



# Omixon Holotype HLA et Omixon HLA Twin

## Limitations connues du produit

Version 5

Publiée le 14/01/2019

## 1 Historique des révisions et modifications

| Version | Date de validation | Auteur         | Résumé des modifications   | Validé par  |
|---------|--------------------|----------------|--|---|
| v. 1    | 5 juil. 2017       | Krisztina Rigó | Limitations algorithmiques recueillies. Document fusionné avec le document des limitations spécifiques de Holotype HLA.  | Efithymia Melista, Zoltán Simon, Peter Meintjes, Gabriella Adlovits |
| v. 2    | 31 janv. 2018      | Krisztina Rigó | 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.<br>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.  | Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits             |
| v. 3    | 4 juil. 2018       | Krisztina Rigó | 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 à la base 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.   | Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits             |
| v. 4    | 19 oct. 2018       | Krisztina Rigó | 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.<br>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.<br>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.<br>Des exemples particuliers ont été supprimés pour les problèmes où la spécificité des allèles n'était pas démontrée.<br>Des limitations supplémentaires de l'algorithme de génotypage statistique ont été ajoutées. | Márton Pogány, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits                 |

| Version | Date de validation  | Auteur         | Résumé des modifications  | Validé par  |
|---------|---|----------------|---|---|
| v5      |  14 janv. 2019 | Krisztina Rigó | <p>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. 3.32.0. Les informations relatives aux versions de la base de données IMGT/HLA antérieures de 12+1 mois ont été supprimées.<br/>Version affectée : IMGT/HLA 3.29.0.1_5.</p> <p>Les paragraphes relatifs aux limitations des essais ont été développés avec la version suivante des essais :<br/>Holotype HLA v3.0. Le formatage a été modifié dans le paragraphe « Ambiguïtés affectant l'expression » et un nouveau cas a été ajouté.</p> <p>Un cas supplémentaire a été ajouté au paragraphe « Ambiguïtés cis/trans » sous HLA-DPB1.</p> <p>Ajout de modifications et mises à jour mineures supplémentaires.</p> | Efithymia Melista,<br>Gergely Tölgyesi,<br>Gabriella Adlovits |

## 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, 2.1 et 3.0 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 3.30.0\_5, 3.31.0\_5 et 3.32.0\_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 Omixon 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. 3.30.0_5<br>v. 3.31.0_5<br>v. 3.32.0_5 | 1 <sup>er</sup> champ | v. 1, v. 2.1, v. 3.0           |
| DPB1*105:01:01  | DPB1*665:01                | NON                    | v. 3.30.0_5<br>v. 3.31.0_5<br>v. 3.32.0_5 | 1 <sup>er</sup> champ | v. 1, v. 2.1, v. 3.0           |
| DQB1*06:01:01   | DQB1*06:01:15 <sup>1</sup> | NON                    | v. 3.30.0_5<br>v. 3.31.0_5<br>v. 3.32.0_5 | 3 <sup>e</sup> champ  | v. 1                           |
| DRB1*09:01:02   | DRB1*09:31                 | NON                    | v. 3.30.0_5<br>v. 3.31.0_5<br>v. 3.32.0_5 | 2 <sup>e</sup> champ  | v. 1, v. 2.1, v. 3.0           |
| DRB1*12:01:01   | DRB1*12:10                 | NON                    | v. 3.30.0_5<br>v. 3.31.0_5<br>v. 3.32.0_5 | 2 <sup>e</sup> champ  | v. 1, v. 2.1, v. 3.0           |
| DRB1*15:02:01   | DRB1*15:140                | NON                    | v. 3.30.0_5<br>v. 3.31.0_5<br>v. 3.32.0_5 | 2 <sup>e</sup> champ  | v. 1, v. 2.1, v. 3.0           |
| DRB1*15:02:01   | DRB1*15:149                | NON                    | v. 3.32.0_5                               | 2 <sup>e</sup> champ  | v. 1, v. 2.1, v. 3.0           |

<sup>1</sup> 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<sup>e</sup> champ.

Groupes d'allèles ambigus

- HLA-A\*02:01:01:01/HLA-A\*02:01:01:02L/HLA-A\*02:01:01:16
- HLA-B\*39:01:01:03/HLA-B\*39:01:01:02L/HLA-B\*39:01:01:05
- HLA-DQB1\*03:01:01:01/03:01:01:10/03:01:01:20/03:276N<sup>1</sup>

<sup>1</sup> L'ambiguïté est présente uniquement pour les analyses effectuées avec la base de données IMGT/HLA v. 3.32.0\_5 ou supérieure avec la version d'essai Holotype HLA v. 1, lorsque le jeu d'amorces 1 défini n'est pas utilisé ou possède une faible amplification.

### 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

### 3.2.1 Limitations connues de l'algorithme de génotypage consensus

#### 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.

#### Fausse 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.

#### Indels de nouveauté longue manqués

Dans des cas extrêmement rares, les insertions ou délétions de nouveauté longue ne sont pas rapportées par Omixon HLA Twin.

#### 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.

#### Phasage incorrect

Dans de rares cas, 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.

#### 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.

#### 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,<br>Twin 2.5.1          |

Aucun résultat rapporté malgré la génération réussie d'un consensus  
 (Version corrigée : Omixon HLA Twin 3.1.1)

| Mode de défaillance  | Version corrigée | Version(s) du logiciel affectée(s)                    |
|--|------------------|---|
| Dans quelques rares cas, aucun appel d'allèle n'est rapporté même lorsqu'une séquence consensus a été générée avec succès. | Twin 3.1.1       | Twin 2.5.0,<br>Twin 2.5.1<br>Twin 3.0.0<br>Twin 3.1.0 |

### 3.2.2 Limitations connues de l'algorithme de génotypage statistique

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

Séquence consensus incorrecte due à la détection inefficace d'un mappage croisé

- Dans quelques rares cas, des résultats ambigus sont rapportés, dus à la perte partielle de consensus au début du consensus.
- Rarement, de fausses nouveautés sont rapportées dues à une séquence consensus incorrecte vers le début du consensus.

#### 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                     |
|--|--|
| Dans certains cas, 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                          |   |
|--|---|---|
| DPB1*02:01:02+<br>DPB1*04:02:01                  | DPB1*105:01+<br>DPB1*416:01                   | Absence de phase entre exon 2, intron 2 (si applicable) et exon 3 |
| DPB1*03:01:01+<br>DPB1*04:02:01                  | DPB1*351:01+<br>DPB1*463:01                   | Absence de phase entre les exons 2 et 3                           |
| DPB1*04:01:01+<br>DPB1*04:02:01                  | DPB1*105:01 /<br>DPB1*665:01 +<br>DPB1*126:01 | Absence de phase entre les exons 2 et 3                           |
| DPB1*04:01:01+<br>DPB1*13:01:01<br>(DPB1*107:01) | DPB1*133:01+<br>DPB1*350:01                   | Absence de phase entre les exons 2 et 3                           |
| DPB1*04:01:01+<br>DPB1*14:01:01                  | DPB1*350:01+<br>DPB1*651:01                   | Absence de phase entre les exons 2 et 3                           |
| DPB1*04:02:01+<br>DPB1*17:01:01                  | DPB1*105:01+<br>DPB1*460:01                   | Absence de phase entre exon 2, intron 2 (si applicable) et exon 3 |
| DPB1*04:01:01+<br>DPB1*463:01                    | DPB1*105:01+<br>DPB1*350:01                   | Absence de phase entre les exons 2 et 3                           |
| DPB1*05:01+<br>DPB1*13:01                        | DPB1*135:01+<br>DPB1*519:01                   | Absence de phase entre les exons 2 et 4                           |

### 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   |
|--|--|
| DPB1*126:01+DPB1*665:01  <br>DPB1*105:01+DPB1*126:01 | DPB1*126:01+DPB1*665:01  <br>DPB1*105:01+DPB1*126:01  <br><b>DPB1*04:01+DPB1*04:02</b> |

## 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 <sup>1</sup>        |

<sup>1</sup> Suggestion basée sur un déséquilibre de liaison (LD) avec DQA1

#### 8.1.2 Faible amplification des amorces Holotype HLA v1 set 1

Dans quelques cas, l'amplicon produit par les amorces Holotype HLA v1 set 1 affiche une faible amplification.

## 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

L'ambiguïté HLA-DRB1\*12:01 est manquée dans certains cas

| Résultat appelé par Twin | Résultat correct         |
|--------------------------|--------------------------|
| DRB1*12:10               | DRB1*12:10/DRB1*12:01:01 |

### 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\*04:07:01/DRB1\*04:92
- 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. | v. 1                           |

## 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 |