



Omixon Holotype HLA et Omixon HLA Twin

Limitations connues du produit

Version 4

Publiée le 19/10/2018

1 Historique des révisions et modifications

Version	Résumé des modifications
v. 1	Limitations algorithmiques recueillies. Document fusionné avec le document des limitations spécifiques de Holotype HLA.
v. 2	Les limitations relatives à la base de données IMGT/HLA ont été mises à jour pour correspondre aux bases de données IMGT/HLA v. 3.28.0 et v. 3.29.0.1. La section consacrée aux limitations du logiciel a été étendue pour correspondre aux versions suivantes du logiciel : Twin 2.1.3, Twin 2.1.4 et Twin 2.5.0.
v. 3	Des cas supplémentaires relatifs au phasage ont été ajoutés. Un court guide facilitant l'identification d'un phasage incorrect a été ajouté Les limitations relatives à la base de données IMGT/HLA ont été mises à jour pour correspondre aux bases de données IMGT/HLA v. 3.30.0. La section consacrée aux limitations du logiciel a été étendue pour correspondre aux versions suivantes du logiciel : Twin 2.5.1 et Twin 3.0.0.
v. 4	Les limitations relatives à la base de données IMGT/HLA ont été mises à jour pour correspondre à la base de données IMGT/HLA v. 3.31.0. La section consacrée aux limitations du logiciel a été étendue pour correspondre aux versions suivantes du logiciel : Twin 3.1.0 et Twin 3.1.1. Les informations relatives aux versions du logiciel et de la base de données IMGT/HLA antérieures de 12+1 mois ont été supprimées. Versions affectées : Omixon HLA Twin 2.1.3 et 2.1.4, IMGT/HLA 3.28.0_4. Des exemples particuliers ont été supprimés pour les problèmes où la spécificité des allèles n'était pas démontrée. Des limitations supplémentaires de l'algorithme de génotypage statistique ont été ajoutées.

2 Portée du présent document

L'objectif du présent document est de fournir une liste exhaustive des limitations connues relatives aux produits Holotype HLA et Omixon HLA Twin. La version actuelle de ce document (v. 4) a été générée en assemblant les documents Holotype HLA versions 1 et 2.1 et Omixon HLA Twin versions 2.5.0 (CE&RUO), 2.5.1 (CE&RUO), 3.0.0 (RUO), 3.1.0 (RUO), et 3.1.1 (CE&RUO) avec les bases de données IMGT/HLA versions 3.29.0.1_5, 3.30.0_5 et 3.31.0_5. Sauf mention contraire, les limitations listées affectent l'ensemble des tests et versions de logiciel et de base de données entrant dans le cadre de ce document.

3 Présentation des limitations connues du produit

3.1 Limitations spécifiques de Holotype HLA

3.1.1 Ambiguïtés spécifiques de Holotype HLA

Cette section présente les ambiguïtés dont la cause est la conception du test Holotype HLA et les limitations technologiques de NGS (c.-à-d. l'emplacement et la séquence des sites d'amorce et la répartition des tailles des fragments produits par la méthode de sélection de taille utilisée dans le protocole). Ces ambiguïtés ne peuvent pas être résolues et sont présentes dans toutes les versions de logiciel.

Un alignement de séquences multiples a été généré pour chaque loci contenant toutes les séquences allèles et les séquences d'amorce Holotype. Cet alignement a ensuite été réduit à la région ciblée (c.-à-d., les sites d'amorce et toute position en dehors des sites d'amorce ont été rognés). Les séquences résultantes ont ensuite été contrôlées pour l'exactitude de leur reproduction, et les relations conséquentes et toutes les ambiguïtés sur la résolution en trois

champs ou inférieure ou toute résolution affectant les allèles par des niveaux d'expression atypiques ont été répertoriées.

3.1.2 Ambiguïtés de premier, deuxième et troisième champ

Directives aux fins du rapport : Rapporter comme ambigu

Allèles ambigus		Effet sur l'expression	Version(s) IMGT/ HLA affectée(s)	Niveau d'ambiguïté	Version(s) de test affectée(s)
DPB1*13:01:01	DPB1*107:01	NON	v. 3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	1 ^{er} champ	v. 1, v. 2.1
DPB1*105:01:01	DPB1*665:01	NON	v3.30.0_5 v3.31.0_5	1 ^{er} champ	v. 1, v. 2.1
DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:151	NON	v. 3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	3 ^e champ	v. 1
DRB1*09:01:02	DRB1*09:31	NON	v. 3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	2 ^e champ	v. 1, v. 2.1
DRB1*12:01:01	DRB1*12:10	NON	v. 3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	2 ^e champ	v. 1, v. 2.1
DRB1*15:02:01	DRB1*15:140	NON	v. 3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	2 ^e champ	v. 1, v. 2.1

¹ L'ambiguïté est résolue lorsque des amorces DQB1 série 1 sont utilisées.

3.1.3 Ambiguïtés affectant l'expression

Directives aux fins du rapport : Les allèles de faible expression sont indiqués comme résultat du 2^e champ.

Trois premiers champs communs dans le groupe des allèles	4 ^e champ dans le groupe des allèles ambigus
A*02:01:01	01, 02L, 16
B*39:01:01	03, 02L, 05

3.1.4 Ambiguïtés cis/trans

Les ambiguïtés cis/trans (p. ex. les appels des allèles ambigus où les paires d'allèles différentes diffèrent uniquement dans le phasage cis/trans) peuvent avoir plusieurs causes initiales. La majorité de ces ambiguïtés sont rapportées en raison des limitations de la technologie et de la base de données IMGT/HLA.

3.2 Liste des limitations connues pour Omixon HLA Twin

3.3 Limitations connues de l'algorithme de génotypage consensus

3.3.1 Introduction

Toutes les limitations listées ci-dessous sont fondées sur des observations rapportées par des clients Holotype HLA ou effectuées pendant les tests de régression et de validation internes. À noter que, avant la fin 2018, ces observations portaient sur plus de 100 000 échantillons de kits Holotype HLA vendus dans le monde.

3.3.2 Fausses nouveautés appelées

Dans de rares cas, HLA Twin est susceptible de rapporter de fausses nouveautés à l'utilisateur final. À noter que la grande majorité de ces fausses nouveautés peut être éliminée par une inspection manuelle des résultats dans Omixon HLA Twin par un utilisateur expérimenté.

3.3.3 Indels de nouveauté longue manqués

Deux cas ont été observés, pour lesquels les insertions ou délétions de nouveauté longue n'ont pas été rapportées par Omixon HLA Twin.

3.3.4 Double nouveauté SNP non rapportée (Version corrigée : Omixon HLA Twin 2.5.1)

Un seul cas a été observé pour lequel deux nouveautés SNP consécutives n'ont pas été rapportées.

3.3.5 Phasage incorrect

Un faible nombre de cas a été observé dans lesquels le phasage des séquences consensus était incorrect.

Identification de séquences consensus dont le phasage est incorrect

Un phasage cis/trans incorrect peut être suspecté si au moins l'une des caractéristiques suivantes est observée :

- Deux allèles nouveaux sont rapportés au sein d'une seule paire de concordances.
- Un allèle nouveau et un allèle partiellement défini sont rapportés.
- Un ou deux allèles rares sont rapportés.
- Il existe plusieurs positions de nouveauté.

Si un phasage incorrect est suspecté, il est conseillé d'inspecter les résultats de l'algorithme de génotypage statistique.

3.3.6 Ambiguïté cis/trans due à un phasage inefficace

Dans quelques rares cas, des ambiguïtés de deuxième ou troisième niveau de champ sont rapportées en raison d'un phasage inefficace. Le cas échéant, il est suggéré de réanalyser les loci affectés avec des lectures plus nombreuses.

3.3.7 Rapport de résultat de CQ incorrect

Mode de défaillance	Version corrigée	Version(s) du logiciel affectée(s)
Des valeurs de rapport bruit-point sont parfois attribuées à des positions consensus erronées.	Twin 3.0.0	Twin 2.5.0, Twin 2.5.1

3.4 Limitations connues de l'algorithme de génotypage statistique

3.4.1 Certaines séquences d'exons sont incorrectement déterminées dans les analyses dédiées aux exons (Version corrigée : Omixon HLA Twin 3.1.0)

Mode de défaillance	Version corrigée	Version du logiciel affectée
En raison de certaines discordances dans la base de données IMGT/HLA et dans la méthode de gestion de cette base de données introduites dans Twin 3.1.0, certaines séquences de région ont été incorrectement déterminées dans les analyses dédiées aux exons.	Twin 3.1.0	Twin 3.0.0

4 Limitations connues du produit pour HLA-A

4.1 Limitations spécifiques de Omixon HLA Twin

4.1.1 Limitations connues de l'algorithme de génotypage statistique

Erreurs d'appel connues de l'algorithme de génotypage statistique

En raison de la similarité des séquences d'exons de certaines paires d'allèles, l'algorithme de génotypage statistique rapporte des allèles erronés pour les groupes d'allèles suivants :

- A*24:02/A*24:253

5 Limitations connues du produit pour HLA-B

5.1 Limitations spécifiques de Holotype HLA

5.1.1 Allèles susceptibles d'afficher une faible amplification

Une faible amplification signifie que le compte généré pour un allèle n'est pas suffisant pour un génotypage. Dans des cas extrêmes, il est possible que l'allèle ne soit pas du tout pris en compte (abandon).

Allèles de faible amplification	Compensation dans HLA Twin	Résolution de détection
B*51:01:02	OUI	OUI

5.2 Limitations spécifiques de Omixon HLA Twin

5.2.1 Limitations connues de l'algorithme de génotypage consensus

Résultat ambigu rapporté dû à la perte de consensus de l'un des allèles

Allèle affecté	Allèles rapportés en supplément
B*08:01:01	B*08:182, B*08:01:20
B*40:01:02	B*40:01:45
B*35:01:01	B*35:347, B*35:01:23, B*35:42:01

HLA-B*15:01 non appelé

Dans quelques rares cas, des allèles appartenant au groupe d'allèles suivant ne sont pas appelés :

- HLA-B*15:01:01:01,
- HLA-B*15:01:01:02N,
- HLA-B*15:NEW

5.2.2 Limitations connues de l'algorithme de génotypage statistique

HLA-B*44:02:01 et HLA-B*44:03:01 ne sont pas appelés en raison de la présence d'une séquence identique d'exons dans HLA-C.

Résultat du génotypage statistique	Résultat correct
HLA-B*40:01:02+HLA-B*44:188/HLA-B*44:46	HLA-B*40:01:02+HLA-B*44:03:01
HLA-B*45:01:01+HLA-B*44:188/HLA-B*44:46	HLA-B*45:01:01+HLA-B*44:03:01

6 Limitations connues du produit pour HLA-C

6.1 Limitations spécifiques de Omixon HLA Twin

6.1.1 Limitations connues de l'algorithme de génotypage statistique

Erreurs d'appel communes de l'algorithme de génotypage statistique

En raison de la similarité des séquences d'exons de certaines paires d'allèles, l'algorithme de génotypage statistique rapporte des allèles erronés pour les groupes d'allèles suivants :

- C*04:01/C*04:09N
- C*07:02/C*07:01/C*07:18

7 Limitations connues du produit pour HLA-DPB1

7.1 Limitations spécifiques de Holotype HLA

7.1.1 Amplification faible ou défailante pour HLA-DPB1 en multiplex DP

Mode de défaillance	Version de test affectée
HLA-DPB1 affiche une faible amplification ou ne parvient pas à amplifier.	Holotype HLA v1 – 11 configurations de locus

7.1.2 Ambiguïtés cis/trans

Directives aux fins du rapport : Il appartient à chaque laboratoire de rapporter l'ambiguïté en utilisant des groupes G ou d'indiquer les paires d'allèles spécifiques qui sont ambiguës.

Allèles ambigus		Cause de l'ambiguïté	Différence entre 2 champs
DPB1*02:01:02+ DPB1*04:02:01	DPB1*105:01+ DPB1*416:01	Absence de phase entre exon 2, intron 2 (si applicable) et exon 3	OUI
DPB1*03:01:01+ DPB1*04:02:01	DPB1*351:01+ DPB1*463:01	Absence de phase entre les exons 2 et 3	OUI
DPB1*04:01:01+ DPB1*04:02:01	DPB1*105:01 / DPB1*665:01 + DPB1*126:01	Absence de phase entre les exons 2 et 3	OUI
DPB1*04:01:01+ DPB1*13:01:01 (DPB1*107:01)	DPB1*133:01+ DPB1*350:01	Absence de phase entre les exons 2 et 3	OUI
DPB1*04:01:01+ DPB1*14:01:01	DPB1*350:01+ DPB1*651:01	Absence de phase entre les exons 2 et 3	OUI
DPB1*04:02:01+ DPB1*17:01:01	DPB1*105:01+ DPB1*460:01	Absence de phase entre exon 2, intron 2 (si applicable) et exon 3	OUI
DPB1*04:01:01+ DPB1*463:01	DPB1*105:01+ DPB1*350:01	Absence de phase entre les exons 2 et 3	OUI

7.2 Limitations spécifiques de Omixon HLA Twin

7.2.1 Limitations connues de l'algorithme de génotypage consensus

Ambiguïté non rapportée

Résultat appelé par Twin	Résultat correct	Version(s) IMGT/HLA affectée(s)
DPB1*126:01+DPB1*665:01 DPB1*105:01+DPB1*126:01	DPB1*126:01+DPB1*665:01 DPB1*105:01+DPB1*126:01 DPB1*04:01+DPB1*04:02	v3.30.0_5, v3.31.0_5

8 Limitations connues du produit pour HLA-DQB1

8.1 Limitations spécifiques de Holotype HLA

8.1.1 Allèles susceptibles d'afficher une faible amplification

Une faible amplification signifie que le compte généré pour un allèle n'est pas suffisant pour un génotypage. Dans certains cas, il est possible que l'allèle ne soit pas du tout pris en compte (abandon).

Allèles de faible amplification	Compensation dans HLA Twin	Résolution de détection
DQB1*03	OUI	OUI ¹

¹ Suggestion basée sur un déséquilibre de liaison (LD) avec DQA1

9 Limitations connues du produit pour HLA-DRB1

9.1 Limitations technologiques

Un déséquilibre allélique modéré peut être observé pour les allèles dont les séquences sont notablement plus longues que la moyenne (p. ex., certains allèles HLA-DRB1*04). Dans quelques rares cas, un déséquilibre allélique élevé peut être observé. De temps à autres, des abandons d'allèles sont prévisibles.

9.2 Limitations spécifiques de Holotype HLA

9.2.1 Amplification non spécifique

Mode de défaillance	Effets possibles	Version(s) de test affectée(s)
Dans de rares cas, un amplicon supplémentaire peut être observé dans la seconde moitié du gène (de l'intron 4 jusqu'au 3'UTR).	Si l'amplicon non spécifique est présent uniquement pour l'un des allèles, de fausses discordances peuvent être rapportées pour l'intron 4.	v. 1

9.2.2 Faible amplification

Dans certains cas, un déséquilibre allélique modéré à élevé des allèles HLA-DRB1*07 peut être observé. Très rarement, des abandons d'allèles sont prévisibles.

9.3 Limitations spécifiques de Omixon HLA Twin

9.3.1 Limitations connues de l'algorithme de génotypage consensus

HLA-DRB1*12:01 ambiguïté ignorée

Résultat appelé par Twin	Résultat correct	Version(s) IMGT/HLA affectée(s)
DRB1*12:10	DRB1*12:10/DRB1*12:01:01	v3.29.0.1_5, v3.30.0_5, v3.31.0_5

9.3.2 Limitations connues de l'algorithme de génotypage statistique

Erreurs d'appel communes de l'algorithme de génotypage statistique

En raison de la similarité des séquences d'exons de certaines paires d'allèles, l'algorithme de génotypage statistique rapporte des allèles erronés ou, dans certains cas, ne rapporte pas d'ambiguïté inhérente pour les groupes d'allèles suivants :

- DRB1*08:01:01/DRB1*08:77
- DRB1*09:01:02/DRB1*09:31/DRB1*09:21
- DRB1*15:02:01/DRB1*15:140

10 Limitations connues du produit pour HLA-DRB3

10.1 Limitations spécifiques de Holotype HLA

10.1.1 Amplification non spécifique

Mode de défaillance	Effets possibles	Version(s) de test affectée(s)
Dans de rares cas, un amplicon supplémentaire peut être observé dans la seconde moitié du gène (de l'intron 4 jusqu'au 3'UTR).	Si l'amplicon non spécifique est présent uniquement pour l'un des allèles, de fausses discordances peuvent être rapportées pour l'intron 4.	v1

11 Limitations connues du produit pour HLA-DRB4

11.1 Limitations spécifiques de Holotype HLA

11.1.1 Allèles susceptibles d'afficher une faible amplification

Une faible amplification signifie que le compte généré pour un allèle n'est pas suffisant pour un génotypage. Dans des cas extrêmes, il est possible que l'allèle ne soit pas du tout pris en compte (abandon). Des abandons d'allèles ou une faible amplification ont fréquemment été observés pour HLA-DRB4*01:01. Dans de rares cas, des abandons d'allèles ont été rapportés pour des allèles HLA-DRB4*01:03. Dans les deux cas, la présence des allèles est suggérée sur la base d'un déséquilibre de liaison par Omixon HLA Twin.

11.1.2 Autres limitations relatives aux tests

Mesures de concentration fausses positives pour HLA-DRB4

De hautes concentrations en amplicon peuvent être observées dans certains échantillons, même dans le cas où :

- le sujet ne possède pas une copie du gène HLA-DRB4 ; ou,
- le sujet possède une ou deux copies du gène HLA-DRB4, mais l'amplification a échoué.

11.2 Limitations spécifiques de Omixon HLA Twin

11.2.1 Limitations connues de l'algorithme de génotypage consensus

Ambiguïté non rapportée

Résultat appelé par Twin	Résultat correct
DRB4*01:02N	DRB4*01:02N/DRB4*01:03N
DRB4*01:01:01:01	DRB4*01:01:01:01/DRB4*01:03N