

Holotype HLA CE and Omixon HLA Twin CE

Známá omezení produktu

Version 30

Published on 27/03/2024

© Omixon Biocomputing Ltd.

All rights reserved. Do not distribute.

Website: <https://www.omixon.com>

Technical contact: support@omixon.com

Sales contact: sales@omixon.com



Omixon Biocomputing Ltd.
H-1117 Budapest,
Kaposvár u. 14-18.,
Hungary, EU



Holotype HLA



Omixon HLA Twin





1 Zaměření tohoto dokumentu

Účelem tohoto dokumentu je poskytnout komplexní seznam známých omezení produktu Holotype HLA a Omixon HLA Twin. Aktuální verze tohoto dokumentu byla sestavena pomocí následujícího:

- Verzí protokolu Holotype HLA 3.0 (RUO), 3.0.1 (RUO) a
- Verze Omixon HLA Twin 4.7.0 (RUO), 4.8.0 (RUO) a 4.8.1 (RUO) s
- IMGT/HLA verze 3.50.0_9, 3.51.0_9, 3.52.0_9 a, 3.53.0_10

Pokud není uvedeno jinak, mají uvedená omezení vliv na všechny verze testů, softwaru a databází v rámci tohoto dokumentu.

Přehled předchozích verzí a změn tohoto dokumentu naleznete v části „Historie revizí a změn“.

Účelem tohoto dokumentu je poskytnout komplexní seznam známých omezení produktu Holotype HLA CE a Omixon HLA Twin CE. Aktuální verze tohoto dokumentu byla sestavena pomocí následujícího:

- Verzí protokolu Holotype HLA 3.0.1 (CE), 3.0.2 (CE) a
- Verze Omixon HLA Twin 4.8.0 (CE), 4.8.1 (CE) a 4.9.0 (CE) s
- IMGT/HLA verze 3.52.0_9 a, 3.53.0_10.

Pokud není uvedeno jinak, mají uvedená omezení vliv na všechny verze testů, softwaru a databází v rámci tohoto dokumentu.

Přehled předchozích verzí a změn tohoto dokumentu naleznete v části „Historie revizí a změn“.

Účelem tohoto dokumentu je poskytnout komplexní seznam známých omezení produktu OmniType a Omixon HLA Twin. Aktuální verze tohoto dokumentu byla sestavena pomocí následujícího:

- OmniType verze 1 (RUO) a
- Verze Omixon HLA Twin 4.7.0 (RUO), 4.8.0 (RUO) a 4.8.1 (RUO) s
- IMGT/HLA verze 3.50.0_9, 3.51.0_9, 3.52.0_9 a, 3.53.0_10

Pokud není uvedeno jinak, mají uvedená omezení vliv na všechny verze softwaru a databází v rámci tohoto dokumentu.

Přehled předchozích verzí a změn tohoto dokumentu naleznete v části „Historie revizí a změn“.

2 Přehled obecných omezení produktu

2.1 Omezení specifické pro Holotype HLA

2.1.1 Falešně pozitivní výsledky ovlivňující DRB3/DRB4 nebo DRB5

Falešně pozitivní výsledky lze ve velmi vzácných případech s testem Omixon Holotype HLA pozorovat u HLA-DRB3, HLA-DRB4 nebo HLA-DRB5.



2.1.2 Omezení specifická pro protokol testu Holotype HLA verze 3.0

Někteří uživatelé mohou při používání protokolu Holotype HLA v3.0 po kroku ligace adaptéru zaznamenat přítomnost bílé sraženiny. Zjistili jsme, že se tato sraženina tvoří zkříženou reakcí sloučeniny ve směsi Promega LR-PCR a sloučeniny v pufru opravy konců. V některých případech může mít tato sraženina drobné účinky na konečnou knihovnu, ale neovlivní výsledky genotypizace. Pro získání informací, jak tento jev řešit, kontaktujte prosím support@omixon.com¹ nebo přímo zástupce naší společnosti v terénu.

2.1.3 Nejednoznačnosti specifické pro Holotype HLA

Tato část obsahuje nejednoznačnosti, které jsou způsobeny konstrukcí testu Omixon Holotype HLA a technologickými omezeními NGS (tj. umístěním a sekvencí primerových míst a rozdělením velikosti fragmentů způsobeným metodou výběru velikosti použitou v protokolu).

Pro každý lokus obsahující všechny sekvence alel a primerové sekvence Holotype byl vytvořen vícesekvenční alignment. Pak byl tento alignment oříznut do cílové oblasti (tj. byla oříznuta místa primerů a libovolné polohy mimo místa primerů). U výsledných sekvencí se poté zkontrolovaly přesné duplikáty a vztahy subsekvencí a při rozlišení na tři pole, nižším nebo při libovolném rozlišení se shromáždily všechny nejednoznačnosti, kromě ovlivňujících alel s nestandardními úrovněmi exprese.

2.1.4 Nejednoznačnosti specifické pro OmniType

Tato část obsahuje nejednoznačnosti, které jsou způsobeny konstrukcí testu OmniType a technologickými omezeními NGS (tj. umístěním a sekvencí primerových míst a rozdělením velikosti fragmentů způsobeným metodou výběru velikosti použitou v protokolu).

Pro každý lokus obsahující všechny sekvence alel a primerové sekvence OmniType byl vytvořen vícesekvenční alignment. Pak byl tento alignment oříznut do cílové oblasti (tj. byla oříznuta místa primerů a libovolné polohy mimo místa primerů). U výsledných sekvencí se poté zkontrolovaly přesné duplikáty a vztahy subsekvencí a při rozlišení na tři pole, nižším nebo při libovolném rozlišení se shromáždily všechny nejednoznačnosti, kromě ovlivňujících alel s nestandardními úrovněmi exprese.

2.1.5 Nejednoznačnosti prvního, druhého a třetího pole

Pokyny pro vykazování: Zpráva jako nejednoznačná

Ambiguous alleles		Affected IMGT/HLA version(s)	Level of ambiguity
Ambiguous alleles		Affected IMGT/HLA version(s)	Level of ambiguity
<i>DPB1*01:01:01</i>	<i>DPB1*1484:01</i>	All*	1st field

¹ <mailto:support@omixon.com>



Ambiguous alleles		Affected IMGT/HLA version(s)	Level of ambiguity
DPB1*02:01:02	DPB1*1315:01/ DPB1*02:01:64	All*	1st field/ 3rd field
DPB1*04:01:01	DPB1*1300:01/ DPB1*1321:01/ DPB1*1322:01/ DPB1*04:01:63/ DPB1*1436:01/ DPB1*1444:01Q	All*/ All*/ All*/ All*/ All*/ All*	1st field/ 1st field/ 1st field/ 3rd field/ 1st field/ 1st field
DPB1*04:02:01	DPB1*1346:01	All*	1st field
DPB1*05:01:01	DPB1*1273:01/ DPB1*05:01:16	All*	1st field/ 3rd field
DPB1*13:01:01	DPB1*107:01	All*	1st field
DPB1*15:01:01	DPB1*1499:01	v3.53.0_10	1st field
DPB1*39:01:01	DPB1*39:01:02	All*	3rd field
DPB1*105:01:01	DPB1*665:01:01/ DPB1*1072:01	All*	1st field
DPB1*296:01	DPB1*1286:01	All*	1st field
DPB1*584:01:01	DPB1*584:01:02	All*	3rd field
DRB1*01:01:01	DRB1*01:100/ DRB1*01:01:35/ DRB1*01:01:41/ DRV1*01:144	All*/ All*/ All*/ v3.53.0_10	2nd field/ 3rd field/ 3rd field
DRB1*03:01:01	DRB1*03:147/ DRB1*03:01:31	All*	2nd field/ 3rd field
DRB1*04:04:01	DRB1*04:365	All*	2nd field
DRB1*04:06:02	DRB1*04:354	All*	2nd field



Ambiguous alleles		Affected IMGT/HLA version(s)	Level of ambiguity
<i>DRB1*07:01:01</i>	<i>DRB1*07:139/</i> <i>DRB1*07:151</i>	All*/ v3.53.0_10	2nd field
<i>DRB1*08:01:01</i>	<i>DRB1*08:105</i>	All*	2nd field
<i>DRB1*09:01:02</i>	<i>DRB1*09:31:02</i>	All*	2nd field
<i>DRB1*10:01:01</i>	<i>DRB1*10:38</i>	All*	2nd field
<i>DRB1*12:01:01</i>	<i>DRB1*12:10</i>	All*	2nd field
<i>DRB1*12:02:01</i>	<i>DRB1*12:101</i>	All*	2nd field
<i>DRB1*13:01:01</i>	<i>DRB1*13:01:34</i>	All*	3rd field
<i>DRB1*14:25:01</i>	<i>DRB1*14:25:02</i>	All*	3rd field
<i>DRB1*14:54:01</i>	<i>DRB1*14:216/</i> <i>DRB1*14:243/</i> <i>DRB1*14:253</i>	All*/ All*/ All*	2nd field
<i>DRB1*15:01:01</i>	<i>DRB1*15:204</i>	All*	2nd field
<i>DRB1*15:02:01</i>	<i>DRB1*15:140/</i> <i>DRB1*15:149</i>	All*	2nd field
<i>DRB1*15:03:01</i>	<i>DRB1*15:185</i>	All*	2nd field
<i>DRB1*15:07:01</i>	<i>DRB1*15:198</i>	All*	2nd field
<i>DRB1*16:02:01</i>	<i>DRB1*16:64</i>	All*	2nd field
<i>DRB3*01:01:02</i>	<i>DRB3*01:62:01/</i> <i>DRB3*01:01:16</i>	All*/ All*	2nd field/ 3rd field

Ambiguous alleles		Affected IMGT/HLA version(s)	Level of ambiguity
Ambiguous alleles		Affected IMGT/HLA version(s)	Level of ambiguity
DRB3*02:02:01	DRB3*02:144/ DRB3*02:167/ DRB3*02:168/ DRB3*02:188/ DRB3*02:189/ DRB3*02:193/ DRB3*02:02:34/ DRB3*02:02:35	All*/ All*/ All*/ All*/ All*/ v3.53.0_10/ All*/ All*	2nd field/ 2nd field/ 2nd field/ 2nd field/ 2nd field/ 2nd field/ 3rd field/ 3rd field
DRB4*01:01:01	DRB4*01:01:11/ DRB4*01:156/ DRB4*01:168	v3.53.0_10 All*/ All*	3rd field/ 2nd field/ 2nd field
DRB4*01:03:01	DRB4*01:134	All*	2nd field
DRB5*01:01:01	DRB5*01:126	All*	2nd field

*Všechny: Týká se všech verzí databáze v rozsahu tohoto dokumentu.

Nejednoznačnosti vyznačené kurzívou by měly být systematicky hlášeny jako nejednoznačné od verze Omixon HLA Twin 4.9.0 a vyšší (bez ohledu na přítomnost intronických neshod), zatímco u dřívějších verzí softwaru jsou tyto alely v případě zjištění intronických neshod vyloučeny.

2.1.6 Nejednoznačnosti ovlivňující expresi

Pokyny pro vykazování: Alely s nízkou expresí se vykazují jako výsledek druhého pole

2.1.6.1 Nejednoznačné skupiny alel

Běžně hlášené u všech:

- HLA-A*02:01:01:01/**02:01:01:02L**/
02:01:01:16/02:01:01:50/02:01:01:150/02:01:01:159/02:01:01:206/02:01:01:245
- HLA-B*39:01:01:03/**39:01:01:02L**/
39:01:01:05/39:01:01:09/39:01:01:15/39:01:01:16/39:01:01:17/39:01:01:23/39:01:01:26/39:01:01:27/39:01:01:28/39:01:01:29
- HLA-DPA1***03:05:01:01Q/03:05:01:02Q**
- HLA-DPB1*04:01:01/04:01:63/1321:01/1322:01/1436:01/**1444:01Q**⁴
- HLA-DPB1*1373:01/**1442:01N**⁴

Hlášeno pouze s verzí Omixon HLA Twin 4.9.0 a vyšší ve vzácných případech:

- HLA-DPB1*01:01:01/01:01:07/417:01:01/1050:01:01/1151:01/**1332:01N/1325:01N**³/1443:01/1484:01



- HLA-DQB1*03:01/03:01:01:21N²/03:19/03:29/03:191/03:276N/
03:297/03:309:02/03:312/03:377/03:419/03:431/03:358N¹/03:454/03:45/03:483/03:497/03:508

¹ Nejednoznačnost je přítomná u verzí testu IMGT/HLA 3.36.0_8 a vyšší. HLA-DQB1*03:358N obsahuje delecii v exonu 3, která způsobuje posun rámce a předčasné zastavení v kodonu 191 (zdroj: <http://hla.alleles.org/alleles/nulls.html>, datum přístupu: 16. července 2019). K 16. červenci 2019 byla tato alela pozorována ve dvou biologických vzorcích neznámého etnického původu jedinou laboratoří. V době tvorby tohoto dokumentu nebyla pro tuto alelu veřejně dostupná žádná informace o zdrojových sekvencích. Na základě informací dostupných v IMGT/HLA 3.36.0 nemůže být tato alela softwarem odlišena od jiných alel uvedených ve skupinách nejednoznačných alel, ale lze ji vyloučit manuálním porovnáním alelických sekvencí v Gene Browser (prohlížeči genů). Vezměte na vědomí, že ne všechny uvedené alely jsou ve všech případech vykazány jako nejednoznačné.

² DQB1*03:01:01:21N byla přidána v IMGT/HLA 3.47.0. Je třeba vzít na vědomí, že tuto alelu lze odlišit od běžně exprimovaných alel DRB1*03, ale nelze ji odlišit od alely DQB1*03:358N.

³ Alela byla přidána v IMGT/HLA 3.49.0.

⁴ Alela byla přidána v IMGT/HLA 3.51.0.

2.1.7 Cis/Trans nejednoznačnosti

Cis/Trans nejednoznačnosti (tj. nejednoznačné vyvolání alel, kde se různé páry alel liší pouze ve fázování cis/trans) mohou mít několik příčin. Většina těchto nejednoznačností je vykazována kvůli omezením technologie a databáze IMGT/HLA.

Pokyny pro vykazování: Záleží na jednotlivých laboratořích, jestli budou vykazovat nejednoznačnosti s využitím G skupin, nebo budou vykazovat specifické páry alel, které jsou nejednoznačné.

2.2 Seznam známých omezení pro Omixon HLA Twin

2.2.1 Známá omezení konsensuálního algoritmu genotypizace

2.2.1.1 Úvod

Všechna omezení uvedená níže byla založena na pozorováních hlášených zákazníky Omixon nebo provedena během interní validace a regresního testování.

2.2.1.2 Vyvolána chybná novinka

Vzácně může HLA Twin vykazovat koncovému uživateli chybné novinky. Je třeba vzít v úvahu, že drtivá většina těchto falešných novinek může být eliminována školeným uživatelem manuální kontrolou výsledků v Omixon HLA Twin.

V některých velmi vzácných případech je vykazována nová alela, ačkoli je k dispozici alela bez nesouladu exonů.

2.2.1.3 Nesoulad exonů vykázan namísto nové alely

V některých velmi vzácných případech je namísto nové alely vykazována nejlepší shoda s nesouladem exonů.

2.2.1.4 Nejednoznačnost není vykazována pro nové alely

Na základě konstrukce je konsensuálním algoritmem genotypizace vykazována pouze jediná nová alela. Ve velmi ojedinělých případech lze identifikovat více stejně pravděpodobných nových alel, ale pouze jedna z těchto možností je algoritmem vyhodnocena.



2.2.1.5 Nové dlouhé INDELY byly opomenuty

V některých případech přístroj Omixon HLA Twin nové dlouhé INDELY nevykáže.

2.2.1.6 Namísto nové alely je vyvolána nulová alela

V některých případech je místo nové alely hlášena jednoznačná nulová alela. Známé případy se týkají následujících alel (ale nemusí být omezeny pouze na ně):

- HLA-DQB1*03:276N/*03:358N/*03:338N se uvádí místo HLA-DQB1*03:01:01:XX novel.

2.2.1.7 Nulová alela hlášená jako nejednoznačná vedle normálně exprimované alely

V některých případech jsou nulové alely, které se liší od normálně vyjádřených alel v delecích, hlášeny jako nejednoznačné vedle normálně vyjádřené alely. Všimněte si, že tyto nejednoznačnosti lze vyřešit ruční kontrolou výsledku v prohlížeči genů.

2.2.1.8 Nesprávné rozdělení

Ve vzácných případech dochází k chybnému přiřazení konsenzuálních sekvencí.

2.2.1.8.1 Identifikace nesprávně rozdělených konsenzuálních sekvencí

Může vzniknout podezření na nesprávné rozdělení cis/trans, pokud je pozorována jedna nebo více následujících charakteristik:

- Jsou vykázány dvě nové alely v rámci jediného páru s nejlepší shodou.
- Je vykázána jedna nová alela a jedna částečně definovaná alela.
- Je vykázána jedna nebo dvě vzácné alely.
- Existuje několik nových pozic.

Pokud existuje podezření na nesprávné rozdělení, doporučuje se, aby uživatel zkontroloval výsledky statistického algoritmu genotypizace.

2.2.1.9 Cis/trans nejednoznačnost způsobená neefektivním fázováním

V některých vzácných případech byly v důsledku neúčinného rozdělení vykázány nejednoznačnosti druhé nebo třetí úrovně. V těchto případech se doporučuje provést opakovanou analýzu ovlivněných lokusů s více ready.

2.2.1.10 Nejednoznačnost není hlášena (opraveno v Omixon HLA Twin 4.9.0)

Na základě konstrukce algoritmus vykazuje alely s nejnižším počtem nesouladů exonů a intronů v porovnání s konsenzuální sekvencí. U genů s částečným pokrytím se může vzácně stát, že správná alela je vykázána pouze jako ostatní možná alela, protože má vyšší počet nesouladů intronů než nejlepší odpovídající alela v oblasti pokryté ampliconem.

V některých vzácných případech:

- Nejednoznačnosti cis/trans na úrovni G-skupiny nejsou pro HLA-DPB1 vždy vykázány.
- Následující běžné nejednoznačnosti nejsou vždy vykazovány (vykazované alely /**nevykazované alely**):
 - HLA-DPB1*1072:01/**DPB1*105:01**
 - HLA-DRB1 - DRB1*12:10/**DRB1*12:01:01**, DRB1*15:140/DRB1*15:149/, **DRB1*15:02**, DRB1*03:147/**DRB1*03:01:01**, 14:216/DRB1*14:243/**DRB1*14:54**



- HLA-DQB1 - DQB1*03:276N/**DQB1*03:01**.

2.2.1.11 Žádný výsledek nebyl vykázán navzdory úspěšnému generování shody (opraveno u Omixon HLA Twin 4.8.0)

Často dochází k tomu, že s verzemi databáze IMGT/HLA 3.49.0_9 a vyššími v kombinaci s verzemi Omixon HLA Twin nižšími než 4.8.0 není vykázán žádný výsledek genotypizace. Důrazně nedoporučujeme a oficiálně není podporováno používání dotčených verzí databáze v kombinaci s jakoukoli verzí softwaru nižší než 4.8.0.

2.2.2 Známá omezení statistického algoritmu genotypizace (Statistical Genotyping Algorithm)

Vzhledem k vysoké podobnosti exonových sekvencí některých alel vykazuje statistický algoritmus genotypizace v některých případech nesprávné alely.

2.2.3 Další omezení

Ve verzi 4.8.0 řešení Twin Server - Client bylo zjištěno omezení. Při pokusu o otevření 48 nebo více výsledků pomocí funkce "View Result" (Zobrazit výsledek) může klientská aplikace zobrazit zprávu Unrecoverable Network Error (Neodstranitelná chyba sítě). (Tento problém je opraven ve verzi Omixon HLA Twin 4.8.1.)

V některých vzácných případech, kde mají vykázané alely v některých genových oblastech významné rozdíly v délce, mohou být stopy sekvencí v prohlížeči genů (gene browser) nesprávně zarovnány a jsou zobrazeny nepotřebné mezery. Tento problém neovlivní signál alel ani hodnoty vypočtené pro metriky QC. Tuto vadu vizualizace lze eliminovat zobrazením alel samostatně.

Vykazování nejednoznačnosti na obrazovce výsledků analýzy nemusí být optimální v případech, kdy jsou alely duplikovány na obou chromozomech v důsledku uspořádání alel v párech.

Je třeba vzít v úvahu, že při použití průvodce hromadným přiřazením v panelu nástrojů Allele Assignment (Přiřazení alely) a zvolením možnosti „Assign only unambiguous results“ (Přiřadit pouze jednoznačné výsledky) budou případy genotypů DRB3/4/5 omezeny. Na základě homozygotního nebo hemizygotního stavu těchto genotypů založených na haplotypu DRB1 mohou být nejednoznačné výsledky stále přiřazeny, což tato funkce nezohledňuje.

Nových alel nefunguje správně sledování aminokyselin ve verzích Omixon HLA Twin 4.8.0 a 4.8.1.

3 Známá omezení produktu HLA-B

3.1 Omezení specifické pro Holotype HLA

3.2 Omezení specifické pro OmniType

3.2.1 Alely, které mohou vykázat nízké zesílení

Nízké zesílení znamená, že generovaný počet readů pro alelu není pro genotypizaci dostatečný. V krajních případech nemůže být o alele podána žádná zpráva (bude vynechána).



Alely s nízkým zesílením	Náhrada v HLA Twin	Rozlišení detekce
B*51:01:02	ANO	ANO

3.3 Omezení specifická pro Omixon HLA Twin

3.3.1 Známa omezení konsenzuálního algoritmu genotypizace

3.3.1.1 Nesprávná konsenzuální sekvence kvůli neúčinné detekci mapování křížení

- V mimořádně vzácných případech jsou zaznamenány nejednoznačné výsledky kvůli částečné ztrátě shody v místě začátku shody.
- Mimořádně vzácně jsou hlášeny falešné novinky kvůli nesprávné shodné konsenzuální sekvenci v blízkosti začátku shody.

3.3.1.2 HLA-B*15:01 nesprávně pojmenováno

V některých velmi vzácných případech mohou být chybně vyhodnoceny alely patřící do následující skupiny alel a informace o aminokyselinách mohou být v důsledku nekonzistencí v databázi nesprávné:

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

3.3.2 Známa omezení statistického algoritmu genotypizace (Statistical Genotyping Algorithm)

3.3.2.1 Některé alely HLA-B se špatně vyvolávají v důsledku přítomnosti shodné exonové sekvence v HLA-C

Skupina alel HLA-B (několik alel HLA-B*44 a HLA-B*47:04) má sekvenci exonu 2 identickou s HLA-C*16:85. Kvůli této podobnosti mohou být tyto alely statistickým algoritmem genotypizace chybně vyhodnoceny.

4 Známa omezení produktu HLA-DQB1

4.1 Omezení specifické pro OmniType

4.1.1 Alely, které mohou vykazat nízké zesílení

U alel ve skupině alel HLA-DQB1*02 lze pozorovat středně velkou alelickou nerovnováhu. V některých vzácných případech lze pozorovat výraznou alelickou nerovnováhu. Velmi vzácně může dojít k výpadku alely.

4.2 Omezení specifické pro Holotype HLA

4.2.1 Alely, které mohou vykazat nízké zesílení

Alely s nízkým zesílením	Náhrada v HLA Twin	Rozlišení detekce
DQB1*03	ANO	ANO ¹

¹ Návrh založený na nerovnováze vazby (Linkage Disequilibrium = LD) s DQA1



4.2.2 Alely, které nejsou amplifikovány

DQB1*03:276N – vzhledem k dlouhé delecii, která pokrývá místo 5' amplifikačního primeru, není tato alela amplifikována.

5 Známá omezení produktu HLA-DRB1

5.1 Technologická omezení

U alel s výrazně delšími sekvencemi než průměr (jako např. u některých alel HLA-DRB1*04) lze pozorovat velkou alelickou nerovnováhu. V některých vzácných případech lze pozorovat výraznou alelickou nerovnováhu. Velmi vzácně Zřídka může dojít k výpadku alely.

5.2 Omezení specifické pro OmniType

5.3 Omezení specifické pro Holotype HLA

5.3.1 Nízké zesílení

V některých případech lze u alel HLA-DRB1*07 pozorovat středně velkou až výraznou alelovou nerovnováhu. Velmi vzácně lze očekávat vynechání alel.

6 Známá omezení produktu HLA-DRB4

6.1 Omezení specifické pro Holotype HLA

6.2 Omezení specifické pro OmniType

6.2.1 Alely, které nejsou amplifikovány

DRB4*03:01N – vzhledem k dlouhé delecii, která pokrývá místo 5' amplifikačního primeru, není tato alela amplifikována.

6.2.2 Alely, které mohou vykazat nízké zesílení

Nízké zesílení znamená, že generovaný počet readů pro alelu není pro genotypizaci dostatečný. V krajních případech nemůže být o alele podána žádná zpráva (bude vynechána). Pro HLA-DRB4*01:01 byla často pozorována nízká zesílení a výpadky alel. Ve vzácných případech byly pro alely HLA-DRB4*01:03 vykazány výpadky alel. V obou případech je přítomnost alely navržena na základě nerovnováhy vazby přístrojem Omixon HLA Twin.

6.2.3 Další omezení týkající se testu

6.2.3.1 Falešně pozitivní měření koncentrací HLA-DRB4

U některých vzorků lze pozorovat vysoké koncentrace amplikonu, přestože:

- jedinec nemá kopii genu HLA-DRB4, nebo
- jedinec má jednu nebo dvě kopie genu HLA-DRB4, ale zesílení nebylo úspěšné.



6.3 Omezení specifická pro Omixon HLA Twin



6.3.1 Známá omezení konsenzuálního algoritmu genotypizace

6.3.1.1 Nejednoznačnost není vykazována.


Výsledek vyvolaný Twin	Správný výsledek
DRB4*01:01:01:01	DRB4*01:01:01:01/DRB4*03:01N




7 Historie revizí a změn

Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v1	 05 Oct 2020	Počáteční verze dokumentu
v2	 12 Jan 2022	<p>Informace týkající se verzí softwaru a databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly aktuálně podporovaným verzím softwaru a databáze IMGT/HLA.</p> <p>Bylo přidáno nové omezení algoritmu konsenzuální genotypizace, které ovlivňuje nové alely, kde je nová poloha přítomna v delecii v nulové alele, která je podobná této nové alele.</p> <p>Byla přidána dvě omezení ovlivňující verzi Omixon HLA Twin 4.4.0 (automatizovaná genotypizace není funkční, gene browser (prohlížeč genů) u některých novinek</p>






Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
		<p>zobrazuje chybovou hlášku).</p> <p>Byly přidány problémy se zesílením pro některé skupiny alel HLA-DQA1 a HLA-DQB1.</p>
v3	 20 Mar 2023	<p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Omezení byla aktualizována tak, aby odpovídala následujícím verzím databáze IMGT/HLA: 3.48.0_9, 3.49.0_9, 3.50.0_9 a 3.51.0_9.</p> <p>Sekce omezení softwaru byly rozšířeny tak, aby odpovídaly následujícím verzím softwaru: Verze Omixon HLA Twin 4.6.0 (RUO), 4.7.0 (RUO) a 4.8.0 (RUO)</p>



Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v4	 25 May 2023	Informace o softwaru a verzích IMGT/HLA starších než 12+1 měsíc byly odstraněny. Dotčené verze: IMGT/HLA 3.48.0_9, Omixon HLA Twin 4.6.0 RUO. Rozsah dokumentu byl rozšířen o verzi Omixon HLA Twin 4.8.1.



Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v5	 03 Aug 2023	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala databázi IMGT/HLA 3.52.0_9.</p> <p>Byly provedeny některé opravy v tabulce nejednoznačností (byla opravena nejednoznačnost DRB1*12:101, přidána nejednoznačnost DRB1*04 a provedeny další drobné opravy).</p> <p>Byly provedeny drobné změny ve formulacích u následujících omezení: Nesprávné rozfázování, Nejednoznačnost nebyla nahlášena</p>

Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v1	 05 Jul 2017	Sebraná algoritmická omezení. Dokument sloučený s dokumentem Omezení specifická pro Holotype HLA.
v2	 31 Jan 2018	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly IMGT/HLA v3.28.0 a v3.29.0.1.</p> <p>Sekce omezení softwaru byla rozšířena tak, aby odpovídala následujícím verzím softwaru: Twin 2.1.3, Twin 2.1.4 a Twin 2.5.0.</p>



Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v3	04 Jul 2018	<p>Byly přidány další případy související s rozdělením. Byl přidán stručný průvodce pro identifikaci nesprávného rozdělení.</p> <p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala IMGT/HLA v3.30.0.</p> <p>Sekce omezení softwaru byla rozšířena tak, aby odpovídala následujícím verzím softwaru: Twin 2.5.1 a Twin 3.0.0.</p>
v4	19 Oct 2018	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly IMGT/HLA v3.31.0.</p> <p>Sekce omezení softwaru byla rozšířena tak, aby odpovídala následujícím verzím softwaru: Twin 3.1.0 a Twin 3.1.1.</p> <p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: Omixon HLA Twin 2.1.3 a 2.1.4, IMGT/HLA 3.28.0_4.</p> <p>Byly odstraněny zvláštní příklady u situací, u kterých nebylo možné prokázat specifitu alely.</p> <p>Byla přidána další omezení statistického algoritmu genotypizace (Statistical Genotyping Algorithm).</p>
v5	14 Jan 2019	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly IMGT/HLA v3.32.0.</p> <p>Informace týkající se verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněná verze: IMGT/HLA 3.29.0.1_5.</p> <p>Části omezení testu byly rozšířeny o následující verzi testu: Holotype HLA v3.0.</p> <p>Formátování bylo změněno v části „Nejednoznačnosti ovlivňující expresi“ a byl přidán nový případ.</p> <p>K části HLA-DPB1 „Cis/Trans nejednoznačnosti“ byl přidán další případ.</p> <p>Další drobné změny a aktualizace.</p>



Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v6	26 Mar 2019	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala IMGT/HLA 3.32.0_7, 3.33.0_7 a 3.34.0_8.</p> <p>Sekce omezení softwaru byla rozšířena tak, aby odpovídala následující verzi softwaru: Twin 3.1.3.</p> <p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: Omixon HLA Twin 2.5.0, IMGT/HLA 3.30.0_5 a 3.31.0_5.</p> <p>Verze produktů ovlivněné nejednoznačností DQB1*03:276N byly opraveny a aktualizovány.</p> <p>Specifické příklady byly odstraněny z části nejednoznačností HLA-DPB1 Cis/Trans.</p> <p>Další drobné změny a aktualizace.</p>
v7	26 Apr 2019	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala IMGT/HLA 3.35.0_8.</p> <p>Byla aktualizována omezení statistického algoritmu genotypizace způsobená identickými oblastmi sekvencí na různých lokusech.</p> <p>Byla aktualizována omezení konsenzuálního algoritmu genotypizace týkající se nových INDELŮ.</p> <p>Byla upravena struktura části „Nejednoznačnosti prvního, druhého a třetího pole“.</p>
v8	19 Jul 2019	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly IMGT/HLA 3.36.0_8.</p> <p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: Omixon HLA Twin 2.5.1, IMGT/HLA 3.32.0_5, 3.32.0_7.</p> <p>Bylo přidáno omezení konsenzuálního algoritmu genotypizace ovlivňující HLA-DRB3.</p>
v9	08 Aug 2019	<p>Sekce omezení softwaru byla rozšířena tak, aby odpovídala následující verzi softwaru: Omixon HLA Twin 4.0.0</p> <p>Informace týkající se verzí softwaru starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněná verze: Omixon HLA Twin 3.0.0.</p> <p>Bylo přidáno omezení konsenzuálního algoritmu genotypizace ovlivňující HLA-DRB1.</p>
v10	16 Oct 2019	<p>Sekce omezení softwaru byla rozšířena tak, aby odpovídala následující verzi softwaru: Omixon HLA Twin 4.0.1.</p>



Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v11	19 Nov 2019	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly IMGT/HLA 3.37.0_8.</p> <p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: Omixon HLA Twin 3.1.0, IMGT/HLA 3.33.0_7.</p> <p>Omezení statistického algoritmu genotypizace a omezení související s nejednoznačností algoritmu konsenzuální genotypizace byly restrukturalizovány.</p>
v12	07 Jan 2020	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly IMGT/HLA 3.38.0_8.</p> <p>Sekce omezení softwaru byla rozšířena tak, aby odpovídala následující verzi softwaru: Twin 4.1.0.</p> <p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: IMGT/HLA 3.34.0_8.</p>
v13	26 Mar 2020	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly IMGT/HLA 3.38.0_9.</p> <p>Sekce omezení softwaru byla rozšířena tak, aby odpovídala následující verzi softwaru: Twin 4.2.0.</p> <p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: IMGT/HLA 3.35.0_8.</p> <p>Bylo přidáno omezení konsenzuálního algoritmu genotypizace ovlivňující poslední verze IMGT/HLA. Sekce omezení testu byla rozšířena o sporadicky se vyskytující specifický problém s falešnou pozitivitou DRB3/4/5 a jev specifický pro pracovní postup 3.0, „bílá sraženina“, a jeho navrhované řešení.</p>
v14	01 Jul 2020	<p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: IMGT/HLA 3.36.0_8, verze Omixon HLA Twin 3.1.1 a 3.1.3.</p> <p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly IMGT/HLA 3.39.0_9.</p> <p>Sekce omezení softwaru byla rozšířena tak, aby odpovídala následující verzi softwaru: Twin 4.2.2.</p> <p>Informace týkající se Holotype HLA v1 byly odstraněny, protože tato verze testu již není podporována.</p>
v15	07 Aug 2020	<p>Sekce omezení softwaru byly rozšířeny tak, aby odpovídaly následující verzi softwaru: Twin 4.3.0.</p> <p>Byla přidána některá omezení týkající se Twin verzí 4.1.0, 4.2.0 a 4.2.2.</p>







Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v16	05 Oct 2020	Informace týkající se verzí softwaru starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněná verze: Omixon HLA Twin 4.0.0.
v17	14 Jan 2021	<p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněná verze: Omixon HLA Twin 4.0.1, IMGT/HLA 3.37.0_8, 3.38.0_8 a 3.38.0_9.</p> <p>Sekce omezení softwaru byly rozšířeny tak, aby odpovídaly následující verzi softwaru: Omixon HLA Twin 4.4.0 (CE&RUO).</p> <p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byly aktualizovány tak, aby odpovídaly IMGT/HLA 3.40.0_9, 3.41.2_9 a 3.42.0_9, včetně omezené kompatibility verzí s Omixon HLA Twin.</p> <p>Bylo přidáno nové omezení algoritmu konsenzuální genotypizace, které ovlivňuje nové alely, kde je nová poloha přítomna v delecii v nulové alele, která je podobná této nové alele.</p>
v18	02 Mar 2021	<p>Informace týkající se verzí softwaru starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněná verze: Omixon HLA Twin 4.1.0.</p> <p>Sekce omezení softwaru byly rozšířeny tak, aby odpovídaly následující verzi softwaru: Omixon HLA Twin 4.4.1 (CE&RUO).</p> <p>Byla přidána dvě omezení ovlivňující verzi Omixon HLA Twin 4.4.0 (automatizovaná genotypizace není funkční, gene browser (prohlížeč genů) u některých novinek zobrazuje chybovou hlášku).</p>
v19	07 Jun 2021	<p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: Omixon HLA Twin 4.1.0, Omixon HLA Twin 4.2.0, IMGT/HLA 3.39.0_9 a IMGT/HLA 3.40.0_9.</p> <p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala IMGT/HLA 3.43.0_9.</p>
v20	16 Nov 2021	<p>Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: Omixon HLA Twin 4.2.2, Omixon HLA Twin 4.3.0, IMGT/HLA 3.41.2_9.</p> <p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala IMGT/HLA 3.44.1_9.</p> <p>Informace týkající se protokolu verze Holotype 2.1 (RUO&CE) a 2.2 (RUO) byly z dokumentu odstraněny, protože provoz těchto verzí produktu byl ukončen.</p>



Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v21	12 Jan 2022	Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: IMGT/HLA 3.42.0_9. Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala IMGT/HLA 3.45.1_9.
v22	07 Mar 2022	Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: IMGT/HLA 3.43.0_9 a Omixon HLA Twin 4.4.0 (CE&RUO). Sekce omezení softwaru byly rozšířeny tak, aby odpovídaly následující verzi softwaru: Omixon HLA Twin 4.6.0 (CE&RUO).
v23	30 Jun 2022	Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: IMGT/HLA 3.44.1_9 a Omixon HLA Twin 4.4.1 (CE&RUO). Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala IMGT/HLA 3.46.0_9 a 3.47.0_9. Zaměření tohoto dokumentu bylo rozšířeno o verzi protokolu Holotype HLA 3.0.2 (CE&RUO).
v24	14 Oct 2022	Zaměření tohoto dokumentu bylo rozšířeno o software Omixon HLA Twin 4.7.0 (RUO).
v25	06 Dec 2022	Drobné aktualizace související se zaměřením dokumentu (jasnější odlišení produktů CE a RUO). Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: IMGT/HLA 3.45.1_9, IMGT/HLA 3.46.0_9. Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala IMGT/HLA 3.48.0_9.
v26	17 Mar 2023	Informace týkající se softwaru a verzí IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců byly odstraněny. Ovlivněné verze: IMGT/HLA 3.47.0_9. Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala IMGT/HLA 3.49.0_9, IMGT/HLA 3.50.0_9 a IMGT/HLA 3.51.0_9. Zaměření tohoto dokumentu bylo rozšířeno o software Omixon HLA Twin 4.8.0. Byla přidána drobná omezení konsenzuálního algoritmu genotypizace a uživatelského rozhraní.



Verze	Datum odsouhlasení	Přehled změn
v27	 25 May 2023	<p>Informace o softwaru a verzích IMGT/HLA starších než 12+1 měsíc byly odstraněny. Dotčené verze: IMGT/HLA 3.48.0_9, Omixon HLA Twin 4.6.0 CE.</p> <p>Byly odstraněny informace o softwaru a verzích IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců. Dotčené verze: IMGT/HLA 3.48.0_9, Omixon HLA Twin 4.6.0 RUO.</p> <p>Rozsah dokumentu byl rozšířen o verzi Omixon HLA Twin 4.8.1.</p>
v28	 03 Aug 2023	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala databázi IMGT/HLA 3.52.0_9.</p> <p>Byly provedeny některé opravy v tabulce nejednoznačností (byla opravena nejednoznačnost DRB1*12:101, přidána nejednoznačnost DRB1*04 a provedeny další drobné opravy).</p> <p>Byly provedeny drobné změny ve formulacích u následujících omezení: Nesprávné rozfázování, Nejednoznačnost nebyla nahlášena</p>
v29	 22 Nov 2023	<p>Omezení týkající se databáze IMGT/HLA byla aktualizována tak, aby odpovídala databázi IMGT/HLA 3.53.0_10.</p> <p>Byly odstraněny informace o softwaru a verzích IMGT/HLA starších než 12+1 měsíc. Dotčené verze: IMGT/HLA 3.49.0_9</p> <p>Bylo přidáno omezení algoritmu konsenzuální genotypizace (hlášení nejednoznačností nevlastních nulových alel).</p> <p>Bylo přidáno omezení aminokyselinové stopy ovlivňující nové alely.</p>
v30	 28 Mar 2024	<p>Byly odstraněny informace o verzích softwaru a IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců. Dotčené verze: IMGT/HLA 3.50.0_9, IMGT/HLA 3.51.0_9 a Omixon HLA Twin 4.7.0 RUO.</p> <p>Byly odstraněny informace o verzích softwaru a IMGT/HLA starších než 12+1 měsíců. Dotčené verze: IMGT/HLA 3.50.0_9, IMGT/HLA 3.51.0_9.</p> <p>Rozsah dokumentu byl rozšířen o verzi Omixon HLA Twin 4.9.0.</p>