	Contrôle de répétabilité et de reproductibilité de la phase d'extraction	Version 1.2
GDB_PRO_06	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : M. BARBET, K. LE ROUX, M. MERBAH	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 Biotech pour la méthode d'extraction d'ADN.

2. **DEFINITIONS / ABBREVIATIONS**

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.

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.

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 habilité au poste "Extraction d'ADN".

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

5.1. Objectif

Le contrôle de répétabilité, reproductibilité porte ici sur les différentes méthodes d'extraction d'ADN issues de différentes matrices biologiques, en application au sein de la plateforme de génotypage GDScan.

Elle permet de garantir le maintien de compétences et l'homogénéité de pratique entre chaque personnel habilité.

	Contrôle de répétabilité et de reproductibilité de la phase d'extraction	Version 1.2
GDB_PRO_06	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : M. BARBET, K. LE ROUX, M. MERBAH	Approbation : L. LIETAR

La méthode d'extraction d'ADN sur cartilages étant destructrice, et pour des raisons de préservation du bien-être animal, il n'est cependant pas possible d'évaluer la répétabilité/reproductibilité sur cette matrice.

5.2. Mise en application du contrôle

5.2.1. Synoptique organisationnel

Chaque personnel habilité à la pratique des extractions d'ADN devra réaliser un test de répétabilité d'extraction par année civile. En outre, les résultats reproductibilité consisteront en la comparaison inter-opérateurs (taux d'échantillons conformes - c'est-à-dire pour lesquels la concentration de l'ADN extrait est $> 15 \text{ ng/ } \mu\text{L}$).

Deux à trois opérateurs effectuent une extraction en doublon à partir des mêmes matrices biologiques initiales.

Pour chaque matrice biologique et pour chaque méthode, une liste de prélèvements est établie et suivie par les opérateurs en charge du contrôle.

Les extractions seront réalisées individuellement si possible, ou simultanément, selon que la méthode le permet ou non, le but étant que chaque opérateur traite ses prélèvements.

Les ADN extraits seront conservés sur une plaque portant l'annotation suivante : « test R/R *matrice méthode* MM/AAAA ».

Un seul opérateur réalisera le dosage de tous les ADN de son polynôme simultanément (par méthode ou plusieurs méthodes).

5.2.2. Sélection des prélèvements

Pour chaque matrice biologique et pour chaque méthode en application au sein de la plateforme de génotypage GD Scan, il conviendra de sélectionner 8 prélèvements dans la mesure du possible (à minima 5 prélèvements).

La sélection s'effectue si possible à partir d'anciens prélèvements de production déjà traités, qui contiennent une quantité suffisante pour être exploités plusieurs fois.


5.2.3. Conservation

Les prélèvements et les échantillons d'ADN seront conservés au minimum selon le délai appliqué à la production de génotypes.

5.2.4. Traçabilité

Tous les documents ayant été générés lors de l'exécution du test (fiches extraction, dosages, plans de plaques, etc...) seront enregistrés et conservés dans un dossier dédié dans le système documentaire.

5.3. Métriques

	Contrôle de répétabilité et de reproductibilité de la phase d'extraction	Version 1.2
GDB_PRO_06	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : M. BARBET, K. LE ROUX, M. MERBAH	Approbation : L. LIETAR

Les résultats de dosage sont à reporter dans [GDB_FORM_02_Contrôle de reproductibilité et répétabilité de la phase d'extraction](#). Reporter également le r2 de la courbe étalon valide obtenue lors du dosage.

Des métriques telles que moyenne, écart-type, concentration minimum/maximum et taux d'échantillons de concentration > 15 ng/μL sont calculées automatiquement pour chaque opérateur.

Des comparaisons en vue d'évaluer la répétabilité et la reproductibilité sont également faites automatiquement et permettent de statuer sur la conformité de ces métriques, et donc sur les compétences et l'homogénéité de pratique du personnel.

En cas d'analyse non réalisable (ex : opérateur non formé sur une méthode, problème sur un échantillon, etc...), les calculs s'ajustent automatiquement en ne tenant compte que des données renseignées.

5.4. Reporting

Les résultats de ce contrôle qualité et l'interprétation de l'analyse de ces échantillons contrôles sont rendus de manière annuelle à l'occasion de la revue de Direction.

Seront privilégiées les métriques synthétiques :

- synthèse des métriques de répétabilité/reproductibilité
- dans le cas de non conformité il conviendra de commenter les mesures correctives mises en œuvre


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

Dans le cas d'un contrôle répétabilité et/ou reproductibilité 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 performances de la plateforme de génotypage GD Scan (compétences / homogénéité de pratique), une fiche de non-conformité [GDB_FORM_01_Fiche de non-conformité](#) est alors ouverte.

Remarque : l'étape de dosage, les lots, ou autres paramètres peuvent également être remis en question.

Un rappel du ou des modes opératoires concernés sera fait à l'opérateur concerné.

A l'issue de la revue du mode opératoire, l'opérateur devra procéder à un nouveau contrôle répétabilité et/ou reproductibilité dès que possible (seul ou en binôme selon le cas), et si possible dans les mêmes conditions que le test précédent (mêmes échantillons, opérateurs, etc...).

	Contrôle de répétabilité et de reproductibilité de la phase d'extraction	Version 1.2
GDB_PRO_06	SMQ	16/12/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : M. BARBET, K. LE ROUX, M. MERBAH	Approbation : L. LIETAR

Dans le cas où celui-ci serait de nouveau non valide, son habilitation à extraire selon la méthode en question sera temporairement suspendue, le temps de procéder à une série d'extractions (1 plaque ou 5 tubes selon la méthode) sous la supervision d'un opérateur habilité à cette méthode d'extraction, puis, après validation de celle-ci à l'aide d'un dosage, à une nouvelle série d'extractions en autonomie incluant un contrôle répétabilité et/ou reproductibilité qui permettra de rétablir son habilitation le cas échéant.

Si malgré ces étapes, ce dernier contrôle répétabilité et/ou reproductibilité n'est toujours pas valide, l'opérateur perdra son habilitation et devra repasser par une phase de formation initiale à la méthode d'extraction en question.

6. DOCUMENTS ASSOCIÉS

GDB_FORM_02_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité de la phase d'extraction

GDB_FORM_15_BOVIN_MATRICE_AAMMJJ-NN

GDB_MOP_08_Dosage ADN