

# Les méthodes de typage HLA

## HLA typing methods

Vincent Elsermans<sup>1</sup>, Line Gwenda Guidicelli<sup>2</sup>, Alexandre Walencik<sup>3</sup>

RÉSUMÉ

Les méthodes de typage HLA (*Human Leukocyte Antigen*) n'ont cessé d'évoluer depuis la découverte du polymorphisme HLA au milieu du siècle dernier. Les techniques sérologiques initiales ont été complétées, et le plus souvent remplacées, par les techniques de biologie moléculaire de l'ADN. Il en existe de nombreuses, chacune avec ses avantages et ses inconvénients, permettant aux laboratoires de s'adapter à chaque problématique (résolution, vitesse, coût, réalisation en séries ou à l'unité, etc.). Cet article propose une vue générale des différentes méthodes utilisées actuellement.

**Mots-clés:** Nomenclature HLA – Niveau de résolution – Biologie moléculaire.

SUMMARY

HLA typing techniques have never stopped evolving since they appeared in the middle of the 20th century. Serological techniques were completed, sometimes replaced, by molecular techniques. They are many, each one with its own strengths and weaknesses, allowing HLA laboratories to adapt to each goal (level of resolution, cost, and work in series, etc.). This paper briefly describes an overview of the techniques used today.

**Keywords:** HLA nomenclature – Level of resolution – Molecular biology.

L'indication principale du typage HLA de classe I et de classe II est la recherche de compatibilité entre le donneur et le receveur dans le cadre de la transplantation d'organes ou de la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Le typage HLA peut aussi être réalisé en vue de transfusion de plaquettes ou de recherche de susceptibilité à une maladie ou d'hypersensibilité à un médicament (1).

Si la leucoagglutination sur lame a été la première technique à décrire un antigène leucocytaire dans les années 1950, elle a été rapidement suivie par la lymphocytotoxicité (LCT) dépendant du complément qui a permis de définir une grande partie des antigènes HLA que nous connaissons. Cependant, ce sont les techniques de biologie moléculaire qui vont révolutionner le typage et révéler l'immense polymorphisme du système HLA, donnant lieu à la coexistence de 2 nomenclatures : sérologique et moléculaire.

### Nomenclature du système HLA

Historiquement, la nomenclature découla de l'analyse sérologique de couples sérum/cellule et déboucha sur la classification antigénique du système HLA, organisée sous une forme simple associant le locus à des numéros classant les antigènes selon leur ordre de découverte.

Avec le temps et les ateliers (*workshop*) internationaux successifs d'échanges de ces réactifs, cette connaissance s'affina. Certains antigènes furent débaptisés, comme Bw4 et Bw6 qui en fait ne définissent que des épitopes distribués de façon mutuellement exclusive sur les véritables antigènes HLA-B. D'autres, nombreux, furent renommés après subdivision en constituants encore distinguables sérologiquement, créant plusieurs spécificités distinctes (parfois encore appelés "sous-types") à partir de ce qui devint de fait un "supertype", comme par exemple A23 et A24 issus de A9.

La biologie moléculaire (BM) de l'ADN apporta une complexité qui nécessita de modifier plusieurs fois cette nomenclature – la dernière fois en 2010 – afin de prendre en compte tous les aspects descriptifs d'un gène (2). Chaque allèle est nommé selon l'exemple HLA-A\*03:01:01:02N (*figure*) :

- ✓ le préfixe "HLA" suivi du locus concerné (-A, B, etc.) indique qu'il s'agit d'un des gènes codant pour un antigène d'histocompatibilité ;
- ✓ le symbole "\*" indique l'obtention du typage par BM par opposition à la sérologie ;
- ✓ le premier champ de 2 chiffres (on parle de "2 digits") correspond à un ensemble d'allèles codant pour des molécules HLA ayant une conformation similaire et généralement reconnues par un même anticorps (Ac). C'est le niveau de résolution dit "générique", comparable à celui que l'on obtient avec les techniques sérologiques,

<sup>1</sup> Laboratoire HLA, institut immunologie, centre de biologie pathologie, CHU de Lille.

<sup>2</sup> Laboratoire d'immunologie et immunogénétique, hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux.

<sup>3</sup> Établissement français du sang Pays-de-la-Loire, laboratoire HLA, Nantes.

et considéré suffisant dans le cadre de la transplantation d'organes ;

✓ le deuxième champ ("4 digits") définit chacun des allèles codant pour une séquence protéique différente mais appartenant au même groupe générique. Ce nombre de différences est petit (quelques acides aminés) entre 2 allèles, mais le nombre d'allèles différents peut être très grand au sein d'une même spécificité "2 digits";

✓ le troisième champ ("6 digits") correspond à un ensemble d'allèles codant pour une même protéine, ce qui signifie qu'ils ont des exons de séquence ADN identiques ou bien portant des mutations synonymes (du fait de la redondance du code génétique, dans lequel plusieurs codons peuvent mener au même acide aminé) ;

✓ le quatrième champ ("8 digits") tient compte des mutations situées dans les régions non traduites en 5' et 3'UTR, et introniques. À ce niveau est atteinte la résolution dite "allélique" qui permet d'identifier de façon certaine et unique un allèle tel qu'il est connu dans la base d'allèles IMGT (*international ImMunoGeneTics information system*)/HLA ;

✓ la désignation d'un allèle HLA peut éventuellement être complétée par un suffixe indiquant le niveau d'expression à la surface des cellules de la protéine codée par l'allèle considéré. Les plus fréquents sont les allèles dits "nuls" (N), correspondant à l'absence d'expression de la molécule HLA à la membrane cellulaire (molécule non produite ou produite sous forme tronquée). Actuellement, seuls les exons codant pour le site de fixation (sillon) du peptide sont pris en compte dans le

cadre de la compatibilité donneur/receveur en greffe de CSH. Ainsi, le typage HLA "haute résolution" définit l'ensemble des allèles codant pour des protéines exprimées possédant le même site de fixation du peptide ("exons clés" 2 et 3 pour les allèles HLA de classe I, "exon clé" 2 pour ceux de classe II).

Les allèles respectant ces conditions sont regroupés dans les groupes "P" pour "protéine" (3). Les groupes "G" (pour "gène") sont définis de façon similaire, mais regroupent les allèles ayant les mêmes séquences nucléotidiques au niveau des exons codant pour le sillon à peptide. Les ambiguïtés de typage plus ou moins nombreuses selon les méthodes utilisées peuvent aussi être regroupées sous forme d'un code

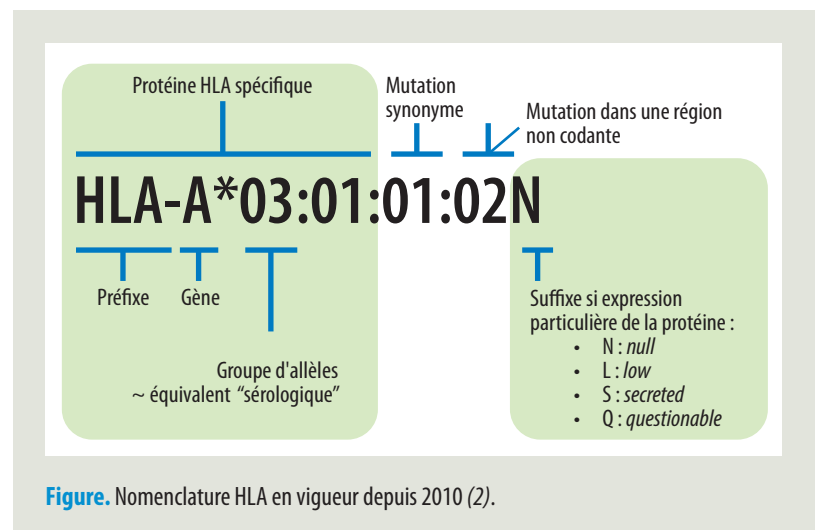


Figure. Nomenclature HLA en vigueur depuis 2010 (2).

Tableau. Comparaison des différentes techniques de typage HLA usuelles.

Technique	LCT	SSP et variantes	SSO Luminex®	SSO micropuces	SBT Sanger bi-allélique	SBT Sanger mono-allélique	NGS
Résolution	Sérologique	Basse/intermédiaire/haute	Intermédiaire/haute	Basse/intermédiaire	Haute	Haute	Très haute/allélique
Nombre d'échantillons	1 à 1	1 à 1	Séries	Séries	Petites séries	Petites séries	Séries
Délai de rendu	Rapide	Rapide	Moyen	Rapide	Lent	Moyen/lent	Moyen/lent
Coût	+	+++	++	++	+++	++++	++(+)
Avantage majeur	Détection des allèles nuls	Rapide	Bon débit et utilisable "au locus"	Bon débit et utilisable "au locus"	Description de nouveaux allèles	Description de nouveaux allèles	Débit et résolution, description de nouveaux allèles
Utilisations les plus répandues	De moins en moins employé	Donneur décédé (en urgence)	Receveur et donneur vivant	Receveur et donneur vivant	De moins en moins employé	De moins en moins employé	Receveur et donneur vivant

SSP : Sequence Specific Primers ; SSO : Sequence Specific Oligonucleotides ; NGS : Next Generation Sequencing ; SBT : Sequence Based Typing ; LCT : lymphocytotoxicité.

## Dossier

lettre défini par l'organisation NMDP (National Marrow Donor Program) remplaçant le deuxième champ. Les caractéristiques de méthodes de typages sont résumées dans le [tableau, p. 67](#).

### Typage HLA en méthode sérologique

La LCT est une technique de typage HLA sérologique fondée sur l'étude des antigènes à la surface des cellules, essentiellement des lymphocytes (4). Les lymphocytes totaux ou T pour un groupage de classe I, ou les lymphocytes B pour un groupage de classe II, sont isolés à partir d'un échantillon de sang, de ganglion ou de rate, puis distribués dans les puits d'une microplaque Terasaki pour être incubés avec une batterie d'Ac généralement monoclonaux depuis les années 1990, de spécificités anti-HLA connues et du complément de lapin. Si les lymphocytes expriment l'antigène reconnu par l'Ac spécifique, ce dernier se lie à la cellule pour former un complexe antigène-Ac. La cascade du complément est alors déclenchée, entraînant la lyse cellulaire. Le pourcentage de cellules lysées est estimé dans chaque puits à l'aide de colorants vitaux ajoutés en fin de réaction, le plus souvent un mélange de fluorochromes pour une lecture au microscope à fluorescence, plus sensible que la lecture en lumière blanche. Il est donc indispensable d'avoir au départ une très bonne viabilité cellulaire. Cette technique rapide et peu coûteuse est encore parfois utilisée pour le typage HLA en urgence des donneurs en état de mort encéphalique, ou dans le but de confirmer la présence d'un allèle nul non exprimé à la surface cellulaire, ou encore de résoudre les ambiguïtés avec les allèles nuls résiduels des techniques de BM. En revanche, elle n'est pas automatisée et requiert du personnel expérimenté. Les Ac de typage présentent souvent des réactions croisées avec d'autres spécificités HLA que leur antigène cible principal. Ainsi, l'interprétation peut s'avérer difficile notamment pour discriminer les antigènes de classe II, où parfois seul le supertype peut être déterminé. Les homozygoties (double dose d'un antigène) sont aussi souvent source d'erreurs, en exacerbant une réaction croisée avec un autre antigène proche et faisant penser à la présence d'une hétérozygotie. À l'inverse, une fausse homozygotie peut s'expliquer par des carences de certains Ac vis-à-vis de l'antigène, notamment s'il s'agit d'allèles peu fréquents contre lesquels la réactivité des Ac utilisés peut être insuffisante. Dans de nombreux cas, un contrôle en BM est donc utilisé pour confirmer et surtout pour affiner le typage.

### Typage HLA en biologie moléculaire de l'ADN

La BM a permis d'approfondir et d'améliorer la précision des typages HLA grâce à une meilleure discrimination entre et à l'intérieur des groupes antigéniques (on parle de résolution). Toute technique de BM requiert l'extraction de l'ADN des cellules (sang total, cellules triées, frottis buccaux, etc.) et commence par une PCR (réaction de polymérisation en chaîne pour amplifier en très grand nombre les séquences d'intérêt à partir de l'ADN du patient).

#### PCR-SSP (*Sequence Specific Primers*)

##### *Principe de la PCR-SSP "classique"*

Elle consiste en la réalisation de plusieurs PCR en parallèle dans plusieurs puits d'une plaque, chaque PCR différant des autres par la combinaison des amorces d'amplification (*primers*) utilisées (5). Chaque couple d'amorces est conçu pour n'amplifier qu'un nombre restreint d'allèles HLA connus (*Sequence Specific Primers* [SSP]). La présence ou l'absence de produit amplifié est révélée par électrophorèse (classique ou capillaire) avec un agent intercalant de l'ADN émettant une fluorescence sous une lampe à ultraviolets. La combinaison des puits positifs est spécifique d'un allèle ou d'un groupe d'allèles constituant le typage du patient.

Le typage peut être de basse résolution ou s'approcher de la haute résolution, selon le nombre de troupes et le nombre de puits utilisés. Généralement, le coût augmente avec le nombre de puits. En outre, comme les logiciels d'interprétation comparent le profil de positivité à une banque d'allèles connus à un instant donné, cette technique est incapable de décrire de nouveaux allèles, tout au plus obtiendra-t-on un profil aberrant sans solution.

Le plus souvent, la PCR-SSP ne peut analyser qu'un patient à la fois. Très manuelle, elle est plus adaptée au typage en urgence, notamment pour les donneurs d'organes, ou au typage ponctuel de deuxième intention, qu'aux grandes séries. Il faut souvent disposer d'une quantité assez importante d'ADN puisque chaque puits fait l'objet d'une PCR.

La PCR-SSP classique est une technique simple, robuste, nécessitant un minimum de matériel et relativement peu de temps de formation des opérateurs. Il s'agit d'une technique "de base" des laboratoires HLA, dont la place diminue cependant fortement depuis quelques années.

### Variantes modernes de la PCR-SSP

Plus récemment ont été développées des méthodes présentant quelques variations dans le mode de révélation, les rendant particulièrement adaptées au typage en urgence. Elles offrent la possibilité de typer davantage de loci en moins de temps, notamment grâce à l'utilisation d'un plus grand nombre de PCR (jusqu'à 384 puits, avec la possibilité d'associer plusieurs réactions différentes dans un seul puits, ou multiplexage). En revanche, elles nécessitent des appareils de PCR quantitative plutôt onéreux.

#### • Méthode des courbes de fusion

Chaque puits contient, en sus des amorces, un agent qui devient fluorescent uniquement lorsqu'il est lié à l'ADN double brin produit par la PCR. À la fin de l'amplification, la plaque est chauffée progressivement, permettant la séparation des brins d'ADN, lorsque la température atteint le point de fusion spécifique à chaque amplicon (car dépendant de sa séquence nucléotidique). Cette dissociation de l'ADN libère le fluorochrome qui n'émet plus de fluorescence. La chute brutale de fluorescence signe, pour ce puits et à cette température précise, la présence du produit amplifié attendu. En l'absence de produit amplifié, seul un amplicon contrôle positif (gène de ménage) est détecté, à une autre température. Comme pour la PCR-SSP classique, le niveau de résolution est directement lié au nombre de puits et de PCR effectuées.

#### • Révélation par sondes d'hydrolyse (sondes TaqMan)

Une sonde TaqMan est une séquence d'ADN portant un agent "reporter" fluorescent et un agent "quencher" (désactivateur) qui inhibe le reporter à l'état basal. Cette sonde, en se fixant spécifiquement à son ou à l'un de ses allèles cibles, amplifié(s) dans un puits, est dégradée par l'enzyme de PCR (Taq polymérase), permettant ainsi la libération du reporter, qui émet alors une fluorescence. Il est possible de combiner plusieurs sondes dans un même puits en utilisant des reporters différents. La révélation a lieu en point final (à la toute fin de la réaction) dans un lecteur dédié, ou en temps réel, à chaque cycle de PCR, dans un appareil de PCR quantitative.

### PCR-SSO (Sequence Specific Oligonucleotides)

#### Principe de la PCR-SSO

Les amorces sont ici "universelles" pour chaque locus HLA. L'une d'elles est marquée à la biotine. Les 2 allèles de chaque locus sont amplifiés en même temps ; il peut en résulter un déséquilibre par amplification préférentielle de l'un des 2. Les produits amplifiés, qui

sont donc biotinylés, sont ensuite dénaturés pour séparer les 2 brins d'ADN et hybrider le brin biotinylé avec des oligonucléotides de séquences connues attachés sur un support, historiquement des bandelettes de nitrocellulose. Après lavage des bandelettes, l'hybridation est révélée via une enzyme couplée à la streptavidine (ligand de la biotine) en présence d'un substrat de l'enzyme fournissant un produit coloré. Le profil d'hybridation obtenu permet de définir le typage pour chaque locus. Comme pour la SSP, cette technique n'est pas en mesure de décrire correctement les nouveaux allèles, car elle s'appuie sur une base de données de séquences connues permettant de définir les profils possibles. La résolution est proportionnelle au nombre de sondes employées par locus, à la spécificité de ces sondes pour un petit nombre d'allèles, et au nombre d'exons étudiés. Cette méthode est en fait une hybridation inverse (*reverse SSO* [rSSO]), car c'est le produit de PCR qui est marqué et non les sondes d'hybridation.

#### PCR-SSO sur micropuces

Le principe est identique, mais les dizaines/certaines d'oligonucléotides différents sont rangés au fond d'un puits de plaque à 96 puits, donc sur quelques millimètres carrés. L'avantage majeur de cette technique est de permettre l'automatisation pour de grandes séries, avec une cadence adaptée aux contraintes actuelles, grâce au format en microplaque de type ELISA. La résolution est basse, voire intermédiaire.

#### PCR-SSO par Luminex®

Ce système multiplex (6) est composé d'une part d'un mélange de billes de polystyrène (de 100 à 500 billes différentes selon la résolution du kit) chacune possédant une fluorescence propre et à la surface desquelles sont fixés un ou plusieurs oligonucléotides connus, et d'autre part d'un cytomètre en flux équipé de 2 lasers permettant l'identification de la bille et la détection des produits PCR qui s'y sont fixés. Chaque locus est amplifié en présence d'amorces "universelles" biotinylées. L'hybridation à la bille est révélée à l'aide d'un conjugué streptavidine/phycoérythrine. Cette technologie est aussi adaptée aux typages en série. Il existe une variante où la PCR est réalisée de façon asymétrique, amplifiant en excès le brin biotinylé par rapport à l'autre. La PCR n'est plus exponentielle, mais il n'est plus nécessaire de procéder à la dénaturation de l'ADN amplifié. Ce fournisseur propose ainsi un protocole d'amplification/hybridation réalisable en environ 2 heures, ce qui le rend compatible avec une utilisation en urgence.

## Dossier

### Limites des approches SSP et SSO

Ces méthodes ne permettent pas d'identifier de nouveaux allèles, seulement de déceler leur présence devant des profils de réactivités ininterprétables par le logiciel. Toutefois, il se peut qu'elles ne les détectent pas du tout. En effet, les polymorphismes situés en dehors des régions amplifiées à l'étape de PCR (exons non étudiés, régions des exons non appréhendées par les sondes d'hybridation SSO ou par les amorces de SSP) ne sont pas étudiés. L'augmentation continue du nombre de nouveaux allèles dans la base de données implique l'ajout régulier et incessant de nouvelles sondes en SSO ou de nouvelles amorces en SSP, dont le nombre risque à terme d'atteindre les limites de ces approches, en coût et/ou en maniabilité. Une technique de typage complémentaire sera donc toujours requise pour obtenir un typage complet en "haute résolution".

### Séquençage Sanger

Le séquençage consiste à analyser, base par base, la séquence ADN de tout ou partie d'un gène, généralement par fragments de quelques centaines de bases. Pour le HLA, l'étude est limitée généralement aux exons clés mais peut être étendue à d'autres régions, notamment pour éliminer les allèles nuls.

La méthode de Sanger est utilisée dans bien d'autres indications que le typage HLA et ne sera donc pas développée ici en détail. Seuls les aspects spécifiques au HLA sont abordés. Cette technique se déroule sur plusieurs jours et reste relativement complexe la rendant non applicable à l'urgence. Cette méthode permet la description de nouveaux allèles puisque la séquence de l'ADN est déterminée base par base.

### Séquençage biallélique

Une PCR initiale amplifie simultanément les 2 allèles d'un même locus. Par conséquent, lors de l'obtention de la séquence, de nombreuses hétérozygoties sont mises en évidence. Il est impossible de savoir si elles se situent en *cis* ou en *trans*, c'est-à-dire quelles sont celles localisées sur chaque allèle (on parle de "phase" des hétérozygoties) [7]. À chaque nouvelle variation d'une base, le nombre de séquences finales possibles est multiplié par 2, conduisant à un certain nombre d'ambiguïtés de typage. D'autres approches doivent donc être mises en œuvre pour réduire ces ambiguïtés. Le résultat final est donc en haute résolution, mais pas strictement de niveau allélique.

### Séquençage monoallélique

La première étape est une PCR-SSP de basse résolution afin d'amplifier dans chaque puits, pour chaque locus,

un nombre restreint d'allèles (8). Cela permet donc le plus souvent de séparer les 2 allèles dès la première étape, en identifiant les 2 spécificités présentes à chaque locus. Ces PCR initiales sont utilisées pour la réaction de séquence sur le principe de la méthode Sanger décrite précédemment. L'interprétation est grandement facilitée par l'absence d'hétérozygotie dans les produits séquencés, et la précision meilleure en diminuant le nombre d'ambiguïtés.

### Séquençage de nouvelle génération

La technologie de *Next Generation Sequencing* (NGS) génère des milliers de séquences monoalléliques ("reads") de courte longueur en simultané, et permet d'étudier ensemble de très nombreux gènes ou de mélanger des dizaines d'échantillons différents (9). Elle s'est démocratisée dans tous les domaines grâce à l'arrivée de séquenceurs de coût réduit et s'avère très efficace pour le typage HLA (10).

Tout processus de NGS débute par la sélection de la cible d'intérêt (les gènes HLA) et par la préparation de fragments de longueur adéquate possédant des adaptateurs caractéristiques qui permettent d'enclencher la réaction de séquence (la librairie). L'étude simultanée de plusieurs échantillons est possible grâce à l'insertion à l'extrémité de chaque fragment d'une séquence artificielle de quelques nucléotides appelée index ou code-barres pour les différencier. S'ensuit une étape d'amplification clonale permettant de garantir l'origine monoallélique du signal analysé puis le séquençage à proprement parler. Enfin, l'analyse des données est une étape importante et complexe (11).

Il existe plusieurs stratégies pour sélectionner la cible d'intérêt et préparer la librairie :

- ✓ soit seuls les exons clés des gènes HLA sont amplifiés par PCR, les longueurs de lecture actuelles des séquenceurs étant similaires à la taille d'un exon classique. Le typage HLA obtenu est alors seulement en "haute résolution". Surtout utilisée par les registres de donneurs volontaires de moelle osseuse, cette stratégie est essentiellement économique et permet ainsi de séquencer des centaines d'échantillons (12);

- ✓ soit de larges portions de gènes, voire les gènes HLA entiers sont amplifiés (13). Ils sont ensuite fragmentés, par exemple à l'aide d'enzymes, de manière aléatoire, pour préparer la librairie. Cette approche utilisée par la majorité des laboratoires HLA est techniquement plus longue et comporte de nombreuses étapes de purification et de réactions enzymatiques, l'insertion des index ou encore la sélection de la taille des fragments. L'analyse informatique est aussi plus complexe puisque les différents gènes HLA sont mélangés au sein

du même échantillon. Les logiciels doivent donc attribuer chaque "read" à son locus d'origine et reconstruire la séquence complète des allèles à partir des fragments générés séquencés en les réalignant et en comparant les séquences reconstituées à la base de référence IMGT/HLA pour déterminer le typage HLA du patient. Lors de l'analyse, il est aussi important de détecter certains défauts connus de la technique, comme la difficulté à distinguer un enchaînement de plusieurs nucléotides identiques (séquence homopolymère) ou encore l'amplification préférentielle d'un allèle au détriment du second (*drop out*). Au final, cette stratégie permet

d'aboutir à un niveau de résolution dit "allélique" (quatrième champ selon la nomenclature) à un débit inégalé de plusieurs dizaines d'échantillons à chaque série et sous un délai raisonnable de quelques jours.

Bien que récemment implémenté dans les laboratoires, le NGS n'en est qu'à son début, et de nouvelles méthodes se développent déjà, plus flexibles, plus rapides, éventuellement aptes à procéder au séquençage sans étape préalable d'amplification PCR (14), capables également d'obtenir des séquences beaucoup plus longues, même si les taux d'erreur restent pour l'instant importants (15).

V. Elsermans, L.G. Guidicelli et A. Walencik déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

## Références bibliographiques

- Cesbron-Gautier A, Gagne K, Retière C, Devys A, Bignon JD. Système HLA. EMC, Hématologie 2007, 13-000-M-53.
- Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens* 2010;75:291-455.
- Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JD et al. The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. *Nucleic Acids Res* 2015;43:D423-31.
- Terasaki PI, McClelland JD. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* 1964;204:998-1000.
- Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992;39:225-35.
- Cesbron-Gautier A, Simon P, Achard L, Cury S, Follea G, Bignon JD. Luminex technology for HLA typing by PCR-SSO and identification of HLA antibody specificities. *Ann Biol Clin (Paris)* 2004;62:93-8.
- Adams SD, Barracchini KC, Chen D et al. Ambiguous allele combinations in HLA Class I and Class II sequence-based typing: when precise nucleotide sequencing leads to imprecise allele identification. *J Transl Med* 2004;2:30.
- Dormoy A, Froelich N, Leisenbach R, Weschler B, Cazenave JP, Tongio MM. Mono-allelic amplification of exons 2-4 using allele group-specific primers for sequence-based typing (SBT) of the HLA-A, -B and -C genes: preparation and validation of ready-to-use pre-SBT mini-kits. *Tissue Antigens* 2003;62:201-16.
- Bentley G, Higuchi R, Hoglund B et al. High-resolution, high-throughput HLA genotyping by next-generation sequencing. *Tissue Antigens* 2009;74:393-403.
- Erich H. HLA DNA typing: past, present, and future. *Tissue Antigens* 2012;80:1-11.
- Gabriel C, Fürst D, Faé I et al. HLA typing by next-generation sequencing – getting closer to reality. *Tissue Antigens* 2014;83:65-75.
- Lange V, Böhme I, Hofmann J et al. Cost-efficient high-throughput HLA typing by MiSeq amplicon sequencing. *BMC Genomics* 2014;15:63.
- Lind C, Ferriola D, Mackiewicz K et al. Next-generation sequencing: the solution for high-resolution, unambiguous human leukocyte antigen typing. *Hum Immunol* 2010;71:1033-42.
- Pröll J, Fischer C, Michelitsch G, Danzer M, Niklas N. High-throughput sequencing of the major histocompatibility complex following targeted sequence capture. *Methods Mol Biol* 2017;1551:87-112.
- Albrecht V, Zweiniger C, Surendranath V et al. Dual redundant sequencing strategy: Full-length gene characterisation of 1056 novel and confirmatory HLA alleles. *HLA* 2017;90:79-87.

## AVIS AUX LECTEURS

Les revues Edimark sont publiées en toute indépendance et sous l'unique et entière responsabilité du directeur de la publication et du rédacteur en chef. Le comité de rédaction est composé d'une dizaine de praticiens (chercheurs, hospitaliers, universitaires et libéraux), installés partout en France, qui représentent, dans leur diversité (lieu et mode d'exercice, domaine de prédilection, âge, etc.), la pluralité de la discipline. L'équipe se réunit 2 ou 3 fois par an pour débattre des sujets et des auteurs à publier. La qualité des textes est garantie par la sollicitation systématique d'une relecture scientifique en double aveugle, l'implication d'un service de rédaction/révision in situ et la validation des épreuves par les auteurs et les rédacteurs en chef.

Notre publication répond aux critères d'exigence de la presse :

- accréditation par la CPPAP (Commission paritaire des publications et agences de presse) réservée aux revues sur abonnements,
- adhésion au SPEPS (Syndicat de la presse et de l'édition des professions de santé),
- indexation dans la base de données internationale ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors), partenariat avec la SFT,
- déclaration publique de liens d'intérêts demandée à nos auteurs,
- identification claire et transparente des espaces publicitaires et des publi-rédactionnels en marge des articles scientifiques.