



# Omixon Holotype HLA and Omixon HLA Twin

## Kendte produktbegrænsninger

Version 7

Published on 06/04/2019

## 1 Dokumentets omfang

Formålet med dette dokument er at give en omfattende liste over kendte produktbegrænsninger for Holotype HLA og Omixon HLA Twin. Den aktuelle version af dette dokument er sammensat af Holotype HLA version 1, 2.1 og 3.0 og Omixon HLA Twin version 2.5.1 (CE&RUO), 3.0.0 (RUO), 3.1.0 (RUO), 3.1.1 (CE&RUO) og 3.1.3 (RUO) med IMGT/HLA version 3.32.0\_5, 3.32.0\_7, 3.33.0\_7, 3.34.0\_8 og 3.35.0\_8. Medmindre andet er angivet, berører de anførte begrænsninger alle analyse-, software- og databaseversioner, som er omfattet af dette dokument.

En oversigt over tidligere versioner af og ændringer i dette dokument kan findes i afsnittet "Revisions- og ændringshistorik".

## 2 Oversigt over kendte produktbegrænsninger

### 2.1 Holotype HLA-specifikke begrænsninger

#### 2.1.1 Holotype HLA-specifikke ambiguiteter

Dette afsnit indeholder ambiguiteter, som skyldes Omixon Holotype HLA-analysens design og de teknologiske begrænsninger ved NGS (dvs. placering og rækkefølge af primersites og den fragmentstørrelsesfordeling, som produceres af den størrelsesvalgmetode, der anvendes i protokollen). Disse ambiguiteter kan ikke løses, og de præsenteres af alle softwareversioner.

Der blev oprettet en multisekvensalignment for hvert locus med alle allelsekvenser og Holotype-primærsekvenserne. Derefter blev denne alignment trimmet til målregionen (dvs. primersitene og alle positioner uden for primersitene blev trimmet). De resulterende sekvenser blev derefter kontrolleret for nøjagtige duplikater og undersekvensrelationer, og alle ambiguiteter på tre-felts- eller lavere opløsning eller ved enhver opløsning, som berører alleler med ikke-standardiserede ekspressionsniveauer, blev indsamlet.

#### 2.1.2 Ambiguiteter i første, andet og tredje felt

**Retningslinjer for rapportering:** Rapportér som ambiguitet

Ambiguiteter, som berører alle Holotype HLA-versioner

Alleler med ambiguitet		Berørt(e) IMGT/HLA-version(er)	Ambiguitetsgrad
DPB1*13:01:01	DPB1*107:01	Alle <sup>1</sup>	1. felt
DPB1*105:01:01	DPB1*665:01	Alle <sup>1</sup>	1. felt
DPB1*584:01:01	DPB1*584:01:02	v3.35.0_8	3. felt
DRB1*03:01:01	DRB1*03:147	v3.34.0_8 v3.35.0_8	2. felt
DRB1*09:01:02	DRB1*09:31	Alle <sup>1</sup>	2. felt
DRB1*09:21	DRB1*09:31	Alle <sup>1</sup>	2. felt
DRB1*12:01:01	DRB1*12:10	Alle <sup>1</sup>	2. felt

Alleler med ambiguitet		Berørt(e) IMGT/HLA-version(er)	Ambiguitetsgrad
DRB1*15:02:01	DRB1*15:140/ DRB1*15:149	Alle <sup>1</sup>	2. felt/ 2. felt

<sup>1</sup> Alle: Alle databaseversioner, som er omfattet af dette dokument, er berørt.

### Ambiguiteter, som kun berører Holotype HLA v1

Disse ambiguiteter kan løses, når DQB1 set 1-primere anvendes.

Alleler med ambiguitet		Berørt(e) IMGT/HLA-version(er)	Ambiguitetsgrad
DQB1*02:02:01	DQB1*02:02:06	v3.34.0_8 v3.35.0_8	3. felt
DQB1*03:01:01	DQB1*03:297/ DQB1*03:01:41	v3.33.0_7 v3.34.0_8 v3.35.0_8	2. felt/ 3. felt
DQB1*03:01:01	DQB1*03:01:43	v3.35.0_8	3. felt
DQB1*03:02:01	DQB1*03:289	v3.34.0_8 v3.35.0_8	2. felt
DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:15	Alle <sup>1</sup>	3. felt

<sup>1</sup> Alle: Alle databaseversioner, som er omfattet af dette dokument, er berørt.

### 2.1.3 Ambiguiteter, som berører ekspresion

**Retningslinjer for rapportering:** Svagt eksprimerende alleler rapporteres som resultat for 2. felt

#### Allelgrupper med ambiguitet

- HLA-A\*02:01:01:01/**02:01:01:02L**/02:01:01:16/02:01:01:50
- HLA-B\*39:01:01:03/**39:01:01:02L**/39:01:01:05/39:01:01:09
- HLA-DQB1\*03:01:01:01/03:01:01:10/03:01:01:20/03:01:01:41/03:01:43/**03:276N<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ambiguitet er til stede med IMGT/HLA 3.32.0\_5-analyse version v2 og v3, men berører ikke IMGT/HLA-databaser v3.33.0 og derover. Holotype HLA v1 er berørt med alle databaseversioner over 3.31.0.

### 2.1.4 Cis/Trans-ambiguiteter

Cis/Trans-ambiguiteter (dvs. meldinger med ambiguitet, hvor de forskellige allelpar kun adskiller sig i cis/trans-fasningen) kan have flere årsager. De fleste af disse ambiguiteter rapporteres på grund af begrænsninger i teknologien og IMGT/HLA-databasen.

**Retningslinjer for rapportering:** Det er op til det enkelte laboratorium, om man vil rapportere ambiguiteten ved hjælp af G-grupperne, eller om man vil rapportere specifikke allelpar med ambiguitet.

## 2.2 Liste over kendte begrænsninger for Omixon HLA Twin

### 2.2.1 Kendte begrænsninger for konsensusgenotypebestemmelsesalgoritmen

## Introduktion

Alle nedenstående begrænsninger er baseret på observationer, som er rapporteret af Holotype HLA-kunder eller foretaget under intern validering og regressionstest. Bemærk, at disse observationer før udgangen af 2018 er gjort på næsten 100.000 prøver af Holotype HLA-kit, som er solgt over hele verden.

### Falsk nyhed meldt

HLA Twin kan i sjældne tilfælde rapportere falske nyheder til slutbrugeren. Bemærk, at de fleste af disse nyheder kan elimineres ved manuel inspektion af resultaterne i Omixon HLA Twin udført af en trænet bruger.

### 2.2.2 Ambiguitet rapporteres ikke for nye alleler

Designet er således, at kun et enkelt nyt allel rapporteres af konsensusgenotypebestemmelsesalgoritmen. I meget sjældne tilfælde kan flere lige sandsynlige nye alleler identificeres, men kun én af mulighederne meldes af algoritmen.

### Nye insertioner/deletioner udeladt

Ekstremt sjældent rapporteres nye insertioner eller deletioner ikke af Omixon HLA Twin.

### Forkert fasning

I sjældne tilfælde er konsensussekvenserne blevet faset forkert.

#### Identifikation af forkert fasede konsensussekvenser

Der kan være mistanke om forkert cis/trans-fasning, hvis et eller flere af følgende karakteristika observeres:

- To nye alleler rapporteres inden for et enkelt bedste match-par.
- Et nyt allel og et delvist defineret allel rapporteres.
- Et eller to sjældne alleler rapporteres.
- Der er flere nye positioner.

Hvis der er mistanke om forkert fasning, rådes brugeren til at kontrollere resultaterne af den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme.

### Cis/trans-ambiguitet på grund af ineffektiv fasning

I nogle sjældne tilfælde rapporteres der ambiguiteter på andet- og tredjefeltniveau på grund af ineffektiv fasning. I disse tilfælde foreslås reanalyse med flere aflæsninger af de berørte loci.

### Forkert QC-resultat rapporteret

Fejlmodus	Rettet version	Berørte softwareversion(er)
Støjforholdsværdier tildeles til forkerte konsensuspositioner	Twin 3.0.0	Twin 2.5.1

### 2.2.3 Intet resultat rapporteret trods vellykket konsensusgenerering (rettet version: Omixon HLA Twin 3.1.1)



<b>Fejlmodus</b>	<b>Rettet version</b>	<b>Berørte softwareversion(er)</b>
I nogle sjældne tilfælde rapporteres der ikke noget allelkald, selvom der blev genereret en konsensussekvens	Twin 3.1.1	Twin 2.5.1 Twin 3.0.0 Twin 3.1.0

## 2.2.4 Kendte begrænsninger for den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme

Nogle exoniske sekvenser bestemt forkert i analyser kun med exoner (rettet version: Omixon HLA Twin 3.1.0)

Fejlmodus	Rettet version	Berørt softwareversion
På grund af nogle inkonsekvenser i IMGT/HLA-databasen og den IMGT/HLA-databasehåndteringsmetode, der blev introduceret i Twin 3.1.0, blev nogle regionssekvenser bestemt forkert for analyser kun med exoner.	Twin 3.1.0	Twin 3.0.0

## 3 Kendte produktbegrænsninger for HLA-A

### 3.1 Omixon HLA Twin-specifikke begrænsninger

#### 3.1.1 Kendte begrænsninger for den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme

Kendte forkerte meldinger af den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme

På grund af ligheden af exonsekvenserne i nogle af allelparrene rapporterer den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme i nogle tilfælde alleler for følgende allelgrupper forkert:

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

## 4 Kendte produktbegrænsninger for HLA-B

### 4.1 Holotype HLA-specifikke begrænsninger

#### 4.1.1 Alleler, som kan vise lav amplificering

Lav amplificering betyder, at den genererede tæller aflæsning for et allel ikke er tilstrækkelig til genotypebestemmelse. I ekstreme tilfælde bliver allelet måske slet ikke rapporteret (dropout).

Alleler med lav amplificering	Kompensation i HLA Twin	Påvisningsopløsning
B*51:01:02	JA	JA

### 4.2 Omixon HLA Twin-specifikke begrænsninger

#### 4.2.1 Kendte begrænsninger for konsensusgenotypebestemmelsesalgoritmen

Forkert konsensussekvens på grund af ineffektiv registrering af krydsmapning

- I nogle sjældne tilfælde rapporteres der resultater med ambiguiteter på grund af delvist tab af konsensus ved start af konsensus.
- Der rapporteres i sjældne tilfælde falske nyheder på grund af en forkert konsensussekvens nær ved start af konsensus.

HLA-B\*15:01 meldt forkert

I sjældne tilfælde kan alleler fra følgende allelgruppe blive meldt forkert, og aminosyreoplysningerne kan være forkerte på grund af inkonsekvenser i databasen:

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

## 4.2.2 Kendte begrænsninger for den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme

Nogle HLA-B-alleler meldes forkert på grund af tilstedeværelse af en identisk exon-sekvens i HLA-C

En gruppe HLA-B-alleler (flere HLA-B\*44-alleler og HLA-B\*47:04) har en exon 2-sekvens, som er identisk med HLA-C\*16:85. På grund af denne lighed kan disse alleler meldes forkert af den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme.

## 5 Kendte produktbegrænsninger for HLA-C

### 5.1 Omixon HLA Twin-specifikke begrænsninger

#### 5.1.1 Kendte begrænsninger for den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme

Almindelige forkerte meldinger af den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme

På grund af ligheden af exonsekvenserne i nogle af allelparrene rapporterer den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme i nogle tilfælde alleler for følgende allelgrupper forkert:

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

## 6 Kendte produktbegrænsninger for HLA-DPB1

### 6.1 Holotype HLA-specifikke begrænsninger

#### 6.1.1 Lav eller mislykket amplificering for HLA-DPB1 i DP-multiplex

Fejlmodus	Berørt analyseversion
I nogle tilfælde viser HLA-DPB1 lav amplificering eller amplificeres ikke	Holotype HLA v1 – 11 locuskonfiguration

### 6.2 Omixon HLA Twin-specifikke begrænsninger

#### 6.2.1 Kendte begrænsninger for konsensusgenotypebestemmelsesalgoritmen

Ambiguitet ikke rapporteret

I sjældne tilfælde rapporteres G-gruppe-cis/trans-ambiguiteter ikke.

## 7 Kendte produktbegrænsninger for HLA-DQB1

### 7.1 Holotype HLA-specifikke begrænsninger

#### 7.1.1 Alleler, som kan vise lav amplificering

Lav amplificering betyder, at den genererede tæller aflæsning for et allel ikke er tilstrækkelig til genotypebestemmelse. I nogle tilfælde bliver allelet måske slet ikke rapporteret (dropout).

Alleler med lav amplificering	Kompensation i HLA Twin	Påvisningsopløsning
DQB1*03	JA	JA <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Forslag baseret på koblingsuligevægt (LD) med DQA1

#### 7.1.2 Alleler, som ikke amplificeres

DQB1\*03:276N – på grund af en lang deletion, som dækker 5' amplificeringsprimersitet, amplificeres dette allel ikke.

#### 7.1.3 Lav amplificering for set 1-primere for Holotype HLA v1

I nogle tilfælde viser det amplikon, der produceres af set 1-primere for Holotype HLA v1, lav amplificering.

## 8 Kendte produktbegrænsninger for HLA-DRB1

### 8.1 Teknologiske begrænsninger

Der kan observeres moderat allelubalance for alleler med signifikant længere sekvenser end gennemsnittet (f.eks. nogle HLA-DRB1\*04-alleler). I sjældne tilfælde kan der observeres høj allelubalance. Der kan forventes sporadiske alleldropouts.

### 8.2 Holotype HLA-specifikke begrænsninger

#### 8.2.1 Non-specifik amplificering

Fejlmodus	Mulige virkninger	Berørte analyseversion(er)
I sjældne tilfælde kan der observeres et yderligere amplikon i anden halvdel af genet (fra intron 4 til og med 3'UTR).	Hvis det aspecifikke amplikon kun er til stede for et af allelerne, kan der rapporteres falske uoverensstemmelser for intron 4.	v1

#### 8.2.2 Lav amplificering

Der kan i nogle tilfælde observeres moderat til høj allelubalance for HLA-DRB1\*07-alleler. Der kan i meget sjældne tilfælde forventes alleldropouts.

### 8.3 Omixon HLA Twin-specifikke begrænsninger



### 8.3.1 Kendte begrænsninger for konsensusgenotypebestemmelsesalgoritmen

HLA-DRB1\*12:01-ambiguitet udelades i nogle tilfælde

Resultat meldt af Twin	Korrekt resultat
DRB1*12:10	DRB1*12:10/ <b>DRB1*12:01:01</b>

### 8.3.2 Kendte begrænsninger for den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme

Almindelige forkerte meldinger af den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme

På grund af ligheden af exonsekvenserne i nogle af allelparrerne rapporterer den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme i nogle tilfælde alleler forkert eller rapporterer slet ikke ambiguiteter for følgende allelgrupper:

- 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

## 9 Kendte produktbegrænsninger for HLA-DRB3

### 9.1 Holotype HLA-specifikke begrænsninger

#### 9.1.1 Non-specifik amplificering

Fejlmodus	Mulige virkninger	Berørte analyseversion(er)
I sjældne tilfælde kan der observeres et yderligere amplikon i anden halvdel af genet (fra intron 4 til og med 3'UTR).	Hvis det aspecifikke amplikon kun er til stede for et af allelerne, kan der rapporteres falske uoverensstemmelser for intron 4.	v1

## 10 Kendte produktbegrænsninger for HLA-DRB4

### 10.1 Holotype HLA-specifikke begrænsninger

#### 10.1.1 Alleler, som kan vise lav amplificering

Lav amplificering betyder, at den genererede tælleraflæsning for et allel ikke er tilstrækkelig til genotypebestemmelse. I ekstreme tilfælde bliver allelet måske slet ikke rapporteret (dropout). Der er ofte observeret lav amplificering og alleldropouts for HLA-DRB4\*01:01. I sjældne tilfælde er der rapporteret alleldropouts for HLA-DRB4\*01:03-alleler. I begge tilfælde foreslås tilstedeværelse af allelet ud fra koblingsuligevægt af Omixon HLA Twin.

#### 10.1.2 Andre analyserelaterede begrænsninger

Falsk positive koncentrationsmålinger for HLA-DRB4



Der kan observeres høje amplikonkoncentrationer i nogle prøver, selvom:

- personen ikke har en kopi af HLA-DRB4-genet eller
- personen ikke har en eller to kopier af HLA-DRB4-genet, men amplificeringen ikke lykkedes.

## 10.2 Omixon HLA Twin-specifikke begrænsninger

### 10.2.1 Kendte begrænsninger for konsensusgenotypebestemmelsesalgoritmen

Ambiguitet ikke rapporteret

Resultat meldt af Twin	Korrekt resultat
DRB4*01:02N	DRB4*01:02N/DRB4*01:03N
DRB4*01:01:01:01	DRB4*01:01:01:01/DRB4*01:03N

## 11 Revisions- og ændringshistorik

Version	Godkendelsesdato	Forfatter	Resumé af ændringer	Godkendt af
v1	05-jul-2017	Krisztina Rigó	Algoritmiske begrænsninger indsamlet. Dokument lagt sammen med Holotype HLA-specifikt begrænsningsdokument.	Efithymia Melista, Zoltán Simon, Peter Meintjes, Gabriella Adlovits
v2	31-jan-2018	Krisztina Rigó	Begrænsninger vedrørende IMGT/HLA-databasen blev opdateret for at svare til IMGT/HLA v3.28.0 og v3.29.0.1. Softwarebegrænsningsafsnit er udvidet, så det svarer til følgende softwareversioner: Twin 2.1.3, Twin 2.1.4 og Twin 2.5.0.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v3	04-jul-2018	Krisztina Rigó	Yderligere fasningsrelaterede tilfælde er tilføjet. En kort vejledning i identifikation af forkert fasnin er tilføjet. Begrænsninger vedrørende IMGT/HLA-databasen blev opdateret for at svare til IMGT/HLA v3.30.0. Softwarebegrænsningsafsnit er udvidet, så det svarer til følgende softwareversioner: Twin 2.5.1 og Twin 3.0.0.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v4	19-okt-2018	Krisztina Rigó	Begrænsninger vedrørende IMGT/HLA-databasen blev opdateret for at svare til IMGT/HLA v3.31.0. Softwarebegrænsningsafsnit er udvidet, så det svarer til følgende softwareversioner: Twin 3.1.0 og Twin 3.1.1. Oplysninger vedrørende software- og IMGT/HLA-versioner, som er mere end 12+1 måned gamle, er fjernet. Berørte versioner: Omixon HLA Twin 2.1.3 og 2.1.4, IMGT/HLA 3.28.0_4. Specifikke eksempler er fjernet, hvor allelspecificitet ikke kunne dokumenteres. Yderligere begrænsninger for den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme er tilføjet.	Márton Pogány, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits

Version	Godkendelsesdato	Forfatter	Resumé af ændringer	Godkendt af
v5	14-jan-2019	Krisztina Rigó	<p>Begrænsninger vedrørende IMGT/HLA-databasen blev opdateret for at svare til IMGT/HLA v3.32.0.</p> <p>Oplysninger vedrørende IMGT/HLA-versioner, som er mere end 12+1 måned gamle, er fjernet. Berørt version: IMGT/HLA 3.29.0.1_5.</p> <p>Afsnittene om analysebegrænsning blev udvidet med følgende analyseversion: Holotype HLA v3.0.</p> <p>Formateringen er ændret i afsnittet "Ambiguiteter, som berører ekspression", og der blev tilføjet et nyt tilfælde.</p> <p>Der blev tilføjet endnu et tilfælde i afsnittet "Cis/Trans-ambiguiteter" for HLA-DPB1.</p> <p>Yderligere mindre ændringer og opdateringer.</p>	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v6	26-mar-2019	Krisztina Rigó	<p>Begrænsninger vedrørende IMGT/HLA-databasen blev opdateret for at svare til IMGT/HLA v3.32.0_7, v3.33.0_7 og v3.34.0_8.</p> <p>Softwarebegrænsningsafsnit er udvidet, så det svarer til følgende softwareversion: Twin 3.1.3.</p> <p>Oplysninger vedrørende software- og IMGT/HLA-versioner, som er mere end 12+1 måned gamle, er fjernet. Berørte versioner: Omixon HLA Twin 2.5.0, IMGT/HLA v3.30.0_5 og v3.31.0_5.</p> <p>Produktversioner, som er berørt af DQB1*03:276N-ambiguiteten, er rettet og opdateret.</p> <p>Specifikke eksempler er fjernet fra afsnittet om HLA-DPB1 Cis/Trans-ambiguiteter.</p> <p>Yderligere mindre ændringer og opdateringer.</p>	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v7	26-apr-2019	Krisztina Rigó	<p>Begrænsninger vedrørende IMGT/HLA-databasen blev opdateret for at svare til IMGT/HLA 3.35.0_8.</p> <p>En begrænsning i den statistiske genotypebestemmelsesalgoritme, som skyldes identiske regionssekvenser på forskellige loci, er opdateret.</p> <p>En begrænsning i konsensusgenotypebestemmelsesalgoritmen vedrørende nye insertioner/deletioner er opdateret.</p> <p>Afsnittet "Ambiguiteter i første, andet og tredje felt" er omorganiseret.</p>	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits