 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 poils*

- ☒ 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 poils 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.

 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

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 poils 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, Mélissandre Barbet, Pierre Bouvelle*

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

 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

Responsable Plateforme de génotypage GD Scan	rédaction ➔ 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 génotypages (Essai 3) - mise à jour du point 7. Analyse		Responsable Plateforme de génotypage GD Scan
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 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
Karine Le Roux Réfèrent qualité	Développement, analyse et rédaction ➔ Version 230130_03 - Ajout de la justification 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	Vérification et validation	04/11/2024	Christophe Audebert

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

Directeur Recherche et Développement	Version 230130_03		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

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

☐ Equipements :

☐ Qualité des matrices/données :

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

☐ 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 poils 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
<input type="checkbox"/>	sang total	tube EDTA	température ambiante

 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

[x]	bulbes de poils	pochette Kit GDScan	température ambiante
[]	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)

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, 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	16 mêmes prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront génotypés)	16 mêmes prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront génotypés)


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

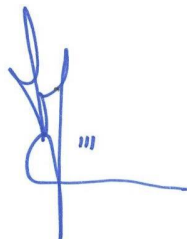
		<p>SNP 8 échantillons issus des tests répétabilité/reproductibilité</p> <p>Vérification d'absence d'inter-contamination</p> <p>Essai inter-laboratoire validé</p>		
[] Géotypage d'ADN	32 échantillons d'ADN	<p>Pour au moins 90 % des échantillons : - Call Rate > 0,95 pour au moins 90 % des échantillons</p> <p>Médiane Call Rate > 0,975</p> <p>Concordance géotypages : échantillon du test répétabilité/reproductibilité GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de géotypage 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>	<p>Contrôle répétabilité selon GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de géotypage haut-débit par puces à ADN</p>	<p>Contrôle reproductibilité selon GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de géotypage haut-débit par puces à ADN</p>

 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

[] Nouveau support de génotypage	2 charolais + 2 holstein déjà génotypés sur version N-1	Présence 580 SNP ISO (GDB_FI_15_SNP ISO 580) Concordance génotypages : 99 % de similarité 580 SNP ISO N-1 et N (génotypages valides)	2 mêmes charolais + 2 mêmes holstein déjà génotypés sur version N-1	2 mêmes charolais + 2 mêmes holstein déjà génotypés sur version N-1
[x] Autre : <i>Extraction d'ADN</i>	32 prélèvements	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 2 échantillons issus des tests répétabilité/reproductibilité Vérification d'absence d'inter-contamination Essai inter-laboratoire validé	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 2014, 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.

 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



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_03_Extraction d'ADN en plaque à partir de cartilage_poil ont été utilisées depuis la mise en place de la méthode en décembre 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.

6.1. Essai n°1

6.1.1. Introduction


L'essai consiste en la validation de l'extraction d'ADN de 32 prélèvements de poils déjà réalisée dans les conditions actuelles d'extraction, plus 16 autres prélèvements extraits dans les mêmes conditions mais par un opérateur différent.

6.1.2. Mode Opératoire

Le mode opératoire est celui en application au moment de l'essai GDB_MOP_03_Extraction d'ADN en plaque à partir de cartilage_poil_v2.0.

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 33 000 extractions de poils 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 33 000*


 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

extractions de poils 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...) :

ID	CODE BARRE	SEXE	RACE	TYPE MAT BIOLO	date reception Labo Douai	Plaque ADN	Position ADN	Date extraction
FR6043187415	GD477229	2	66	Poil	24/01/2023	SAM230172	A01	25/01/2023
FR6043187375	GD477228	2	66	Poil	24/01/2023	SAM230172	B01	25/01/2023
FR0202892868	GD477227	2	66	Poil	24/01/2023	SAM230172	C01	25/01/2023
FR3545017503	GD473656	1	66	Poil	24/01/2023	SAM230172	D01	25/01/2023
FR5455884472	GD228834	2	66	Poil	24/01/2023	SAM230172	E01	25/01/2023
FR5455854319	GD228833	2	66	Poil	24/01/2023	SAM230172	F01	25/01/2023
FR0800669444	GD475133	1	66	Poil	24/01/2023	SAM230172	G01	25/01/2023
FR0800669238	GD475134	2	66	Poil	24/01/2023	SAM230172	H01	25/01/2023
FR0800669543	GD475135	1	66	Poil	24/01/2023	SAM230172	A02	25/01/2023
FR7621112440	GD426456	2	38	Poil	24/01/2023	SAM230172	B02	25/01/2023
FR7621112470	GD426462	2	38	Poil	24/01/2023	SAM230172	C02	25/01/2023
FR7621112422	GD426452	2	38	Poil	24/01/2023	SAM230172	D02	25/01/2023
FR7621112398	GD426450	2	38	Poil	24/01/2023	SAM230172	E02	25/01/2023
FR3546003762	GD190945	1	56	Poil	24/01/2023	SAM230172	F02	25/01/2023

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

FR3546003763	GD190944	1	56	Poil	25/01/2023	SAM230172	G02	25/01/2023
FR2134272212	GD439318	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	H02	25/01/2023
FR2134272223	GD439322	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	A03	25/01/2023
FR2134272222	GD439321	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	B03	25/01/2023
FR2134272221	GD439320	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	C03	25/01/2023
FR2134272241	GD439334	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	D03	25/01/2023
FR2134272239	GD439333	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	E03	25/01/2023
FR2134272238	GD439332	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	F03	25/01/2023
FR2134272236	GD439331	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	G03	25/01/2023
FR2134272235	GD439330	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	H03	25/01/2023
FR2134272234	GD439329	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	A04	25/01/2023
FR2134272233	GD439328	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	B04	25/01/2023
FR2134272231	GD439327	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	C04	25/01/2023
FR2134272229	GD439326	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	D04	25/01/2023
FR2134272227	GD439325	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	E04	25/01/2023
FR2134272226	GD439324	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	F04	25/01/2023
FR2134272224	GD439323	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	G04	25/01/2023
FR2134272203	GD439315	2	21	Poil	25/01/2023	SAM230172	H04	25/01/2023
FR6114733566	GD481977	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	A01	26/01/2023
FR6114733555	GD481976	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	B01	26/01/2023
FR6114733535	GD481973	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	C01	26/01/2023
FR6114733537	GD481974	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	D01	26/01/2023
FR6114733546	GD481975	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	E01	26/01/2023
FR6115331987	GD481978	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	F01	26/01/2023
FR6115331989	GD481979	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	G01	26/01/2023
FR6114733493	GD481971	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	H01	26/01/2023
FR6107743649	GD481987	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	A02	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

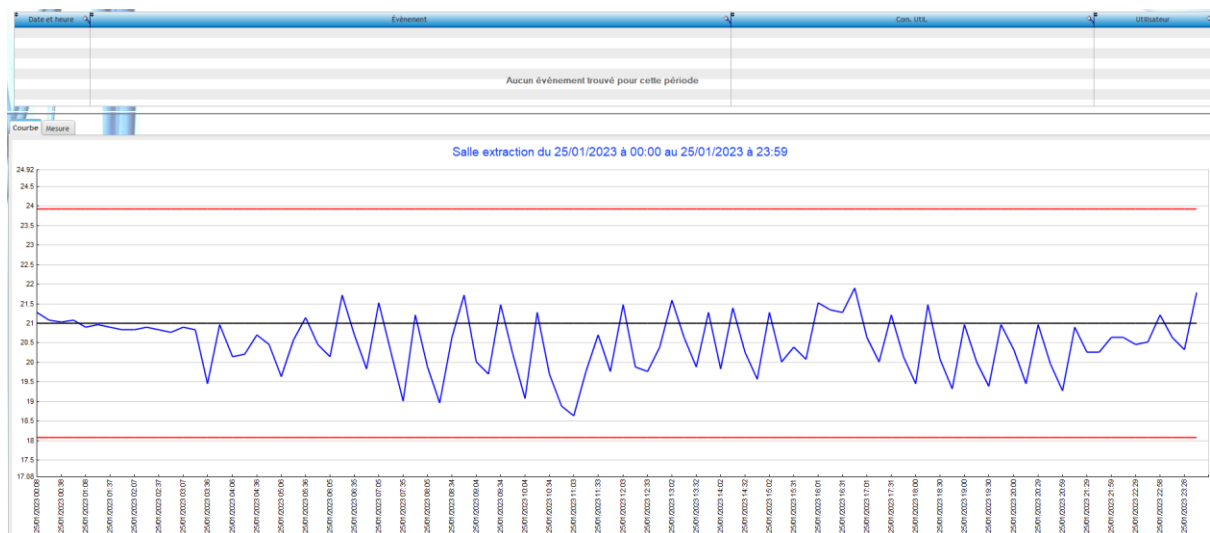
FR6107743640	GD481986	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	B02	26/01/2023
FR6107743544	GD481983	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	C02	26/01/2023
FR6107743536	GD481982	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	D02	26/01/2023
FR6107743611	GD481985	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	E02	26/01/2023
FR6107743602	GD481984	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	F02	26/01/2023
FR6107743534	GD481981	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	G02	26/01/2023
FR6114727188	GD481994	2	56	Poil	25/01/2023	SAM230174	H02	26/01/2023

- 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 SAM230172 : Michèle Boutté le 26/01/2023,
 - extractions SAM230174 : Malika Merbah le 27/01/2023,
 - génotypages SAM230172 et SAM230174 : Malika Merbah les 30/01/2023 et 31/01/2023,
 - dosage 48 échantillons : Ludivine Liétar le 08/02/2023.

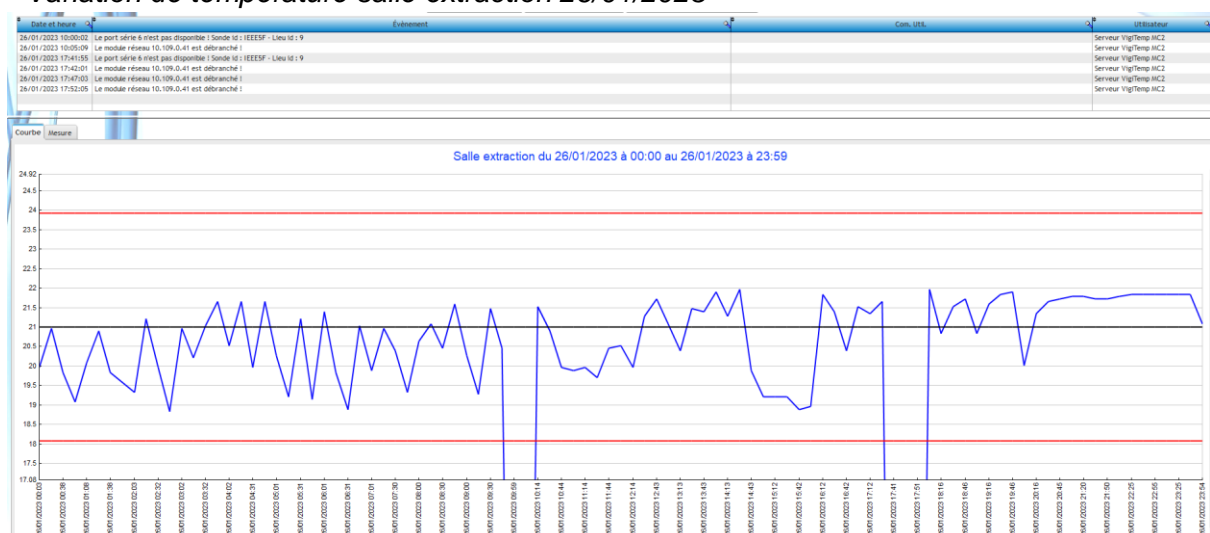
6.1.4. Résultats de l'essai - Conclusion

- Milieu :
 - Variation de température salle extraction 25/01/2023

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




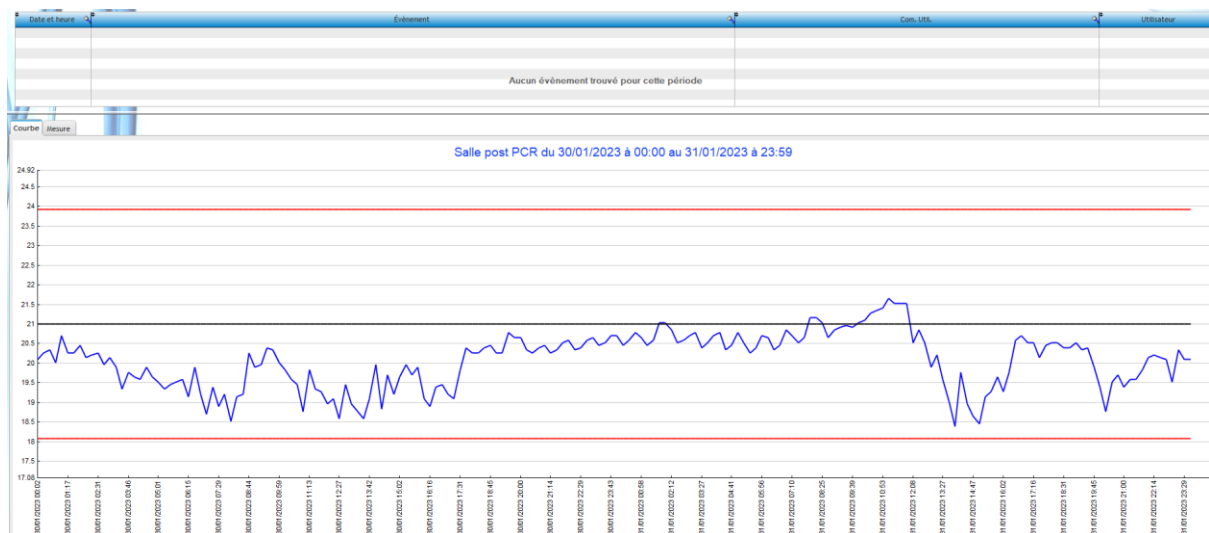
- Variation de température salle extraction 26/01/2023



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

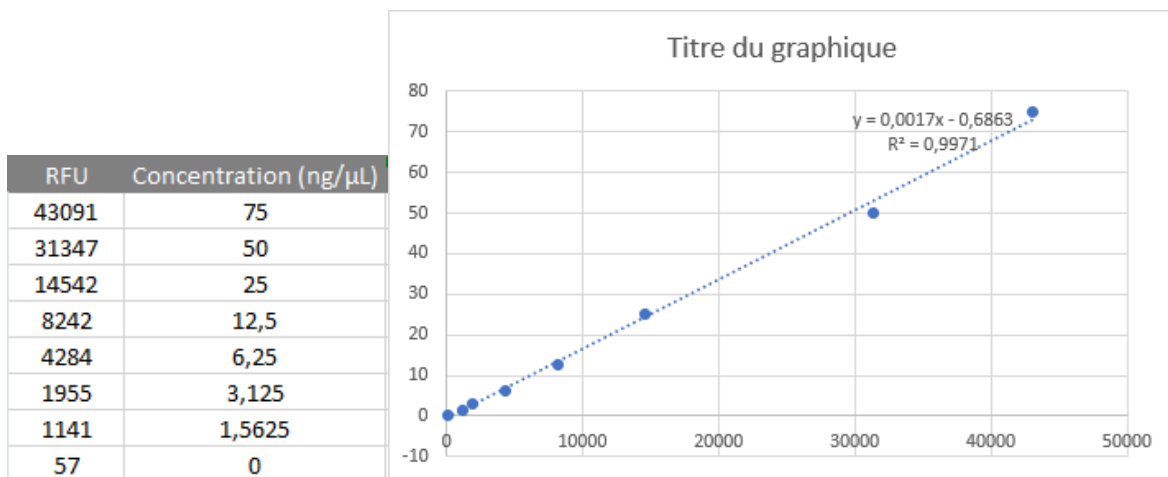
- Variation de température salle post-PCR génotypage 30/01/2023 et 31/01/2023

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



➤ *Extraction échantillons :*
(fichier d'origine GDB_ENR_129_Dosages_validation_methode_extraction_080223_v1.0)


- *Gamme étalon :*



- *Echantillons :*

Poils SAM230172 A01-H04 (Michèle)
Poils SAM230174 A01-H02 (Malika)

Mesures RFU :

 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


<>	7	8	9	10	11	12
A	36992	46937	42572	42608	41100	42016
B	31748	45463	43480	43688	42926	43051
C	43176	43091	42282	43868	44696	45781
D	40497	42911	41924	43604	42137	44780
E	23855	43902	42422	42852	43887	47546
F	27263	21401	41399	44663	40131	48595
G	42035	21940	40636	44707	40693	38053
H	39907	24013	29258	33046	42074	33717

Concentration (ng/μL) :


<>	7	8	9	10	11	12
A	62,2	79,1	71,7	71,7	69,2	70,7
B	53,3	76,6	73,2	73,6	72,3	72,5
C	72,7	72,6	71,2	73,9	75,3	77,1
D	68,2	72,3	70,6	73,4	70,9	75,4
E	39,9	73,9	71,4	72,2	73,9	80,1
F	45,7	35,7	69,7	75,2	67,5	81,9
G	70,8	36,6	68,4	75,3	68,5	64,0
H	67,2	40,1	49,1	55,5	70,8	56,6

➤ *Génotypage échantillons :*

ID	CODE BARRE	ID GENOTYPAGE	Date debut genotypage	Date de Scan	Call Rate
FR6043187415	GD477229	WG7006832-MSA7_A01	30/01/2023	31/01/2023	0,9992635
FR6043187375	GD477228	WG7006832-MSA7_B01	30/01/2023	31/01/2023	0,9995146
FR0202892868	GD477227	WG7006832-MSA7_C01	30/01/2023	31/01/2023	0,9993806
FR3545017503	GD473656	WG7006832-MSA7_D01	30/01/2023	31/01/2023	0,9995648
FR5455884472	GD228834	WG7006832-MSA7_E01	30/01/2023	31/01/2023	0,999297
FR5455854319	GD228833	WG7006832-MSA7_F01	30/01/2023	31/01/2023	0,9993137
FR0800669444	GD475133	WG7006832-MSA7_G01	30/01/2023	31/01/2023	0,9989287
FR0800669238	GD475134	WG7006832-MSA7_H01	30/01/2023	31/01/2023	0,998979
FR0800669543	GD475135	WG7006832-MSA7_A02	30/01/2023	31/01/2023	0,999364
FR7621112440	GD426456	WG7006832-MSA7_B02	30/01/2023	31/01/2023	0,9989622

 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

FR7621112470	GD426462	WG7006832-MSA7_C02	30/01/2023	31/01/2023	0,9992133
FR7621112422	GD426452	WG7006832-MSA7_D02	30/01/2023	31/01/2023	0,9989622
FR7621112398	GD426450	WG7006832-MSA7_E02	30/01/2023	31/01/2023	0,998845
FR3546003762	GD190945	WG7006832-MSA7_F02	30/01/2023	31/01/2023	0,9991631
FR3546003763	GD190944	WG7006832-MSA7_G02	30/01/2023	31/01/2023	0,9992133
FR2134272212	GD439318	WG7006832-MSA7_H02	30/01/2023	31/01/2023	0,9978073
FR2134272223	GD439322	WG7006832-MSA7_A03	30/01/2023	31/01/2023	0,9987948
FR2134272222	GD439321	WG7006832-MSA7_B03	30/01/2023	31/01/2023	0,9990459
FR2134272221	GD439320	WG7006832-MSA7_C03	30/01/2023	31/01/2023	0,9991296
FR2134272241	GD439334	WG7006832-MSA7_D03	30/01/2023	31/01/2023	0,9989287
FR2134272239	GD439333	WG7006832-MSA7_E03	30/01/2023	31/01/2023	0,9986777
FR2134272238	GD439332	WG7006832-MSA7_F03	30/01/2023	31/01/2023	0,9893877
FR2134272236	GD439331	WG7006832-MSA7_G03	30/01/2023	31/01/2023	0,9988952
FR2134272235	GD439330	WG7006832-MSA7_H03	30/01/2023	31/01/2023	0,9989957
FR2134272234	GD439329	WG7006832-MSA7_A04	30/01/2023	31/01/2023	0,9981588
FR2134272233	GD439328	WG7006832-MSA7_B04	30/01/2023	31/01/2023	0,9990627
FR2134272231	GD439327	WG7006832-MSA7_C04	30/01/2023	31/01/2023	0,9991463
FR2134272229	GD439326	WG7006832-MSA7_D04	30/01/2023	31/01/2023	0,9989622
FR2134272227	GD439325	WG7006832-MSA7_E04	30/01/2023	31/01/2023	0,9990961
FR2134272226	GD439324	WG7006832-MSA7_F04	30/01/2023	31/01/2023	0,9990793
FR2134272224	GD439323	WG7006832-MSA7_G04	30/01/2023	31/01/2023	0,998912
FR2134272203	GD439315	WG7006832-MSA7_H04	30/01/2023	31/01/2023	0,998979
FR6114733566	GD481977	WG7006834-MSA7_A01	30/01/2023	31/01/2023	0,9991631
FR6114733555	GD481976	WG7006834-MSA7_B01	30/01/2023	31/01/2023	0,9990793
FR6114733535	GD481973	WG7006834-MSA7_C01	30/01/2023	31/01/2023	0,9990124
FR6114733537	GD481974	WG7006834-MSA7_D01	30/01/2023	31/01/2023	0,9991798
FR6114733546	GD481975	WG7006834-MSA7_E01	30/01/2023	31/01/2023	0,9992133

 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

FR6115331987	GD481978	WG7006834-MSA7_F01	30/01/2023	31/01/2023	0,9986274
FR6115331989	GD481979	WG7006834-MSA7_G01	30/01/2023	31/01/2023	0,9991296
FR6114733493	GD481971	WG7006834-MSA7_H01	30/01/2023	31/01/2023	0,9973218
FR6107743649	GD481987	WG7006834-MSA7_A02	30/01/2023	31/01/2023	0,9988115
FR6107743640	GD481986	WG7006834-MSA7_B02	30/01/2023	31/01/2023	0,9991296
FR6107743544	GD481983	WG7006834-MSA7_C02	30/01/2023	31/01/2023	0,9990124
FR6107743536	GD481982	WG7006834-MSA7_D02	30/01/2023	31/01/2023	0,9990459
FR6107743611	GD481985	WG7006834-MSA7_E02	30/01/2023	31/01/2023	0,9992133
FR6107743602	GD481984	WG7006834-MSA7_F02	30/01/2023	31/01/2023	0,9991631
FR6107743534	GD481981	WG7006834-MSA7_G02	30/01/2023	31/01/2023	0,9977068
FR6114727188	GD481994	WG7006834-MSA7_H02	30/01/2023	31/01/2023	0,9991965

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

Référence historique Galaxy : Genotypages_sem05_2023

➤ *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 = 0,9990543 > 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.

Test répétabilité-reproductibilité

 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

→ Introduction

L'essai consiste en la validation d'un test annuel de répétabilité/reproductibilité extraction sur colonnes de silice en plaque à partir de poils, 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.

→ Mode Opérateur


Le mode opératoire est celui en application au moment de l'essai GDB_MOP_03_Extraction d'ADN en plaque à partir de cartilage_poil_v1.0.

→ 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 33 000 extractions de poils 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_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 posteriori du développement (méthode en place depuis décembre 2021 -> plus de 33 000 extractions de poils 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_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 Tissue Core Kit Réf. 740454.4	2204-004 (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 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

Dans l'ordre de traitement :

CODE BARRE	TYPE MAT BIOLO	date reception Labo Douai	Plaque ADN	Date extraction
GD237531	Poil	23/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD175817	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD321758	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD295656	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD321702	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD321708	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD321732	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD321735	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD321738	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD321757	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD321733	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD175816	Poil	12/11/2021	Test répéta/repro	Entre le 05/09/22 (date création liste


 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

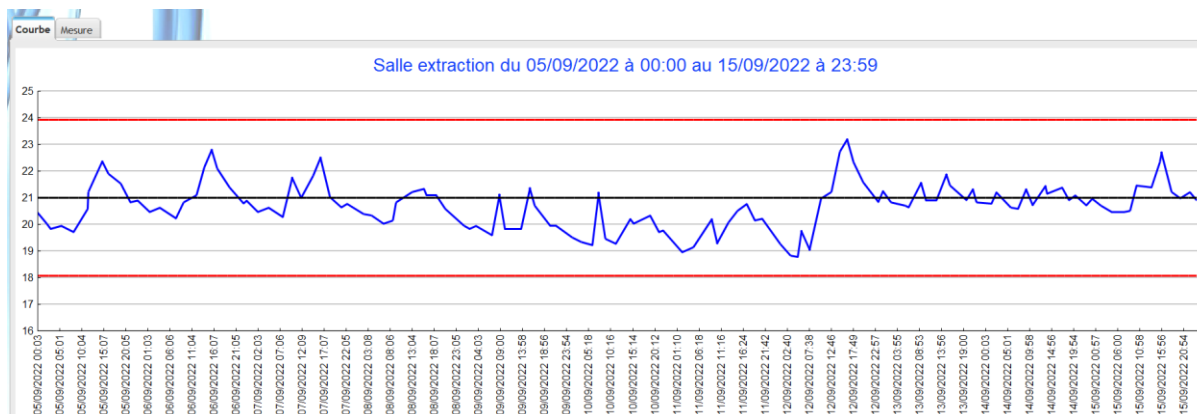
			<i>extraction poils 15/09/22</i>	<i>échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)</i>
GD321714	Poil	12/11/2021	<i>Test répéta/repro extraction poils 15/09/22</i>	<i>Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)</i>
GD239347	Poil	01/09/2022	<i>Test répéta/repro extraction poils 15/09/22</i>	<i>Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)</i>
GD239346	Poil	01/09/2022	<i>Test répéta/repro extraction poils 15/09/22</i>	<i>Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)</i>
GD239847	Poil	01/09/2022	<i>Test répéta/repro extraction poils 15/09/22</i>	<i>Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)</i>

- Milieu : extractions réalisées dans la salle Extraction, dont la température est maîtrisée (21°C +/- 3°C).
- Main d'oeuvre :
 - extractions Test répéta/repro extraction poils 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 dosage) le 15/09/2022 + redosage Malika Merbah le 21/09/2022.

➔ Résultats de l'essai - Conclusion

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

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



➤ **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 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 %

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

- 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 poils 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.

Vérification de la concordance

➔ **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.

➔ **Mode Opérateur**


Le mode opératoire de génotypage est celui en application au moment de l'essai GDB_MOP_09_Génotypage_v2.1.

➔ **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 (SAM220903 échantillons reproductibilité)
 - Incubateur microplaque SciGene GDD-INCUB-005
 - Four Illumina GDD-FOUR-004 (SAM2407008 échantillons répétabilité)
 - Four Illumina GDD-FOUR-001 (SAM220903 échantillons reproductibilité)
 - Robot pipeteur Tecan GDD-TECA-001
 - Lecteur de puces à ADN Illumina GDD-SCAN-001

➤ Kits et réactifs :

Kits et autres réactifs			
Produits / Consommables	Numéro de lot	Spécifications particulières	Stockage


 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

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 le run du 07/09/2022 et 08/09/2022	-	-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 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.


CODE BARRE	TYPE MAT BIOLO	date reception Labo Douai	Plaque ADN	Position ADN	Date extraction
---------------	----------------------	---------------------------------	------------	--------------	-----------------

 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

GD239346	Poil	01/09/2022	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	G06 (référence)	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD239346	Poil	01/09/2022	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	G08 (répétabilité)	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD239346	Poil	01/09/2022	SAM220903	G02 (reproductibilité)	06/09/2022
GD239847	Poil	01/09/2022	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	H06 (référence)	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD239847	Poil	01/09/2022	Test répéta/repro extraction poils 15/09/22	H08 (répétabilité)	Entre le 05/09/22 (date création liste échantillons) et le 15/09/22 (dosage échantillons)
GD239847	Poil	01/09/2022	SAM220903	F02 (reproductibilité)	06/09/2022

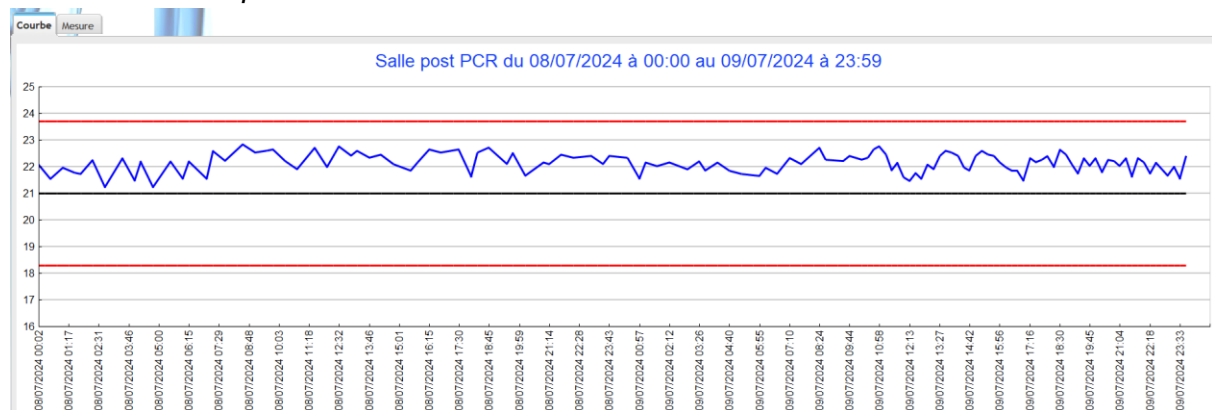
- Milieu : géotypages réalisés dans les salles Pré-PCR géotypage et Post-PCR géotypage, dont la température est maîtrisée pour cette dernière (21°C +/- 3°C).
- Main d'oeuvre :
 - Extraction échantillons GD239346 (G06/G08) et GD239847 (H06/H08) plaque Test répéta/repro extraction poils 15/09/22 : Michèle Boutté
 - Extraction échantillons GD239346 (G02) et GD239847 (F02) plaque SAM220903 : Malika Merbah
 - Géotypage échantillons GD239346 (G06/G08) et GD239847 (H06/H08) plaque Test répéta/repro extraction poils 15/09/22 : Mélissandre Barbet les 08/07/2024 et 09/07/2024 (avec la SAM2407008, E10/F10 et G10/H10 respectivement)
 - Géotypage échantillons GD239346 (G02) et GD239847 (F02) plaque SAM220903 : Malika Merbah les 07/09/2022 et 08/09/2022
 - analyses Genome Studio : Sophie Martel le 12/07/2024 (échantillons répétabilité) et Ludivine Liétar le 09/09/2022 (échantillons reproductibilité)
 - comparaisons SNP : Pierre Bouvelle le 10/07/2024

➔ Résultats de l'essai – Conclusion

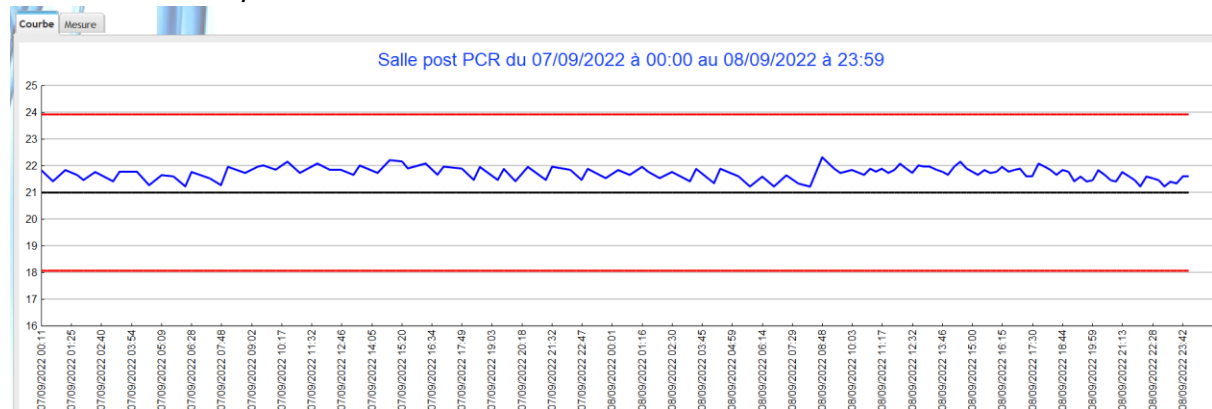
	Validation de méthode	Version 3.0
GDB_FORM_53	SMQ	04/11/2024
Rédaction : K. LE ROUX	Vérification : L. LIETAR	Approbation : C. AUDEBERT

➤ Milieu :

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




- Variation de température salle POST-PCR les 07/09/2022 et 08/09/2022



➤ Génotypage échantillons :

ID	CODE BARRE	ID GENOTYPAGE	Date debut genotypage	Date de Scan	Call Rate	Callrate 580 Iso
FR0800023301	GD239346	WG7176727-MSA7_E10	08/07/2024	09/07/2024	0.9995551	1
FR0800023301	GD239346	WG7176727-MSA7_F10	08/07/2024	09/07/2024	0.9995848	1
FR0800023301	GD239346	WG6956101-MSA7_G02	07/09/2022	08/09/2022	0.9996987	non vérifié à l'époque
FR3615732821	GD239847	WG7176727-MSA7_G10	08/07/2024	09/07/2024	0.9993179	1
FR3615732821	GD239847	WG7176727-MSA7_H10	08/07/2024	09/07/2024	0.9994217	1
FR3615732821	GD239847	WG6956101-MSA7_F02	07/09/2022	08/09/2022	0.9993974	non vérifié à l'époque

 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

Version de puce : EuroG_MDv4-1_XT_FRA_GD

Projet Génome Studio : indexation_120724

Fichier de clustering utilisé : MDv4_1_XT_bovin_180424.egt

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

Projet Génome Studio : indexation_090922

Fichier de clustering utilisé : MDv3_XT_bovin_190822.egt

Chemin d'accès du projet Génome Studio : serveur gna2gdlabo

\\gna2gdlabo.genesdiffusion.com\archives_gen\genotypages_SAM\SAM_MD_v3\Indexations\2022\indexation_septembre_2022\indexation_190822

Référence historique Galaxy : Genotypages_sem36_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.


Essai inter-laboratoire

L'essai inter-laboratoire validé correspondant est en date du 01/09/2022 et correspond aux documents suivants :

GDB_FORM_19_Résultats bruts essai interlaboratoire - GDBiotech - 09-2022_v1.0


GDB_FORM_20_Essai interlaboratoire - GD Biotech - 09-2022_v1.0

7. Analyse

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

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
Extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de poils	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 (pipettes)	Dispense de volumes erronés	<ul style="list-style-type: none"> Suivi en métrologie externe (étalonnage COFRAC) Stock matériel suffisant pour dépannage urgent accès du laboratoire soumis à autorisation 	Faible
	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	Variane 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

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

	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'œuvre	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 Contrôle de répétabilité et reproductibilité de la phase d'extraction pas de résultat de génotypage si callrate < 0,95 (reflet d'extraction de mauvaise qualité ou contaminée) 	Faible
	Main d'œuvre	Erreur humaine	Intercontamination Mauvaise conservation des produits d'essais et réactifs , utilisation d'un mauvais programme, etc...	<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

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 procédures :

[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](#)

 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

[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 de mesure 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.

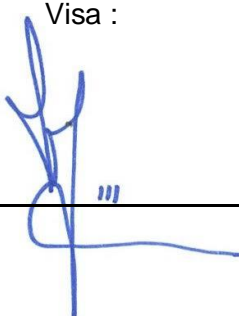
7.4. Conclusion


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

 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

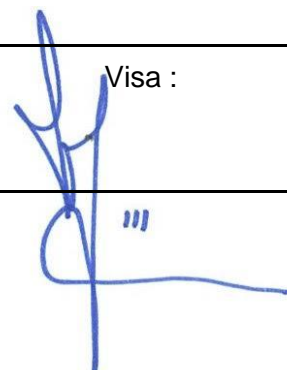
8. Sélection, vérification et validation de méthode


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 poils_230130_01_v1.0	
Intitulé de la méthode : <i>extraction d'ADN sur colonnes de silice en plaque à partir de poils</i> Référence de l'essai sélectionné : <i>Essai n°1</i>	
Vérification de la méthode : <input checked="" type="checkbox"/> approuvée (<i>enregistrements produits suffisants - critères de performance atteints et conformes aux exigences du client</i>) <input type="checkbox"/> non approuvée	
Signature Directeur Recherche et Développement : Nom : Christophe AUDEBERT Date : 17/02/2023	
Visa : 	
Validation de la méthode : <u>Conditions</u> Domaine d'application : <i>l'ensemble des prélèvements de poils bovins reçus au sein de la plateforme de génotypage GDScan.</i> Ressources humaines : <ul style="list-style-type: none"> - <i>personnel autorisé : personnel de la plateforme GD Scan habilité à l'extraction d'ADN</i> - <i>personnel formateur : personnel de la plateforme GD Scan habilité à l'extraction d'ADN</i> - <i>personnel à former/habiller : RAS</i> - <i>autre : à préciser</i> Autres conditions : <i>Information au client</i> <u>Aptitude à l'emploi :</u> <input checked="" type="checkbox"/> accordée , mise en application à compter du : 18/02/2023 <input type="checkbox"/> non accordée , commentaires :	
Signature Directeur Recherche et Développement :	

 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

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 poils_230130_02_v2.0

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

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

Vérification de la méthode :

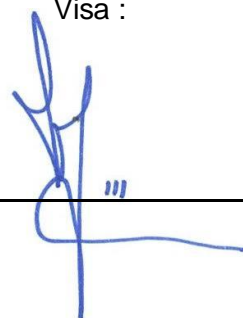
☒ **approuvée** (*enregistrements produits suffisants - critères de performance atteints et conformes aux exigences du client*)

☐ **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 poils 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 :

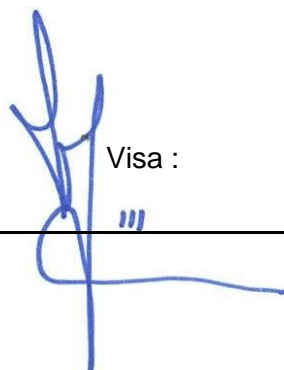
☒ **accordée**, mise en application à compter du : 18/02/2023


☐ **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 poils_230130_03_v3.0

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

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

Vérification de la méthode :

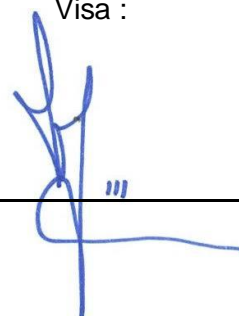
☒ **approuvée** (*enregistrements produits suffisants - critères de performance atteints et conformes aux exigences du client*)

☐ **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 poils 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 :

