

Michael A. Morris¹, Isabelle Moix¹, Christopher J. Mattocks²

Validation des tests diagnostiques en génétique moléculaire clinique : concepts et cas.

Sommaire

La validation des méthodes est une exigence de l'accréditation et donc par extension **une obligation légale pour toutes les analyses génétiques humaines en Suisse** (OAGH, art. 15, al.1). La validation *in-house* a une importance particulière en génétique pour 3 raisons principales:

- Il existe très peu de méthodes ou de matériaux de référence, en raison de la rareté des maladies.
- Un résultat erroné peut avoir un impact à long terme sur le patient ainsi que ses apparentés car les tests génétiques sont généralement effectués une seule fois dans la vie.
- Le taux d'erreur se situe typiquement entre 1 et 5% selon les résultats de programmes de COE.

Notre papier récent¹ fournit un cadre de validation en génétique moléculaire en catégorisant les méthodes selon leurs données et les interprétations qui en sont faites. Nous résumons cette classification qui est critique pour orienter le choix des paramètres de validation et nous donnons un exemple d'approche de validation simple pour le séquençage.

Tests quantitatifs, catégoriques et qualitatifs

Les tests en génétique moléculaire sont parfois dits « différents car ils sont qualitatifs ». La constatation est erronée: les données primaires sont presque toutes quantitatives (fluorescence, taille, ...) mais l'interprétation et le résultat peuvent être quantitatifs, semi-quantitatifs ou qualitatifs (Figure 1).

1 Laboratoire de Diagnostic moléculaire, Service de Médecine génétique, Hôpitaux Universitaires de Genève.

2 National Genetics Reference Laboratory (Wessex), Salisbury District Hospital, UK.

Exemple: Recherche de mutations ponctuelles par séquençage. Il s'agit d'une méthode qualitative de Type D: les données peuvent avoir différentes valeurs mais le résultat est soit normal, soit anormal. La validation aborde l'exactitude (spécialement la *sensibilité*) ainsi que la fidélité (*répétabilité, reproductibilité*). La *robustesse* est évaluée si nécessaire; des interférences typiques incluent des ADNs d'un labo externe ou à des concentrations basses, ou l'emploi de différentes machines PCR.

Le séquençage est particulièrement adapté pour la mesure de la qualité, par le « score Phred » qui indique la probabilité que le résultat soit juste. Une valeur Phred de 20 représente une confiance de 99%; un Phred de 30, de 99,9%.

Pour notre validation typique les amorces sont analysées pour interférence par des SNPs connus (SNP-Check, UCSC In-Silico PCR). Quatre échantillons sont analysés en parallèle. Si toutes les valeurs Phred de tous les fragments dans les 2 sens sont ≥ 30 , l'analyse est considérée comme validée, en se servant également de nos données existantes sur le séquençage. Un labo sans une grande expérience de

séquençage devrait faire plus de tests pour démontrer en particulier la fidélité et la robustesse.

Si la sensibilité est citée elle devrait être basée sur des mesures, ce qui est simple avec la règle de 3. Si n mutations sont testées et toutes détectées, la *sensibilité mesurée* est de $1-3/n$ (CI 95%). Si $n = 100$, la sensibilité est de « $\geq 97\%$ (CI 95%) »; si $n = 30$, la sensibilité n'est que « $\geq 90\%$ (CI 95%) ».

La validation doit être adaptée au type de test; démontrer que la performance définie est atteinte; et être documentée. Il convient de définir des COI, COE et indicateurs qui permettront une évaluation continue de la performance.

Correspondance:
Dr Michael Morris
Hôpitaux Universitaires de Genève
Laboratoire de Diagnostic Moléculaire
Tél. 022 379 57 96
michael.morris@unige.ch

Référence

- Mattocks CJ, Morris MA, Matthijs G, Swinnen E, Corveleyn A, Dequeker E, Müller CR, Pratt V, Wallace A; EuroGentest Validation Group. A standardized framework for the validation and verification of clinical molecular genetic tests. *Eur J Hum Genet.* 2010 Dec;18(12):1276-88

Type	Description	Exemples	Paramètres
A	Quantitatif	Le résultat a n'importe quelle valeur entre deux limites (incluant des décimales)	Hétéroplasmie mitochondriale
B	Catégorique, semi-quantitatif	Les données sont classées dans une catégorie limitée pour donner le résultat final	Détermination du nombre de répétitions de trinuécléotides
C	Catégorique, semi-quantitatif	Les données sont classées dans une d'un nombre <u>réduit</u> de catégories pour donner le résultat final	Détermination du nombre de copies par les intensités relatives de fragments MLPA (déletions et duplications)
D	Qualitatif	Les données peuvent avoir beaucoup de valeurs possibles; le résultat seulement 1 de 2 valeurs	<i>Mutation scanning</i> : présence ou absence de n'importe quelle variante (par séquençage, HRM, ou autres)
E	Qualitatif	Binaire : Les données peuvent avoir seulement une de deux valeurs possibles	Recherche d'une variante spécifique (<i>HFE</i> Cys282Tyr; FV Leiden; SNPs)

Figure 1