
5.4.2.1.	Sélection des études	47
5.4.2.2.	Caractéristiques des études incluses	48
5.4.2.3.	Evaluation de la qualité méthodologique des études incluses	49
5.4.3.	Concordance des tests	50
5.4.3.1.	Description des résultats des études incluses	50
5.4.3.2.	Analyse des résultats des études incluses	50
5.5.	Conclusion	51
6.	Tyrosinémie de type 1	52
6.1.	Contexte	52
6.1.1.	Stratégie diagnostique	52
6.1.1.1.	Présentation clinique	52
6.1.1.2.	Confirmation du diagnostic	55

6.1.2. Stratégie thérapeutique	56
6.1.2.1. Traitement médicamenteux	56
6.1.2.2. Régime alimentaire et suivi	56
6.2. Justification de l'utilisation des tests génétiques	57
6.3. Questions d'évaluation et critères de sélection de la littérature	57
6.4. Analyse de la littérature	58
6.4.1. Critères de sélection de la littérature	58
6.4.2. Résultats de la sélection de la littérature	58
6.4.2.1. Sélection des études	58
6.4.3. Concordance des tests	59
6.5. Conclusion	59
7. Homocystinurie par déficit en cystathionine-bêta-synthase (CBS)	61
7.1. Contexte	61
7.1.1. Stratégie diagnostique	61
7.1.1.1. Présentation clinique	61
7.1.1.2. Pronostic	63
7.1.1.3. Diagnostic différentiel	63
7.1.1.4. Dosage de l'homocystéine plasmatique et examens biochimiques	63
7.1.1.5. Analyse moléculaire du gène <i>CBS</i>	65
7.1.1.7. Diagnostic prénatal	66
7.1.2. Stratégie thérapeutique	66
7.1.2.1. Traitement médicamenteux	66
7.1.2.2. Prise en charge diététique	68
7.2. Justification de l'utilisation des tests génétiques	68
7.3. Questions de l'évaluation et critères de sélection de la littérature	68
7.4. Analyse de la littérature	69
7.4.1. Critères de sélection de la littérature	69
7.4.2. Résultats de la sélection de la littérature	70
7.4.2.1. Sélection des études	70
7.4.3. Concordance des tests	71
7.5. Conclusion	71
8. Enjeux organisationnels	72
9. Position des professionnels de santé	73
9.1. Concernant le rapport dans son ensemble	73
9.2. Concernant l'analyse de la littérature	73
9.3. Concernant les gènes à inclure dans les panels NGS	74

9.4. Concernant le pourcentage de concordance des tests NGS et Sanger pour le diagnostic des aminoacidopathies	78
9.5. Concernant la place et l'utilité clinique des panels de gènes dans les aminoacidopathies	78
9.6. Concernant les enjeux organisationnels liés à l'utilisation du NGS dans les soins courants	79
9.7. Autres commentaires	79
9.8. Réponses aux questions supplémentaires	80
9.9. Synthèse de la position des experts	80
10. Position des parties prenantes	82
10.1. Concernant la composition des panels NGS	82
10.2. Concernant l'interprétation des résultats des tests NGS	82
10.3. Concernant la prescription des tests NGS	82
10.4. Concernant le rendement diagnostique des panels NGS	82
10.5. Concernant l'évolutivité et l'actualisation des panels NGS	83
11. Position de l'Agence de la biomédecine	84
12. Conclusion et perspectives	85
Références bibliographiques	89
Participants	92
Abréviations et acronymes	93

1. Contexte

1.1. La demande

Le présent travail s'intègre dans le cycle pluriannuel d'évaluations engagé pour répondre à la saisine de la Direction générale de l'offre de soins (DGOS) portant sur l'évaluation des actes de séquençage haut débit ciblé en génétique constitutionnelle¹. Ces actes sont actuellement inscrits dans le Référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN). Les évaluations sont donc réalisées dans le but du transfert vers une prise en charge financière pérenne de droit commun.

Cette évaluation est axée sur l'analyse de gènes d'utilité clinique par séquençage haut débit (ou NGS, pour *Next Generation sequencing*) dans les aminoacidopathies.

1.2. Aminoacidopathies

1.2.1. Définition et épidémiologie

Les aminoacidopathies sont un groupe de maladies rares perturbant le métabolisme des acides aminés. Elles se manifestent par des troubles métaboliques et neurologiques, le plus souvent pendant la période néonatale (1). Ces troubles ou intoxications endogènes sont causés par des mutations situées dans certains gènes (2). Les aminoacidopathies les plus fréquentes sont :

- **La phénylcétonurie** qui se caractérise par une accumulation de phénylalanine dans le plasma et dans le cerveau. Cette pathologie est due à des mutations du gène de la phénylalanine hydroxylase (PAH) qui assure la conversion de la phénylalanine en tyrosine. En France, la prévalence est connue grâce au dépistage néonatal. La fréquence moyenne est d'un cas pour 16 468 naissances, et d'un cas pour 9 895 naissances si l'on inclut les hyperphénylalaninémies modérées permanentes (3).
- **L'homocystinurie** par déficit en cystathionine bêta-synthase qui affecte le métabolisme de la méthionine. Cette pathologie est due à des mutations du gène CBS. L'homocystinurie est la maladie métabolique des acides aminés la plus fréquente après la phénylcétonurie. La prévalence de la maladie varie selon les origines et les méthodes d'évaluation, allant de 1/300 000 à 1/1 800 au Qatar (prévalence la plus élevée au monde) et à 1/17 800 en Allemagne (4).
- **La leucinose** qui se caractérise par une accumulation de l'acide aminé leucine dans le plasma générant une toxicité cérébrale. Cette pathologie est due à des mutations des gènes codant pour les sous-unités E1a, E1b et E2 du complexe 2-cétoacide déshydrogénase de la chaîne ramifiée (BCKAD), impliqué dans la deuxième étape enzymatique de la dégradation des acides aminés à chaîne ramifiée (AACR) : la leucine, l'isoleucine et la valine. En Europe, cette aminoacidopathie touche une naissance sur 185 000 (5).
- **La tyrosinémie de type 1** qui affecte le métabolisme de l'acide aminé tyrosine. Cette pathologie est due à un déficit en enzyme fumarylacétoacétate hydroxylase lié à des mutations du gène FAH. Elle se manifeste par des atteintes rénales, hépatiques et cérébrales. En Europe centrale, la prévalence est proche de 1/125 000 (6).

¹ Actes de séquençage haut débit en génétique constitutionnelle : N452 : forfait séquençage haut débit (NGS) < 20 kb ; N453 : forfait séquençage haut débit (NGS) > 20 kb et < 100 kb ; N454 : forfait séquençage haut débit (NGS) > 100 kb et < 500 kb.

- **Les troubles du cycle de l'urée** qui perturbent la détoxification de l'ammoniac et la synthèse de l'arginine. Ce groupe de pathologie est dû à des déficits en protéines essentielles du cycle de Krebs-Henseleit. Ces troubles provoquent des symptômes neuropsychiatriques, hépatiques ou gastro-intestinaux et se manifestent par une hyperammoniémie. Sans traitement ou en cas de retard diagnostique, ils peuvent entraîner la mort ou un handicap neurologique sévère. L'incidence globale est d'environ 1/35 000 (7).

1.2.2. Diagnostic et traitement des aminoacidopathies

Ces aminoacidopathies les plus fréquentes sont diagnostiquées dès la naissance grâce au dépistage néonatal. Ce test consiste à analyser une goutte de sang prélevée sur le talon du nouveau-né pour détecter des anomalies métaboliques.

Pour guider le diagnostic et la prise en charge des principales aminoacidopathies, des recommandations de bonnes pratiques ont été élaborées dans le cadre de protocoles nationaux de diagnostic et de soins (PNDS) (3-7). Ils visent à fournir aux professionnels de santé les meilleures recommandations possibles pour le diagnostic, le traitement et l'organisation du parcours de soins des patients atteints de ces maladies. Conformément au [second plan national maladies rares](#) (2011-2014), les PNDS sont développés par les centres de référence et de compétence à l'aide d'une méthode proposée par la [HAS](#). Bien que la HAS ne valide pas les PNDS et n'intervienne pas dans leur élaboration, elle peut réaliser un audit de leur qualité méthodologique (8).

La description des stratégies de prise en charge diagnostique et thérapeutique pour chaque aminoacidopathie figurant dans ce rapport est détaillée dans le chapitre qui lui est consacrée.

1.2.2.1. Principes diagnostiques des aminoacidopathies

a). Diagnostic clinique et biochimique

Les aminoacidopathies doivent être suspectées chez des patients présentant des troubles neurologiques variés accompagnant une symptomatologie aiguë pouvant être à l'origine d'une hospitalisation (2).

De manière générale, le diagnostic initial de ces pathologies est établi grâce à des explorations biochimiques qui complètent la caractérisation clinique du phénotype. Les tests biochimiques sont réalisés pour mesurer les taux d'acides aminés dans le sang et les urines. Ces tests assurent la détection des anomalies évocatrices de maladies comme des taux élevés de l'acide aminé concerné (2).

b). Diagnostic génétique

Le diagnostic clinico-biochimique peut être confirmé par une analyse génétique afin d'identifier les variants responsables de la maladie. Une mutation est définie comme une variation pathogène de la séquence d'ADN d'une personne par rapport à une séquence de référence, soit une séquence standard du génome humain établie en compilant les séquences de plusieurs individus considérés comme sains (9).

En pratique, le NGS et le séquençage Sanger sont les deux techniques de séquençage de l'ADN utilisées pour la détection de variants.

- ➔ **Le séquençage Sanger** est largement reconnu pour sa précision et est souvent utilisé comme référence pour valider les résultats obtenus par NGS (10). Cette approche consiste à séquencer « gène par gène », les régions à amplifier sont ciblées par PCR à partir de l'ADN nucléaire puis les fragments obtenus sont séquencés sur un appareil de séquençage capillaire. Les séquences du patient sont ensuite comparées à une référence pour identifier des mutations

éventuelles. Toutefois, le séquençage Sanger est une méthode chronophage qui ne permet d'explorer qu'un nombre limité de gènes (9, 11).

- **Le NGS** a notamment été développé au début des années 2000 pour pallier les limites du séquençage Sanger en assurant le séquençage simultané de millions de fragments d'ADN (12). Les données obtenues sont ensuite traitées informatiquement pour reconstituer la séquence complète puis sont analysées afin de détecter d'éventuelles variations par rapport à la séquence de référence. Le NGS propose ainsi une couverture plus large et une détection plus rapide des variants (13).
- Pour évaluer la qualité des données issues du NGS, deux critères clés doivent être considérés (9). Le premier critère est la profondeur de séquençage qui indique le nombre de fois (X) qu'une base ciblée a été lue indépendamment. Par exemple, une profondeur de 100X signifie que chaque base a été séquencée 100 fois. Pour détecter de manière fiable des variants hétérozygotes, la Société européenne de génétique humaine (ESHG) recommande une profondeur minimale de 20X (14). Le second critère est la couverture qui mesure le pourcentage de base séquencées par rapport au total de bases ciblées. La qualité de l'analyse est fondée sur le pourcentage de couverture atteint avec une profondeur minimale ou moyenne prédéfinie. Les données de couverture et de profondeur des régions d'intérêt sont obtenues après avoir aligné les données de séquence sur une séquence de référence du génome humain.
 - Il existe différents niveaux d'approches du séquençage NGS qui varient en fonction de l'étendue de la région ciblée (9) :
 - gène unique : séquençage d'un gène particulier (environ 3 Kb) ;
 - panel de gènes : cible tous les gènes associés à une pathologie et couvrant des dizaines à centaines de kb avec une profondeur élevée ;
 - séquençage d'exome : cible les séquences codantes des gènes (environ 60 Mb) où la majorité des variants sont décrits ;
 - séquençage du génome : analyse l'ensemble du génome sans enrichissement.
 - Pour la sélection des gènes à inclure dans un panel diagnostique ciblé par NGS, les sociétés savantes s'accordent sur l'importance d'inclure uniquement des gènes dont l'association avec le phénotype du probant a été démontrée (association gènes/maladies démontrée).
 - Selon l'*American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG), pour améliorer la sensibilité clinique des panels NGS :
 - seuls les gènes associés aux maladies mendéliennes et dont l'association avec la maladie est validée par des preuves de niveau « définitif », « fort », ou « modéré » par ClinGen doivent être inclus (15) ;
 - il peut être pertinent d'inclure les gènes reconnus pour leur rôle dans les maladies susceptibles de faire partie du diagnostic différentiel d'un phénotype déterminé, en particulier s'il s'agit de maladies présentant un chevauchement clinique important (15).
 - Conformément à ces recommandations, les gènes sélectionnés devraient être associés de manière robuste aux aminoacidopathies.
- Il existe ainsi plusieurs sources d'information qui :
 - facilitent l'élaboration de panels de gènes en s'appuyant sur l'existence de preuves de la validité clinique des gènes ;
 - identifient le statut des variants (pathogène, probablement pathogène, signification inconnue, bénin ou probablement bénin).

- [PanelApp](#) est une plateforme développée par *Genomics England*. Elle offre la possibilité de créer et de mettre à jour des panels virtuels de gènes associés aux maladies génétiques rares. Ces panels sont élaborés par des experts qui ajoutent et étudient les gènes en fonction des preuves disponibles, afin de parvenir à un consensus sur ceux qui présentent une association établie avec une maladie. Cette plateforme regroupe l'ensemble des panels de gènes utilisés dans les tests génomiques listés dans le répertoire national des tests génomiques du NHS.
- [Gene2Phenotype](#) (G2P) est une plateforme en ligne publique au Royaume-Uni qui compile des informations sur les gènes, les variants et les phénotypes reliant ainsi les gènes aux phénotypes associés grâce à des données issues de la recherche et de la littérature médicale. La validation des données repose sur des preuves qui servent à trier les variants diagnostiques. Chaque entrée G2P associe une exigence allélique et une conséquence mutationnelle à un locus défini et à une entité pathologique. Un niveau de confiance et un lien vers les preuves sont attribués à chaque entrée.
- [ClinGen](#)² est une plateforme regroupant des experts de divers domaines à savoir la génétique, la médecine, la bio-informatique et la recherche. ClinGen utilise un processus de curation des gènes qui est une méthode standardisée autorisant à évaluer les preuves génétiques des associations gènes/maladies et à classifier la validité clinique de ces associations selon huit catégories (définitive, forte, modérée, limitée, contestée, réfutée, aucune relation connue avec la maladie et modèle animal seulement).
- [ClinVar](#)³ est une base de données publique qui collecte et publie les relations qui existent entre variants et phénotypes, elle recense des données issues de sources variées (laboratoires de génétique, chercheurs et cliniciens). Les informations fournies renseignent sur les variants et leurs implications cliniques, facilitant ainsi l'identification et la classification de ces variants. Cette base est hébergée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) et financée par les *National Institutes of Health* (NIH). Les chercheurs de ClinGen travaillent en étroite collaboration avec le NCBI en ce qui concerne le développement et la fonctionnalité de ClinVar afin d'assurer notamment le dépôt de données provenant de nombreuses sources.

Les bases de données ClinGen et GeneReviews ainsi que les recommandations de l'ACMG ont été consultées dans le cadre de cette évaluation afin de vérifier si les associations entre les gènes et les aminoacidopathies sont validées.

Cette démarche a permis de définir les panels de gènes ou gènes cibles à séquencer par NGS, en garantissant que la sélection soit pertinente pour les pathologies étudiées et que celle-ci s'appuie sur des sources fiables et reconnues en génétique médicale.

1.2.2.2. Principes thérapeutiques et de prise en charge des aminoacidopathies

La majorité de ces maladies sont prises en charge en urgence par l'élimination de composés toxiques et en dehors de ces situations, par des régimes alimentaires stricts à suivre à vie (2). La description de la stratégie de prise en charge thérapeutique pour chaque aminoacidopathie figurant dans ce rapport est détaillée dans le chapitre qui lui est consacrée.

² *Clinical Genome Resource*.

³ *Clinical Variation*.

2. Périmètre et méthode d'évaluation

2.1. Périmètre de l'évaluation

La demande de la DGOS, l'analyse du contexte de soins, l'analyse des réponses obtenues grâce à une enquête de pratique⁴ réalisée par la HAS auprès de la filière [G2M](#), et particulièrement le processus de priorisation des situations cliniques qui s'est ensuivi, ont permis d'identifier trois indications à évaluer, à savoir :

- les aminoacidopathies les plus fréquentes ;
- les aminoacidopathies pour lesquelles il existe un PNDS ;
- et celles pour lesquelles un test génétique « quel qu'il soit » présente une utilité clinique.

2.2. Objectif de l'évaluation

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'intérêt médical de l'utilisation du NGS dans le cadre de la prise en charge diagnostique des aminoacidopathies en soins courants. Cette évaluation s'attachera, pour le cas index, à :

- identifier les gènes à inclure dans un panel pour le diagnostic moléculaire des aminoacidopathies par NGS ;
- définir la place du NGS dans la stratégie de prise en charge des aminoacidopathies dans le contexte des soins courants ;
- évaluer la pertinence de l'utilisation du NGS par rapport au séquençage Sanger.

La présente évaluation n'a pas pour objectif de définir les conditions de réalisation du NGS ciblé d'un panel de gènes. Celles-ci sont réglementairement encadrées par i) la loi n° 2021-1017 du 2 août 2021 relative à la bioéthique, ii) les agences régionales de santé qui délivrent les autorisations d'activité aux laboratoires de biologie médicale pour réaliser des examens de génétique moléculaire et iii) l'Agence de la biomédecine qui définit les règles de bonnes pratiques en génétique constitutionnelle à des fins médicales et délivre les agréments aux professionnels de santé pour les activités de génétique. La HAS s'appuiera sur l'ensemble de ces éléments pour produire un document sur les conditions de réalisation du NGS en génétique constitutionnelle postnatale, commun à toutes les indications évaluées.

2.3. Méthode d'évaluation

Ce rapport a été élaboré selon une méthode générale d'évaluation qui associe une analyse de la littérature au recueil de l'opinion d'experts et de parties prenantes concernés par le sujet.

Les différentes étapes de cette évaluation sont :

- réalisation d'une analyse des faits publiés identifiés à l'issue de la recherche documentaire systématique ;

⁴ Enquête de pratique réalisée en 2022 et 2023 auprès de 23 filières de santé maladies rares, des conseils nationaux professionnelles de biologie médicale, de génétique clinique, chromosomique et moléculaire ainsi que des sociétés savantes suivantes : le Réseau francophone de pharmacogénétique (RNPGx), l'Association des cytogénéticiens de langue française (ACLF), l'Association nationale des praticiens de génétique moléculaire (ANPGM), la Société française de biologie médicale, le Groupe génétique et cancer et la Société française d'hématologie (le Groupe français d'études sur l'hémostase et la thrombose).

- consultation des experts externes, en vue de recueillir leurs positions individuelles, argumentées et fondées sur leurs connaissances, leurs expériences et leurs pratiques, en tenant compte des données de la littérature ;
- recueil du point de vue à titre collectif des organismes professionnels (Conseils nationaux professionnels (CNP), sociétés savantes, filière nationale de santé des maladies rares, associations de patients et usagers), concernés par le sujet et interrogés en tant que partie prenante au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013⁵ ;
- consultation de l'Agence de la biomédecine (ABM) ;
- compilation de ces éléments dans un argumentaire et élaboration d'un rapport d'évaluation soumis pour examen à la Commission d'évaluation des technologies de santé diagnostiques, pronostiques et prédictives (CEDiag) puis au Collège de la HAS pour validation.

2.3.1. Analyse de la littérature

Cette analyse a été réalisée conformément aux directives PRISMA-DTA pour les études de précision diagnostique (16).

2.3.1.1. Stratégie de recherche bibliographique

Une recherche bibliographique systématique couvrant la période de janvier 2018 à octobre 2023 a été mise en œuvre pour l'ensemble des indications évaluées. Un système de veille a été mis en place jusqu'en janvier 2025. Les bases de données électroniques suivantes ont été consultées : *Medline (via Proquest)*, *Embase (via Proquest)*, *INAHTA Database*, *The Cochrane Library* et *Lissa*. Les stratégies de recherche détaillées sont présentées en Annexe 1.

Les recommandations émises par les diverses sociétés savantes nationales et internationales ont également été recherchées afin de disposer d'une vision la plus complète possible des pratiques actuelles en matière de gènes pertinents à inclure dans un panel NGS à visée diagnostique.

2.3.1.2. Processus de sélection des études et collecte des données

Les critères de sélection de la littérature (sous format PICOS⁶) associés à chaque aminoacidopathie sont détaillés dans la partie du rapport qui lui est consacrée.

Pour chaque étude incluse, les données ont été extraites dans un formulaire d'extraction. Les informations suivantes ont été enregistrées : (a) type de conception de l'étude ; (b) caractéristiques de l'étude (auteurs, année, pays, critères d'éligibilité) ; (c) caractéristiques des participants (taille de l'échantillon, âge, population source, sexe, stade de la maladie au moment de l'inclusion) ; (d) caractéristiques des technologies NGS (couverture et/ou profondeur) ; (e) résultats étudiés, à savoir l'identification de gènes d'utilité clinique et l'estimation de la concordance positive des tests NGS et Sanger (**les données disponibles n'ont pas permis d'estimer le rendement diagnostique**).

2.3.1.3. Évaluation de la qualité méthodologique des études

La qualité méthodologique des études incluses a été évaluée en utilisant l'outil d'évaluation de la qualité des séries de cas du NIH (17). Cet outil comprend neuf questions qui concernent l'objectif de l'étude, les caractéristiques de la population étudiée, le test évalué, la mesure des résultats et le suivi,

⁵ Décret n° 2013-413 du 21 mai 2013 portant approbation de la charte de l'expertise sanitaire prévue à l'article L. 1452-2 du code de la santé publique.

⁶ PICOS : Population, Intervention (test index), Comparateur, Outcomes, Schémas d'études.

l'analyse statistique et les résultats. Les réponses (oui/non) fournies ont permis d'obtenir une appréciation globale de la qualité de l'étude (bonne, moyenne ou médiocre).

2.3.1.4. Résumé des données

Les caractéristiques de chaque étude, la population étudiée et les résultats ont été résumées de manière narrative puis présentées dans des tableaux synoptiques.

2.3.2. Recueil de l'opinion d'experts, du point de vue des parties prenantes et institutions publiques de santé

La méthode utilisée dans ce rapport d'évaluation pour recueillir l'opinion des experts, des parties prenantes et des institutions publiques de santé est décrite ci-après.

Les **professionnels de santé concernés** par la prise en charge des aminoacidopathies ont été sollicités comme experts ou parties prenantes⁷. Le recueil de leurs opinions argumentées a contribué à préciser les recommandations publiées ainsi qu'à interpréter les faits analysés en les replaçant dans le contexte de pratique français (e.g. exhaustivité, validité, représentativité, interprétation des gains diagnostiques et thérapeutiques).

Des **associations de patients et usagers** et une **institution publique** en santé ont également apporté leur contribution.

La liste des consultations est détaillée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1. Liste des consultations

Parties prenantes consultées	Institution publique consultée
CNP de biologie médicale	Agence de la biomédecine (ABM)
CNP de génétique clinique, chromosomique et moléculaire	
CNP de pédiatrie	
CNP de néphrologie	
CNP d'endocrinologie, diabétologie et nutrition	
CNP de neurologie	
CNP d'hépatogastroentérologie	
Collège de médecine générale	
Association nationale des praticiens de génétique moléculaire	
Association des cytogénéticiens de langue française,	
Société française de neurologie pédiatrique	
Filière de santé maladies rares (G2M)	
« Les feux follets » (association de patients et d'usagers)	
« Les enfants du jardin » (association de patients et d'usagers)	

⁷ Conformément au décret n°2013-413 (JORF n°0116 du 22 mai 2013).

2.3.2.1. Modalités de consultation des experts

Constitution

Les organismes professionnels présentés dans le Tableau 1 ont été sollicités pour indiquer des noms d'experts susceptibles d'apporter leur expertise sur le sujet. Cette sollicitation a eu lieu le 2 mai 2024. Les organismes professionnels ont répondu entre le 22 mai et le 5 août 2024. Les experts proposés ont complété leurs déclarations publiques d'intérêts (DPI)⁸ entre le 1^{er} juillet et le 5 août 2024.

Une analyse des DPI a été réalisée pour toutes les candidatures selon la charte de déontologie de la HAS⁹. Pour son analyse la HAS a également pris en compte la base « Transparence-Santé ». Les intérêts déclarés par les membres du groupe de travail et les informations figurant dans la base « Transparence-Santé » ont été considérés comme étant compatibles avec la participation des experts au groupe de travail.

La liste des experts ayant participé à cette évaluation est présentée à la fin de ce rapport.

Modalités de recueil de la position argumentée des experts

Les experts ont été interrogés à titre individuel (*intuitu personae*) afin d'exprimer leurs positions individuelles argumentées et fondées sur leurs connaissances, leurs expériences et leurs pratiques, au regard des données de la littérature. Une liste de questions leur a été adressée le 13 décembre 2024 avec une version provisoire du rapport d'évaluation contenant le contexte, la méthode et l'analyse de la littérature. Les experts ont répondu entre le 26 décembre 2024 et le 22 janvier 2025.

Le compte rendu des retours des experts a été relu et validé par l'ensemble des membres du groupe de travail entre le 17 février et le 3 mars 2025, il figure *in extenso* en annexe 2. La synthèse de ce compte-rendu, rédigée par la HAS, est présentée dans le chapitre 9.

2.3.2.2. Modalités de consultation des parties prenantes

Ces structures ont été sollicitées en tant que parties prenantes au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013. Cette sollicitation a été menée conformément à la procédure de consultation des parties prenantes établie par la HAS¹⁰. Dans les faits, les président(e)s des organismes professionnels et associations de patients et d'usagers ont été sollicités afin que les structures, qu'ils président, expriment leurs points de vue argumentés. À cette fin, un questionnaire ouvert et standardisé élaboré par la HAS leur a été communiqué ainsi qu'un exemplaire du rapport d'évaluation de la HAS contenant une présentation du contexte, l'analyse critique de la littérature actuelle et les conclusions qui en découlent.

Cette sollicitation a été envoyée le 2 avril 2025. Les organismes professionnels et l'Agence de la biomédecine ont répondu entre le 18 avril et le 2 mai 2025. Une synthèse rédigée par la HAS est présentée dans le chapitre 10 de ce rapport. Leurs commentaires sont rapportés *in extenso* en annexe 3.

Parmi les quinze structures consultées, sept ont répondu :

- six organismes professionnels : CNP de pédiatrie, CNP d'endocrinologie, diabétologie et nutrition, CNP de neurologie, CNP d'hépatogastroentérologie, Association nationale des praticiens de génétique moléculaire, Filière de santé maladies rares G2M ;
- l'Agence de la biomédecine.

⁸ Les DPI des membres du groupe de travail sont consultables sur le site www.dpi.sante.gouv.fr.

⁹ [Déclarations d'intérêts et gestion des conflits d'intérêts \(has-sante.fr\)](http://has-sante.fr).

¹⁰ Procédure de consultation des parties prenantes de la HAS, juin 2014 ([lien](#)).

L'Association des cytogénéticiens de langue française, le CNP de néphrologie, le Collège de la médecine générale n'ont pas souhaité faire part de leur point de vue sur le travail réalisé par la HAS.

Le CNP de génétique et l'association « Les feux follets » n'ont pas pu répondre dans les délais impartis.

Le CNP de biologie médicale, la Société française de neurologie pédiatrique et l'association « Les enfants du jardin » n'ont pas répondu.

3. Phénylcétonurie

3.1. Contexte

La phénylcétonurie (PCU) est une maladie génétique liée à un déficit en phénylalanine hydroxylase (PAH) qui assure la transformation d'un acide aminé, la phénylalanine (Phé) en un autre acide aminé, la tyrosine (Tyr). Le déficit entraîne une augmentation du taux de phénylalanine dans le sang qui est toxique pour le cerveau (3).

3.1.1. Stratégie diagnostique

La stratégie diagnostique présentée ici est celle décrite dans le PND (3) élaboré en grande partie à partir de consensus européens publiés en 2017 (18, 19).

Toutefois, afin de fournir une vue d'ensemble complète et exhaustive, d'autres stratégies diagnostiques issues de consensus d'experts reconnus et publiées dans *GeneReviews* sont également incluses (20, 21).

3.1.1.1. Dépistage néonatal (DPN)

Le diagnostic de la phénylcétonurie (PCU) est principalement permis grâce au DPN réalisé entre 48 h et 72 h de vie. Ce dépistage consiste à mesurer sur un carton buvard le taux de Phé dans le sang prélevé. Un taux de Phé supérieur à 180 $\mu\text{mol/L}$ [3 mg/dL] indique un résultat positif. Si le taux de Phé est compris entre 180 et 360 $\mu\text{mol/L}$ [3-6 mg/dL], alors un contrôle supplémentaire est effectué. Si ce taux demeure au-dessus de 180 $\mu\text{mol/L}$, le dépistage est confirmé positif et une prise en charge médicale s'impose. Pour un taux de Phé supérieur à 360 $\mu\text{mol/L}$ [6 mg/dL], des examens complémentaires sont immédiatement entrepris (contrôle du taux de Phé, étude du profil des ptérides urinaires, mesure de l'activité de la dihydroptéridine réductase (DHPR), bilan hépatique, chromatographie des acides aminés, génotypage et test au BH4).

3.1.1.2. Diagnostic différentiel des hyperphénylalaninémies néonatales

Afin de confirmer le diagnostic de PCU et d'éliminer d'autres causes, un diagnostic différentiel est effectué. Il consiste à rechercher :

- les déficits du métabolisme du BH4 qui sont à l'origine d'une hyperphénylalaninémie (HPA) et de déficits en neurotransmetteurs cérébraux. Le diagnostic se fait par l'étude du profil des ptérides urinaires et de l'activité DHPR (en cas de HPA) ;
- le déficit en DNAJC12 dont le diagnostic se fait par analyse moléculaire du gène *DNAJC12* après avoir éliminé les autres causes de HPA ;
- d'autres maladies héréditaires du métabolisme, telles que la galactosémie, la fructosémie et la tyrosinémie ;
- les causes non métaboliques comme la HPA transitoire, les perfusions d'acides aminés, l'insuffisance hépatocellulaire néonatale et les effets secondaires de certains médicaments (triméthoprime, méthotrexate, antifoliques) qui peuvent expliquer cette HPA.

Dans *GeneReviews*¹¹, le recours au panel multigénique est mentionné dans les étapes de diagnostic différentiel des HPA (20). La composition de ce panel est précisée dans la partie 2.1.1.4 de ce rapport.

¹¹ Ressource internationale fournissant des informations sur les maladies héréditaires sous forme de journal, couvrant le diagnostic, le traitement et le conseil génétique. Chaque chapitre est rédigé par un ou plusieurs experts de la maladie concernée et fait l'objet d'un processus de révision par les pairs avant d'être publié.

Dans *Physician's Guide to the Diagnosis, Treatment, and Follow-Up of Inherited Metabolic Diseases*¹², il est indiqué explicitement que l'analyse génétique fait partie de la démarche diagnostique différentielle des HPA. La réalisation des tests ADN est recommandée pour compléter le diagnostic et identifier des variants responsables des déficits en BH4 dans les gènes *GCH1*, *PTS*, *QDPR*, *PCBD1* et *SPR* (21).

3.1.1.3. Présentation clinique des patients non dépistés

Les patients nés avant l'instauration du DPN ou dans des régions où ce dépistage n'est pas pratiqué peuvent présenter des signes cliniques d'appel tels que des troubles neurologiques, un retard mental, une microcéphalie, une épilepsie, des troubles du comportement, de l'eczéma et une dépigmentation. Chez les enfants présentant une microcéphalie inexpliquée ou des signes d'embryofœtopathie (EFP), un dosage de la Phé maternelle est recommandé pour diagnostiquer une éventuelle PCU maternelle. Un bilan complet de HPA est nécessaire pour établir un plan de traitement adapté.

3.1.1.4. Examens paracliniques

La phénylalaninémie est le critère biologique principal pour le diagnostic et le suivi métabolique. Le dosage de la Phé est généralement réalisé à partir de sang total sur carton buvard. Un aminogramme plasmatique est utilisé pour le diagnostic différentiel des HPA secondaires et pour doser la tyrosinémie.

Le test de charge au BH4 dont les modalités sont présentées en annexe 4 offre la possibilité de faire le diagnostic néonatal des porteurs d'une anomalie du métabolisme du BH4 ou d'un déficit en DNAJC12. Il sert en outre à évaluer l'efficacité de la BH4 (saproptérine¹³) dans la réduction des taux de Phé et par conséquent à savoir si un patient atteint de PCU peut bénéficier de ce traitement. Un résultat positif, au test de charge par BH4, pendant la période néonatale oriente rapidement vers un diagnostic de déficits primaires en BH4 et en DNAJC12. Une réponse positive est définie par une réduction d'au moins 30 % des taux de Phé.

Le génotypage confirme le diagnostic de PCU. L'analyse moléculaire se justifie par la corrélation qui existe entre le génotype et la sensibilité au BH4. Le génotypage assure l'identification des mutations du gène de la phénylalanine hydroxylase (*PAH*) prédisposant à la réponse au BH4. Deux mutations dites BH4 sensibles entraînent une réponse au BH4 alors que la présence de deux mutations non sensibles ne donne pas lieu à une réponse. Dans les autres cas de figure (p. ex. l'existence d'une mutation sensible et d'une mutation non sensible), un test laisse envisager un traitement par BH4. Plus de 1 040 mutations du gène *PAH* liées à la PCU ont été identifiées.

- ➔ **Selon GeneReviews** (20), le diagnostic génétique de la PCU repose sur des tests ciblant soit un gène unique, soit un panel de gènes.
- Test ciblé sur un seul gène : l'analyse de la séquence du gène *PAH* est effectuée en premier lieu, suivie d'une analyse de délétion/duplication ciblée sur le gène si un seul ou aucun variant pathogène n'est identifié.
- Un panel multigénique comprenant le gène *PAH* et d'autres gènes d'intérêts peut être envisagé. Il s'agit de gènes impliqués dans les déficits en BH4 à savoir les gènes *GCH1*, *PTS*, *QDPR* et *PCBD1*. Par ailleurs, *GeneReviews* (20) rapporte que les gènes inclus dans les panels et la sensibilité diagnostique des tests utilisés pour chaque gène varient d'un laboratoire à l'autre et sont susceptibles d'évoluer avec le temps.

¹² Ressource internationale fournissant des informations sur le diagnostic, le traitement et le suivi des maladies métaboliques. Ce livre est rédigé par des experts.

¹³ Version synthétique de la 6R-BH4 naturelle, qui est un cofacteur des phénylalanine, tyrosine et tryptophane hydroxylases.

3.1.1.5. Classification des patients

Les patients sont répartis dans différentes catégories en fonction des résultats du génotypage et du test de charge au BH4.

Les patients ayant un taux de phénylalanine supérieur à 360 $\mu\text{mol/L}$ sont diagnostiqués « patients PCU » et doivent être traités. Deux sous-groupes de patients sont identifiés : PCU BH4 sensibles et PCU BH4 non sensibles.

Les patients ayant un taux de phénylalanine inférieur à 360 $\mu\text{mol/L}$ sont diagnostiqués « patients hyperphénylalaninémie modérée permanente » et doivent être surveillés régulièrement. Aucun traitement n'est nécessaire.

3.1.2. Stratégie thérapeutique

Le PNDS rapporte que le traitement vise à réduire les taux de phénylalanine soit par un régime alimentaire soit par un traitement médicamenteux, ou une combinaison des deux (3).

La stratégie thérapeutique décrite dans le PNDS est articulée comme suit.

3.1.2.1. Régime alimentaire

Le but du régime alimentaire est de maintenir les taux sanguins de Phé dans des limites non toxiques et d'assurer une croissance normale. La tolérance en Phé varie selon les patients et chaque patient a sa propre tolérance maximale quotidienne. Les aliments riches en Phé sont interdits, par conséquent des mélanges d'acides aminés et des produits hypoprotidiques sont utilisés pour compléter l'apport nutritionnel.

3.1.2.2. Traitement médicamenteux

Le dichlorhydrate de saproptérine (Kuvan[®]) est le seul médicament actuellement utilisé pour traiter l'hyperphénylalaninémie chez les sujets atteints de phénylcétonurie de PCU. Ce médicament, une forme synthétique du tétrahydrobioptérine BH4, a obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) en 2008 (22). En 2015, son indication a été étendue pour inclure les enfants de moins de 4 ans (23).

La dose initiale de dichlorhydrate de saproptérine préconisée par l'AMM chez l'adulte et l'enfant atteints de PCU est de 10 mg/kg/j. En revanche, une dose initiale de 20 mg/kg est recommandée pour identifier les répondeurs partiels, accordant ainsi une meilleure adaptation du traitement.

La réponse au traitement est évaluée par la diminution des taux de phénylalanine après l'administration du médicament. Une réponse positive se traduit par une réduction significative des taux de Phé, démontrant l'efficacité du traitement.

Le mécanisme d'action du dichlorhydrate de saproptérine chez les patients répondeurs repose sur l'augmentation de l'activité résiduelle de l'enzyme PAH. Le médicament favorise l'oxydation de la Phé chez les formes mutantes sensibles de l'enzyme. En conséquence, les taux de Phé diminuent, rendant la possibilité d'assouplir le régime alimentaire des patients répondeurs et d'améliorer leur qualité de vie.

3.1.2.3. Suivi régulier

Il s'agit d'effectuer des mesures régulières de Phé pour vérifier que les taux sont bien dans les limites recommandées.

Des évaluations neuropsychologiques sont entreprises pour détecter rapidement tout retard potentiellement lié à la maladie. Un bilan nutritionnel régulier est effectué afin de s'assurer que le patient ait une croissance normale.

3.1.2.4. Éducation thérapeutique

Les patients et les familles sont informés sur la gestion de la maladie et l'importance du régime alimentaire. De plus, une approche individualisée offre la possibilité d'adapter le traitement en fonction de l'âge et des taux de phénylalanine.

3.1.2.5. Prise en charge des patients diagnostiqués tardivement

Si le patient est sensible au BH4, un traitement par BH4 éventuellement associé à un régime alimentaire est adopté. En l'absence de sensibilité au BH4, un régime strict est recommandé.

Une réévaluation systématique des bénéfices de la prise en charge est effectuée après au moins 6 mois de traitement. Les améliorations sont actées après une stabilisation des taux pendant un minimum de 3 semaines à 2 mois. L'évaluation du bénéfice du régime se fait grâce à une évaluation neuropsychologique et à l'examen clinique. Le suivi des taux de phénylalanine doit être hebdomadaire au début de la prise en charge puis adapté en fonction des objectifs souhaités et de l'âge du patient.

3.2. Justification de l'utilisation des tests génétiques

Au regard de la stratégie diagnostique et thérapeutique de la PCU/HPA décrite dans le PNDS, l'utilisation du génotypage est ainsi justifiée car :

- il contribue à établir le diagnostic différentiel des HPA néonatales en éliminant les autres causes génétiques de l'HPA, à savoir les déficits en BH4 et DNJCA12, qui sont à l'origine de symptômes similaires à ceux de la PCU ;
- il confirme le diagnostic de PCU en identifiant les mutations du gène *PAH* ;
- il est utilisé pour prédire la sensibilité des patients au traitement par saproptérine (BH4). En effet, le génotypage donne lieu à une prise en charge la mieux adaptée en identifiant :
 - les patients ayant deux mutations du gène *PAH* sensibles au BH4. Ces patients présentent une forte probabilité de répondre positivement au traitement par saproptérine ;
 - les patients ayant une mutation sensible au BH4 et une mutation non sensible ou de génotype inconnu. Pour ces patients, un test de charge au BH4 est requis pour évaluer leur sensibilité au traitement par saproptérine ;
 - les patients ayant des génotypes non sensibles ou ne présentant pas de réduction significative des taux de phénylalanine après le test de charge. Dans ce contexte, les patients ne sont pas traités par BH4 et une prise en charge diététique est proposée.

Toutefois, le PNDS ne précise pas la méthode d'analyse moléculaire utilisée pour le génotypage, que ce soit NGS ou Sanger.

3.3. Questions de l'évaluation et critères de sélection de la littérature

Question 1 : Les résultats du NGS ciblant les variants des gènes *PAH*, *DNAJC12*, *PTS*, *QDPR*, *GCH1* et *PCBD1* sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?

Question 2 : Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?

Pour répondre à ces questions, des critères structurés dans le résumé PICOS¹⁴ ont été définis. Ces critères ont permis de guider la sélection et l'analyse des publications scientifiques identifiées par la recherche systématique (Tableau 2).

Tableau 2. Critères PICOS – phénylcétonurie

Population	Adultes et enfants suspectés d'être atteints ou à défaut déjà atteints de PCU, de HPA par déficit en BH4, de HPA par déficit en DNAJC12
Test index	Séquençage haut débit (NGS) ciblant les variants des gènes <i>PAH</i> , <i>DNAJC12</i> , <i>QDPR</i> , <i>PTS</i> , <i>GCH1</i> et <i>PCBD1</i>
Compareurs	Test moléculaire monogénique : Sanger
Outcomes	Pourcentage de concordance positive de NGS ciblant <i>PAH</i> , <i>DNAJC12</i> , <i>QDPR</i> , <i>PTS</i> , <i>GCH1</i> et <i>PCBD1</i> , et Sanger. Il existe une concordance positive des deux tests lorsque ceux-ci détectent les mêmes variants pour les mêmes patients
Schémas d'études	<ul style="list-style-type: none"> – Littérature synthétique : rapports d'évaluation technologique, revues systématiques avec ou sans méta-analyse, ou à défaut, études de stratégie diagnostique. – Recommandations de bonnes pratiques

3.4. Analyse de la littérature

3.4.1. Critères de sélection de la littérature

Les publications, dont l'objectif était l'évaluation du NGS pour la détection de variants des gènes *PAH*, *DNAJC12*, *PTS*, *QDPR*, *GCH1* et *PCBD1*, ont été recherchées (la stratégie de recherche est décrite en annexe 1).

a). Elles devaient répondre **aux critères d'inclusion** suivants :

- rapports d'évaluation technologiques, revues systématiques et/ou méta-analyses, études observationnelles, transversales, de cohorte, cas-témoins, séries de cas ou rapports de cas ;
- études incluant des sujets suspectés d'être atteints de PCU ou, à défaut déjà atteints :
 - de HPA par déficit en BH4 et HPA par déficit en DNAJC12 ;
 - le diagnostic clinico-biochimique a été précédemment établi (taux de phénylalanine supérieur à 360 µmol/L si PCU et inférieur à 360 µmol/L si HPA) ;
 - le génotype est compatible ou non avec un traitement par BH4 ;
- études évaluant en période post-natale les méthodes NGS seules ou en complémentarité avec d'autres méthodes si celles-ci peuvent être distinguées de NGS ;
- études considérant le séquençage Sanger comme méthode de confirmation ;
- études rapportant au moins un résultat d'intérêt (cf. outcomes, Tableau 2) ;
- études publiées en anglais ;
- articles en texte intégral.

b). Ont été exclues de l'analyse :

- les études qui confirmaient les résultats du NGS à l'aide d'une autre méthode que la méthode Sanger ;
- les études dans lesquelles le NGS est réalisé dans le cadre d'un dépistage néonatal ;

¹⁴ PICOS : *Population*, *Intervention (test index)*, *Compareur*, *Outcomes*, *Schémas d'études*.

- les études qui incluaient des sujets ayant eu un diagnostic génétique antérieur ou un traitement antérieur ;
- les études disponibles sous forme de résumé uniquement, les lettres et les publications éditoriales ainsi que les études sur des modèles animaux.

Les recommandations émises par les diverses sociétés savantes nationales et internationales ont également été recherchées afin de disposer d'une vision la plus complète possible des pratiques actuelles en matière de gènes pertinents à inclure dans un panel de NGS à visée diagnostique.

3.4.2. Résultats de la sélection de la littérature

3.4.2.1. Sélection des études

La stratégie de recherche a permis d'identifier un total de 25 articles (Figure 1). Après suppression des doublons, 24 articles ont été conservés et huit articles ont été exclus après examen du titre et du résumé. Une évaluation du texte intégral des seize publications restantes a été réalisée. À la suite de cet examen, dix études sur seize ne satisfaisaient pas les critères d'inclusion. Finalement, six articles ont été jugés conformes et inclus dans le cadre de cette évaluation (24-29).

La veille documentaire a permis d'identifier des recommandations de bonne pratique de l'ACMG, publiées en janvier 2025, sur le diagnostic et la prise en charge du déficit en phénylalanine hydroxylase (30).

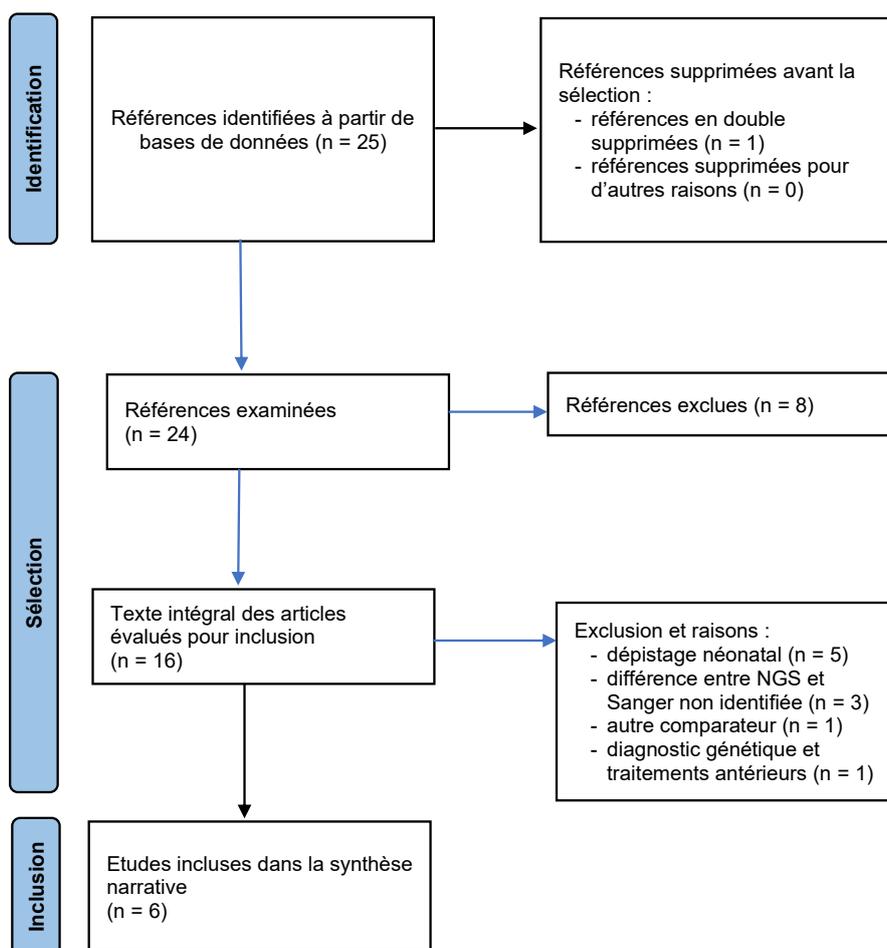


Figure 1. Organigramme PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et la phénylcétonurie

3.4.2.2. Caractéristiques des études incluses

Toutes les publications incluses étaient des séries de cas ou des rapports de cas.

Quatre études ont recherché les variants du gène *PAH* à l'aide de technologies NGS (25-27, 29) et trois de ces études ont utilisé le séquençage Sanger pour confirmer les variants identifiés par NGS (26, 27, 29).

Toutes les études concernaient le séquençage d'échantillons d'ADN germinale et parmi elles, trois études ont rapporté la couverture et la profondeur du séquençage NGS (24, 28, 29).

Quatre études ont été menées en Chine (24, 26-28), une en Turquie (25) et une en Russie (29).

Au total, 840 patients ont été inclus (838 patients étaient atteints de PCU et deux patients étaient atteints de HPA modérée).

Quatre études ont rapporté les âges auxquels le test NGS a été réalisé (24, 26-28). Toutes ces études incluaient des enfants.

Trois études ont rapporté le sexe des sujets inclus (24, 26, 28) ; parmi ces études, le sexe-ratio était de 1,08 dans une étude (26) et les deux autres rapports de cas n'ont inclus que deux enfants de sexe féminin (24, 28).

Tableau 3. Principales caractéristiques des études incluses pour la phénylcétonurie

PUBLICATION		SUJETS			MALADIES		TESTS		
Auteurs, année, pays	Type	n=	Sexe	Age	Type	Diagnostic clinique et/ou biochimique	Index	Profondeur et/ou couverture	Comparateur
Ozturk <i>et al.</i> , 2022, Turquie	Série de cas	433	NR	NR	PCU	oui	NGS	NR	Aucun
Kuznetcova <i>et al.</i> , 2019, Russie	Série de cas	293	NR	NR	PCU / HPA	oui	NGS	PAH 100 % ; PTS 98 % ; GCH1 87,2 % ; PCBD1 94 % ; QDPR 100 % ; SPR 82,3 % ; DNAJC12 100 %	Sanger
Zhang <i>et al.</i> , 2018, Chine	Série de cas	77	NR	21 j à 10 ans*	PCU	oui	NGS	NR	Sanger
Wang <i>et al.</i> , 2018, Chine	Série de cas	35	18 m, 17 f	6 mo à 5 ans**	PCU	oui	NGS	NR	Sanger
Li <i>et al.</i> , 2019, Chine	Rapport de cas	1	1 f	13 mo	HPA BH4	oui	NGS	Couverture 98 % Profondeur 20x	Sanger
Wang <i>et al.</i> , 2023, Chine	Rapport de cas	1	1 f	2 mo	HPA DNAJC12	oui	NGS	Couverture 99,1 % Profondeur 448,68x	Sanger

NR : non rapporté ; m : masculin ; f : féminin ; mo : mois ; j : jours ; PCU : phénylcétonurie ; HPA BH4 : hyperphénylalaninémie par déficit en BH4 ; HPA DNAJC12 : hyperphénylalaninémie par déficit en DNAJC12 ; *seule information fournie ; **seule information fournie

3.4.2.3. Évaluation de la qualité méthodologique des études incluses

La qualité méthodologique globale des études incluses a été évaluée à l'aide de l'outil d'évaluation de la qualité des séries de cas du NIH (17), elle a été jugée bonne dans trois études (24, 28, 29) et médiocre dans trois études (25-27). Cinq études ont bien défini la question de recherche (25-29) et trois études ont bien décrit le test NGS (24, 28, 29). Quatre études ont décrit de manière claire et complète la population étudiée (24, 26-28), en précisant l'origine ethnique des sujets. Trois études ont inclus des sujets comparables sur le plan symptomatique (26, 27, 29). Toutes les études ont bien décrit les résultats des tests. Aucune étude n'a rapporté la durée de suivi post-test et n'a précisé si le recrutement des patients était consécutif ou non. Ces informations sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4. Évaluation de la qualité méthodologique des études incluses pour la phénylcétonurie

Critères	Kuznet-cova, 2019	Li, 2018	Wang, 2023	Ozturk, 2022	Wang, 2018	Zhang, 2018
La question ou l'objectif de l'étude a-t-il été clairement énoncé ?	O	O	N	O	O	O
La population étudiée a-t-elle été décrite de manière claire et complète, y compris une définition de cas ?	N	O	O	N	O	O
Les cas étaient-ils consécutifs ?	NR	NA	NA	NR	NR	NR
Les sujets étaient-ils comparables ?	O	NA	NA	NR	O	O
L'intervention a-t-elle été clairement décrite ?	O	O	O	N	N	N
Les mesures des résultats ont-elles été clairement définies, valides, fiables et mises en œuvre de manière cohérente pour tous les participants à l'étude ?	O	O	O	O	O	O
La durée de suivi était-elle adéquate ?	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Les méthodes statistiques ont-elles été bien décrites ?	NR	NR	NR	NR	O	NR
Les résultats ont-ils été bien décrits ?	O	O	O	O	O	O
Qualité globale	Bonne	Bonne	Bonne	Médiocre	Médiocre	Médiocre

3.4.3. Concordance des tests

3.4.3.1. Description des résultats des études incluses

Le nombre de gènes analysés dans les études incluses variait d'un à sept. Le gène le plus fréquemment évalué est le *PAH* dans la PCU et la HPA. Un panel de gènes comprenant *PAH*, *PTS*, *GCH1*, *PCBD1*, *QDPR* et *DNAJC12* a été séquencé dans deux des six études consacrées à ces situations cliniques (24, 29).

Tous les variants identifiés étaient des SNV (*Single Nucleotide Variants*) ou des indels (insertions ou délétions) (24-29). La profondeur du séquençage NGS a été rapportée dans les deux rapports de cas

(26, 28), elle était respectivement de 20x et 448,68x. La couverture a été rapportée dans trois études (24, 28, 29), elle était de 82,3 % pour le gène *SPR* et de 98 % ou 100 % pour le gène *PAH*.

Dans cinq études, tous les gènes ont été séquencés à l'aide des méthodes NGS puis les variants identifiés ont été confirmés par le séquençage Sanger (24, 26-29) :

- dans l'étude de Kuznetcova *et al.* (29), les 104 variants du gène *PAH* identifiés par NGS ont été confirmés par Sanger. Par ailleurs, les auteurs de cette étude ont rapporté que la technologie NGS (AmpliSeq) montre habituellement certaines limites dans la détection des délétions ou des duplications dans les régions homopolymères. Ces régions ont donc aussi été analysées via le séquençage Sanger. Chez les 41 patients examinés pour des variants dans les exons 3, 6, 7 et 11 du gène *PAH*, aucune différence n'a été détectée entre les résultats obtenus par NGS et ceux par Sanger dans ces exons. Cela indique une concordance parfaite pour ces 41 patients dans des régions spécifiques habituellement étudiées *via* Sanger.
 - De plus, les six variants du gène *PTS* identifiés par NGS ont été confirmés par Sanger (29).
 - En revanche, aucun variant pour les gènes *PCBD1*, *GCH1* et *SPR* n'a été rapporté (29).
- Dans l'étude de Zhang *et al.*, les 53 variants du gène *PAH* identifiés par NGS ont été confirmés par le séquençage Sanger (27).
- Dans l'étude de Wang *et al.* [2018] (26), les 61 variants du gène *PAH* identifiés par NGS ont été confirmés par le séquençage Sanger.
- Dans l'étude de Wang *et al.* [2023] (24), les deux variants du gène *DNAJC12* identifiés par NGS ont été confirmés par le séquençage Sanger.
- Dans l'étude de Li *et al.* (28), le variant du gène *QDPR* identifié par NGS a été confirmé par le séquençage Sanger.

Au total, la méthode NGS a permis d'identifier 1 016 variants pathogènes ou potentiellement pathogènes du gène *PAH*, dont la plupart étaient des variants faux-sens (n = 609) et des variants d'épissage (n = 133).

3.4.3.2. Analyse des résultats des études incluses

Une validation des résultats des études incluses a été effectuée dans le but de s'assurer de la robustesse des associations gènes/maladies rapportées.

Cette validation s'est appuyée sur la consultation systématique des bases de référence ClinGen (pour l'évaluation de la validité des associations gènes/maladies) et *GeneReviews* (pour l'identification des gènes impliqués dans la démarche diagnostique).

La synthèse des vérifications effectuées figure dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5. Concordance NGS/Sanger et validation ClinGen/*GeneReviews* pour la phénylcétonurie/HPA

Résultats des études		Validation par bases de référence	
Gène analysé	Concordance NGS/Sanger	Association gène-maladie (Clin-Gen)	Mentionné pour le diagnostic génétique (<i>GeneReviews</i>)
<i>PAH</i>	Oui	Définitive	Oui
<i>PTS</i>	Oui	Définitive	Oui
<i>QDPR</i>	Oui	Définitive	Oui
<i>DNAJC12</i>	Oui	Définitive	Oui

L'ACMG recommande fortement le recours à un test génétique moléculaire de confirmation chez les personnes atteintes d'un déficit en phénylalanine hydroxylase (30). Toutefois, les revues systématiques ayant permises l'élaboration de ces recommandations n'ont pas précisé si le choix devait se porter sur la méthode NGS ou le séquençage Sanger, pour confirmer le diagnostic de ce déficit (30).

Association entre gènes et PCU/HPA

Au regard des informations fournies par ClinGen, l'association entre les gènes suivants et leurs maladies respectives est considérée comme définitive car le rôle de ces gènes a été démontré à plusieurs reprises dans le cadre de la recherche et du diagnostic clinique (31). Il est ainsi considéré comme pertinent :

- d'inclure les gènes *QDPR* et *PTS* dans un panel diagnostique de la HPA par déficit en BH4 ;
- de séquencer un gène unique, à savoir le gène *DNAJC12*, dans la HPA par déficit en *DNAJC12* ;
- de séquencer un gène unique, à savoir le gène *PAH*, dans la PCU.

Bien que la stratégie de recherche bibliographique élaborée par la HAS n'ait pas identifié d'articles de recherche ayant rapporté la détection de variants par NGS dans les gènes *GCH1* et *PCBD1*, ces derniers doivent également être inclus dans les panels à visée diagnostique des HPA par déficit en BH4, conformément aux recommandations émises par l'ACMG¹⁵ (15, 32).

Il faut noter que l'association de ces gènes avec les HPA par déficit en BH4 est également considérée comme établie par ClinGen.

Sélection de panels et gènes cibles pour le séquençage

- **Gène unique pour la PCU : gène *PAH*.**
- **Gène unique pour la HPA par déficit en *DNAJC12* : gène *DNAJC12***
- **Panel pour les HPA par déficit en BH4 : gènes *PTS*, *GCH1*, *PCBD1* et *QDPR*.**
- **Panel génétique des hyperphénylalaninémies : *PAH*, *PTS*, *GCH1*, *PCBD1*, *QDPR* et *DNAJC12*.**

Un pourcentage de concordance positive de 100 % des tests NGS et Sanger a été observé dans toutes les études analysées pour les SNV et indels, tous les variants détectés par NGS ont été confirmés par Sanger (cf. partie 2.4.3.1).

3.5. Conclusion de l'analyse de la littérature

Les réponses aux questions de l'évaluation de la phénylcétonurie sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6. Résumé des réponses aux questions de l'évaluation de la phénylcétonurie

Les résultats du NGS ciblant les variants des gènes <i>PAH</i> , <i>DNAJC12</i> , <i>PTS</i> , <i>QDPR</i> , <i>GCH1</i> et <i>PCBD1</i> sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?	Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?
Les résultats des études analysées ont montré un pourcentage de concordance positive de 100 % de NGS et Sanger car 218 variants du gène <i>PAH</i> , six variants du gène <i>PTS</i> , deux variants du gène	- NGS permettrait de réduire les délais de diagnostic de la PCU et des HPA par déficit en <i>DNAJC12</i> et par déficit en BH4 car :

¹⁵ Inclure tous les gènes associés à la maladie et dont la validité de l'association avec celle-ci est considérée comme « définitive », « forte » ou « modérée ».

DNAJC12 et un variant du gène *QDPR* détectés par NGS ont tous été validés par Sanger.

Note : aucun variant des gènes *GCH1*, *PCBD1* et *SPR* n'a été rapporté par les auteurs des études analysées.

- Le besoin de confirmation par le séquençage Sanger ne serait pas nécessaire en raison de la concordance parfaite de NGS et Sanger.
- Plusieurs gènes sont analysés simultanément.
- L'utilisation du panel génétique : *PAH*, *QDPR*, *PTS*, *GCH1*, *PCBD1*, *DNAJC12* permettrait en une seule analyse, d'identifier les variants responsables de la phénylcétonurie et d'écarter les HPA par déficit en *DNAJC12* et en *BH4*.

4. Troubles du cycle de l'urée

4.1. Contexte

Les troubles du cycle de l'urée (UCD, *Urea Cycle Disorders*) sont des anomalies héréditaires qui affectent les voies de détoxification de l'ammoniac. Ces troubles sont la conséquence de déficits en enzymes et transporteurs du cycle de Krebs-Henseleit (décrit en 1932), qui comprend cinq enzymes principales, une enzyme d'activation et un antiport mitochondrial ornithine-citrulline. L'incidence globale de ces déficits est estimée à un cas sur 35 000 individus (7).

4.1.1. Stratégie diagnostique

La stratégie diagnostique présentée ici suit celle décrite dans le PNDS (7), principalement fondé sur le consensus européen de 2019 (33) relatif au diagnostic et à la prise en charge des troubles du cycle de l'urée, incluant les travaux de Mew *et al.* publiés dans GeneReviews (34).

Par ailleurs, les éléments de Mew *et al.*, 2017 (34), ont été intégrés à cette présentation pour apporter des précisions indispensables sur certains aspects du diagnostic.

La stratégie diagnostique décrite dans le PNDS relatif aux déficits du cycle de l'urée (7) est articulée comme suit.

4.1.1.1. Présentation clinique

Tableau clinique, à tout âge

Les manifestations cliniques des troubles du cycle de l'urée (UCD) peuvent apparaître à tout âge sous des formes aiguës ou chroniques. La sévérité des symptômes dépend de l'activité enzymatique résiduelle et de la position de l'enzyme déficitaire dans le cycle de l'urée. Une absence totale ou un déficit sévère entraîne une accumulation d'ammoniac dès les premiers jours de vie tandis qu'un déficit partiel provoque des hyperammoniémies déclenchées par des événements cataboliques, une surcharge protéique ou certains médicaments.

Les antécédents médicaux et familiaux doivent être systématiquement vérifiés pour rechercher des décès inexplicables, des troubles psychiatriques ou neurologiques familiaux, une consanguinité (sauf pour le déficit en ornithine transcarbamylase ou OTCD), un évitement spontané des protéines et la prise de médicaments.

Présentation néonatale

Les nouveau-nés atteints sont le plus souvent asymptomatiques. Après un intervalle libre de 24 heures à quelques jours, ils développent rapidement une somnolence, une anorexie, un œdème cérébral (léthargie, hyper/hypoventilation, hypothermie, hypotonie/hypertonie, convulsions, coma). Ces symptômes peuvent mimer une septicémie, retardant ainsi le diagnostic. L'examen clinique révèle une hypotonie axiale et une hypertonie périphérique. Les symptômes peuvent apparaître après le retour à domicile du nouveau-né.

Présentation infantile/juvénile

Les symptômes initiaux de l'hyperammoniémie sont des difficultés alimentaires, des troubles de la thermorégulation et une somnolence. Ils évoluent progressivement avec la survenue d'épisodes symptomatiques pouvant s'atténuer grâce à des interventions médicales non spécifiques. Les symptômes les plus fréquents sont neurologiques (troubles du tonus, encéphalopathie progressive et convulsions)

pouvant mener à une hypoventilation et à un arrêt cardiorespiratoire. Des manifestations hépato-gastro-intestinales ou psychiatriques sont également fréquentes.

Une insuffisance hépatique aiguë est rapportée chez certains patients atteints d'OTCD, de citrullinémie de type 1 (déficit en ASS ou ASSD) et de syndrome d'hyperornithinémie-hyperammoniémie-homocitrullinémie (syndrome triple H). Des manifestations rares sont également rapportées, à savoir des pseudo-AVC, chorées, paralysies cérébrales, cécités corticales, dermatites, symptômes pseudo-autistiques, troubles comportementaux et autres symptômes psychiatriques épisodiques.

Présentation adulte

Les adultes (> 16 ans) peuvent être issus de la cohorte pédiatrique ou diagnostiqués plus tardivement. Les manifestations cliniques sont similaires à celles de la forme infantile/juvénile. Un dosage d'ammoniémie doit être effectué en première intention pour tout trouble de la conscience non expliquée ou apparaissant lors de situations catabolisantes. Les facteurs déclenchants sont les mêmes que chez l'enfant auxquels s'ajoutent la perte de poids rapide, l'anorexie et le post-partum. Le diagnostic à l'âge adulte est souvent fait lors d'une décompensation aiguë, il s'agit principalement des déficits en OTC, surtout chez les femmes.

Les signes cliniques sont majoritairement neurologiques, à savoir des troubles de la conscience et des symptômes psychiatriques. La moitié des adultes diagnostiqués a présenté des symptômes épisodiques de décompensation aiguë ou chroniques (exclusivement des diagnostics de déficit en OTC). Pendant la grossesse, le risque d'hyperammoniémie est plus élevé en post-partum jusqu'à 14 jours après l'accouchement, avec des symptômes neurologiques aigus ou mimant une psychose puerpérale.

4.1.1.2. Dosage de l'ammoniémie

Les valeurs normales d'ammoniémie sont souvent inférieures à 50 $\mu\text{mol/L}$ (dans les 24 à 48 premières heures de vie). Les signes cliniques liés à la décompensation apparaissent lorsque les niveaux d'ammoniémie sont élevés (> 100 $\mu\text{mol/L}$ chez l'adulte, > 150 $\mu\text{mol/L}$ chez l'enfant).

Si une hyperammoniémie est confirmée, il faut rechercher rapidement la cause de son augmentation et mettre en place un traitement adapté.

L'hyperammoniémie peut être présente dans toutes les maladies du cycle de l'urée selon une importance variable. Dans les formes néonatales, l'hyperammoniémie apparaît après un intervalle libre de quelques heures à quelques jours. Elle progresse rapidement en l'absence de prise en charge adaptée, pouvant entraîner des concentrations d'ammoniac très élevées et souvent supérieures à 500 $\mu\text{mol/L}$ chez la plupart des enfants. Une ammoniémie normale lors d'une détresse neurologique néonatale exclut un déficit du cycle de l'urée. Dans les formes juvéniles, l'hyperammoniémie est d'importance variable. Dans les formes adultes, l'hyperammoniémie n'est retrouvée qu'en situations d'hypercatabolisme ou de charge azotée importante.

4.1.1.3. Diagnostic différentiel

Il existe de nombreuses causes d'hyperammoniémie, la plupart étant secondaires. Il est donc important d'éliminer rapidement ces causes. Toute hyperammoniémie doit être immédiatement contrôlée et doit entraîner la réalisation d'examen (chromatographie des acides aminés plasmatiques, profil des acylcarnitines plasmatiques et chromatographie des acides organiques urinaires) afin d'en déterminer l'étiologie « sans attendre les résultats pour débiter le traitement ».

4.1.1.4. Confirmation diagnostique

Selon le PNDS, certains troubles du cycle de l'urée ont un profil métabolique facilitant le diagnostic. L'utilisation de méthodes biochimiques offre la possibilité de proposer rapidement un traitement adapté.

La confirmation du diagnostic doit être réalisée par l'étude génétique qui se fait le plus souvent à l'aide du NGS pour les différents gènes impliqués dans les troubles du cycle de l'urée. Le diagnostic peut également être réalisé par le séquençage direct du gène concerné en utilisant la méthode Sanger pour les cas les plus évidents. Les gènes impliqués dans les troubles du cycle de l'urée sont *NAGS*, *CPS1*, *OTC*, *ASS1*, *ASL*, *ARG1* et *SLC25A15*, *SLC25A13* et *SLC7A7*.

L'étude de la transmission (pour la recherche de variants pathogènes et la confirmation du génotype) est indispensable pour dépister les membres de la famille potentiellement atteints, surtout dans le cas d'un déficit en OTC dont la transmission est liée au chromosome X.

L'étude des séquences régulatrices des gènes et des séquences introniques est parfois recommandée, en particulier en cas de déficit en OTC pour lequel de nombreux variants introniques ont été validés et où l'analyse standard ne détecte pas de variants pathogènes dans 10 % à 20 % des cas. Les variants identifiés sont recherchés dans les bases de données répertoriant les mutations décrites et leur caractère pathogène est déterminé par analyse *in silico*.

Si la génétique moléculaire n'aide pas à confirmer le diagnostic alors le recours à la mesure des activités enzymatiques peut être envisagé. Toutefois, cette méthode est limitée par la spécificité tissulaire de certaines enzymes.

Dans le chapitre relatif aux déficits du cycle de l'urée publié dans *GenesReview*¹⁶ (34), il est rapporté que les tests génétiques moléculaires sont la principale méthode de confirmation diagnostique des troubles du cycle de l'urée. Ces tests ont supplanté les tests de mesure de l'activité enzymatique bien que ces derniers restent disponibles dans certains cas. Lorsque les résultats biochimiques sont indicatifs, des tests monogéniques en série sont utilisés si une mutation dans un gène particulier est fortement suspectée.

Par ailleurs, ce chapitre a rapporté que l'analyse de la séquence du gène est d'abord effectuée puis une analyse de délétion/duplication ciblée est réalisée si nécessaire. **Un panel multigénique incluant les gènes *CPS1*, *OTC*, *ASS1*, *ASL*, *ARG1*, *NAGS*, *SLC25A15* et *SLC25A13*** peut être envisagé, bien que les gènes inclus et la sensibilité des tests varient entre les laboratoires. Certains panels peuvent inclure des gènes non associés à la situation clinique étudiée et il est par conséquent recommandé aux cliniciens de constituer des panels avec précaution pour éviter les VUS.

4.1.1.5. Diagnostic prénatal

Avant d'établir un diagnostic prénatal ou préimplantatoire, il est fondamental d'identifier et de confirmer les variants causaux par l'étude de l'ADN des parents. Le couple doit être informé des options possibles lors d'une consultation de conseil génétique. Le diagnostic prénatal ou préimplantatoire est possible pour toutes les maladies du cycle de l'urée. Ces maladies sont transmises de manière autosomique récessive hormis le déficit en OTC qui est lié au chromosome X. Dans le cas de l'OTC, les garçons hémizygotés sont systématiquement malades.

¹⁶ Ressource internationale fournissant des informations sur les maladies héréditaires sous forme de journal, couvrant le diagnostic, le traitement et le conseil génétique. Chaque chapitre est rédigé par un ou plusieurs experts de la maladie concernée et fait l'objet d'un processus de révision par les pairs avant d'être publié.

Pour tous les déficits, la recherche des variants pathogènes identifiés chez le cas index par séquençage est complétée par une méthode indirecte à l'aide de marqueurs génétiques au locus du gène candidat. Si les mutations causales n'ont pas été identifiées chez le cas index, le diagnostic prénatal peut être réalisé par la mesure de l'activité enzymatique sur les amniocytes ou sur les villosités chorionales. L'analyse des biomarqueurs dans le liquide amniotique est pertinente pour le déficit en argininosuccinate synthétase et le déficit en argininosuccinate lyase.

L'accès au DPN¹⁷/DPI¹⁸ moléculaire nécessite un diagnostic génétique informatif préalable et est strictement encadré (L2131-1, arrêté du 18 juin 2024). Ce cadre régit les modalités d'accès, la prise en charge des femmes enceintes et des couples ainsi que le fonctionnement des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN).

Il convient de distinguer faisabilité (informativité du test génétique) et indication à un DPN/DPI. Cette dernière relève de la décision du CPDPN en réunion pluridisciplinaire.

4.1.1.6. Dépistage néonatal

Aucun déficit du cycle de l'urée n'est actuellement inclus dans le programme de dépistage néonatal. Un rapport de la HAS de février 2022¹⁹, relatif à la réévaluation de l'opportunité d'intégrer cinq erreurs innées du métabolisme au programme de DNN, a conclu qu'en l'état actuel des connaissances, la citrullinémie de type 1 n'est pas éligible au groupe de maladies à dépister à la naissance par MS²⁰.

4.1.2. Stratégie thérapeutique

La stratégie thérapeutique décrite dans le PNDS (7) (version avril 2021) est articulée comme suit.

4.1.2.1. Prise en charge de l'hyperammoniémie aiguë

La prise en charge initiale de l'hyperammoniémie aiguë commence par la stabilisation du patient. Cela consiste en une réhydratation, un arrêt de l'apport en protéines et en lipides jusqu'à confirmation de l'absence d'un déficit de la bêta-oxydation et une administration de glucose polyionique par voie intraveineuse associée à un soluté hyperosmolaire.

Le traitement symptomatique se définit par l'administration des médicaments épurateurs de l'ammoniac tels que le benzoate de sodium, la L-carnitine, la vitamine B12 (hydroxocobalamine), la biotine et le N-carbamylglutamate. Il est également important d'utiliser des perfusions hyperosmolaires à base de soluté glucosé et des électrolytes adaptés à l'état de déshydratation du patient. En cas d'hyperammoniémie persistante ou sévère, une épuration extracorporelle est envisagée.

Des régimes alimentaires sont utilisés dans la prise en charge des décompensations aiguës afin de normaliser l'ammoniémie. Deux régimes sont possibles : le régime d'urgence dont le but est de supprimer toutes les protéines et d'augmenter l'apport énergétique ainsi que le régime de semi-urgence qui réduit de moitié l'apport en protéines et est utilisé en prévention d'une décompensation aiguë ou pour une reprise progressive de l'apport protéique après une décompensation. Ces régimes doivent être régulièrement mis à jour par un diététicien et un médecin spécialisé. Les parents et les patients doivent être formés à leur utilisation lors des séances d'éducation thérapeutique.

¹⁷ Le diagnostic prénatal ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

¹⁸ Le diagnostic préimplantatoire ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

¹⁹ [Dépistage néonatal : Réévaluation de l'opportunité d'intégrer cinq erreurs innées du métabolisme au programme de DNN](#), Haute Autorité de santé, 2022.

²⁰ Spectrométrie de masse.

4.1.2.2. Prise en charge à long terme

La prise en charge à long terme se définit par un régime alimentaire contrôlé, une pharmacothérapie au long cours, un suivi médical régulier et une greffe hépatique. Le régime alimentaire contrôlé est hypoprotidique et vise à réduire la charge azotée grâce à une supplémentation en acides aminés essentiels. Le recours à une nutrition entérale (sonde nasogastrique, gastrostomie) peut être envisagé.

La pharmacothérapie au long cours consiste à administrer des chélateurs de l'ammoniac (benzoate de sodium, phénylbutyrate de sodium), utiliser des stimulants (L-arginine, acide carglumique) et des suppléments (L-citrulline, L-arginine). Les médicaments sont ajustés selon l'évolution clinique du patient.

4.1.2.3. Suivi du patient

Le suivi médical propose un contrôle biologique régulier (ammoniémie, chromatographie des acides aminés sanguins, bilan hépatique), un bilan nutritionnel, une évaluation neurologique (IRM cérébrale, EEG) et un bilan neuropsychologique pour suivre l'état général du patient. Le suivi du patient se fait dans des centres de référence ou de compétence des maladies héréditaires du métabolisme.

L'éducation thérapeutique et l'adaptation du mode de vie font partie de la prise en charge. Les patients et les familles sont formés aux mesures préventives pour éviter les décompensations métaboliques et à la reconnaissance des signes précoces de décompensation. Un soutien psychologique et une aide pour l'adaptation scolaire ou professionnelle des patients sont requis.

4.1.2.4. Greffe hépatique

La greffe hépatique est considérée en cas de décompensations sévères ou de gestion difficile par les moyens conventionnels. Une évaluation pré-greffe et un suivi post-greffe sont indispensables pour empêcher les complications potentielles.

4.1.2.5. Recommandations spécifiques à certains déficits

Déficits en NAGS et CPS1

Il s'agit de déficits qui présentent des signes cliniques et biologiques similaires. L'acide carglumique est utilisé pour traiter le déficit en N-acétylglutamate synthase (NAGSD). Une réponse thérapeutique positive confirme un NAGSD. Le diagnostic de NAGSD ou du déficit en carbamoyl-phosphate synthétase 1 (CPS1D) est établi grâce à une analyse génétique ou une mesure de l'activité enzymatique par biopsie du foie lorsque le diagnostic génétique n'est pas probant ou lorsqu'il y a nécessité d'un diagnostic rapide. Les patients NAGSD traités par acide carglumique n'ont pas besoin de réduire les apports en protéines ou de médicaments supplémentaires, sauf en cas de crises métaboliques. Le traitement du CPS1D est comparable à celui des autres troubles du cycle de l'urée et l'administration de la L-citrulline est préférée à celle de la L-arginine.

Déficit en OTC

Le déficit en ornithine transcarbamoylase (OTC) est le trouble du cycle de l'urée le plus fréquent. Les cas de survenue néonatale sont diagnostiqués de manière fiable grâce à des données biochimiques. Les cas de survenue tardive peuvent être difficiles à diagnostiquer. Le diagnostic est confirmé par l'identification du variant pathogène dans le gène OTC. La mesure de l'activité enzymatique de l'OTC peut aider à confirmer le diagnostic. Le traitement est comparable à celui du CPS1D, il privilégie l'administration de la L-citrulline.

Déficit en ASS

Le diagnostic du déficit en synthèse de l'acide argininosuccinique ou citrullinémie de type 1 est établi par l'hyperammoniémie, la concentration élevée de glutamine et de citrulline et l'augmentation de l'acide orotique urinaire. Les méthodes génétiques ou enzymatiques confirment le diagnostic et excluent la citrullinémie de type 2.

Déficit en ASL

Les concentrations élevées d'acide arginosuccinique dans le plasma et l'urine sont caractéristiques du déficit en arginosuccinase (ASLD). L'administration d'arginine réduit le risque d'hyperammoniémie dans l'ASLD. L'utilisation de doses élevées de L-arginine est déconseillée. Certains patients ASLD présentent une élévation des triglycérides plasmatiques et une diminution de la concentration plasmatique de potassium.

Déficit en arginase

Le déficit en arginase (argininémie ARG1D) apparaît tardivement, entre 2 à 4 ans, et se manifeste par une paraplégie spastique progressive, un retard de développement et une hépatomégalie. L'élévation de la concentration plasmatique d'arginine est caractéristique de la maladie. Le diagnostic est confirmé par des mesures de l'activité enzymatique dans les érythrocytes et par une analyse génétique. Le traitement a pour but de réduire la concentration plasmatique d'arginine à un niveau inférieur à 170 $\mu\text{mol/L}$ en limitant l'importance de l'apport en protéines et en utilisant une supplémentation en acides aminés essentiels. Le benzoate de sodium et le phénylacétate de sodium sont utilisés en complément de ce traitement. Une supplémentation par créatine et ornithine peut être proposée.

Syndrome triple H

Le syndrome triple H est caractérisé par une hyperornithinémie, une hyperammoniémie et une homocitrullinurie. Il peut se présenter sous une forme néonatale ou une forme plus tardive. La forme tardive se manifeste par un déficit neurocognitif chronique, une encéphalopathie aiguë due à un épisode d'hyperammoniémie et un dysfonctionnement hépatique chronique. Malgré un bon équilibre métabolique, la situation neurologique et les capacités cognitives peuvent continuer à se détériorer. Le diagnostic est confirmé par l'analyse des variants du gène *SLC25A15*. Le traitement à long terme consiste en un régime hypoprotidique et une supplémentation en L-citrulline afin de prévenir l'hyperammoniémie. Un déficit en créatine a été rapporté dans ce syndrome d'où l'intérêt de supplémenter en créatine.

4.1.2.6. Autres déficits associés au cycle de l'urée

- L'intolérance aux protéines dibasiques avec lysinurie (IPDL) est une maladie génétique rare due à une anomalie dans le transport des acides aminés dibasiques (arginine, ornithine, lysine). Le diagnostic repose sur la mesure des concentrations urinaires et plasmatiques en acides aminés qui montre une augmentation de l'excrétion urinaire et une diminution de la concentration plasmatique en lysine, arginine et ornithine. L'IPDL est causée par des mutations du gène *SLC7A7*. Le traitement de l'IPDL consiste en un régime hypoprotidique, une supplémentation en acides aminés essentiels et en L-citrulline pour compenser les carences et l'utilisation de chélateurs. Un traitement symptomatique des complications est également mis en place.
- La citrullinémie de type II est une maladie génétique liée à une déficience de la protéine de transport citrine codée par le gène *SLC25A13*. Le diagnostic se fait par chromatographie des acides aminés plasmatiques qui indique des niveaux élevés de méthionine et de citrulline. La forme néonatale se présente comme une cholestase intra-hépatique traitée par un régime sans lactose et enrichi en triglycérides à chaîne moyenne. La forme adulte se manifeste par des symptômes neurologiques et hépatiques. Les caractéristiques biochimiques sont une

hyperammoniémie, une augmentation de la citrulline et de l'arginine plasmatique ainsi qu'une présence d'acide arginosuccinique dans les urines.

4.2. Justification de l'utilisation des tests génétiques

Au regard des informations fournies par le PND (7) et par GeneReviews (20), le génotypage (NGS ou Sanger) joue un rôle important dans le diagnostic, le diagnostic différentiel et la mise en place ou l'adaptation des traitements pour tous les déficits identifiés, justifiant ainsi son utilisation.

4.2.1. Diagnostic

- Le NGS confirme le diagnostic. Dans les cas les plus évidents, le séquençage direct du gène concerné par la méthode Sanger peut être utilisé.
- Pour les déficits en OTC, l'analyse des séquences régulatrices et introniques est recommandée afin d'identifier des variants introniques.

4.2.2. Diagnostic différentiel

- Le diagnostic différentiel entre un déficit en NAGS et un déficit en CPS1 est établi par analyse génétique (ou mesure de l'activité enzymatique) en amont de l'introduction d'un traitement symptomatique par acide carglumique pour le NAGSD.
- Les tests génétiques différencient les types de citrullinémie (type I et II) et plus généralement les autres déficits qui ont été mentionnés.

4.2.3. Traitement

Une fois la mutation spécifique identifiée, les traitements disponibles sont :

- a) des régimes protéiques pour éviter les décompensations aiguës et contrôler les concentrations plasmatiques d'ammoniac et d'acides aminés ;
- b) une pharmacothérapie au long cours telle que des chélateurs d'ammoniac et des suppléments en L-citrulline et L-arginine.

La commission de la Transparence de la HAS (CT), dans ses avis du 13 juin 2001 et du 22 janvier 2014, a conclu que les chélateurs d'ammoniac, à savoir ammonaps® et phéburane® (phénylbutyrate de sodium), fournissent un service médical rendu important pour les indications de l'AMM (traitement symptomatique adjuvant des troubles du cycle de l'urée impliquant les déficits en carbamylphosphate synthétase, ornithine transcarbamylase ou argininosuccinate synthétase) (35, 36).

La CT, dans ses avis datés du 2 juillet 2003 et du 3 novembre 2010, a conclu que le carbaglu® (acide carglumique) et arginine Veyron® (chlorhydrate de L-arginine) fournissent un service médical important pour les indications de l'AMM dont l'hyperammoniémie congénitale par déficit du cycle de l'urée (37, 38).

4.3. Questions d'évaluation et critères de sélection de la littérature

Question 1 : Les résultats du NGS ciblant les variants des gènes *NAGS*, *CPS1*, *OTC*, *ASS1*, *ASL*, *ARG1*, *SLC25A15*, *SLC25A13* et *SLC7A7* sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?

Question 2 : Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?

Pour répondre à ces questions, des critères structurés dans le résumé PICOS²¹ ont été définis. Ces critères ont permis de guider la sélection et l'analyse des publications scientifiques identifiées par la recherche systématique (tableau 7).

Tableau 7. Critères PICOS – troubles du cycle de l'urée

Population	Adultes et enfants suspectés d'être atteints ou à défaut déjà atteints de troubles du cycle de l'urée
Test index	Séquençage haut débit (NGS) ciblant les variants des gènes <i>NAGS</i> , <i>CPS1</i> , <i>OTC</i> , <i>ASS1</i> , <i>ASL</i> , <i>ARG1</i> , <i>SLC25A15</i> , <i>SLC25A13</i> et <i>SLC7A7</i>
Comparateurs	Test moléculaire monogénique : Sanger
Outcomes	Pourcentage de concordance positive de NGS ciblant les gènes <i>NAGS</i> , <i>CPS1</i> , <i>OTC</i> , <i>ASS1</i> , <i>ASL</i> , <i>ARG1</i> , <i>SLC25A15</i> , <i>SLC25A13</i> et <i>SLC7A7</i> , et Sanger. Il existe une concordance positive des deux tests lorsque ceux-ci détectent les mêmes variants pour les mêmes patients.
Schémas d'études	<ul style="list-style-type: none"> – Littérature synthétique : rapports d'évaluation technologique, revues systématiques avec ou sans méta-analyse, ou à défaut, études de stratégie diagnostique. – Recommandations de bonnes pratiques

4.4. Analyse de la littérature

4.4.1. Critères de sélection de la littérature

Les publications dont l'objectif était l'évaluation du NGS pour la détection de variants des gènes *NAGS*, *CPS1*, *OTC*, *ASS1*, *ASL*, *ARG1*, *SLC25A15*, *SLC25A13* et *SLC7A7* ont été recherchées (la stratégie de recherche est décrite en annexe 1).

a) Ces études devaient répondre **aux critères d'inclusion** suivants :

- rapports d'évaluation technologiques, revues systématiques et/ou méta-analyses, études observationnelles, transversales, de cohorte, cas-témoins, séries de cas ou rapports de cas ;
- études incluant des sujets suspectés d'être atteints de troubles du cycle de l'urée ou, à défaut, d'être déjà atteints de troubles du cycle de l'urée. Le diagnostic clinico-biochimique a été précédemment établi ;
- études évaluant en période postnatale les méthodes NGS seules ou en complémentarité avec d'autres méthodes si celles-ci peuvent être distinguées de NGS ;
- études considérant le séquençage Sanger comme méthode de confirmation ;
- études rapportant au moins un résultat d'intérêt (cf. outcomes, tableau 7) ;
- études publiées en anglais ;
- articles en texte intégral.

b) Ont été exclues de l'analyse

- les études qui reproduisaient ou confirmaient les résultats du NGS à l'aide d'une autre méthode que la méthode Sanger ;
- les études dans lesquelles le NGS est réalisé dans le cadre d'un dépistage néonatal ;
- les études qui incluaient des sujets ayant eu un diagnostic génétique antérieur ou un traitement antérieur ;

²¹ PICOS : *Population*, *Intervention (test index)*, *Comparateur*, *Outcomes*, *Schémas d'études*.

- les études disponibles sous forme de résumé uniquement, les lettres et les publications éditoriales ainsi que les études sur des modèles animaux.

Les recommandations émises par les diverses sociétés savantes nationales et internationales ont également été recherchées afin de disposer d'une vision la plus complète possible des pratiques actuelles en matière de gènes pertinents à inclure dans un panel de NGS à visée diagnostique.

4.4.2. Résultats de la sélection de la littérature

4.4.2.1. Sélection des études

La stratégie de recherche a permis d'identifier un total de dix-huit articles, et dix articles ont été exclus après examen du titre et du résumé. Une analyse du texte intégral des huit publications restantes a été réalisée. À la suite de cet examen, trois études sur huit ne satisfaisaient pas les critères d'inclusion. Finalement, cinq articles ont été jugés conformes et inclus dans le cadre de cette évaluation (Figure 2).

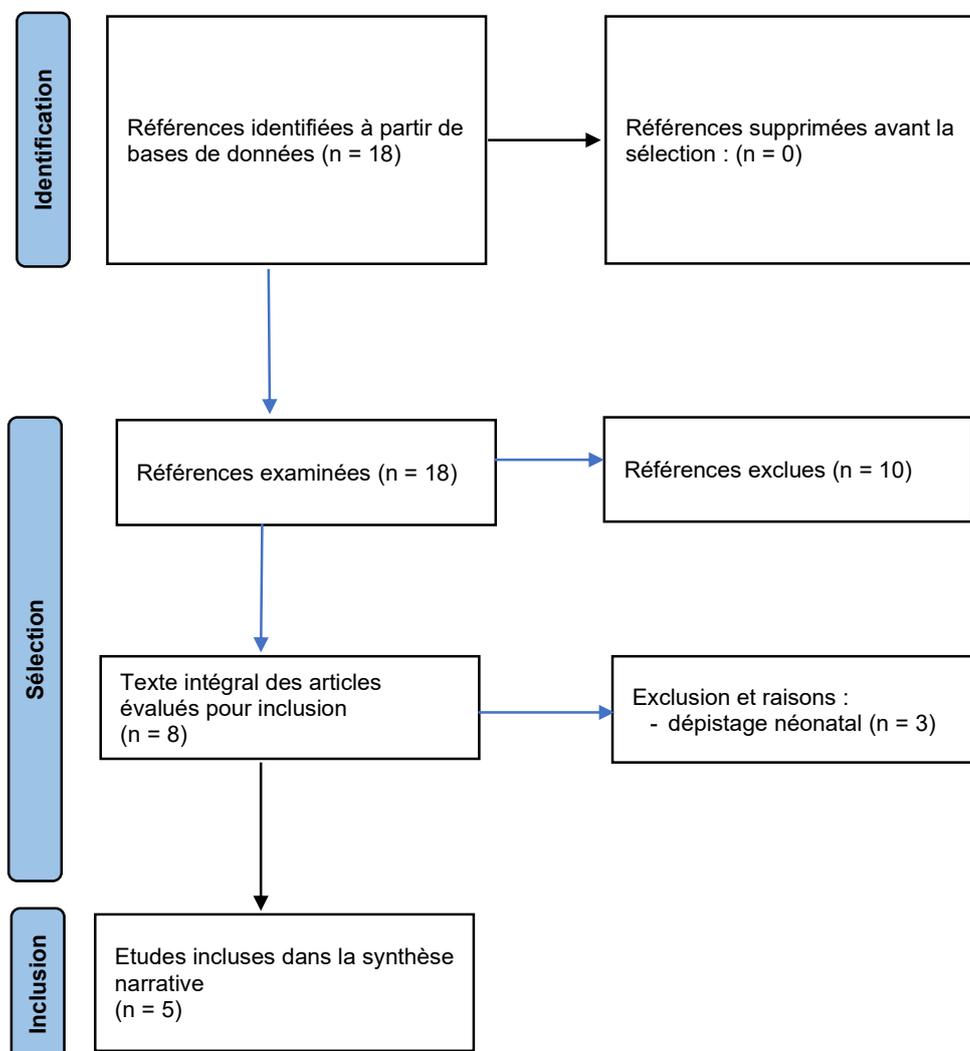


Figure 2. Organigramme PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et les troubles du cycle de l'urée

4.4.2.2. Caractéristiques des études incluses

- Parmi les cinq études incluses, deux étaient des séries de cas (39, 40) et trois études étaient des rapports de cas (41-43).
- Trois études ont recherché les variants dans les gènes indiqués à l'aide de technologies NGS puis ont utilisé le séquençage Sanger pour confirmer les variants identifiés par NGS (39, 40, 43).
- Toutes les études concernaient le séquençage d'échantillons d'ADN germlinal. Aucune étude n'a rapporté la couverture ou la profondeur du séquençage NGS.
- Trois études ont été menées en Chine (39, 40, 43), une étude en Inde (41) et une étude au Canada (42).
- Toutes les études ont rapporté l'âge des patients ; le patient le plus jeune était âgé d'un an (40) et le patient le plus âgé ayant 11 ans
- Les âges respectifs des cinq sujets inclus étaient 2 jours, 7 mois, 1 jour, 7 jours et 1 jour dans l'étude de Zheng *et al.* (40).
- Dans l'étude de Saini *et al.* (41), les patients les plus jeunes étaient âgés d'un mois et le patient le plus âgé était âgé de 18 mois. La moyenne d'âge est de 4,5 mois (écart-type 6,1).
- Au total, dix-sept patients ont été inclus (sex-ratio 2,4 garçon/fille).

Ces informations sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8. Principales caractéristiques des études incluses pour les troubles du cycle de l'urée

PUBLICATION		SUJETS			MALADIES		TESTS		
Auteurs, année, pays	Type	n=	Sexe	Age	Type	Diagnostic clinique et/ou biochimique	Index	Profondeur et/ou couverture	Comparateur
Zheng <i>et al.</i> , 2020, Chine	Série de cas	5	4 m 1 f	1 j à 7 mo	UCD	oui	NGS	NR	Sanger
Chen <i>et al.</i> , 2018, Chine	Rapport de cas	1	1 f	14 mo	UCD	oui	NGS	NR	Sanger
Saini <i>et al.</i> , 2018, Inde	Rapport de cas	1	1 m	11 ans	UCD	oui	NGS	NR	Aucun
Cheng <i>et al.</i> , 2022, Chine	Série de cas	9	6 m 3 f	1 mo à 18 mo*	UCD	oui	NGS	NR	Sanger
Al Qattan <i>et al.</i> , 2021, Canada	Rapport de cas	1	1 m	9 ans	UCD	oui	NGS	NR	Aucun

M : masculin ; f : féminin ; mo : mois ; j : jours ; UCD : *urea cycle disorders* ; NGS : *next generation sequencing* ; NR : non rapporté.

4.4.2.3. Evaluation de la qualité méthodologique des études incluses

La qualité méthodologique globale des études incluses a été jugée médiocre dans deux études (39, 40) et mauvaise dans trois études (41-43). Deux études ont défini clairement la question de recherche (39, 40). Les résultats ont été clairement décrits dans les cinq études incluses. Trois études ont décrit de manière claire et complète la population étudiée (40-42). Deux études ont inclus des sujets comparables sur le plan symptomatique et n'ont pas précisé si les patients étaient recrutés de manière consecutive ou non (39, 40). Aucune étude n'a rapporté la durée de suivi post-test.

Ces informations sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9. Évaluation de la qualité méthodologique des études incluses pour les troubles du cycle de l'urée

Critères	Chen, 2018	Cheng, 2022	Saini, 2018	Zheng, 2020	Al Qattan, 2021
La question ou l'objectif de l'étude a-t-il été clairement énoncé ?	N	O	N	O	N
La population étudiée a-t-elle été décrite de manière claire et complète, y compris une définition de cas ?	N	N	O	O	O
Les cas étaient-ils consécutifs ?	NA	NR	NA	NR	NA
Les sujets étaient-ils comparables ?	NA	O	NA	O	NA
L'intervention a-t-elle été clairement décrite ?	N	N	N	N	N
Les mesures des résultats ont-elles été clairement définies, valides, fiables et mises en œuvre de manière cohérente pour tous les participants à l'étude ?	O	O	O	O	O
La durée de suivi était-elle adéquate ?	NR	NR	O	NR	NR
Les méthodes statistiques ont-elles été bien décrites ?	NR	NR	NR	NR	NR
Les résultats ont-ils été bien décrits ?	O	O	O	O	O
Qualité globale	Mauvaise	Médiocre	Mauvaise	Médiocre	Mauvaise

4.4.3. Concordance des tests

4.4.3.1. Description des résultats des études incluses

➔ Deux études ont analysé les mêmes gènes *NAGS*, *OTC*, *CPS1*, *ASS1*, *ASL*, *ARG1*, *OAT* qui sont inclus dans les panels communs proposés par celles-ci ((40, 43)).

Plus précisément,

- l'étude de Zheng *et al.* (40) a séquencé le panel */NAGS, OTC, CPS1, ASS1, ASL, ARG1, OAT, SLC25A13, ORNT1/* et a rapporté les variants détectés dans les gènes *OTC* et *ASL* ;
 - l'étude de Chen *et al.* (43) a séquencé les panels */NAGS, OTC, CPS1, ASS1, ASL, ARG1, OAT/* et */SLC25A13, SLC25A15, GLUD1, GLUL/* et a rapporté les variants détectés dans le gène *CPS*.
- ➔ L'étude de Cheng *et al.* (39) a séquencé un panel de 175 gènes impliqués dans les aminoacidopathies dont les gènes *SLC25A13* et *ASS1*. L'étude d'Al Qattan *et al.* (42) a séquencé le gène *SLC7A7* et l'étude de Saini *et al.* (41) a séquencé le gène *ASS1*.
- ➔ **Toutes les variants identifiés étaient des SNV (Single Nucleotide Variants) ou des indels (insertions ou délétions).**
- ➔ Dans trois études, les séquençages NGS et Sanger ont été utilisés. Tous les variants, détectés à l'aide des méthodes NGS, ont été confirmés par le séquençage Sanger (39, 40, 43) :
- dans l'étude de Zheng *et al.* (40), les quatre variants identifiés par NGS ont été confirmés par le séquençage Sanger (gènes *OTC* et *ASL*) ;

- dans l'étude de Chen *et al.*(43), les deux variants identifiés par NGS ont été confirmés par le séquençage Sanger (gène *CPS1*) ;
- dans l'étude de Cheng *et al.* (39), les neuf variants identifiés par NGS ont été confirmés par le séquençage Sanger (gènes *SLC25A13* et *ASS1*).
- ➔ Au total, tous les variants qui ont été détectés par la méthode NGS ont été indiqués comme pathogènes dans les études (39-43). Seule l'étude de Saini *et al.* (41) n'a pas rapporté d'information sur la pathogénicité du variant détecté. Aucun variant dans les gènes *NAGS*, *ARG1* et *SLC25A15* n'a été rapporté par les auteurs des études ayant été analysées (39, 40, 42, 43).

4.4.3.2. Analyse des résultats des études incluses

Une validation des résultats des études incluses a été effectuée dans le but de s'assurer de la robustesse des associations gènes/maladies rapportées.

Cette validation s'est appuyée sur la consultation systématique des bases de référence ClinGen (pour l'évaluation de la validité des associations gènes/maladies) et GeneReviews (pour l'identification des gènes impliqués dans la démarche diagnostique).

La synthèse des vérifications effectuées figure dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10. Concordance NGS/Sanger et validation ClinGen/GeneReviews pour les troubles du cycle de l'urée

Résultats des études		Validation par bases de référence	
Gène analysé	Concordance NGS/Sanger	Association (ClinGen)	gène-maladie Mentionné pour le diagnostic génétique ou pour le diagnostic différentiel (GeneReviews)
<i>SLC25A13</i>	Oui	Définitive	Oui
<i>ASS1</i>	Oui	Définitive	Oui
<i>OTC</i>	Oui	Définitive	Oui
<i>ASL</i>	Oui	Définitive	Oui
<i>SLC7A7</i>	NA	Définitive	Oui
<i>CPS1</i>	Oui	Définitive	Oui

NA non applicable

Association entre gènes et troubles du cycle de l'urée

Au regard des informations fournies par ClinGen (31), l'association entre les gènes suivants et leurs maladies respectives est considérée comme définitive :

- le gène *SLC25A13* et la citrullinémie de type 2 ;
- le gène *ASS1* et la citrullinémie de type 1 ;
- le gène *OTC* et le déficit en ornithine carbamoyltransférase ;
- le gène *ASL* et le déficit en acide arginosuccinique synthétase ;
- le gène *SLC7A7* et l'intolérance aux protéines dibasiques avec lysinurie ;
- le gène *CPS1* et le déficit en carbamoyl-phosphate synthétase.

Cette association gènes/maladie est confirmée car le rôle de ces gènes a été démontré à plusieurs reprises dans le cadre de la recherche et du diagnostic clinique (31).

Il est ainsi considéré comme pertinent d'inclure les gènes *OTC*, *ASS1*, *ASL*, *CPS1*, *SLC25A13* et *SLC7A7* dans un panel diagnostique pour les troubles du cycle de l'urée.

Bien que la stratégie de recherche bibliographique élaborée par la HAS n'ait pas identifié d'articles de recherche sur l'utilisation du NGS pour les gènes *NAGS*, *ARG1* et *SLC25A15*, ces derniers doivent également être inclus dans les panels à visée diagnostique des troubles du cycle de l'urée, conformément aux recommandations émises par l'ACMG²² (15, 32). Il faut noter que l'association de ces gènes avec les troubles du cycle de l'urée est également considérée comme établie par ClinGen.

Sélection de panels et gènes cibles pour le séquençage NGS

Panel commun intégrant les validations par ClinGen et les recommandations de l'ACMG (15, 31, 32) :

- *OTC*, *ASS1*, *ASL*, *CPS1*, *SLC25A13*, *SLC7A7*, *NAGS*, *ARG1*, *SLC25A15*.

Ce panel est identique à celui proposé par GeneReviews pour les troubles du cycle de l'urée (34).

Un pourcentage de concordance positive de 100 % de NGS et Sanger a été observé dans toutes les études analysées pour les SNV et indels, tous les variants détectés par NGS ayant été confirmés par Sanger (cf. partie 3.4.3.1).

4.5. Conclusion

Les réponses aux questions de l'évaluation sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 11. Résumé des réponses aux questions de l'évaluation des troubles du cycle de l'urée

Les résultats du NGS ciblant les variants des gènes <i>NAGS</i> , <i>CPS1</i> , <i>OTC</i> , <i>ASS1</i> , <i>ASL</i> , <i>ARG1</i> , <i>SLC25A15</i> , <i>SLC25A13</i> et <i>SLC7A7</i> sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?	Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?
Les résultats des études analysées ont montré un pourcentage de concordance positive de 100 % de NGS et Sanger car deux variants du gène <i>OTC</i> , deux variants du gène <i>ASL</i> , deux variants du gène <i>CPS1</i> , six variants du gène <i>SLC25A13</i> et trois variants du gène <i>ASS1</i> détectés par NGS ont tous été validés par Sanger. Note : aucun variant des gènes <i>NAGS</i> , <i>ARG1</i> , <i>SLC25A15</i> n'a été rapporté par les auteurs des études analysées.	NGS permettrait de réduire les délais de diagnostic des troubles du cycle de l'urée car : <ul style="list-style-type: none">– le besoin de confirmation par le séquençage Sanger ne serait pas nécessaire en raison de la concordance parfaite de NGS et Sanger ;– plusieurs gènes sont analysés simultanément.

²² Inclure tous les gènes associés à la maladie et dont la validité de l'association avec celle-ci est considérée comme « définitive », « forte » ou « modérée ».

5. Leucinose

5.1. Contexte

La leucinose, également appelée « *Maple Syrup Urine Disease* » (MSUD), est une maladie génétique rare (1 sur 185 000 naissances) transmise de manière autosomique récessive. Elle se caractérise par l'accumulation de l'acide aminé leucine dans le plasma avec une toxicité cérébrale (5).

La stratégie de prise en charge de la leucinose comprend l'établissement du diagnostic clinique et biochimique, la définition de la conduite à tenir et la prise en charge initiale, la détermination des indications thérapeutiques en phase aiguë, la confirmation de la maladie sur le plan génétique et la prise en charge des cas identifiés par dépistage néonatal (5).

5.1.1. Stratégie diagnostique

La stratégie diagnostique décrite ici est celle du PNDS publié en avril 2021 (5), relatif à la prise en charge de patients atteints de leucinose par déficit en déshydrogénase des acides aminés ramifiés (BCKDH). Toutefois, dans un souci d'exhaustivité et pour offrir une perspective complète, d'autres descriptions du processus diagnostique issues de consensus d'experts reconnus et publiées dans GeneReviews sont également incluses (44).

5.1.1.1. Présentation clinique

La leucinose peut se présenter sous plusieurs formes.

La forme classique se manifeste chez environ 80 % des individus sous forme de coma néonatal. Les symptômes apparaissent généralement dans la première semaine de vie, avec des taux sanguins de leucine dépassant 1500 $\mu\text{mol/L}$. Sans traitement, la maladie progresse rapidement vers une encéphalopathie et un décès. Les signes cliniques sont des troubles digestifs, des troubles neurologiques et une odeur caractéristique des urines. Biologiquement, il n'y a pas d'anomalies bien que l'ammoniémie puisse être légèrement élevée et une cétonurie présente.

Les formes intermittentes et intermédiaires apparaissent plus tardivement en raison d'un déficit partiel.

- La forme intermédiaire se manifeste dans les premiers mois ou années de vie par des troubles de croissance et de neurodéveloppement. Des épisodes de coma lors de décompensations métaboliques peuvent apparaître. Lors du diagnostic, les taux de leucine dans le plasma sont élevés sans atteindre les valeurs observées pendant le coma.
- La forme intermittente survient chez des enfants ou adolescents sans antécédents de troubles neurodéveloppementaux, sous forme d'épisodes aigus de décompensations métaboliques souvent en période de catabolisme. Ils se manifestent par un coma, des signes neurologiques à répétition, des signes digestifs tels que des vomissements. Les taux de leucine sont normaux entre deux épisodes et souvent moins élevés en décompensation qu'en période néonatale.

Les formes thiamine-sensibles, bien que rares, s'améliorent avec une supplémentation en vitamine B1. Un régime en protéine s'impose.

Les déficits touchant la sous-unité E3 de BCKDH entraînent des phénotypes variés dont une encéphalopathie précoce et une insuffisance hépatique. Sur le plan biochimique, il y a une accumulation de leucine, de lactate, alanine et α -cétoglutarate. Ces déficits sont distincts de la leucinose en ce qui concerne le pronostic et la prise en charge.

5.1.1.2. Examens paracliniques

- La chromatographie des acides aminés plasmatiques détecte une augmentation de la concentration de leucine et d'autres acides aminés ramifiés dans le sang ainsi que la présence d'alloisoleucine caractéristique de la pathologie. Le prélèvement est réalisé dès l'évocation du diagnostic.
- La chromatographie des acides organiques urinaires, indiquée pour la recherche de diagnostics différentiels, confirme le diagnostic par un profil caractéristique d'excrétion des alpha-cétoacides ramifiés.
- Un test de réaction colorée est réalisé au lit du patient, notamment en réanimation, pour détecter la présence d'alpha-cétoacides ramifiés dans les urines.
- L'IRM cérébrale met en évidence un œdème cérébral lors de décompensations aiguës. Des séquelles liées à ces événements aigus peuvent persister, ou encore être une manifestation d'une leucinose intermédiaire au moment du diagnostic.
- La génétique moléculaire assure l'identification des variants responsables de la leucinose. Les sujets affectés sont toujours homozygotes ou hétérozygotes composites pour des mutations présentes dans certains gènes. Ces gènes sont *BCKDHA*, *BCKDHB* et *DBT*, ils codent pour différentes sous-unités de la BCKDH. D'autres gènes, comme *DLD* qui code pour la sous-unité E3 commune à plusieurs complexes déshydrogénases, sont à l'origine d'un phénotype différent de la leucinose. Pour le cas index, un prélèvement sanguin permet l'extraction de l'ADN et le séquençage des gènes concernés. Les variants génétiques potentiellement responsables de la maladie sont ensuite recherchés chez les parents pour vérifier la ségrégation des allèles. Cette information est indispensable pour le conseil génétique car elle sert à évaluer le risque de récurrence de la maladie dans les futures grossesses. Le diagnostic prénatal et le diagnostic préimplantatoire sont proposés aux familles. L'accès au DPN²³/DPI²⁴ moléculaire nécessite un diagnostic génétique informatif préalable et est strictement encadré (L2131-1, arrêté du 18 juin 2024). Ce cadre régit les modalités d'accès, la prise en charge des femmes enceintes et des couples ainsi que le fonctionnement des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN).

Il convient de distinguer faisabilité (informativité du test génétique) et indication à un DPN/DPI. Cette dernière relève de la décision du CPDPN en réunion pluridisciplinaire

- ➔ Dans le chapitre rédigé par Strauss *et al.* dans GeneReviews²⁵ (44), il est rapporté que le diagnostic de leucinose chez un sujet présentant des résultats métaboliques/biochimiques évocateurs est établi par l'identification de variants pathogènes bi-alléliques (ou probablement pathogènes) dans l'un des gènes suivants : *BCKDHA*, *BCKDHB* ou *DBT* ou, dans des cas limités, par une activité significativement réduite de l'enzyme BCKD dans des fibroblastes cultivés, des leucocytes ou du tissu hépatique biopsié. En raison de sa sensibilité relativement élevée, le test génétique moléculaire peut éviter le recours au test enzymatique et constitue donc de plus en plus le test de confirmation privilégié pour la leucinose.

²³ Le diagnostic prénatal ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

²⁴ Le diagnostic préimplantatoire ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

²⁵ Ressource internationale fournissant des informations sur les maladies héréditaires sous forme de journal, couvrant le diagnostic, le traitement et le conseil génétique. Chaque chapitre est rédigé par un ou plusieurs experts de la maladie concernée et fait l'objet d'un processus de révision par les pairs avant d'être publié.

5.1.1.3. Diagnostic différentiel

Si un nouveau-né présente des signes cliniques de leucinose, les autres causes potentielles de détresse néonatale doivent être éliminées. L'objectif est de confirmer la leucinose et d'exclure d'autres erreurs innées du métabolisme qui se révèlent par une encéphalopathie aiguë en période néonatale. Le diagnostic est ainsi orienté selon des paramètres biochimiques et cliniques.

Dans GeneReviews (44), il est rapporté que la leucinose se distingue des autres troubles par l'odeur douce du cérumen et un test urinaire positif à la dinitrophénylhydrazine. Les tests de laboratoire qui comprennent l'analyse quantitative des acides aminés plasmatiques, de l'alloisoleucine plasmatique ou du sang total, des acylcarnitines sériques, des acides organiques urinaires, de la concentration d'ammoniaque plasmatique et de la concentration de lactate sérique servent à faire la distinction entre les différents troubles. En particulier, l'analyse quantitative des acides aminés plasmatiques est généralement suffisante pour diagnostiquer rapidement la leucinose.

5.1.2. Stratégie thérapeutique

Selon le PNDS (5), le traitement de cette maladie héréditaire du métabolisme doit être coordonné par un centre de référence ou de compétence. La prise en charge dès le diagnostic souvent néonatal et lors des décompensations ultérieures est une urgence vitale.

5.1.2.1. Régime alimentaire

Le traitement repose sur un régime hypoprotidique proposant des denrées alimentaires destinées à des fins médicales spéciales (DADFMS). Ce régime a pour but de maintenir les taux de leucine plasmatique entre 150 et 400 $\mu\text{mol/L}$. Il n'existe pas de médicament épurateur ni d'élimination significative de la leucine par les urines. Le patient doit surveiller régulièrement ses taux de leucine (critère biologique majeur de la leucinose pour le diagnostic et le suivi).

5.1.2.2. Greffe hépatique

La transplantation hépatique est actuellement la seule alternative thérapeutique pour la leucinose. Les bénéfices sont médico-psychologiques et économiques, néanmoins ils doivent être équilibrés avec les risques de morbi-mortalité liés à la transplantation et au traitement antirejet qui doit être pris à vie. La transplantation stabilise les taux de leucine dans les objectifs thérapeutiques bien qu'elle ne normalise pas ces taux. Elle est aussi une situation à risque de décompensation métabolique. Sur le plan cognitif, le QI et les fonctions cognitives restent inchangés et le risque de séquelles neurologiques liées à de nouvelles décompensations métaboliques graves est presque supprimé.

Un donneur intrafamilial hétérozygote pour une mutation de *BCKDH* n'est pas l'option la plus efficace pour une transplantation car l'apport d'enzymes actives est réduit de moitié.

5.1.2.3. Alternatives thérapeutiques

Des alternatives aux traitements actuels, telles que la thérapie génique, la thérapie par ARN et la transplantation d'hépatocytes, sont en cours de développement. Toutefois, leur efficacité et leurs risques ne sont pas encore établis.

5.1.2.4. Éducation thérapeutique

Une formation adaptée doit être donnée aux familles et aux patients afin de les préparer à la gestion autonome de leur traitement et de leur suivi médical.

5.2. Justification de l'utilisation de tests génétiques

Au regard de la stratégie diagnostique et thérapeutique de la leucinoze décrite dans le PNDS, l'utilisation du génotypage est ainsi justifiée pour la prise en charge des patients.

5.2.1. Diagnostic

Le diagnostic est confirmé par l'identification de variants pathogènes bi-alléliques (ou probablement pathogènes) dans les gènes *BCKDHA*, *BCKDHB* et *DBT*. Cette méthode est de plus en plus privilégiée par rapport aux tests enzymatiques grâce à sa sensibilité élevée.

5.2.2. Diagnostic différentiel

Le PNDS (5), ainsi que le chapitre dédié à la leucinoze dans GeneReviews (44), ne mentionnent pas explicitement l'utilisation du génotypage pour le diagnostic différentiel.

5.2.3. Traitement

La compatibilité génétique est à considérer pour évaluer l'efficacité de la greffe hépatique notamment en cas de donneur intrafamilial. En effet, le génotypage identifie le donneur le plus approprié pour augmenter les chances de succès des transplantations. Le génotype *BCKDH* n'est pas un sous-type de patients à privilégier pour la transplantation. Le génotypage peut ainsi identifier des mutations causatives et définir un sous-type de patients en fonction de ces mutations.

Toutefois, le PNDS(5) ne précise pas la méthode d'analyse moléculaire utilisée pour le génotypage, que ce soit NGS ou Sanger.

5.3. Questions de l'évaluation et critères de sélection de la littérature

Question 1 : Les résultats du NGS ciblant les variants des gènes *BCKDHA*, *BCKDHB* et *DBT* sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?

Question 2 : Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?

Pour répondre à ces questions, des critères structurés dans le résumé PICOS²⁶ ont été définis. Ces critères ont permis de guider la sélection et l'analyse des publications scientifiques identifiées par la recherche systématique (tableau 12).

Tableau 12. Critères PICOS - leucinoze

Population	Adultes et enfants suspectés d'être atteints de leucinoze ou à défaut déjà atteints de leucinoze
Test index	Séquençage haut débit (NGS) ciblant les variants des gènes <i>BCKDHA</i> , <i>BCKDHB</i> et <i>DBT</i>
Comparateurs	Test moléculaire monogénique : Sanger
Outcomes	Pourcentage de concordance positive de NGS ciblant <i>BCKDHA</i> , <i>BCKDHB</i> , <i>DBT</i> , et Sanger. Il existe une concordance positive des deux tests lorsque ceux-ci détectent les mêmes variants pour les mêmes patients.
Schémas d'études	<ul style="list-style-type: none">– Littérature synthétique : rapports d'évaluation technologique, revues systématiques avec ou sans méta-analyse, ou à défaut, études de stratégie diagnostique.– Recommandations de bonnes pratiques.

²⁶ PICOS : *Population*, *Intervention (test index)*, *Comparateur*, *Outcomes*, *Schémas d'études*.

5.4. Analyse de la littérature

5.4.1. Critères de sélection de la littérature

Les publications dont l'objectif était l'évaluation du NGS pour la détection de variants des gènes *BCKDHA*, *BCKDHB* et *DBT* ont été recherchés.

a). Elles devaient répondre aux **critères d'inclusion** définis comme suit :

- rapports d'évaluation technologique, revues systématiques et/ou méta-analyses, études observationnelles, transversales, de cohorte, cas-témoins, séries de cas ou rapports de cas ;
- études incluant des sujets suspectés d'être atteints de leucine ou, à défaut, le diagnostic clinico-biochimique a été précédemment établi ;
- études évaluant en période postnatale les méthodes NGS seules ou en complémentarité avec d'autres méthodes si celles-ci peuvent être distinguées de NGS ;
- études considérant le séquençage Sanger comme méthode de confirmation ;
- études rapportant au moins un résultat d'intérêt (cf. outcomes, tableau 12) ;
- études publiées en anglais ;
- articles en texte intégral.

b). Ont été exclues de l'analyse

- les études qui reproduisaient ou confirmaient les résultats du NGS à l'aide d'une autre méthode que la méthode Sanger ;
- les études dans lesquelles le NGS est réalisé dans le cadre d'un dépistage néonatal ;
- les études qui incluaient des sujets ayant eu un diagnostic génétique antérieur ou un traitement antérieur ;
- les études disponibles sous forme de résumé uniquement, les lettres et les publications éditoriales ainsi que les études sur des modèles animaux.

Les recommandations émises par les diverses sociétés savantes nationales et internationales ont également été recherchées afin de disposer d'une vision la plus complète possible des pratiques actuelles en matière de gènes pertinents à inclure dans un panel de NGS à visée diagnostique.

5.4.2. Résultats de la sélection de la littérature

5.4.2.1. Sélection des études

La stratégie de recherche a permis d'identifier un total de quatre articles et un article supplémentaire a été identifié *via* une autre source. Un article a été exclu après examen du titre et du résumé. Une analyse du texte intégral des quatre publications restantes a été réalisée. À la suite de cet examen, une étude sur quatre ne satisfaisait pas les critères d'inclusion. Finalement, trois articles ont été jugés conformes et inclus dans le cadre de cette évaluation (figure 3).

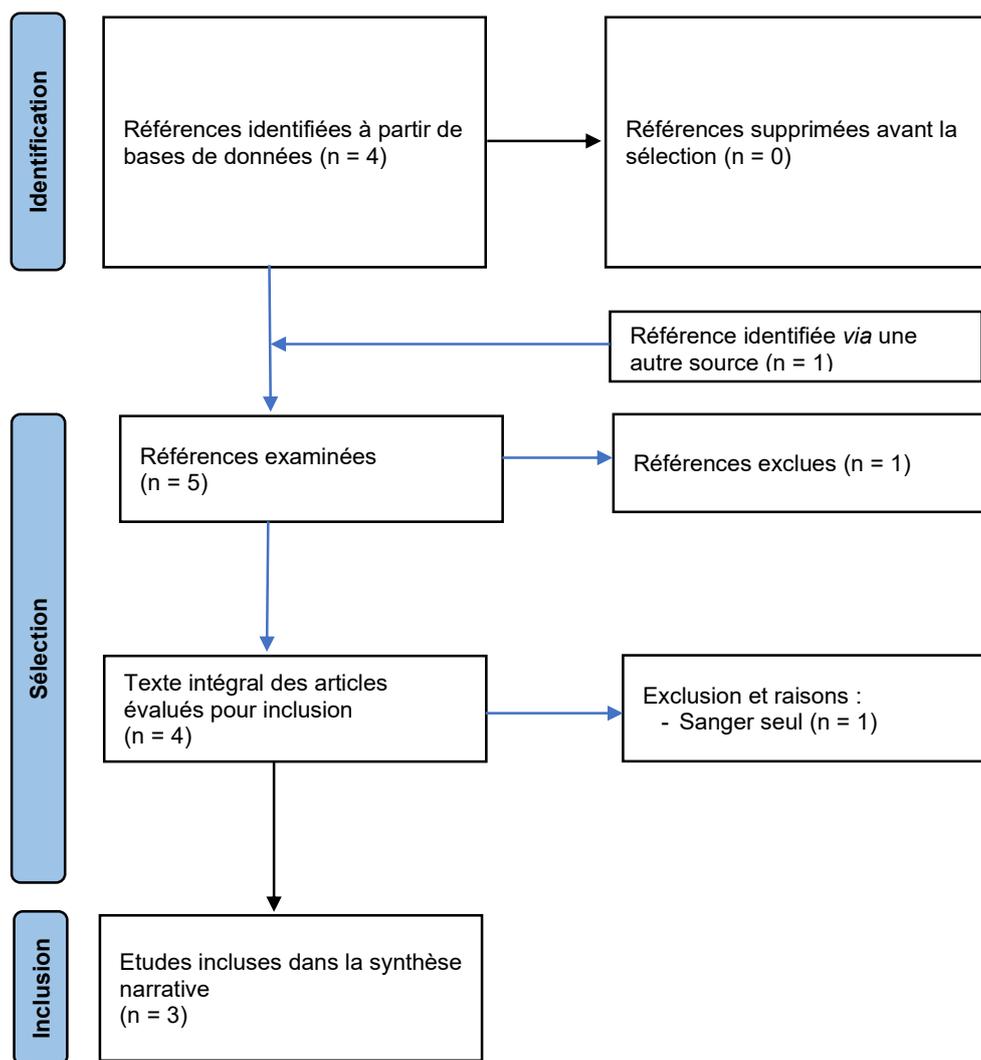


Figure 3. Organigramme PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et la leucinoase

5.4.2.2. Caractéristiques des études incluses

- Les études de Fang *et al.* [n = 8] (45), d'Yang *et al.* [n = 4] (46) et de Tresbach *et al.* [n = 18] (47) sont des séries de cas.
- L'étude de Fang *et al.* (45) a séquencé le panel /*BCKDHA, BCKDHB, DBT, DLDI*/, l'étude d'Yang *et al.* (46) et l'étude de Tresbach *et al.* (47) ont séquencé le panel /*BCKDHA, BCKDHB, DBT*/. Ces trois études ont recherché les variants des gènes indiqués à l'aide de technologies NGS et ont utilisé le séquençage Sanger pour confirmer les variants identifiés par NGS.
- Ces trois études concernaient le séquençage d'échantillons d'ADN germinale. L'étude de Fang *et al.* (45) a rapporté la couverture et la profondeur du séquençage NGS (la profondeur moyenne était de 80 fois par échantillon et au moins 97 % de la région cible est couverte par des lectures de dix fois ou plus). L'étude de Tresbach *et al.* (47) a rapporté une profondeur de séquençage de 250 fois.
- Les études de Fang *et al.* (44) et d'Yang *et al.* (45) ont été menées en Chine. L'étude de Tresbach *et al.* (47) a été menée au Brésil.

- Les études de Fang *et al.* (44) et d'Yang *et al.* (45) ont rapporté l'âge d'apparition de la maladie chez les sujets : la moyenne d'âge est de 32,6 jours (écart-type 34,1) dans l'étude d'Yang (46) et de 27,8 jours (écart-type 38,1) dans l'étude de Fang (45). Dans l'étude de Tresbach (47), l'âge médian au moment du diagnostic de la cohorte était de 26 jours (IQR, 19,5-42,8).
- Les échantillons étaient constitués de quatre garçons et quatre filles dans l'étude de Fang *et al.* (45), et de trois garçons et deux filles dans l'étude d'Yang *et al.* (46). L'échantillon de l'étude de Tresbach *et al.* (47) était constitué de six garçons et douze filles.

Ces informations sont résumées dans le tableau-ci dessous.

Tableau 13. Principales caractéristiques des études incluses pour la leucinoase

PUBLICATION			SUJETS			MALADIES		TESTS		
Auteurs, année, pays	Type	n=	Sexe	Age	Type	Diagnostic clinique et/ou biochimique	Index	Profondeur et/ou couverture	Comparateur	
Fang <i>et al.</i> , 2021, Chine	Série de cas	8	4 m	6 j à 4 mo*	MSUD	oui	NGS	80x 97 %	Sanger	
Yang <i>et al.</i> , 2019, Chine	Série de cas	5	3 m	5 j à 3 mo**	MSUD	oui	NGS	NR	Sanger	
Tresbach <i>et al.</i> , 2024, Brésil	Série de cas	18	6 m	26 j***	MSUD	oui	NGS	250x	Sanger	

M : masculin ; mo : mois ; j : jours ; n : nombre de sujets ; MSUD : leucinoase ; NGS : *next generation sequencing* ; NR : non rapporté ; * âge moyen 27,8 jours (écart-type 38,1) ; ** âge moyen 32,6 jours (écart-type 34,1), *** âge médian (IQR, 19,5-42,8).

5.4.2.3. Evaluation de la qualité méthodologique des études incluses

La qualité méthodologique globale des trois études incluses a été jugée bonne dans les études de Fang (45) et de Tresbach (47), et médiocre dans l'étude d'Yang *et al.* (46). Les trois études ont bien défini la question de recherche et ont décrit les résultats et la population étudiée, en précisant la province d'où sont issus les sujets chinois. Les études ont présenté des sujets comparables sur le plan symptomatique et n'ont pas précisé si les patients étaient inclus selon un schéma consécutif ou non. L'étude de Fang *et al.* (45) a rapporté la durée de suivi post-test.

Ces informations sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 14. Évaluation de la qualité méthodologique des études incluses pour la leucinoase

Critères	Fang, 2021	Yang, 2019	Tresbach, 2024
La question ou l'objectif de l'étude a-t-il été clairement énoncé ?	O	O	O
La population étudiée a-t-elle été décrite de manière claire et complète, y compris une définition de cas ?	O	O	O
Les cas étaient-ils consécutifs ?	NR	NR	NR
Les sujets étaient-ils comparables ?	O	O	O
L'intervention a-t-elle été clairement décrite ?	O	N	O

Critères	Fang, 2021	Yang, 2019	Tresbach, 2024
Les mesures des résultats ont-elles été clairement définies, valides, fiables et mises en œuvre de manière cohérente pour tous les participants à l'étude ?	O	O	O
La durée de suivi était-elle adéquate ?	O	NR	NR
Les méthodes statistiques ont-elles été bien décrites ?	NR	NR	NR
Les résultats ont-ils été bien décrits ?	O	O	O
Qualité globale	Bonne	Médiocre	Bonne

5.4.3. Concordance des tests

5.4.3.1. Description des résultats des études incluses

- Dans les études incluses (45, 46), les panels séquencés sont composés des gènes *BCKDHA*, *BCKDHB* et *DBT*.
- L'étude de Fang *et al.* (45) a inclus dans ledit panel le gène *DLG*.
- Sept variants pathogènes différents du gène *DBT* ont été rapportés dans les trois études (45, 46).
- Sept variants pathogènes différents du gène *BCKDHA* ont été rapportés dans les trois études (45, 46).
- Vingt-cinq variants pathogènes différents du gène *BCKDHB* ont été rapportés dans les trois études (45, 46).
- Le variant c.647C>T a été détecté dans les gènes *BCKDHA* et *BCKDHB* dans l'étude de Fang *et al.* (45).
- Le variant c.853C>T détecté dans le gène *BCKDHB* a été rapporté dans les études de Fang (44) et de Tresbach (47).
- Tresbach *et al.* (47) rapportent que le NGS a été utilisé pour les grandes délétions et une profondeur de séquençage adaptée. Le séquençage Sanger a confirmé les nouveaux variants et les variants à faible couverture.
- Tous ces variants étaient des SNV ou indels et ont été confirmés dans les trois études par Sanger, ce qui indique un pourcentage de concordance positive de 100 % de NGS et Sanger (45, 46, 47).

5.4.3.2. Analyse des résultats des études incluses

Une validation des résultats des études incluses a été effectuée dans le but de s'assurer de la robustesse des associations gènes/maladies rapportées.

Cette validation s'est appuyée sur la consultation systématique des bases de référence ClinGen (pour l'évaluation de la validité des associations gènes/maladies) et GeneReviews (pour l'identification des gènes impliqués dans la démarche diagnostique).

La synthèse des vérifications effectuées figure dans le tableau ci-dessous.

Tableau 15. Concordance NGS/Sanger et validation ClinGen/GeneReviews pour la leucino­se

Résultats des études		Validation par bases de référence	
Gène analysé	Concordance NGS/Sanger	Association gène-maladie (Clin-Gen)	Mentionné pour le diagnos-tic génétique (GeneReviews)
<i>BCKDHA</i>	Oui	Définitive	Oui
<i>BCKDHB</i>	Oui	Définitive	Oui
<i>DBT</i>	Oui	Définitive	Oui

Association entre gènes et leucino­se

Selon les informations fournies par ClinGen, l'association entre les gènes *BCKDHA*, *BCKDHB*, *DBT* et la leucino­se est considéré comme définitive car le rôle de ces gènes a été démontré à plusieurs reprises dans le cadre de la recherche et du diagnostic clinique (31).

Il est donc considéré comme pertinent d'inclure ces gènes dans un panel diagnostique pour la leucino­se.

Sélection de panels et gènes cibles pour le séquençage NGS

Panel commun intégrant les validations par ClinGen et les recommandations de l'ACMG (15, 32) : ***BCKDHA*, *BCKDHB*, *DBT***.

Les gènes qui constituent ce panel ont également été proposés par GeneReviews pour réaliser l'ana­lyse moléculaire de la leucino­se (44).

Un pourcentage de concordance positive de 100 % de NGS et Sanger a été observé dans toutes les études analysées pour les SNV et indels, tous les variants détectés par NGS ayant été confirmés par Sanger (cf. partie 4.4.3.1).

5.5. Conclusion

Les réponses sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 16. Réponses aux questions de l'évaluation de la leucino­se

Les résultats du NGS ciblant les variants des gènes <i>BCKDHA</i> , <i>BCKDHB</i> et <i>DBT</i> sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?	Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?
Les résultats des études analysées ont montré un pourcentage de concordance positive de 100 % de NGS et Sanger car sept variants du gène <i>DBT</i> , sept variants du gène <i>BCKDHA</i> et 25 variants du gène <i>BCKDHB</i> détectés par NGS ont tous été validés par Sanger.	NGS permettrait de réduire les délais de diagnostic de la leucino­se car : <ul style="list-style-type: none"> – le besoin de confirmation par le séquençage Sanger ne serait pas nécessaire en raison de la concordance parfaite de NGS et Sanger ; – plusieurs gènes sont analysés simultanément.

6. Tyrosinémie de type 1

6.1. Contexte

La tyrosinémie de type 1 est une maladie génétique rare (un cas sur 185 000 naissances), transmise de manière autosomique récessive et touchant le catabolisme de l'acide aminé tyrosine. Elle est due à un déficit de l'enzyme fumarylacétoacétate hydrolase (FAH). Cette maladie se manifeste habituellement par l'association d'une atteinte hépatique, rénale et cérébrale pouvant coexister chez un même patient (6).

La stratégie de prise en charge de la tyrosinémie type 1 (HT-1) comprend l'établissement du diagnostic (évoquant et confirmant) grâce aux signes cliniques et biologiques ; l'évaluation de la sévérité de la maladie ; la définition de la stratégie thérapeutique symptomatique et spécifique d'urgence ; l'établissement du niveau métabolique de contrôle souhaité et du protocole de surveillance (6).

6.1.1. Stratégie diagnostique

La stratégie décrite ici est celle du PNDS relatif à la tyrosinémie type 1 (HT-1) (6), élaborée principalement à partir de consensus européens publiés en 2017 (48) et 2018 (49).

Toutefois, pour offrir une approche plus complète, d'autres descriptions du processus diagnostique, issues de consensus d'experts reconnus et publiées dans GeneReviews, sont également incluses (50).

6.1.1.1. Présentation clinique

Signes cliniques au diagnostic

La tyrosinémie de type 1 se manifeste sous trois formes principales, chacune ayant des caractéristiques distinctes selon l'âge de début des symptômes :

- **La forme aiguë** est la plus fréquente et se révèle généralement entre l'âge de 15 jours et 12 mois. Les bébés atteints de cette forme souffrent d'une insuffisance hépatique aiguë sévère, particulièrement grave si elle débute avant l'âge de 2 mois. Les fonctions de synthèse hépatique sont déficientes et aucun symptôme n'apparaît avant les 15 premiers jours de vie.
- **La forme subaiguë** se manifeste, quant à elle, après l'âge de 6 mois. Les symptômes se manifestent par une atteinte hépatique plus modérée, un retard de croissance, une hépatosplénomégalie, des troubles de la coagulation, un rachitisme hypophosphatémique et des signes neurologiques tels que des crises pseudo-porphyriques.
- **La forme chronique** apparaît également après l'âge de 6 mois. Elle se caractérise par une atteinte hépatique et/ou rénale progressive, souvent accompagnée de troubles neurologiques comme des crises pseudo-porphyriques. Un foie cirrhotique est souvent déjà présent au moment du diagnostic.

Atteintes hépatiques

Sans dépistage néonatal, la tyrosinémie de type I se manifeste souvent par une insuffisance hépatocellulaire aiguë dès les premières semaines de vie. Les bébés présentent alors des symptômes tels que l'ascite, les vomissements, un ictère modéré (prédominance de bilirubine non conjuguée) et parfois des saignements digestifs. Les analyses biologiques révèlent des anomalies hépatiques et rénales caractéristiques à savoir des transaminases et gamma-GT peu élevées, ainsi que des phosphatase alcaline (PAL) et alpha-fœtoprotéine (AFP) très élevées. Les patients peuvent également dégager une

odeur caractéristique de « chou bouilli ». L'échographie abdominale montre un foie nodulaire et une néphrocalcinose.

Les formes aiguës ou subaiguës se manifestent par une insuffisance hépatique sévère dans les douze premiers mois de vie. Les patients présentent une hépatomégalie ferme, de volume modéré, accompagnée d'ascite, d'œdèmes et parfois de splénomégalie. Les signes d'encéphalopathie hépatique ne sont pas perceptibles à cet âge. L'hyperbilirubinémie et l'ictère sont souvent modestes ou inexistantes au début et peuvent s'aggraver plus tard. Les analyses montrent des transaminases et GGT peu élevées, contrastant avec l'effondrement des facteurs de coagulation, l'hypoalbuminémie, une élévation importante de l'AFP et des phosphatases alcalines. Ce contexte reflète la tubulopathie de Fanconi.

Les formes chroniques, découvertes après l'âge de 6 mois, se caractérisent par un retard de croissance et les conséquences de la tubulopathie. L'atteinte hépatique est progressive, marquée par une hépatomégalie irrégulière et ferme (cirrhose) et des signes d'hypertension portale. Des épisodes d'insuffisance hépatique peuvent survenir en cas d'infection ou de stress. Des crises neurologiques pseudo-porphyriques peuvent également compliquer la maladie. Certains patients présentent une hypotonie due à une neuropathie périphérique. L'évolution de la maladie peut être prolongée, avec un développement insidieux de la cirrhose et de la tubulopathie jusqu'à la fin de l'adolescence.

Les analyses biologiques montrent une diminution du taux de prothrombine, des facteurs de coagulation et de l'albumine ainsi qu'une augmentation des PAL et des transaminases. On observe également une thrombopénie, une anémie, une élévation majeure de l'AFP et des signes de tubulopathie avec hypophosphatémie, phosphaturie et glycosurie.

L'échographie hépatique montre souvent un foie hétérogène avec des zones de stéatose et un aspect multinodulaire, cirrhotique et parfois tumoral. Des signes d'hypertension portale peuvent être présents. L'échographie abdominale peut aussi révéler des anomalies extrahépatiques telles que la néphromégalie, la néphrocalcinose et une hyperéchogénicité du pancréas.

Les causes d'insuffisance hépatique en pédiatrie sont variées et dépendent de l'âge et de l'origine géographique. Il s'agit de pathologies infectieuses, métaboliques, toxiques, dysimmunitaires, malignes ou vasculaires, avec une prédominance de maladies métaboliques chez le nourrisson.

Chez le nouveau-né et le nourrisson, les causes se répartissent comme suit :

- causes métaboliques : 25 % des cas, incluant la galactosémie (24 %), les déficits de la chaîne respiratoire mitochondriale (23 %), les tyrosinémies (14 %), les déficits du cycle de l'urée (6 %), les déficits d'oxydation des acides gras et la maladie de Niemann Pick C (3 %) ;
- causes non métaboliques : 33 % des cas, incluant les infections (44 %), l'ischémie (26 %), les atteintes immuno-hématologiques (14 %), les causes toxiques (10 %) et autres (7 %) ;
- hémochromatose néonatale : 10 % des cas ;
- causes indéterminées : 25 % des cas.

Le diagnostic différentiel de la tyrosinémie de type I varie selon l'âge et le type de présentation, comprenant l'insuffisance hépatocellulaire, l'atteinte hépatique avec cirrhose ou carcinome hépatocellulaire, l'atteinte tubulaire rénale et les crises pseudo-porphyriques.

Atteintes néphrologiques

- Les signes néphrologiques de la tyrosinémie de type I varient considérablement en fonction de l'âge auquel le diagnostic est posé. Les principales anomalies observées incluent une tubulopathie, une néphromégalie et une néphrocalcinose. Chez les enfants diagnostiqués après l'âge

de 6 mois, les symptômes rénaux peuvent être les premiers signes de la maladie, indépendamment de l'atteinte hépatique.

- La tubulopathie est une affection fréquente chez ces patients. Il s'agit d'une tubulopathie proximale, semblable au syndrome de Fanconi. Cette condition peut apparaître plus tardivement, dans les formes subaiguës ou chroniques de la maladie. Les enfants atteints peuvent présenter un rachitisme hypophosphatémique, des déformations osseuses, un retard de croissance ou des épisodes de déshydratation. Les anomalies les plus courantes incluent une hypokaliémie, une hypophosphatémie, une hypocalcémie, une acidose métabolique tubulaire rénale, une glycosurie, une hyperphosphaturie, une hypercalciurie, une protéinurie de faible importance et une amino-acidurie.
- La néphromégalie est une autre anomalie fréquente. Elle peut être diagnostiquée en raison de douleurs abdominales, d'un inconfort digestif, d'une distension abdominale, de constipation, ou encore lors d'une échographie réalisée pour une autre raison, souvent en cas d'atteinte hépatique. La néphromégalie est souvent observée après l'âge de 6 mois et se caractérise par une hyperéchogénicité, avec une néphrocalcinose possible. Les analyses biologiques (sang et urines) détectent les signes de tubulopathie et d'orienter vers des diagnostics différentiels. Les tests sanguins sont la mesure des gaz du sang, de l'urée, de la créatinine, de la glycémie, des électrolytes, de l'acide urique, du calcium, du phosphore, du magnésium, de la PTH, de la 25 OHD, de la 1-25 OHD, de la protidémie, de l'albuminémie et de la carnitine. Les analyses urinaires recherchent la glycosurie, le pH urinaire, l'osmolarité, le sodium, le potassium, le chlorure, l'acide urique, la phosphaturie, la calciurie, l'albuminurie, la protéinurie, la β 2-microglobulinurie et les acides aminés urinaires.
- L'échographie rénale sert à détecter une néphromégalie bilatérale, hyperéchogène ainsi qu'une néphrocalcinose. Des radiographies osseuses du poignet et du thorax sont recommandées en cas de tubulopathie, notamment en présence d'hypophosphatémie, pour rechercher des signes de rachitisme.

Les diagnostics différentiels néphrologiques sont toutes les maladies entraînant un syndrome de Fanconi avec tubulopathie proximale, telles que la cystinose, la glycogénose, la galactosémie, la cytopathie mitochondriale, la fructosémie, l'acidose tubulaire distale, la maladie de Dent, le syndrome de Lowe ainsi que certains médicaments (paracétamol) ou intoxications. Les néphromégalias hyperéchogènes peuvent avoir des étiologies variées à savoir des tumeurs rénales, des polykystoses rénales, des dysplasies rénales, la néphronophtose et les oxaloses primitives.

Autres atteintes

- Les signes neurologiques de la tyrosinémie de type I apparaissent chez les enfants de plus de 6 mois non traités par nitisinone. Ces enfants peuvent développer des crises neurologiques aiguës ressemblant à des crises porphyriques aiguës déclenchées par une infection et durant jusqu'à une semaine. Les symptômes sont des douleurs abdominales, des douleurs neuropathiques, de l'opisthotonos, de la confusion, des crises convulsives et une neuropathie périphérique aiguë. Cette neuropathie progresse rapidement, de manière similaire à celle du syndrome de Guillain-Barré et peut entraîner une tétraparésie flasque nécessitant une ventilation assistée. Ces crises sont rares aujourd'hui, elles surviennent principalement chez les patients interrompant leur traitement par nitisinone.
- Les signes osseux sont liés à l'atteinte rénale et se manifestent par des signes de rachitisme visibles surtout dans les formes subaiguës et chroniques. Les déformations osseuses et les élévations des phosphatases alcalines sont présentes, même si les niveaux de vitamine D sont normaux.

- Les signes ophtalmologiques correspondent aux atteintes de la cornée dues à l'élévation du taux de tyrosine plasmatique. Les symptômes de kératite tels que douleurs, photophobie, larmoiement et rougeur apparaissent lorsque les taux de tyrosine dépassent 600 $\mu\text{mol/L}$ et régressent avec la diminution de ces taux.
- Une cardiomyopathie hypertrophique du septum a été rapportée. Elle est généralement asymptomatique et se résout avec le traitement par nitisinone ou après une transplantation hépatique.

5.1.1.2. Confirmation du diagnostic

- ➔ Dans le **PNDS**, il est précisé que la confirmation du diagnostic de la tyrosinémie de type I s'appuie sur une analyse métabolique et génétique du patient (6).
- ➔ Selon **GeneReviews** (50), le diagnostic de tyrosinémie de type 1 est établi chez un sujet présentant des résultats biochimiques caractéristiques (concentration accrue de succinylacétone dans le sang et l'urine ; concentrations plasmatiques élevées de tyrosine, de méthionine et de phénylalanine ; concentration urinaire élevée de métabolites de la tyrosine et du composé δ -ALA) et/ou par l'identification de variants pathogènes bi alléliques de la FAH lors d'un test de génétique moléculaire.

Analyse métabolique

L'analyse métabolique est centrée sur l'activité de la fumarylacétoacétate hydrolase (FAAH), une enzyme qui joue un rôle dans le catabolisme de la tyrosine. Son déficit conduit à l'accumulation de métabolites toxiques. Une forte élévation de la tyrosine, de la méthionine et de la phénylalanine, témoigne de l'atteinte hépatique. L'atteinte tubulaire se traduit par une hyperaminoacidurie.

La présence de succinylacétone (SA) et de ses métabolites dans les urines est propre à la tyrosinémie de type I. La SA doit être quantifiée dans les urines par spectrométrie de masse après séparation chromatographique.

En cas de forte suspicion clinique, biologique et radiologique, et en l'absence de SA, une étude génétique doit être proposée.

Analyse génétique

- ➔ Selon le **PNDS** (6),
 - La tyrosinémie de type 1 est une maladie génétique causée par un déficit enzymatique de la FAAH. Ce déficit est lié à des mutations du gène *FAH*, situé sur le chromosome 15. Plus d'une centaine de mutations homozygotes ou hétérozygotes composites ont été identifiées à ce jour, dont certaines sont fréquentes en raison d'un effet fondateur selon les zones géographiques. En France, les deux mutations les plus fréquemment identifiées sont la c.554-1G>T (51 %) et la c.1062+5G>A (7 %) et 42 % sont des mutations privées.
 - Il n'y a pas de corrélation évidente entre le type de mutation et l'expression phénotypique de la maladie. Un variant pseudo-déficient du gène *FAH* (c.1021C>T ; p.(Arg341Trp)) a été rapporté. Les patients porteurs de ce variant et d'un variant pathogène sur l'autre allèle présentent des niveaux modérés de SA dans les urines et restent asymptomatiques sans traitement.
 - Le test moléculaire se fait sur prélèvement sanguin du patient et des parents, il permet le conseil génétique et le diagnostic prénatal ou préimplantatoire. Le diagnostic prénatal est toutefois discutable, en raison de l'amélioration du pronostic sous nitisinone. Le diagnostic génétique préimplantatoire peut être envisagé pour les couples à risque.

L'accès au DPN²⁷/DPI²⁸ moléculaire nécessite un diagnostic génétique informatif préalable et est strictement encadré (L2131-1, arrêté du 18 juin 2024). Ce cadre régit les modalités d'accès, la prise en charge des femmes enceintes et des couples ainsi que le fonctionnement des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN).

Il convient de distinguer faisabilité (informativité du test génétique) et indication à un DPN/DPI. Cette dernière relève de la décision du CPDPN en réunion pluridisciplinaire.

→ Selon GeneReviews (50),

- L'analyse génétique consiste en l'utilisation d'un test monogénique. L'analyse de la séquence de la FAH est effectuée en premier lieu, elle sert à faire le diagnostic chez plus de 95 % des sujets porteurs de variants pathogènes détectables par différentes méthodes dont NGS.
- Elle est suivie d'une analyse de délétion/duplication ciblée sur le gène si un seul ou aucun variant pathogène n'est trouvé. L'analyse ciblée du variant pathogène p.Pro261Leu peut être d'abord effectuée chez les individus d'ascendance juive ashkénaze ; ce variant représente plus de 99 % des variants pathogènes dans cette population.
- Le variant pathogène c.1062+5G>A (IVS12+5 G>A) représente 87,9 % des variants pathogènes dans la population canadienne française.
- Les quatre variants pathogènes courants de la FAH, à savoir c.1062+5G>A (IVS12+5 G>A), c.554-1G>T (IVS6-1 G>T), c.607-6T>G (IVS7-6 T>G) et p.Pro261Leu, représentent environ 60 % des variants pathogènes de la tyrosinémie de type I dans la population générale aux États-Unis.

6.1.2. Stratégie thérapeutique

Le PNDS (6) indique que la stratégie thérapeutique associe un traitement médicamenteux, la nitisinone, à un régime alimentaire contrôlé en phénylalanine.

6.1.2.1. Traitement médicamenteux

Le traitement par nitisinone (ORFADIN® et ses génériques disposent d'une AMM européenne (51) pour l'utilisation dans la tyrosinémie de type 1 chez l'adulte et l'enfant quel que soit l'âge) prévient et traite les complications de la maladie. Ce traitement doit commencer dès que le diagnostic est posé, selon une posologie initiale recommandée de 1 mg/kg/j en deux prises par jour pour les enfants de moins de 20 kg. L'efficacité du traitement est jugée sur la concentration de succinylacétone urinaire qui doit être rapidement normalisée. Si aucune amélioration n'est observée après une semaine de traitement à cette posologie, la dose peut être augmentée à 2 mg/kg/j. En cas d'échec, une transplantation hépatique doit être envisagée.

6.1.2.2. Régime alimentaire et suivi

Le but de cette prise en charge est de maintenir des taux plasmatiques de tyrosine dans des limites non toxiques ($\leq 400 \mu\text{mol/L}$) et d'assurer une croissance staturo-pondérale satisfaisante. Chaque patient atteint de tyrosinémie de type 1 a sa propre tolérance, la consommation quotidienne en tyrosine doit être inférieure à $400 \mu\text{mol/L}$.

²⁷ Le diagnostic prénatal ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

²⁸ Le diagnostic préimplantatoire ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

Les patients sont surveillés, tous les 3 mois durant la première année, par dosage des acides aminés plasmatiques, de SA urinaire, de nitisinone et d'alpha-foetoprotéine sérique. Des examens d'imagerie par échographie et IRM abdominales sont effectuées semestriellement et annuellement.

6.2. Justification de l'utilisation des tests génétiques

Au regard de la description des stratégies diagnostiques et thérapeutiques de la tyrosinémie de type 1 décrites dans le PNDS (6) et dans GeneReviews (50), il apparaît que les tests génétiques viennent confirmer le diagnostic en cas de forte suspicion clinique, biologique, radiologique et en l'absence de SA.

- ➔ Toutefois, le PNDS (6) ne précise pas la méthode d'analyse moléculaire utilisée pour le génotypage, que ce soit NGS ou Sanger.
- Selon GeneReviews (50), le diagnostic de la tyrosinémie de type 1 peut être établi directement par l'identification de variants pathogènes bi-alléliques de la FAH lors d'un test monogénique comme NGS.
- Au-delà de la confirmation du diagnostic chez le cas index, le test génétique sert également à organiser le conseil génétique et le dépistage de la fratrie du cas index.

6.3. Questions d'évaluation et critères de sélection de la littérature

Question 1 : Les résultats du NGS ciblant les variants du gène *FAH* sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?

Question 2 : Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?

Pour répondre à ces questions, des critères structurés dans le résumé PICOS²⁹ ont été définis. Ces critères ont permis de guider la sélection et l'analyse des publications scientifiques identifiées par la recherche systématique (tableau 17).

Tableau 17. Critères PICOS – tyrosinémie de type 1

Population	Adultes et enfants suspectés d'être atteints ou à défaut déjà atteints de tyrosinémie de type 1
Test index	Séquençage haut débit (NGS) ciblant les variants du gène FAH
Compareurs	Test moléculaire monogénique : Sanger
Outcomes	Pourcentage de concordance positive de NGS ciblant le gène <i>FAH</i> et le séquençage Sanger. Il existe une concordance positive des deux tests lorsque ceux-ci détectent les mêmes variants pour les mêmes patients.
Schémas d'études	<ul style="list-style-type: none"> – Littérature synthétique : rapports d'évaluation technologique, revues systématiques avec ou sans méta-analyse, ou à défaut, études de stratégie diagnostique. – Recommandations de bonnes pratiques.

²⁹ Population, Intervention (test index), Compareur, Outcomes, Schémas d'études.

6.4. Analyse de la littérature

6.4.1. Critères de sélection de la littérature

Les publications dont l'objectif était l'évaluation du NGS pour la détection de variants du gène *FAH* ont été recherchées (la stratégie de recherche est décrite en annexe 1).

a). Elles devaient répondre **aux critères d'inclusion** suivants :

- rapports d'évaluation technologique, revues systématiques et/ou méta-analyses, études observationnelles, transversales, de cohorte, cas-témoins, séries de cas ou rapports de cas ;
- études incluant des sujets suspectés d'être atteints de tyrosinémie de type 1 ou, à défaut, des sujets pour qui le diagnostic clinico-biochimique a été précédemment établi ;
- études évaluant en période postnatale les méthodes NGS seules ou en complémentarité avec d'autres méthodes si celles-ci peuvent être distinguées du NGS ;
- études considérant le séquençage Sanger comme méthode de confirmation ;
- études rapportant au moins un résultat d'intérêt (cf. outcomes, tableau 17) ;
- études publiées en anglais ;
- articles en texte intégral.

b). Ont été exclues de l'analyse

- les études qui reproduisaient ou confirmaient les résultats du NGS à l'aide d'une autre méthode que la méthode Sanger ;
- les études dans lesquelles le NGS est réalisé dans le cadre d'un dépistage néonatal ;
- les études qui incluaient des sujets ayant eu un diagnostic génétique antérieur ou un traitement antérieur ;
- les études disponibles sous forme de résumé uniquement ;
- les lettres et les publications éditoriales ainsi que les études sur des modèles animaux.

Les recommandations émises par les diverses sociétés savantes nationales et internationales ont également été recherchées afin de disposer d'une vision la plus complète possible des pratiques actuelles en matière de gènes pertinents à inclure dans un panel de NGS pour le diagnostic de la tyrosinémie de type 1.

6.4.2. Résultats de la sélection de la littérature

6.4.2.1. Sélection des études

La stratégie de recherche a permis d'identifier un total de trois articles.

Ces trois articles ont été exclus après examen du titre et du résumé car ils ne répondaient pas aux critères de sélection cités dans la partie 5.4.1 (cf. figure 4).

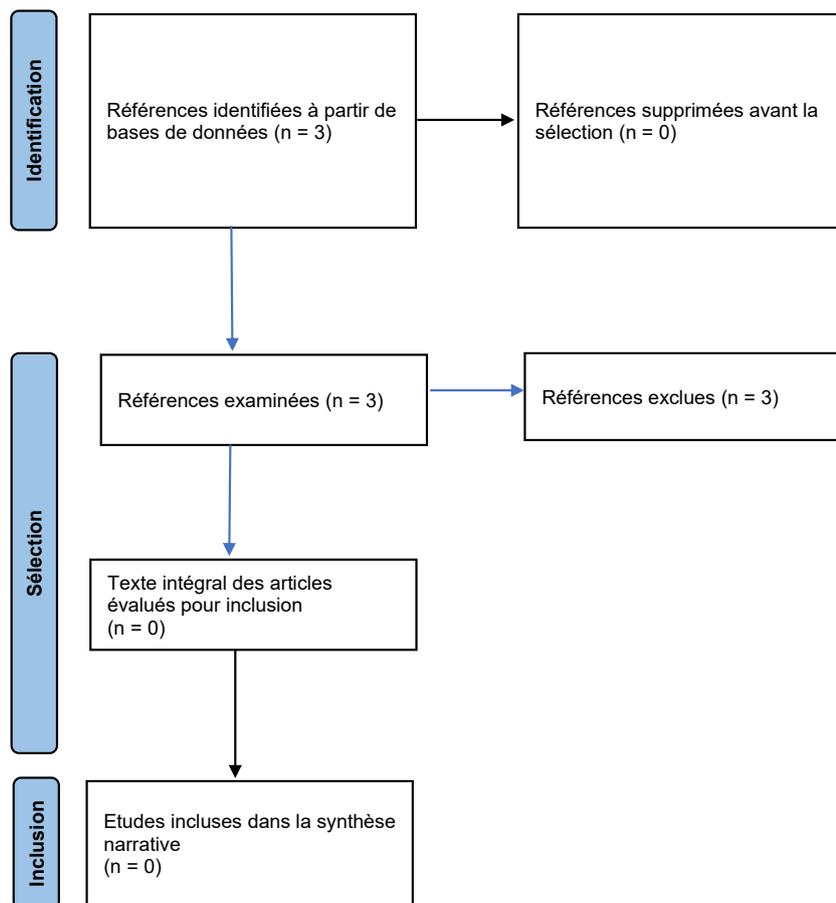


Figure 4. Organigramme PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et la tyrosinémie de type 1

Par conséquent, seules les recommandations du **PNDS** (6) et les informations fournies par **Gene-Reviews** (50) ont permis de répondre aux questions de l'évaluation.

6.4.3. Concordance des tests

Association entre gène et tyrosinémie de type 1

Au regard des informations fournies par ClinGen, l'association entre le gène *FAH* et la tyrosinémie de type 1 est considérée comme définitive.

Il est ainsi considéré comme pertinent de séquencer un gène unique à savoir le gène *FAH* dans la tyrosinémie de type 1.

Les données disponibles ne permettent pas d'évaluer la concordance des tests NGS et Sanger pour le diagnostic de la tyrosinémie de type 1.

6.5. Conclusion

Les réponses sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 18. Résumé des réponses aux questions de l'évaluation de la tyrosinémie de type 1

Les résultats du NGS ciblant les variants du gène <i>FAH</i> sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?	Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?
<p>L'analyse des faits publiés n'a pas permis d'évaluer les performances diagnostiques de NGS et celles du séquençage Sanger dans la tyrosinémie de type 1. Toutefois, selon GeneReviews, le diagnostic de la tyrosinémie de type 1 peut être établi directement par l'identification de variants pathogènes bi-alléliques de la <i>FAH</i> par NGS.</p> <p>Cela indique que NGS serait au moins aussi performant que la méthode Sanger pour l'analyse moléculaire du gène <i>FAH</i>.</p>	<p>L'analyse des faits publiés, du PNDIS et de GeneReviews n'a pas permis d'identifier les avantages de NGS par rapport au séquençage Sanger dans la tyrosinémie de type 1.</p>

7. Homocystinurie par déficit en cystathionine- β -synthase (CBS)

7.1. Contexte

L'homocystinurie par déficit en cystathionine- β -synthase (CBS) est une anomalie rare du catabolisme de la méthionine, entraînant une accumulation toxique d'homocystéine, ce qui augmente le risque de thromboses veineuses et artérielles et provoque des atteintes neurocognitives (ex. troubles du neuro-développement).

La carence en cystéine contribue aux problèmes ostéoarticulaires (hyperlaxité, phénotype marfanoïde, déformations squelettiques et ostéopénie) et à la luxation du cristallin (4).

7.1.1. Stratégie diagnostique

La stratégie diagnostique présentée ici est celle qui est établie dans le PNDS (4) pour guider la prise en charge des patients atteints d'homocystinurie due à un déficit en cystathionine- β -synthase (CBS).

Le PNDS s'appuie notamment sur les recommandations de :

- Morris *et al.*, 2017 (52) : l'élaboration de ces recommandations pour le diagnostic et le traitement de l'homocystinurie par déficit en CBS s'est faite selon une approche rigoureuse et standardisée, adaptée au contexte clinique. Il s'agit d'un guide destiné aux professionnels de santé dont la méthodologie s'appuie sur un processus structuré de développement impliquant l'intervention d'un groupe d'experts multidisciplinaires au sein du Réseau européen E-HOD (registre des homocystinuries et défauts de méthylation). Après une première réunion méthodologique, une revue systématique de la littérature a été réalisée pour répondre aux questions identifiées par le groupe de travail, en suivant le modèle d'évaluation des preuves du *Scottish Intercollegiate Guideline Network* (SIGN). Ce processus a permis de classer les niveaux de preuve et d'attribuer des grades de recommandation selon les niveaux de preuve identifiés. Des révisions successives enrichies des retours d'experts externes et de représentants de patients ont permis de renforcer la pertinence de ces recommandations.
- Chabrol *et al.*, 2018 (49) : il s'agit de recommandations qui ont été élaborées par la filière de santé maladies rare G2M, selon une méthodologie impliquant un groupe de travail multidisciplinaire, composé de médecins et diététiciens, ayant pour objectif d'examiner et de structurer la transition des soins entre l'enfance et l'âge adulte. Ce groupe, réuni à plusieurs reprises, a notamment fondé ses analyses sur une revue de la littérature et des recommandations internationales. Les recommandations élaborées ont ensuite été validées par un pédiatre externe au groupe de travail et des représentants de patients pour assurer leur pertinence et leur applicabilité.
- Les travaux de Sacharow *et al.*, 2004 (53), présentés dans GeneReviews, qui seront également utilisés pour détailler les aspects diagnostiques décrits dans ce rapport.

7.1.1.1. Présentation clinique

La sévérité de la forme clinique de l'homocystinurie par déficit en cystathionine- β -synthase (CBS) est déterminée par le caractère répondeur ou non au test à la vitamine B6. Ce test offre la possibilité de distinguer les quatre phénotypes suivants :

- **patients non sensibles (NS)** : lorsque la concentration d'homocystéine totale plasmatique (Hcyt) diminue de moins de 20 % par rapport à la valeur moyenne avant traitement ;
- **patients partiellement sensibles (PS)** : lorsque la concentration d'Hcyt diminue de plus de 20 % par rapport à ladite valeur et sans atteindre un niveau < 50 µmol/L ;
- **patients sensibles (S)** : lorsque la concentration d'Hcyt est < 50 µmol/L à la fin du test de sensibilité à la vitamine B6 ;
- **patients très sensibles (TS)** : lorsque la concentration d'Hcyt reste < 50 µmol/L avec une posologie de vitamine B6 < 1 mg/kg/j.

Les données les plus récentes issues du registre européen pour les homocystinuries et les défauts de méthylation E-HOD³⁰ montrent que la majorité des patients sont non sensibles (62 %), suivis des partiellement sensibles (20 %), des sensibles (11 %) et des très sensibles (6 %). La proportion de patients S ou TS pourrait être sous-estimée en raison de leur faible symptomatologie.

Les différentes formes cliniques

➔ **Formes sévères : patients non sensibles (NS) à la vitamine B6.**

Elles se manifestent par des atteintes :

- **ophtalmologiques** : la luxation ou subluxation du cristallin est évocatrice d'une homocystinurie ou d'un syndrome de Marfan (aspect en « coucher de soleil »). En l'absence de diagnostic et de traitement, cette manifestation touche la moitié des enfants de 8 ans et est présente chez 78 % des patients NS au moment du diagnostic. Elle peut être précédée d'une myopie progressive ;
- **neurologiques** : une déficience intellectuelle apparaît en général après l'âge de 2 ans. En l'absence de traitement, près de 90 % des patients non sensibles à la pyridoxine présentent des difficultés d'apprentissage. Dans le registre E-HOD, il est indiqué que 53 % des patients ont un trouble du neurodéveloppement et 20 % souffrent d'épilepsie ;
- **psychiatriques et comportementales** : ces atteintes sont courantes dans un peu plus de la moitié des cas, selon Bashir *et al.* (2015), et dans 11 % des cas du registre E-HOD. Les symptômes apparaissent souvent à partir de l'adolescence (troubles de la personnalité, syndrome anxio-dépressif, épisodes psychotiques) et ces troubles sont très fréquents chez les adultes ;
- **squelettiques** : ces atteintes sont présentes dans plus de la moitié des cas, il s'agit d'un morphotype marfanoïde, des déformations osseuses (*genu valgum*, pied creux, cyphose, scoliose), une ostéoporose et parfois un palais ogival ou des dents mal implantées ;
- **vasculaires** : les thromboses artérielles et veineuses sont la principale cause de morbidité et de mortalité. Les thromboses veineuses sont plus fréquentes à l'âge adulte et peuvent toucher n'importe quelle partie du corps. Au diagnostic, 26 % des patients NS ont déjà eu un événement thrombotique.

Selon le registre E-HOD, l'âge médian des premiers symptômes est de 4,4 ans et le diagnostic est fait en moyenne à 7 ans, le délai de diagnostic médian étant de 2,6 ans. Au diagnostic, 87,5 % des patients ont des complications ophtalmologiques, 64 % des troubles neurologiques, 11 % des troubles psychiatriques, 60 % des anomalies squelettiques et 27 % des complications thromboemboliques.

Sans traitement, la maladie progresse et le risque de séquelles augmente. Un dépistage néonatal est proposé dans plusieurs pays et a été mis en place en France en janvier 2023 (réf. www.depistage-neonatal.fr/homocystinurie-2-2/).

³⁰ European Network and Registry for Homocystinurias and Methylation Defects.

→ **Formes de sévérité intermédiaire : patients partiellement sensibles à la vitamine B6**

Comme pour les formes NS, ces patients présentent souvent une atteinte oculaire et neurologique de moindre sévérité. Les atteintes squelettiques diminuent avec l'augmentation de la sensibilité à la vitamine B6.

L'âge médian des premiers symptômes est de 7,4 ans et celui du diagnostic est de 14 ans.

Les signes cliniques au diagnostic sont les troubles oculaires (93 %), neurologiques (45 %), psychiatriques (18 %), squelettiques (46 %) et thromboemboliques (39 %) (registre E-HOD).

→ Formes **sensibles et très sensibles à la vitamine B6 révélées à l'âge adulte par une thrombose**

- Les déficits en CBS apparaissent à l'adolescence ou à l'âge adulte et concernent principalement les formes cliniques sensibles à la vitamine B6.
- L'âge au diagnostic est de 21 ans chez les patients sensibles et de 36 ans chez les patients très sensibles (TS). Cette population est probablement sous-diagnostiquée.
- Les manifestations thromboemboliques sont inaugurales chez environ 50 % des patients sensibles et 75 % des patients très sensibles, touchant principalement le système veineux (thrombose profonde, embolie pulmonaire, AVC par thrombose veineuse).
- L'atteinte oculaire est fréquente (76 % des patients sensibles, 27 % des patients très sensibles).
- Les anomalies squelettiques sont moins courantes et les atteintes neurologiques sont quasi absentes chez les patients très sensibles.

7.1.1.2. Pronostic

Sans traitement, le pronostic des patients atteints de déficit en CBS est défavorable car environ un quart d'entre eux décèdent avant 30 ans à cause de complications thromboemboliques.

Le risque relatif de ces complications est vingt fois plus élevé chez les jeunes adultes et mille fois plus élevé chez les enfants par rapport à la population générale. Toutefois, quel que soit l'âge, il est difficile de prédire le moment de survenue des complications car les concentrations d'Hcyt sont souvent similaires.

Un traitement précoce, idéalement dès le dépistage néonatal, prévient les complications et assure un développement neurocognitif normal. Pour les patients traités plus tardivement, le risque vasculaire diminue en fonction de la réduction des taux d'Hcyt bien que le pronostic reste moins favorable.

7.1.1.3. Diagnostic différentiel

Le **dosage de l'Hcyt plasmatique** joue un rôle majeur dans l'identification du déficit en CBS en différenciant cette pathologie d'autres maladies génétiques aux symptômes similaires comme le syndrome de Marfan.

Dans des cas de troubles neuropsychiatriques inexpliqués ou en cas de bilan de thrombophilie, notamment pour les thromboses graves et récidivantes, le dosage de l'Hcyt doit être envisagé pour détecter un éventuel déficit en CBS.

7.1.1.4. Dosage de l'homocystéine plasmatique et examens biochimiques

- Le diagnostic du déficit en CBS repose principalement sur la mise en évidence d'une hyperhomocystéinémie sévère supérieure à 100 $\mu\text{mol/L}$, (mesurée par chromatographie des acides aminés plasmatiques effectuée à jeun), généralement associée à :
 - une concentration de méthionine plasmatique élevée (>350 $\mu\text{mol/L}$) ;

- une détection d'homocystine libre et de complexes mixtes disulfures (cystéine-homocystéine) ;
- une faible concentration de cystine ($< 100 \mu\text{mol/L}$) ;
- des taux normaux d'acide méthylmalonique et de vitamines (folates, B12).

➔ Le profil métabolique plasmatique peut varier dans certains cas :

- concentration d'Hcyt inférieure à $100 \mu\text{mol/L}$: les formes sensibles ou très sensibles à la vitamine B6 peuvent présenter des concentrations intermédiaires ($30\text{-}100 \mu\text{mol/L}$) ;
- concentration de méthionine normale : mais le rapport méthionine/cystathionine qui est anormalement élevé aide au diagnostic ;
- l'homocystine libre n'est pas détectée par chromatographie des acides aminés lorsque les concentrations d'Hcyt sont inférieures à $80 \mu\text{mol/L}$.

➔ Une hyperhomocystéinémie sévère ($\text{Hcyt} > 100 \mu\text{mol/L}$) ou intermédiaire ($\text{Hcyt} 30\text{-}100 \mu\text{mol/L}$) peut se rencontrer dans d'autres pathologies acquises ou innées qui doivent être exclues.

Les pathologies acquises sont :

- l'insuffisance rénale chronique ;
- les carences en vitamine B12 (par apport insuffisant ou malabsorption) ;
- les carences en folates (situation d'exogénose avec majoration de l'hyperhomocystéinémie chez les patients ayant une carence en folates et qui sont porteurs du variant thermolabile MTHFR C677T (rs1801133) à l'état homozygote) ;
- les néoplasies traitées par chimiothérapie antifolique ;
- les causes iatrogènes (la metformine, les inhibiteurs de pompe à protons ou l'exposition excessive au protoxyde d'azote).

Le diagnostic différentiel de ces pathologies repose sur l'évaluation clinique et des tests spécifiques : dosages vitaminiques, holotranscobalamine, acide méthylmalonique et anticorps (antifacteur intrinsèque, anticellules pariétales, antitransglutaminase). Une endoscopie avec biopsies est réalisée pour rechercher une gastrite atrophique ou une atrophie villositaire.

Le variant thermolabile MTHFR C677T peut causer une hyperhomocystéinémie significative en cas de carence en folates. Sa recherche est justifiée en l'absence d'autres causes identifiées.

Les pathologies innées dues à divers déficits :

- **Hyperhomocystéinémies isolées :**
 - Déficiences de la voie de reméthylation de l'homocystéine : déficit en MTHFR (gène *MTHFR*), déficit du métabolisme intracellulaire de la cobalamine de type cblD-Hcy (gène *MMACHD*), déficit en méthionine synthase (cblG, MTR) ou méthionine synthase réductase (cblE, MTRR). Ces déficits sont associés à une diminution de la concentration en méthionine.
 - Malabsorption héréditaire des folates : déficit en transporteur (PCFT, SLC46A1).
- **Hyperhomocystéinémies avec acidurie/acidémie méthylmalonique :**
 - Déficiences du métabolisme intracellulaire des cobalamines : déficit de type cblC (gène *MMACHC*), déficit cblD (gène *MMACHD*), déficit en transcobalamine (gène *TCN2*) et les rares déficits cblF (gène *LMDR1*), cblX (gène *HCFC1*), cblJ (gène *ABCD4*) et PRDX1. Tous sont associés à une concentration de méthionine basse et à une concentration d'acide méthylmalonique (AMM) élevée.
- **Malabsorption héréditaire en vitamine B12 :**

- Déficit en facteur intrinsèque (cbIF anciennement GIF) et maladie d'Imerslund-Gräsbeck (gènes *CUBN* et *AMN*).
- **Déficits de la voie de la transsulfuration :**
 - Le rare déficit en cystathionine gamma-lyase varie de formes asymptomatiques à sévères, il peut être associé à une hausse modérée d'homocystéine et d'excrétion de cystathionine.
- **Hyperhomocystéinémies modérées associées à des hyperméthioninémies majeures :**
 - Les déficits en adénosine kinase (ADK) et MATI/III (gène *MAT1*) se caractérisent par des concentrations de méthionine très élevées et des hyperhomocystéinémies modérées dans de rares cas.

7.1.1.5. Analyse moléculaire du gène *CBS*

- ➔ **Selon le PNDS (4)**, le diagnostic est confirmé par l'identification de mutations bi-alléliques dans le gène *CBS*.
 - Le déficit en *CBS* est une maladie génétique de transmission autosomique récessive. L'analyse moléculaire du gène *CBS* doit être réalisée sur le cas index et chez les parents par séquençage Sanger ou sur panel de gènes par NGS.
 - L'analyse moléculaire sert à préciser la sensibilité à la vitamine B6 à la suite des mutations identifiées en tenant compte des informations disponibles dans la littérature.
 - Actuellement, 200 variants pathogènes sont recensés. Certains, tels que c.919G>A (p.Gly307Ser), c.572C>T (p.Thr191Met) et c.1006C>T (p.Arg336Cys), sont associés à des formes sévères non sensibles à la vitamine B6 lorsqu'ils sont présents à l'état homozygote.
 - La mutation c.833T>C (p.Ile278Thr), fréquente en Europe, est à l'origine d'un phénotype modéré sensible à la vitamine B6 à l'état homozygote. Les hétérozygotes pour ce variant présentent généralement une sensibilité intermédiaire à la vitamine B6.
 - Toutefois, les corrélations génotype-phénotype sont difficiles à établir, notamment pour les hétérozygotes composites.
 - Le test de sensibilité à la vitamine B6 reste déterminant.
- ➔ Selon GeneReviews (53), le diagnostic génétique du déficit en *CBS* repose sur des tests ciblant soit un gène unique, soit un panel de gènes.
 - Test ciblé sur un seul gène :
 - analyse de la séquence du gène *CBS* : première étape pour détecter la majorité des variants pathogènes. La sensibilité est de 95-98 % ;
 - analyse des délétions/duplications spécifiques du gène *CBS* par PCR, MLPA ou *microarray* : elle est utilisée lorsqu'un ou aucun variant pathogène n'est détecté par la première méthode. Toutefois, cette analyse détecte moins de 5 % des cas.
 - Test ciblé sur plusieurs gènes :
 - un panel multigénique comprenant le gène *CBS* et d'autres gènes d'intérêts peut être envisagé. Il s'agit de gènes impliqués dans d'autres maladies qui présentent des concentrations élevées d'homocystéine ou de méthionine, à savoir les gènes *MAT1*, *GNMT*, *AHCY*, *MTHFR*, *MMACHC*, *MTR*, *MTRR*, *FAH* et *GALT* ;
 - en ce qui concerne la composition des panels incluant le gène *CBS* et d'autres gènes pertinents, GeneReviews (53) rapporte que :
 - cette composition et la précision des tests varient selon les laboratoires ;

- le choix d'un panel adapté est important pour éviter les variants de signification inconnue ou non pertinents ;
- certains laboratoires proposent des analyses de panels ou d'exomes ciblées pour des diagnostics précis ;
- les méthodes d'analyse comprennent par ex. le séquençage ou l'analyse de délétion/duplication.

6.1.1.6. Analyse enzymatique

Cette analyse n'est pas réalisée en routine.

Elle peut être réalisée lorsque l'analyse moléculaire ne fournit pas de résultats concluants ou pour évaluer l'impact sur l'activité enzymatique de variants de signification inconnue, notamment dans les phénotypes modérés sensibles à la vitamine B6 ou lorsqu'un seul variant est détecté.

6.1.1.7. Diagnostic prénatal

Pour les couples à risque, un diagnostic prénatal (DPN) ou un diagnostic préimplantatoire par étude génétique peuvent être proposés, à condition que les deux variants pathogènes du gène *CBS* aient été préalablement identifiées chez le cas index.

Le DPN par analyse moléculaire reste la méthode de choix, recherchant les mutations familiales dans l'ADN fœtal prélevé à partir des villosités chorales (à partir de 11 SA) ou du liquide amniotique (à partir de 15 SA). L'accès au DPN³¹/DPI³² moléculaire nécessite un diagnostic génétique informatif préalable et est strictement encadré (L2131-1, arrêté du 18 juin 2024). Ce cadre régit les modalités d'accès, la prise en charge des femmes enceintes et des couples ainsi que le fonctionnement des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN).

Il convient de distinguer faisabilité (informativité du test génétique) et indication à un DPN/DPI. Cette dernière relève de la décision du CPDPN en réunion pluridisciplinaire.

7.1.2. Stratégie thérapeutique

Les principaux aspects de la stratégie thérapeutique du déficit en CBS décrite dans le PNDS (4) ont été résumés de façon concise afin de mettre en avant les informations indispensables à retenir.

Le traitement médicamenteux et la prise en charge diététique visent à prévenir les complications et assurent un équilibre métabolique ainsi qu'un développement normal.

7.1.2.1. Traitement médicamenteux

Objectifs du traitement

L'objectif principal du traitement est de prévenir les complications du déficit en CBS tout en maintenant une croissance normale.

- **Chez les patients diagnostiqués précocement** grâce au dépistage néonatal, une bonne observance prévient l'ectopie du cristallin, l'ostéoporose, les événements thromboemboliques ainsi qu'un développement cognitif normal.
- **Pour les patients diagnostiqués plus tardivement**, le traitement vise à empêcher de nouvelles complications, dont les thromboses, et à améliorer ou stabiliser les fonctions cognitives et comportementales.

³¹ Le diagnostic prénatal ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

³² Le diagnostic préimplantatoire ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

- La pyridoxine (vitamine B6) est le cofacteur de l'enzyme CBS. La sensibilité des patients à cette vitamine doit être testée sauf en cas d'urgence (ex. thrombose sévère) où un traitement vitaminique et diététique est immédiatement instauré.

Traitement au long cours par pyridoxine

L'objectif du traitement par pyridoxine est de maintenir la concentration d'homocystéine totale plasmatique à un taux proche de la valeur normale avec une dose de pyridoxine qui doit être la plus faible possible.

- Patients sensibles (S) : 2 à 5 mg/kg/jour (jusqu'à 200 mg/jour chez l'adulte).
- Patients très sensibles (TS) : des doses inférieures à 1 mg/kg/jour peuvent suffire.
- Patients partiellement sensibles (PS) : ils ont besoin de doses plus élevées (jusqu'à 10 mg/kg/jour) et d'un traitement supplémentaire (régime hypoprotidique et/ou bétaïne).
- Patients non sensibles (NS) : chez ces patients, il n'y a pas de preuve d'un bénéfice à long terme du traitement par pyridoxine.

La surveillance des effets indésirables : il existe un risque élevé de neuropathie périphérique pour des doses de pyridoxine supérieures à 900 mg/jour. Toutefois, ce risque n'a pas été observé à des doses inférieures à 500 mg/jour.

Supplémentation en vitamines B12 et B9 (folates)

Les patients atteints de déficit en CBS présentent des carences en folates et en vitamine B12 qui peuvent être dues à une augmentation de leur consommation par la voie de reméthylation ou à un apport insuffisant lié au régime hypoprotidique strict. Il est recommandé de leur fournir une supplémentation en folates à faible dose souvent proposée dans les mélanges d'acides aminés sans méthionine. La concentration de vitamine B12 et de folates doit être surveillée régulièrement et une supplémentation doit être proposée en cas de carence.

Traitement par bétaïne

- La bétaïne est utilisée pour diminuer les concentrations d'homocystéine en complément du régime alimentaire chez les non sensibles à la pyridoxine ou avec la pyridoxine pour les sujets partiellement sensibles.
- Les doses doivent être ajustées individuellement pour maintenir l'homocystéine à un niveau bas et la méthionine en dessous de 800-900 $\mu\text{mol/L}$ dans le but de prévenir des complications neurologiques.
- Chez les enfants, la dose recommandée est de 100 à 150 mg/kg en deux prises quotidiennes et chez les adultes, 3 g deux fois par jour.

Rôle de la cystéine

- La cystéine, synthétisée à partir de l'homocystéine, est un acide aminé essentiel dans le déficit en CBS. Son déficit peut contribuer à la pathogénie du déficit en CBS comme la luxation du cristallin.
- La cystéine est souvent présente dans les mélanges d'acides aminés sans méthionine et parfois en quantité insuffisante. Le traitement vise à maintenir une concentration plasmatique de cystéine dans les valeurs de référence justifiant éventuellement une supplémentation.

Place des antiagrégants et anticoagulants

Il n'y a pas de recommandation pour un traitement anticoagulant curatif avant une thrombose. Toutefois, une prophylaxie est nécessaire en cas de risque thrombotique accru et un traitement antiagrégant peut être envisagé en prévention primaire.

7.1.2.2. Prise en charge diététique

- Le régime diététique est proposé lorsque les taux d'homocystéine ne sont pas contrôlés par la pyridoxine seule, il vise à maintenir les taux d'Hcyt aussi bas que possible (inférieur à 100 µmol/L) afin d'assurer une croissance normale.
- Pour les patients non sensibles à la pyridoxine il est proposé un régime hypoprotidique strict
- Pour les patients partiellement sensibles, ce régime est moins restrictif et il est adapté individuellement.

7.2. Justification de l'utilisation des tests génétiques

- ➔ La stratégie diagnostique et thérapeutique de l'homocystinurie par déficit en CBS décrite dans le PND (4) mentionne que
 - le séquençage du gène *CBS* par Sanger ou par NGS sur panel de gènes sert à confirmer le diagnostic et à identifier les variants pathogènes qui sont responsables de la maladie ;
 - l'analyse génétique permet également de préciser la sensibilité des patients à la vitamine B6. En effet, certaines mutations du gène *CBS* sont associées à une réponse partielle ou inexistante à la vitamine B6. Par exemple, les patients porteurs de c.1006C>T (p.Arg336Cys) ont une mutation qui est associée à des formes sévères non sensibles à la vitamine B6 (pour un état homozygote) et pourraient ainsi bénéficier d'un régime hypoprotidique ou de bêtaïne.
- ➔ Au regard des informations fournies par le PND (4) et GeneReviews (53),
 - pour les patients présentant des symptômes qui évoquent un homocystinurie par déficit en CBS mais dont les mutations dans le gène *CBS* ne sont pas confirmées, un panel élargi confirmerait le diagnostic de l'homocystinurie par déficit en CBS et écarterait d'autres maladies métaboliques (cf. chapitre 6.1.1.4, pathologies innées) à savoir :
 - le déficit en MTHFR (gène *MTHFR*), déficit du métabolisme intracellulaire de la cobalamine de type cblD-Hcy (gène *MMACHD*), déficit en méthionine synthase (cblG, MTR) ou méthionine synthase réductase (cblE, MTRR), déficit en transporteur (PCFT, SLC46A1), déficit de type cblC (gène *MMACHC*), déficit cblD (gène *MMACHD*), déficit en transcobalamine (gène *TCN2*) et les rares déficits cblF (gène *LMDR1*), cblX (gène *HCFC1*), cblJ (gène *ABCD4*) et PRDX1, déficit en facteur intrinsèque (cblF anciennement GIF) et maladie d'Imerslund-Gräsbeck (gènes *CUBN* et *AMN*) et les déficits en adénosine kinase (ADK) et MATI/III (gène *MAT1*).

7.3. Questions de l'évaluation et critères de sélection de la littérature

Question 1 : Les résultats du NGS ciblant les variants du gène *CBS* sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?

Question 2 : Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?

Pour répondre à ces questions, des critères structurés dans le résumé PICOS³³ ont été définis. Ces critères ont permis de guider la sélection et l'analyse des publications scientifiques identifiées par la recherche systématique (tableau 19).

Tableau 19. Critères PICOS – homocystinurie par déficit en CBS

Population	Adultes et enfants suspectés d'être atteints d'homocystinurie ou à défaut déjà atteints d'homocystinurie par déficit en CBS
Test index	Séquençage haut débit (NGS) ciblant les variants du gène CBS
Comparateurs	Test moléculaire monogénique : Sanger
Outcomes	Pourcentage de concordance positive de NGS ciblant CBS et Sanger. Il existe une concordance positive des deux tests lorsque ceux-ci détectent les mêmes variants pour les mêmes patients.
Schémas d'études	<ul style="list-style-type: none"> – Littérature synthétique : rapports d'évaluation technologique, revues systématiques avec ou sans méta-analyse, ou à défaut, études de stratégie diagnostique. – Recommandations de bonnes pratiques.

7.4. Analyse de la littérature

7.4.1. Critères de sélection de la littérature

- ➔ L'équation de recherche a été axée sur le gène CBS afin de cibler précisément les études sur le diagnostic de l'homocystinurie par déficit en CBS.

Les publications dont l'objectif était l'évaluation du NGS pour la détection de variants du gène CBS ont été recherchées (la stratégie de recherche est décrite en annexe 1).

a). Elles devaient répondre **aux critères d'inclusion** suivants :

- rapports d'évaluation technologique, revues systématiques et/ou méta-analyses, études observationnelles, transversales, de cohorte, cas-témoins, séries de cas ou rapports de cas ;
- études incluant des sujets suspectés d'être atteints d'homocystinurie par déficit en CBS ou, à défaut, ceux pour qui le diagnostic clinico-biochimique a été précédemment établi ;
- études évaluant en période postnatale les méthodes NGS seules ou en complémentarité avec d'autres méthodes si celles-ci peuvent être distinguées du NGS ;
- études considérant le séquençage Sanger comme méthode de confirmation ;
- études rapportant au moins un résultat d'intérêt (cf. outcomes, tableau 19) ;
- études publiées en anglais ;
- articles en texte intégral.

b). Ont été exclues de l'analyse

- les études qui reproduisaient ou confirmaient les résultats du NGS à l'aide d'une autre méthode que la méthode Sanger ;
- les études qui incluaient des sujets ayant eu un diagnostic génétique antérieur ou un traitement antérieur ;
- les études dans lesquelles le NGS est réalisé dans le cadre d'un dépistage néonatal ;
- les études disponibles sous forme de résumé uniquement ;

³³ PICOS : *Population, Intervention (test index), Comparateur, Outcomes, Schémas d'études.*

- les lettres et les publications éditoriales ainsi que les études sur des modèles animaux.

Les recommandations émises par les diverses sociétés savantes nationales et internationales ont également été recherchées afin de disposer d'une vision la plus complète possible des pratiques actuelles en matière de gènes pertinents à inclure dans un panel NGS pour le diagnostic de l'homocystinurie par déficit en CBS.

7.4.2. Résultats de la sélection de la littérature

7.4.2.1. Sélection des études

La stratégie de recherche a permis d'identifier un total d'onze articles. Ces onze articles ont été exclus après examen du titre et du résumé car ils ne répondaient pas aux critères de sélection cités dans la partie 6.4.1 (cf. figure 5).

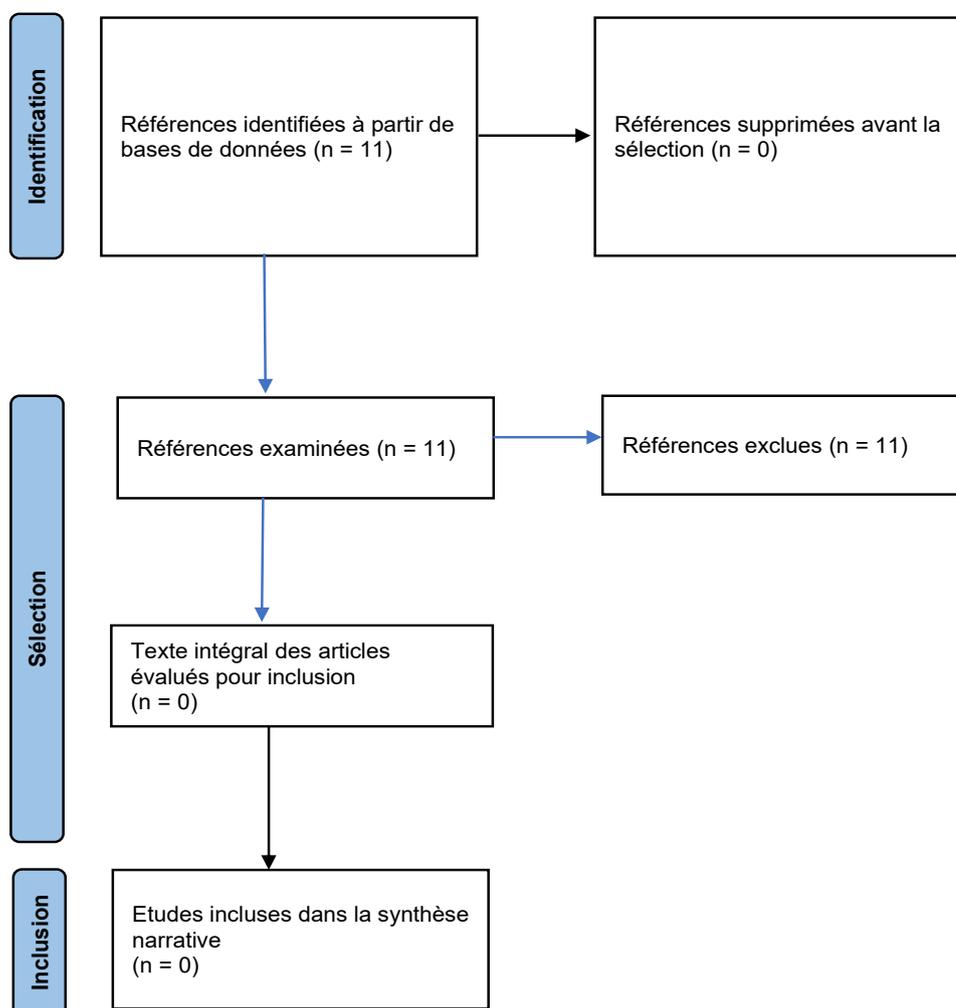


Figure 5. Organigramme PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) de la recherche documentaire sur la technologie NGS et l'homocystinurie par déficit en CBS

Par conséquent, seules les recommandations du **PNDS** (4) et les informations fournies par **GeneReviews** (53) ont permis de répondre aux questions de l'évaluation.

7.4.3. Concordance des tests

Association entre gène et homocystinurie par déficit en CBS

Au regard des informations fournies par ClinGen, l'association entre le gène *CBS* et l'homocystinurie par déficit en CBS est considérée comme définitive car le rôle de ce gène a été démontré à plusieurs reprises dans le cadre de la recherche et du diagnostic clinique (31). Il est ainsi considéré comme pertinent de séquencer le gène unique *CBS* dans l'homocystinurie par déficit en CBS.

Les données disponibles ne permettent pas d'évaluer la concordance des tests NGS et Sanger pour le diagnostic de l'homocystinurie par déficit en CBS.

7.5. Conclusion

Les réponses sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 20. Réponses aux questions de l'évaluation de l'homocystinurie par déficit en CBS

Les résultats du NGS ciblant les variants du gène <i>CBS</i> sont-ils concordants avec ceux obtenus par le séquençage Sanger ?	Quels sont les avantages du NGS par rapport au séquençage Sanger ?
<p>L'analyse des faits publiés n'a pas permis d'évaluer les performances diagnostiques de NGS et celles du séquençage Sanger dans l'homocystinurie par déficit en CBS. Toutefois, selon le PNDS, l'analyse moléculaire du gène <i>CBS</i> doit être effectuée sur le trio (cas index et parents) par méthode Sanger ou sur panel de gènes par NGS.</p> <p>Cela indique que NGS serait au moins aussi performant que la méthode Sanger pour l'analyse moléculaire du gène <i>CBS</i>.</p>	<p>L'analyse des faits publiés n'a pas permis d'identifier les avantages de NGS par rapport au séquençage Sanger dans l'homocystinurie par déficit en CBS.</p> <p>Toutefois, selon le PNDS et GeneReviews, NGS permet de séquencer simultanément le gène <i>CBS</i> ainsi que plusieurs autres gènes potentiellement impliqués dans des maladies métaboliques similaires.</p> <ul style="list-style-type: none">- Cela indique qu'en une seule analyse, NGS permettrait d'identifier les variants responsables de l'homocystinurie par déficit en CBS et écarter les métaboliques similaires.- Cela indique que NGS permettrait une analyse génétique plus rapide que la méthode Sanger si plusieurs gènes devaient être séquencés.

8. Enjeux organisationnels

L'intégration des panels NGS dans la pratique clinique nécessiterait une réorganisation des laboratoires de diagnostic moléculaire pour répondre aux exigences de cette technologie qui demande de disposer :

- d'équipements capables de garantir une profondeur de séquençage suffisante et une couverture génétique étendue ;
- d'une expertise en bio-informatique pour l'interprétation des résultats. Les professionnels de santé devraient être formés à cette technologie pour garantir une interprétation correcte des données génétiques, en conformité avec les recommandations internationales (14).

9. Position des professionnels de santé

9.1. Concernant le rapport dans son ensemble

Dans l'ensemble, les experts considèrent que le rapport est clair. Toutefois, un expert généticien rappelle la complexité des aminoacidopathies et la diversité des mutations génétiques qui leur sont associées. Il a été rappelé par l'expert qu'une tentative de lister de manière exhaustive les mutations dites pertinentes représenterait un travail colossal, dépassant largement le cadre et les objectifs de ce rapport.

Ainsi, la HAS décide de retirer cette section afin d'éviter tout risque de simplification excessive ou de restriction interprétative des variants à l'origine des aminoacidopathies. Le rapport conservera son orientation principale, à savoir l'évaluation des panels de gènes pertinents et de la pertinence d'utiliser la technologie NGS dans la pratique clinique, en s'appuyant sur les données issues de la littérature récente et des recommandations PNDS.

Un second expert généticien propose que soit remplacé le terme « mutation », jugé imprécis et susceptible d'induire des erreurs d'appréciation par le terme « variant » qui peut être accompagné, si nécessaire, de son caractère : pathogène, probablement pathogène, de signification inconnue, bénin, probablement bénin.

Un expert neurologue suggère de préciser dans la partie contexte du rapport la description clinique des troubles du cycle de l'urée, de la leucinoïse et du déficit en CBS. Cet expert souhaite que soit précisée la réalité actuelle de la pratique diagnostique en France ainsi que les différences entre centres. Selon un expert généticien, la sélection bibliographique a parfaitement respecté les critères PICOS. Néanmoins, cet expert considère que l'utilisation des données montrant la concordance de NGS et Sanger pour d'autres maladies permettrait d'élargir la portée des conclusions.

Pour les éléments de contexte fournis dans le rapport, des précisions sont suggérées pour mieux situer l'usage du NGS dans la stratégie diagnostique actuelle. Il est proposé d'intégrer des éléments sur l'historique de son adoption dans la pratique, notamment après son inscription au RIHN.

Un expert souligne l'importance de maintenir une cohérence entre la composition des panels génétiques utilisés actuellement dans la pratique et les panels à recommander afin de garantir une couverture exhaustive et éviter un découpage en plus petits panels pouvant rallonger les délais diagnostiques.

Il est mentionné à quelques reprises par les experts que la comparaison entre le NGS et le séquençage Sanger est aujourd'hui moins pertinente dans la mesure où l'utilisation des panels de gènes est déjà bien intégrée dans la pratique courante.

9.2. Concernant l'analyse de la littérature

Un expert généticien évoque la difficulté d'établir un recueil exhaustif des études disponibles sur les aminoacidopathies. Il précise cependant qu'une sélection plus large « *ne changerait sans doute pas le résultat final car il y a plutôt un consensus sur le sujet* ». Le second expert généticien souligne qu'une publication sur la leucinoïse n'a pas été identifiée par la recherche bibliographique et pourrait être ajoutée à cette analyse.

Cette publication (47) a été analysée par la HAS qui considère que son inclusion dans l'analyse des faits publiés est pleinement justifiée car sa méthodologie répond aux critères de sélection des études. En effet, dans cette étude le NGS est utilisé pour des panels ciblés (BCKDHA, BCKDHB et DBT) et est complété par un séquençage Sanger pour confirmer les variants introniques profonds et les nouveaux variants. Par ailleurs, cette publication illustre parfaitement les limites techniques de NGS rapportées par les experts dans le cadre de cette évaluation, à savoir l'identification de variants des régions introniques profondes ainsi que la détection des grandes délétions. De plus, cette étude propose une classification de variants selon les recommandations de l'ACMG et fournit des données sur un échantillon de patients (n = 18) permettant ainsi de compléter les données analysées dans ce rapport.

Les experts considèrent que les gènes les plus courants ont été bien pris en compte dans le rapport d'évaluation.

Les experts généticiens indiquent que d'autres aminoacidopathies plus rares, à savoir l'hyperglycinémie sans cétose, le déficit en sulfite oxydase et les défauts de synthèse de la sérine ou de la glutamine auraient pu figurer parmi la liste des aminoacidopathies étudiées dans le cadre de ce rapport. Le diagnostic de ces pathologies est « important pour la prise en charge du patient et de sa famille ».

La majorité des experts considère que le rapport met en évidence l'importance de l'analyse des panels NGS dans le diagnostic des aminoacidopathies. Toutefois, un expert généticien indique que les études sélectionnées concernent uniquement la comparaison entre NGS et Sanger pour des gènes associés aux aminoacidopathies. L'expert note que cette approche limite la généralisation des résultats. Selon lui, la sélection d'études sur d'autres pathologies aurait pu renforcer les conclusions sur la supériorité diagnostique du NGS par rapport au séquençage Sanger.

Conformément au périmètre défini à priori, la HAS a évalué l'intérêt du NGS par rapport au séquençage Sanger pour le diagnostic des aminoacidopathies les plus fréquentes à savoir la phénylcétonurie, des troubles du cycle de l'urée, de la leucine, de la tyrosinémie de type 1 et de l'homocystinurie par déficit en CBS. Les aminoacidopathies proposées par les experts pourraient faire l'objet d'une évaluation ultérieure.

9.3. Concernant les gènes à inclure dans les panels NGS

Pour être inclus dans un panel à visée diagnostique, un gène doit être associé de manière validée à une aminoacidopathie ou permettre un diagnostic différentiel à l'issue duquel la prise en charge thérapeutique est adaptée. Un expert généticien indique que le gène doit être rapporté dans des bases de référence reconnues (OMIM, PanelApp). Selon l'expert neurologue, l'inclusion de gènes rares dans les panels est à considérer.

La majorité des experts citent plusieurs bases de références utilisées en France pour déterminer le niveau d'association entre un gène et un phénotype. Les experts généticiens indiquent l'absence de bases gratuites parfaitement exhaustives. Les experts citent surtout des bases généralistes à savoir :

- HGMD (la plus complète mais payante) ;
- ClinVar (très utilisée mais non revue par les experts) ;

- OMIM (référencement des gènes impliqués en pathologie humaine et « renvoyant aux publications sources de la description de la pathologie associée » ;
- ClinGen ;
- l'un des experts généticiens cite également les bases Decipher, GnomAD et PanelApp.

Une base spécialisée, BioPKU (phénylcétonurie), est mentionnée par les experts généticiens.

La majorité des experts estime qu'un gène doit être inclus s'il présente une association au moins forte avec la maladie.

Les experts valident les gènes uniques à séquencer et les gènes à inclure dans les panels NGS proposés par la HAS. Néanmoins, ils suggèrent l'ajout de gènes impliqués dans des **formes rares** et dans le **diagnostic différentiel** des aminoacidopathies étudiées dans le cadre de cette évaluation.

Phénylcétonurie

Proposition initiale de la HAS de gènes uniques à séquencer et gènes à inclure dans un panel NGS :

- gène unique de la phénylcétonurie : *PAH* ;
- gène unique des hyperphénylalaninémies par déficit en *DNAJC12* : *DNAJC12* ;
- panel des hyperphénylalaninémies par déficit en BH4 : *PTS*, *GCH1*, *PCBD1* et *QDPR* ;
- panel des hyperphénylalaninémies : *PAH*, *PTS*, *GCH1*, *PCBD1*, *QDPR* et *DNAJC12*.

Toutefois, un expert généticien rappelle l'impossibilité de distinguer à priori un déficit en *PAH* et un déficit en *DNAJC12* en cas d'hyperphénylalaninémie modérée. C'est la raison pour laquelle cet expert suggère d'ajouter le gène *DNAJC12* dans le diagnostic moléculaire des hyperphénylalaninémies isolées. De plus, il est proposé d'inclure le gène *DNAJC12* dans les hyperphénylalaninémies par déficit en BH4 car celui-ci peut être impliqué dans des anomalies du métabolisme des ptérines chez certains patients.

Un expert pédiatre demande que le gène *SPR* soit ajouté dans le panel des déficits en BH4 car il semble avoir été omis (ce gène a en effet été rapporté dans l'analyse des faits publiés).

Après analyse complémentaire, la HAS indique que :

- *ClinGen associe de manière **définitive** le gène *SPR* avec la dystonie sensible à la dopa et l'inclut dans le panel des aminoacidopathies.*
- *PanelApp (England) associe le gène *SPR* selon un niveau élevé de preuves avec les troubles du métabolisme des ptérines.*
- *Orphanet mentionne le gène *SPR* comme appartenant aux troubles du métabolisme des ptérines.*

Ainsi, la HAS prend en compte la modification de la composition des panels proposée notamment par un expert généticien :

- *panel des hyperphénylalaninémies isolées (sans anomalies du métabolisme des ptérines) : *PAH*, *DNAJC12* ;*
 - *panel des hyperphénylalaninémies par déficit en BH4 : *PTS*, *GCH1*, *PCBD1*, *QDPR*, *SPR*, *DNAJC12* ;*
 - *panel des hyperphénylalaninémies : *PAH*, *PTS*, *GCH1*, *PCBD1*, *QDPR*, *SPR* et *DNAJC12* (mise à jour complète faite selon toutes les suggestions des experts).*
-

Troubles du cycle de l'urée

Proposition initiale de la HAS des gènes à inclure dans le panel NGS :

- Panel des troubles du cycle de l'urée : *OTC, ASS1, ASL, CPS1, SLC25A13, SLC7A7, NAGS, ARG1, SLC25A15.*

Ce panel initialement proposé par la HAS inclut les principaux gènes responsables des troubles du cycle de l'urée. Cependant, deux experts pédiatres suggèrent d'ajouter le gène *CA5A*, responsable d'hyperammoniémies néonatales qui sont des diagnostics différentiels des troubles du cycle de l'urée.

Après analyse complémentaire, la HAS indique que :

- *Le PNDS mentionne le gène CA5A comme responsable d'une anomalie apparentée aux troubles du cycle de l'urée.*
- *GeneReviews mentionne le gène CA5A pour le diagnostic différentiel.*
- *ClinGen associe de manière définitive le gène CA5A avec l'encéphalopathie hyperammonémique et l'inclut dans le panel des aminoacidopathies.*
- *PanelApp (England) associe le gène CA5A selon un niveau élevé de preuves avec l'hyperammonémie due à un déficit en anhydrase carbonique.*

Ainsi, la HAS prend en compte la demande d'inclure le gène CA5A dans le panel NGS à visée diagnostique des troubles du cycle de l'urée.

Panel des troubles du cycle de l'urée : OTC, ASS1, ASL, CPS1, SLC25A13, SLC7A7, NAGS, ARG1, SLC25A15, CA5A.

Leucinose

Proposition initiale de la HAS des gènes à inclure dans le panel NGS :

- Panel de la leucinose : *BCKDHA, BCKDHB, DBT.*

Cette proposition de la HAS repose sur l'implication des gènes *BCKDHA, BCKDHB* et *DBT* dans la pathogénie de la leucinose. Les experts suggèrent de compléter le panel en incluant des gènes associés à des formes très rares de la leucinose ou à des diagnostics différentiels pertinents. Un expert généticien et un expert pédiatre suggèrent l'ajout du gène *PPM1K*. Ce gène est en effet responsable d'une forme modérée de leucinose comme démontré dans l'étude Oyarzabal *et al.* (54). Un expert pédiatre propose l'ajout du gène *BCAT2* qui est impliqué dans le diagnostic différentiel du syndrome d'élévation des acides aminés ramifiés et sans coma.

Enfin, un expert pédiatre et un expert neurologue suggèrent l'ajout du gène *DLD*. Ce gène est impliqué dans le diagnostic différentiel de la leucinose en raison de concentrations élevées de leucine dans le sang.

Après analyse complémentaire, la HAS indique que :

ClinGen associe

- *Le gène PPM1K de manière modérée avec la leucinose et l'inclut dans le panel des aminoacidopathies.*
- *Le gène BCAT2 de manière définitive avec l'hypervalinémie et l'hyperleucine-iso-leucinémie et l'inclut dans le panel des aminoacidopathies*

- Le gène *DLD* de manière définitive avec la leucinose (avec déficit en *E3*) et l'inclut dans le panel des aminoacidopathies.

PanelApp (England) associe le gène *PPM1K* selon un faible niveau de preuves avec la leucinose.

Le *PNDS* mentionne les gènes *BCAT2* et *DLD* pour le diagnostic différentiel mais ne mentionne pas le gène *PPM1K*.

Toutefois, la position convergente des rapporteurs, des experts et des parties prenantes consultés (cf. annexe, consultations *G2M* page 46 et *ANPGM* page 52) est en faveur de l'inclusion du gène *PPM1K* dans le panel.

Ainsi, la *HAS* prend en compte la demande de modification du panel de la leucinose :

- en conservant *BCKDHA*, *BCKDHB* et *DBT* pour la leucinose classique ;
- en incluant les gènes *PPM1K*, *BCAT2* et *DLD* pour le diagnostic différentiel.

Panel de la leucinose : *BCKDHA*, *BCKDHB*, *DBT*, *DLD*, *BCAT2*, *PPM1K*.

Tyrosinémie de type 1

La *HAS* a proposé initialement le gène *FAH* comme l'unique gène à séquencer par NGS dans le cadre du diagnostic de la tyrosinémie de type 1.

Toutefois, un expert généticien indique que certaines aminoacidopathies peuvent s'accompagner d'une hypertyrosinémie sans succinylacétone, comme la tyrosinémie de type II. Il s'agit d'un diagnostic différentiel rare.

Le cas du déficit en maleylacétoacétate isomérase (*MAAID*, gène *GSTZ1*) est également évoqué par un expert généticien et un expert pédiatre. Ce déficit représente un diagnostic différentiel du dépistage néonatal positif pour la tyrosinémie de type 1 (le test de dépistage consiste en un dosage de la succinylacétone).

Après analyse complémentaire, la *HAS* indique que

- *ClinGen* associe le gène *GSTZ1* de manière **modérée** avec le déficit en *MAAI* et l'inclut dans le panel des aminoacidopathies.
- *PanelApp (England)* associe le gène *GSTZ1* selon un **niveau élevé de preuves** avec le déficit en *MAAI*.
- *GeneReviews* et le *PNDS* ne mentionnent pas l'implication du gène *GSTZ1* dans le diagnostic ou le diagnostic différentiel.

La *HAS* considère ainsi que le gène *FAH* et le gène *GSTZ1* sont les gènes séquencer par NGS pour le diagnostic et le diagnostic différentiel de la tyrosinémie de type 1

Panel de la tyrosinémie de type 1 : *FAH*, *GSTZ1*.

Homocystinurie par déficit en CBS

9.4. Concernant le pourcentage de concordance des tests NGS et Sanger pour le diagnostic des aminoacidopathies

Tous les experts confirment que le pourcentage de concordance des tests NGS et Sanger atteint 100 % indépendamment de l'aminocidopathie étudiée. Un expert généticien souligne même la supériorité du NGS pour la détection de variants de structure qui ne sont pas identifiables par Sanger. Un expert neurologue souligne que les mutations introniques, notamment dans le gène *OTC*, ne peuvent être détectées ni par Sanger ni par panel NGS.

L'expérience des experts biologistes / généticiens confirme que le NGS retrouve systématiquement les variants identifiés par Sanger. Ainsi, après une phase transitoire de double vérification, plusieurs laboratoires ont cessé de confirmer systématiquement les résultats NGS par Sanger.

Une couverture de 100 % des séquences codantes et des jonctions intron-exon est jugée nécessaire par un expert généticien. Une profondeur de séquençage minimale de 30X est indiquée par les deux experts généticiens bien que l'un d'eux estime que 20X serait suffisant.

9.5. Concernant la place et l'utilité clinique des panels de gènes dans les aminoacidopathies

Les commentaires des experts mettent en évidence l'intérêt du NGS par rapport à Sanger en matière d'analyse simultanée de plusieurs gènes qui permet de faire les diagnostics différentiels et de réduire l'errance diagnostique. Contrairement à Sanger, le NGS détecte des variants CNV. NGS accélère le diagnostic moléculaire, facilitant ainsi une prise en charge thérapeutique plus précoce et adaptée. De plus, le NGS s'adapte plus facilement aux avancées scientifiques en permettant une mise à jour rapide des panels.

Les experts identifient plusieurs limites aux panels NGS :

- l'exhaustivité des gènes couverts peut différer selon les centres, ce qui peut impacter la pertinence des résultats ;
- la nécessité de disposer d'outils bio-informatiques avancés ;
- l'accès à des bases de données souvent payantes peut être contraignant ;
- certains laboratoires sont plus lents que d'autres, ce qui peut retarder une prise en charge adaptée ;
- les nouveaux gènes identifiés peuvent ne pas être immédiatement inclus dans les panels existants ;
- les panels NGS ne couvrent pas les zones introniques profondes (sauf certaines zones introniques où des variants pathogènes ont été décrits, si le laboratoire en a fait le choix) et ne peuvent donc pas permettre la détection de variants dans ces zones du génome » ;
- en cas de panel négatif et devant un patient symptomatique avec des troubles biochimiques, une exploration plus large (exome ou génome) peut être nécessaire.

Les experts considèrent que les panels NGS permettent de guider la prise en charge en permettant un diagnostic différentiel de pathologies aux symptômes similaires et pour lesquelles les traitements

sont différents. Les panels NGS évitent des traitements inadaptés (ex. prescription inutile d'acide carglumique pour un déficit en OTC).

Selon l'ensemble des experts, il n'existe pas de recommandations pour adapter le traitement en fonction des mutations identifiées pour chaque aminoacidopathie. Toutefois, **il existe pour certaines maladies des traitements ciblés selon les variants identifiés**. Dans la phénylcétonurie, certains variants du gène *PAH* prédisent la réponse au traitement par saproptérine (BH4). Dans les hyperphénylalaninémies, l'identification du gène en cause (*DNAJC12* ou déficit en BH4) oriente la prise en charge. Dans les troubles du cycle de l'urée, la génétique permet de distinguer des déficits nécessitant un traitement spécifique, comme le déficit en NAGS qui répond à l'acide carglumique, ou d'identifier des mutations associées à des formes plus sévères (ex. OTC, pouvant justifier une greffe hépatique). Par ailleurs, certaines formes de leucinose peuvent être sensibles à la thiamine (mutations dans *DBT*) et le déficit en CBS peut répondre à la vitamine B6 si certaines mutations homozygotes sont présentes. Cependant, selon un expert généticien ces prédispositions favorables a priori aux réponses thérapeutiques ne remplacent pas les tests fonctionnels qui restent essentiels pour confirmer la réponse au traitement.

9.6. Concernant les enjeux organisationnels liés à l'utilisation du NGS dans les soins courants

Tous les experts indiquent que les biologistes doivent bénéficier de formations pour garantir une interprétation précise des données issues de l'analyse des panels NGS. Les experts généticiens indiquent que cette formation est déjà intégrée dans le DES de biologie médicale option MMPG et est obligatoire pour l'obtention de l'agrément en génétique médicale. La nécessité de se former concerne les interprétateurs (biologistes / généticiens) et les prescripteurs (cliniciens).

Tous les experts rapportent que l'intégration de la technologie NGS dans les soins courants nécessite des changements organisationnels. Sur le plan technique, il est indispensable d'adapter les équipements de séquençage et les outils bio-informatiques. Enfin, la rapidité d'analyse est d'une importance capitale lorsque des indications thérapeutiques existent.

La majorité des experts considère que la technologie NGS a significativement réduit le temps de diagnostic des aminoacidopathies. Un expert généticien rapporte que pour garantir un véritable gain de temps par rapport au séquençage Sanger, les laboratoires doivent avoir un volume de demandes suffisant pour effectuer des analyses régulières. Pour cela, il est nécessaire de regrouper plusieurs panels (ex. aminoacidopathies, aciduries organiques, anomalies de l'oxydation des acides gras) au sein d'une même librairie afin de permettre un passage plus fréquent des puces. Selon ce même expert, « il est donc utopique de penser que demain tous les laboratoires de France feront un panel aminoacidopathies sinon ils auraient chacun trop peu de demandes pour pouvoir passer ce panel dans un délai raisonnable sans surcoût notable ». Selon lui, « il faut privilégier les sites qui ont l'expérience et un recrutement régulier sinon le panel pourrait s'avérer moins rentable in fine que le séquençage Sanger pour le patient et économiquement pour le laboratoire ».

Selon les experts pédiatres, la biochimie reste néanmoins l'outil diagnostique de choix pour la majorité des aminoacidopathies, la génétique étant surtout utile dans des cas précis.

9.7. Autres commentaires

La question des panels *in silico* est soulevée et pourrait être approfondie (expert pédiatre).

9.8. Réponses aux questions supplémentaires

La HAS a interrogé, dans un deuxième temps, les experts sur la méthode de séquençage (NGS ou Sanger) à utiliser pour l'analyse ciblée d'un ou deux gènes. Il leur a également été demandé d'indiquer les avantages et les limites de chaque méthode pour chaque maladie.

Tous les experts ont indiqué que le NGS est la méthode de choix pour l'analyse ciblée d'un ou deux gènes.

Les experts généticiens soulignent que pour les gènes comportant un grand nombre d'exons (par ex., 17 exons pour CBS), le séquençage Sanger est long et peu adapté. De plus, le NGS permet de séquencer tous les exons d'un gène en une seule fois, ce qui représente un gain de temps significatif, un point également souligné par un expert pédiatre.

La majorité des experts considère que le recours au NGS présente un intérêt pour le diagnostic différentiel. Un expert généticien indique que l'intérêt d'utiliser NGS réside dans sa capacité à analyser simultanément plusieurs gènes sur une même puce ce qui permet d'envisager rapidement plusieurs hypothèses diagnostiques. Un expert neurologue évoque une approche stratégique qui consiste à commencer par le gène le plus fréquemment impliqué tout en conservant la possibilité d'élargir l'analyse au sein du même panel. Cette adaptabilité diagnostique est évoquée par le second expert généticien qui précise que des gènes peuvent être ajoutés facilement selon les besoins.

En matière de capacité technique, les experts généticiens rappellent que le NGS permet également de détecter la variation du nombre de copies (CNV) et les variants en mosaïque, tout en offrant la possibilité de multiplexage (plusieurs patients ou panels dans un même run), notamment dans les hyperphénylalaninémies isolées, la tyrosinémie de type 1 et l'homocystinurie par déficit en CBS.

L'utilisation du Sanger reste cependant évoquée dans certains contextes. Sa possibilité de lancement immédiat sans attendre d'avoir plusieurs patients à regrouper est utile pour des analyses urgentes ciblées par exemple dans le cas de l'analyse du gène *PAH* ou du gène *DNAJC12* en cas d'hyperphénylalaninémie suspectée. Un expert neurologue indique que le Sanger conserve également sa pertinence pour le dépistage des apparentés à risque ou la recherche d'hétérozygotie lorsque les variants pathogènes sont déjà connus.

9.9. Synthèse de la position des experts

Association gène/maladie

Un gène doit être inclus dans le panel s'il présente une association au moins forte avec la maladie.

Composition des panels de gènes des cinq aminoacidopathies

- *Hyperphénylalaninémie*
 - Panel des hyperphénylalaninémies isolées (sans anomalies du métabolisme des ptérines) : ***PAH, DNAJC12.***
 - Panel des hyperphénylalaninémies par déficit en BH4 : ***PTS, GCH1, PCBD1, QDPR, SPR, DNAJC12.***
 - Panel des hyperphénylalaninémies : ***PAH, PTS, GCH1, PCBD1, QDPR, SPR et DNAJC12.***
- *Leucinose*
 - Panel : ***BCKDHA, BCKDHB, DBT, DLD, BCAT2, PPM1K.***

- *Troubles du cycle de l'urée*
 - Panel : **OTC, ASS1, ASL, CPS1, SLC25A13, SLC7A7, NAGS, ARG1, SLC25A15, CA5A.**
- *Tyrosinémie de type 1*
 - Panel : **FAH, GSTZ1.**
- *L'homocystinurie par déficit en CBS*
 - Un gène unique à séquencer par NGS : **CBS.**

Concordance des tests et qualité de la séquence

- **Le pourcentage de concordance des tests NGS et Sanger est de 100 %.**
- Une couverture de 100 % des séquences codantes et des jonctions intron-exon est jugée nécessaire pour le NGS.
- Une profondeur de séquençage minimale de 30x est indiquée pour le NGS.

Les avantages du NGS par rapport à Sanger

- Le NGS détecte des variants CNV, ce qui n'est pas le cas du Sanger.
- Le NGS assure une analyse simultanée de plusieurs gènes permettant de faire les diagnostics différentiels, de réduire l'errance diagnostique et de guider une prise en charge adaptée du patient.
- Le NGS améliore les coûts et les délais de rendu à l'échelle du laboratoire.
- De plus, NGS s'adapte plus facilement aux avancées scientifiques en permettant une mise à jour rapide des panels.
- Le NGS est préféré au Sanger pour l'analyse ciblée d'un ou plusieurs gènes pour sa capacité à produire rapidement des résultats complets (diagnostic et diagnostic différentiel).
- Le Sanger conserve une place dans les contextes d'urgence ciblée ou de recherche familiale.

10. Position des parties prenantes

Dans le cadre de cette évaluation, une demande de consultation a été adressée à quatorze parties prenantes. Parmi celles-ci, six ont répondu en transmettant leurs commentaires sur le rapport provisoire. La majorité des parties prenantes ayant répondu a validé les conclusions du rapport provisoire. Leurs points de vue ont été restitués en intégralité en annexe 3. Seules les principales remarques formulées par ces structures sont présentées ici.

10.1. Concernant la composition des panels NGS

La filière de santé G2M et l'ANPGM demandent de regrouper les panels des hyperphénylalaninémies en un seul et unique panel pour plus de lisibilité.

La filière G2M et l'ANPGM demandent l'ajout du gène PPM1K dans le panel de la leucinose de manière à garantir une liste exhaustive de gènes pour le diagnostic différentiel (ANPGM).

Pour les troubles du cycle de l'urée, la filière G2M valide la notion de panel unique regroupant les gènes d'une même « porte d'entrée » diagnostique.

La filière G2M indique que l'ensemble de ces panels doit être constitué par les cliniciens et biologistes experts de la filière et propose que soit constitué un panel unique regroupant tous les gènes métaboliques.

10.2. Concernant l'interprétation des résultats des tests NGS

La filière de santé G2M indique que les résultats doivent être interprétés par des biologistes généticiens experts indépendamment du laboratoire ayant réalisé techniquement le test afin de garantir la qualité et la pertinence de l'interprétation clinique. L'ANPGM insiste sur la nécessité d'un réseau d'experts nationaux pour assurer l'interprétation des données issues de ces panels et garantir la qualité des résultats.

10.3. Concernant la prescription des tests NGS

La filière de santé G2M précise que la prescription des tests NGS doit être réalisée par des cliniciens compétents en génétique/maladies héréditaires du métabolisme en concertation avec des centres experts afin d'améliorer :

- la coordination entre cliniciens et biologistes ;
- la pertinence des test génétiques.

10.4. Concernant le rendement diagnostique des panels NGS

Le rendement diagnostique des panels NGS dans les aminoacidopathies est considéré comme très bon ou excellent par la filière G2M et par l'ANPGM, en particulier si la présentation clinique est associée à des marqueurs biochimiques spécifiques (G2M).

Selon la filière G2M, ces panels constituent un outil de choix pour le diagnostic et l'association de plusieurs gènes permet de limiter le risque d'omission d'un diagnostic différentiel. Néanmoins, la méthode Sanger conserve son utilité, notamment pour le dépistage au sein de la fratrie ou pour le séquençage ciblé d'un gène particulier.

10.5. Concernant l'évolutivité et l'actualisation des panels NGS

La filière G2M demande un processus intelligible d'actualisation des panels NGS selon les avancées scientifiques. L'ANPGM confirme l'importance d'un réseau national d'experts pour suivre ces évolutions.

11. Position de l'Agence de la biomédecine

L'Agence de la biomédecine a apporté des précisions sur le cadre médical et juridique du diagnostic prénatal (DPN) et du diagnostic préimplantatoire (DPI). Elle a ainsi précisé les éléments suivants :

- L'accès au DPN³⁴/DPI³⁵ moléculaire nécessite un diagnostic génétique informatif préalable et est strictement encadré (L.2131-1, arrêté du 18 juin 2024). Ce cadre régit les modalités d'accès, la prise en charge des femmes enceintes et des couples ainsi que le fonctionnement des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN).
- Il convient de distinguer faisabilité (informativité du test génétique) et indication à un DPN/DPI. Cette dernière relève de la décision du CPDPN, prise lors d'une réunion pluridisciplinaire.

Il a aussi été rappelé pour les analyses des panels de gènes que les modalités de prescription, de rendu et d'information, y compris de la parentèle, sont réglementés – R.1131-3 et R.1131-4, R.1131-4-1, R.1131-4-2.

³⁴ Le diagnostic prénatal ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

³⁵ Le diagnostic préimplantatoire ne relève pas du périmètre de cette évaluation.

12. Conclusion et perspectives

Au total, en se fondant sur 1) l'analyse des faits publiés (lecture critique d'articles) identifiés par une recherche systématique de la littérature et sélectionnés à l'aide de critères explicites³⁶ et après avoir 2) consulté notamment les bases de données ClinGen et PanelApp (*England*), 3) recueilli les points de vue des experts sollicités, 4) recueilli les points de vue exprimés à titre collectif des parties prenantes et 5) recueilli la position de l'Agence de la biomédecine en tant qu'institution publique de santé, les conclusions de la HAS quant à l'intérêt du NGS ciblé d'un panel de gènes dans le diagnostic des aminoacidopathies sont présentées ci-après.

Composition des panels de gènes

La HAS considère qu'il est pertinent de construire les panels de gènes pour la recherche d'altérations moléculaires chez le cas index, de la manière suivante :

Inclusion des gènes pour lesquels il existe :

- ➔ une **association au moins forte avec la pathologie selon les bases de données ClinGen ou PanelApp (England)** ;
- ➔ une implication dans le diagnostic différentiel, à l'issue duquel la prise en charge thérapeutique est adaptée en fonction des résultats.

Structuration du panel commun des hyperphénylalaninémies

L'utilisation d'un panel composé de **sept gènes** est recommandée pour le diagnostic des **hyperphénylalaninémies** :

- ➔ **PAH, PTS, GCH1, PCBD1, QDPR, SPR, DNAJC12.**

Structuration du panel des troubles du cycle de l'urée

L'utilisation d'un panel composé de **dix gènes** est recommandée pour le diagnostic des **troubles du cycle de l'urée** :

- ➔ **OTC, ASS1, ASL, CPS1, SLC25A13, SLC7A7, NAGS, ARG1, SLC25A15, CA5A.**

Structuration du panel de la leucinose

L'utilisation d'un panel composé de **six gènes** est recommandée pour le diagnostic de la **leucinose** :

- ➔ **BCKDHA, BCKDHB, DBT, DLD, BCAT2, PPM1K.**

Structuration du panel de la tyrosinémie de type 1

L'utilisation d'un panel composé de **deux gènes** est recommandée pour le diagnostic de la **tyrosinémie de type 1** :

- ➔ **FAH, GSTZ1.**

Gène unique de l'homocystinurie par déficit en CBS

La recherche d'un **gène unique** est recommandée pour le diagnostic de l'**homocystinurie par déficit en CBS** :

- ➔ **CBS.**

La HAS précise que les gènes analysés comprennent les régions codantes (exons) des transcrits identifiés comme impliqués dans les processus pathologiques, les jonctions exons

³⁶ Dans ce rapport, quatorze études ont été retenues et analysées à l'issue de la recherche documentaire. Il s'agit de séries de cas ou de rapports de cas dont la qualité méthodologique était bonne pour cinq études et moyenne pour six études.

codants-introns et, si nécessaire, les régions non codantes comprenant des variants pathogènes connus.

Concernant l'analyse du gène OTC, un pourcentage significatif de patients présentent des variants pathogènes situés dans des régions non codantes. L'inclusion de ces régions dans les panels pourraient être exigés en vue de leur remboursement.

Rendements diagnostiques

Le rendement diagnostique des panels NGS est qualifié de très bon à excellent par les parties prenantes. Par ailleurs, les données de la littérature ont montré **un pourcentage de concordance positive de 100 % de NGS et Sanger pour la détection des SNV et indels**. Cette concordance est également considérée comme parfaite par les experts, qui recommandent une profondeur de lecture minimale de 30x pour garantir la qualité des résultats.

D'après l'expérience des experts biologistes / généticiens consultés, le NGS retrouve systématiquement les variants identifiés par Sanger. Ainsi, après une phase transitoire de double vérification, plusieurs laboratoires ont cessé de confirmer systématiquement les résultats NGS par Sanger.

Pertinence et utilité clinique

Le recours aux panels NGS présente des bénéfices dans la prise en charge des patients atteints d'aminoacidopathies. L'analyse simultanée de plusieurs gènes permet de réduire les délais diagnostiques et d'initier plus rapidement une prise en charge adaptée. Les données de la littérature, les avis des experts ainsi que les points de vue des parties prenantes convergent pour souligner la pertinence du NGS dans plusieurs situations cliniques :

- confirmation rapide du diagnostic biochimique en cas d'anomalie suspectée ;
- réduction de l'errance diagnostique, notamment dans les cas de phénotypes complexes ou atypiques ;
- adaptation de la stratégie thérapeutique en fonction du variant identifié. Les panels NGS évitent ainsi des traitements inadaptés (ex., prescription inutile d'acide carglumique pour un déficit en OTC) ;
- offre d'une alternative plus efficace et moins coûteuse au séquençage Sanger lorsque plusieurs gènes doivent être analysés.

En matière de capacité technique, les experts généticiens rappellent que le NGS permet également de :

- détecter les variations du nombre de copies (CNV) et les variants en mosaïque ;
- réaliser un multiplexage (plusieurs patients ou panels dans un même run), notamment dans les hyperphénylalaninémies isolées, la tyrosinémie de type 1 et l'homocystinurie par déficit en CBS.

Diagnostic différentiel

En analysant simultanément plusieurs gènes associés à des pathologies aux symptômes similaires, les panels NGS facilitent le diagnostic différentiel et orientent la décision clinique. Il est possible de distinguer, par exemple :

- une hyperphénylalaninémie isolée (PAH, DNAJC12) d'un déficit en BH4 (PTS, GCH1, PCBD1, QDPR, SPR, DNAJC12) dans lequel des anomalies du métabolisme des ptérines ont été rapportées. Ces deux situations cliniques sont proches mais nécessitent des traitements différents ;
- un déficit en maleylacétoacétate isomérase (MAAID, gène *GSTZ1*) de la tyrosinémie de type 1, en particulier dans le contexte du dépistage néonatal. Dans un cas, les patients pourront bénéficier d'un traitement, et pas dans l'autre cas ;

- un déficit en NAGS d'un déficit en CPS1, qui se présentent de manière identique sur le plan clinique et biologique. Toutefois, il existe un traitement spécifique pour le déficit en NAGS (acide carginique).

Place dans la stratégie diagnostique

Selon les données de la littérature scientifique ainsi que les avis des experts et les points de vue des parties prenantes, la démarche diagnostique des aminoacidopathies est bien structurée. Les explorations biochimiques, réalisées en première intention, sont indispensables à l'orientation clinique. Elles s'associent aux analyses moléculaires par séquençage ciblé sur panels de gènes, devenues **nécessaires pour la confirmation du diagnostic et la définition des stratégies thérapeutiques (telles que décrites dans les PNDS) chez le cas index**.

La HAS considère que l'analyse des panels de gènes par NGS est indiquée dans les situations suivantes :

1. Chez les patients présentant une anomalie biologique laissant suspecter une étiologie génétique.
2. Chez les patients pour lesquels l'évaluation clinique initiale n'a pas permis d'établir un diagnostic précis en raison d'un tableau atypique ou incomplet.
3. Chez les patients pour lesquels une atteinte multigénique est envisageable. Dans ce cas, le NGS permet une analyse simultanée de plusieurs gènes impliqués dans des tableaux cliniques proches ou chevauchants.

Selon les experts, le NGS est également indiqué pour une analyse ciblée **d'un ou deux gènes** comportant de nombreux exons grâce à sa capacité à séquencer l'ensemble de ces régions en une seule fois. A l'inverse, le séquençage Sanger, plus long, est inadapté à ce type de situation (par ex., dix-sept exons pour CBS).

Outre cet intérêt, le NGS est apprécié pour son adaptabilité permettant d'ajouter facilement des gènes en fonction des besoins cliniques.

La méthode Sanger conserve néanmoins une place pour la recherche d'un variant familial ciblé.

Impact organisationnel de l'analyse des panels de gènes par NGS dans les aminoacidopathies

L'intégration du NGS dans la pratique clinique pour le diagnostic des aminoacidopathies exige des évolutions organisationnelles au sein des établissements de santé.

L'utilisation des panels de gènes impose un niveau d'expertise élevé de la part des biologistes médicaux tant pour la gestion des données issues du séquençage que pour leur interprétation, cela nécessite :

- de renforcer la formation des biologistes et généticiens aux outils bio-informatiques ;
- de garantir une interprétation des résultats au sein d'équipes pluridisciplinaires composées de cliniciens spécialistes des maladies métaboliques et de biologistes ;
- de disposer d'une infrastructure technique adaptée, disposant de plateformes de séquençage performantes, de systèmes d'analyse bio-informatique fiables et de procédures normalisées pour la délivrance des résultats ;
- de mettre en place une nouvelle organisation au sein des laboratoires afin de prendre en compte la complexité logistique et technique du NGS. Ce dernier reste plus long à mettre en œuvre que le séquençage Sanger dans les situations nécessitant une réponse diagnostique urgente.

Le recours au NGS s'accompagne par ailleurs d'une réorganisation des parcours patients. En permettant une identification rapide et simultanée de plusieurs variants, le NGS permet une réduction du délai diagnostique, favorisant ainsi une prise en charge thérapeutique précoce et adaptée.

Un autre enjeu organisationnel concerne la mise à jour continue des panels de gènes afin de suivre les progrès de la recherche.

Préconisations de réalisation

Pour rappel, l'analyse par panel de gènes étant un examen de génétique visant à étudier le matériel génétique d'un individu, elle doit être réalisée conformément à l'encadrement juridique prévu à cet effet (en particulier, les lois de bioéthique et leurs décrets d'application). Les laboratoires doivent ainsi être autorisés par les Agences régionales de santé (ARS) à réaliser ces actes, et les praticiens agréés par l'Agence de la biomédecine.

La HAS, eu égard au contexte clinique particulier de ces pathologies rares, souligne la nécessité de réalisation des analyses de panels de gènes dans des laboratoires ayant développé une expertise dans les indications considérées, ayant les capacités et compétences techniques à réaliser la plupart des analyses génétiques et étant en lien avec les centres de référence maladies rares correspondant à ces indications.

La HAS recommande que les prescripteurs travaillent dans un cadre pluridisciplinaire, en étroite coordination avec les laboratoires réalisant les analyses, et qu'ils possèdent des compétences en génétique ainsi qu'une bonne connaissance des aminoacidopathies. Ces prescripteurs doivent exercer en lien avec des centres experts, notamment ceux de la filière G2M.

Il est préconisé que les analyses réalisées au sein d'une même famille soient centralisées dans le laboratoire ayant initié l'analyse pour le cas index, afin d'assurer une mise à jour optimale de l'interprétation, en fonction des données disponibles.

Il est également préconisé que le patient et son entourage soient clairement informés des résultats obtenus à l'issue d'une analyse par panel de gènes afin qu'ils soient en mesure de prendre une décision éclairée quant à la suite de la prise en charge. Les modalités de prescription, de rendu et d'information, y compris de la parentèle, de ces examens sont réglementés – R.1131-3 et R.1131-4, R.1131-4-1, R.1131-4-2.

Enfin, il est préconisé que les résultats de l'analyse soient rendus dans un délai raisonnable afin de limiter l'attente des patients et de permettre une prise en charge adaptée à la pathologie suspectée.

Perspectives

La composition des panels de gènes par NGS ciblé est susceptible d'évoluer au fur et à mesure des connaissances scientifiques. La HAS définira prochainement un processus d'actualisation pour ces panels.

Ce rapport n'évalue pas spécifiquement les techniques diagnostiques complémentaires au NGS. Cependant, la HAS considère qu'il est pertinent d'évaluer ces méthodes. Le séquençage de l'exome ou du génome entier, réalisé par des techniques à très haut débit, permet de détecter un plus grand nombre d'anomalies en un seul examen. Selon la disponibilité des données du Plan France Médecine Génomique, la HAS procédera à l'évaluation de ces autres techniques génétiques. Ces évaluations permettront de mieux positionner ces différentes méthodes de détection des altérations moléculaires dans les stratégies diagnostiques des maladies pour lesquelles l'utilisation des panels de gènes a été validée dans ce rapport.

Références bibliographiques

1. Wasim M, Awan FR, Khan HN, Tawab A, Iqbal M, Ayesha H. Aminoacidopathies: Prevalence, etiology, screening, and treatment options. *Biochem Genet* 2018;56(1-2):7-21. <https://dx.doi.org/10.1007/s10528-017-9825-6>
2. Thioulouse E, Berthe MC, Couderc R. Les aminoacidopathies héréditaires (AAH) *Rev Francoph Lab* 2010;40(425):53-64. [https://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X\(10\)70644-4](https://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X(10)70644-4)
3. Haute Autorité de santé, Maladies rares héréditaires du métabolisme. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS). Phénylcétonurie. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2018. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-06/phenylcetonurie_pnds.pdf
4. Filière de santé maladies rares G2M. Homocystinurie par déficit en cyathionine-bêta-synthase (CBS). Protocole national de diagnostic et de soins (PNDS). Marseille: G2M; 2022. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-11/pnds_homocystinurie_pnds_vf.pdf
5. Haute Autorité de santé, Maladies rares héréditaires du métabolisme. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS). Leucinose. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2021. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2021-05/pnds_msud_vf.docx.pdf
6. Maladies rares héréditaires du métabolisme, Filfoie. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS). Tyrosinémie type 1 (HT-1). Saint-Denis La Plaine: HAS; 2022. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-10/20221004_pnds_tyrosinemie_version_finale.pdf
7. Haute Autorité de santé, Maladies rares héréditaires du métabolisme. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS). Déficiants du cycle de l'urée. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2021. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2021-06/pnds_ucd_vf.pdf
8. Haute Autorité de santé. Protocoles nationaux de diagnostic et de soins (PNDS) [En ligne]. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2017. https://www.has-sante.fr/jcms/c_1340879/fr/protocoles-nationaux-de-diagnostic-et-de-soins-pnds
9. Lacoste C, Fabre A, Pécheux C, Lévy N, Krahn M, Malzac P, *et al.* Le séquençage d'ADN à haut débit en pratique clinique. *Arch Pediatr* 2017;24(4):373-83. <https://dx.doi.org/10.1016/j.arcped.2017.01.008>
10. Valencia CA, Pervaiz MA, Husami A, Qian Y, Zhang K. Sanger sequencing principles, history, and landmarks. Dans: *Next Generation Sequencing Technologies in Medical Genetics*. New York: Springer; 2013.
11. Crossley BM, Bai J, Glaser A, Maes R, Porter E, Killian ML, *et al.* Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. *J Vet Diagn Invest* 2020;32(6):767-75. <https://dx.doi.org/10.1177/1040638720905833>
12. Abdi G, Tarighat MA, Jain M, Tendulkar R, Tendulkar M, Barwant M. Revolutionizing genomics: exploring the potential of next-generation sequencing. Dans: Singh V, ed. *Advances in Bioinformatics*. Singapore: Springer; 2024.
13. Hu T, Chitnis N, Monos D, Dinh A. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Hum Immunol* 2021;82(11):801-11. <https://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2021.02.012>
14. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, *et al.* Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet* 2016;24(1):2-5. <https://dx.doi.org/10.1038/ejhg.2015.226>
15. Bean LJH, Funke B, Carlston CM, Gannon JL, Kantarci S, Krock BL, *et al.* Diagnostic gene sequencing panels: from design to report-a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2020;22(3):453-61. <https://dx.doi.org/10.1038/s41436-019-0666-z>
16. Salameh JP, Bossuyt PM, McGrath TA, Thombs BD, Hyde CJ, Macaskill P, *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies (PRISMA-DTA): explanation, elaboration, and checklist. *BMJ* 2020;370:m2632. <https://dx.doi.org/10.1136/bmj.m2632>
17. National Heart Lung and Blood Institute. Study quality assessments tools [En ligne]. Bethesda: NHLBI; 2021. <https://www.nlm.nih.gov/health-topics/study-quality-assessment-tools>
18. van Spronsen FJ, van Wegberg AM, Ahring K, Bélanger-Quintana A, Blau N, Bosch AM, *et al.* Key European guidelines for the diagnosis and management of patients with phenylketonuria. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017;5(9):743-56. [https://dx.doi.org/10.1016/s2213-8587\(16\)30320-5](https://dx.doi.org/10.1016/s2213-8587(16)30320-5)
19. van Wegberg AMJ, MacDonald A, Ahring K, Bélanger-Quintana A, Blau N, Bosch AM, *et al.* The complete European guidelines on phenylketonuria: diagnosis and treatment. *Orphanet J Rare Dis* 2017;12(1):162. <https://dx.doi.org/10.1186/s13023-017-0685-2>
20. Regier DS, Greene CL. Phenylalanine hydroxylase deficiency. Dans: Adam MP, ed. *GeneReviews*. Seattle2000. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1504/pdf/Bookshelf_NBK1504.pdf
21. Blau N, van Spronsen FJ. Disorders of Phenylalanine and Tetrahydrobiopterin Dans: *Guide to the Diagnosis, Treatment, and Follow-Up of Inherited Metabolic Diseases*. Berlin: Springer; 2014.
22. Haute Autorité de santé. KUVAN 100 mg, comprimé pour solution buvable. Avis de la commission de la transparence. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2009. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2009-03/kuvan_ct-6206.pdf
23. Haute Autorité de santé. KUVAN 100 mg, comprimé pour solution buvable. Sapropterine. Avis de la commission de transparence. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2015. https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-14742_KUVAN_PIS_EI_Avis2_CT14742.pdf

24. Wang L, Ma D, Sun Y, Wang Y, Zeng H, Liu G, *et al.* Identification of two novel DNAJC12 gene variants in a patient with mild hyperphenylalaninemia. *Gene* 2023;869:147397. <https://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2023.147397>
25. Ozturk FN, Akin Duman T. An update of the mutation spectrum of phenylalanine hydroxylase (PAH) gene in the population of Turkey. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2022;35(5):663-8. <https://dx.doi.org/10.1515/jpem-2021-0556>
26. Wang Z-W, Jiang S-W, Zhou B-C. PAH mutation spectrum and correlation with PKU manifestation in north Jiangsu province population. *Kaohsiung J Med Sci* 2018;34(2):89-94. <http://dx.doi.org/10.1016/j.kjms.2017.09.006>
27. Zhang Z, Gao J-J, Feng Y, Zhu L-L, Yan H, Shi X-F, *et al.* Mutational spectrum of the phenylalanine hydroxylase gene in patients with phenylketonuria in the central region of China. *Scand J Clin Lab Invest* 2018;78(3):211-8. <http://dx.doi.org/10.1080/00365513.2018.1434898>
28. Li L, Qin Y, Su Y, Jiang H, Rejiafu N, Li M, *et al.* Gene mutation and pedigree analysis of tetrahydrobiopterin deficiency in a Uygur family of China. *J Clin Lab Anal* 2019;33(2):e22665. <https://dx.doi.org/10.1002/jcla.22665>
29. Kuznetcova I, Gundorova P, Ryzhkova O, Polyakov A. The study of the full spectrum of variants leading to hyperphenylalaninemia have revealed 10 new variants in the PAH gene. *Metab Brain Dis* 2019;34(6):1547-55. <https://dx.doi.org/10.1007/s11011-019-00461-w>
30. Smith WE, Berry SA, Bloom K, Brown C, Burton BK, Demarest OM, *et al.* Phenylalanine hydroxylase deficiency diagnosis and management: A 2023 evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2025;27(1):101289. <https://dx.doi.org/10.1016/j.gim.2024.101289>
31. Clinical Genome Resource. Gene-disease validity classification information [En ligne]. Lewisburg: ClinGen; 2022. <https://www.clinicalgenome.org/docs/gene-disease-validity-classification-information/>
32. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405-24. <https://dx.doi.org/10.1038/gim.2015.30>
33. Häberle J, Burlina A, Chakrapani A, Dixon M, Karall D, Lindner M, *et al.* Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders: First revision. *J Inher Metab Dis* 2019;42(6):1192-230. <https://dx.doi.org/10.1002/jimd.12100>
34. Ah Mew N, Simpson KL, Gropman AL, Lanpher BC, Chapman KA, Summar ML. Urea cycle disorders overview. Dans: Adam MP, ed. *GeneReviews*. Seattle2003. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1217/pdf/Bookshelf_NBK1217.pdf
35. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. AMMONAPS 500 mg, comprimé. AMMONAPS 940 mg / g, granulés. Avis de la commission de la transparence. Saint-Denis: Afsaps; 2001. <https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/ct010015.pdf>
36. Haute Autorité de santé. PHEBURANE 483 mg/g, granulés. Avis de la commission de la transparence. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2014. https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-13341_PHEBURANE_PIC_INS_Avis1_CT13341.pdf
37. Haute Autorité de santé. CARBAGLU 200 mg, comprimé dispersible. Avis de la commission de la transparence. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2003. <https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/ct031415.pdf>
38. Haute Autorité de santé. ARGININE VEYRON, solution buvable. Avis de la commission de la transparence. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2010. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2010-11/arginine_veyron_-_ct-8995.pdf
39. Cheng Z, He X, Zou F, Xu ZE, Li C, Liu H, Miao J. Identification of novel mutations in chinese infants with citrullinemia. *Front Genet* 2022;13:783799. <https://dx.doi.org/10.3389/fgene.2022.783799>
40. Zheng Z, Lin Y, Lin W, Zhu L, Jiang M, Wang W, Fu Q. Clinical and genetic analysis of five Chinese patients with urea cycle disorders. *Mol Genet Genomic Med* 2020;8(7):e1301. <https://dx.doi.org/10.1002/mgg3.1301>
41. Saini AG, Attri S, Sankhyan N, Singhi P. Hypomorphic citrullinaemia due to mutated ASS1 with episodic ataxia. *BMJ case reports* 2018;2018. <http://dx.doi.org/10.1136/bcr-2017-220193>
42. Al-Qattan S, Malcolmson C, Mercimek-Andrews S. Lysinuric protein intolerance mimicking N-acetylglutamate synthase deficiency in a nine-year-old boy. *Mol Genet Metab Rep* 2021;27:100741. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ymgmr.2021.100741>
43. Chen X, Yuan L, Sun M, Liu Q, Wu Y. Two novel CPS1 mutations in a case of carbamoyl phosphate synthetase 1 deficiency causing hyperammonemia and leukodystrophy. *J Clin Lab Anal* 2018;32(5):e22375. <https://dx.doi.org/10.1002/jcla.22375>
44. Strauss KA, Puffenberger EG, Carson VJ. Maple syrup urine disease. Dans: Adam MP, ed. *GeneReviews*. Seattle2006. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1319/pdf/Bookshelf_NBK1319.pdf
45. Fang X, Zhu X, Feng Y, Bai Y, Zhao X, Liu N, Kong X. Genetic analysis by targeted next-generation sequencing and novel variation identification of maple syrup urine disease in Chinese Han population. *Sci Rep* 2021;11(1):18939. <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-98357-2>
46. Yang C, Linpeng S, Cao Y, Wu L. Identification of six novel mutations in five infants with suspected maple syrup urine disease based on blood and urine metabolism screening. *Gene* 2019;710:9-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2019.04.086>
47. Tresbach RH, Sperb-Ludwig F, Ligabue-Braun R, Bitencourt FH, Tonon T, Souza CFM, *et al.* Maple syrup urine disease diagnosis in Brazilian patients by massive parallel sequencing. *Mol Genet Metab* 2024;143(1-2):108569.

<https://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2024.108569>

48. Chinsky JM, Singh R, Ficicioglu C, van Karnebeek CDM, Grompe M, Mitchell G, *et al.* Diagnosis and treatment of tyrosinemia type I: a US and Canadian consensus group review and recommendations. *Genet Med* 2017;19(12).

<https://dx.doi.org/10.1038/gim.2017.101>

49. Chabrol B, Jacquin P, Francois L, Broué P, Dobbelaere D, Douillard C, *et al.* Transition from pediatric to adult care in adolescents with hereditary metabolic diseases: Specific guidelines from the French network for rare inherited metabolic diseases (G2M). *Arch Pediatr* 2018;25(5):344-9.

<https://dx.doi.org/10.1016/j.arcped.2018.05.009>

50. Sniderman King L, Trahms C, Scott R. Tyrosinemia Type I. Dans: Adam MP, ed. *GeneReviews*. Seattle 2006.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1515/pdf/Bookshelf_NBK1515.pdf

51. European Medicines Agency. Orfadin. Annexe I : résumé des caractéristiques du produit. Amsterdam: EMA; 2010.

https://www.ema.europa.eu/fr/documents/product-information/orfadin-epar-product-information_fr.pdf

52. Morris AA, Kožich V, Santra S, Andria G, Ben-Omran TI, Chakrapani AB, *et al.* Guidelines for the diagnosis and management of cystathionine beta-synthase deficiency. *J Inher Metab Dis* 2017;40(1):49-74.

<https://dx.doi.org/10.1007/s10545-016-9979-0>

53. Sacharow SJ, Picker JD, Levy HL. Homocystinuria caused by Cystathionine Beta-Synthase Deficiency. Dans: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Amemiya A, ed. *GeneReviews*(®). Seattle WA: © 1993-2024, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle; 1993.

54. Oyarzabal A, Martínez-Pardo M, Merinero B, Navarrete R, Desviat LR, Ugarte M, Rodríguez-Pombo P. A novel regulatory defect in the branched-chain α -keto acid dehydrogenase complex due to a mutation in the PPM1K gene causes a mild variant phenotype of maple syrup urine disease. *Hum Mutat* 2013;34(2):355-62.

<https://dx.doi.org/10.1002/humu.22242>

Participants

Les organismes professionnels et associations de patients et d'usagers suivants ont été sollicités pour proposer des experts conviés à titre individuel dans les groupes de travail :

- Association nationale des praticiens de génétique moléculaire ;
- Conseil national professionnel d'endocrinologie, diabétologie et nutrition ;
- Conseil national professionnel de néphrologie ;
- Conseil national professionnel de pédiatrie ;
- Conseil national professionnel de neurologie ;
- Filière de santé maladies rares G2M.

Groupe de travail

- Dr Jean-Baptiste ARNOUX, pédiatrie et néonatalogie (75015 PARIS)
- Pr Jean-François BENOIST, biochimie et biologie moléculaire (75015 PARIS)
- Dr Anaïs BRASSIER, pédiatrie et neuropédiatrie (75015 PARIS)
- Dr Apolline IMBARD, biochimie et biologie moléculaire (75015 PARIS)
- Dr Cécilia MARELLI-TOSI, neurologie (34000 MONTPELLIER).

Parties prenantes (organismes professionnels et associations de patients) consultées pour exposer leur point de vue à titre collectif

- Association nationale des praticiens de génétique moléculaire ;
- Conseil national professionnel de pédiatrie ;
- Conseil national professionnel d'endocrinologie, diabétologie et nutrition ;
- Conseil national professionnel d'hépatogastroentérologie ;
- Conseil national professionnel de neurologie ;
- Filière de santé maladies rares G2M - Maladies héréditaires du métabolisme.

Les institutions suivantes ont été sollicitées :

- Agence de la biomédecine.

Remerciements

La HAS tient à remercier l'ensemble des participants cités ci-dessus.

Abréviations et acronymes

ABM	Agence de la biomédecine
ACMG	Collège américain de génétique médicale et de génomique
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ANPGM	Association nationale des praticiens de génétique moléculaire
ARN	Acide ribonucléique
CEDiag	Commission d'évaluation des technologies de santé diagnostiques, pronostiques et prédictives
ClinGen	<i>Clinical Genome Resource</i>
ClinVar	<i>Clinical Variation</i>
CNP	Conseil national professionnel
CT	Commission de la Transparence
DADFMS	Denrées alimentaires destinées à des fins médicales spéciales
DGOS	Direction générale de l'offre de soins
DPN	Diagnostic prénatal
E-HOD	Registre des homocystinuries et défauts de méthylation
ESHG	Société européenne de génétique humaine
G2M	Filière de santé des maladies héréditaires du métabolisme
G2P	Gene2Phenotype
HAS	Haute Autorité de santé
Hcyt	Homocystéine totale plasmatique
HPA	Hyperphénylalaninémie
INAHTA	Réseau international d'agences d'évaluation des technologies de santé
Indel	Insertion délétion
INESSS	Institut national d'excellence en santé et en services sociaux
MLPA	Amplification multiplex de sondes dépendantes de la ligature
NIH	Institut National de la santé
NGS	Séquençage de nouvelle génération
PCU	Phénylcétonurie
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
Phé	Phénylalanine
PICOS	Population Interventions Comparateur Outcomes Schéma d'études
PNDS	Protocole national de diagnostic et de soins
PRISMA-DTA	Rapport pour les revues systématiques et méta-analyses des études sur la précision des tests diagnostiques
RIHN	Référentiel des actes innovants hors nomenclature

SA	Semaine d'aménorrhée
SIGN	Réseau écossais de recommandations intercollégiales
SNV	Variant d'un nucléotide unique

Retrouvez tous nos travaux sur
www.has-sante.fr

