



# Omixon Holotype HLA and Omixon HLA Twin

## Limitaciones conocidas del producto

Version 8  
Published on 08/26/2019



## 1 Alcance de este documento

El objetivo de este documento es proporcionar una lista detallada de las limitaciones conocidas del producto Holotype HLA y Omixon HLA Twin. La versión actual de este documento se confeccionó en virtud de Holotype HLA versiones 1, 2.1 y 3.0 y Omixon HLA Twin versiones 3.0.0 (RUO), 3.1.0 (RUO), 3.1.1 (CE&RUO) y 3.1.3 (RUO) con IMGT/HLA versiones 3.33.0\_7, 3.34.0\_8, 3.35.0\_8 y 3.36.0\_8. Salvo que se especifique lo contrario, las limitaciones enumeradas afectan a todas las versiones de ensayos, software y bases de datos dentro del alcance de este documento.

Para obtener una descripción general de las versiones y los cambios anteriores de este documento, consulte la sección "Revisión e historial de cambios".

## 2 Descripción de las limitaciones conocidas del producto

### 2.1 Limitaciones específicas de Holotype HLA

#### 2.1.1 Ambigüedades específicas de Holotype HLA

En esta sección se presentan las ambigüedades causadas por el diseño del ensayo Omixon Holotype HLA y las limitaciones tecnológicas de NGS (es decir, la ubicación y la secuencia de sitios de inicio y la distribución del tamaño de fragmentos producida por el método usado en el protocolo). Esas ambigüedades no se pueden resolver y se presentan en todas las versiones del software.

Se creó una alineación de secuencias múltiples para cada locus que contenía todas las secuencias de alelos y las secuencias de inicio de Holotype. A continuación, se cortó dicha alineación en virtud de la región meta (es decir, se cortaron los sitios de iniciación y las posiciones fuera de los sitios de iniciación). Se verificaron las secuencias resultantes en busca de duplicados y se recopilaron las relaciones subsecuentes y todas las ambigüedades en los tres campos o resolución inferior o en cualquier resolución que afectara los alelos con niveles de expresión no estándares.

#### 2.1.2 Ambigüedades del primero, segundo y tercer campo

**Lineamientos para la confección del informe:** Informar como ambiguo

Ambigüedades que afectan a todas las versiones de Holotype HLA

Alelos ambiguos		Versiones de IMGT/HLA afectadas	Nivel de ambigüedad
DPB1*13:01:01	DPB1*107:01	Todas <sup>1</sup>	1.er campo
DPB1*105:01:01	DPB1*665:01	Todas <sup>1</sup>	1.er campo
DPB1*584:01:01	DPB1*584:01:02	v3.35.0_8 v3.36.0_8	3.er campo
DRB1*01:01:01	DRB1*01:100	v3.36.0_8	2.do campo
DRB1*03:01:01	DRB1*03:147	v3.34.0_8 v3.35.0_8 v3.36.0_8	2.do campo

Alelos ambiguos		Versiones de IMGT/HLA afectadas	Nivel de ambigüedad
DRB1*09:01:02	DRB1*09:31	Todas <sup>1</sup>	2.do campo
DRB1*09:21	DRB1*09:31	Todas <sup>1</sup>	2.do campo
DRB1*12:01:01	DRB1*12:10	Todas <sup>1</sup>	2.do campo
DRB1*15:02:01	DRB1*15:140/ DRB1*15:149	Todas <sup>1</sup>	2.do campo/ 2.do campo

<sup>1</sup> Todas: Se ven afectadas todas las versiones de la base de datos que están dentro del alcance de este documento.

### Ambigüedades que afectan únicamente a Holotype HLA v1

Estas ambigüedades se pueden resolver con el uso de los cebadores del grupo 1 de DQB1.

Alelos ambiguos		Versiones de IMGT/HLA afectadas	Nivel de ambigüedad
DQB1*02:02:01	DQB1*02:02:06	v3.34.0_8 v3.35.0_8 v3.36.0_8	3.er campo
DQB1*03:01:01	DQB1*03:297/ DQB1*03:01:41	Todas <sup>1</sup>	2.do campo/ 3.er campo
DQB1*03:01:01	DQB1*03:01:43	v3.35.0_8 v3.36.0_8	3.er campo
DQB1*03:02:01	DQB1*03:289	v3.34.0_8 v3.35.0_8 v3.36.0_8	2.do campo
DQB1*05:01:01	DQB1*05:01:33	v3.36.0_8	3.er campo
DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:15	Todas <sup>1</sup>	3.er campo

<sup>1</sup> Todas: Se ven afectadas todas las versiones de la base de datos que están dentro del alcance de este documento.

### 2.1.3 Ambigüedades que afectan la expresión

**Lineamientos para la confección del informe:** Los alelos de expresión baja se informan como resultados de segundo campo

#### Grupos de alelos ambiguos

- 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\*03:01:01:03:19:01/03:01:41/03:01:43/**03:276N<sup>1</sup>/03:358N<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> La ambigüedad está presente con las versiones de ensayo v2 y v3 de IMGT/HLA 3.32.0\_5, pero no afecta a las bases de datos IMGT/HLA v3.33.0 y versiones posteriores. Holotype HLA v1 se ve afectado por todas las versiones de bases de datos posteriores a 3.31.0.

<sup>2</sup> La ambigüedad está presente con IMGT/HLA 3.36.0\_8 y versiones posteriores. HLA-DQB1\*03:358N contiene una eliminación en el exón 3 que ocasiona un desplazamiento del marco de lectura y una parada prematura en el



codón 191 (fuente: <http://hla.alleles.org/alleles/nulls.html>, fecha de acceso: 16-Jul-2019). Hasta el 16 de julio de 2019, un único laboratorio ha observado este alelo en dos muestras biológicas con un origen étnico desconocido. En el momento en el que se redactó este documento no había información de dominio público sobre las secuencias de origen de este alelo. Con arreglo a la información disponible en IMGT/HLA 3.36.0, este alelo no se puede distinguir de los otros alelos que se enumeran en los grupos de alelos ambiguos. Tenga en cuenta que no todos los alelos enumerados se declararon ambiguos en todos los casos.

## 2.1.4 Ambigüedades Cis/Trans

Las ambigüedades Cis/Trans (es decir, alelos ambiguos donde los distintos pares de alelos solo difieren en las fases cis/trans) pueden tener diversas causas. La mayoría de esas ambigüedades se informan debido a limitaciones de la tecnología y la base de datos IMGT/HLA.

**Lineamientos para la confección del informe:** Es decisión de cada laboratorio si se informa la ambigüedad de los grupos G o se informan los pares de alelos específicos que son ambiguos.

## 2.2 Lista de limitaciones conocidas de Omixon HLA Twin

### 2.2.1 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación de consenso

#### Introducción

Todas las limitaciones enumeradas a continuación se basan en las observaciones informadas por los clientes de Holotype HLA o detectadas durante la validación interna y las pruebas de regresión. Tenga en cuenta que antes de finalizar el año 2018, se detectaron estas observaciones en más de 100 000 muestras de kits de Holotype HLA vendidos en todo el mundo.

#### Falso gen nuevo informado

En casos excepcionales, HLA Twin puede informar al usuario final de genes nuevos falsos. Tenga en cuenta que la gran mayoría de estos genes nuevos falsos pueden ser eliminados mediante la inspección manual de los resultados en Omixon HLA Twin por parte de un usuario capacitado.

### 2.2.2 Ambigüedad no informada para alelos nuevos

Por diseño, el algoritmo de genotipificación de consenso únicamente informa de un único alelo nuevo. En algunos casos excepcionales, es posible identificar varios posibles alelos nuevos, pero el algoritmo solo informa de una de estas opciones.

#### Inserciones/eliminaciones (indels) de genes nuevos no informadas

En casos sumamente raros, Omixon HLA Twin no informa de las inserciones o eliminaciones de genes nuevos.

#### Distinción de fases incorrecta

En casos excepcionales, las secuencias de consenso se han distinguido de manera incorrecta.

#### Identificación incorrecta de fases de secuencias de consenso

Se puede sospechar que existe una distinción de fases cis/trans incorrecta si se observa una o más de las siguientes características:

- Se informa de dos alelos nuevos dentro de un solo par de máxima coincidencia.
- Se informa de un alelo nuevo y un alelo parcialmente definido.

- Se informa de uno o dos alelos raros.
- Hay varias posiciones nuevas.

Si se sospecha de una identificación de fases incorrecta, es aconsejable que el usuario inspeccione los resultados del algoritmo de genotipificación estadístico.

### Ambigüedad Cis/trans debido a separación en fases deficiente

En algunos casos excepcionales, se informa de ambigüedades de segundo o tercer nivel de campo debido a la existencia de una identificación de fases ineficiente. En estos casos, se recomienda volver a hacer el análisis de los loci afectados con más lecturas.

### 2.2.3 No se ha informado de ningún resultado a pesar de la generación correcta de consenso (Versión de solución: Omixon HLA Twin 3.1.1)

Modo de falla	Versión de solución	Versiones afectadas del software
En algunos casos excepcionales, no se informa de alelos incluso aunque se haya generado correctamente una secuencia de consenso	Twin 3.1.1	Twin 3.0.0 Twin 3.1.0

### 2.2.4 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación estadístico

Algunas secuencias de exones se determinan de manera incorrecta en los análisis de solo exones (Versión de solución: Omixon HLA Twin 3.1.0)

Modo de falla	Versión de solución	Versión afectada del software
Debido a la existencia de algunas incoherencias en la base de datos de IMGT/HLA y en el método de manejo de la base de datos de IMGT/HLA introducido en Twin 3.1.0, algunas secuencias de regiones se determinaron de manera incorrecta en los análisis de solo exones.	Twin 3.1.0	Twin 3.0.0

## 3 Limitaciones conocidas de HLA-A

### 3.1 Limitaciones específicas de Omixon HLA Twin

#### 3.1.1 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación estadístico

Alelos no informados conocidos del algoritmo de genotipificación estadístico

Debido a la similitud de las secuencias de exones de algunos pares de alelos, el algoritmo de genotipificación estadístico informa de alelos incorrectos en algunos casos en los siguientes grupos de alelos:

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

## 4 Limitaciones conocidas de HLA-B

### 4.1 Limitaciones específicas de Holotype HLA



#### 4.1.1 Alelos que pueden presentar amplificación baja

La amplificación baja significa que el conteo leído generado para un alelo no es suficiente para la genotipificación. En casos extremos, es probable que el alelo no se informe en absoluto (omisión).

Alelos de amplificación baja	Compensación en HLA Twin	Resolución de detección
B*51:01:02	Sí	Sí

### 4.2 Limitaciones específicas de Omixon HLA Twin

#### 4.2.1 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación de consenso

Secuencia de consenso incorrecta debido a una detección deficiente de la asignación cruzada.

- En algunos casos excepcionales, se informa de resultados ambiguos debido a una pérdida parcial del consenso en el inicio del consenso.
- En casos excepcionales, se informa de genes nuevos falsos debido a una secuencia de consenso incorrecta cerca del inicio del consenso.

#### HLA-B\*15:01 mal informado

En algunos casos excepcionales, se puede informar mal de alelos que pertenecen al siguiente grupo de alelos y la información sobre los aminoácidos puede ser incorrecta debido a incoherencias en la base de datos:

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

#### 4.2.2 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación estadístico

Se informa incorrectamente de algunos alelos HLA-B debido a la presencia de una secuencia de exón idéntica en HLA-C.

Un grupo de alelos HLA-B (varios alelos HLA-B\*44 y HLA-B\*47:04) tienen una secuencia de exón 2 idéntica a HLA-C\*16:85. Debido a esta similitud, es posible que el algoritmo de genotipificación estadístico informe incorrectamente de estos alelos.

## 5 Limitaciones conocidas de HLA-C

### 5.1 Limitaciones específicas de Omixon HLA Twin

#### 5.1.1 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación estadístico

#### Alelos no informados habituales del algoritmo de genotipificación estadístico

Debido a la similitud de las secuencias de exones de algunos pares de alelos, el algoritmo de genotipificación estadístico informa de alelos incorrectos en algunos casos en los siguientes grupos de alelos:

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

## 6 Limitaciones conocidas de HLA-DPB1

### 6.1 Limitaciones específicas de Holotype HLA

#### 6.1.1 Amplificación menor o fallada para HLA-DPB1 en DP-multiplex

Modo de falla	Versión de ensayo afectada
En algunos casos, HLA-DPB1 muestra una amplificación reducida o HLA-DPB1 es incapaz de realizar la amplificación.	Configuración de Holotype HLA v1: 11 locus

### 6.2 Limitaciones específicas de Omixon HLA Twin

#### 6.2.1 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación de consenso

##### Ambigüedad no informada

En algunos casos excepcionales, no se informa de ambigüedades cis/trans del nivel del grupo G.

## 7 Limitaciones conocidas de HLA-DQB1

### 7.1 Limitaciones específicas de Holotype HLA

#### 7.1.1 Alelos que pueden presentar amplificación baja

La amplificación baja significa que el conteo leído generado para un alelo no es suficiente para la genotipificación. Es posible que en algunos casos no se informe del alelo en absoluto (omisión).

Alelos de amplificación baja	Compensación en HLA Twin	Resolución de detección
DQB1*03	Sí	S <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sugerencia basada en desequilibrio de ligamento (DL) con DQA1

#### 7.1.2 Alelos que no se amplifican

DQB1\*03:276N: debido a una larga eliminación que abarca el sitio del cebador de amplificación 5', este alelo no se amplifica.

#### 7.1.3 Amplificación reducida para los cebadores del grupo 1 de Holotype HLA v1.

En algunos casos, el amplicón producido por los cebadores del grupo 1 de Holotype HLA v1 muestra una amplificación baja.

## 8 Limitaciones conocidas de HLA-DRB1

### 8.1 Limitaciones tecnológicas



Puede observarse desequilibrio moderado de alelos en el caso de alelos que tengan secuencias significativamente más largas que la media (por ejemplo, algunos alelos HLA-DRB1\*04). En algunos casos excepcionales, se puede observar un alto desequilibrio de alelos. También cabe esperar que esporádicamente se produzcan omisiones de alelos.

## 8.2 Limitaciones específicas de Holotype HLA

### 8.2.1 Amplificación no específica

Modo de falla	Posibles efectos	Versiónes de ensayos afectadas
En algunos casos excepcionales, se puede observar un amplicón adicional en la segunda mitad del gen (del intrón 4 al 3'UTR).	Si el amplicón no específico solo está presente para uno de los alelos, es posible que se informen inconsistencias falsas para el intrón 4.	v1

### 8.2.2 Amplificación baja

En algunos casos se puede observar desequilibrio entre moderado y alto para los alelos HLA-DRB1\*07. En casos extremadamente excepcionales, cabe esperar que esporádicamente se produzcan omisiones de alelos.

## 8.3 Limitaciones específicas de Omixon HLA Twin

### 8.3.1 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación de consenso

En algunos casos falta la ambigüedad de segundo campo.

Resultado informado por Twin	Resultado correcto
DRB1*12:10	DRB1*12:10/ <b>DRB1*12:01:01</b>
DRB1*15:140/DRB1*15:149	DRB1*15:140/DRB1*15:149/ <b>DRB1*15:02</b>

### 8.3.2 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación estadístico

#### Alelos no informados habituales del algoritmo de genotipificación estadístico

Debido a la similitud de las secuencias de exones de algunos pares de alelos, el algoritmo de genotipificación estadístico informa de alelos incorrectos o no informa de ambigüedades inherentes en algunos casos en los siguientes grupos de alelos:

- 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 Limitaciones conocidas de HLA-DRB3

### 9.1 Limitaciones específicas de Holotype HLA



### 9.1.1 Amplificación no específica

Modo de falla	Posibles efectos	Versiones de ensayos afectadas
En algunos casos excepcionales, se puede observar un amplicón adicional en la segunda mitad del gen (del intrón 4 al 3'UTR).	Si el amplicón no específico solo está presente para uno de los alelos, es posible que se informen inconsistencias falsas para el intrón 4.	v1

## 9.2 Limitaciones específicas de Omixon HLA Twin

### 9.2.1 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación de consenso

- En algunos casos excepcionales, se informa incorrectamente de HLA-DRB3\*02:02 como HLA-DRB3\*02:24.

## 10 Limitaciones conocidas de HLA-DRB4

### 10.1 Limitaciones específicas de Holotype HLA

#### 10.1.1 Alelos que pueden presentar amplificación baja

La amplificación baja significa que el conteo leído generado para un alelo no es suficiente para la genotipificación. En casos extremos, es probable que el alelo no se informe en absoluto (omisión). Se han observado con mucha frecuencia amplificación baja y omisiones de alelos para HLA-DRB4\*01:01. En casos excepcionales, se ha informado de omisiones de alelos para los alelos HLA-DRB4\*01:03. En ambos casos, Omixon HLA Twin sugiere la presencia del alelo sobre la base del desequilibrio de ligamento.

#### 10.1.2 Otras limitaciones relacionadas con el ensayo

##### Mediciones de concentración positiva falsas en HLA-DRB4

Se pueden observar concentraciones de amplicón en algunos casos, aunque:

- el individuo no tenga una copia del gen HLA-DRB4; o
- el individuo no tenga un o dos copias del gen HLA-DRB4, pero la amplificación no haya sido exitosa.

### 10.2 Limitaciones específicas de Omixon HLA Twin

#### 10.2.1 Limitaciones conocidas del algoritmo de genotipificación de consenso

##### Ambigüedad no informada

Resultado informado por Twin	Resultado correcto
DRB4*01:01:01:01	DRB4*01:01:01:01/DRB4*01:03N

## 11 Revisión e historial de cambios

Versión	Fecha de aprobación	Autor	Resumen de cambios	Aprobado por
v1	5 de julio de 2017	Krisztina Rigó	Se recopilaron limitaciones algorítmicas. Se fusionó el documento con documento de limitaciones específicas de Holotype HLA.	Efithymia Melista, Zoltán Simon, Peter Meintjes, Gabriella Adlovits
v2	31 de enero de 2018	Krisztina Rigó	Las limitaciones relacionadas con la base de datos IMGT/HLA se actualizaron en virtud de IMGT/HLA v3.28.0 y v3.29.0.1. La sección de limitaciones del software se extendió en virtud de las siguientes versiones del software: Twin 2.1.3, Twin 2.1.4 y Twin 2.5.0.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v3	4 de julio de 2018	Krisztina Rigó	Se han añadido más casos relacionados con la distinción de fases. Se ha añadido una breve guía para identificar distinciones de fases incorrectas. Se han actualizado las limitaciones relacionadas con la base de datos de IMGT/HLA para adaptarlas a IMGT/HLA v3.30.0. La sección de limitaciones del software se extendió en virtud de las siguientes versiones del software: Twin 2.5.1 y Twin 3.0.0.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v4	19 de octubre de 2018	Krisztina Rigó	Se han actualizado las limitaciones relacionadas con la base de datos de IMGT/HLA para adaptarlas a IMGT/HLA v3.31.0. La sección de limitaciones del software se extendió en virtud de las siguientes versiones del software: Twin 3.1.0 y Twin 3.1.1. Se ha eliminado la información relacionada con las versiones del software e IMGT/HLA que tenía una antigüedad superior a 12+1 meses. Versiones afectadas: Omixon HLA Twin 2.1.3 y 2.1.4, IMGT/HLA 3.28.0_4. Se han eliminado ejemplos específicos de problemas en los que no se podía probar la especificidad del alelo. Se han añadido limitaciones adicionales para el algoritmo de genotipificación estadístico.	Márton Pogány, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits



<b>Versión</b>	<b>Fecha de aprobación</b>	<b>Autor</b>	<b>Resumen de cambios</b>	<b>Aprobado por</b>
v5	14 de enero de 2019	Krisztina Rigó	<p>Se han actualizado las limitaciones relacionadas con la base de datos de IMGT/HLA para adaptarlas a IMGT/HLA v3.32.0.</p> <p>Se ha eliminado la información relacionada con las versiones de IMGT/HLA que tenían una antigüedad superior a 12+1 meses. Versión afectada: IMGT/HLA 3.29.0.1_5.</p> <p>Las secciones de limitación de ensayo se han ampliado con la siguiente versión de ensayo: Holotype HLA v3.0.</p> <p>Se ha cambiado el formateado en la sección "Ambigüedades que afectan la expresión" y se ha agregado un nuevo caso.</p> <p>Se ha agregado un caso adicional a la sección "Ambigüedades Cis/Trans" de HLA-DPB1.</p> <p>Cambios menores y actualizaciones adicionales.</p>	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v6	26 de marzo de 2019	Krisztina Rigó	<p>Las limitaciones relacionadas con la base de datos IMGT/HLA se actualizaron en virtud de IMGT/HLA v3.32.0_7, v3.33.0_7 y v3.34.0_8.</p> <p>La sección de limitaciones del software se extendió en virtud de la siguiente versión del software: Twin 3.1.3.</p> <p>Se ha eliminado la información relacionada con las versiones del software e IMGT/HLA que tenía una antigüedad superior a 12+1 meses. Versiones afectadas: Omixon HLA Twin 2.5.0, IMGT/HLA v3.30.0_5 y v3.31.0_5.</p> <p>Se han corregido y actualizado las versiones del producto que se ven afectadas por la ambigüedad de DQB1*03:276N.</p> <p>Se han eliminado ejemplos específicos de la sección "Ambigüedades Cis/Trans" de HLA-DPB1.</p> <p>Cambios menores y actualizaciones adicionales.</p>	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v7	26 de abril de 2019	Krisztina Rigó	<p>Se han actualizado las limitaciones relacionadas con la base de datos de IMGT/HLA para adaptarlas a IMGT/HLA 3.35.0_8.</p> <p>Se ha actualizado una limitación del algoritmo de genotipificación estadístico ocasionada por secuencias de regiones idénticas en diferentes loci.</p> <p>Se ha actualizado una limitación del algoritmo de genotipificación de consenso relacionada con inserciones/eliminaciones (indels) de genes nuevos.</p> <p>Se ha reestructurado la sección "Ambigüedades del primero, segundo y tercer campo".</p>	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits



<b>Versión</b>	<b>Fecha de aprobación</b>	<b>Autor</b>	<b>Resumen de cambios</b>	<b>Aprobado por</b>
v8	19 de julio de 2019	Krisztina Rigó	Se han actualizado las limitaciones relacionadas con la base de datos de IMGT/HLA para adaptarlas a IMGT/HLA 3.36.0_8. Se ha eliminado la información relacionada con las versiones del software e IMGT/HLA que tenía una antigüedad superior a 12+1 meses. Versiones afectadas: Omixon HLA Twin 2.5.1, IMGT/HLA 3.32.0_5, 3.32.0_7. Se ha añadido una limitación del algoritmo de genotipificación de consenso que afecta a HLA-DRB3.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabiella Adlovits