 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	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 : *extraction d'ADN*

Portée d'accréditation :

- ☐ Fixe
- ☐ FLEX1
- ☐ FLEX2
- ☒ FLEX3

## 2. Intitulé de méthode

Nom de la méthode : *extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de sang*

- ☒ 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 extractions d'ADN en plaque à partir de sang sur colonnes de silice de chez Macherey Nagel depuis 2010. La méthode a quelque peu évolué au fil du temps pour aboutir à la méthode actuelle, approuvée en octobre 2021.*

*L'objectif de ce dossier est de valider cette méthode d'extraction.*

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

### 3.4. Sélection de la méthode

*Il existe différents fournisseurs de kits d'extraction manuelle sur colonne de silice sur le marché. Macherey Nagel offre une gamme moins coûteuse que d'autres fournisseurs et tout aussi efficace.*

*Le kit adapté aux prélèvements de sang est NucleoSpin 96 Blood Core Kit. La méthode associée, déjà en place depuis plusieurs années, a prouvé son efficacité en termes de résultats et de par notre volume 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, Méli ssandre Barbet, Pierre Bouvelle*

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	Ludivine Liétar Responsable Plateforme de génotypage GD Scan Michèle Boutté Malika Merbah Bio Techniciennes
Christophe Audebert Directeur Recherche et Développement	Vérification et validation	31/01/2023	Christophe Audebert Directeur Recherche et Développement
<b>Ludivine Liétar Responsable</b>	<b>Développement, analyse et rédaction</b>	<b>31/07/2024</b>	<b>Ludivine Liétar Responsable</b>

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

Plateforme de géotypage GD Scan	→ Version 230130_02 - ajout de la justification de dérogation aux critères de performance optimaux - ajout du contrôle répétabilité/reproductibilité (Essai 2) - ajout de la concordance des géotypages (Essai 3) - mise à jour du point 7. Analyse		Plateforme de géotypage GD Scan
Ludivine Liétar Responsable Plateforme de géotypage GD Scan	Réalisation des essais → Version 230130_02	12/07/2024	Ludivine Liétar Responsable Plateforme de géotypage GD Scan Michèle Boutté Malika Merbah Mélissandre Barbet Bio Techniciennes Pierre Bouvelle Responsable SI
Christophe Audebert Directeur Recherche et Développement	Vérification et validation → Version 230130_02	31/07/2024	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 :

[ ] Qualité des matrices/données :

[x] Quantité de matrices/données : manque de données pour valider la répétabilité/reproductibilité (validation de méthode effectuée sur des résultats déjà existants).

[ ] Coût - investissement :

[ ] Autre(s) :

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

## 5. Caractéristiques de la méthode et performances attendues

### 5.1. Principe de la méthode

Les prélèvements sont mis en plaque, lysés puis déposés sur colonne de silice. Des étapes successives de précipitation, adsorption sur colonne de silice, de lavage puis d'élution sont réalisées manuellement pour purifier l'ADN. La quantité d'ADN obtenue suite à l'extraction peut être dosée par mesure de fluorescence au PicoGreen si besoin. Une gamme étalon est alors réalisée à chaque série de quantification et sert de référence pour déterminer la concentration en ADN.


### 5.2. Domaine d'application

La présente méthode s'applique à l'ensemble des prélèvements de sang bovin reçus au sein de la plateforme de génotypage GDScan.

### 5.3. Matrice(s)/Données

Matrice(s) / données concernée(s)	Nature	Conditionnement / emplacement	Conservation pré-traitement
<input checked="" type="checkbox"/>	sang total	tube EDTA	température ambiante
<input type="checkbox"/>	bulbes de poils	pochette Kit GDScan	température ambiante
<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 type="checkbox"/>	ADN	plaques ADN (4x96 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

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

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 :

[x] quantitatifs (ex : concentration en ADN) : *concentration en ADN (ng/μL)*

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


### 5.6. Critères de performance attendus

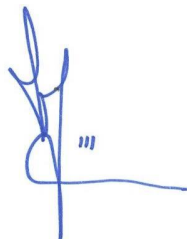
Méthode	Nombre d'échantillons	Critères de performance	Répétabilité	Reproductibilité
[ ] Extraction d'ADN	16 prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront génotypés)	Pour au moins 90 % des échantillons : - [ADN] > 15 ng/μL - Call Rate > 0,95 - Médiane Call Rate > 0,975  Concordance 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)
[ ] 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  <del>Prochain essai interlaboratoire validé (à posteriori)</del>  Concordance génotypages : échantillon du test	Contrôle répétabilité selon GDB_PRO_05_ Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN	Contrôle reproductibilité selon GDB_PRO_05_ Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN

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

		répétabilité/reproductibilité GDB_PRO_05_Contrôle 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		
[ ] 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 (génotypes 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
[x] Autre : Extraction d'ADN	32 prélèvements	Pour au moins 90 % des échantillons : - [ADN] > 15 ng/μL - Call Rate > 0,95 - Médiane Call Rate > 0,975  Concordance génotypes : 99 % de similarité 580 SNP 2 échantillons issus des tests répétabilité/reproductibilité	Contrôle de répétabilité selon GDB_PRO_06_Contrôle de reproductibilité et répétabilité de la phase d'extraction	- 16 autres prélèvements - Contrôle de reproductibilité selon GDB_PRO_06_Contrôle de reproductibilité et répétabilité de la phase d'extraction

**Justification de dérogation :** ce présent dossier de validation s'appuyant sur des résultats existants, du fait de l'utilisation de la méthode au sein de la plateforme de génotypage GD Scan depuis 2010, nous n'avons pas de données permettant de valider la répétabilité/reproductibilité, tel qu'énoncé dans les critères de performance d'extraction d'ADN optimaux. C'est pourquoi une dérogation est accordée pour valider la répétabilité/reproductibilité au travers d'un test annuel de répétabilité/reproductibilité de la phase d'extraction.

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



Christophe Audebert, Directeur R&D

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

**Remarque :** différentes versions du document GDB\_MOP\_05\_Extraction d'ADN en plaque à partir de sang ont été utilisées depuis la mise en place de la méthode en octobre 2021, et notamment pour les essais, cependant seules quelques modifications, ne remettant pas en cause le mode opératoire et ne pouvant pas impacter les critères de performance (suppression étape dosage + modifications mineures), ont été apportées.

### Essai n°1

#### 6.1. Introduction


*L'essai consiste en la validation de l'extraction d'ADN de 32 prélèvements de sang déjà réalisée dans les conditions actuelles d'extraction, plus 16 autres prélèvements extraits dans les mêmes conditions mais par un opérateur différent. La validation d'une procédure de contrôle répétabilité/reproductibilité extraction associée sera réalisée à postériori lors du prochain test et permettra de confirmer la validation de méthode.*

#### 6.2. Mode Opératoire

*Le mode opératoire est celui en application au moment de l'essai GDB\_MOP\_05\_Extraction d'ADN en plaque à partir de sang\_v2.1.*

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

- *Matériel (type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...) : s'agissant d'une validation de méthode éditée à postériori du développement (méthode en place depuis octobre 2021 -> plus de 43 000 extractions de sang réalisées), un mode opératoire est déjà en application et reprend la liste du matériel nécessaire : GDB\_MOP\_05\_Extraction d'ADN en plaque à partir de sang\_v2.1 au moment de l'essai. 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 postériori du*

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


développement (méthode en place depuis octobre 2021 -> plus de 43 000 extractions de sang réalisées), un mode opératoire est déjà en application et reprend la liste des kits et réactifs nécessaires : GDB\_MOP\_05\_Extraction d'ADN en plaque à partir de sang\_v2.1 au moment de l'essai. 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
NucleoSpin 96 Blood Core Kit Réf. 740456.4	2212-003	-	Protéinase K solubilisée -21°C +/- 3°C Colonnes à 5°C +/- 3°C Autres réactifs à 21°C +/- 3°C


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

ID	CODE BARRE	SEXE	RACE	TYPE MAT BIOLO	date reception Labo Douai	Plaque ADN	Position ADN	Date extraction
FR0203344724	GD463414	2	66	Sang	25/01/2023	SAM230173	A01	26/01/2023
FR0202667974	GD463393	2	66	Sang	25/01/2023	SAM230173	B01	26/01/2023
FR0203344726	GD463415	2	66	Sang	25/01/2023	SAM230173	C01	26/01/2023
FR4243554068	GD430392	1	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	D01	26/01/2023
FR4243526872	GD430390	1	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	E01	26/01/2023
FR1447693231	GD478412	1	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	F01	26/01/2023
FR5368781563	GD478413	1	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	G01	26/01/2023
FR5326223826	GD481997	1	56	Sang	26/01/2023	SAM230173	H01	26/01/2023
FR6125093489	GD478414	1	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	A02	26/01/2023
FR4243526871	GD430388	1	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	B02	26/01/2023
FR6125093490	GD478415	1	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	C02	26/01/2023
FR1447693222	GD478406	2	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	D02	26/01/2023



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

FR6125093485	GD478409	2	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	E02	26/01/2023
FR6125093488	GD478411	2	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	F02	26/01/2023
FR6125093484	GD478408	2	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	G02	26/01/2023
FR4525001720	GD463464	2	38	Sang	26/01/2023	SAM230173	H02	26/01/2023
FR4525006186	GD463524	2	38	Sang	26/01/2023	SAM230173	A03	26/01/2023
FR4527260257	GD463478	1	38	Sang	26/01/2023	SAM230173	B03	26/01/2023
FR4516401657	GD463510	1	38	Sang	26/01/2023	SAM230173	C03	26/01/2023
FR2546390327	GD463514	1	46	Sang	26/01/2023	SAM230173	D03	26/01/2023
FR8931941180	GD463476	2	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	E03	26/01/2023
FR8931937757	GD463474	2	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	F03	26/01/2023
FR4501372015	GD463506	2	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	G03	26/01/2023
FR4510969165	GD463516	2	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	H03	26/01/2023
FR4525491424	GD463512	1	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	A04	26/01/2023
FR0200555639	GD463508	1	79	Sang	26/01/2023	SAM230173	B04	26/01/2023
FR1540114980	GD344073	2	66	Sang	26/01/2023	SAM230173	C04	26/01/2023
FR8904481080	GD463472	2	79	Sang	26/01/2023	SAM230173	D04	26/01/2023
FR8904485534	GD463470	2	79	Sang	26/01/2023	SAM230173	E04	26/01/2023
FR4510962120	GD463518	2	39	Sang	26/01/2023	SAM230173	F04	26/01/2023
FR8904482090	GD463468	2	79	Sang	26/01/2023	SAM230173	G04	26/01/2023
FR4501209175	GD463520	2	39	Sang	26/01/2023	SAM230173	H04	26/01/2023
FR6213727594	GD483292	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	A01	27/01/2023
FR6213727583	GD483294	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	B01	27/01/2023
FR6213727596	GD483290	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	C01	27/01/2023
FR6213727600	GD483296	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	D01	27/01/2023
FR5945276754	GD483286	2	60	Sang	27/01/2023	SAM230176	E01	27/01/2023
FR6209104026	GD483285	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	F01	27/01/2023
FR6209104001	GD483273	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	G01	27/01/2023

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


FR6209104022	GD483281	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	H01	27/01/2023
FR6209104019	GD483289	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	A02	27/01/2023
FR6209104002	GD483277	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	B02	27/01/2023
FR6216177692	GD388715	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	C02	27/01/2023
FR6216177556	GD388708	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	D02	27/01/2023
FR6216177553	GD388705	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	E02	27/01/2023
FR6216177549	GD388702	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	F02	27/01/2023
FR6216177685	GD388714	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	G02	27/01/2023
FR6208429290	GD484231	2	66	Sang	27/01/2023	SAM230176	H02	27/01/2023

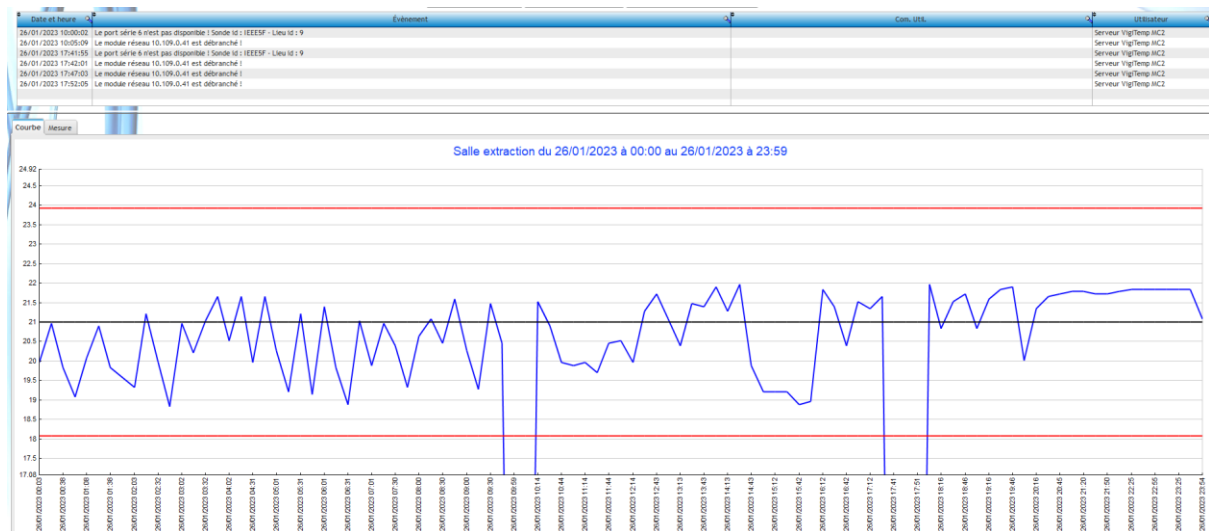
- Milieu : extractions réalisées dans la salle Extraction, dont la température est maîtrisée (21°C +/- 3°C), et génotypages réalisés dans les salles Pré-PCR génotypage et Post-PCR génotypage, dont la température est maîtrisée pour cette dernière (21°C +/- 3°C).
- Main d'oeuvre :
  - extractions SAM230173 : Ludivine Liétar le 26/01/2023,
  - extractions SAM230176 : Malika Merbah le 27/01/2023,
  - génotypages SAM230173 : Malika Merbah les 30/01/2023 et 31/01/2023,
  - génotypages SAM230176 : Michèle Boutté les 01/02/2023 et 02/02/2023,
  - dosage 48 échantillons : Ludivine Liétar le 08/02/2023.

#### 6.4. Résultats de l'essai - Conclusion

- Milieu :

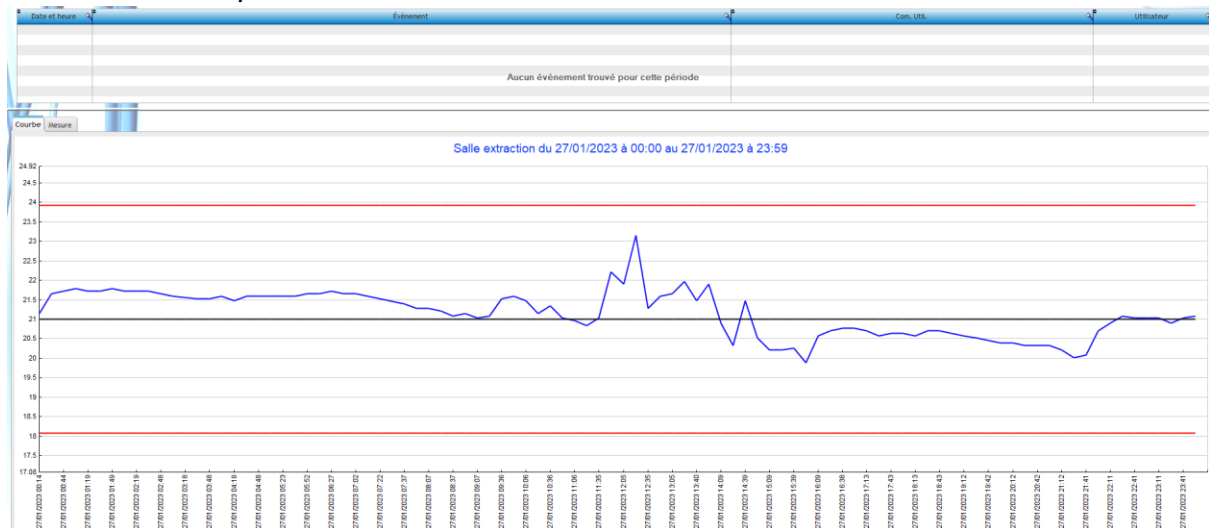
- Variation de température salle extraction 26/01/2023

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




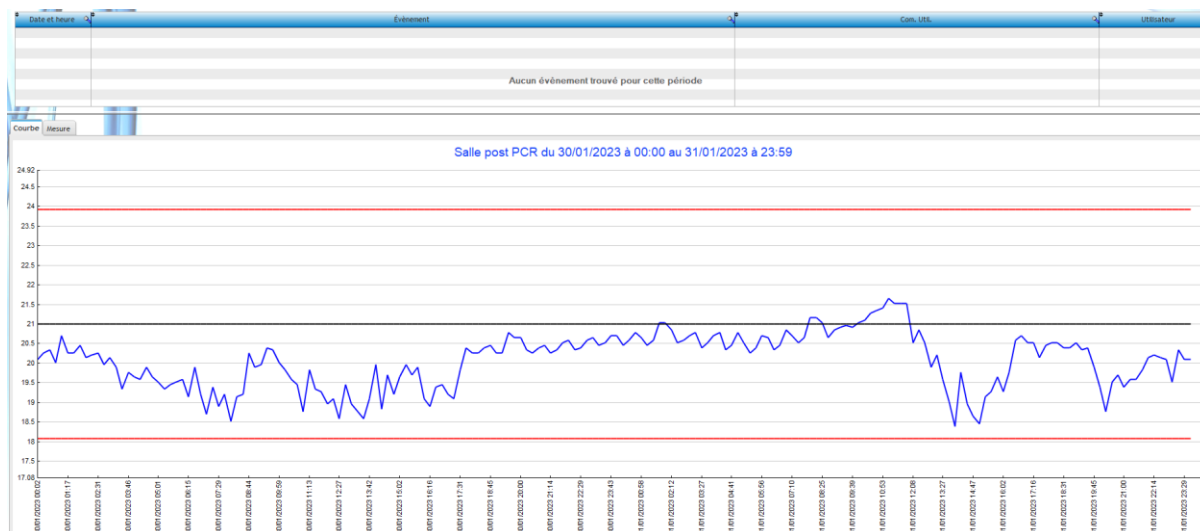
(2 décrochages suite à indisponibilité de la sonde -> mais relevés ok)

- Variation de température salle extraction 27/01/2023

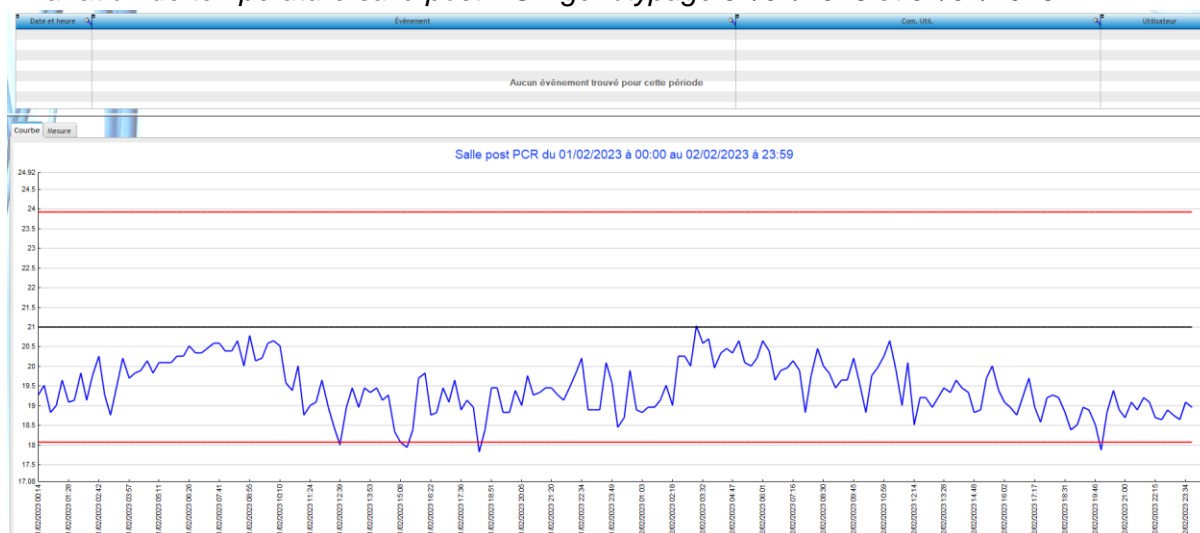


- Variation de température salle post-PCR génotypage 30/01/2023 et 31/01/2023

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




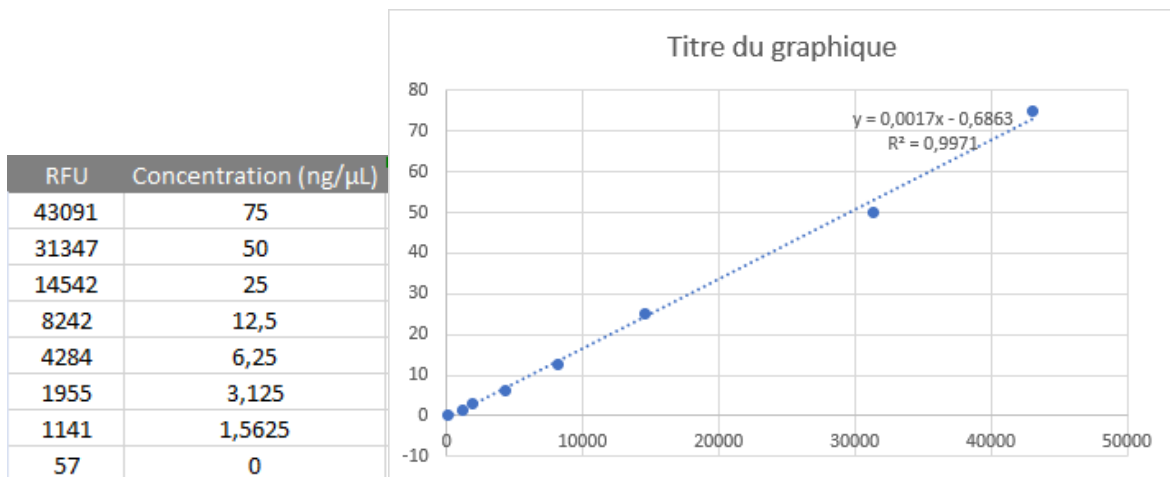
#### - Variation de température salle post-PCR génotypage 01/02/2023 et 02/02/2023



➤ **Extraction échantillons :**  
(fichier d'origine [Dosage validation methode extraction 080223.xlsx](#))

- **Gamme étalon :**

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



- *Echantillons :*

Sang SAM230173 A01-H04 (Ludivine)

Sang SAM230176 A01-H02 (Malika)


Mesures RFU :

<>	1	2	3	4	5	6
A	34302	18807	34726	34717	48847	48682
B	35258	32508	35791	37158	48360	47533
C	41435	35888	35653	36869	45969	47289
D	36332	24292	37979	40415	48457	48333
E	23376	42757	42070	32674	48123	48419
F	31909	40995	38567	39794	49027	46779
G	29542	34795	43194	42955	47079	34880
H	30957	37413	20980	39753	46324	46338


Concentration (ng/μL) :

<>	1	2	3	4	5	6
A	57,6	31,3	58,3	58,3	82,4	82,1
B	59,3	54,6	60,2	62,5	81,5	80,1
C	69,8	60,3	59,9	62,0	77,5	79,7
D	61,1	40,6	63,9	68,0	81,7	81,5
E	39,1	72,0	70,8	54,9	81,1	81,6
F	53,6	69,0	64,9	67,0	82,7	78,8
G	49,5	58,5	72,7	72,3	79,3	58,6
H	51,9	62,9	35,0	66,9	78,1	78,1

➤ *Génotypage échantillons :*

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

ID	CODE BARRE	ID GENOTYPAGE	Date debut genotypage	Date de Scan	Call Rate
FR0203344724	GD463414	WG7006833-MSA7_A01	30/01/2023	31/01/2023	0,9992802
FR0202667974	GD463393	WG7006833-MSA7_B01	30/01/2023	31/01/2023	0,999297
FR0203344726	GD463415	WG7006833-MSA7_C01	30/01/2023	31/01/2023	0,999297
FR4243554068	GD430392	WG7006833-MSA7_D01	30/01/2023	31/01/2023	0,9987948
FR4243526872	GD430390	WG7006833-MSA7_E01	30/01/2023	31/01/2023	0,9984768
FR1447693231	GD478412	WG7006833-MSA7_F01	30/01/2023	31/01/2023	0,9987446
FR5368781563	GD478413	WG7006833-MSA7_G01	30/01/2023	31/01/2023	0,9980751
FR5326223826	GD481997	WG7006833-MSA7_H01	30/01/2023	31/01/2023	0,9977235
FR6125093489	GD478414	WG7006833-MSA7_A02	30/01/2023	31/01/2023	0,9980918
FR4243526871	GD430388	WG7006833-MSA7_B02	30/01/2023	31/01/2023	0,9993806
FR6125093490	GD478415	WG7006833-MSA7_C02	30/01/2023	31/01/2023	0,9993137
FR1447693222	GD478406	WG7006833-MSA7_D02	30/01/2023	31/01/2023	0,9987948
FR6125093485	GD478409	WG7006833-MSA7_E02	30/01/2023	31/01/2023	0,9991965
FR6125093488	GD478411	WG7006833-MSA7_F02	30/01/2023	31/01/2023	0,998912
FR6125093484	GD478408	WG7006833-MSA7_G02	30/01/2023	31/01/2023	0,9981085
FR4525001720	GD463464	WG7006833-MSA7_H02	30/01/2023	31/01/2023	0,9964179
FR4525006186	GD463524	WG7006833-MSA7_A03	30/01/2023	31/01/2023	0,9990459
FR4527260257	GD463478	WG7006833-MSA7_B03	30/01/2023	31/01/2023	0,9991631
FR4516401657	GD463510	WG7006833-MSA7_C03	30/01/2023	31/01/2023	0,999297
FR2546390327	GD463514	WG7006833-MSA7_D03	30/01/2023	31/01/2023	0,9988283
FR8931941180	GD463476	WG7006833-MSA7_E03	30/01/2023	31/01/2023	0,9987279
FR8931937757	GD463474	WG7006833-MSA7_F03	30/01/2023	31/01/2023	0,9989287
FR4501372015	GD463506	WG7006833-MSA7_G03	30/01/2023	31/01/2023	0,9987781
FR4510969165	GD463516	WG7006833-MSA7_H03	30/01/2023	31/01/2023	0,9963844
FR4525491424	GD463512	WG7006833-MSA7_A04	30/01/2023	31/01/2023	0,9993305

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


FR0200555639	GD463508	WG7006833-MSA7_B04	30/01/2023	31/01/2023	0,9992802
FR1540114980	GD344073	WG7006833-MSA7_C04	30/01/2023	31/01/2023	0,9991798
FR8904481080	GD463472	WG7006833-MSA7_D04	30/01/2023	31/01/2023	0,9989287
FR8904485534	GD463470	WG7006833-MSA7_E04	30/01/2023	31/01/2023	0,9982424
FR4510962120	GD463518	WG7006833-MSA7_F04	30/01/2023	31/01/2023	0,9987111
FR8904482090	GD463468	WG7006833-MSA7_G04	30/01/2023	31/01/2023	0,9984601
FR4501209175	GD463520	WG7006833-MSA7_H04	30/01/2023	31/01/2023	0,9988952
FR6213727594	GD483292	WG7006836-MSA7_A01	01/02/2023	02/02/2023	0,999297
FR6213727583	GD483294	WG7006836-MSA7_B01	01/02/2023	02/02/2023	0,9994644
FR6213727596	GD483290	WG7006836-MSA7_C01	01/02/2023	02/02/2023	0,9994978
FR6213727600	GD483296	WG7006836-MSA7_D01	01/02/2023	02/02/2023	0,9995313
FR5945276754	GD483286	WG7006836-MSA7_E01	01/02/2023	02/02/2023	0,9994978
FR6209104026	GD483285	WG7006836-MSA7_F01	01/02/2023	02/02/2023	0,9995815
FR6209104001	GD483273	WG7006836-MSA7_G01	01/02/2023	02/02/2023	0,9994978
FR6209104022	GD483281	WG7006836-MSA7_H01	01/02/2023	02/02/2023	0,9995481
FR6209104019	GD483289	WG7006836-MSA7_A02	01/02/2023	02/02/2023	0,9994309
FR6209104002	GD483277	WG7006836-MSA7_B02	01/02/2023	02/02/2023	0,9995815
FR6216177692	GD388715	WG7006836-MSA7_C02	01/02/2023	02/02/2023	0,9994476
FR6216177556	GD388708	WG7006836-MSA7_D02	01/02/2023	02/02/2023	0,9995146
FR6216177553	GD388705	WG7006836-MSA7_E02	01/02/2023	02/02/2023	0,9995313
FR6216177549	GD388702	WG7006836-MSA7_F02	01/02/2023	02/02/2023	0,9995983
FR6216177685	GD388714	WG7006836-MSA7_G02	01/02/2023	02/02/2023	0,9995648
FR6208429290	GD484231	WG7006836-MSA7_H02	01/02/2023	02/02/2023	0,9995815

Version de puce : EuroG\_MDv3\_XT\_GD

Projets Génome Studio : indexation\_030223

Fichier de clustering utilisé : MDv3\_XT\_bovin\_230123.egt

Chemin d'accès du projet Génome Studio : serveur gna2gdlabo  
 \gna2gdlabo.genesdiffusion.com\Labo\genotypages\Genotypages\_SAM\SAM\_MD\_v3\Indexations\2023\indexations\_fevrier\_2023\indexation\_030223

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

Référence historique Galaxy : Genotypages\_sem05\_2023

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

➤ *Interprétation :*

- Spécifications relatives au milieu validées
- Concentration en ADN > 15 ng/μL pour l'ensemble des 48 échantillons
- Call Rate > 0,95 pour l'ensemble des 48 échantillons
- Médiane Call Rate 48 échantillons = 0,99923835 > 0,975

➤ *Conclusion*

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

Un test de répétabilité et de reproductibilité reste à effectuer se basant sur un test annuel de répétabilité/reproductibilité extraction sur colonnes de silice en plaque, ainsi que la vérification de la concordance des génotypages.

## **Essai n°2**

### **6.5. Introduction**

L'essai consiste en la validation d'un test annuel de répétabilité/reproductibilité extraction sur colonnes de silice en plaque à partir de sang, celui-ci ayant effectué en septembre 2022 par Malika Merbah et Michèle Boutté, selon GDB\_PRO\_06\_Contrôle de reproductibilité et répétabilité de la phase d'extraction\_v1.0 au moment de l'essai.


### **6.6. Mode Opérateur**

Le mode opératoire est celui en application au moment de l'essai GDB\_MOP\_05\_Extraction d'ADN en plaque à partir de sang\_v1.0.

### **6.7. Points à développer (liste non exhaustive)**

- Matériel (type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...) : s'agissant d'une validation de méthode éditée à postériori du développement (méthode en place depuis octobre 2021 -> plus de 43 000 extractions de sang réalisées), un mode opératoire est déjà en application et reprend la liste du matériel nécessaire : GDB\_MOP\_05\_Extraction d'ADN en plaque à partir de sang\_v1.0 au moment de l'essai. 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 postériori du développement (méthode en place depuis octobre 2021 -> plus de 43 000 extractions



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


de sang réalisées), un mode opératoire est déjà en application et reprend la liste des kits et réactifs nécessaires : GDB\_MOP\_05\_Extraction d'ADN en plaque à partir de sang\_v1.0 au moment de l'essai. 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
NucleoSpin 96 Blood Core Kit Réf. 740456.4	2205-001 (non relevé lors du test mais même lot utilisé en production entre date création liste échantillons et date dosage)	-	Protéinase K solubilisée -21°C +/- 3°C Colonnes à 5°C +/- 3°C Autres réactifs à 21°C +/- 3°C

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

Dans l'ordre de traitement :

CODE BARRE	TYPE MAT BIOLO	date reception Labo Douai	Plaque ADN	Date extraction
GD439827	Sang	27/07/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330974	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330966	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330962	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330978	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330969	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)


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

GD330975	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD361195	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330976	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330963	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330964	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330973	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330982	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330981	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330968	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD435055	Sang	01/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)

➤ Milieu : extractions réalisées dans la salle Extraction, dont la température est maîtrisée (21°C +/- 3°C).

➤ Main d'oeuvre :

- extractions Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22 : Malika Merbah A01-H02 + A03-H04 (répétabilité Malika), Michèle Boutté A05-H06 + A07-H08 (répétabilité Michèle),
- dosage 64 échantillons : Malika Merbah et Michèle Boutté (reproductibilité

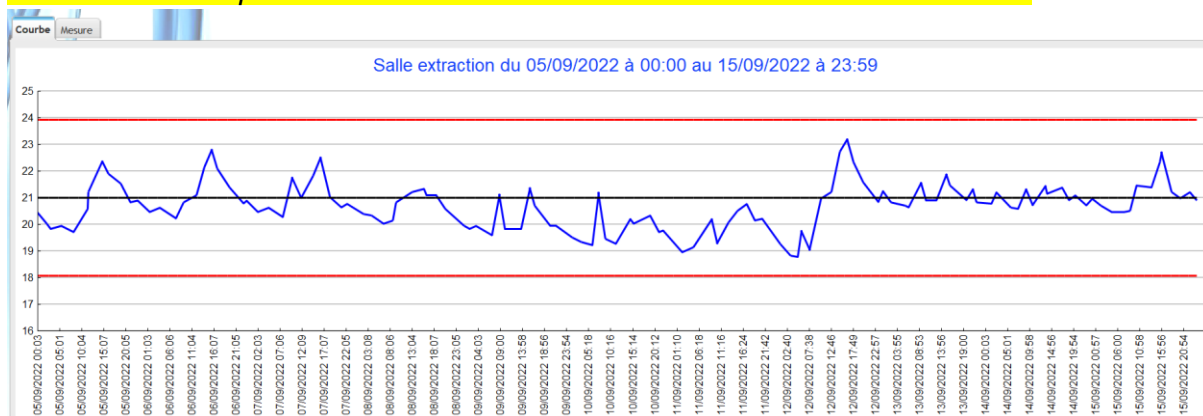
	<b>Validation de méthode</b>	Version 2.0
GDB_FORM_53	SMQ	12/07/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

**dosage) le 15/09/2022 + redosage Malika Merbah le 21/09/2022.**

## 6.8. Résultats de l'essai - Conclusion

➤ **Milieu :**

**- Variation de température salle extraction entre le 05/09/2022 et le 15/09/2022**




➤ **Extraction échantillons :**

**Remarque :** un premier dosage (15/09/2022) a révélé une non-conformité au niveau de la reproductibilité sur le dosage des échantillons (testée au moment de l'essai, mais plus d'actualité à ce jour -> GDB\_FORM\_02\_Contrôle de reproductibilité et répétabilité de la phase d'extraction\_220915\_01\_v1.0), à priori provenant de l'opérateur B (Malika Merbah), c'est pourquoi une seconde session de dosages a été effectuée (21/09/2022). Ne seront pris en compte dans cet essai, que les résultats du second dosage.

**(fichiers d'origine comprenant dosages et gammes étalon :**

- GDB\_ENR\_120\_Données brutes dosages Malika 150922\_v1.0
- GDB\_ENR\_121\_Dosages Malika extractions Malika 150922\_v1.0
- GDB\_ENR\_122\_Dosages Malika extractions Mich 150922\_v1.0
- GDB\_ENR\_123\_Données brutes dosages bis Malika 210922\_v1.0
- GDB\_ENR\_124\_Dosages bis Malika extractions Malika 210922\_v1.0
- GDB\_ENR\_125\_Dosages bis Malika extractions Mich 210922\_v1.0
- GDB\_ENR\_126\_Données brutes dosages Mich 150922\_v1.0
- GDB\_ENR\_127\_Dosages Mich extractions Mich 150922\_v1.0
- GDB\_ENR\_128\_Dosages Mich extractions Malika 150922\_v1.0)

**Les résultats de ce test annuel de répétabilité/reproductibilité extraction figurent dans le**

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

document GDB\_FORM\_02\_Contrôle de reproductibilité et répétabilité de la phase d'extraction\_220921\_01\_v1.0

➤ **Interprétation :**

- Spécifications relatives au milieu validées
- Contrôle de répétabilité extraction validé (> 95 %) :
  - Malika Merbah = 98,6 %
  - Michèle Boutté = 100,0 %
- Contrôle de reproductibilité extraction validé (> 90 %) :
  - Malika Merbah / Michèle Boutté = 98,6 %

➤ **Conclusion**

Le test de répétabilité/reproductibilité extraction sur colonnes de silice en plaque à partir de sang est validé, l'essai répond aux critères de performance attendus.

Un essai permettant la vérification du pourcentage de similarité des génotypages de 2 échantillons issus de ce test reste à effectuer afin de pouvoir valider cette méthode.

## **Essai n°3**

### **6.9. Introduction**

L'essai consiste en la validation de la concordance des génotypages de 3 extraits de 2 échantillons issus des tests répétabilité/reproductibilité utilisés dans l'essai précédent. Ce critère est atteint pour un minimum de 99 % de similarité sur les 580 SNP ISO.


### **6.10. Mode Opératoire**

Le mode opératoire de génotypage est celui en application au moment de l'essai GDB\_MOP\_09\_Génotypage\_v2.1.

### **6.11. Points à développer (liste non exhaustive)**

➤ **Matériel (type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...) :**

- Centrifugeuse Hettich GDD-CENTRI-003
- Four Illumina GDD-FOUR-003 (SAM2407008 échantillons répétabilité)
- Four Illumina GDD-FOUR-002 (SAM220803 et SAM220807 échantillons reproductibilité)
- Incubateur microplaque SciGene GDD-INCUB-005
- Four Illumina GDD-FOUR-004 (SAM2407008 échantillons répétabilité)
- Four Illumina GDD-FOUR-001 (SAM220803 et SAM220807 échantillons reproductibilité)
- Robot pipeteur Tecan GDD-TECA-001
- Lecteur de puces à ADN Illumina GDD-SCAN-001


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

➤ Kits et réactifs :

Kits et autres réactifs			
Produits / Consommables	Numéro de lot	Spécifications particulières	Stockage
MA1	voir suivi des n° de lot :  - dans le fichier réponses du GDB_FORM_16_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form pour le run du 08/07/2024 et 09/07/2024  - dans le fichier GDB_ENR_20_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form - Réponses_v1.0 pour les runs du 03/08/2022 et 04/08/2022 et du 10/08/2022 et 11/08/2022	-	-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
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...) :

Les échantillons utilisés dans le cadre des tests annuels de répétabilité/reproductibilité extraction sont, dans la mesure du possible, issus de surplus de prélèvements traités dans le cadre de la production de génotypage en routine. Concernant le génotypage de l'échantillon

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


reproductibilité, nous avons donc utilisé le génotypage de l'échantillon traité en routine plutôt que de génotyper un échantillon reproductibilité de l'essai précédent afin de limiter le coût de génotypage du présent dossier.

<b>CODE BARRE</b>	<b>TYPE MAT BIOLO</b>	<b>date reception Labo Douai</b>	<b>Plaque ADN</b>	<b>Position ADN</b>	<b>Date extraction</b>
GD330968	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	G06 (référence)	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330968	Sang	09/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	G08 (répétabilité)	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD330968	Sang	09/08/2022	SAM220807	G01 (reproductibilité)	09/08/2022
GD435055	Sang	01/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	H06 (référence)	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD435055	Sang	01/08/2022	Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22	H08 (répétabilité)	Entre le 06/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD435055	Sang	01/08/2022	SAM220803	D12 (reproductibilité)	02/08/2022

➤ 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 :

- Extraction échantillons GD330968 (G06/G08) et GD435055 (H06/H08) plaque Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22 : Michèle Boutté
- Extraction échantillons GD330968 (G01) plaque SAM220807 et GD435055 (D12) plaque SAM220803 : Malika Merbah
- Génotypage échantillons GD330968 (G06/G08) et GD435055 (H06/H08)

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

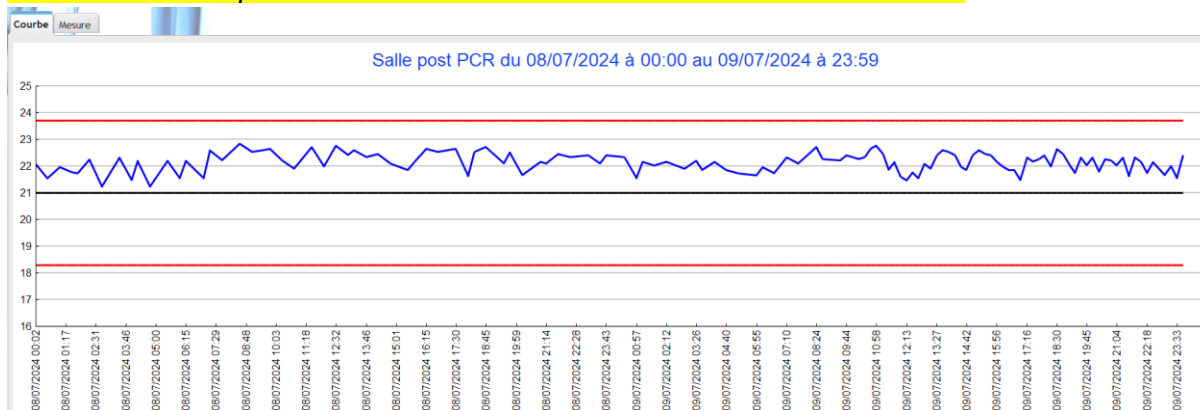
plaque Test répéta/repro extraction sang/semence 15/09/22 : Mélissandre Barbet les 08/07/2024 et 09/07/2024 (avec la SAM2407008, A11/B11 et C11/D11 respectivement)

- Génotypage échantillon GD330968 (G01) plaque SAM220807 : Malika Merbah les 10/08/2022 et 11/08/2022
- Génotypage échantillon GD435055 (D12) plaque SAM220803 : Ludivine Liétar les 03/08/2022 et 04/08/2022
- analyses Genome Studio : Sophie Martel le 12/07/2024 (échantillons répétabilité) et Ludivine Liétar les 12/08/2022 (GD330968) et 05/08/2022 (GD435055) (échantillons reproductibilité)
- comparaisons SNP : Pierre Bouvelle le 10/07/2024


## 6.12. Résultats de l'essai – Conclusion

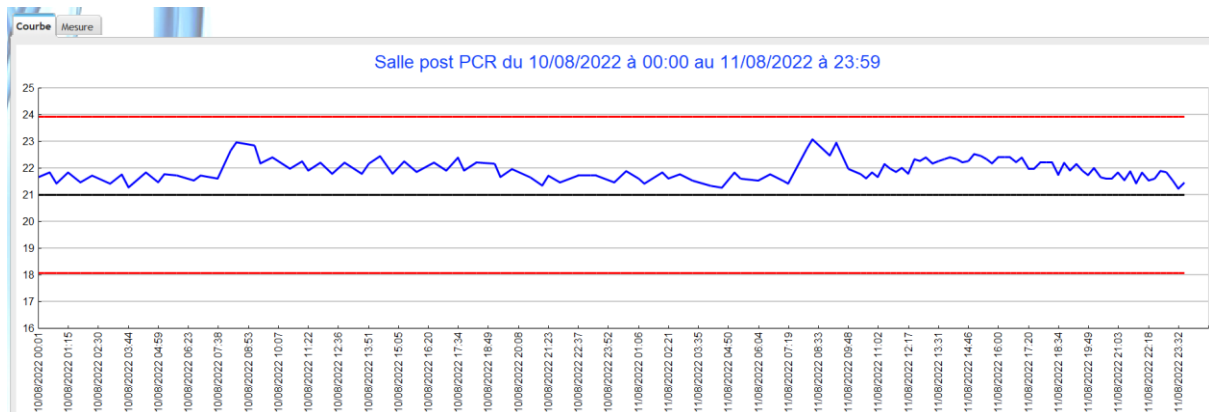
### ➤ Milieu :

#### - Variation de température salle POST-PCR les 08/07/2024 et 09/07/2024

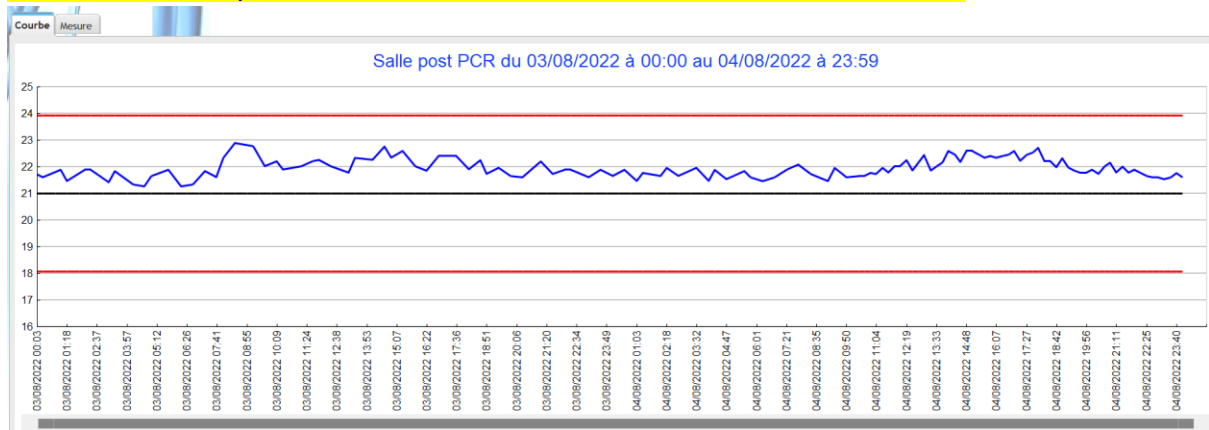


#### - Variation de température salle POST-PCR les 10/08/2022 et 11/08/2022

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



#### - Variation de température salle POST-PCR les 03/08/2022 et 04/08/2022



#### ➤ Génotypage échantillons :


ID	CODE BARRE	ID GENOTYPAGE	Date debut genotypage	Date de Scan	Call Rate	Callrate 580 Iso
FR5345483501	GD330968	WG7176727-MSA7_A11	08/07/2024	09/07/2024	0.9991103	1
FR5345483501	GD330968	WG7176727-MSA7_B11	08/07/2024	09/07/2024	0.9991844	1
FR5345483501	GD330968	WG6955969-MSA7_G01	10/08/2022	11/08/2022	0.9988343	non vérifié à l'époque
FR1445543001	GD435055	WG7176727-MSA7_C11	08/07/2024	09/07/2024	0.9994217	1
FR1445543001	GD435055	WG7176727-MSA7_D11	08/07/2024	09/07/2024	0.9994217	1
FR1445543001	GD435055	WG6955965-MSA7_D12	03/08/2022	04/08/2022	0.9988344	non vérifié à l'époque

Version de puce : EuroG\_MDv4-1\_XT\_FRA\_GD

Projet Génome Studio : indexation\_120724

Fichier de clustering utilisé : MDv4\_1\_XT\_bovin\_180424.egt



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

**Chemin d'accès du projet Génome Studio : serveur gna2gdlabo**

**\\gna2gdlabo.genesdiffusion.com\Labo\genotypages\Genotypages\_SAM\SAM\_MD\_v4\_1\Indexations\2024\indexation\_juillet\_2024\indexation\_120724**

**Référence groupe génotypages GDBoard : Genotypages\_sem28\_2024**

**Informations retranscrites dans le Fichier suivi échantillons 2024 – GD Biotech**

**Version de puce : EuroG\_MDv3\_XT\_GD**

**Respectivement :**

**Projets Génome Studio : indexation\_120822 et indexation\_050822**

**Fichier de clustering utilisé : MDv3\_XT\_bovin\_120822.egt et MDv3\_XT\_bovin\_210622.egt**

**Chemin d'accès des projets Génome Studio : serveur gna2gdlabo**

**\\gna2gdlabo.genesdiffusion.com\archives\_geno\genotypages\_SAM\SAM\_MD\_v3\Indexations\2022\indexations\_aout\_2022\indexation\_120822 et**

**\\gna2gdlabo.genesdiffusion.com\archives\_geno\genotypages\_SAM\SAM\_MD\_v3\Indexations\2022\indexations\_aout\_2022\indexation\_050822**

**Référence historique Galaxy : Genotypages\_sem32\_2022 et Genotypages\_sem31\_2022**

**Informations retranscrites dans le Fichier suivi échantillons 2022 – Gènes Diffusion**

#### **> Interprétation :**

- **Spécifications relatives au milieu validées**
- **Concordance génotypages validée avec 100 % de similarité 580 SNP ISO pour les 2 échantillons issus des tests répétabilité/reproductibilité, entre l'extrait d'ADN référence avec l'extrait d'ADN répétabilité et avec l'extrait d'ADN reproductibilité (GDB\_ENR\_131\_Comparaisons génotypages validation méthodes extraction\_240710\_v1.0).**

#### **> Conclusion :**

**La concordance des génotypages est validée, l'essai répond aux critères de performance attendus.**

## **7. Analyse**


### **7.1. Facteurs de risques**

**Matériel : intercontaminations liées au matériel (réglage, dysfonctionnement, etc...).**

**Matière : prélèvements de sang de mauvaise qualité (mal conservés avant transmission au laboratoire, coagulés, noir, ...). Intercontamination liée à la matière (animaux jumeaux).**

**Méthode : RAS.**

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

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

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

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


*Concernant la présente validation de méthode, la notion d'incertitude ne s'applique qu'à la seule méthode de dosage de la concentration d'ADN. A l'issue du dosage, l'incertitude de mesure, qui dépend directement du coefficient de détermination  $r^2$  associé à la réalisation de la gamme étalon, est vérifiée. Nous avons fixé un seuil d'écart toléré à 0,99, ainsi  $r^2$  doit être supérieur à 0,99 afin de valider la mesure, ce qui est le cas dans notre essai.*

## 7.3. Robustesse

*Non vérifiée.*

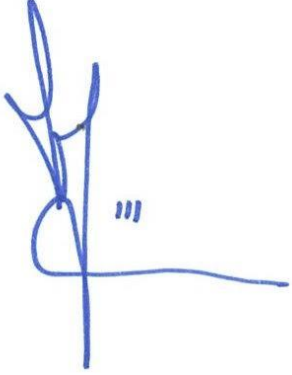
## 7.4. Conclusion


*La méthode d'extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de sang, 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.*

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	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*

<b>Référence du présent enregistrement de validation de méthode :</b> GDB_FORM_53_Validation de méthode_Extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de sang_230130_01_v1.0	
<b>Intitulé de la méthode :</b> <i>extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de sang</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 : 14/02/2023	
	Visa : 
<b>Validation de la méthode :</b>	

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

### **Conditions**

**Domaine d'application :** *l'ensemble des prélèvements de sang bovin reçus au sein de la plateforme de génotypage GDScan.*

### **Ressources humaines :**

- *personnel autorisé : personnel de la plateforme GD Scan habilité à l'extraction d'ADN*
- *personnel formateur : personnel de la plateforme GD Scan habilité à l'extraction 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 : 15/02/2023

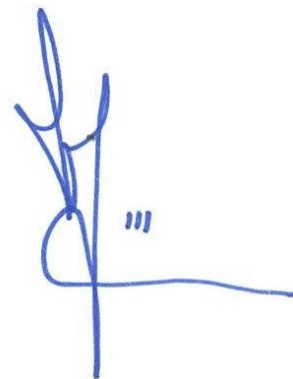
☐ **non accordée**, commentaires :


### **Signature Directeur Recherche et Développement :**

Nom : Christophe AUDEBERT

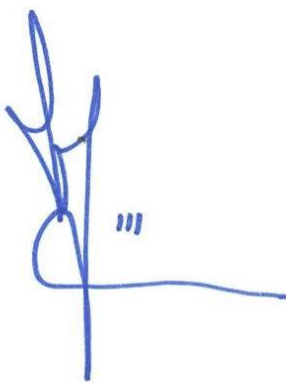
Date : 14/02/2023


Visa :



 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Validation de méthode</b>	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**

<b>Référence du présent enregistrement de validation de méthode :</b> GDB_FORM_53_Validation de méthode_Extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de sang_230130_02_v2.0	
<b>Intitulé de la méthode :</b> <i>extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de sang</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> (enregistrements produits suffisants - critères de performance atteints et conformes aux exigences du client) <input type="checkbox"/> <b>non approuvée</b>	
<b>Signature Directeur Recherche et Développement :</b> Nom : Christophe AUDEBERT    Date : 31/07/2024	
Visa : <div style="text-align: right;">  </div>	
<b>Validation de la méthode :</b>  <u><b>Conditions</b></u>	

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

**Domaine d'application :** l'ensemble des prélèvements de sang bovin reçus au sein de la plateforme de génotypage GDScan.

**Ressources humaines :**

- *personnel autorisé : personnel de la plateforme GD Scan habilité à l'extraction d'ADN*
- *personnel formateur : personnel de la plateforme GD Scan habilité à l'extraction 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 : 15/02/2023

☐ **non accordée**, commentaires :

**Signature Directeur Recherche et Développement :**

Nom : Christophe AUDEBERT

Date : 31/07/2024

Visa :

