 GD Biotech <small>AGRI-AGRO SOLUTIONS</small>	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

1. Champ d'application

Activité/méthode concernée : *génotypage d'ADN*

Portée d'accréditation :

☐ Fixe

☐ FLEX1

☐ FLEX2

☒ FLEX3

2. Intitulé de méthode

Nom de la méthode : *génotypage sur puces à ADN Infinium XT Illumina*

☐ Méthode manuelle

☒ Méthode semi-automatisée

☐ Méthode automatisée

☐ Autre méthode : *à préciser*

3. Elaboration du développement

3.1. Type de validation

☒ Développement d'une nouvelle méthode

☐ Adoption d'une nouvelle méthode **reconnue**

☐ Adaptation d'une méthode existante (contrainte technique, évolution technique, ...)

référence de la méthode concernée (codification du MOP) : à compléter

☐ Optimisation d'une méthode existante (temps, coût, ...)

référence de la méthode concernée (codification du MOP) : à compléter

☐ Alternative d'une méthode existante

référence de la méthode concernée (codification du MOP) : à compléter

☐ Traitement d'une matrice biologique non validée précédemment : *à préciser*

3.2. Revue de méthode


La revue de méthode s'appuie sur un référentiel :

☒ non

☐ oui : *à préciser*

3.3. Contexte et objectifs

La plateforme GD Scan réalise des génotypages sur puces à ADN Infinium d'Illumina depuis 2010. Depuis octobre 2018, GD Scan a intégré la technologie XT (1 lame avec une densité de 96 puces, génotypage sur 2 jours), que nous utilisons exclusivement depuis fin mars 2022.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

L'objectif de ce dossier est de valider cette méthode de génotypage.

3.4. Sélection de la méthode

Il existe deux technologies possibles sur le marché : celles d'Illumina et Affymetrix.

Historiquement, le consortium Eurogenomics auquel appartient Gènes Diffusion SAS et GD Biotech ne proposait que la seule technologie Illumina nous permettant tout à la fois de :

- bénéficier d'un tarif très compétitif,*
- de disposer d'une partie de la puce pour un design privatif (à notre seule connaissance et usage).*

Par ailleurs, la méthode, déjà en place depuis plusieurs années, a prouvé son efficacité en termes de résultats (peu d'analyses à écarter car inférieures à un Call Rate de 0,95, et une proportion de marqueurs génotypés / total de marqueurs disponibles très satisfaisante, avec une médiane de Call Rate supérieure à 0,99). En outre, cette technologie répond de façon satisfaisante à notre débit annuel d'échantillons.


3.5. Planification - Responsabilités

Pilote de projet : *Ludivine Liétar*

Personnel concerné par la validation de méthode : *Christophe Audebert, Ludivine Liétar, Michèle Boutté, Malika Merbah*

Date d'ouverture de l'enregistrement (JJ/MM/AA) : *30/01/2023*

Responsabilité (Nom-Prénom - Fonction)	Tâche (liste non exhaustive)	Délai de réalisation	Attribuée à (Nom-Prénom - Fonction)
Christophe Audebert Directeur Recherche et Développement	Sélection de la méthode	31/01/2023	Christophe Audebert Directeur Recherche et Développement
Ludivine Liétar Responsable Plateforme de génotypage GD Scan	Développement, analyse et rédaction	31/01/2023	Ludivine Liétar Responsable Plateforme de génotypage GD Scan
Ludivine Liétar Responsable Plateforme de génotypage GD Scan	Réalisation des essais	31/01/2023	Michèle Boutté Malika Merbah Bio Techniciennes
Christophe Audebert Directeur Recherche et	Vérification et validation	31/01/2023	Christophe Audebert Directeur Recherche et

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

Développement			Développement
---------------	--	--	---------------

Exemples de tâches (non exhaustif) : Sélection de la méthode, Développement - définition des essais, Développement - réalisation des essais, Développement - édition et interprétation des résultats, Rédaction - gestion des enregistrements relatifs, Vérification/validation, etc...

4. Contraintes du projet

Liste non exhaustive, détailler les catégories concernées

☒ Techniques : traçabilité matériel et certains réactifs manquante (validation de méthode effectuée sur des résultats déjà existants).

☐ Equipements :

☐ Qualité des matrices/données :

☐ Quantité de matrices/données :

☐ Coût - investissement :

☐ Autre(s) :

5. Caractéristiques de la méthode et performances attendues

5.1. Principe de la méthode


Des étapes successives d'amplification, fragmentation, précipitation, re-suspension, hybridation d'ADN, lavages, staining, rinçage et vernissage des lames contenant les puces et scan de celles-ci sont réalisées. S'ensuit une étape d'analyse des données brutes de scan, lesquelles amènent à l'alimentation de la base de données SNP et à la production de différents rapports.

5.2. Domaine d'application

La présente méthode s'applique à l'ensemble des échantillons d'ADN bovins extraits et reçus au sein de la plateforme de génotypage GD Scan.

5.3. Matrice(s)/Données

Matrice(s) / données concernée(s)	Nature	Conditionnement / emplacement	Conservation pré-traitement
<input type="checkbox"/>	sang total	tube EDTA	température ambiante
<input type="checkbox"/>	bulbes de poils	pochette Kit GD Scan	température ambiante

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

<input type="checkbox"/>	biopsie auriculaire = cartilage	tube avec conservateur (Allflex TSU ou TST)	température ambiante
<input type="checkbox"/>	semence	paillette de conservation de sperme dilué	température ambiante
<input checked="" type="checkbox"/>	ADN	plaques ADN (4 x 96 échantillons)	5 °C +/- 3 °C
<input type="checkbox"/>	métadonnées et données de génotypage	base de données / serveur	-
<input type="checkbox"/>	autre (à préciser) :	(à préciser)	(à préciser)

5.4. Traçabilité des échantillons


Pour chaque essai, l'ensemble des informations liées aux prélèvements (enregistrement et traçabilité) tout au long de la méthode d'extraction d'ADN doit être conservé et l'accès aux informations clairement identifié.

5.5. Paramètres

Le ou les paramètre(s) analysé(s) sont :


☐ quantitatifs (ex : concentration en ADN) : *à préciser*

☒ qualitatifs (ex : Call Rate) : *Call Rate, concordance génotypages*

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

5.6. Critères de performance attendus

Méthode	Nombre d'échantillons	Critères de performance	Répétabilité	Reproductibilité
[] Extraction d'ADN	16 prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront génotypés)	Pour au moins 90 % des échantillons : - [ADN] > 15 ng/μL - Call Rate > 0,95 - Médiane Call Rate > 0,975 Concordance génotypages : 99 % de similarité 580 SNP 8 échantillons issus des tests répétabilité/reproductibilité	16 mêmes prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront génotypés)	16 mêmes prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront génotypés)
[x] Génotypage d'ADN	32 échantillons d'ADN	Pour au moins 90 % des échantillons : - Call Rate > 0,95 pour au moins 90 % des échantillons - Médiane Call Rate > 0,975 Prochain essai interlaboratoire validé (à posteriori) Concordance génotypages : échantillon du test répétabilité/reproductibilité GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN	Procédure de contrôle répétabilité GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN	Procédure de contrôle reproductibilité GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

		ADN, auquel on applique un seuil de 99 % de similarité 580 SNP		
[] Nouveau support de génotypage	2 charolais + 2 holstein déjà génotypés sur version N-1	- Présence 580 SNP ISO (GDB_FI_15_SNP ISO 580) - 99 % de similarité 580 SNP ISO N-1 et N (génotypages valides)	2 mêmes charolais + 2 mêmes holstein déjà génotypés sur version N-1	2 mêmes charolais + 2 mêmes holstein déjà génotypés sur version N-1
[] Autre : à préciser				

Justification de dérogation : -

6. Essais (cette partie est à répliquer autant de fois qu'il y a d'essais)

Essai n°1

6.1. Introduction


L'essai consiste en la validation de 32 génotypages d'échantillons d'ADN déjà réalisés dans les conditions actuelles de génotypage, ~~incluant des échantillons utilisés dans le cadre de l'essai interlaboratoire de septembre 2022 avec le laboratoire d'Agranis~~, et la validation d'une procédure de contrôle répétabilité/reproductibilité dans les mêmes conditions.

6.2. Mode Opérateur

Le mode opératoire est celui en application actuellement GDB_MOP_09_Génotypage_v1.1 (en septembre 2022, celui en application était la version GDB_MOP_09_Génotypage_v1.0, mais seules quelques modifications mineures, ne remettant pas en cause le mode opératoire, ont été apportées).


6.3. Points à développer (liste non exhaustive)

- Matériel (type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...) : s'agissant d'une validation de méthode éditée a posteriori du développement (méthode en place depuis octobre 2018 -> plus de 170 000 génotypages réalisés), un mode opératoire est déjà en application et reprend la liste du matériel nécessaire GDB_MOP_09_Génotypage_v1.1. Par ailleurs, pour la même raison le suivi du matériel utilisé ne peut être documenté car non relevé lors de l'essai.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

- Kits et réactifs : s'agissant d'une validation de méthode éditée à postériori du développement (méthode en place depuis octobre 2018 -> plus de 170 000 géotypages réalisés), un mode opératoire est déjà en application et reprend la liste des kits et réactifs nécessaires GDB_MOP_09_Géotypage_v1.1. Par ailleurs, pour la même raison le suivi de certains lots ne peut être documenté car non relevé lors de l'essai.

Kits et autres réactifs			
Produits / Consommables	Numéro de lot	Spécifications particulières	Stockage
MA1	voir suivi des n° de lot GDB/ENR/20/Géotypage Infinium Illumina - Tracking form - Réponses_v1.0 pour les runs : - 12/09/2022 / 13/09/2022 (répétabilité) - 14/09/2022 / 15/09/2022 (32 échantillons) - 19/09/2022 / 20/09/2022 (reproductibilité)	-	-20°C +/- 5°C
MA2		-	-20°C +/- 5°C
RAM		-	-20°C +/- 5°C
FMS		-	-20°C +/- 5°C
PM1		-	5°C +/- 3°C
Isopropanol		-	Température ambiante
RA1		-	-20°C +/- 5°C
PB2		-	Entre 15°C et 30°C
PB20		-	Entre 15°C et 30°C
XC3		-	Entre 15°C et 30°C
LX1		-	-20°C +/- 5°C
LX2		-	-20°C +/- 5°C
EML		-	-20°C +/- 5°C


 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

SML		-	-20°C +/- 5°C
ATM		-	-20°C +/- 5°C
XC4		-	Entre 15°C et 30°C
Ethanol		-	Température ambiante
BeadChip		-	5°C +/- 3°C

➤ Matrices (quantité, traçabilité échantillon, traitement, spécificités, etc...) :

Echantillons :

ID	CAB	Sexe	Race	TYPE MAT BIOLO	Date réception Labo Douai	Plaque ADN	Puits	Date extraction
FR7122121254	GD371046	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	A01	14/09/2022
FR7122121253	GD371045	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	B01	14/09/2022
FR7122121251	GD371044	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	C01	14/09/2022
FR7122121249	GD371043	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	D01	14/09/2022
FR7122121248	GD371042	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	E01	14/09/2022
FR7122121247	GD371041	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	F01	14/09/2022
FR7122121246	GD371040	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	G01	14/09/2022
FR7122121245	GD371039	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	H01	14/09/2022
FR7122121244	GD371038	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	A02	14/09/2022
FR7122121242	GD371037	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	B02	14/09/2022
FR7122121240	GD371036	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	C02	14/09/2022
FR7122121239	GD371035	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	D02	14/09/2022
FR7122121271	GD371052	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	E02	14/09/2022
FR7122121266	GD371051	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	F02	14/09/2022
FR7122121264	GD371049	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	G02	14/09/2022

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

FR7122121262	GD371048	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	H02	14/09/2022
FR7122121261	GD371047	2	38	Poil	12/09/2022	SAM220915	A03	14/09/2022
FR0204069448	GD376691	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	B03	14/09/2022
FR0204069449	GD376692	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	C03	14/09/2022
FR0204069450	GD376693	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	D03	14/09/2022
FR0204069451	GD376694	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	E03	14/09/2022
FR0204069453	GD376695	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	F03	14/09/2022
FR0204069454	GD376696	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	G03	14/09/2022
FR0204069455	GD376697	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	H03	14/09/2022
FR0204069441	GD376685	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	A04	14/09/2022
FR0204069442	GD376686	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	B04	14/09/2022
FR0204069444	GD376687	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	C04	14/09/2022
FR0204069445	GD376688	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	D04	14/09/2022
FR0204069446	GD376689	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	E04	14/09/2022
FR0204069447	GD376690	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	F04	14/09/2022
FR0204069457	GD376699	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	G04	14/09/2022
FR0204069459	GD376700	2	66	Poil	12/09/2022	SAM220915	H04	14/09/2022


* Échantillons utilisés dans le cadre de l'essai interlaboratoire avec le laboratoire d'Agranis en septembre 2022.

Contrôle répétabilité/reproductibilité :

ID	CAB	Sexe	Race	TYPE MAT BIOLO	Date réception Labo Douai	Plaque ADN	Puits	Date extraction
FR5455864557	GD422516	2	66	Sang	07/09/2022	SAM220907	A08	07/09/2022

Illumina recommande d'utiliser des échantillons d'ADN à une concentration en ADN initiale de 50 ng/μL.

Hors il n'y a pas de précisions quant à la nature du prélèvement, ni quant à la méthode d'extraction à employer. De plus, nous savons que le génotypage permet finalement de mettre en évidence les éventuels échecs d'extraction grâce au Call Rate. Ainsi, une concentration en

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

ADN insuffisante renvoie un Call Rate non satisfaisant $< 0,95$ avec des intensités de signal faibles, alors qu'une concentration en ADN suffisante renvoie un Call Rate satisfaisant $> 0,95$ avec des intensités de signal correctes, ce qui permet de valider les étapes précédentes dont celle d'extraction d'ADN (Cf. GDB_ENR_57_Etude relative à la suppression du dosage post-extraction_230110_01_v1.0).

Nous avons donc fait le choix de faire abstraction d'une quantité d'ADN minimale requise pour les essais.

De même, il n'y a pas de recommandations Illumina concernant la qualité des échantillons d'ADN requise, et nous savons que le génotypage permet finalement de mettre en évidence les éventuels échantillons d'ADN de mauvaise qualité grâce au Call Rate, de la même façon qu'évoqué ci-dessus.


Nous avons donc fait le choix de faire abstraction de la notion de qualité des échantillons d'ADN extraits pour les essais.

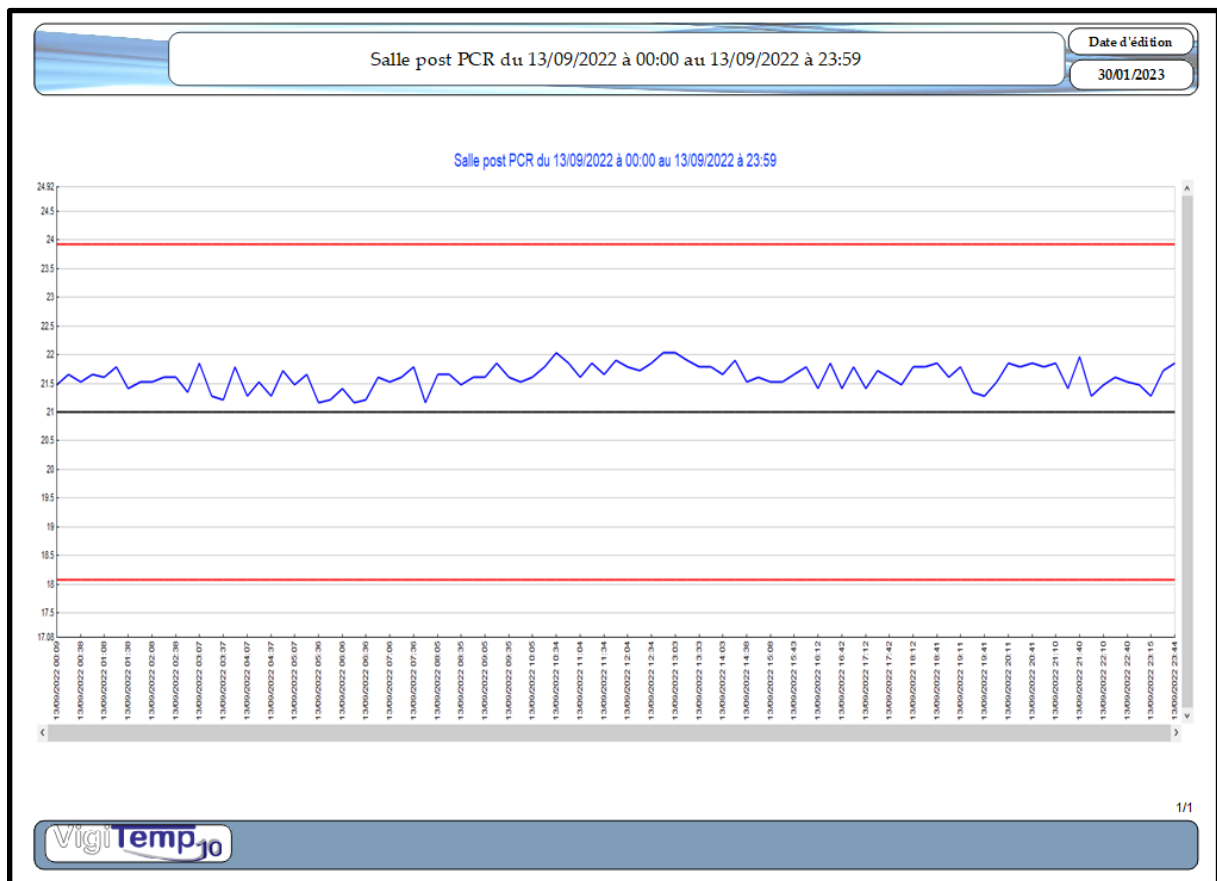
- Milieu : géotypages réalisés dans les salles Pré-PCR génotypage et Post-PCR génotypage dont la température est maîtrisée pour cette dernière ($21^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$).
- Main d'oeuvre :
 - géotypage échantillons : Michèle Boutté les 14/09/2023 et 15/09/2023,
 - géotypage contrôles répétabilité/reproductibilité : Malika Merbah les 12/09/2022 et 13/09/2022, et les 19/09/2022 et 20/09/2022,
 - analyses Genome Studio : Ludivine Liétar les 16/09/2023 et 23/09/2022.

6.4. Résultats de l'essai - Conclusion


- Milieu :

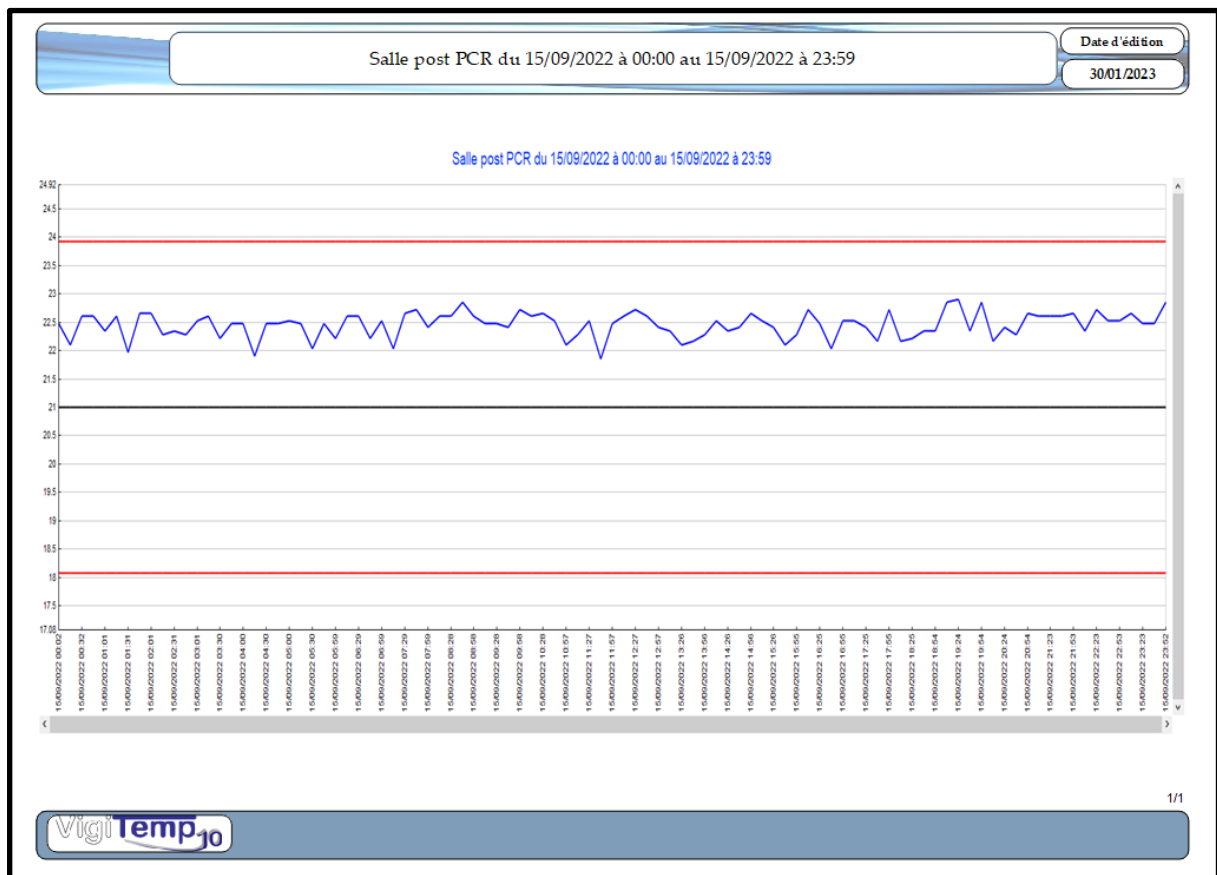
- Variation de température 13/09/2022

	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT




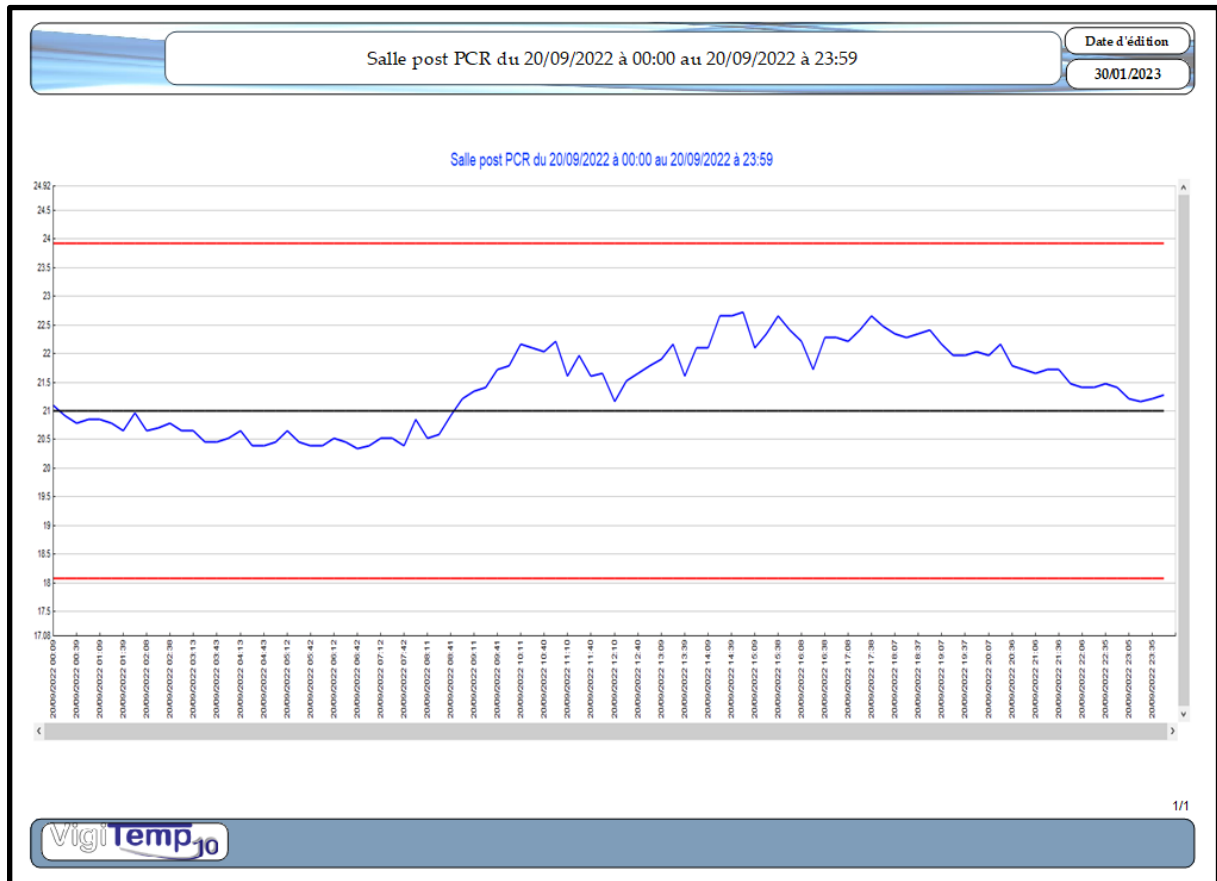
- Variation de température 15/09/2022

	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT




- Variation de température 20/09/2022

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT



➤ *Echantillons :*

ID	CAB	ID génotypage	Date début génotypage	Date de scan	Call Rate
FR7122121254	GD371046	WG6956005-MSA7_A01	14/09/2022	15/09/2022	0,9993472
FR7122121253	GD371045	WG6956005-MSA7_B01	14/09/2022	15/09/2022	0,9994309
FR7122121251	GD371044	WG6956005-MSA7_C01	14/09/2022	15/09/2022	0,999615
FR7122121249	GD371043	WG6956005-MSA7_D01	14/09/2022	15/09/2022	0,9993974
FR7122121248	GD371042	WG6956005-MSA7_E01	14/09/2022	15/09/2022	0,999615
FR7122121247	GD371041	WG6956005-MSA7_F01	14/09/2022	15/09/2022	0,9994644
FR7122121246	GD371040	WG6956005-MSA7_G01	14/09/2022	15/09/2022	0,9995481
FR7122121245	GD371039	WG6956005-MSA7_H01	14/09/2022	15/09/2022	0,9995313

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT


FR7122121244	GD371038	WG6956005-MSA7_A02	14/09/2022	15/09/2022	0,999297
FR7122121242	GD371037	WG6956005-MSA7_B02	14/09/2022	15/09/2022	0,9991463
FR7122121240	GD371036	WG6956005-MSA7_C02	14/09/2022	15/09/2022	0,999364
FR7122121239	GD371035	WG6956005-MSA7_D02	14/09/2022	15/09/2022	0,9994309
FR7122121271	GD371052	WG6956005-MSA7_E02	14/09/2022	15/09/2022	0,9994476
FR7122121266	GD371051	WG6956005-MSA7_F02	14/09/2022	15/09/2022	0,9991631
FR7122121264	GD371049	WG6956005-MSA7_G02	14/09/2022	15/09/2022	0,999364
FR7122121262	GD371048	WG6956005-MSA7_H02	14/09/2022	15/09/2022	0,9994476
FR7122121261	GD371047	WG6956005-MSA7_A03	14/09/2022	15/09/2022	0,9987948
FR0204069448	GD376691	WG6956005-MSA7_B03	14/09/2022	15/09/2022	0,9995146
FR0204069449	GD376692	WG6956005-MSA7_C03	14/09/2022	15/09/2022	0,9995146
FR0204069450	GD376693	WG6956005-MSA7_D03	14/09/2022	15/09/2022	0,9996485
FR0204069451	GD376694	WG6956005-MSA7_E03	14/09/2022	15/09/2022	0,9995648
FR0204069453	GD376695	WG6956005-MSA7_F03	14/09/2022	15/09/2022	0,9995648
FR0204069454	GD376696	WG6956005-MSA7_G03	14/09/2022	15/09/2022	0,9995313
FR0204069455	GD376697	WG6956005-MSA7_H03	14/09/2022	15/09/2022	0,9994978
FR0204069441	GD376685	WG6956005-MSA7_A04	14/09/2022	15/09/2022	0,9981253
FR0204069442	GD376686	WG6956005-MSA7_B04	14/09/2022	15/09/2022	0,9995815
FR0204069444	GD376687	WG6956005-MSA7_C04	14/09/2022	15/09/2022	0,9994141
FR0204069445	GD376688	WG6956005-MSA7_D04	14/09/2022	15/09/2022	0,999615
FR0204069446	GD376689	WG6956005-MSA7_E04	14/09/2022	15/09/2022	0,9995146
FR0204069447	GD376690	WG6956005-MSA7_F04	14/09/2022	15/09/2022	0,9995648
FR0204069457	GD376699	WG6956005-MSA7_G04	14/09/2022	15/09/2022	0,9994309
FR0204069459	GD376700	WG6956005-MSA7_H04	14/09/2022	15/09/2022	0,9994811

Version de puce : EuroG_MDv3_XT_GD

Projet Génome Studio : indexation_160922

Fichier de clustering utilisé : MDv3_XT_bovin_190822.egt

Chemin d'accès du projet Génome Studio : serveur gna2gdlabo

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

\\gna2gdlabo.genesdiffusion.com\Labo\genotypages\Genotypages_SAM\SAM_MD_v3\Indexations\2022\indexations_septembre_2022\indexation_160922

Référence historique Galaxy : Genotypages_sem37_2022

Informations retranscrites dans le [Fichier suivi échantillons 2023 - Gènes Diffusion](#)

➤ Contrôles répétabilité/reproductibilité :

ID	CAB	ID géotypage	Date début géotypage	Date de scan	Call Rate
FR5455864557	GD422516	WG6955997-MSA7_A08	12/09/2022	13/09/2022	0,9995146
FR5455864557	GD422516	WG6955997-MSA7_B08	12/09/2022	13/09/2022	0,9994644
FR5455864557	GD422516	WG6955601-MSA7_C08	19/09/2022	20/09/2022	0,9994811

Version de puce : EuroG_MDv3_XT_GD

Projets Génome Studio : indexation_160922 et indexation_230922

Fichier de clustering utilisé : MDv3_XT_bovin_190822.egt


Chemin d'accès du projet Génome Studio : serveur gna2gdlabo
\\gna2gdlabo.genesdiffusion.com\Labo\genotypages\Genotypages_SAM\SAM_MD_v3\Indexations\2022\indexations_septembre_2022\indexation_160922 et ... \indexation_230922

Référence historique Galaxy : Genotypages_sem37_2022 et Genotypages_sem38_2022

Informations retranscrites dans le [Fichier suivi échantillons 2022 - Gènes Diffusion](#)

➤ Interprétation :

- Spécifications relatives au milieu validées
- Call Rate > 0,95 pour l'ensemble des échantillons
- Médiane Call Rate 32 échantillons = 0,99947275 > 0,975
- ~~Essai interlaboratoire validé, GDB_FORM_20_Essai interlaboratoire - GD Biotech - 09-2022 - v1.0~~
- Contrôle répétabilité validé (rapport accessible depuis GD Board) :

	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

QC Répétabilité

QC Repeta : RUN_2022SEM37_01 : valide

Télécharger au Format PDF

INFORMATIONS

	REFERENCE	COMPARAISON
Plaque génotypage	WG6955997-MSA7	WG6955997-MSA7
Position génotypage	A08	B08
Code barre	GD422516	GD422516
Date de scan	2022-09-13	2022-09-13
Format de puce	MD_v3	MD_v3
Projet	11	44
Flag	2	2
Callrate puce	0.999515	0.999464
Callrate 580	1	0.998276
Lisible	580	579
Illisible	0	1

BILAN

perte : 1
conclusion : valide
concordant : 579
discordant : 0

Callrate 580 Référence : 1
Callrate 580 Comparaison : 0.998276
Indice de concordance : 99.82758620689656

Le contrôle de répétabilité est **VALIDE**

- Contrôle reproductibilité validé (rapport accessible depuis GD Board) :

QC Reproductibilité

QC Repro : RUN_2022SEM38_01 : valide

Télécharger au Format PDF

INFORMATIONS

	REFERENCE	COMPARAISON
Plaque génotypage	WG6955997-MSA7	WG6955601-MSA7
Position génotypage	A08	C08
Code barre	GD422516	GD422516
Date de scan	2022-09-13	2022-09-20
Format de puce	MD_v3	MD_v3
Projet	11	41
Flag	4	2
Callrate puce	0.999515	0.999481
Callrate 580	1	1
Lisible	580	580
Illisible	0	0

BILAN

perte : 0
conclusion : valide
concordant : 580
discordant : 0


Callrate 580 Référence : 1
Callrate 580 Comparaison : 1
Indice de concordance : 100

Le contrôle de reproductibilité est **VALIDE**

➤ Conclusion

L'essai répond aux critères de performance attendus et met en évidence l'obtention de résultats qualitativement très satisfaisants.

7. Analyse

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

7.1. Facteurs de risques

Matériel : température des fours et des incubateurs à microplaques lors des incubations non maîtrisée (-> achat thermomètres mini/maxi en prévision pour les fours), : **intercontaminations liées au matériel (réglage, dysfonctionnement, etc...)**

Matière : RAS.

Méthode : clustering sous Genome Studio.

Milieu : : **intercontaminations liées à l'environnement** , coupure de courant pouvant influencer sur la température ambiante (climatisation non reliée au circuit ondulé).

Main d'œuvre : non respect des modes opératoires / **erreur humaine (intercontaminations, oubli de réactif, etc...)**, mauvaise gestion/conservation de réactifs.

7.2. Incertitudes

L'intercontamination définie comme le mélange d'ADN provenant de plus d'un échantillon associé à plusieurs individus (mélange d'ADN, mélange de matrices biologiques etc.) a un impact drastique au niveau du CallRate l'amenant à niveau nettement inférieur à 0,95 de CallRate. Ainsi, par essence, un CallRate > 0,95 assure du fait qu'il n'y ait pas d'intercontamination pour toute analyse réalisée satisfaisant à ce critère de performance. En ce sens, les critères de performance définis dans la présente validation de méthode permettent de vérifier l'absence d'intercontamination au cours du process analytique.

De plus, le laboratoire a mis en place des dispositions afin de répondre aux exigences relatives à : équipements, objets d'essai, installations, conditions ambiantes, formation, habilitation et suivi de maintien de compétence de son personnel, la validité des résultats, et ainsi minimiser voire supprimer l'impact des risques identifiés au sein de son process d'extraction d'ADN.

Liste des documents :

GDB_PRO_29_Gestion des équipements

GDB_PRO_30_Manutention des objets d'essais

GDB_PRO_09_Consignes générales d'Hygiène et Sécurité appliquées à l'activité de la Plateforme de Génotypage haut-débit

GDB_PRO_27_Gestion du personnel

GDB_PRO_06_Contrôle de reproductibilité et répétabilité de la phase d'extraction


GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité _ méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN

GDB_PRO_16_Contrôle des performances du génotypage réalisé par méthode des puces à ADN _ essai interlaboratoire

La méthode de génotypage étant qualitative, il n'y a pas d'incertitudes de mesures pouvant être déterminées.


7.3. Robustesse

Non vérifiée.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT


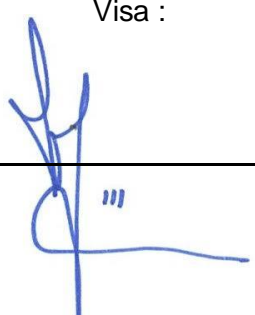
7.4. Conclusion


La méthode de génotypage sur puces à ADN Infinium XT d'Illumina, telle que définie dans l'essai n°1 répond aux critères de performance attendus et met en évidence l'obtention de résultats qualitativement très satisfaisants (médiane Call Rate = 0,99947275). Elle est répétable et reproductible, selon nos critères.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

8. Sélection, vérification et validation de méthode

Partie réservée au Directeur Recherche et Développement

Référence du présent enregistrement de validation de méthode : GDB_FORM_53_Validation de méthode_Génotypage sur puces à ADN Infinium XT Illumina_230130_01_v1.0		
Intitulé de la méthode : <i>génotypage sur puces à ADN Infinium XT Illumina</i> Référence de l'essai sélectionné : <i>Essai n°1</i>		
Vérification de la méthode : <input checked="" type="checkbox"/> approuvée (<i>enregistrements produits suffisants - critères de performance atteints et conformes aux exigences du client</i>) <input type="checkbox"/> non approuvée Signature Directeur Recherche et Développement : Nom : Christophe Audebert Date : 07/02/2023 Visa :		
Validation de la méthode : <u>Conditions</u>  Domaine d'application : <i>l'ensemble des échantillons d'ADN bovins extraits et reçus au sein de la plateforme de génotypage GD Scan.</i> Ressources humaines : <ul style="list-style-type: none"> - <i>personnel autorisé : personnel de la plateforme GD Scan habilité au génotypage d'ADN</i> - <i>personnel formateur : personnel de la plateforme GD Scan habilité au génotypage d'ADN</i> - <i>personnel à former/habiller : RAS</i> - <i>autre : à préciser</i> Autres conditions : <i>Information au client</i> Aptitude à l'emploi : <input checked="" type="checkbox"/> accordée , mise en application à compter du : 08/02/2023 <input type="checkbox"/> non accordée , commentaires : Signature Directeur Recherche et Développement : Nom : Christophe Audebert Date : 07/02/2023 Visa : <div style="text-align: right; margin-top: 20px;">  </div>		

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

Partie réservée au Directeur Recherche et Développement

Référence du présent enregistrement de validation de méthode : GDB_FORM_53 Validation de méthode_Génotypage sur puces à ADN Infinium XT Illumina_230130_02_v2.0		
Intitulé de la méthode : <i>génotypage sur puces à ADN Infinium XT Illumina</i> Référence de l'essai sélectionné : <i>Essai n°1</i>		
Vérification de la méthode : <input checked="" type="checkbox"/> approuvée (<i>enregistrements produits suffisants - critères de performance atteints et conformes aux exigences du client</i>) <input type="checkbox"/> non approuvée		
Signature Directeur Recherche et Développement : Nom : Christophe Audebert Date : 12/07/2024 Visa :		
Validation de la méthode : <u>Conditions</u> Domaine d'application : <i>l'ensemble des échantillons d'ADN bovins extraits et reçus au sein de la plateforme de génotypage GD Scan.</i> Ressources humaines : <ul style="list-style-type: none"> - <i>personnel autorisé : personnel de la plateforme GD Scan habilité au génotypage d'ADN</i> - <i>personnel formateur : personnel de la plateforme GD Scan habilité au génotypage d'ADN</i> - <i>personnel à former/habiller : RAS</i> - <i>autre : à préciser</i> Autres conditions : <i>Information au client</i>		
Aptitude à l'emploi : <input checked="" type="checkbox"/> accordée , mise en application à compter du : 08/02/2023 <input type="checkbox"/> non accordée , commentaires :		
Signature Directeur Recherche et Développement : Nom : Christophe Audebert Date : 12/07/2024 Visa :		