	<b>Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN</b>	Version 2.1
GDB_PRO_05	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : C. AUDEBERT	Approbation : L. LIETAR

## 1. OBJECTIFS ET CHAMP D'APPLICATION

Le document définit les modalités de contrôle de répétabilité et de reproductibilité mis en place au sein de la plateforme de génotypage haut-débit GD Scan.

## 2. DEFINITIONS / ABREVIATIONS

Répétabilité : part de variabilité due au dispositif de mesure dans notre système de mesure. La répétabilité est la variation due à l'instrument de mesure. Il s'agit de la variation observée lorsque le même opérateur mesure la même pièce de nombreuses fois, à l'aide de la même instrumentation, dans les mêmes conditions. Dans notre contexte il s'agit de mesurer la variabilité des résultats de génotypages (formes AA, AB, BB) aux marqueurs génotypés (cf [GDB\\_FI\\_15\\_SNP ISO 580](#)) d'un même échantillon génotypé sous les mêmes conditions (même puce à ADN, même jour, même manipulateur)

Reproductibilité : part de variabilité due aux différences entre les opérateurs dans notre système de mesure. La reproductibilité est la variation due au système de mesure. Il s'agit de la variation observée lorsque différents opérateurs mesurent la même pièce de nombreuses fois, à l'aide de la même instrumentation, dans les mêmes conditions. Dans notre contexte plus précisément, il s'agit de comparer les résultats de génotypages (AA, AB, BB) entre deux échantillons issus d'un même individu obtenus sur deux puces à ADN différentes. Ceci revient pour nous à comparer les résultats de génotypage d'un bovin obtenus sur deux runs de génotypage distincts.

## 3. TEXTE DE RÉFÉRENCE


La présente procédure tient compte des exigences de la norme NF EN ISO/IEC 17025.

## 4. PERSONNEL CONCERNÉ

L'ensemble du personnel impliqué dans la production de génotypage haut-débit.

## 5. DESCRIPTION DES OPÉRATIONS EN SITUATION NORMALE DE FONCTIONNEMENT

Notre contexte analytique aboutit à la production de données de type AA, AB, BB (homozygotes forme AA, hétérozygotes AB ou homozygotes BB) à un marqueur donné. En

	<b>Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN</b>	Version 2.1
GDB_PRO_05	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : C. AUDEBERT	Approbation : L. LIETAR

parallèle, plusieurs dizaines de marqueurs ([GDB\\_FI\\_15\\_SNP ISO 580](#)) sont analysés pour aboutir à n géotypes (nombre de marqueurs géotypés en parallèle) au format “AA”, “AB”, “BB” ou “--” dans le cas d’une absence de données sur chacun des marqueurs géotypés.

## 5.1 Objectif

Le contrôle de répétabilité, reproductibilité porte ici sur la méthode de génotypage haut-débit. Les opérations en amont de cette phase de production de données biologiques ne sont (car ne peuvent) pas directement concernées. Néanmoins, les dysfonctionnements possibles concernant les parties amont telle que la phase d’extraction d’ADN par exemple ont un impact direct sur les métriques ciblées ici. Un dysfonctionnement de ces phases en amont de la phase de génotypage haut-débit pourra engendrer une détérioration de ces métriques.

## 5.2 Mode opératoire pour la mise en application du contrôle


### 5.2.1 Synoptique organisationnel

Un contrôle sera effectué chaque semaine d’indexation (dont les résultats seront pris en compte dans l’analyse hebdomadaire), et concernera donc une seule plaque, si possible géotypée à compter du lundi.

Conformément au diagramme organisationnel présenté ci-dessous, après une semaine n, dite d’amorçage, les semaines n+1 et au-delà sont rigoureusement identiques en termes d’organisation. Il convient pour la semaine n de dupliquer l’échantillon présent en position A08 sur la position laissée vacante B08. Ce même échantillon génétique (même extraction d’ADN) sera conservé pour être reporté la semaine suivante n+1, en position C08 de la plaque QC n+1 laissée vacante. En semaine n+1 de la même façon sera dupliqué l’échantillon génétique présent en A08, pour être reporté au niveau de la position B08 laissée vacante.

Les positions concernées sont reprises dans le schéma de plaque 96 puits repris dans la figure 2 ci-après.

Cette actuelle procédure peut en outre permettre de valider une nouvelle méthode ou la mise en service de tout nouveau matériel.

 <b>GD Biotech</b> AGRI-AGRO SOLUTIONS	<b>Contrôle de répétabilité et de reproductibilité :</b> <b>méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN</b>	Version 2.1
GDB_PRO_05	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : C. AUDEBERT	Approbation : L. LIETAR

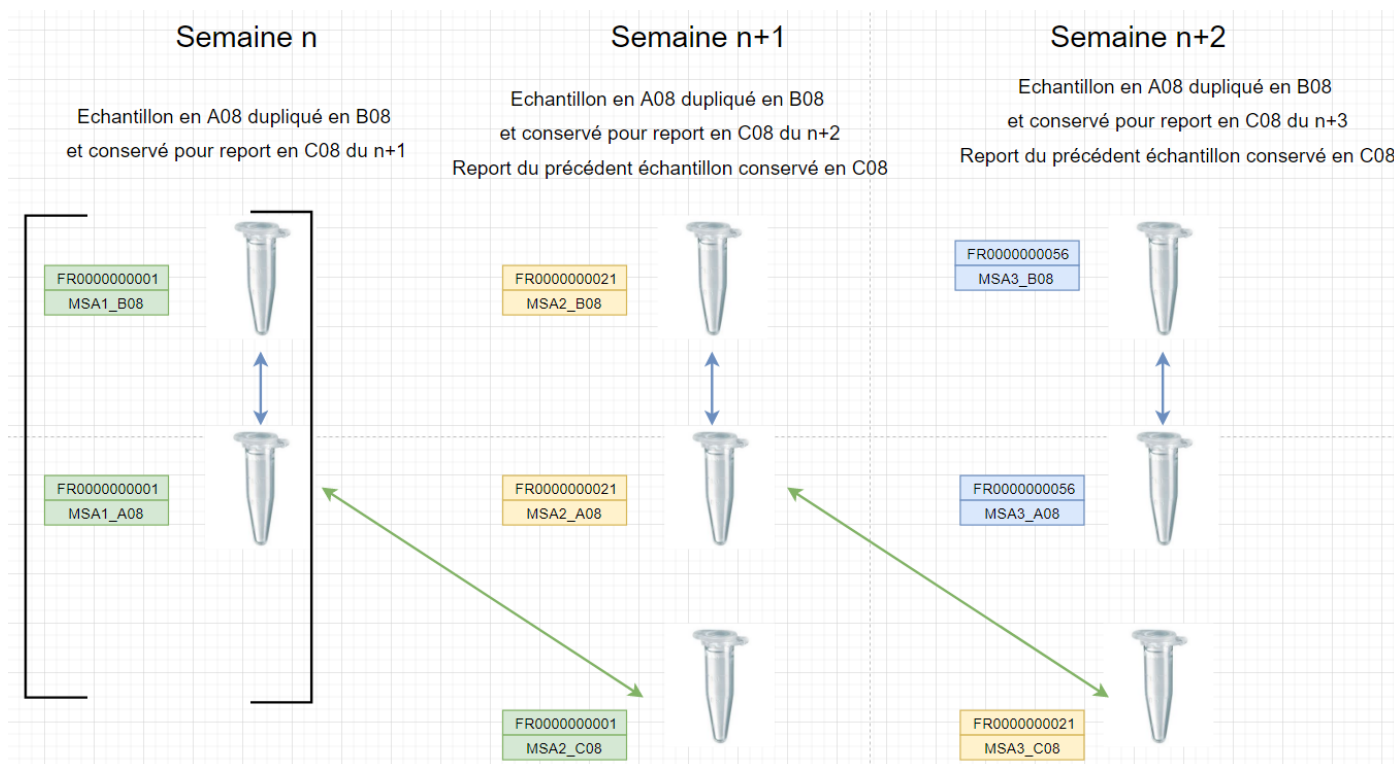

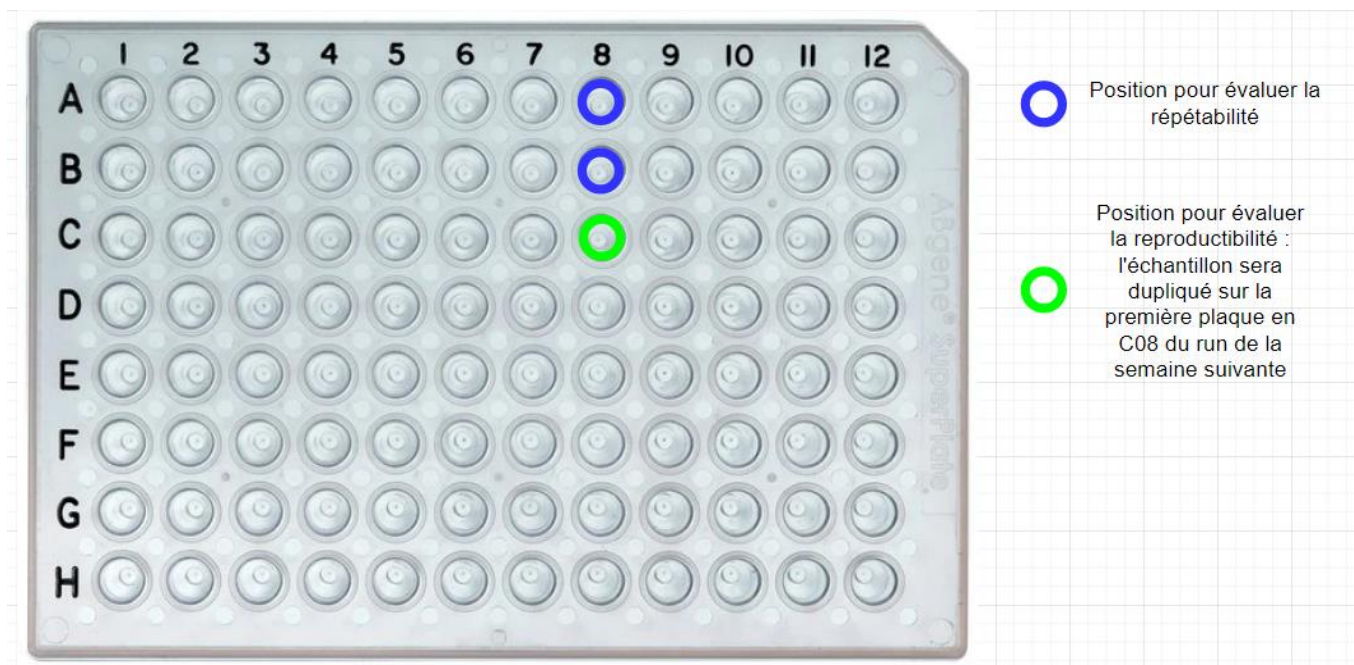


Figure 1 : représentation schématique de l'organisation du test de répétabilité/reproductibilité en termes de gestion d'échantillon (ADN extrait)

### 5.2.2 Échantillons qualité

Le principe général de cette procédure repose sur le fait qu'un échantillon considéré pour la réalisation de contrôle de répétabilité et de reproductibilité l'est de manière aléatoire puisqu'il s'agit de duplication d'échantillon d'ADN de routine.

	<b>Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN</b>	Version 2.1
GDB_PRO_05	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : C. AUDEBERT	Approbation : L. LIETAR



**Figure 2 :** représentation schématique des positions clés sur plaque d'échantillons d'ADN source


## 5.3 Métriques

### 5.3.1 Répétabilité

Pour être considéré, tout échantillon devra atteindre un seuil de CallRate 580 minimal de 0,95. Pour être considéré comme conforme, un test de répétabilité doit renvoyer à un minimum strict de 95 % de génotypes identiques. Tout test < 95 % sera considéré comme non valide, ce qui déclenchera une procédure de vérification.

### 5.3.2 Reproductibilité

Pour être considéré, tout échantillon devra atteindre un seuil de CallRate 580 minimal de 0,95. Pour être considéré comme conforme, un test de reproductibilité doit renvoyer à un minimum strict de 95 % de génotypes identiques. Tout test < 95 % sera considéré comme non valide, ce qui déclenchera une procédure de vérification.

	<b>Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de géotypage haut-débit par puces à ADN</b>	Version 2.1
GDB_PRO_05	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : C. AUDEBERT	Approbation : L. LIETAR

## 5.4 Reporting

Les résultats de ce contrôle qualité seront rendus disponibles de façon hebdomadaire, le vendredi, via l'interface "DashBoard Génomique"<sup>1</sup>. L'analyse de résultats de ce contrôle qualité est commentée lors des revues de direction si des mesures correctives ont été mises en œuvre.

## 5.5 Mise en œuvre de la procédure de vérification suite à un contrôle non valide

### 5.5.1 QC à usage de validation de méthode ou de mise en service de nouveau matériel

Dans ce cadre, le QC est impérieusement nécessaire pour procéder à ces deux types de validation. Ainsi, tout contrôle invalide pour ces deux usages entraînera l'invalidité de la validation de méthode et la non mise en service du nouveau matériel.

### 5.5.2 QC à usage de surveillance des performances

Dans le cas d'un contrôle QC non valide, l'incident est répertorié au sein du fichier [GDB\\_ENR\\_72\\_Gestion des incidents et des non conformités](#), le risque étant évalué à risque moyen en raison de la remise en question des compétences de l'opérateur, une fiche de non-conformité [GDB\\_FORM\\_01\\_Fiche de non-conformité](#) est alors ouverte.

Un rappel de la présente procédure sera fait à l'opérateur en charge du run de géotypage correspondant.

A l'issue de la revue du document, l'opérateur devra procéder à un nouveau run de géotypage incluant un contrôle QC dès que possible.

Dans le cas où celui-ci serait de nouveau non valide, son habilitation à géotyper sera temporairement suspendue, le temps de procéder à un run de géotypage sous la supervision d'un opérateur habilité au géotypage, puis, après validation de celui-ci, à un nouveau run de géotypage en autonomie incluant un contrôle QC qui permettra de rétablir son habilitation le cas échéant.


Si malgré ces étapes, ce dernier contrôle QC n'est toujours pas valide, l'opérateur perdra son habilitation et devra repasser par une phase de formation initiale au géotypage.

## 6. DOCUMENTS ASSOCIÉS

[GDB\\_PRO\\_08\\_Gestion des incidents et non conformités](#)

[GDB\\_ENR\\_72\\_Gestion des incidents et des non conformités](#)

<sup>1</sup> L'interface DashBoard génomique (soumise à restriction d'utilisation : login/mdp) est disponible sur le lien suivant : <http://dashboardgenoprod.gspp2gdlab.genesdiffusion.com>

	<b>Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN</b>	Version 2.1
GDB_PRO_05	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : C. AUDEBERT	Approbation : L. LIETAR

[GDB\\_FORM\\_01\\_Fiche de non conformité](#)

[GDB\\_FI\\_15\\_SNP ISO 580](#)