 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Contrôles intermédiaires de type contrôles internes	Version 1.0
GDB_MOP_36	SMQ	12/09/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, M. BARBET	Approbation : C. AUDEBERT

Ce protocole s'adresse aux personnes habilitées à l'extraction et/ou au génotypage concernées par le suivi des appareils contrôlés en interne dans le cadre de leurs missions (se référer au document GDB_ENR_63_Gestion du personnel).

Ce mode opératoire concerne les appareils de niveau de criticité C2 contrôlés en interne, dont le récapitulatif, incluant la périodicité des contrôles, figure dans le document [GDB_FI_31_Récapitulatif appareils suivis en contrôle interne](#).

Sur chacun de ces appareils figure la(les) valeur(s) de consigne en état de fonctionnement, la(les) valeur(s) de réglage de l'appareil, ainsi que les EMT (informations figurant également dans les fiches de vie) à respecter pour effectuer le contrôle interne.

Les valeurs mesurées sont à reporter dans les fiches de vie correspondantes.

Pour ce qui nous concerne, cela comprend différentes grandeurs telles que la température, la conductivité, la vitesse de rotation, le volume et le temps.

Mode opératoire

Remarque : attention, s'assurer que l'appareil n'est pas, et ne sera pas utilisé au cours de l'opération.

Remarque : s'assurer que la date d'étalonnage des appareils de mesure servant à réaliser les contrôles internes est valide.


1) Mesurage de la température, à l'aide d'une sonde individuelle filaire

Dans la salle où se situe l'appareil :

- a) Allumer l'appareil et le régler pour le contrôle.
- b) Disposer l'embout de la sonde au centre de l'appareil (au fond d'un puits concernant les incubateurs à microplaques).

Remarque : dans le cas d'une cartographie réalisée en interne d'autres points supplémentaires seront contrôlés, se référer à la fiche de vie, onglet cartographie).

- c) Après 15 minutes de stabilisation :
 - Allumer le thermomètre,
 - Relever la température,
 - Reporter la valeur mesurée dans la fiche de vie.
- d) En cas de contrôle interne non valide, différentes actions peuvent être effectuées (se référer au 5.4.4. Non conformités / dysfonctionnements des appareils de la procédure [GDB_PRO_29_Gestion des équipements](#)), comme un ajustage de la température de réglage de l'appareil.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Contrôles intermédiaires de type contrôles internes	Version 1.0
GDB_MOP_36	SMQ	12/09/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, M. BARBET	Approbation : C. AUDEBERT

Dans ce cas, il conviendra de veiller à ce que la valeur de réglage de l'appareil dans la fiche de vie ainsi qu'au niveau de l'étiquetage de l'appareil soit mise à jour.

Cas particuliers : certains contrôles internes sont effectués différemment du présent mode opératoire, ils sont :

- Réalisés en automatique pour nos salles et enceintes thermostatiques critiques (C2 et C3), via une centrale de surveillance des températures : VIGITEMP (logiciel VIGITEMP 10), reliée à des sondes, installées par un technicien spécialisé. Elles effectuent des relevés toutes les 15 minutes (toutes les heures en mode mémoire, en cas de défaut, sur une amplitude de 48h, puis écrasement de la mesure la plus ancienne). Une alarme se déclenche après 4 mesures en dehors des EMT définis.


L'intervention du personnel n'a lieu qu'en cas d'alarme.

Dans ce cas, il faudra vérifier l'origine de l'écart (ex : porte congélateur restée trop longtemps ouverte, problème de climatisation, etc...) et acquitter l'alarme sur le logiciel en précisant le motif de l'écart, sa résolution, toute autre information utile, et, pour les sessions logiciel communes (EXTRACTION et POST-PCR), les initiales de la personne ayant traité l'alarme.

Lorsque le risque d'impact sur les résultats qui découle de cet écart est nul à faible, tout étant tracé dans le logiciel, ce mode opératoire se substitue au remplissage du fichier [GDB_ENR_72_Gestion des incidents et des non-conformités](#).

Cependant, pour le reste de la gestion de cet écart ou en cas de risque d'impact moyen à fort, il faudra se référer au 5.4.4. Non conformités / dysfonctionnements des appareils de la procédure [GDB_PRO_29_Gestion des équipements](#).

- Réalisés et tracés lors des analyses de génotypage pour les fours et le bain circulant chauffant/réfrigérant. Il s'agit de mesurages de températures effectués à l'aide de sondes individuelles :
 - Filaire min/max, installées sur chaque four (sonde disposée au plus près du centre de l'appareil) afin de contrôler les variations de température durant les périodes d'incubation.
Lors des incubations, une fois que le four a atteint la température de consigne, réinitialiser le min et le max en appuyant sur « min reset » et « max reset ». A l'issue de la période d'incubation, relever les valeurs min et max mesurées et les reporter dans le formulaire de suivi des génotypages [GDB_FORM_16_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form](#) de l'analyse en cours,
 - Spécifique, à disposer sur l'incubateur de puces à ADN (Te-flow) relié au bain circulant (milieu/à droite des lames pour éviter l'accrochage du câble par les aiguilles du robot pipeteur) lors de chaque utilisation. Lors de chaque

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Contrôles intermédiaires de type contrôles internes	Version 1.0
GDB_MOP_36	SMQ	12/09/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, M. BARBET	Approbation : C. AUDEBERT

incubation, effectuer un mesurage en début et fin d'incubation. Reporter les valeurs mesurées dans le formulaire de suivi des génotypes [GDB_FORM_16_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form](#) de l'analyse en cours.

En cas de contrôle interne non valide, différentes actions peuvent être effectuées (se référer au 5.4.4. Non conformités / dysfonctionnements des appareils de la procédure [GDB_PRO_29_Gestion des équipements](#)), comme un ajustage de la température de réglage de l'appareil.

Dans ce cas, il conviendra de veiller à ce que la valeur de réglage de l'appareil dans la fiche de vie ainsi qu'au niveau de l'étiquetage de l'appareil soit mise à jour.

2) Mesurage de la conductivité de l'eau pure produite par la station d'eau purifiée, à l'aide d'un conductimètre


Dans la salle « Post-PCR génotypage » :

- a) Vérifiez que le mode de relevé Conductivité du conductimètre est sélectionné (appuyer sur Mode pour passer d'un mode à l'autre).
- b) Sélectionner une bouteille d'eau purifiée par la station d'eau purifiée et autoclavée (présente dans la pièce depuis au moins 2h (à température ambiante), et non entamée).
- c) Rincer la cellule à l'eau distillée (ou directement avec l'eau pure à contrôler) puis la plonger dans la bouteille et appuyer sur Read pour lancer la mesure.
Le signe décimal clignote.
L'écran indique la conductivité de l'échantillon.
Lorsque le signal est stable, l'écran se fige, \sqrt{A} s'affiche et le point décimal s'arrête de clignoter.
- e) Reporter la valeur mesurée dans la fiche de vie.
- f) Sécher la sonde précautionneusement, sans toucher la cellule de détection. La ranger dans le placard n° 8 (à l'abri de la lumière).
- g) En cas de contrôle interne non valide, différentes actions peuvent être effectuées (se référer au 5.4.4. Non conformités / dysfonctionnements des appareils de la procédure [GDB_PRO_29_Gestion des équipements](#)).
Un ajustage de l'appareil n'est pas possible.

3) Mesurage de la vitesse de rotation, à l'aide d'un tachymètre optique

Dans la salle où se situe l'appareil :

- a) Allumer l'appareil et le régler pour le contrôle.


 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Contrôles intermédiaires de type contrôles internes	Version 1.0
GDB_MOP_36	SMQ	12/09/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, M. BARBET	Approbation : C. AUDEBERT

- b) Allumer le tachymètre et effectuer le zéro :
 - Disposer le tachymètre au-dessus de l'appareil en visant le repère présent sur l'appareil,
Remarque : pour une centrifugeuse, le couvercle doit être fermé, viser à travers le hublot.
 - Régler la hauteur du tachymètre jusqu'à l'obtention d'un point lumineux net.
- c) Démarrer l'appareil et effectuer 3 mesurages de vitesse :
 - Attendre que l'appareil soit stabilisé à la vitesse désirée,
 - Appuyer sur le bouton hold pour prendre une mesure,
 - Reporter la valeur mesurée dans la fiche de vie,
 - Repartir de l'étape b) pour chaque mesure.
- d) En cas de contrôle interne non valide, différentes actions peuvent être effectuées (se référer au 5.4.4. Non conformités / dysfonctionnements des appareils de la procédure [GDB_PRO_29_Gestion des équipements](#)), comme un ajustage de la vitesse de réglage de l'appareil.
Dans ce cas, il conviendra de veiller à ce que la valeur de réglage de l'appareil dans la fiche de vie ainsi qu'au niveau de l'étiquetage de l'appareil soit mise à jour.

4) Mesurages des volumes distribués par le robot pipeteur, à l'aide d'une pipette


Dans la salle « Post-PCR génotypage » :

- a) Allumer le robot pipeteur puis l'ordinateur.
- b) Démarrer le logiciel Tecan et s'identifier avec login et mot de passe.
- c) Sélectionner "Edit an existing script", puis Start et choisir le programme "Controle_interne_Tecan".
- d) Effectuer un rinçage et une purge des aiguilles : sur le logiciel, dans la partie "Control Bar", cliquer sur l'onglet "COMMANDS", puis sur "Flush". La fenêtre "Flush Tips" s'ouvre, cliquer sur "START Flushing Tips" et valider l'étape d'initialisation du positionnement des aiguilles.
- e) Placer les 24 tubes de 15 mL prévus à cet effet (tubes annotés aiguille/volume, portoir "tubes métrologie Tecan"), ouverts, sur les portoirs de tubes du plan de travail du robot pipeteur :
 - 1^{ère} rangée : positions 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15,
 - 2^{ème} rangée : positions 1, 3, 5, 7,
 - 3^{ème} rangée : positions 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15,
 - 4^{ème} rangée : positions 1, 3, 5, 7,
 en respectant les annotations sur les tubes selon le schéma suivant :

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Contrôles intermédiaires de type contrôles internes	Version 1.0
GDB_MOP_36	SMQ	12/09/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, M. BARBET	Approbation : C. AUDEBERT



- f) Dans un réservoir Tecan type XC3, verser environ 20 mL d'eau pure autoclavée et le positionner à l'emplacement dédié sur le plan de travail du robot pipeteur.
- g) Sur l'ordinateur, cliquer sur ► Run, la fenêtre "Runtime controller" s'ouvre, cliquer sur Run, vérifier et valider le positionnement des tubes.
- Remarque : veiller au bon démarrage du programme en étant prêt à cliquer sur le bouton pause de l'interface, en cas de problème, cela permettra d'intervenir sur le robot puis de relancer le programme.*
- h) Une fois le programme exécuté, récupérer les tubes en veillant à repérer à quelle aiguille ils correspondent (voir schéma ci-dessus), et vérifier les volumes dispatchés à l'aide d'une pipette étalonnée COFRAC :
- Les deux premières rangées de tubes correspondent aux 150 µL distribués 3 fois pour chaque aiguille :
 - aiguille 1 en positions 1 et 9,
 - aiguille 2 en positions 3 et 11,
 - aiguille 3 en positions 5 et 13,
 - aiguille 4 en positions 7 et 15,
 - Les 3^e et 4^e rangées de tubes correspondent aux 300 µL distribués 3 fois pour chaque aiguille, de la même façon :
 - aiguille 1 en positions 1 et 9,
 - aiguille 2 en positions 3 et 11,
 - aiguille 3 en positions 5 et 13,
 - aiguille 4 en positions 7 et 15.
- e) Reporter les valeurs mesurées dans la fiche de vie.
- f) Vider ensuite les 24 tubes, les faire sécher, les refermer et les stocker sur le portoir dédié "tubes métrologie Tecan" pour la prochaine mesure de métrologie.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Contrôles intermédiaires de type contrôles internes	Version 1.0
GDB_MOP_36	SMQ	12/09/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, M. BARBET	Approbation : C. AUDEBERT


- g) En cas de contrôle interne non valide, différentes actions peuvent être effectuées (se référer au 5.4.4. Non conformités / dysfonctionnements des appareils de la procédure [GDB_PRO_29_Gestion des équipements](#)). Il faudra notamment évaluer la possibilité d'effectuer des réglages pour atteindre les volumes de consigne.

5) Mesurage du temps, à l'aide du service de l'horloge parlante

A partir d'un ordinateur, sur le site internet horlogeparlante.com, vérifier l'intervalle de temps écoulé :

- Déclencher le minuteur de 0 (sur l'écran affichant l'heure) en relevant l'heure de l'horloge parlante.
- Au bout du temps de consigne écoulé sur celle-ci, stopper le minuteur et relever le temps écoulé sur celui-ci.
- Reporter la valeur mesurée dans la fiche de vie.
- En cas de contrôle interne non valide, différentes actions peuvent être effectuées (se référer au 5.4.4. Non conformités / dysfonctionnements des appareils de la procédure [GDB_PRO_29_Gestion des équipements](#)).
Un ajustage de l'appareil n'est pas possible, cependant le changement des piles peut suffire à corriger l'écart.

	Noms	Conditions de stockage
Matériel	Enceintes thermostatiques critiques C2 et C3	
	Salles critiques (Extraction, Post-PCR Génotypage, Stockage)	
	Centrale de surveillance des températures - VIGITEMP + logiciel VIGITEMP 10	
	Fours - Illumina/VWR - Hybridization oven	
	Thermomètre min/max – Fisherbrand - Jumbo traceable	
	Bain circulant chauffant/réfrigérant - VWR - 1167P	
	Thermocouple + sonde spécifique Te-flow - OMEGA - 869C	
	Agitateur chauffant - LabNet - Vortemp 56	
	Incubateur à microplaque - SciGene - Hybex	
	Thermocouple + sonde filaire - Hanna Instruments - HI935003	

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Contrôles intermédiaires de type contrôles internes	Version 1.0
GDB_MOP_36	SMQ	12/09/2024
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, M. BARBET	Approbation : C. AUDEBERT

	Station eau purifiée - AquaPart / Pro Life - OMC-LAB	
	Conductimètre - Mettler Toledo - FiveGo F3 + électrode LE703 IP67	À l'obscurité
	Centrifugeuse de paillasse - Eppendorf - Minispin plus	
	Plateforme d'agitation - Illumina - High speed microplate shaker	
	Tachymètre - Fisherbrand - 02-401-3 / 11744276	
	Robot pipeteur - Tecan - Freedom EVO	
	Pipette monocanal P1000	
	Minuteurs	
Consommables	Tubes 15 mL	
Réactifs	Eau distillée en bouteille	Température ambiante (placard n°8)
	Eau pure autoclavée	Température ambiante (paillasse génotypage)

Documents associés :

[GDB_ENR_63_Gestion du personnel](#)

[GDB_PRO_29_Gestion des équipements](#)

[GDB_FI_31_Récapitulatif appareils suivis en contrôle interne](#)

Fiches de vie de type : GDB_ENR_XX_Fiche de vie_GDD-APPAREIL-000

[GDB_FORM_16_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form](#)

[GDB_MOP_37_Etalonnage interne conductimètre GDD-CONDUC-001](#)

[GDB_PRO_08_Gestion des incidents et non-conformités](#)

[GDB_ENR_72_Gestion des incidents et des non conformités](#)

[GDB_FORM_01_Fiche de non conformité](#)

[GDB_FI_19_Affiche matériel HORS SERVICE](#)

[GDB_FI_59_Affiche matériel NON CONFORME](#)