

SH FORM 43 NGS-DIAG-note technique		
Date de création : 29/01/2019	Date de révision :	Version : 1
Date de 1 ^{ère} Application : 23/05/2019	N° document : NGSDIAG_003	
Approbation par le board du réseau le 23/05/2019		

Exemple de plan expérimental en validation de méthode initiale

Ce plan indicatif peut correspondre à l'exemple d'un panel dont les échantillons sont multiplexés par 24, techniqué à une fréquence mensuelle, par deux opérateurs, en préparation de librairie manuelle, avec séquençage sur un seul instrument.

Le design expérimental proposé est « minimal » : il est toujours souhaitable de disposer de recul et possible d'étendre les modalités de validation selon l'analyse de risque.

- **RUN 1 :**

- Opérateur 1,
- jeu de réactif 1,
- Echantillons :
 - Echantillon étalon (voir notice technique) techniqué en triplicata
 - CIL (voir notice technique)
 - EEQ
 - Echantillon NIST (NA12878 par exemple, voir lien ci-dessous)
<https://www.coriell.org/1/NIGMS/Collections/NIST-Reference-Materials>
 - ± Echantillon(s) d'intérêt : validés par une méthode orthogonale (Sanger, MLPA,...), contenant un ou plusieurs variants pathogènes d'intérêt (récurrents ou complexes à détecter...)
 - ± Blanc d'essai
 - Echantillons de routine
- Paramètre testés : **répétabilité** (échantillon étalon en triplicata), **variabilité inter-opérateur** (échantillon étalon, opérateur 1), **estimation de la justesse** (CIL), **estimation de l'exactitude** (EEQ), **estimation de la sensibilité analytique, de la VPP** (échantillon NIST, échantillons d'intérêt), **comparaison de méthode** (échantillons d'intérêt vérifiés par méthode orthogonale ou analysés par méthode antérieure), **contamination** (blanc d'essai), **robustesse** (échantillon étalon, jeu de réactif 1)

- **RUN 2 :**

- Opérateur 2,
- Jeu de réactif 1,
- Echantillons :
 - Echantillon étalon
 - ± Blanc d'essai
 - Echantillons de routine
- Paramètres testés : **variabilité inter-opérateur** (échantillon étalon, opérateur 2), **comparaison de méthode** (échantillons d'intérêt vérifiés par méthode orthogonale ou analysés par méthode antérieure), **contamination** (blanc d'essai)

- **RUN 3 :**

- Opérateur 1,
- jeu de réactif 1
- Echantillons :
 - Echantillon étalon
 - ± Blanc d'essai
 - Echantillons de routine
- Paramètres testés : **contamination** (blanc d'essai), **robustesse** (échantillon étalon, temps)

- **RUN 4 :**

- Opérateur 1,
- Jeu de réactif 2 (le cas échéant : prioriser selon analyse de risque)
- Echantillons :
 - Echantillon étalon
 - ± Blanc d'essai
 - Echantillons de routine
- Paramètres testés : **contamination** (blanc d'essai), **robustesse** (échantillon étalon, réactif)