



Mise en place d'un panel de gènes ciblés pour les hémopathies malignes (NMP-LMMC-SMD-LAM) par NGS : Enjeux Médical / Scientifique et d'Assurance Qualité.

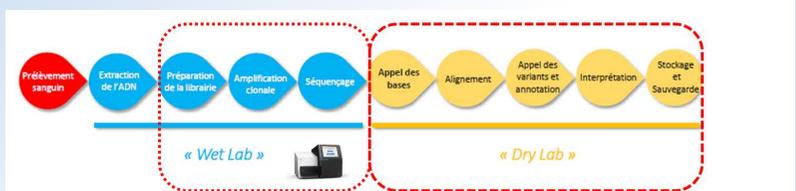
V. Geromel, E. Fayolle, P. Mouty, R. Moulin, N. Batail, M.H. Felix, B. Adde, S. Mouty, L; Raymond, B.Quilichini
Service de Génétique, Eurofins-Biomnis, Lyon

Introduction

La prise en charge biologique des hémopathies malignes, selon l'OMS 2017, nécessite une étroite collaboration entre les disciplines d'hématologie cellulaire, de cytogénétique et de biologie moléculaire. L'analyse de régions d'intérêt au sein d'ADN génomiques par Séquençage Parallèle Massif (ou Séquençage de Nouvelle Génération - NGS) offre la possibilité d'une exhaustivité d'analyse de gènes impliqués dans la prise en charge diagnostique, pronostique et théranostique des hémopathies malignes.

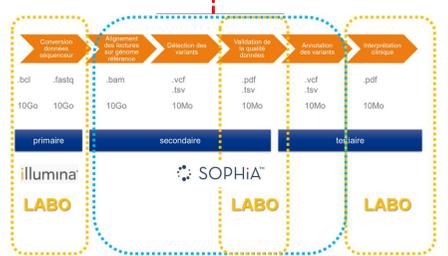
Enjeu médical / scientifique

- 1- **Choix des gènes du panel** selon les recommandations OMS 2017, ELN et Littérature :
→ NMP / Diag1 – NMP / Diag2- NMP / Pro - LMMC – SMD – LAM
Fiches disponibles sur : www.euofins-biomnis.com
- 2- **Choix du process technique (Wet lab / Dry lab) :**



CAPTURE	AVANTAGES	INCONVENIENTS
AMPLICON	Seuil de sensibilité 2% Homogénéité des reads ADN dégradé	Qualité ADN Seuil de sensibilité 5%

	AVANTAGES	INCONVENIENTS
illumina	Erreur: 0,1%	Coût
ThermoFisher Scientific	Coût	Erreur: 1% InDel



- 3- **Compte-Rendu** de l'analyse selon les recommandations
→ Ref NM / Exon / Variation nucléotidique / Altération protéique / VAF / Profondeur
→ Méthode d'analyse / Seuil de détection / Profondeur minimale acceptée / Version des logiciels et génome
- 4- **Facturation RIHN**

Conclusion et Perspectives

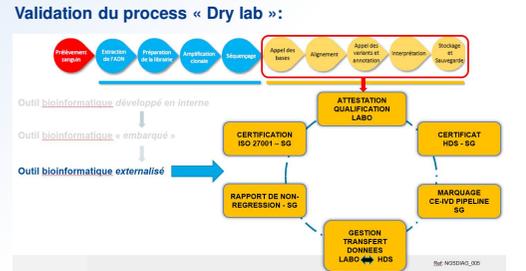
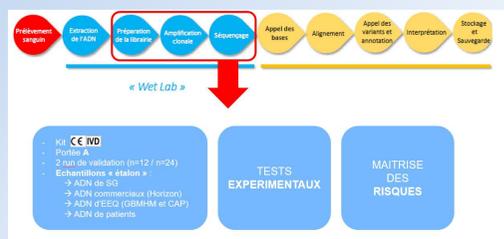
Des panels de gènes spécifiques pour chaque hémopathie ont ainsi pu être proposés par technique de capture kit Kapa Roche® sur une plateforme Illumina® Miseq avec une solution bioinformatique SOPHIA DDM®.

Projet

Mise en place de **6 panels ciblés** de gènes pour les hémopathies myéloïdes (NMP, SMD, LMMC et LAM) avec une solution commerciale CE-IVD (MYELOID SOLUTION™ by SOPHIA GENETICS).
→ Enjeu médical et scientifique
→ Enjeu d'Assurance Qualité (pour une accréditation COFRAC NF ISO 15189)

Enjeu d'Assurance Qualité : technique de paillasse et bioinformatique

- 1- **Choix des critères de performance analytique** pour le dossier de validation de méthode
- 2- **Analyse et maîtrise des risques**



Critères de performance analytique :

Performance Analytique	Test expérimental	Echantillons des tests	Conformité
Comparaison de méthodes	X	Patients (n = 15 (technique RT-PCR/Sanger/HRM)) + 3 ADN commerciaux (Gamme Horizon)	OK
Etendue de mesure et limite de détection	X	→ Analyse VAF (2%) et Profondeur (1000x) Dilution de CCL Horizon (n=2) (1% - 2%) JAK2 c.1849G>T) + Patients (n = 6 avec 1% < VAF JAK2 c.1849G>T< 4%) + ADN commerciaux (n=2)	OK sauf CEBPA Limite de détection : 2% Profondeur : 1000x
Répetabilité	X	Patients (n = 2) + 2 EEQ	OK 100% (98,69% fournisseur)
Fidélité intermédiaire	X	Patients (n = 6)	OK 100% (99,3% fournisseur)
Sensibilité et spécificité	X	n=57	OK 100% (sensibilité 99,86% - spécificité 99,99% fournisseur)
Exactitude	X	EEQ GBM1M (n=3) + cas éducatif non CAP (n=3)	OK
Robustesse et Stabilité des réactifs	X	Suivi CQI / lot de réactifs	OK
Validation transferts informatiques	X	OK	OK



PERSPECTIVES

CQI : un intérêt dans chaque run? D'autres critères de qualité plus pertinents peuvent aussi être exploités

Profondeur d'analyse : un critère à réévaluer pour garder un seuil de sensibilité au moins égal à 1% et optimiser le temps de séquençage

Automatisation de la préparation des librairies pour optimiser la traçabilité et diminuer le risque d'erreur