 GD Biotech <small>AGRI-AGRO SOLUTIONS</small>	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

Ce protocole s'adresse au personnel habilité au traitement des données de génotypage

Attention, certains éléments ne sont pas concernés par l'ISO 17025 mais sont présents dans ce mode opératoire par souci de fluidité dans l'exécution de celui-ci. Ces éléments sont surlignés en **orange**

Mode opératoire

PHASE I : Enregistrement des échantillons

1) Renseigner la fiche de suivi


Pour l'enregistrement et le traitement des génotypages, il existe une fiche de suivi, correspondant aux génotypages de la semaine, à remplir tout au long du traitement. Celle-ci permet de revenir aux différentes étapes en cas de besoin et permet également le suivi du bon déroulement de la chaîne informatique. La trame de cette feuille de suivi correspond au document [GDB_FORM_26_Fiche suivi indexation](#). Avant l'enregistrement des plaques dans l'interface GDBBoard, reporter le nom des plaques SAM génotypées, leur numéro MSA associé, ainsi que les dates du run dans les cases correspondantes, et cocher la case contrôle qualité (QC) correspondante en précisant la référence de la plaque SAM d'où le QC reproductibilité provient. Plus de précisions sur le mode opératoire des contrôles qualité dans [GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN](#).

2) Enregistrement des plaques SAM dans le fichier de suivi des échantillons (étape 1)

Pour rappel, les fichiers de suivi des échantillons de chaque année sont situés sur l'espace numérique partagé dans le dossier GD_GDSCAN\Genotypage\Gestion_echantillons\Suivis_echantillons.

Avant l'enregistrement des plaques via l'interface GDBBoard, ajouter toute information précisée lors des étapes de génotypage dans la colonne I « Commentaire génotypage » de l'onglet « Fichier gestion labo » de chaque plaque SAM concernée (ex : plaque et position d'origine pour les échantillons re-génotypés, information concernant l'échantillon, non conformités relevées comme des puits vides ou des erreurs de manipulation, échecs de scan, ...). Ces informations figureront dans le fichier de suivi des échantillons en colonne AS.

Vérifier le nom des projets et le « type client projet » des contrôles qualité (QC) dans la plaque correspondante :

	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

- colonne PROJET (AN) : projets « QUALITY CHECK REPETA » (puits B08) et « QUALITY CHECK REPRO » (puits C08),
- colonne Type_client_PROJET (AR) : « RECHERCHE » (puits B08 et C08).


Dans **GDBoard** (Compte : p.nom@genesdiffusion.com) :

- Dans le tableau de bord à gauche, onglet « MONITORING », cliquer sur « SUIVI GENOTYPAGE », puis sur « Créer un groupe de génotypage » et le nommer comme suit : **Genotypages_semxx_aaaa** (où « xx » correspond au numéro de la semaine et « aaaa » à l'année).
- Une fois le groupe créé, cliquer dessus pour l'ouvrir. Est représenté le tableau de suivi des plaques qui seront génotypées.
- Pour enregistrer les fichiers SAM, dans étape « 1 : Enregistrement SAM », cliquer sur « Enregistrer une plaque SAM », renseigner les informations demandées : l'identifiant du run : (RUN_aaaaSEMss_xx où « aaaa » représente l'année, « ss » le numéro de semaine et « xx » le numéro du run), le nom de la plaque (WGXXXXXXXX-MSA7), la date du début du génotypage et le format de puce. Insérer le fichier SAM disponible sur le serveur en cliquant sur « Choisir le Fichier à importer ». Les fichiers sont stockés dans le dossier partagé partage_labo\Extractions\Fichiers_SAM\Semaine génotypage (serveur : gna2gdlabo.genesdiffusion.com).
- Cliquer sur « Enregistrer le fichier SAM », et le message « insertion : ok » s'affichera en cas de succès (ainsi qu'une bulle temporaire verte « Enregistrement de la plaque WGXXXXXXXX-MSA7 réussi »).
- Cette étape est à réaliser pour chaque plaque. Enregistrer les plaques une à une dans l'ordre de génotypage, et attendre la confirmation d'insertion évoquée ci-dessus. Il est possible de rester sur la même page d'insertion pour l'enregistrement suivant et de changer uniquement le MSA7 ainsi que la SAM correspondante.
- Surveiller le fichier de suivi des échantillons qui doit intégrer les 96 lignes correspondantes pour chaque plaque. Tracer des lignes noires pour délimiter celles-ci, rouges pour délimiter les semaines.

3) **Récapitulatif et déclaration (étape 1)**

Une fois les fichiers SAM insérés, ceux-ci sont visibles sur la page principale avec les informations enregistrées. Pour obtenir le récapitulatif des plaques insérées, cliquer sur le menu vache en haut à droite (annexe 2), puis sur « Statistiques ». Vous y trouverez un décompte des génotypages par projet pour la semaine en cours.

Pour obtenir le fichier de déclaration, dans étape « 1 : Enregistrement SAM », cliquer sur « Télécharger le fichier de déclaration Declaration_semxx_aaaa ». Ce fichier est à faire

	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

parvenir au client au format .xlsx avec copie à l'attention des personnes habilitées au rendu de résultats de génotypages. Cette liste sera la liste de référence pour la déclaration ANI nécessaire au dépôt des génotypages chez Valogène. Le client confirmera la validité du projet associé à chaque échantillon ou notifiera les erreurs relevées. Dans ce dernier cas, il conviendra d'apporter les corrections en base de données, via l'interface GDBoard ou via le responsable SI, dans le fichier de suivi des échantillons et dans le fichier SAM en créant une copie.

Correction de projet via GDBoard :

- a) Dans la liste des plaques de la semaine, cliquer sur l'🔍 puis sur « voir la plaque » permettant de visualiser la plaque avec les informations animaux pour chaque position. Sélectionner la(es) coordonnées concernée(s) par une correction de projet, puis cliquer sur « Mettre à jour le Projet pour la sélection » sur ✎.
- b) Sélectionner le projet correctif et cliquer sur « Modifier le Projet en ... (nom du nouveau projet », le message « Mise à jour Projet Réussie » confirme la correction.


Correction de projet dans le fichier de suivi des échantillons :

- a) Colonne AD et AZ (PROJET) : corriger le nom du projet (couleur du texte en rouge)
- b) Insérer une note en précisant :
 - Initialement projet (nom du projet)
 - Demande de modification par (initiales de la personne à l'origine de la demande)
 - Correction effectuée par (initiales de la personne ayant effectué la correction) + date (format jj/mm/aaaa)

Correction de projet dans le fichier SAM :

- a) Dans le dossier partagé partage_labo\Extractions\Fichiers_SAM\Semaine génotypage (serveur : gna2gdlabo.genesdiffusion.com), ouvrir le fichier SAM concerné par la correction
- b) Dans l'onglet « Fichier origine », en colonne AN, modifier le projet de l'animal concerné (couleur du texte en rouge)
- c) Insérer une note en précisant :
 - Initialement projet (nom du projet)
 - Demande de modification par (initiales de la personne à l'origine de la demande)
 - Correction effectuée par (initiales de la personne ayant effectué la correction) + date (format jj/mm/aaaa)
- d) Enregistrer le fichier

L'ensemble de ces corrections est également applicable au type client qui peut parfois changer lors de la correction du projet (correction de type client via GDBoard : « Mettre à jour le Type Client pour la sélection »).

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

4) Création des samplesheets .csv (étape 2)

Dans l'interface GDBoard, dans le groupe de génotypage :

- Aller sur « 2 : Génération Samplesheet », et cliquer sur « Générer une samplesheet ».
- Dans le formulaire « Génération des samplesheet » compléter l'identifiant Sentrix, la date de scan, et choisir la plaque de génotypage (MSA), ainsi que le type de puce, à l'aide des réponses au formulaire [GDB_FORM_16_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form](#).
- Cliquer sur « Générer la samplesheet ». Le message « insertion : ok » s'affichera en cas de succès (ainsi qu'une bulle temporaire verte « Génération de la samplesheet réussie »).

Récupérer ensuite les samplesheets en allant dans la colonne action du tableau, puis en cliquant sur l'📄 puis ⬇️ « Télécharger la samplehseet » et les enregistrer sur le serveur gna2gdlabo.genesdiffusion.com, dossier partagé : Labo\génotypages\Génotypages SAM\SAM_MD_v...\ExportSampleSheet_XT, au format SAMAAMMNNN_MD_vN_XT_NN.

PHASE II : Traitement des génotypages

1) Analyse Genome Studio


a) Création d'un projet Genome Studio (GS)

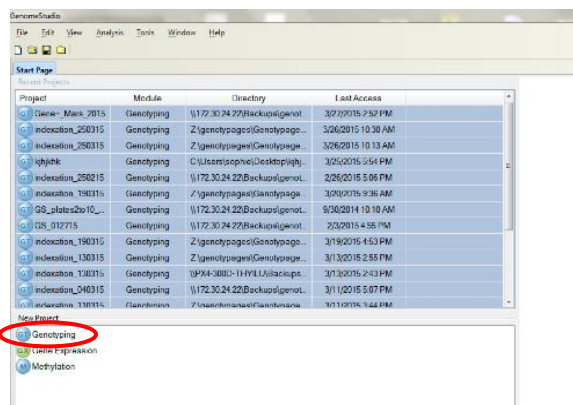
Pré-requis : installation du logiciel Genome Studio ILLUMINA téléchargeable en ligne.

En entrée il est nécessaire d'avoir accès aux élément suivants :

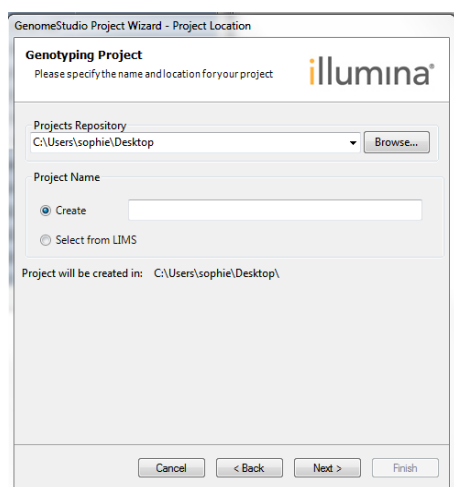
- export de samplesheet électronique (.csv),
- données brutes de scan,
- fichier Bead pool manifest (.bpm),
- fichier de clustering approprié (.egt).

Ouvrir Genome studio et créer un projet « **genotyping** » :

	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR



Indiquer l'emplacement de destination du projet et son nom :

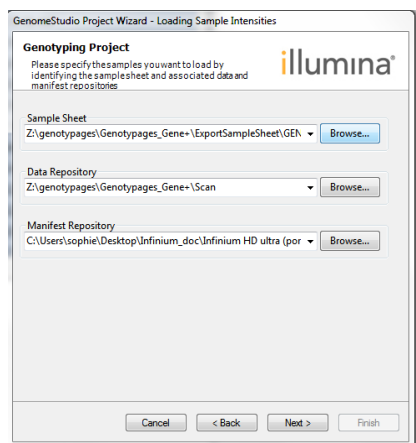


Localisation du projet sur le serveur
gna2gdlabo.genesdiffusion.com :
Labo\genotypages\Genotypages_SAM\SAM_M
D_v...\Indexations\aaaa\indexations_mois_aaaa
Il existe 1 emplacement de destination par mois
et par année.


*Note : le projet peut être créé en local dans un
premier temps afin d'écourter les temps de
chargements et de calculs. Il sera ensuite
déplacé à l'emplacement évoqué ci-dessus.*

Par convention le projet est nommé comme suit
: **indexation_jimmaa**.

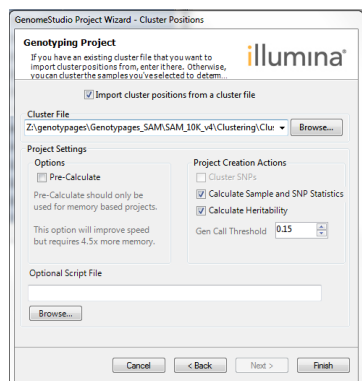
Renseigner les champs demandés :



Samplesheet sur le serveur
gna2gdlabo.genesdiffusion.com :
Labo\genotypages\Genotypages_SAM\SAM_MD_v...\E
xportSampleSheet_XT.
Data Repository (données brutes) sur le serveur
gna2gdlabo.genesdiffusion.com :
Labo\genotypages\Genotypages_SAM\SAM_MD_v...\S
can.
Manifest Repository (fichier .bpm) sur le serveur
gna2gdlabo.genesdiffusion.com :
Labo\genotypages\Genotypages_SAM\SAM_MD_v...\C
lustering.

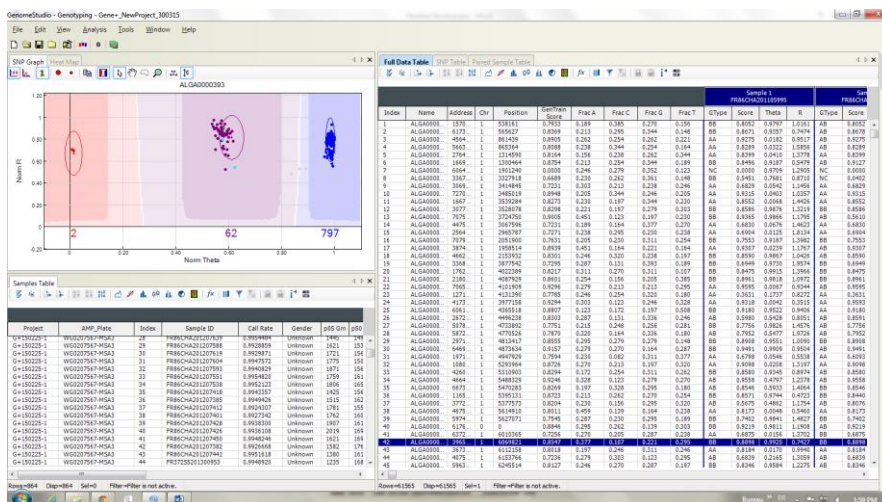
	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

Sélectionner les paramètres d'analyse :



Cluster File (fichier .egt) sur le serveur gna2gdlabo.genesdiffusion.com :
Labo\genotypes\Fichiers_Clustering
Veillez à utiliser la dernière version du cluster adapté au format de puce et au type de projet.
Paramétrer Gen Call Treshold = 0,15.


Cliquer sur « Finish », la création du projet démarre :



Pour ajouter des échantillons supplémentaires (étape à répéter autant de fois qu'il y a de samplesheets) :

- cliquer sur file,
- load additional samples,
- renseigner la localisation de la samplesheet et des données brutes de scan correspondantes sur le serveur gna2gdlabo.genesdiffusion.com.

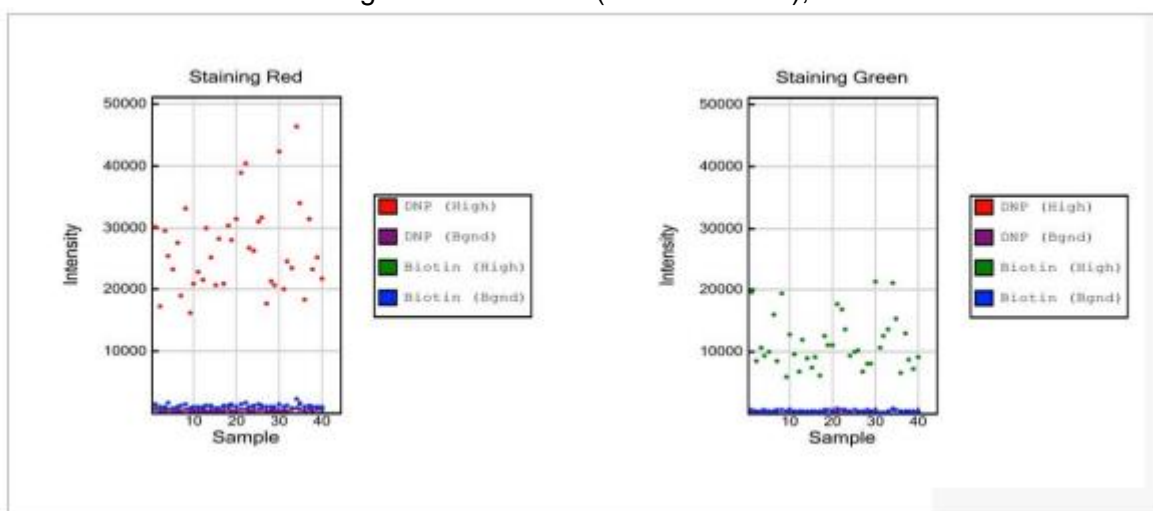
A l'issue de l'ajout d'échantillons, il est nécessaire de recalculer les statistiques. Pour cela, cliquer sur l'icône calculatrice dans la partie Samples Table (cadre en bas à gauche) une fois tous les échantillons ajoutés. Exclure du projet les individus qui n'ont pas à s'y trouver et relancer un calcul. En revanche, les outliers (échantillons dont le CallRate est inférieur à 0,95 et considérés en échec de génotypage) ne sont pas à exclure (traçabilité de l'ensemble des génotypes).

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

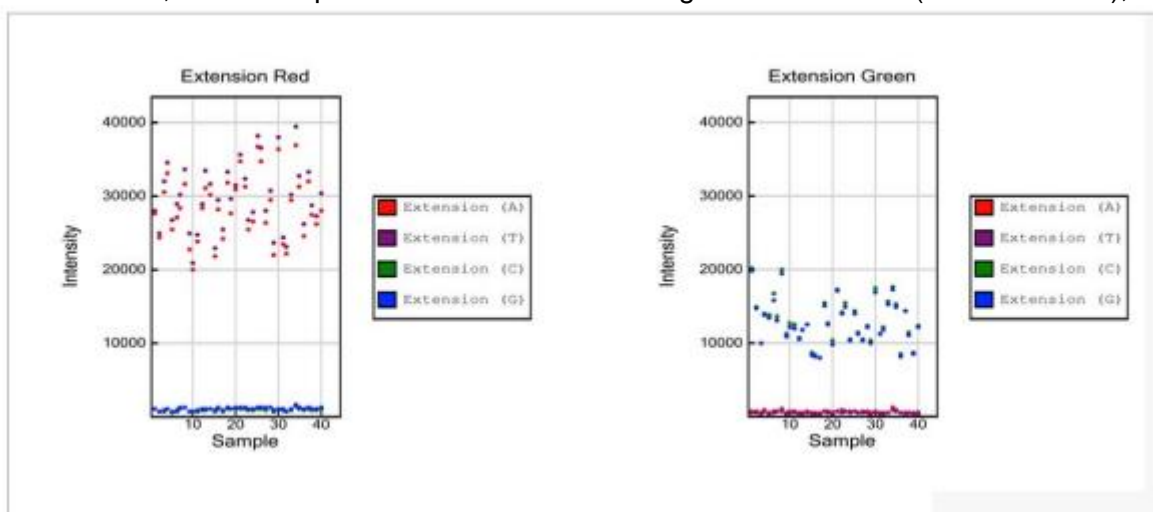
b) Vérification des résultats


Vérifier ensuite les contrôles internes des puces, en cliquant sur Analysis → View Controls Dashboard, ils permettent de valider le bon déroulement de chacune des étapes du run de génotypage en se basant sur les intensités relatives :

- Staining : permettent de valider l'efficacité de l'étape de staining (Red = DNP (dinitrophénol), Green = Biotine) → bonne intensité de signal attendue pour le DNP (High) sur le canal Red, et pour la Biotine (High) sur le canal Green, les autres points de données doivent figurer dans le bas (faible intensité),

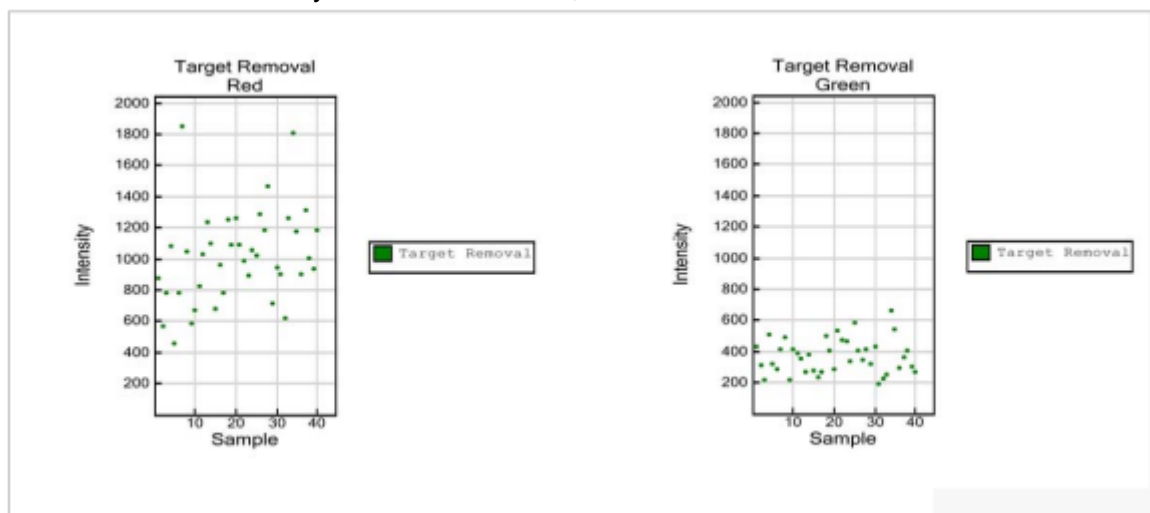


- Extension : permettent de valider l'efficacité de l'étape d'extension simple base durant le staining (Red = bases A et T, Green = bases G et C) → bonne intensité de signal attendue pour les bases A et T sur le canal Red, et pour les bases G et C sur le canal Green, les autres points de données doivent figurer dans le bas (faible intensité),

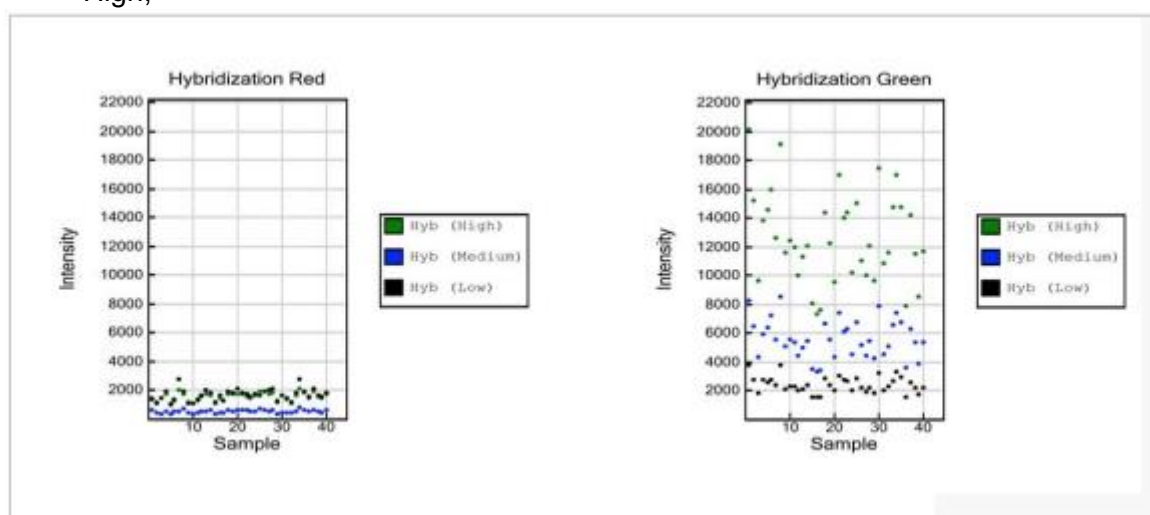


	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR


- Target removal : permettent de valider l'efficacité de l'étape de déshybridation des séquences cibles après l'extension simple base, ils ne sont présents que sur le canal Red → faible intensité attendue sur les deux canaux, si significativement élevée sur le canal Red = déshybridation inefficace,

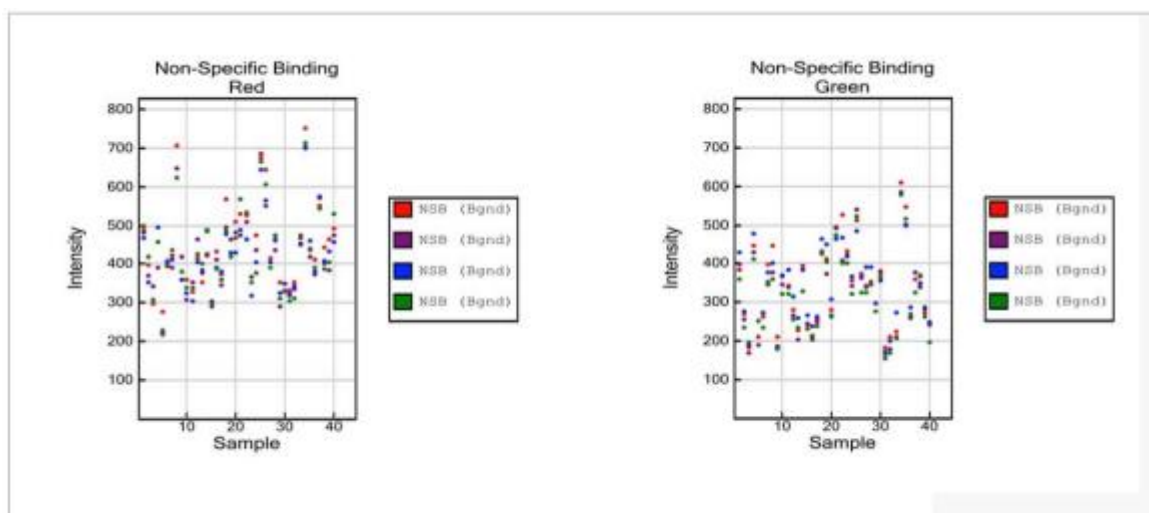


- Hybridization : permettent de valider l'efficacité de l'étape d'hybridation à partir de séquences cibles synthétiques présentes en 3 concentrations différentes (faible, moyenne et haute), ils ne sont présents que sur le canal Green → faible intensité attendue sur le canal Red, ainsi que pour le niveau de concentration Low du canal Green, intensité moyenne attendue pour le niveau Medium, et haute pour le niveau High,



- Non-specific binding : permettent de valider la qualité et la spécificité de l'essai de par leur complémentarité à des séquences bactériennes → faible intensité attendue sur les deux canaux.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR



Les contrôles Stringency, Non-polymorphic, applicables à l'ADN humain, et Restoration, applicable à un protocole spécifique, ne sont pas à vérifier.

Classer les call rates dans l'ordre croissant afin de les visualiser.

➔ Condition de libération d'une série de génotypage


Une série de génotypages (génotypages réalisés concomitamment) ne peut être libérée que si plus de 85 % des échantillons analysés ont un callrate supérieur à 0,95. En deçà de ce seuil, le run est mis sous séquestre, l'incident est traité selon la [GDB_PRO_08_Gestion des incidents et non conformités](#), il est donc répertorié au sein du fichier [GDB_ENR_72_Gestion des incidents et des non conformités](#), et une fiche de non-conformité [GDB_FORM_01_Fiche de non-conformité](#) est ouverte.

Un taux d'outliers compris entre [5 % - 15 %] sur l'ensemble des génotypages ou au sein d'une même plaque doit amener à réaliser des vérifications supplémentaires : intensités p50/p95 (faibles en cas d'absence d'ADN : p50Grn < 200, p50Red < 500, p95Grn et p95Red < 1000), position des outliers plaque/lame/run, remarques prélèvements/génotypage, etc... afin de mettre en évidence un éventuel incident pouvant déboucher sur une non-conformité.

Vérifier ensuite la présence éventuelle d'ADN mitochondrial pour les outliers, au niveau des SNP dédiés (« MT » dans la colonne Chr du Full Data Table, la classer dans l'ordre croissant pour mieux les repérer). Les individus contaminés à l'ADN mitochondrial apparaissent avec une intensité élevée, et se situent au-dessus des clusters. Vérifier si des échantillons sont concernés : intensité Norm R supérieure à 10 pour au moins un des SNP dédiés. Le cas échéant, la précision « MT » sera apportée dans la colonne Précisions (BE) du fichier de suivi des échantillons.

Insérer une colonne Comment dans la partie Samples Table, juste après la colonne CallRate, en cliquant sur l'onglet Column Chooser. Ajouter un code selon la convention suivante, sur une sélection d'individus, par clic droit au niveau de la colonne Comment, puis « other » :

- 1 pour les individus exclus, ne faisant pas partie du projet,

 GD Biotech <small>AGRI-AGRO SOLUTIONS</small>	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

- 0 pour les autres individus (valides et outliers).

Enregistrer le Projet.

c) Création des fichiers TYP et COM

Les fichiers nécessaires à l'envoi en indexation sont :

- fichier TYP,
- fichier COM.

Ces fichiers sont générés à partir du projet Genome Studio. Ils sont enregistrés dans le dossier d'indexation correspondant au Genome Studio en cours.

i) **Fichier TYP**


Le fichier TYP regroupe l'ensemble des résultats issus du génotypage. Pour le générer, cliquer sur : Analysis > Reports > Reports Wizard.

Valider les différentes étapes :

- a) type of report : Final Report > Next,
- b) samples excluded : remove them from the report > Next,
- c) SNPs to include :
 - o Zeroed SNPs : Include zeroed SNPs in the report,
 - o Intensity only SNPs : Include Intensity only SNPs > Next,
- d) format final report :
 - o cocher la case Standard,
 - o Standard Format Options : inclure les informations suivantes, dans cet ordre, dans la colonne Displayed Fields :

 SNP Name, Sample ID, Allele1 - Top, Allele2 - Top, GC Score, Sample Name, Sample Group, Sample Index, SNP Index, SNP Aux, Allele1 - Forward, Allele2 - Forward, Allele1 - Design, Allele2 - Design, Allele1 - AB, Allele2 - AB, Allele1 - Plus, Allele2 - Plus, Chr, Position, GT Score, Cluster Sep, SNP, ILMN Strand, Customer Strand, Top Genomic Sequence, Plus/Minus Strand, Theta, R, X, Y, X Raw, Y Raw, B Allele Freq, Log R Ratio, CNV Value, CNV Confidence
 - o Group by : sample,
 - o cocher la case Comma,
 - o (sauvegarder ce formatage pour ne pas avoir à valider ces informations les prochaines fois en cliquant sur Save Current... dans Favorite Formats, le nommer TYP_GD, et cliquer sur Add To Favorites, puis OK. Il suffira alors de le sélectionner dans le menu déroulant la prochaine fois)
 - o > Next,
- e) enregistrer dans le dossier d'indexation correspondant au Genome Studio en cours, Report Name : **TYP_file** > Finish.

ii) **Fichier COM**

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

Le fichier COM fournit l'information Call Rate, score global de l'échantillon, non fourni par le TYP report. Pour générer ce fichier, tout se passe dans la partie Samples Table en bas à gauche de l'écran Genome Studio. Dans la section Column Chooser sélectionner, dans cet ordre : Sample name, Call Rate, Comment, puis valider.

Dans la partie Samples Table n'apparaissent plus que ces 3 colonnes, à exporter dans le dossier d'indexation correspondant au Genome Studio en cours, en cliquant sur « Export displayed data to a file » (icône document avec flèche sortante), sous le nom **samples_table_COM**.

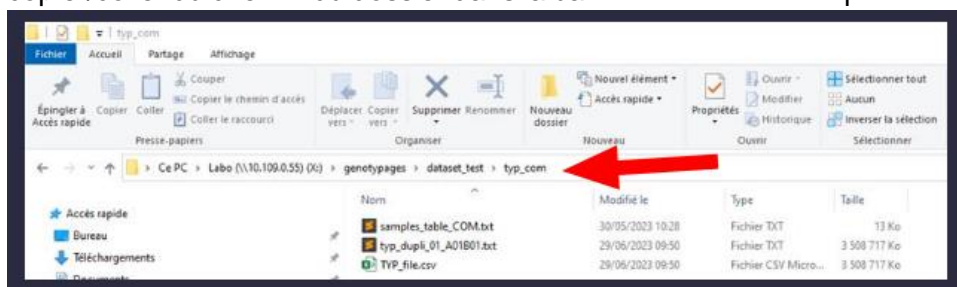
Fermer Genome Studio sans enregistrer.

Si le projet a été créé en local sur l'ordinateur, le déplacer sur le serveur gna2gdlabo.genesdiffusion.com :

Labo\genotypages\Genotypages_SAM\SAM_MD_v...\Indexations\aaaa\indexations_mois_aaaa.

2) Enregistrement des résultats en base de données (étape 3)


Dans l'interface GDBoard, dans le groupe de génotypage, dans « 3 : Insertion TYP », cliquer sur « insérer un TYP », et ensuite remplir le chemin vers le fichier TYP, en faisant un copier/coller du chemin du dossier dans la barre d'adresse de l'explorateur de fichier windows.



L'étape prend quelques minutes, les fichiers TYP et COM sont d'abord téléchargés, puis vérifiés et découpés en génotypages individuels, ceux-ci sont comparés aux précédents de l'animal déjà existants et rangés, et les QC sont générés. Le callrate, le callrate iso, le scope iso ainsi que la date d'insertion et le délai sont calculés à cette étape, et complétées dans le fichier de suivi des échantillons.

Une fois l'insertion terminée, le message « status : success » apparaît.

Il est possible de faire de multiples projets genome studio en cas de série comportant beaucoup de plaques (pour des raisons de performance ou d'organisation), et donc de multiples TYP/COM, et de réaliser ainsi plusieurs fois cette étape.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

→ A ce stade il est important de vérifier les contrôles qualités répétabilité et reproductibilités (QC) :

Pour vérifier les QC, aller dans le menu vache (voir annexe 2) puis cliquer sur « fichiers récapitulatifs », dans la fenêtre qui s'ouvre, déplier la partie « Fichiers Email & QC » Ici seront listés les QC, avec leur état. Deux boutons à côté du titre permettent de télécharger et de visualiser le fichier PDF du QC.

Dans le récapitulatif, en cliquant sur « Semaine en cours » de la partie « Monitoring », se trouve sur la droite la partie Quality Check. On y retrouve tous les QC par run de la semaine en cours, avec leur état.

id_run_genotypage	Type QC	ID QC	ID Controle	État QC
RUN_2021SEM32_01	repeta	WG6855254-MSA7_B08	WG6855254-MSA7_A08	valide
RUN_2021SEM32_01	repro	WG6855254-MSA7_C08	WG6855606-MSA7_A08	valide

Le détail complet des QC avec les SNP est disponible sur la page <http://dashboardgenoprod.gspp2gdlab.genesdiffusion.com/main/quality-check>. C'est également sur cette page que les rapports en .pdf sont à extraire.


Se référer au document [GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN](#) pour plus de précisions.

3) Vérification des résultats (étape 4)

Cette étape n'est débloquée que lorsque que toutes les plaques du groupe ont passé l'étape d'insertion du TYP (étape 3). Comme les vérifications se font en partie entre les plaques, une fois réalisée il ne sera donc plus possible d'ajouter de nouvelles plaques, sans au préalable annuler cette vérification. Il faudra alors ensuite la relancer. Dans « 4 : Vérifications », cliquer sur "Vérifier le groupe" pour lancer la vérification. Celle-ci prend quelques minutes.

Seront ainsi vérifiés :

- la race,
- le sexe,
- la compatibilité génétique avec les parents déclarés,
- la possibilité de doublon dans une plaque ou dans un lot,
- les mutations déclenchant un blocage de diffusion des résultats à des tiers, selon la demande du client.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

Les fichiers générés par ces vérifications sont disponibles dans les « Fichiers récapitulatifs » accessible depuis le menu vache (annexe 2).

Il convient alors de contrôler les fichiers suivants afin de visualiser et mettre en évidence un éventuel problème de manipulation au laboratoire (ex : inversion de plaques, ...).

Dans la catégorie « Fichiers Vérification » :

compatibilite_html_{groupe_génotypage}_{date_génération}.html

Ce fichier représente graphiquement les problèmes d'incompatibilité par plaque

doublon_html_{groupe_génotypage}_{date_génération}.html

Ce fichier représente graphiquement les doublons par plaque

Et dans la partie « Fichiers Email & QC », lorsque le cas se présente :

stop_mutation_{groupe_génotypage}_{date_génération}.csv

Ce fichier contient les analyses bloquées à cause d'une mutation

erreur_compatibilite_{groupe_génotypage}_{date_génération}.csv

Ce fichier liste les problèmes d'incompatibilité

erreur_race_{groupe_génotypage}_{date_génération}.csv

Ce fichier liste les problèmes de race

erreur_sexe_{groupe_génotypage}_{date_génération}.csv

Ce fichier liste les problèmes de sexe

doublon_{groupe_génotypage}_{date_génération}.csv

Ce fichier liste les problèmes de doublons, les blocages et leur justification

conflits_regenotypage_{groupe_génotypage}_{date_génération}.csv

Ce fichier liste les conflits avec et les anciens génotypes des animaux

Récupérer ensuite les fichiers de la partie « Fichiers Email & QC ».

4) Génération des résultats (étape 5)


Cette étape comprend la génération des comptes rendus et la diffusion de résultats à des tiers sous mandat explicite du client.

Dans « 5 : Génération Résultats », cliquer sur « Génération Résultats » (le processus peut prendre plusieurs minutes).

Les comptes rendus sont téléchargeables zippés depuis le sous menu « Fichiers récapitulatifs » dans la partie « Fichiers Email & QC », item « compte_rendu_iso_{groupe_génotypage}.zip »

Le détail de la diffusion des résultats est listé dans la partie « Fichier recap valogène ».

5) Finalisation (étape 6)

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

Cette étape est simplement la clôture du groupe de génotypage, aucune autre action ne pourra être effectuée. Dans « 6 : Finalisation », cliquer sur Finalisation.


Archiver les fiches extraction sur le serveur gna2gdlabo.genesdiffusion.com, dossier partagé archives_labo : déplacer les fiches extraction de la semaine correspondante (versions d'origine et versions old/corrigées) de partage_labo\Extractions\Fichiers_extraction>Listes\Semaine génotypage à partage_labo\Extractions\Fichiers_extraction>Listes\A_archiver. Les fichiers sont automatiquement basculés dans le dossier sécurisé archives_labo.

Archiver les fichiers SAM sur le serveur gna2gdlabo.genesdiffusion.com, dossier partagé archives_labo : déplacer les fichiers SAM de la semaine correspondante (SAM et SAM old/corrigées) de partage_labo\Extractions\Fichiers_SAM\Semaine génotypage à partage_labo\Extractions\Fichiers_SAM\A_archiver. Les fichiers sont automatiquement basculés dans le dossier sécurisé archives_labo.

PHASE III : Bilan hebdomadaire

1) Mise à jour du fichier de suivi des échantillons

- a) Le fichier de suivi des échantillons est complété automatiquement avec la date de vérification des résultats, ainsi que la validation ou non d'un résultat rendu sous ISO 17025 (voir contrat de prestation établi avec le client).
- b) Surligner les lignes outliers en jaune (ajouter l'action à réaliser en colonne BD, ex : demande de réextraction, et les précisions en colonne BE, ex : présence d'ADN mitochondrial, ...), les lignes des porteurs ataxie en orange (préciser le génotype Ataxie en colonne BD), et les lignes des projets extérieurs à l'activité de génotypage en prune (tests, recherche IPL, ...).
- c) **Lorsqu'un outlier concerne un projet qPCR, vérifier le callrate :**
 - **s'il est inférieur à 0,80, retraiter l'échantillon,**
 - **s'il est supérieur ou égal à 0,80, vérifier la lisibilité des SNP concernés (liste et liens projet/mutation/SNP en annexe 1) directement sur le projet Genome Studio ou en base de données via le Responsable SI. Un génotypage défectueux pour un projet qPCR peut être validé si les SNP correspondants sont lisibles. S'ils ne sont pas interprétables, re-traiter l'échantillon (extraction/génotypage). De même, le génotypage pour**

	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

l'ensemble des SNP restera inexploitable, donc si une autre analyse est demandée ultérieurement, il faudra retraiter l'échantillon.

d) Lorsqu'un outlier concerne le projet IDENTIFICATION GENETIQUE, vérifier le callrate :

- s'il est inférieur à 0,60, mettre l'échantillon en réextraction (incluant un nouveau génotypage, col.BD),
- s'il est supérieur ou égal à 0,60, un dépôt sera automatiquement tenté en Base Nationale (date « d'envoi en indexation » à renseigner dans le fichier de suivi des échantillons malgré l'échec de génotypage, col. BB). En effet, pour ce projet, seuls 200 marqueurs sont exploités. Il faudra cependant prévoir l'action à effectuer (col. BD) si le génotypage ne passe pas : Génotypage inexploitable - Nouvelle extraction, ou Génotypage inexploitable - Nouveau prélèvement (voir ci-après).

e) Une demande de re-prélèvement sera effectuée (col. BD) dans les cas suivants :


- cartilage : après le 1er échec, le prélèvement ayant été extrait dans son intégralité,
- semence : après le 1er échec s'il ne reste pas de paillettes ou après 2 échecs d'extraction/génotypage,
- poil : après 2 échecs d'extraction/génotypage sur le même échantillon, ou après le 1er échec si une seule extraction a pu être réalisée ou que les poils sont sales (cf. remarques col. AN),
- sang : après le 1^{er} échec si le sang est coagulé, ou demander un prélèvement autre que du sang après le 1er échec si l'animal possède un jumeau (demander l'information au client au préalable et compléter la colonne F du fichier de suivi des échantillons par **O** ou **N**), ou après 2 échecs d'extraction/génotypage sur le même échantillon si l'animal ne possède pas de jumeau.

f) Pour les autres génotypes outliers, s'il s'agit potentiellement d'un défaut de puce ou de génotypage, les mettre en re-génotypage (col. BD), le labo laissera les places nécessaires et ceux-ci seront re-génotypés la semaine suivante. Si non, les mettre en réextraction (incluant un nouveau génotypage, (col. BD)).

2) **Bilan aux équipes**

Dans un mail adressé au client et à l'équipe du laboratoire de génotypage avec en copie les personnes habilitées à l'émission de rapports de résultats ainsi que le responsable SI :

- a) Transmettre les différents fichiers récupérés précédemment au format .csv,
- b) Transmettre les rapports des QC répétabilité et reproductibilité au format .pdf,

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

- c) y joindre également un récapitulatif des échantillons défectueux, à générer à partir du document intitulé [GDB_FORM_07_Echecs de génotypage](#), à exporter sous Excel et à transformer en enregistrement.

Compléter le numéro de semaine ainsi que l'année sur le premier onglet (report automatique sur les autres).

Ce fichier comprend 4 onglets :

- **Nouveau(x) prélèvement(s)** : insérer les informations correspondant aux échantillons nécessitant un nouveau prélèvement. Le client enclenchera une demande de re-prélèvement.
- **Nouvelle(s) Extraction(s)** : insérer les informations correspondant aux échantillons nécessitant une nouvelle extraction (incluant un nouveau génotypage).
- **Identification(s) Génétique(s)** : insérer les informations correspondant aux échantillons « IDENTIFICATION GENETIQUE » outliers nécessitant une vérification en Base Nationale. Le service génétique se chargera de vérifier le résultat et de la suite à donner (VCG OK, ou re-traitement de l'échantillon / re-prélèvement de l'animal en fonction de ce qui a été précisé).
- **Nouveau(x) Genotypage(s)** : insérer les informations correspondant aux échantillons à regénotyper, le labo laissera les places nécessaires et ceux-ci seront uniquement re-génotypés la semaine suivante.

- d) préciser toute information complémentaire.

ANNEXES


- Document récapitulatif des projets et des flags :

<http://dashboardgenoprod.gspp2gdlab.genesdiffusion.com/main/documentation>

- **Annexe 1** : liste et liens projet/mutation/SNP

Liste projet/mutation :


Projet	Mutation
qPCR Ataxie	ataxia
qPCR Ataxie + Culard	ataxia GDF8_Q204X

 GD Biotech <small>AGRI-AGRO SOLUTIONS</small>	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR


Kappa caseine	KCAS_AB KCAS_E
qPCR Blind	BLIND
qPCR Beta caseine	MBCAS_A1-A2
qPCR Beta caseine + Kappa caseine	MBCAS_A1-A2 KCAS_AB KCAS_E
qPCR Culard	GDF8_Q204X
MH BEEF	GDF8_F94L
qPCR Culard + MH BEEF	GDF8_F94L GDF8_Q204X
qPCR Ataxie + Culard + MH BEEF	GDF8_F94L GDF8_Q204X ataxia
qPCR Ataxie + MH BEEF	GDF8_F94L ataxia

Liste mutation/SNP :

Mutation	Nom_du_marqueur
BLIND	EGX_BLIND_RP1
BLIND	EGX_BLIND_RP1_r
BLIND	EuroGMD_BLIND_RP1
BLIND	EuroGMD_BLIND_RP1_r
BLIND	GD4014_MBLIND_rs475071736_Pmid27510606
GDF8_F94L	EuroG10K_GDF8F94L_F
GDF8_F94L	EuroG10K_GDF8F94L_R
GDF8_F94L	EuroG10K_GDF8F94L_R_B
GDF8_F94L	GD55_GDF8_F94L_Lim
GDF8_Q204X	EuroG10K_SNP_AB076403_204
GDF8_Q204X	EuroG10K_SNP_AB076403_204_ilmndup2
GDF8_Q204X	EuroG10K_SNP_AB076403_204_r
GDF8_Q204X	EuroG10K_SNP_AB076403_204_r_ilmndup2
GDF8_Q204X	GD52_GDF8_Q204X_Cha_BA

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR

KCAS_AB	CSN3_AY380228_13104_1
KCAS_AB	EuroG10K_SNP_X14908_5345
KCAS_AB	EuroG10K_SNP_X14908_5345_ilmndup2
KCAS_AB	EuroG10K_SNP_X14908_5345_r
KCAS_AB	EuroG10K_SNP_X14908_5345_r_ilmndup2
KCAS_AB	EuroG10K_SNP_X14908_5345_r2
KCAS_AB	EuroG10K_SNP_X14908_5345_r2_ilmndup2
KCAS_AB	EuroG10K_SNP_X14908_5345_r3
KCAS_AB	EuroG10K_SNP_X14908_5345_r3_ilmndup2
KCAS_AB	GD20_KCSN_X14908_5345
KCAS_E	CSN3_AY380228_13124
KCAS_E	EuroG10K_SNP_AF041482_130
KCAS_E	EuroG10K_SNP_AF041482_130_ilmndup2
KCAS_E	EuroG10K_SNP_AF041482_130_r
KCAS_E	EuroG10K_SNP_AF041482_130_r_ilmndup1
KCAS_E	EuroG10K_SNP_X14908_5365
KCAS_E	EuroG10K_SNP_X14908_5365_ilmndup2
KCAS_E	EuroG10K_SNP_X14908_5365_r
KCAS_E	EuroG10K_SNP_X14908_5365_r_ilmndup1
KCAS_E	GD21_KCSN_X14908_5365
ataxia	EGX_CHA_ATAX
ataxia	EGX_CHA_ATAX_r
ataxia	EuroGMD_CHA_ATAX
ataxia	EuroGMD_CHA_ATAX_r
MBCAS_A1-A2	CSN2_7
MBCAS_A1-A2	EuroG10K_CSN_beta
MBCAS_A1-A2	EuroG10K_CSN_beta_r
MBCAS_A1-A2	EuroG10K_CSN_beta_r_ilmndup1
MBCAS_A1-A2	EuroG10K_SNP_M55158_8101
MBCAS_A1-A2	EuroG10K_SNP_M55158_8101_ilmndup2

	Enregistrement et traitement des données de génotypage	Version 3.0
GDB_MOP_10	Analyse	05/06/2024
Rédaction : L. LIETAR, M. BARBET	Vérification : P. BOUVELLE, S. MARTEL	Approbation : L. LIETAR









MBCAS_A1-A2	EuroG10K_SNP_M55158_8101_r
MBCAS_A1-A2	EuroG10K_SNP_M55158_8101_r_ilmndup2
MBCAS_A1-A2	GD26_CSN2_M55158_8101

→ Annexe 2 : Description Interface groupe génotypage GDBoard

Groupe Génotypage : Genotypages_sem38_2023

1 : Enregistrement SAM 2 : Génération Samplesheet 3 : Insertion TYP 4 : Vérification 5 : Génération Résultats 6 : Finalisation

Générer une samplesheet (6) **Menu Groupe Génotypage** (1) **Fichiers récapitulatifs** **Statistique** **Sheet suivi** **Réinitialiser la taille des fenêtres flottantes** (2)

Action	Id_plaque_genotypage	Run Genotypage	Format	Puce	Date Début	Date Scan	Plaque SAM	Samplesheet	Sentir
	WG7072878-MSA7	RUN_2023SEM38_01 MD_v4_1	18/09/2023	19/09/2023	SAM230917	SAM230917_MD_v4_1_XT_01.csv	207603230141	20/09/2023 11:34:25	
	WG7072879-MSA7	RUN_2023SEM38_01 MD_v4_1	18/09/2023	20/09/2023	SAM230918	SAM230918_MD_v4_1_XT_02.csv	207603230141	20/09/2023 10:18:52	
	WG7072880-MSA7	RUN_2023SEM38_01 MD_v4_1	18/09/2023	20/09/2023	SAM230919	SAM230919_MD_v4_1_XT_03.csv	207603230141	20/09/2023 10:19:17	
	WG7072881-MSA7	RUN_2023SEM38_01 MD_v4_1	19/09/2023	20/09/2023	SAM230920	SAM230920_MD_v4_1_XT_04.csv	207603230141	20/09/2023 10:19:37	
	WG7072882-MSA7	RUN_2023SEM38_02 MD_v4	20/09/2023		SAM230921			20/09/2023 10:19:58	
	WG7072883-MSA7	RUN_2023SEM38_02 MD_v4	20/09/2023		SAM230922				
	WG7072884-MSA7	RUN_2023SEM38_02 MD_v4	20/09/2023		SAM230923				
	WG7072885-MSA7	RUN_2023SEM38_02 MD_v4	20/09/2023		SAM230924				

3 : Bouton action visualisation 4 : Bouton action correction

Légende :

- 1 : Bouton « Menu vache »
- 2 : Menu vache (déplié)
- 3 : Bouton action visualisation
- 4 : Bouton action correction
- 5 : Onglet étape
- 6 : Bouton action d'étape

Documents associés :

[GDB_FI_02_Fiche suivi indexation](#)

[GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN](#)

[GDB_FORM_07_Echecs de génotypage](#)

[GDB_FORM_16_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form \(ancienne version sous Google Forms jusqu'au 09/06/2023 : GDB_ENR_20_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form – Réponses\)](#)

[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](#)