Organigramme LBMMS SeqOIA

LBM SeqOIA
Biologiste-responsable : Michel Vidaud

Biologistes Responsables de sites
AP-HP. Centre - Université de Paris : Pr S. Romana
AP-HP. Sorbonne Université : Pr E. Leguern
AP-HP. Nord - Université de Paris : Pr C. Boileau
AP-HP. Université Paris Saclay : Pr A. Mantel/ Dr JP Rabes
AP-HP. Hôpitaux universitaires Henri-Mondor : Pr B. Funalot
AP-HP. Paris Seine Saint-Denis : Pr O. Schischmanoff
Gustave Roussy : Dr E. Rouleau
Institut Curie : Pr I. Bièche

Pôle Ressources
Responsable : Anne Vergeau

Ressources Humaines
Gestion économique et financière
Achats / Communication

Assistantes spécialistes

Alice Fievet
Camille Tlemsani
Jennifer Wong

Pôle Qualité
Responsable Qualité : Lucas Ramon
Biologiste : Pierre Blanc

Référent Métrologie : Geoffroy Esnault

Plateforme de Séquençage de très haut débit
Coordinatrice : Chrystel Leroy

e-prescription des examens

Qualification des prélèvements tumoraux

Logistique

Réception des échantillons

Référente : Dominique Pineau

Extraction et qualification des acides nucléiques

Référente : Elodie Edmond

Préparation des librairies et séquençage NGS

Responsable : Sylvain Dugat

Plateforme Bio-Informatique et système d'information

Directeur SI & Bioinformatique : A. Lermine
Responsable SI & Réseaux : C. Barette
Ingénieur SI & Réseaux : N. Derive
Ingénieur Bio-informatique : V. Saillour
Ingénieur Intégration : A. Legendre
Responsable SIL : N. Le Bellec
Ingénieur SIL : R. Chevallier

Plateforme d'interprétation

Maladies rares

Tumeurs solides

Onco-Hématologie

RCP moléculaire d'amont

Inscription RCP
Outils spécifiques de RCP

Validation de l'indication

Interprétation clinico-biologique
Compte rendu

Biologistes LBMMS SeqOIA

e-prescription SPICE
Consentements
Données cliniques

Prescripteurs

SPICE

Analyse et stockage des données

Groupe Bio-info SeqOIA

Prélèvements et envoi des échantillons
LBMMS SeqOIA

BioLogistic
chronopost

Prescripteurs

Séquençage NGS

Réception
Extraction et qualification des AN incluant l'identito-vigilance

SeqOIA-GEN

SEQOIA
Médecine génomique

www.laboratoire-seqoia.fr

SEQOIA
Médecine génomique

POUR LES MALADIES RARE ET LA FOETOPATHOLOGIE

Les consentements du Plan France Médecine Génomique 2025 et les notices d'information

- ✓ Consentement Cas Index majeur
- ✓ Consentement Cas Index mineur
- ✓ Consentement Tiers Apparenté majeur
- ✓ Consentement Cas Index majeur sous tutelle
- ✓ Consentement Cas Index mineur décédé
- ✓ Consentement Foetus décédé
- › Notice d'information génétique constitutionnelle

Les conditions d'acheminement des échantillons de Génétique Constitutionnelle/Maladies rares

- › Conditions d'acheminement à température ambiante des prélèvements sanguins veineux
- › Conditions d'acheminement à température ambiante d'un échantillon d'ADN déjà extrait – Hors Fœtopathologie
- › Conditions d'acheminement à température ambiante d'un échantillon d'ADN déjà extrait – Fœtopathologie
- › Conditions d'acheminement en carboglace des prélèvements tissulaires congelés – Fœtopathologie

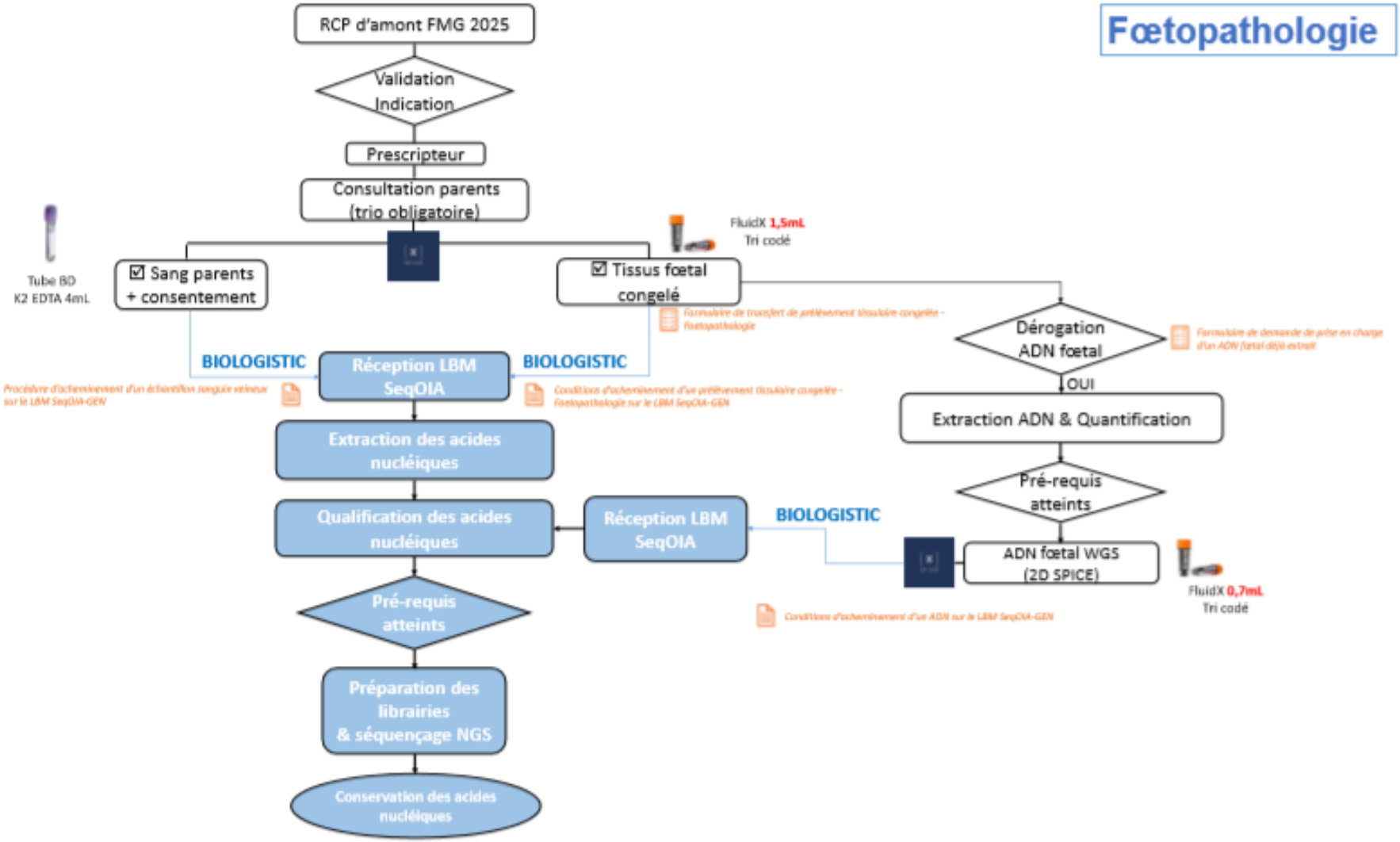
Les formulaires de génétique constitutionnelle incluant la fœtopathologie (Maladies Rares/oncogénétique)

- ✓ Formulaire de demande prise en charge d'un ADN fœtal déjà extrait
- ✓ Formulaire de prise en charge d'un ADN déjà extrait maladies rares – Hors Fœtopathologie
- ✓ Formulaire de transfert de prélèvement tissulaire congelé – Fœtopathologie

Les référents des centres adressant des échantillons d'ADN déjà extrait hors Fœtopathologie

Les référents des centres adressant des échantillons d'ADN déjà extrait – Fœtopathologie

Fœtopathologie



Référents des centres pour la foetopathologie

LMG	Centre	Service	Adresse	Personne contact	Nb de tubes 0,7ml	Nb de tubes 1,5 ml
AP-HP. Sorbonne Université	Hôpital Trousseau	Service de fœtopathologie	Hôpital Trousseau bat Labrouste 26 av. Du Dr Netter 75012 Paris	Dr Mathilde Lefebvre	96	
AP-HP. Nord Université de Paris	Hôpital Robert Debré	Service de Fœtopathologie	Hôpital Robert Debré 48 bd Serrurier 75019 Paris	Dr Fabien Guimiot	96	30
AP-HP. Centre Université de Paris	Hôpital Necker-Enfants Malades	UF Embryo- fœtopathologie - Service HEC	Hôpital Necker-Enfants Malades Tour Lavoisier 3e étage 149 rue de Sèvres 75743 Paris CEDEX 15	Pr Tania Attié-Bitach	96	
AP-HP. Université Paris Saclay	Hôpital Antoine Béclère	Laboratoire de Fœtopathologie	HOPITAL ANTOINE BECLERE 157, rue de la Porte de Trivaux 92141 CLAMART Cedex	Pr Jelena Martinovic	10	30
CHU	CHU Rennes	Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire	Centre Hospitalier Universitaire de Rennes 2 rue Henri Le Guilloux 35033 Rennes cedex 9	Dr Sylvie Jaillard	10	30
CHU	CHU Brest	Service d'Anatomopathologie	CHU MORVAN 5 AVENUE FOCH 29609 BREST	Pr Pascale Marcorelles	10	30
CHU	CHU Tours	Service de Génétique Médicale Unité de Fœtopathologie	CHU BRETONNEAU 2 bis boulevard Tonnellé 37044 TOURS CEDEX	Dr Sophie Blesson	10	30
CHU	CHU Orléans	UF de Fœtopathologie Service de Pathologie	CHR d'Orléans - Hôpital de la Source CS 86709 - 45067 ORLEANS Cedex 2	Dr Béatrice Laudier	10	30
CHU	CHU Lille	Clinique de Génétique clinique	Hôpital Jeanne de Flandre, Bâtiment Modulaire CHU de Lille 59037 Lille cedex	Dr Florence Petit	10	30
CHU	CHU Nantes	Service d'Anatomie Pathologique	CHU de Nantes - Hôtel Dieu 9 quai Moncousu - Plateau technique 1 44093 NANTES Cedex 1	Dr Madeleine Joubert	10	30
CHU	CHU Rouen	Unité de génétique clinique	CHU de Rouen Bâtiment Derocque 32 avenue Gambetta 76031 ROUEN	Dr Anne Claire BREHIN	10	30
CHU	CHU Caen	Laboratoire d'Anatomie Pathologique	CHU de Caen Normandie Avenue de la Côte de Nacre 14033 Caen cedex 9	Dr Arnaud Molin	10	30
CH	Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil	Laboratoire d'Anatomie Pathologique	Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil 40, avenue de Verdun 94010 Créteil	Dr Naima Talhi	10	30
CH	CHI Poissy St-Germain	Service d'Anatomopathologie	Hôpital intercommunal de Poissy 10 rue du Champs Gaillard 78300 Poissy	Dr Aude tessier	10	30

RCP moléculaire d'amont

Inscription RCP
Outils spécifiques de RCP

Validation de l'indication

Interprétation clinico-biologique
Compte rendu

Biologistes LBMMS SeqOIA

e-prescription SPICE
Consentements
Données cliniques

Prescripteurs

SPICE

Analyse et stockage des données

Groupe Bio-info SeqOIA

Prélèvements et envoi des échantillons
LBMMS SeqOIA

BioLogistic
chronopost

Prescripteurs

Séquençage NGS

Réception
Extraction et qualification des AN incluant l'identito-vigilance

SeqOIA-GEN

Groupe Bio-Info SeqOIA : composition et missions

1) Composition :

- Bio-Informaticiens SeqOIA-IT
- Responsable médical, RAQ, coordinatrice Pf Séquençage et consultant
- Biologistes, cliniciens et bio-informaticiens salariés des établissements du GCS

2) Missions :

- Participer à la définition des besoins bio-informatiques pour l'interprétation des données NGS générées par le LBMMS SeqOIA
- Tester les applications bio-informatiques développées par SeqOIA-IT avant mise en production
- Tester les nouvelles fonctionnalités des applications bio-informatiques développées par SeqOIA-IT avant mise en production
- Réaliser une veille scientifique concernant les méthodes innovantes d'interprétation
- Participer à la définition du programme de formation et les modalités d'habilitation initiale des biologistes du LBMMS SeqOIA
- Aider à l'interprétation bio-informatique des données NGS générées

Habilitation initiale des biologistes du LBMMS SeqOIA

1) Aptitude à la validation des examens de génétique constitutionnelle

Agrément en cours par l'agence de la biomédecine du praticien pour l'examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales

L'agrément fonctionne comme un agrégateur de preuves : formation et qualification, expérience professionnelle, travaux et publications, formation continue et mise à jour des compétences, rapports d'activité annuelle.

2) Expertise requise dans la pré-indication

Désignation par le clinicien et/ou le biologiste référent de la pré-indication (cf. dossier déposé à la HAS) et par le biologiste responsable du site concerné.

3) Intégration au LBMMS SeqOIA

Prise de connaissance de l'outil de e-prescription SPICE et des documents clés du LBMMS SeqOIA (www.laboratoire –seqoia.fr)

Formation initiale notamment à l'outil d'interprétation GLEAVES avec attestation correspondante et résultats aux « quizz ».

Questionnaire Google Forms - décembre 2018

Questions Responses 122

Section 1 of 3

Questionnaire BIOLOGISTES INTERPRETATEURS - GENETIQUE CONSTITUTIONNELLE

Form description

Image title

SeqOIA

LA PLATEFORME GÉNOMIQUE
DE PARIS RÉGION

Questionnaire Google Forms – février 2020

Questions Responses 50

Section 1 of 3

Questionnaire BIOLOGISTES INTERPRETEURS GCS SeqOIA - TUMEURS SOLIDES ET ONCO-HEMATOLOGIE

Form description

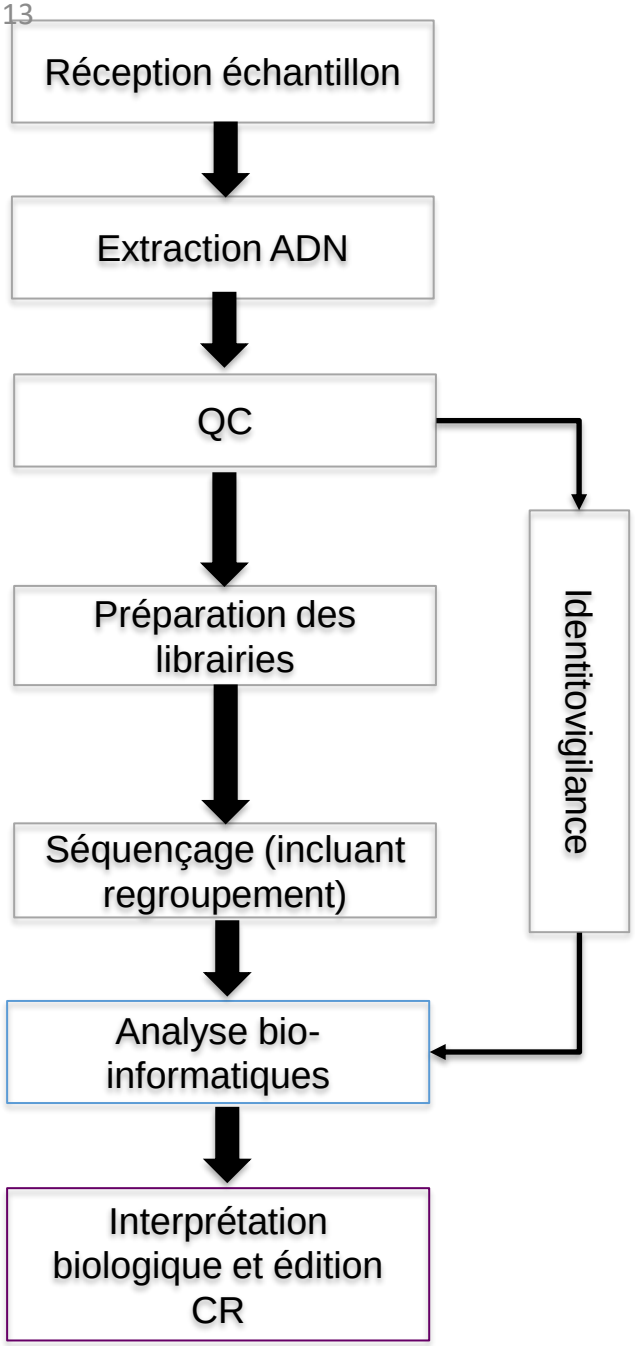
Image title

Application GLEAVES

60 biologistes des trois établissements membres du GCS SeqOIA habilités LBM SeqOIA :

50 biologistes pour l'interprétation des pre-indications Génétique constitutionnelle (14 sessions de formation depuis le 4 octobre 2019)

10 biologistes pour l'interprétation des pre-indications Génétique somatique (2 sessions de formation depuis le 17 juin 2020).



2 jours

- Prescription conforme

1 jour

- [ADN] > 40 ng/uL ; > 5 kb (DQN > 7)

5 jours

Préparation de librairies :
- [Librairies] > 5 nM
- Taille fragments librairies = 650 pb ± 100

Séquençage :
- Quantité de données Pf > 10 milliards de clusters
- Q30 > 90%

Identitovigilance :
- Moyenne des autoconfidences SNP ≥ 99%
- % SNP dont le seuil de confidence est ≥ à 97,5% ≥ 50%

5 jours

- Libération technique si atteinte des métriques qualité :
  - Bases ≥ Q30 ≥ 85Gb
  - % of genome ≥ 15X reads with mapq > 20 ≥ 85%
  - % of callability (WG) ≥ 85%
- Validation identitovigilance (concordance)

7 jours

- Interprétation biologique
- Edition du compte rendu d'examen
- Diffusion des résultats

Stratégies d'interprétation par palier

L'analyse des régions génomiques est effectuée par palier :

Palier 1 : Transcrits de référence des gènes connus pour être impliqués dans la pré-indication, puis

Palier 2 : Gènes connus pour être impliqués dans la pré-indication : analyse des transcrits alternatifs, régions introniques, 5'UTR, 3'UTR et éventuellement régulatrices, puis

Palier 3 : Gènes connus pour être impliqués en pathologie mendélienne : analyse du transcrit canonique, des transcrits alternatifs, des régions introniques, 5'UTR et 3'UTR et éventuellement régulatrices (à ce palier, l'analyse peut être complétée par une approche fondée sur la priorisation des gènes en fonction des anomalies phénotypiques référencées dans Human Phenotype Ontology), puis

Palier 4 : Gènes codant les protéines, non connus pour être impliqués en pathologie humaine : tous les transcrits (en priorisant l'isoforme contenant le ou les variants à effet le plus fort, puis l'isoforme la plus longue), régions introniques, 5'UTR et 3'UTR et éventuellement régulatrices, puis

Palier 5 : Tout autre sous-ensemble ou région génomique.

Politique de validation et de rendu des résultats

La classification des variants est basée sur les critères l'ACMG (PMID : 25741868) et les recommandations du réseau NGS-DIAG (19/12/2017). La nomenclature des gènes et des variants suit respectivement les recommandations HGNC (https://www.genenames.org/) et HGVS (https://varnomen.hgvs.org/).

La classification des variations du nombre copie est basée sur les recommandations nationales du réseau AChro-Puce (http://acpa-achropuce.com/diagnostic-postnatal/).

Seuls les variants pathogènes (classe 5) et probablement pathogènes (classe 4) figurent dans le premier compte rendu d'examen de biologie médicale. Les variants de signification incertaine (classe 3) ne sont rapportés dans le compte-rendu qu'en cas d'intérêt identifié lors de la RCP d'aval.

Les autres variants de classe 3, tout comme les variants hétérozygotes simples de classe 4 ou 5 dans les gènes associés à une hérédité récessive, sont disponibles sur demande du prescripteur.

Les régions non couvertes au seuil technique de validation (profondeur minimale de 20x) ne sont pas réanalysées par une méthode complémentaire.

Les variants rapportés satisfont à des critères de qualité internes, mais ne sont confirmés ni par une méthode complémentaire, ni sur un second prélèvement.

Une demande de réanalyse peut être sollicitée par le prescripteur, sous réserve d'accord préalable du laboratoire.

Performances et limitations de l'examen

PERFORMANCES DE L'EXAMEN :

Le LBM SeqOIA a mis en œuvre une validation de méthode à partir des recommandations du réseau NGS-DIAG (NGSDiag_002_V1, NGSDiag_003_V1, NGSDiag_004_V1). La sensibilité analytique de l'examen est de 97,7% pour les SNV et de 96% pour les indels et la valeur prédictive est de 94,8% (SNV) et de 85,6% pour les indels (résultat de l'évaluation externe de la qualité 2019 ; *EMQN DNA sequencing- NGS- vGermline*).

LIMITATIONS DE L'EXAMEN :

Sensibilité et VPP analytiques ne font l'objet que d'une estimation. Elles peuvent varier localement selon le contenu et la complexité des régions génomiques, ainsi que selon la variabilité de couverture entre échantillons au sein d'un essai.

L'examen ne détecte pas :

- les classes de variants suivantes : expansions de triplets, disomies, variants de l'ADN mitochondrial, variants structuraux (SV) > 50pb, modifications épigénétiques.
- les variants à faible ratio allélique (VAF < 30%).

Au jour de l'examen, les cibles analysées aux paliers 1-4 peuvent être incomplètes en raison de l'évolution continue de la littérature et des bases de données. Le choix et la classification d'un variant peuvent être révisés en raison de l'évolution continue de la littérature, des bases de données et de l'expertise des biologistes.

Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une maladie génétique.

Méthode analytique

MÉTHODE ANALYTIQUE :

Production des séquences : l'ADN génomique est extrait du sang total et purifié sur billes magnétiques (QIAamp DNA Blood Midi Kit®, QIAGEN®) de manière automatisée (QIAsymphony®, QIAGEN®). Sauf indication, la quantification et la qualification des acides nucléiques sont respectivement obtenues sur Spark®, TECAN® et Fragment Analyzer®, Agilent®. Les fragments sont générés par sonication (LE220plus®, Covaris®). La sélection de taille, tout comme les étapes de purification subséquentes, sont réalisées sur billes magnétiques (Sera-Mag magnetic beads®, GE Healthcare®). La préparation de la librairie est effectuée sans amplification (NEBNext® Ultra II End repair/A-tailing module & Ligation module, New England Biolabs®) sur automate (Star®, Hamilton®). La librairie est quantifiée par qPCR (NEBNext® Custom 2X Library Quant Kit Master Mix, New England Biolabs® ; QuantStudio 6 Flex Real-Time PCR System®, Life Technologies®). Les librairies sont séquencées en '*paired-end*' (2 fois 150 cycles) par technologie SBS (Flow Cell S4, NovaSeq 6000®, Illumina®).

Analyse bioinformatique :

Versions : pipeline_trio_wgs v2.0.0; snakefile_analysis_2.0 ; pipeline_config, v.0.0.2 ; cluster_config, v.0.2.0)

Méthodes : les fichiers de séquence (.BCL) sont démultiplexés (bcl2fastq®, v2.20.0.422, Illumina®). L'alignement des fichiers obtenus (.FASTQ) sur le génome de référence (GRCh38.92.fa (GRCh38, release-92, Jul 02 2018, ftp.ensembl.org) utilise une transformée de Burrows-Wheeler (BWA-MEM, 0.7.15). Le marquage des duplicats est effectué par Picard MarkDuplicates (2.8.1), la recalibration du score de qualité des bases et l'appel des variants sont effectués par GATK4 (4.1.0.0) (Broad Institute). Les variants sont annotés au moyen de SNPeff (4.3t) et SnpSift (4.3t) avec :

- Les bases de données suivantes : gnomAD (exomes : v2.1.1, genomes : v3.0), 1000Gemones (phase3, 2013-05-02), dbSNP (151, v20180418), PhastCons (08-May-2015), Clinvar (20190722), COSMIC (v89)
- Les outils de prédiction suivants : dbNSFP (4.0), dbscSNV (v1.1)