 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	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 : *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 cartilages*

- ☒ 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 cartilages sur colonnes de silice de chez Macherey Nagel depuis 2014. La méthode a quelque peu évolué au fil du temps pour aboutir à la méthode actuelle, approuvée en décembre 2021.

	Validation de méthode	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 d'extraction.

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 cartilage est NucleoSpin 96 Tissue 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*

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	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
Ludivine Liétar	Développement, analyse et	31/07/2024	Ludivine Liétar

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

Responsable Plateforme de génotypage GD Scan	rédaction ➔ Version 230130_02 - ajout de la justification de dérogation aux critères de performance optimaux - mise à jour du point 7. Analyse		Responsable Plateforme de génotypage GD Scan
Christophe Audebert Directeur Recherche et Développement	Vérification et validation ➔ Version 230130_02	31/07/2024	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 :

[] Qualité des matrices/données :

[x] Quantité de matrices/données : pour les prélèvements de cartilage, compte tenu du fait que la méthode d'extraction est destructrice, et pour des raisons de préservation du bien être

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

animal, il n'est pas possible d'évaluer la répétabilité/reproductibilité tel qu'évoqué dans les prérogatives de la procédure.

[] Coût - investissement :

[] Autre(s) :

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 cartilage bovins 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
[]	sang total	tube EDTA	température ambiante
[]	bulbes de poils	pochette Kit GDScan	température ambiante
[x]	biopsie auriculaire = cartilage	tube avec conservateur (Allflex TSU ou TST)	température ambiante
[]	semence	paillette de conservation de sperme dilué	température ambiante
[]	ADN	plaques ADN (4x96 échantillons)	5°C +/- 3°C
[]	métadonnées et données de génotypage	base de données / serveur	-
[]	autre (à préciser) :	(à préciser)	(à préciser)

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	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 :

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


[x] qualitatifs (ex : Call Rate) : *Call Rate*

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)	<p>Pour au moins 90 % des échantillons :</p> <ul style="list-style-type: none"> - [ADN] > 15 ng/μL - Call Rate > 0,95 <p>Médiane Call Rate > 0,975</p> <p>Concordance génotypes : 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 génotypés)	16 mêmes prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront génotypés)
[] Génotypage d'ADN	32 échantillons d'ADN	<p>Pour au moins 90 % des échantillons :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Call Rate > 0,95 <p>pour au moins 90 %</p>	Contrôle répétabilité selon GDB_PRO_05_ Contrôle de	Contrôle reproductibilité selon GDB_PRO_05_

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

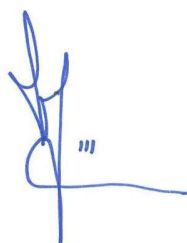
		des échantillons Médiane Call Rate > 0,975 Concordance génotypes : échantillon du test répétabilité/reproductibilité GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN, auquel on applique un seuil de 99 % de similarité 580 SNP Vérification d'absence d'inter-contamination Essai inter-laboratoire validé	répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN	Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN
[] Nouveau support de génotypage	2 charolais + 2 holstein déjà génotypés sur version N-1	Présence 580 SNP ISO (GDB_FL_15_SNP ISO 580) Concordance génotypes : 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	(non vérifiable)	- 16 autres prélèvements

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

		Médiane Call Rate > 0,975		
		Vérification d'absence d'inter-contamination		
		Essai inter-laboratoire validé		

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 2014, nous n'avons pas de données permettant de valider la répétabilité/reproductibilité ni la concordance des génotypages obtenus tel qu'énoncé dans les critères de performance d'extraction d'ADN optimaux. Par ailleurs, comme évoqué dans les contraintes du projet, s'ajoute à cela le fait que la méthode d'extraction est destructrice, et pour des raisons de préservation du bien-être animal, il n'est pas possible d'évaluer la répétabilité/reproductibilité, d'après ces critères. La seule part de reproductibilité pouvant être évaluée est l'extraction de 16 autres prélèvements dans les mêmes conditions mais par un opérateur différent.

Cependant, la méthode employée pour les cartilages est la même que celle utilisée pour prélèvements de poils et confortera donc ce dossier une fois validée.




Christophe Audebert, Directeur R&D

6. Essais

6.1. Essai n°1

6.1.1. Introduction

L'essai consiste en la validation de l'extraction d'ADN de 32 prélèvements de cartilage déjà réalisée dans les conditions actuelles d'extraction, plus 16 autres prélèvements extraits dans les mêmes conditions mais par un opérateur différent, seule part de reproductibilité pouvant être évaluée. En effet, compte tenu du fait que la méthode d'extraction est destructrice, et

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

pour des raisons de préservation du bien être animal, il n'est pas possible d'évaluer la répétabilité/reproductibilité tel qu'évoqué dans les prérogatives de la procédure.

6.1.2. Mode Opératoire


Le mode opératoire est celui du document en application au moment de l'essai GDB_MOP_03_Extraction d'ADN en plaque à partir de cartilage_poil_v2.0 (en décembre 2021, date de mise en place de la méthode, le document en application était la version GDB_MOP_03_Extraction d'ADN en plaque à partir de cartilage_poil_v1.0, mais 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).

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 décembre 2021 -> plus de 1900 extractions de cartilages réalisées), un mode opératoire est déjà en application et reprend la liste du matériel nécessaire : GDB_MOP_03_Extraction d'ADN en plaque à partir de cartilage_poil_v2.0 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 posteriori du développement (méthode en place depuis décembre 2021 -> plus de 1900 extractions de cartilages réalisées), un mode opératoire est déjà en application et reprend la liste des kits et réactifs nécessaires : GDB_MOP_03_Extraction d'ADN en plaque à partir de cartilage_poil_v2.0 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 Tissue Core Kit Réf. 740454.4	2209-004	-	Protéinase K solubilisée -21°C +/- 3°C Autres réactifs à 21°C +/- 3°C

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

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

ID	CODE BARRE	SEXE	RACE	TYPE MAT BIOLO	date reception Labo Douai	Plaque ADN	Position ADN	Date extraction
FR2141063542	GD474239	1	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	A01	09/01/2023
FR2134472277	GD439740	1	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	B01	09/01/2023
FR2134472280	GD439742	1	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	C01	09/01/2023
FR2141063532	GD439739	1	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	D01	09/01/2023
FR2134472279	GD439741	1	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	E01	09/01/2023
FR2141063530	GD439738	1	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	F01	09/01/2023
FR2141063529	GD439737	1	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	G01	09/01/2023
FR2134472268	GD439744	2	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	H01	09/01/2023
FR2134472261	GD439743	2	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	A02	09/01/2023
FR6118313536	GD473097	2	66	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	B02	09/01/2023
FR2146373638	GD474225	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	C02	09/01/2023
FR2146373646	GD474226	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	D02	09/01/2023
FR2146373647	GD474227	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	E02	09/01/2023
FR2146373652	GD474228	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	F02	09/01/2023
FR2146373658	GD474229	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	G02	09/01/2023
FR2146373659	GD474230	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	H02	09/01/2023
FR2146373660	GD474231	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	A03	09/01/2023
FR2146373669	GD474232	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	B03	09/01/2023
FR2146373670	GD474233	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	C03	09/01/2023
FR2146373677	GD474234	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	D03	09/01/2023
FR2146373680	GD474235	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	E03	09/01/2023
FR2146373691	GD474236	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	F03	09/01/2023
FR2146373693	GD474237	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	G03	09/01/2023
FR2146373637	GD474238	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	H03	09/01/2023
FR2134323619	GD439760	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	A04	09/01/2023


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

FR2146373611	GD439767	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	B04	09/01/2023
FR2146373613	GD439768	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	C04	09/01/2023
FR2146373615	GD439769	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	D04	09/01/2023
FR2146373616	GD439770	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	E04	09/01/2023
FR2146373618	GD439771	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	F04	09/01/2023
FR2146373619	GD439772	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	G04	09/01/2023
FR2146373621	GD439773	2	21	Cartilage	06/01/2023	SAM230118	H04	09/01/2023
FR6372723394	GD439363	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	A07	25/01/2023
FR6371632417	GD439360	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	B07	25/01/2023
FR6371632418	GD439361	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	C07	25/01/2023
FR6371632419	GD439362	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	D07	25/01/2023
FR6371632416	GD439359	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	E07	25/01/2023
FR6371632405	GD439351	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	F07	25/01/2023
FR6371632406	GD439352	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	G07	25/01/2023
FR6371632409	GD439353	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	H07	25/01/2023
FR6371632410	GD439354	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	A08	25/01/2023
FR6371632411	GD439355	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	B08	25/01/2023
FR6371632412	GD439356	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	C08	25/01/2023
FR6371632414	GD439357	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	D08	25/01/2023
FR6371632415	GD439358	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	E08	25/01/2023
FR0332273027	GD439344	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	F08	25/01/2023
FR0332273030	GD439345	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	G08	25/01/2023
FR0332273032	GD439346	2	66	Cartilage	25/01/2023	SAM230172	H08	25/01/2023

➤ 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 SAM230118 : Malika Merbah le 10/01/2023,

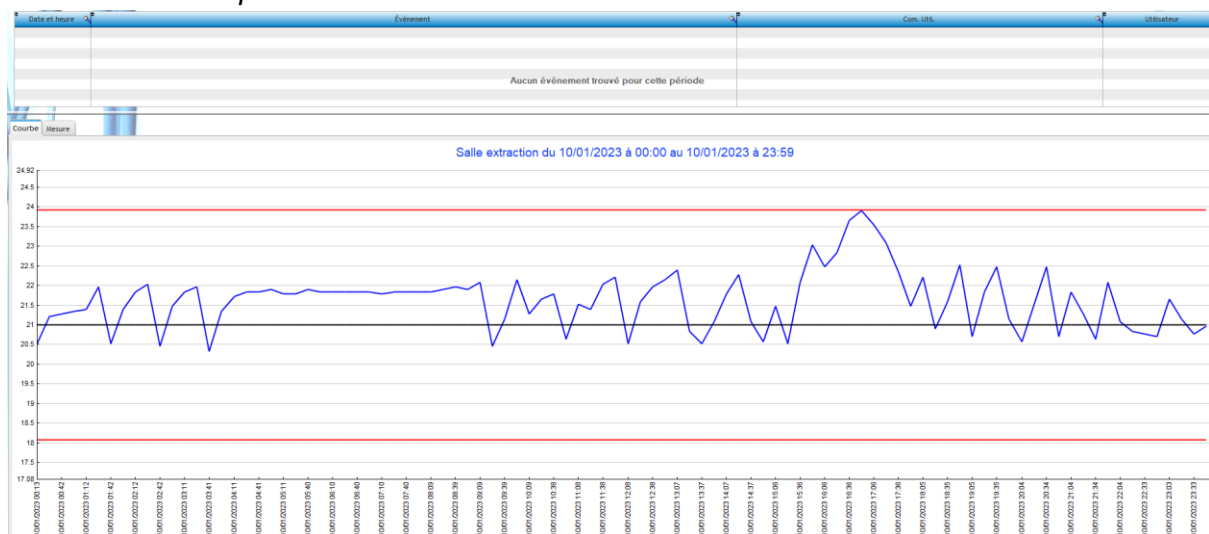
	Validation de méthode	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

- extractions SAM230172 : Michèle Boutté le 26/01/2023,
- génotypages SAM230118 : Malika Merbah les 11/01/2023 et 12/01/2023,
- génotypages SAM230172 : Malika Merbah les 30/01/2023 et 31/01/2023,
- dosage 48 échantillons : Ludivine Liétar le 08/02/2023.

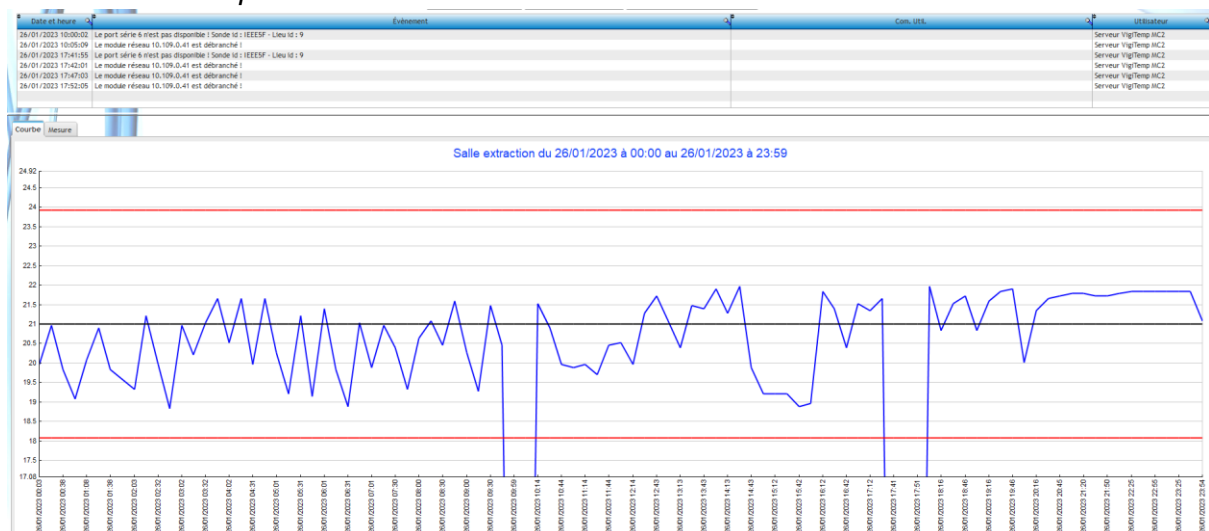
6.1.4. Résultats de l'essai - Conclusion


➤ Milieu :

- Variation de température salle extraction 10/01/2023



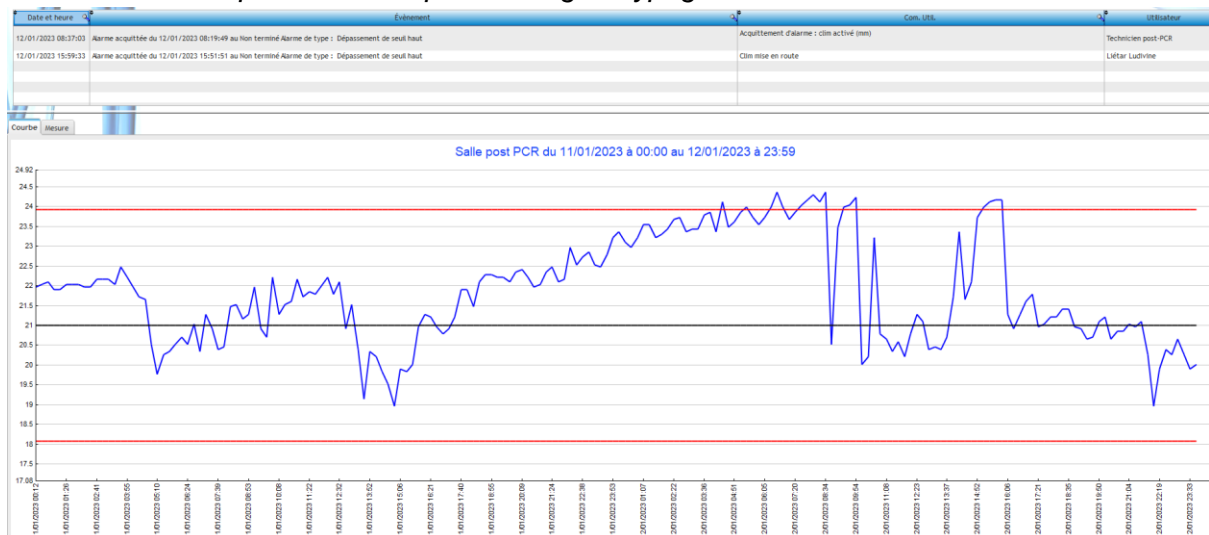
- Variation de température salle extraction 26/01/2023



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

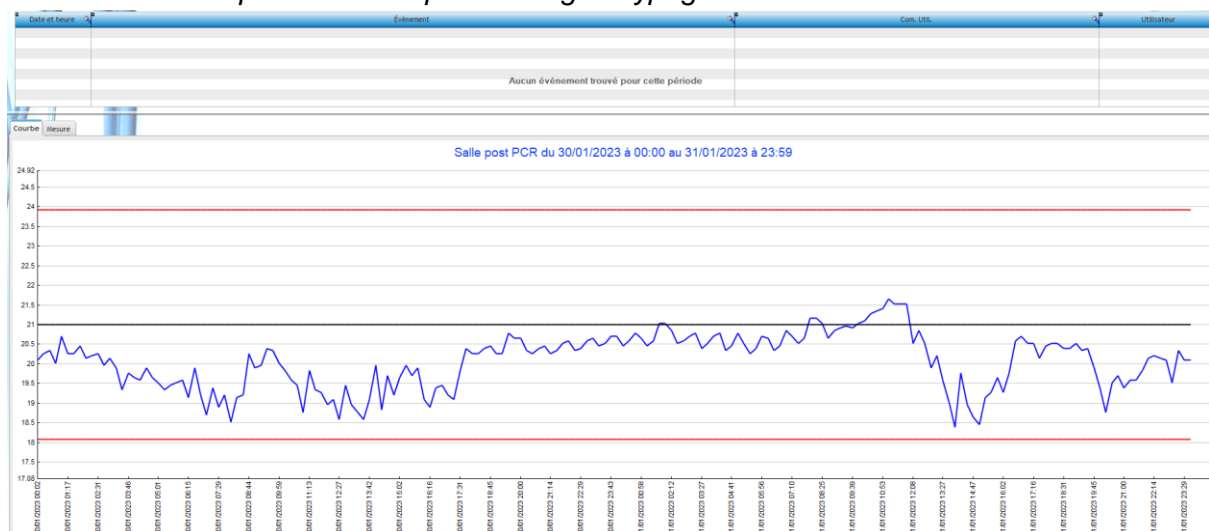
(2 décrochages suite à indisponibilité de la sonde -> mais relevés ok)

- Variation de température salle post-PCR génotypage 11/01/2023 et 12/01/2023




(léger dépassement -> ok spécifications conservation réactifs génotypage Illumina entre 15°C et 30°C pour les réactifs stockés dans la pièce)

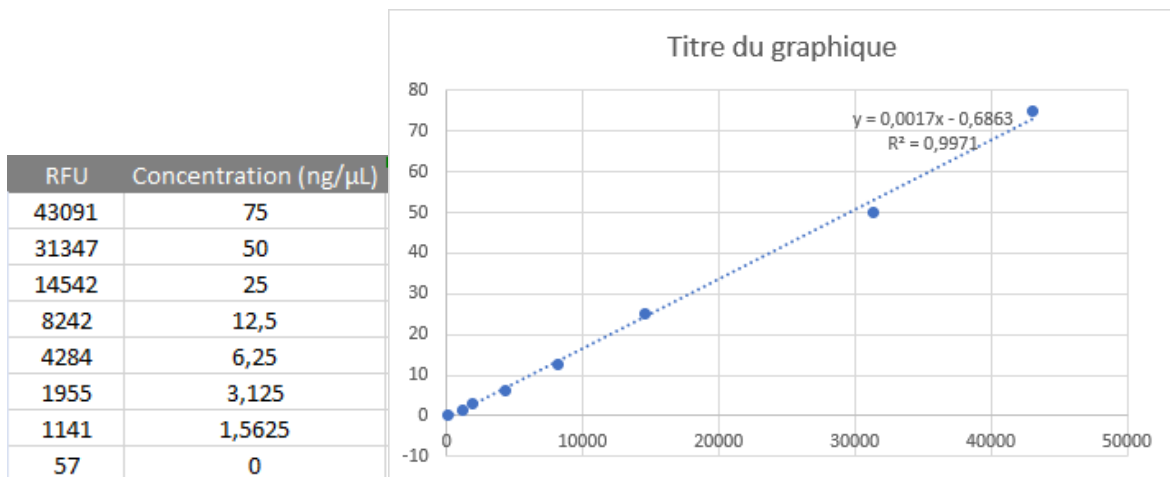
- Variation de température salle post-PCR génotypage 30/01/2023 et 31/01/2023



➤ **Extraction échantillons :**
(fichier d'origine [Dosage_validation_methode_extraction_080223.xlsx](#))

- **Gamme étalon :**

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



- *Echantillons :*

Cartilage SAM230118 A01-H04 (Malika)

Cartilage SAM230172 A07-H08 (Michèle)


Mesures RFU :

<>	1	2	3	4	5	6
A	14506	10276	12302	42326	19563	7384
B	11818	32401	19523	31203	13248	12966
C	20717	31327	24189	29667	22315	32741
D	13573	11647	17018	12411	24011	17854
E	13756	13516	17996	21792	24145	24788
F	11671	40126	25323	13660	14702	20047
G	9189	22487	14478	19982	47430	20540
H	22201	29012	13921	25478	33628	10126


Concentration (ng/μL) :

<>	1	2	3	4	5	6
A	24,0	16,8	20,2	71,3	32,6	11,9
B	19,4	54,4	32,5	52,4	21,8	21,4
C	34,5	52,6	40,4	49,7	37,2	55,0
D	22,4	19,1	28,2	20,4	40,1	29,7
E	22,7	22,3	29,9	36,4	40,4	41,5
F	19,2	67,5	42,4	22,5	24,3	33,4
G	14,9	37,5	23,9	33,3	79,9	34,2
H	37,1	48,6	23,0	42,6	56,5	16,5

➤ *Génotypage échantillons :*

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

ID	CODE BARRE	ID GENOTYPAGE	Date debut genotypage	Date de Scan	Call Rate
FR2141063542	GD474239	WG6984821-MSA7_A01	11/01/2023	12/01/2023	0,9966021
FR2134472277	GD439740	WG6984821-MSA7_B01	11/01/2023	12/01/2023	0,9984935
FR2134472280	GD439742	WG6984821-MSA7_C01	11/01/2023	12/01/2023	0,9990124
FR2141063532	GD439739	WG6984821-MSA7_D01	11/01/2023	12/01/2023	0,9991128
FR2134472279	GD439741	WG6984821-MSA7_E01	11/01/2023	12/01/2023	0,9987614
FR2141063530	GD439738	WG6984821-MSA7_F01	11/01/2023	12/01/2023	0,9991128
FR2141063529	GD439737	WG6984821-MSA7_G01	11/01/2023	12/01/2023	0,998527
FR2134472268	GD439744	WG6984821-MSA7_H01	11/01/2023	12/01/2023	0,9985437
FR2134472261	GD439743	WG6984821-MSA7_A02	11/01/2023	12/01/2023	0,9980918
FR6118313536	GD473097	WG6984821-MSA7_B02	11/01/2023	12/01/2023	0,9939072
FR2146373638	GD474225	WG6984821-MSA7_C02	11/01/2023	12/01/2023	0,9983261
FR2146373646	GD474226	WG6984821-MSA7_D02	11/01/2023	12/01/2023	0,9986777
FR2146373647	GD474227	WG6984821-MSA7_E02	11/01/2023	12/01/2023	0,9986944
FR2146373652	GD474228	WG6984821-MSA7_F02	11/01/2023	12/01/2023	0,9985939
FR2146373658	GD474229	WG6984821-MSA7_G02	11/01/2023	12/01/2023	0,9958153
FR2146373659	GD474230	WG6984821-MSA7_H02	11/01/2023	12/01/2023	0,9821399
FR2146373660	GD474231	WG6984821-MSA7_A03	11/01/2023	12/01/2023	0,9558937
FR2146373669	GD474232	WG6984821-MSA7_B03	11/01/2023	12/01/2023	0,9982424
FR2146373670	GD474233	WG6984821-MSA7_C03	11/01/2023	12/01/2023	0,9980751
FR2146373677	GD474234	WG6984821-MSA7_D03	11/01/2023	12/01/2023	0,9988115
FR2146373680	GD474235	WG6984821-MSA7_E03	11/01/2023	12/01/2023	0,9978742
FR2146373691	GD474236	WG6984821-MSA7_F03	11/01/2023	12/01/2023	0,9978575
FR2146373693	GD474237	WG6984821-MSA7_G03	11/01/2023	12/01/2023	0,9981923
FR2146373637	GD474238	WG6984821-MSA7_H03	11/01/2023	12/01/2023	0,9973385
FR2134323619	GD439760	WG6984821-MSA7_A04	11/01/2023	12/01/2023	0,9974557

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


FR2146373611	GD439767	WG6984821-MSA7_B04	11/01/2023	12/01/2023	0,997824
FR2146373613	GD439768	WG6984821-MSA7_C04	11/01/2023	12/01/2023	0,9981755
FR2146373615	GD439769	WG6984821-MSA7_D04	11/01/2023	12/01/2023	0,9983596
FR2146373616	GD439770	WG6984821-MSA7_E04	11/01/2023	12/01/2023	0,9983764
FR2146373618	GD439771	WG6984821-MSA7_F04	11/01/2023	12/01/2023	0,997824
FR2146373619	GD439772	WG6984821-MSA7_G04	11/01/2023	12/01/2023	0,9987948
FR2146373621	GD439773	WG6984821-MSA7_H04	11/01/2023	12/01/2023	0,9987781
FR6372723394	GD439363	WG7006832-MSA7_A07	30/01/2023	31/01/2023	0,9988115
FR6371632417	GD439360	WG7006832-MSA7_B07	30/01/2023	31/01/2023	0,9988952
FR6371632418	GD439361	WG7006832-MSA7_C07	30/01/2023	31/01/2023	0,9983764
FR6371632419	GD439362	WG7006832-MSA7_D07	30/01/2023	31/01/2023	0,998142
FR6371632416	GD439359	WG7006832-MSA7_E07	30/01/2023	31/01/2023	0,9984433
FR6371632405	GD439351	WG7006832-MSA7_F07	30/01/2023	31/01/2023	0,9978073
FR6371632406	GD439352	WG7006832-MSA7_G07	30/01/2023	31/01/2023	0,9991296
FR6371632409	GD439353	WG7006832-MSA7_H07	30/01/2023	31/01/2023	0,9991128
FR6371632410	GD439354	WG7006832-MSA7_A08	30/01/2023	31/01/2023	0,9959995
FR6371632411	GD439355	WG7006832-MSA7_B08	30/01/2023	31/01/2023	0,9970038
FR6371632412	GD439356	WG7006832-MSA7_C08	30/01/2023	31/01/2023	0,997824
FR6371632414	GD439357	WG7006832-MSA7_D08	30/01/2023	31/01/2023	0,9955308
FR6371632415	GD439358	WG7006832-MSA7_E08	30/01/2023	31/01/2023	0,9986609
FR0332273027	GD439344	WG7006832-MSA7_F08	30/01/2023	31/01/2023	0,9981253
FR0332273030	GD439345	WG7006832-MSA7_G08	30/01/2023	31/01/2023	0,9984935
FR0332273032	GD439346	WG7006832-MSA7_H08	30/01/2023	31/01/2023	0,9991463

Version de puce : EuroG_MDv3_XT_GD

Projets Génome Studio : indexation_130123 et indexation_030223

Fichier de clustering utilisé : MDv3_XT_bovin_190822.egt et 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_janvier_2023\indexation_130123 et ... \indexation_030223

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

Référence historique Galaxy : Genotypages_sem01_2023 et Genotypages_sem04_2023
Informations retranscrites dans le [Fichier suivi échantillons 2023 - Gènes Diffusion](#)

➤ *Interprétation :*

- Spécifications relatives au milieu validées
- Concentration en ADN : 46 échantillons sur 48 > 15 ng/μL, soit 95,8 %
- Call Rate > 0,95 pour l'ensemble des 48 échantillons
- Médiane Call Rate 48 échantillons = 0,99834285 > 0,975

➤ *Conclusion*

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

Essai inter-laboratoire

L'essai inter-laboratoire validé correspondant est en date du 30/09/2024 et correspond aux documents suivants :


GDB_FORM_19_Résultats bruts essai interlaboratoire - GD Biotech - 09-2024_v1.1

GDB_FORM_20_Essai interlaboratoire - GD Biotech - 09-2024_v1.1


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)
Extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de cartilages	Matériel	Panne ou casse d'appareil	Ne plus pouvoir utiliser cette méthode d'extraction	<ul style="list-style-type: none"> Appareil de secours accès du laboratoire soumis à autorisation 	Faible
	Matériel	Intercontaminations liées aux équipements (réglage, dysfonctionnement, etc...)	Absence de résultat de génotypage	<ul style="list-style-type: none"> Utilisation consommables ADN free (pointes, plaques de lyse, etc...), stérilisation matériel, sensibilisation au nettoyage du matériel, ordre de lavage du laboratoire pas de résultat de génotypage validé si callrate < 0,95 (reflet d'extraction de mauvaise qualité ou contaminée) accès du laboratoire soumis à autorisation 	Faible
	Matériel	Dysfonctionnement équipement critique	Dispense de volumes erronés	<ul style="list-style-type: none"> Suivi en métrologie externe (étalonnage COFRAC) 	Faible

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

		(pipettes)		<ul style="list-style-type: none"> • Stock matériel suffisant pour dépannage urgent • accès du laboratoire soumis à autorisation 	
	Matériel	Variation de température d'équipement critique	Conservation des produits d'essais et réactifs non maîtrisée	<ul style="list-style-type: none"> • Surveillance de température • suivi en métrologie externe • branchement sur prise ondulée (en cas de coupure de courant) • accès du laboratoire soumis à autorisation 	Faible
	Matière	Prélèvement de mauvaise qualité	Absence de résultat de génotypage	<ul style="list-style-type: none"> • Transmission des exigences relatives à la conservation et les critères d'acceptation des prélèvements via le contrat de prestation, • possibilité de refus (retour) prélèvement au client si exigences non remplies conformément au contrat de prestation 	Faible
	Matière	Intercontamination	Absence de résultat de génotypage	<ul style="list-style-type: none"> • Transmission des critères d'acceptation des prélèvements via le contrat de prestation • possibilité de refus (retour) prélèvement au client si exigences non remplies conformément au contrat de prestation • pas de résultat de génotypage validé si callrate < 0,95 (reflet d'extraction de mauvaise qualité ou contaminée) 	Faible
	Milieu	Intercontaminations liées à l'environnement	Absence de résultat de génotypage	<ul style="list-style-type: none"> • Accès du laboratoire soumis à autorisation • pièces de travail agencées selon les risques de contamination et identifiées 	Faible
	Milieu	Variance de température ambiante (climatisation non reliée au circuit ondulé)	Conservation des produits d'essais et réactifs non maîtrisée	<ul style="list-style-type: none"> • Surveillance des températures des pièces où présence de réactifs 	Faible
	Méthode	Manque d'information ou information erronée	Mauvaise application de la méthode	<ul style="list-style-type: none"> • Vérification et approbation du dossier de validation de méthode • Vérification et approbation de mode opératoire associé 	Faible
	Méthode	Ecart de performance	Absence de résultat de génotypage Déviance de la qualité des résultats	<ul style="list-style-type: none"> • Critères de validation des résultats définis : validation si et seulement si plus de 85% des résultats d'analyse d'un run ont un callrate < 0,95 • 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"> • Validation de prise de connaissance des documents applicables • Formation personnel • Habilitation personnel • Suivi de maintien de compétence personnel habilité • pas de résultat de génotypage si callrate < 0,95 (reflet d'extraction de mauvaise qualité ou contaminée) 	Faible
	Main d'oeuvre	Erreur humaine	Intercontamination Mauvaise conservation des produits d'essais et réactifs , utilisation	<ul style="list-style-type: none"> • pas de résultat de génotypage si callrate < 0,95 (reflet d'extraction de mauvaise qualité ou contaminée) • personnel sensibilisé à la gestion des incidents et non-conformités 	Faible

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

			d'un mauvais programme, etc...		
--	--	--	--------------------------------	--	--

Par essence, les méthodes d'extraction ADN si elles intègrent des facteurs de risques, ceux-ci ne peuvent pas engendrer des résultats de génotypages erronés en tant que tels mais peuvent aboutir à une absence de résultats de génotypages (CallRate < 0,95).

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](#)

[_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

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

La méthode d'extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de cartilages, telle que définie dans l'essai n°1 répond aux critères de performance attendus et met en évidence l'obtention de résultats qualitativement satisfaisants.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	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

Référence du présent enregistrement de validation de méthode :

GDB_FORM_53_Validation de méthode_Extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de cartilages_230130_01_v1.0

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

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 : 17/02/2023

Visa :

Validation de la méthode :

Conditions

Domaine d'application : *l'ensemble des prélèvements de cartilage bovins 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 : 18/02/2023

☐ **non accordée**, commentaires :

Signature Directeur Recherche et Développement :

Nom : Christophe AUDEBERT Date : 17/02/2023

Visa :

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	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_Extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de cartilages_230130_02_v2.0

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

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 : 31/07/2024

Visa :

Validation de la méthode :

Conditions

Domaine d'application : *l'ensemble des prélèvements de cartilage bovins 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 : 18/02/2023

☐ **non accordée**, commentaires :

Signature Directeur Recherche et Développement :

Nom : Christophe AUDEBERT Date : 31/07/2024

Visa :

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	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_Extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de cartilages_230130_03_v3.0

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

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 : 04/11/2024

Visa :

Validation de la méthode :

Conditions

Domaine d'application : *l'ensemble des prélèvements de cartilage bovins 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 : 18/02/2023

☐ **non accordée**, commentaires :

Signature Directeur Recherche et Développement :

Nom : Christophe AUDEBERT Date : 04/11/2024

Visa :