

#### Séquençage haut débit (NGS):

Préparation des bibliothèques génomiques par enrichissement de la bibliothèque Human Comprehensive Exome (Twist Biosciences) via la méthode Standard Hybridization (Twist Biosciences). Séquençage sur séquenceur Novaseq (Illumina). Ce test permet de rechercher les mutations ponctuelles, les délétions et insertions de petite taille (indels <15bp). Analyse accréditée par BELAC (ISO 15189:2012) sous le certificat 128-MED.

Seuls les variants pathogènes (classe 5) et les variants probablement pathogènes (classe 4) sont rapportés. Les variants de signification incertaine (classe 3) ne sont rapportés que lorsqu'ils sont retrouvés à l'état hétérozygote composite avec un variant de classe 4 ou 5 pour une pathologie récessive ou si la corrélation avec le phénotype du patient est interpellante. La numérotation des nucléotides suit la nomenclature HGVS : le A du codon d'initiation ATG est noté + 1 (<http://www.hgvs.org>).

La profondeur de couverture minimale acceptée au niveau des exons codants et bordures introniques (+/- 14 nucléotides) est de 30X sur les autosomes ainsi que sur les chromosomes X chez les individus féminins et à plus de 15X sur les chromosomes X/Y chez les individus masculins. La validation de cette technologie a été réalisée dans les limites des régions capturées et incluses dans les régions de haute confiance (définies par le consortium GA4GH). La sensibilité et la précision pour ces régions sont respectivement de 98.81% et 98.97% pour les mutations ponctuelles, ainsi que de 87.5% et 63.33% pour les indels <15bp.

#### Séquençage Sanger:

Tout variant rapporté sera confirmé par séquençage Sanger uniquement si il s'agit d'un indel ou si il est situé en dehors des limites du test ou des régions ciblées dans le dossier de validation.

#### Analyse des données:

L'analyse bioinformatique est réalisée par le pipeline Humanomics version v\_3. L'interprétation des variants est réalisée à partir de la plateforme Alissa Interpret (Agilent Technologies) version 5.4.

#### Limites techniques:

Les variants introniques (>14bp de l'exon codant), les variants des régions promotrices et UTR, les variants situés dans des régions homopolymériques, les grandes délétions ou duplications ou autres anomalies structurelles ne sont pas mises en évidence par notre test. Ce test n'est pas validé pour la détection de mutations mosaïques ni de mutations somatiques et ne convient pas pour la détection d'expansions de répétitions nucléotidiques (ex : pathologies à triplets,...).

#### Découvertes secondaires :

Des variants impliqués dans d'autres pathologies sortant du cadre de la prescription pourraient être découverts lors de notre analyse. En cas de présence de ces variants, ceux-ci ne seront pas mentionnés dans le rapport. Ils peuvent cependant être communiqués à votre patient au cours d'un conseil génétique (rendez-vous : +32 4 2524242).