

Séquençage du gène *FAH* dans la tyrosinémie héréditaire de type 1

Évaluation pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*

Une production de l'Institut national
d'excellence en santé
et en services sociaux (INESSS)

Direction des services de santé et de
l'évaluation des technologies

Le contenu de cette publication a été rédigé et édité par l'INESSS.

Membres de l'équipe projet

Auteure principale

Anne Bergeron, Ph. D.

Soutien administratif

Annabelle Suire

Coordonnateur scientifique

Éric Potvin, Ph. D.

Directrice

Michèle de Guise, M.D., FRCPC

Équipe de l'édition

Patricia Labelle

Denis Santerre

Hélène St-Hilaire

Sous la coordination de

Renée Latulippe, M.A.

Avec la collaboration de

Josée De Angelis, révision linguistique

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2020

Bibliothèque et Archives Canada, 2020

ISSN 1915-3104 INESSS (PDF) ISBN 978-2-550-86345-8 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2020

La reproduction totale ou partielle de ce document est autorisée à condition que la source soit mentionnée.

Pour citer ce document : Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS).

Séquençage du gène *FAH* dans la tyrosinémie héréditaire de type 1 Évaluation pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Rapport rédigé par A. Bergeron. Québec, Qc : INESSS; 2020. 8 p.

L'Institut remercie les membres de son personnel qui ont contribué à l'élaboration du présent document.

SÉQUENÇAGE DU GÈNE *FAH* DANS LA TYROSINÉMIE HÉRÉDITAIRE DE TYPE 1 (RÉFÉRENCE – 2018.02.001V)

Avis - validité analytique

1. INFORMATION GÉNÉRALE

1.1. Demandeur : Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes responsables de l'analyse dans les laboratoires concernés ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflits d'intérêts

Tous les membres ont participé à la délibération et aucun ne s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

INTRODUCTION

L'avis intitulé Séquençage du gène *FAH* dans la tyrosinémie héréditaire de type I a été transmis au ministre de la Santé et des Services sociaux le 5 novembre 2018 et publié le 4 janvier 2019. Cet avis avait pour objectif d'évaluer l'ajout au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, ci-après nommé *Répertoire*, d'une nouvelle analyse permettant d'identifier la ou les mutations causales de la tyrosinémie héréditaire de type 1 (TH1) chez les patients ayant reçu un diagnostic basé sur des analyses biochimiques et qui ne sont pas homozygotes pour la mutation canadienne-française c. 1062+5G>A, identifier les porteurs chez les apparentés et permettre le diagnostic prénatal.

Dans son avis, l'INESSS a recommandé l'introduction de l'analyse au *Répertoire* en précisant que cette introduction était conditionnelle à la production d'un plan complet et détaillé de validation analytique. L'INESSS demandait également de fournir les résultats lorsqu'ils seraient disponibles.

Suite à la publication de l'avis, le centre demandeur a transmis à l'INESSS des données de validation et l'objectif du présent avis est de présenter ces données.

2. RÉSUMÉ

Les détails de l'évaluation menée en phase I par l'INESSS sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 Résumé exécutif de l'évaluation de l'utilité clinique en phase I

| | Séquençage du gène <i>FAH</i> dans la tyrosinémie héréditaire de type 1 |
|---|---|
| Demandeur | Centre hospitalier universitaire (CHU) Sainte-Justine |
| Objectif de l'analyse | L'analyse proposée consiste à séquencer les exons du gène fumarylacétoacétate hydrolase (<i>FAH</i>) par la technique de Sanger afin d'identifier la ou les mutations causales de la tyrosinémie chez les patients qui ne sont pas homozygotes pour la mutation canadienne-française (c. 1062+5G>A), d'identifier les porteurs chez les apparentés et de permettre le diagnostic prénatal. |
| Situation actuelle | La mesure de la succinylacétone (SAC) est l'analyse de première intention pour le diagnostic de la TH1. La confirmation moléculaire inclut une recherche de la mutation canadienne-française (c. 1062+5G>A) du gène <i>FAH</i> . En présence d'un résultat négatif ou d'un statut non homozygote, une analyse de séquençage du gène est disponible par l'entremise des analyses hors Québec. |
| Nombre d'analyses prévues | Le centre demandeur estime le nombre d'analyses demandées à 5 à 10 par année. Ce chiffre peut varier selon le nombre d'apparentés désirant avoir recours à l'analyse. |
| Validité analytique | Aucune étude de validation spécifique au séquençage du gène <i>FAH</i> par la technique de Sanger n'a été repérée par la recherche documentaire. |
| Impact budgétaire | L'ajout de l'analyse du séquençage du gène <i>FAH</i> au <i>Répertoire</i> pourrait générer une réduction de coûts d'environ 25 000 \$ sur l'ensemble des trois premières années. |
| Positions et orientations d'organismes d'intérêt | Deux groupes d'experts (l'un nord-américain, l'autre européen) expérimentés dans le soin des patients TH1 recommandent l'analyse moléculaire du gène <i>FAH</i> pour la confirmation du diagnostic de TH1, le diagnostic prénatal et le dépistage des apparentés. |
| Enjeux particuliers | L'identification de mutations causales de TH1 peut présenter des enjeux psychosociaux en raison du risque élevé de transmission de la maladie dans les familles affectées ayant recours au dépistage prénatal. Suite à un résultat positif de dépistage, ces familles sont ensuite confrontées à la décision de poursuivre ou d'interrompre une grossesse. Le statut de porteur d'une mutation de TH1 peut également influencer les décisions de couples concernant la planification familiale. |

3. ANALYSE ÉVALUÉE

3.1. Description de la méthode

L'analyse proposée consiste à séquencer des exons (et des jonctions exon/intron) du gène *FAH* par la méthode de Sanger. Cette méthode implique une étape d'amplification qui génère des fragments d'ADN de différentes longueurs. Chaque fragment se termine par un fluorochrome spécifique à chacune des quatre bases de l'ADN. Les fragments sont ensuite séparés par électrophorèse. La séquence des couleurs, ainsi lue, est utilisée pour transcrire le fragment dans son ensemble. La région d'intérêt est séquencée dans les deux directions. L'absence de polymorphismes connus dans les sites de liaison des amorces de même que la qualité des deux séquences sont vérifiées. Un échantillon dépourvu d'ADN sert de contrôle négatif. Les séquences sont analysées à l'aide du logiciel Mutation Surveyor et vérifiées manuellement par deux professionnels, de manière indépendante.

3.2. Homologation

L'analyse proposée par le centre demandeur est une analyse maison.

4. DONNÉES DE VALIDITÉ ANALYTIQUE

4.1. Données fournies par le demandeur

Le laboratoire du CHU Sainte-Justine a séquencé un total de 15 patients atteints de tyrosinémie de type 1. Les mutations (n = 28) pour 14 de ces patients étaient connues. Les mutations d'un patient (patient 2, tableau 2) étaient inconnues et sont en cours d'analyse dans un laboratoire extérieur.

Le demandeur a choisi un échantillonnage permettant de révéler des mutations variées ayant des conséquences distinctes sur différents exons. De même, le nombre de patients homozygotes pour la mutation c. 1062+5G>A a été restreint afin de représenter une gamme variée de mutations sur le gène.

Le laboratoire demandeur a jugé l'échantillonnage de taille adéquate (n = 15) en raison de la faible incidence de la maladie dans la population québécoise.

Le demandeur souligne que, chez les patients atteints de TH1, l'identification de deux mutations pathogéniques en *trans* au séquençage complet constitue un test de concordance en soi puisque le phénotype biochimique est spécifique.

Tableau 2 Résultats de l'étude de validation de la détection de mutations sur le gène *FAH* par séquençage Sanger

| PATIENT | MUTATION 1 | MUTATION 2 | EXONS SÉQUENCÉS | EXON(S) AVEC MUTATION(S) | CONCORDANCE (sens et anti-sens) |
|---------------|-------------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|---------------------------------|
| 1 | c. 1062+5G>A | c. 1090G>T (p.Glu364X) | 12 et 13 | 12 et 13 | oui |
| 2* | c. 1062+5G>A | c. 606+1G>A | tous (1 à 14) | 7 et 12 | oui |
| 3 | c. 1062+5G>A | c. 1090G>T (p.Glu364X) | 12 et 13 | 12 et 13 | oui |
| 4 | c. 1062+5G>A | c. 456G>A (p.Trp152X) | 6 et 12 | 6 et 12 | oui |
| 5 | c. 1069G>T (p.Glu357X) | c. 1069G>T (p.Glu357X) | 13 | 13 | oui |
| 6 | c. 1090G>T (p.E364X) | c. 1141A>G (p.Arg381Gly) | tous (1 à 14)* | 13 | oui |
| 7 | c. 742G>A (p.Gly248Arg) | c.742G>A (p.Gly248Arg) | 9 | 9 | oui |
| 8 | c. 1180+1G>A | C. 1180+1G>A | 13 | 13 | oui |
| 9 | c. 1A>G | c. 1A>G | 1 | 1 | oui |
| 10 | c. 1062+5G>A | c. 47A>T (p.Asn16Ile) | 1 et 12 | 1 et 12 | oui |
| 11 | c. 1062+5G>A | c. 1069G>T (p.Glu357X) | tous (1 à 14) | 12 et 13 | oui |
| 12 | c. 1062+5G>A | c. 974C>T (p.Thr325Met) | 12 | 12 | oui |
| 13 | c. 1062+5G>A | c. 974C>T (p.Thr325Met) | 12 | 12 | oui |
| 14 | c. 1062+5G>A | c. 1062+5G>A | 12 | 12 | oui |
| 15 | c. 1062+5G>A | c. 1062+5G>A | 12 | 12 | oui |
| Ctrl normal 1 | s. o. | s. o. | tous (1 à 14) | s. o. | oui |
| Ctrl normal 2 | s. o. | s. o. | tous (1 à 14) | s. o. | oui† |

Abréviations : Ctrl : contrôle ; s. o. : sans objet

* Génotype non validé dans un laboratoire externe

† Séquencé à deux reprises

Sensibilité

Une sensibilité de 100 % a été obtenue pour le séquençage bidirectionnel des 28 mutations des 14 patients chez qui les mutations étaient connues.

Les résultats du séquençage sont compatibles avec un génotype hétérozygote composé c. 1602+5G>A ; c. 606+1G>A chez l'individu atteint de TH1 chez qui les mutations étaient préalablement inconnues (patient 2, tableau 2). La mutation c. 606+1G>A affecte un site d'épissage. Aucune autre variation possiblement pathogénique n'a été retrouvée au séquençage complet du gène.

Spécificité

Aucune variation possiblement pathogénique supplémentaire n'a été identifiée chez les 14 patients pour qui les mutations étaient connues. De même, aucune

mutation n'a été trouvée chez les contrôles normaux. Ces résultats indiquent une spécificité de 100 % pour les 14 échantillons connus et les 2 contrôles normaux.

Aucune variation possiblement pathogénique supplémentaire à celles décrites précédemment n'a été repérée sur l'ensemble du gène pour le patient 2 (tableau 2).

Fiabilité

Chacune des 30 mutations identifiées a été visualisée dans les 2 sens.

Robustesse

Un des contrôles normaux a été séquencé à deux reprises avec des résultats identiques pour l'ensemble des exons.

4.2. Assurance qualité

Contrôle externe de la qualité

Le laboratoire de biologie moléculaire du CHU Sainte-Justine souscrit à un contrôle externe de la qualité par le College of American Pathologists pour le séquençage de Sanger (CAP-SEQ). Le demandeur rapporte un taux de succès de 100 % à ce programme depuis son inscription en 2014.

Puisqu'aucun programme de contrôle externe de la qualité spécifique au gène *FAH* n'a été repéré, le demandeur a entrepris des démarches (qui se poursuivent) afin de recruter un partenaire pour des échanges inter-laboratoires d'échantillons.

Plan continu de maintien de la qualité

Le laboratoire intègre des mesures de contrôle de la qualité telles que : le design d'amorces spécifiques, le séquençage bidirectionnel avec un score de qualité de base Phred > 30¹ et l'utilisation de contrôles négatifs.

Le laboratoire demandeur précise qu'il procédera au passage à l'aveugle régulier d'échantillons déjà testés.

Par ailleurs, les patients hétérozygotes composés pour la mutation c. 1062+5G>A qui auront été testés par une autre méthode dans un autre laboratoire pourront être analysés pour vérifier la concordance des résultats.

¹ Correspondant à une probabilité d'un appel de base erroné inférieur à 0,1 %.

5. RÉSUMÉ DE LA DÉLIBÉRATION

Les dimensions évaluées par le laboratoire demandeur sont en accord avec le guide des bonnes pratiques sur la validation analytique des tests cliniques effectués par séquençage de type Sanger en génétique humaine [INESSS, 2019]. Les données présentées ont été jugées satisfaisantes par l'ensemble des membres du CSABM.

6. RECOMMANDATION DE L'INESSS

ANALYSE DU SÉQUENÇAGE DU GÈNE *FAH* DANS LA TYROSINÉMIE HÉRÉDITAIRE DE TYPE 1

La recommandation de l'INESSS

Considérant que l'utilité de l'analyse a déjà été reconnue et qu'il s'agit d'une évaluation en phase II, les données de validation analytique ont été jugées :

- Complètes
- Incomplètes

Précisions accompagnant la recommandation

- Aucune précision n'accompagne la recommandation.

RÉFÉRENCE

Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Validation analytique de tests cliniques effectués par séquençage de type Sanger en génétique humaine. Rapport rédigé par Catherine Gravel. Québec, Qc : INESSS; 2019. Disponible à : https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Analyse_biomedicale/INESSS_Sanger.pdf.

*Institut national
d'excellence en santé
et en services sociaux*

Québec 

Siège social

2535, boulevard Laurier, 5^e étage
Québec (Québec) G1V 4M3
418 643-1339

Bureau de Montréal

2021, avenue Union, 12^e étage, bureau 1200
Montréal (Québec) H3A 2S9
514 873-2563

inesss.qc.ca

