 <b>GD Biotech</b> <small>AGRI-AGRO SOLUTIONS</small>	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
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.*

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
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*

<b>Responsabilité (Nom-Prénom - Fonction)</b>	<b>Tâche (liste non exhaustive)</b>	<b>Délai de réalisation</b>	<b>Attribuée à (Nom-Prénom - Fonction)</b>
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

	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

Développement			Développement
Ludivine Liétar Responsable Plateforme de génotypage GD Scan	Réalisation des essais Version 230130_02	12/07/2024	Ludivine Liétar Responsable Plateforme de génotypage GD Scan Michèle Boutté Karine Le Roux Mélissandre Barbet Bio Techniciennes Pierre Bouvelle Responsable SI
Christophe Audebert Directeur Recherche et Développement	Vérification et validation Version 230130_02	12/07/2024	Christophe Audebert Directeur Recherche et Développement
Karine Le Roux Réfèrent qualité	Développement, analyse et rédaction ➔ Version 230130_03 - Ajout de la justification de vérification d'absence d'intercontamination, - Complétude des facteurs de risque identifiés et des moyens mis en place Ajout des dates des essais inter-laboratoires	04/11/2024	Karine Le Roux Réfèrent qualité
Christophe Audebert Directeur Recherche et Développement	Vérification et validation Version 230130_03	04/11/2024	Christophe Audebert Directeur Recherche et 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*

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

[ ] Equipements :

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

- [ ] 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
[ ]	sang total	tube EDTA	température ambiante
[ ]	bulbes de poils	pochette Kit GD Scan	température ambiante
[ ]	biopsie auriculaire = cartilage	tube avec conservateur (Allflex TSU ou TST)	température ambiante
[ ]	semence	paillette de conservation de sperme dilué	température ambiante
[x]	ADN	plaques ADN (4 x 96 échantillons)	5 °C +/- 3 °C
[ ]	métadonnées et données de génotypage	base de données / serveur	-
[ ]	autre (à préciser) :	(à préciser)	(à préciser)

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

#### 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*

[x] qualitatifs (ex : Call Rate) : *Call Rate, concordance génotypages*

	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
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 géotypés)	<p>Pour au moins 90 % des échantillons :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- [ADN] &gt; 15 ng/μL</li> <li>- Call Rate &gt; 0,95</li> </ul> <p>Médiane Call Rate &gt; 0,975</p> <p>Concordance géotypages : 99 % de similarité 580 SNP 8 échantillons issus des tests répétabilité/reproductibilité</p> <p>Vérification d'absence d'inter-contamination</p> <p>Essai inter-laboratoire validé</p>	16 mêmes prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront géotypés)	16 mêmes prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront géotypés)
[x] Géotypage d'ADN	32 échantillons d'ADN	<p>Pour au moins 90 % des échantillons :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Call Rate &gt; 0,95 pour au moins 90 % des échantillons</li> </ul> <p>Médiane Call Rate &gt; 0,975</p> <p>Concordance géotypages : échantillon du test répétabilité/reproductibilité</p> <p>GDB_PRO_05_Con</p>	<p>Procédure de contrôle répétabilité</p> <p>GDB_PRO_05_</p> <p>Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de géotypage haut-débit par puces à ADN</p>	<p>Procédure de contrôle reproductibilité</p> <p>GDB_PRO_05_</p> <p>Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de géotypage haut-débit par puces à ADN</p>

	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

		<p>trôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN, auquel on applique un seuil de 99 % de similarité 580 SNP</p> <p>Vérification d'absence d'inter-contamination</p> <p>Essai inter-laboratoire validé</p>		
[ ] Nouveau support de génotypage	2 charolais + 2 holstein déjà génotypés sur version N-1	<p>Présence 580 SNP ISO (GDB_FI_15_SNP ISO 580)</p> <p>Concordance génotypages : 99 % de similarité 580 SNP ISO N-1 et N (génotypages valides)</p>	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)

### 6.1. Essai n°1

#### 6.1.1. Introduction

*L'essai consiste en la validation de 32 génotypages d'échantillons d'ADN déjà réalisés dans les conditions actuelles de génotypage, et la validation d'une procédure de contrôle répétabilité/reproductibilité dans les mêmes conditions.*

	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

### 6.1.2. 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).*

### 6.1.3. Points à développer (liste non exhaustive)

- Matériel (type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...) : s'agissant d'une validation de méthode éditée à 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.
- Kits et réactifs : s'agissant d'une validation de méthode éditée à 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 des kits et réactifs nécessaires GDB\_MOP\_09\_Génotypage\_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/Génotypage 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




 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

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
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

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

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
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

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

*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 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.*

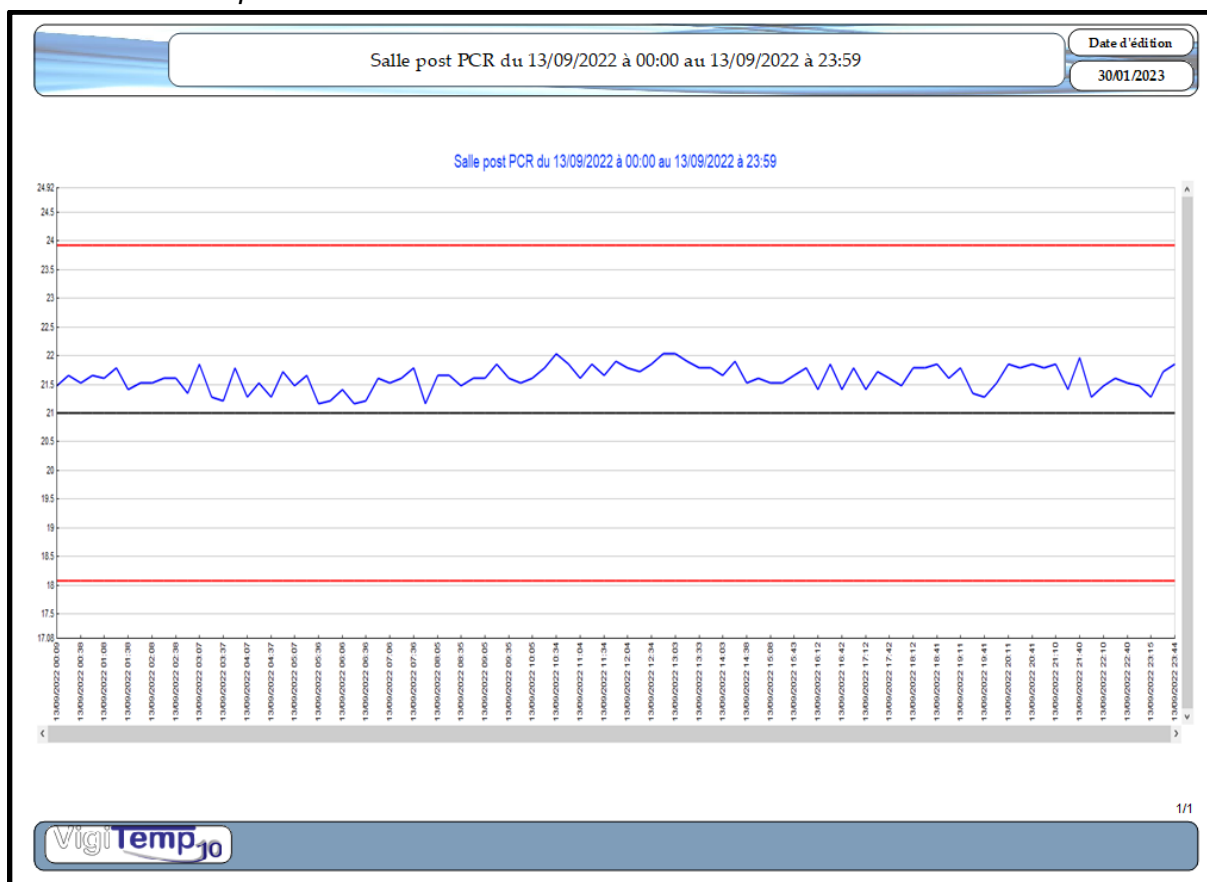
- Milieu : génotypages réalisés dans les salles Pré-PCR génotypage et Post-PCR génotypage dont la température est maîtrisée pour cette dernière (21°C +/- 3°C).
- Main d'oeuvre :
  - génotypage échantillons : Michèle Boutté les 14/09/2023 et 15/09/2023,
  - génotypage contrôles répétabilité/reproductibilité : Malika Merbah les 12/09/2022 et 13/09/2022, et les 19/09/2022 et 20/09/2022,
  - analyses Genome Studio : Ludvine Liétar les 16/09/2023 et 23/09/2022.

#### **6.1.4. Résultats de l'essai - Conclusion**


- Milieu :

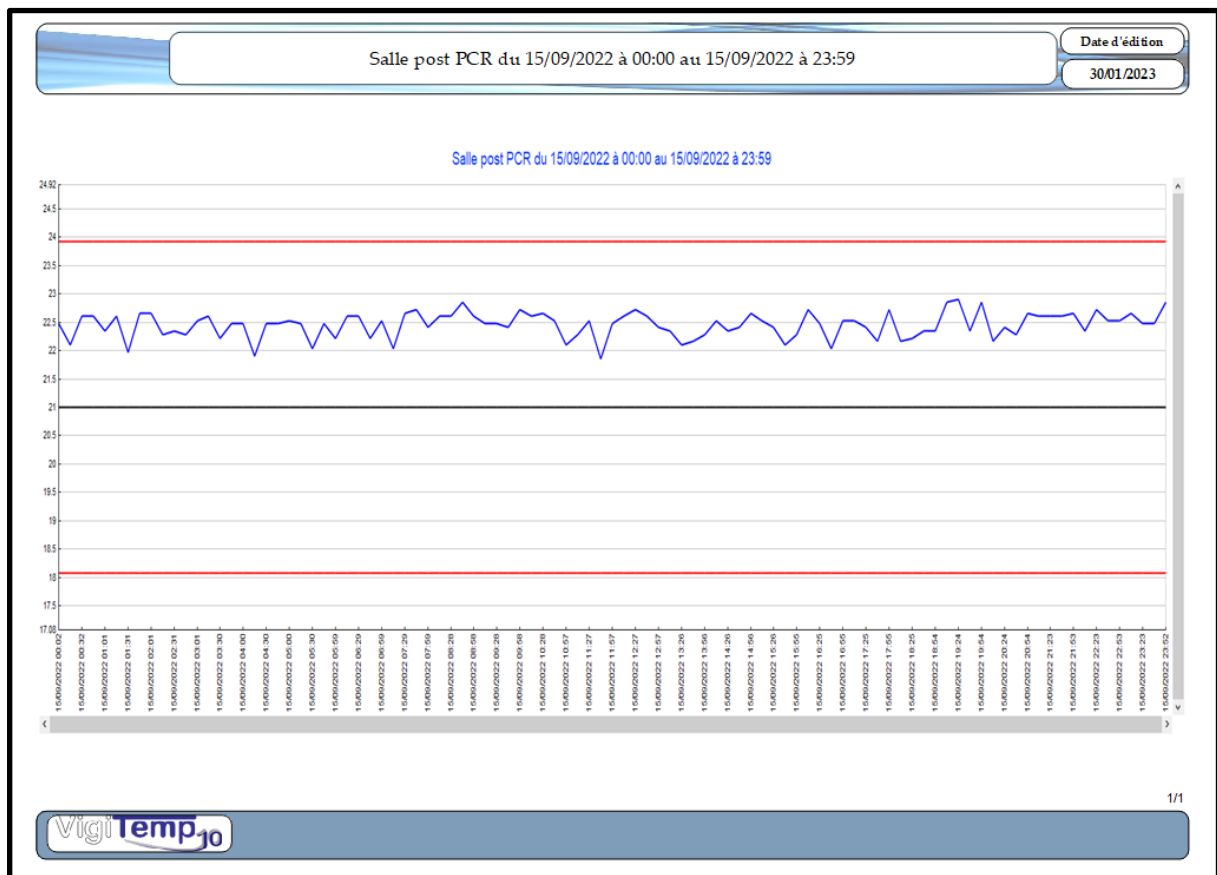
	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

- Variation de température 13/09/2022




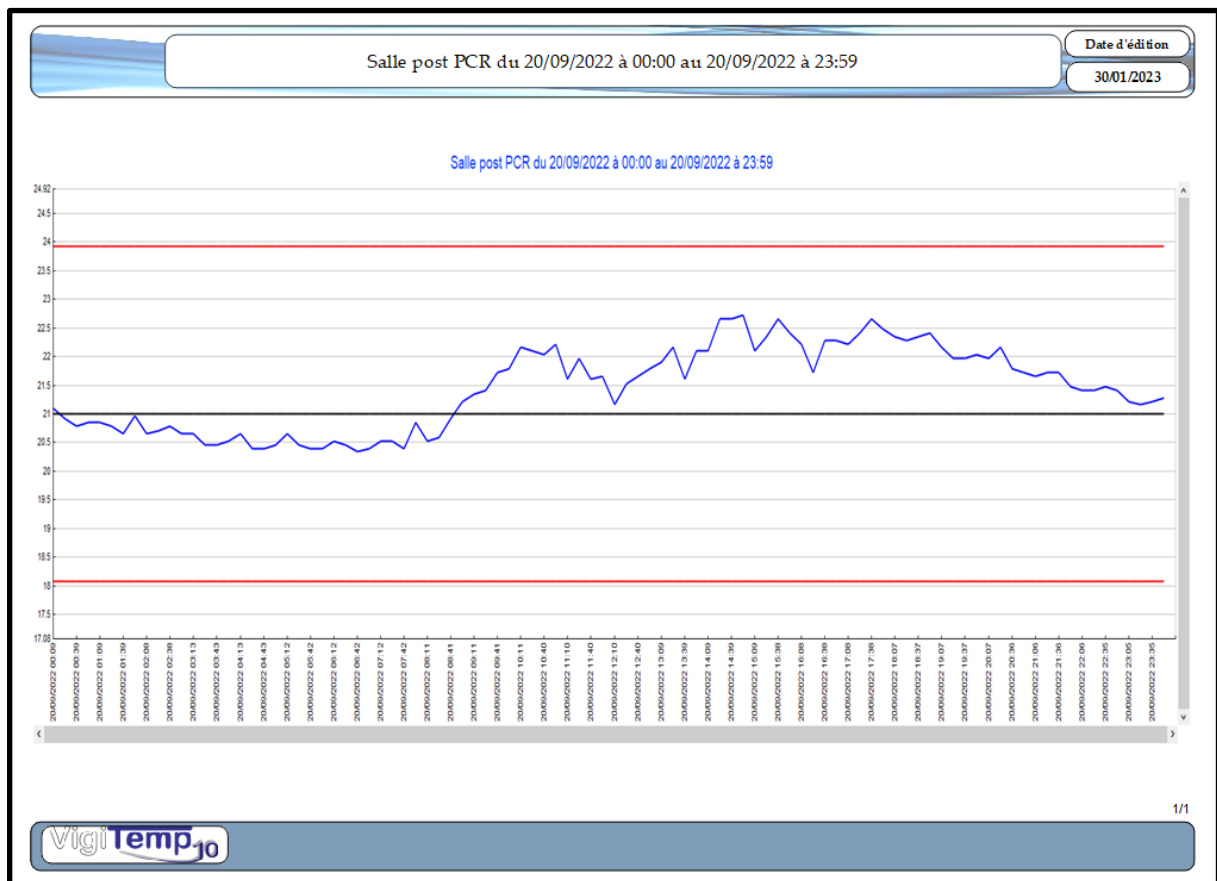
- Variation de température 15/09/2022

	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT




- Variation de température 20/09/2022

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
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

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
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	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
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](#)

### **Test répétabilité-reproductibilité ; Vérification de la concordance**

#### **➔ Contrôles répétabilité/reproductibilité :**

ID	CAB	ID génotypage	Date début génotypage	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
- Contrôle répétabilité validé (rapport accessible depuis GD Board) :



 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
<b>GDB_FORM_53</b>	<b>SMQ</b>	04/11/2024
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 géotypage	WG6955997-MSA7	WG6955997-MSA7
Position géotypage	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 géotypage	WG6955997-MSA7	WG6955601-MSA7
Position géotypage	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.

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

## Essai inter-laboratoire

*L'essai inter-laboratoire validé correspondant est en date du 28/10/2021 et correspond aux documents suivants :*


*GDB\_ENR\_03\_Essai interlaboratoire - 2021\_v1.0*

*GDB\_ENR\_07\_Résultats bruts essai interlaboratoire 2021\_v1.0*

## 7. Analyse

### 7.1. Facteurs de risques et moyens mis en place pour les maîtriser

Méthode	Catégorie 5 M (Matériel, Matière, Méthode, Milieu, Main d'œuvre)	Facteur de risque d'influence de l'essai identifié	Risque	Moyens mis en place pour maîtriser le risque	Evaluation risque après moyen mis en place (Faible / Moyen / Fort)
Génotypage sur puces à ADN Infinium XT Illumina	Matériel	Panne ou casse d'appareil	Ne plus pouvoir utiliser cette méthode	<ul style="list-style-type: none"> <li>Appareil en double exemplaire ou existence d'un appareil ou d'une solution manuelle de secours (Robot pipeteur) ou sous contrat de maintenance (Iscan*)</li> <li>accès du laboratoire soumis à autorisation</li> </ul>	Faible
	Matériel	Dysfonctionnement des fours ou des incubateurs	Température non maîtrisée	<ul style="list-style-type: none"> <li>Surveillance de température</li> <li>Suivi en contrôle interne</li> <li>Appareil en double exemplaire</li> <li>accès du laboratoire soumis à autorisation</li> </ul>	Faible
	Matériel	Intercontaminations liées aux équipements (réglage, dysfonctionnement, etc...)	Absence de résultat de génotypage	<ul style="list-style-type: none"> <li>Utilisation consommables ADN free (pointes, plaques de lyse, etc...),</li> <li>stérilisation matériel,</li> <li>sensibilisation au nettoyage du matériel, ordre de lavage du laboratoire</li> <li>pas de résultat de génotypage validé si callrate &lt; 0,95 (reflet d'extraction de mauvaise qualité ou contaminée)</li> <li>accès du laboratoire soumis à autorisation</li> </ul>	Faible
	Matériel	Dysfonctionnement équipement critique (pipettes)	Dispense de volumes erronés	<ul style="list-style-type: none"> <li>Suivi en métrologie externe (étalonnage COFRAC)</li> <li>Stock matériel suffisant pour dépannage urgent</li> <li>accès du laboratoire soumis à autorisation</li> </ul>	Faible
	Matériel	Variation de température d'équipement critique	Conservation des produits d'essais et réactifs non maîtrisée	<ul style="list-style-type: none"> <li>Surveillance de température</li> <li>suivi en métrologie externe</li> <li>branchement sur prise ondulée (en cas de coupure de courant)</li> <li>accès du laboratoire soumis à autorisation</li> </ul>	Faible
	Milieu	Intercontaminations liées à l'environnement	Absence de résultat de génotypage	<ul style="list-style-type: none"> <li>Accès du laboratoire soumis à autorisation</li> <li>pièces de travail agencées selon les risques de contamination et identifiées</li> </ul>	Faible
	Milieu	Variances de température ambiante (climatisation non reliée au circuit	Conservation des produits d'essais et réactifs non maîtrisée	<ul style="list-style-type: none"> <li>Surveillance des températures des pièces où présence de réactifs</li> </ul>	Faible

	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

	Méthode	ondulé) Manque d'information ou information erronée	Mauvaise application de la méthode	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vérification et approbation du dossier de validation de méthode</li> <li>Vérification et approbation de mode opératoire associé</li> </ul>	Faible
	Méthode	Ecart de performance	Absence de résultat de génotypage Déviance de la qualité des résultats	<ul style="list-style-type: none"> <li>Critères de validation des résultats définis : validation si et seulement si plus de 85% des résultats d'analyse d'un run ont un callrate &lt; 0,95</li> </ul> Surveillance de la validité de méthode (exemples : contrôle de répétabilité et de reproductibilité méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN, reporting statistiques mensuels, essais interlaboratoires)	Faible
	Main d'oeuvre	Non respect des modes opératoires	Ecart de performance	<ul style="list-style-type: none"> <li>Validation de prise de connaissance des documents applicables</li> <li>Formation personnel</li> <li>Habilitation personnel</li> <li>Suivi de maintien de compétence personnel habilité</li> </ul> Contrôle de répétabilité et reproductibilité méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN	Faible
	Main d'oeuvre	Erreur humaine	Intercontamination  Mauvaise conservation des produits d'essais et réactifs , utilisation d'un mauvais programme, etc...	<ul style="list-style-type: none"> <li>pas de résultat de génotypage si callrate &lt; 0,95 (reflet d'extraction de mauvaise qualité ou contaminée)</li> <li>personnel sensibilisé à la gestion des incidents et non-conformités</li> </ul>	Faible

\*contrat de maintenance Illumina [GDB/EXT/FI/Contrat.Maintenance.Plateforme.Genotypage\\_4368444\\_Genes\\_Diffusion\\_211215](#) (ce contrat inclut : pièces de rechange, main-d'oeuvre et déplacements, objectif de délai de réponse sur site de 3 jours ouvrables, mises à jour du matériel et des logiciels, accès à l'assistance technique par téléphone et par e-mail (8 heures par jour, du lundi au vendredi)


## 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](#)

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
<b>GDB_FORM_53</b>	<b>SMQ</b>	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

*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*

*GDB\_FORM\_47\_Contrat de prestation plateforme de génotypage haut-débit GD Biotech*


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

### **7.3. Robustesse**

*Non vérifiée.*


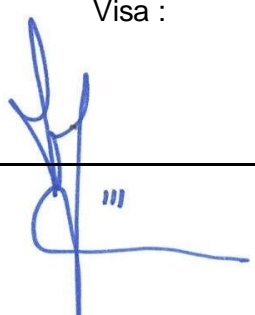
### **7.4. Conclusion**


*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.*

 <b>GD Biotech</b> <small>AGRI-AGRO SOLUTIONS</small>	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

## 8. Sélection, vérification et validation de méthode

### **Partie réservée au Directeur Recherche et Développement**

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

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
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 :** *génotypage sur puces à ADN Infinium XT Illumina*

**Référence de l'essai sélectionné :** *Essai n°1*

**Vérification de la méthode :**

☒ **approuvée** (*enregistrements produits suffisants - critères de performance atteints et conformes aux exigences du client*)

☐ **non approuvée**

**Signature Directeur Recherche et Développement :**

Nom : Christophe Audebert

Date : 12/07/2024

Visa :

**Validation de la méthode :**

**Conditions**

**Domaine d'application :** *l'ensemble des échantillons d'ADN bovins extraits et reçus au sein de la plateforme de génotypage GD Scan.*

**Ressources humaines :**

- *personnel autorisé : personnel de la plateforme GD Scan habilité au génotypage d'ADN*
- *personnel formateur : personnel de la plateforme GD Scan habilité au génotypage d'ADN*
- *personnel à former/habiller : RAS*
- *autre : à préciser*

**Autres conditions :** *Information au client*

**Aptitude à l'emploi :**

☒ **accordée**, mise en application à compter du : 08/02/2023


☐ **non accordée**, commentaires :

**Signature Directeur Recherche et Développement :**


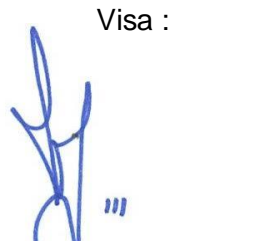
Nom : Christophe Audebert

Date : 12/07/2024

Visa :

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

**Partie réservée au Directeur Recherche et Développement**

<b>Référence du présent enregistrement de validation de méthode :</b> GDB_FORM_53_Validation de méthode_Génotypage sur puces à ADN Infinium XT Illumina_230130_03_v3.0		
<b>Intitulé de la méthode :</b> <i>génotypage sur puces à ADN Infinium XT Illumina</i> <b>Référence de l'essai sélectionné :</b> <i>Essai n°1</i>		
<b>Vérification de la méthode :</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>approuvée</b> ( <i>enregistrements produits suffisants - critères de performance atteints et conformes aux exigences du client</i> ) <input type="checkbox"/> <b>non approuvée</b>		
<b>Signature Directeur Recherche et Développement :</b> Nom : Christophe Audebert      Date : 04/11/2024      Visa :		
<b>Validation de la méthode :</b> <u>Conditions</u>  <b>Domaine d'application :</b> <i>l'ensemble des échantillons d'ADN bovins extraits et reçus au sein de la plateforme de génotypage GD Scan.</i> <b>Ressources humaines :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>personnel autorisé : personnel de la plateforme GD Scan habilité au génotypage d'ADN</i></li> <li>- <i>personnel formateur : personnel de la plateforme GD Scan habilité au génotypage d'ADN</i></li> <li>- <i>personnel à former/habiller : RAS</i></li> <li>- <i>autre : à préciser</i></li> </ul> <b>Autres conditions :</b> <i>Information au client</i>		
<b>Aptitude à l'emploi :</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>accordée</b> , mise en application à compter du : 08/02/2023 <input type="checkbox"/> <b>non accordée</b> , commentaires :		
<b>Signature Directeur Recherche et Développement :</b> Nom : Christophe Audebert      Date : 04/11/2024      Visa : <div style="text-align: right; margin-top: 50px;">  </div>		