

Protocole de réalisation des tests pour les séquenceurs de type SHORT READ

1) Constitution des librairies par les membres du groupe expert

La liste des librairies séquencées lors de la phase des tests et le nombre de RUN sont listés dans l'annexe :
« M_3050_RC_ANNEXE_4_ECHANTILLONS DES TESTS ET RUN »

Si le séquençage sur certains instruments nécessite une ou des adaptations particulières, notamment la circularisation des librairies, les consommables et réactifs seront fournis par le fournisseur correspondant. Les consommables et réactifs proposés par le fournisseur seront les dernières versions commercialisées.

Choix des échantillons fait par le groupe expert :

- de préférences des échantillons déjà analysés dans les laboratoires du groupe expert
- à partir de sang humain
- à partir d'ADN libre circulant
- à partir de liquide amniotique ou de villosités choriales
- à partir d'ADN FFPE
- échantillons présentant des mosaïques
- échantillons ayant dû être analysés par minigène

Liste des librairies tester :

- exome et panel de gène (génétique constitutionnelle et somatique)
- RNA-seq (génétique constitutionnelle et somatique)
- produit PCR (microbiologie)
- ADN entier viral (microbiologie)
- shotgun (microbiologie)

2) Les étapes de la réalisation du test en pratique

- a. Estimation du temps et des étapes nécessaires à la préparation des réactifs
- b. Estimation du temps et des étapes nécessaires à la préparation du pool de librairies
- c. Estimation du temps et de la complexité de la programmation du séquenceur en vue du run (paramètres, échantillons, index...)
- d. Estimation du temps et des étapes nécessaires au chargement des réactifs et consommables dans le séquenceur
- e. Lancement du run

- f. Estimation du temps et des étapes nécessaires à l'issu du run
- g. Estimation du temps nécessaire à l'obtention des données de l'analyse primaire.

3) Critères et cotation des tests

Les runs de séquençage seront notés selon les critères de notation mentionnées à l'article 3.4 du RC. .

4) Validation biologique des essais

Selon la volumétrie des tests à mener, le groupe expert se laisse la possibilité d'avoir l'appui d'expertise de l'association BioInfoDiag (<https://bioinfo-diag.fr/>)

5) Clôture des évaluations et modalités en fonction de la collaboration BioInfoDiag/UniHA

A l'issu des runs de test, les données de séquençage sont transmises au groupe expert. Les membres du groupe testeurs auront accès aux données de séquençage brutes ainsi qu'à toutes les données de qualité correspondantes à leurs tests pour analyser les résultats.

Chaque membre du groupe testeur sera responsable de l'évaluation de ses différents échantillons. Chaque échantillon sera séquençé sur les instruments des candidats, en association avec les membres de son laboratoire (ingénieurs, bio-informaticiens, biologistes).