

Come gestire e proporre il dato NGS al trapiantologo

NGS HLA Typing: utilizzo e utilità nell'era del TMO aplo

Gianni Rombolà

Immunogenetica, AOU Careggi, Firenze



Elena Garino

S.C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti U., Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino



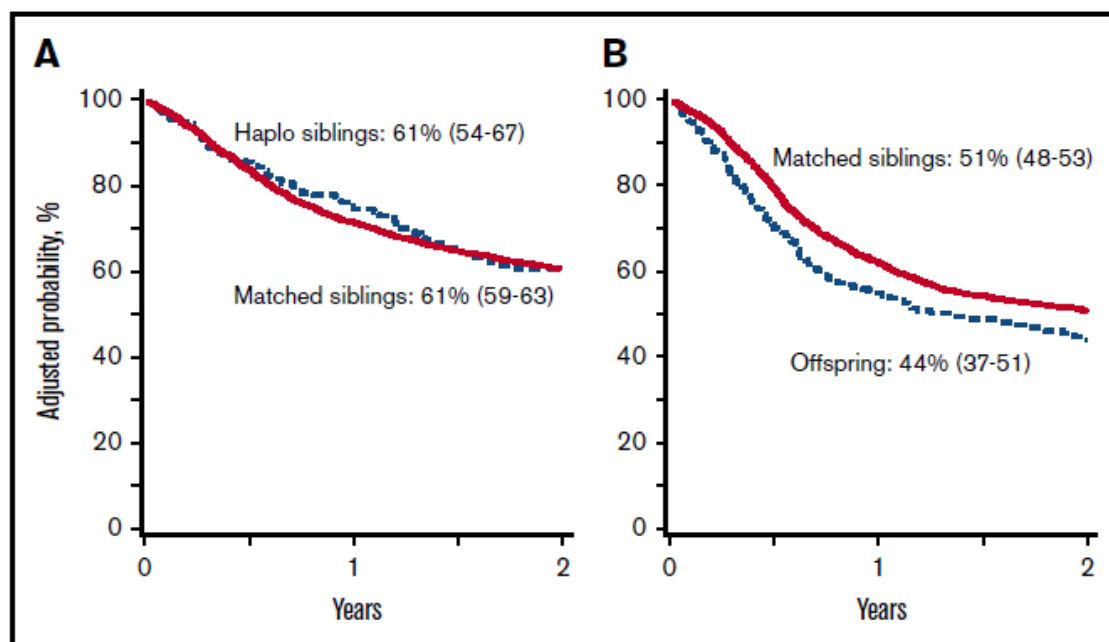
Related donor transplants: has posttransplantation cyclophosphamide nullified the detrimental effect of HLA mismatch?

Tara M. Robinson,^{1,*} Ephraim J. Fuchs,^{1,*} Mei-Jie Zhang,² Andrew St. Martin,³ Myriam Labopin,⁴ Daniel A. Keesler,³ Didier Blaise,⁵ Asad Bashey,⁶ Jean-Henri Bourhis,⁷ Fabio Ciceri,⁸ Stefan O. Ciurea,⁹ Steven M. Devine,¹⁰ Mohamad Mohty,⁴ Shannon R. McCurdy,¹ Noel Milpied,¹¹ Ian K. McNiece,¹² Vanderson Rocha,¹³ Rizwan Romee,¹⁴ Gerard Socie,¹⁵ Ibrahim Yakoub-Agha,¹⁶ Robert J. Soiffer,¹⁷ Mary Eapen,^{3,†} Amon Nagler,^{18,†} on behalf of the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplant and the Center for International Blood and Marrow Transplant Research

Key Points

- Patient age, 18 to 54 years: comparable survival after transplants from an HLA-matched sibling and a haploidentical sibling.
- Patient age, 55 to 76 years: better survival after transplants from an HLA-matched sibling compared with offspring.

Figure 3. Overall survival. (A) The 2-year probability of overall survival after transplantation of grafts from haploidentical sibling (61%; 95% CI, 54-67) and HLA-matched sibling (61%; 95% CI, 59-63); $P = .99$. (B) The 2-year probability of overall survival after transplantation of grafts from offspring (44%; 95% CI, 37-51) and HLA-matched sibling (51%; 95% CI, 48-53); $P = .003$.



Outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from HLA-matched and alternative donors: a European Society for Blood and Marrow Transplantation registry retrospective analysis

	Cases	Estimate (95% CI)			FDR-adjusted Cox p value	
		Epoch 1 (2001-05)	Epoch 2 (2006-10)	Epoch 3 (2011-15)	Epoch 1 vs 2	Epoch 2 vs 3
3-year overall survival	106 188	46.3% (45.6-47.0)	48.7% (48.2-49.3)	50.5% (49.9-51.0)	<0.0001	<0.0001
Matched sibling	45 489	51.2% (50.4-52.1)	54.0% (53.1-54.8)	54.6% (53.6-55.6)	0.0005	0.0083
Matched unrelated	24 939	46.0% (42.5-49.8)	49.1% (48.0-50.2)	51.6% (50.7-52.6)	0.25	<0.0001
Mismatched unrelated	7722	41.4% (37.3-45.9)	37.4% (35.7-39.2)	41.3% (39.5-43.1)	0.34	0.0033
Haploidentical	4174	23.0% (18.5-28.7)	34.5% (31.4-37.9)	44.2% (42.1-46.3)	0.46	0.0033
Cord blood	3130	37.1% (31.9-43.2)	36.3% (33.9-39)	43.7% (40.8-46.8)	0.46	0.0086
3-year non-relapse mortality	105 332	27.2% (26.5-27.8)	25.3% (24.9-25.8)	23.5% (23.1-24.0)	<0.0001	<0.0001
Matched sibling	45 094	22.6% (21.9-23.4)	19.8% (19.2-20.5)	18.1% (17.4-18.8)	<0.0001	<0.0001
Matched unrelated	24 825	24.4% (20.4-28.2)	26.3% (25.3-27.3)	24.8% (24.1-25.6)	0.081	<0.0001
Mismatched unrelated	7685	31.3% (26.2-36.0)	36.6% (34.8-38.3)	33.4% (31.7-35.0)	0.82	0.028
Haploidentical	4142	59.3% (42.4-71.2)	39.8% (36.1-43.3)	27.3% (25.5-29.0)	0.12	0.0033
Cord blood	3105	38.4% (31.4-44.7)	34.1% (31.5-36.5)	33.0% (30.1-35.8)	0.16	0.15
3-year relapse incidence	105 332	34.0% (33.3-34.7)	33.6% (33.1-34.2)	34.1% (33.6-34.6)	0.045	0.46
Matched sibling	45 094	34.5% (33.6-35.3)	35.6% (34.8-36.4)	36.8% (35.9-37.8)	0.47	0.44
Matched unrelated	24 825	37.1% (32.5-41.4)	31.8% (30.7-32.8)	31.0% (30.1-31.8)	0.45	0.36
Mismatched unrelated	7685	35.8% (30.2-40.9)	30.6% (28.9-32.3)	32.4% (30.7-34.0)	0.069	0.33
Haploidentical	4142	21.8% (12.3-30.2)	31.6% (28.0-35.0)	33.2% (31.3-35.1)	0.051	0.87
Cord blood	3105	30.8% (23.8-37.2)	34.7% (32.2-37.2)	28.7% (25.8-31.6)	0.85	0.0001



	2006-2010	2011-2015
SIBLING	54.0	54.6
MUD	49.1	51.6
MMUD	37.4	41.3
HAPLO	34.5	44.2
CBU	36.3	43.7

3Y-OS
DUE TO
NRM

NONETHELESS, THE TRADITIONAL HIERARCHY OF
MATCHED SIBLING DONORS
FOLLOWED BY MATCHED UNRELATED DONORS
AND THEN OTHER DONORS HOLDS

A Overall survival

	Patients (events)		HR (95% CI)	p value
Low risk				
Matched unrelated	12 114 (4296)		1.22 (1.16-1.28)	<0.0001
Mismatched unrelated	3406 (1504)		1.61 (1.50-1.73)	<0.0001
Haploidentical	1380 (552)		1.44 (1.29-1.60)	<0.0001
Cord blood	711 (318)		1.62 (1.43-1.84)	<0.0001
Intermediate risk				
Matched unrelated	5899 (2431)		1.12 (1.05-1.20)	0.0004
Mismatched unrelated	1551 (793)		1.54 (1.41-1.68)	<0.0001
Haploidentical	851 (359)		1.40 (1.24-1.57)	<0.0001
Cord blood	437 (225)		1.49 (1.30-1.72)	<0.0001
High risk				
Matched unrelated	3011 (1718)		1.08 (0.99-1.17)	0.067
Mismatched unrelated	912 (608)		1.34 (1.20-1.49)	<0.0001
Haploidentical	778 (554)		1.44 (1.29-1.61)	<0.0001
Cord blood	179 (124)		1.44 (1.18-1.74)	0.0003

SIBLING AND MUD
DO IT BETTER



B Non-relapse mortality

	Patients (events)		HR (95% CI)	p value
Low risk				
Matched unrelated	12 073 (2520)		1.45 (1.34-1.56)	<0.0001
Mismatched unrelated	3384 (951)		2.08 (1.89-2.28)	<0.0001
Haploidentical	1366 (342)		1.75 (1.53-2.00)	<0.0001
Cord blood	708 (214)		2.16 (1.84-2.53)	<0.0001
Intermediate risk				
Matched unrelated	5876 (1172)		1.35 (1.23-1.49)	<0.0001
Mismatched unrelated	1538 (436)		2.08 (1.84-2.34)	<0.0001
Haploidentical	848 (205)		1.82 (1.55-2.14)	<0.0001
Cord blood	437 (129)		2.00 (1.65-2.41)	<0.0001
High risk				
Matched unrelated	2998 (764)		1.23 (1.08-1.39)	0.0016
Mismatched unrelated	907 (279)		1.61 (1.37-1.89)	<0.0001
Haploidentical	770 (220)		1.60 (1.35-1.91)	<0.0001
Cord blood	179 (59)		1.94 (1.46-2.58)	<0.0001

DUE TO NRM



C Relapse

	Patients (events)		HR (95% CI)	p value
Low risk				
Matched unrelated	12 073 (2595)		0.89 (0.84-0.95)	0.0003
Mismatched unrelated	3384 (747)		0.97 (0.89-1.07)	0.58
Haploidentical	1366 (274)		0.83 (0.73-0.96)	0.011
Cord blood	708 (141)		0.86 (0.72-1.03)	0.11
Intermediate risk				
Matched unrelated	5876 (1728)		0.86 (0.80-0.92)	<0.0001
Mismatched unrelated	1538 (458)		0.92 (0.83-1.03)	0.16
Haploidentical	848 (215)		0.85 (0.74-0.99)	0.033
Cord blood	437 (118)		0.87 (0.72-1.05)	0.14
High risk				
Matched unrelated	2998 (1171)		0.91 (0.83-1.00)	0.059
Mismatched unrelated	907 (385)		1.02 (0.89-1.16)	0.82
Haploidentical	770 (366)		1.14 (1.00-1.30)	0.053
Cord blood	179 (75)		0.94 (0.73-1.20)	0.60

RELAPSE IS THE DEVIL



Shouval, Lancet Hem, 2019

Selection of unrelated donors and cord blood units for hematopoietic cell transplantation: guidelines from the NMDP/CIBMTR

Table 1. Guidelines for unrelated donor selection

	Multiple HLA-A, HLA-B, HLA-C, and HLA-DRB1 (8/8) HLA matched unrelated donors available	8/8 match unavailable; multiple 7/8 unrelated donors available
1. Resolution of typing HLA-A, HLA-B, HLA-C, and HLA-DRB1	High-resolution, matches for ARDs	High-resolution matches for ARDs for 7 matched alleles; Select HLA-C*03:03 vs C*03:04 mismatch, if present; No other preference for mismatched loci (HLA-A/B/C/DRB1) or other allele combinations
2. Donor age	Select donors of younger age	Select donors of younger age
3. Permissive mismatching HLA-DPB1	Select matched/permissive DPB1 mismatch based on the algorithm developed by Crivello et al ^{68,70} (http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/ipd/imgt/hla/dpb_v2.cgi)	Select matched/permissive DPB1 mismatch based on the algorithm developed by Crivello et al ^{68,70} (http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/ipd/imgt/hla/dpb_v2.cgi)
4. Matching HLA-DRB3/4/5 and HLA-DQB1	Minimize mismatches	Minimize mismatches
5. Vector of mismatch	N/A	Select donor with single allele mismatched at patient's homozygous locus (HLA-A/B/C/DRB1), if applicable
6. DSA in patient	Avoid mismatches of allotypes targeted by DSAs, including DQA1 and DPA1	Avoid mismatches of allotypes targeted by DSAs, including DQA1 and DPA1
7. Transplant center practice may differ in additional considerations to use in the selection among multiple donors equivalent for the characteristics above		

The effect of donor characteristics on survival after unrelated donor transplantation for hematologic malignancy

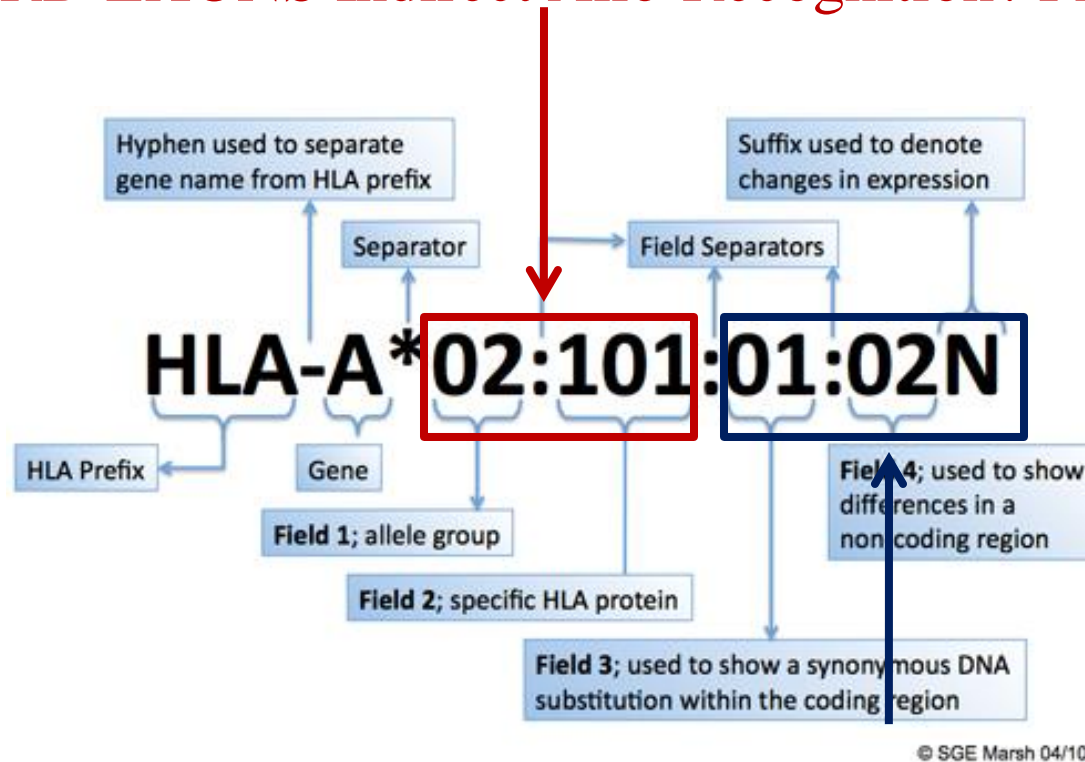
Table 3. Donor characteristics associated with mortality and GVHD for transplantation period 1988 to 2006

Outcome	HR (95% CI)	P value
Overall mortality*		
Donor age, years		<.001
≤32	1.00	
33 to 50	1.13 (1.05-1.20)	<.001
>50	1.29 (1.14-1.46)	<.001
Donor-recipient HLA-match		<.001
8/8 HLA-match	1.00	
7/8 HLA-match	1.24 (1.15-1.34)	<.001
6/8 HLA-match	1.62 (1.47-1.79)	<.001
5/8 or lower HLA-match	1.89 (1.67-2.15)	<.001
Blood group ABO match		.001
ABO matched	1.00	
ABO minor mismatch	1.10 (1.01-1.18)	.002
ABO major mismatch	1.13 (1.05-1.21)	.001

Table 4. Other factors associated with overall mortality

Outcome	HR (95% CI)	P value
Overall mortality		
Recipient age, years		<.001
<18	1.00	
18 to 45	1.42 (1.29-1.57)	<.001
>45	1.83 (1.64-2.05)	<.001
Recipient cytomegalovirus serostatus		<.001
Seronegative	1.00	
Seropositive	1.24 (1.15-1.34)	<.001
Performance score		<.001
90 to 100	1.00	
<90	1.27 (1.19-1.37)	<.001
Disease		<.001
Acute leukemia	1.00	
Chronic myeloid leukemia	0.86 (0.78-0.94)	.001
Myelodysplastic syndrome	0.79 (0.70-0.88)	<.001
Disease status at transplantation		<.001
1st CR/CP/RA	1.00	
2nd CR/CP/AP	1.29 (1.19-1.39)	<.001
Relapse/blast phase/RAEB	2.10 (1.93-2.27)	<.001
Transplant period		<.001
2004 to 2006	1.00	
1988 to 2003	1.22 (1.12-1.33)	<.001

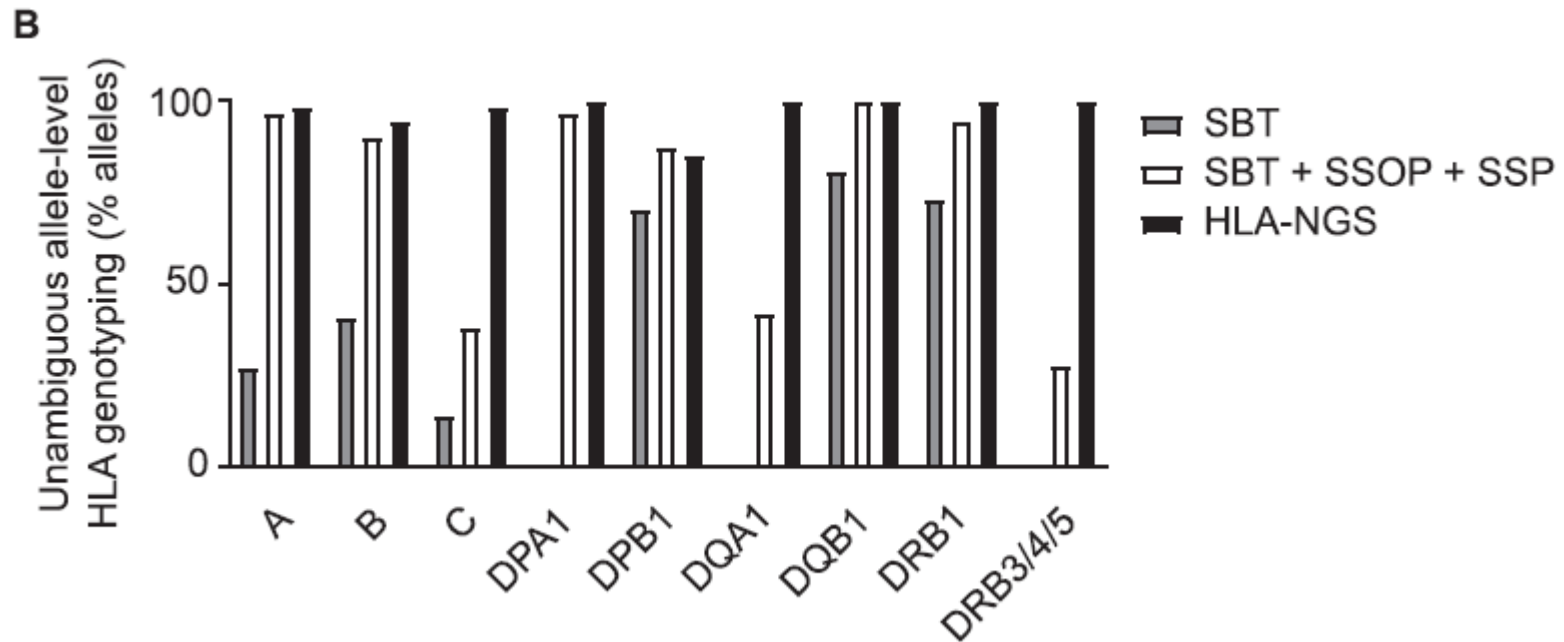
ARD EXONS Direct Allo-Recognition: PHASING
NON-ARD EXONS Indirect Allo-Recognition? PIRCHE?



INTRONIC AND UTR: REGULATORY?
NULL ALLELES. Different expression?
Haplotype- or Super-Match?

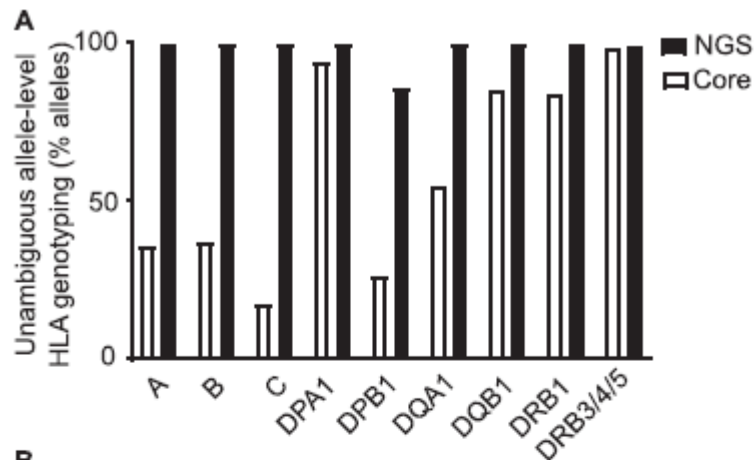
NGS ALLELE TYPING

Improved accuracy of clinical HLA genotyping by next-generation DNA sequencing affects unrelated donor search results for hematopoietic stem cell transplantation

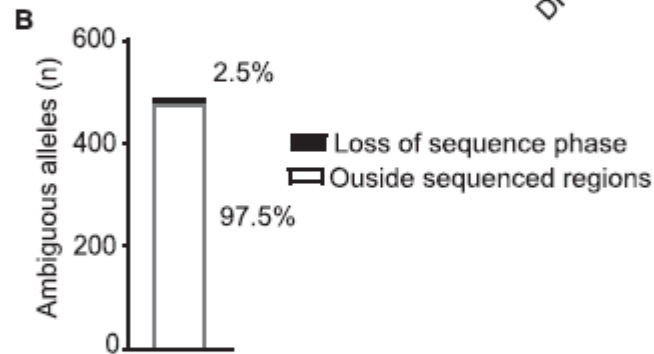


NGS PHASE: MUCH LESS AMBIGUITIES

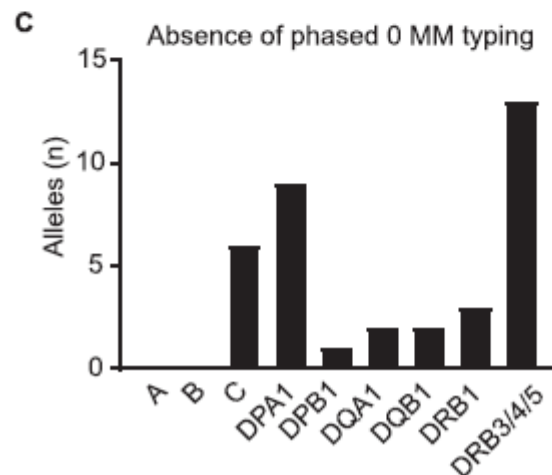
Allen, Hum Imm 2018



NGS vs. CORE



MOST AMBIGUITIES
OUTSIDE SEQUENCED REGIONS



HLA-AB PHASED 0 MM TYPING!

Allen, Hum Imm 2018

NMDP

Table 1

Differences in NMDP search results from discrepant imputed HLA genotype from HLA-NGS and de-resolved HLA typing.

HLA gene						Probability of NMDP match*			
	A	B	C	DRB1	DQB1	8/8	7/8	10/10	9/10
NGS	11:02	35:01	04:01	11:01	03:01	0.999	0.999	0.999	0.999
	24:02	51:01	15:02	13:01	06:03				
Core	11:CJB	35:AZCRC	04:FEX	11:AZCRA	03:01	0.295	0.999	0.029	0.295
	24:BG	51:AZCRD	15:EDF	13:AZCRB	06:03				
NGS	01:01	08:01	07:01	03:01	02:01	0.995	0.999	0.995	0.999
	30:02	52:01	12:02	11:01	03:01				
Core	01:01	08:01	07:WTR	03:AE	02:AC	0.870	0.999	0.867	0.988
	30:02	52:01	12:02	11:AD	03:AD				
NGS	01:01	08:01	03:03	03:01	02:01	0.999	0.999	0.999	0.999
	02:01	15:01	07:01	11:01	03:01				
Core	01:BAFH	08:FXBX	03:03	03:AE	02:AC	0.999	0.999	0.999	0.999
	02:NMV	15:HVHV	07:WTR	11:AD	03:AD				
NGS	02:01	08:01	02:02	11:01	03:01	0.991	0.999	0.991	0.999
	68:01	51:01	07:01	13:01	06:03				
Core	02:EXG	08:AC	02:02	11:AZCRB	03:01	0.887	0.999	0.887	0.997
	68:GRH	51:BKWR	07:WTR	13:01	06:03				

* Probability of identification of 8 allele (A, B, C, DRB1) or 10 allele (A, B, C, DRB1, DQB1) potentially matched donors from NMDP registry.

BETTER MUD SEARCH!

Allen, Hum Imm 2018

Very low error rates of NGS-based HLA typing at stem cell donor recruitment question the need for a standard confirmatory typing step before donor work-up

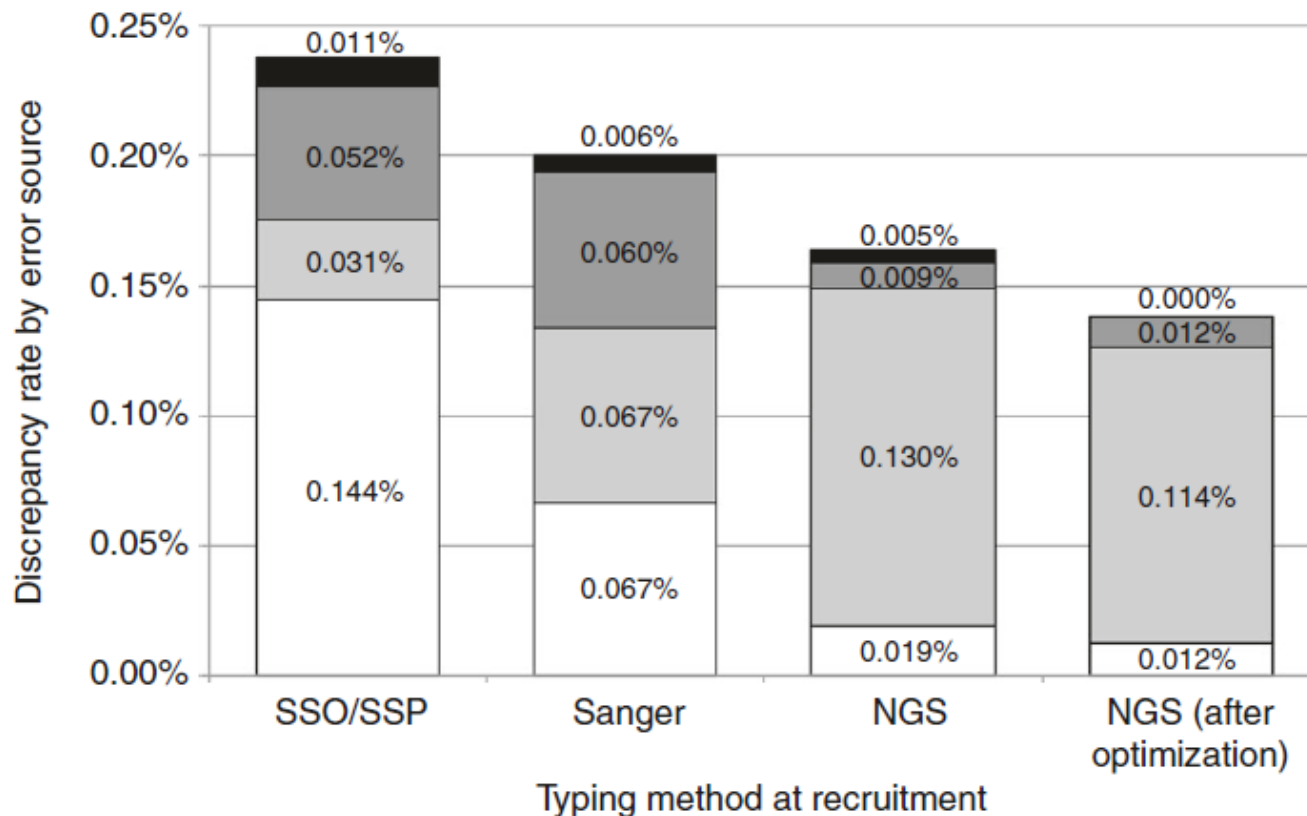


Fig. 1 Discrepancy rates by typing method at donor recruitment and by error source. White: typing at recruitment erroneous. Light gray: CT erroneous. Dark gray: sample switch. Black: error source unresolved

NULL ALLELES

>0.3% , HIGHLY CLINICALLY RELEVANT

Elsner, Tissue Ant 2004

Table 3. The frequency of HLA null alleles including HLA-DRB3/4/5 genes

	Allele	Frequency
1	DRB4*01:03:01:02N	0.03572
2	C*04:09N	0.00052–0.00142
3	DRB4*03:01N	0.00019
4	DRB5*01:08N	0.00013
5	B*51:11N	0.00011–0.00019
6	A*24:09N	0.00012
7	A*01:04N	0.00011

Furst, Transf Med Hemoth 2019

2.7 million samples genotyped for HLA by next generation sequencing: lessons learned

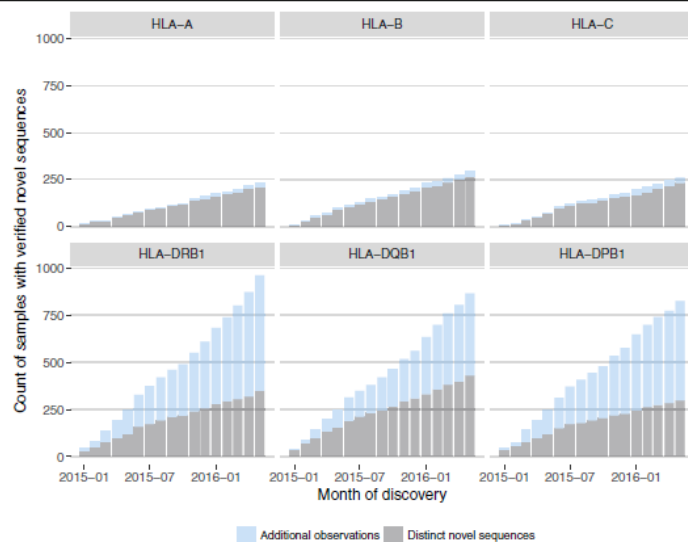


Fig. 11 The cumulative numbers of novel HLA alleles discovered between January 2015 and May 2016 during routine genotyping of exons 2 and 3. All allelic sequences were verified by replicate typing using an independent PCR reaction. Grey shades denote distinct novel sequences; blue shades denote additional samples with previously observed novel sequences

Locus	Samples	Total novel alleles	Distinct novel alleles
HLA-A	1.43 M	248	230
HLA-B	1.43 M	325	293
HLA-C	1.43 M	285	255
HLA-DRB1	1.43 M	1011	364
HLA-DQB1	1.43 M	941	464
HLA-DPB1	1.43 M	864	313

NGS TYPING: NEW ALLELES

DKMS: 1,919 OUT OF 1.4 MILLIONS DONORS

The conundrum of HLA-DRB1*14:01/*14:54 and HLA-DRB3*02:01/*02:02 mismatches in unrelated hematopoietic SCT

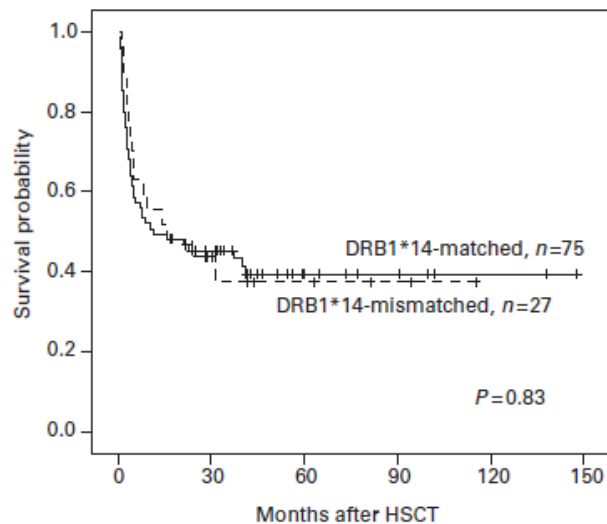


Figure 1 OS by HLA-DRB1*14 matching.

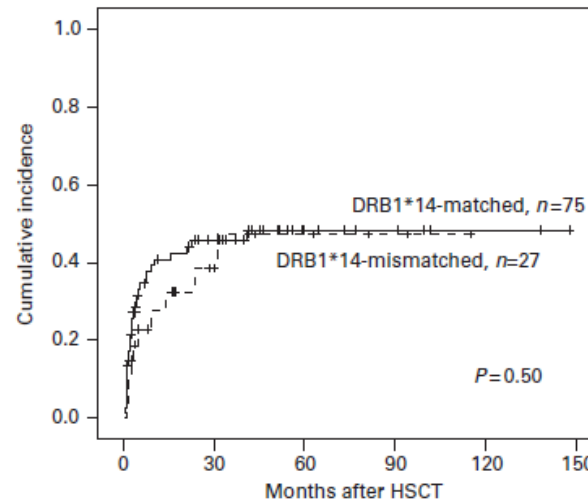


Figure 2 TRM by HLA-DRB1*14 matching.

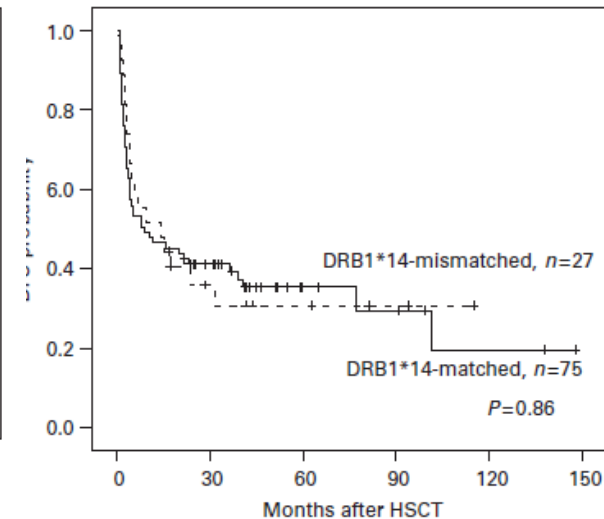


Figure 3 Disease-free survival by HLA-DRB1*14 matching.

AMBIGUITIES IN EXONS OUTSIDE ARD:
USE P GROUP? (be careful of null alleles)

ALLELE MATCH FOR IBMDR SEARCH

Sesso	Peso	Diagnosi	Protocollo											
M	75	Mielodisplasia alto rischio												
<a>Nascondi dati HLA Paziente														
Tipizzazione HLA del paziente														
A*	B*	C*	DRB1*	DRB3*	DRB4*	DRB5*	DQA1*	DQB1*	DPA1*	DPB1*				
02:05:01	15:03P	05:01:01	11:01:01	02:02:01			05:05:01	03:01:01		04:01:01				
32:01:01	44:02:01	12:03:01	11:04:01											
Tipizzazione HLA del paziente al Test di conferma								Eseguito il 05/08/2019						
A*	B*	C*	DRB1*	DRB3*	DRB4*	DRB5*	DQA1*	DQB1*	DPA1*	DPB1*				
02:05	15:03P	05:01	11:01				05:05	03:01		04:01				
32:01	44:02	12:03	11:04											
<a>Selezione Donatore														
<a>Dati Donatore														
Tipizzazione HLA al Test di conferma del donatore								Eseguito il 27/09/2019						
A	B	C	A*	B*	C*	DRB1*	DRB3*	DRB4*	DRB5*	DQA1*	DQB1*	DPA1*	DPB1*	
			02:05	15:03P	05:01	11:01					03:01			
			32:01	44:02	12:03	11:04								
Tipizzazione HLA da Registro del donatore CY1045744D														
A	B	C	DR	A*	B*	C*	DRB1*	DRB3*	DRB4*	DRB5*	DQA1*	DQB1*	DPA1*	DPB1*
				02:05	15:03P	05:01	11:01					03:01		642:01
				32:01	44:02	12:03	11:04							796:01

DRB1*14:01 match with *14:01P and *14:54

Phase-defined complete sequencing of the HLA genes by next-generation sequencing

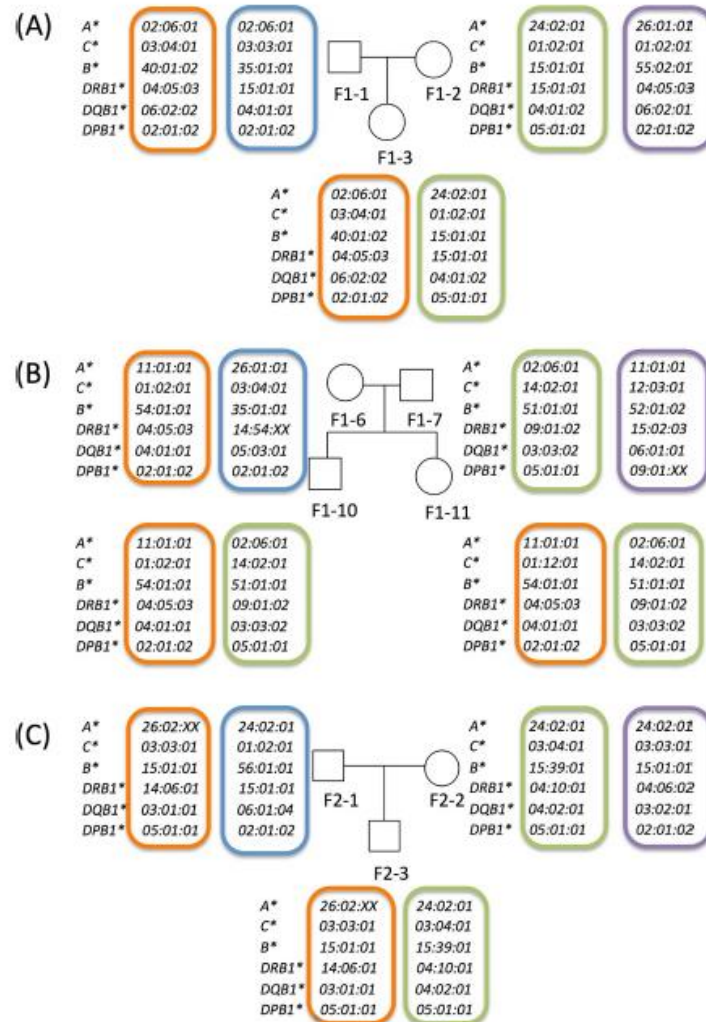


Figure 3 The HLA alleles and HLA haplotypes in two trio (A and C) one quartet (B) families. Each individual in child-parents families was sequenced as described. Each HLA gene call was consistent with the hereditary pattern. HLA allele was inferred by the IMG/HLA database and shared between parents and child(ren) with consistent pattern and without recombination.

Assessment by Extended-Coverage Next-Generation Sequencing Typing of DPA1 and DPB1 Mismatches in Siblings Matching at HLA-A, -B, -C, -DRB1, and -DQ Loci

Table 1
Analysis of Potential Recipient–Matching Donor Pairs

	No. of Cases (%)
Recipient–donor pair	306 (100)
Matching A/B/C/DRB1/DQA1/DQB1/ DRB3/4/5/DPA1/DPB1	288 (94)
One mismatch in A/B/C/DRB1/DQB1	9 (2.9)
DPB1 mismatch	6 (1.9)

Table 2
DPB1 Mismatched Cases

Patient	DPA1 Mismatch	Mismatch in Other LEL	TCE Algorithm	Direction	Another MSD Typed	Transplant	Donor
1	Yes	No	Permissive		No	Yes	mmDP sibling
2	Yes	No	Nonpermissive	HVG	No	Yes	mmDP sibling
3	Yes	No	Permissive		No	No	—
4	Yes	No	Permissive		No	No	—
5	No	No	Permissive		No	No	—
6	Yes	No	Nonpermissive	GVH	No	Yes	Haplo sibling

LEL indicates low expression loci (DRB3/4/5, DQA1/DQB1, DPA1/DPB1); TCE, T-cell-epitope; MSD, matched sibling donor; mmDP, DP mismatch; HVG, host-versus-graft; GVH, graft-versus-host.

(DP) CROSSING-OVER

Mariano, BBMT 2019

**NGS ALLELE TYPING: BETTER HAPLOTYPE
SEGREGATION IN NON-INFORMATIVE
FAMILIES (HOMOZIGOSITY, PARENTS NON AVAILABLE OR
WITH HIGH HOMOLOGIE) FOR MATCHED SIBLING
AND HAPLO BMT**

Assessing the utilization of high-resolution 2-field HLA typing in solid organ transplantation

3.1 | Category 1: Pretransplant allele-specific antibodies

3.2 | Category 2: Identification of possible anti-self HLA antibodies

3.3 | Category 3: Facilitate the interpretation of crossmatch results

3.4 | Category 4: Identify the best match in living donation

3.5 | Category 5: Facilitate bead selection to monitor DSAs

RETROSPECTIVE NGS
TYPING WAS HIGHLY
INSTRUCTIVE OR
NECESSARY IN 41% (156/385)
CASES OF SOLID ORGAN
TRANSPLANT

Huang, AJT 2018

DSA EPITOPE ANALYSIS VS.
UNAMBIGUOUS NGS TYPING
IN SOLID ORGAN TRANSPLANTATION

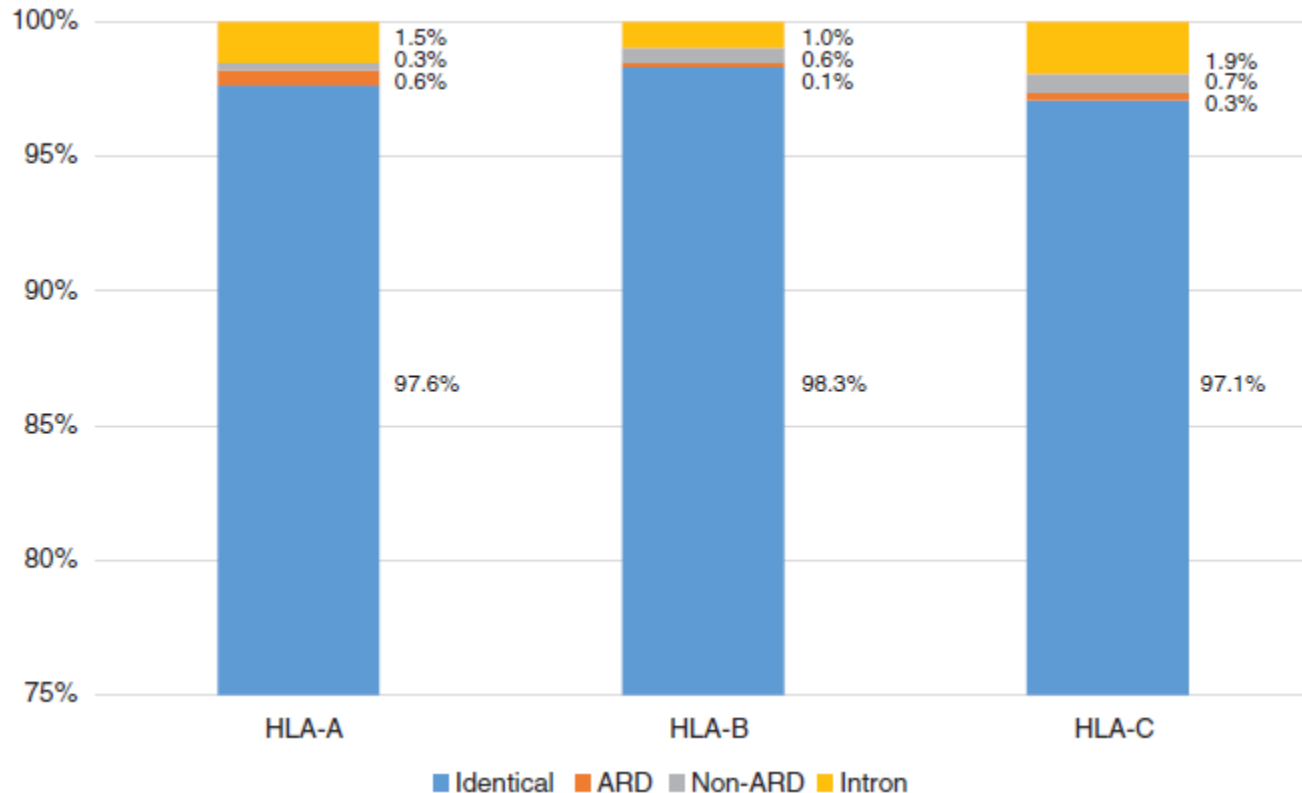
Limited HLA sequence variation outside of antigen recognition domain exons of 360 10 of 10 matched unrelated hematopoietic stem cell transplant donor-recipient pairs

Table 2 Summary of mismatches between D and R alleles

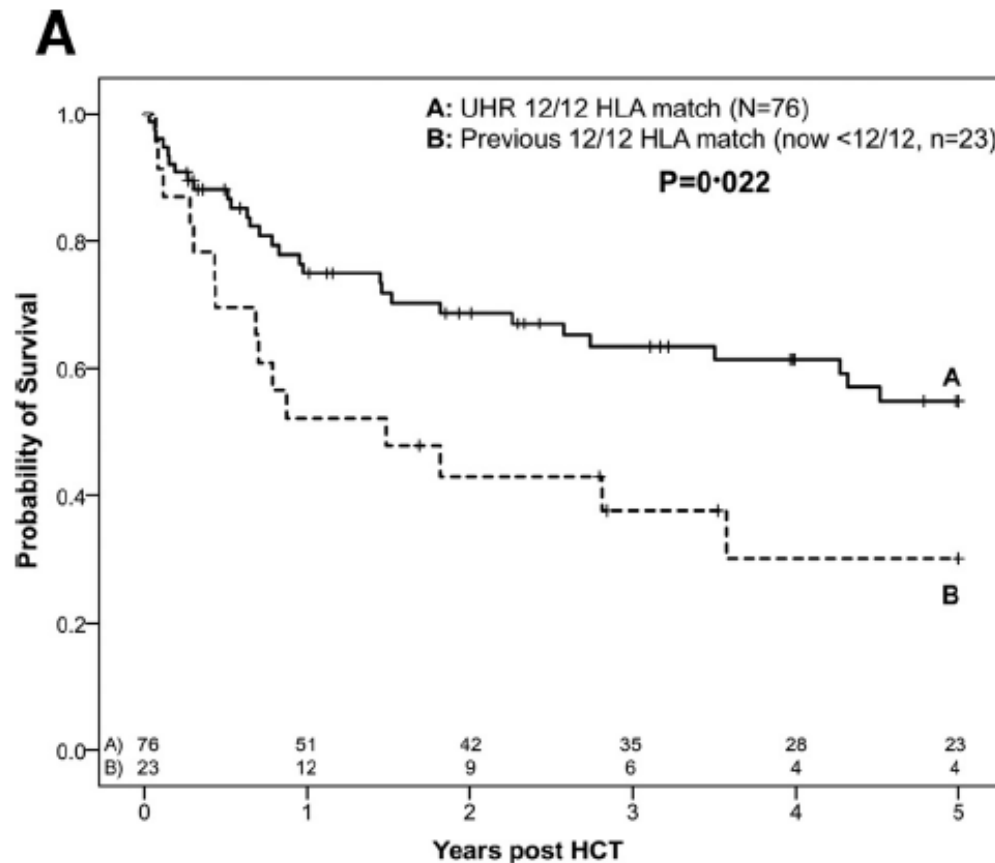
HLA locus	D and R Identical No. allele pairs	D and R differ				
		No. allele pairs				
		ARD exon		Non-ARD exon		Noncoding region
		Nonsynonymous	Synonymous	Nonsynonymous	Synonymous	
A	703	0	4	2	0	11
B	708	1	0	3	1	7
C	699	0	2	4	1	14
DRB1	709	0	0	2	0	9
DQA1	715	1	0	4	0	Not evaluated
DQB1	719	1	0	0	0	Not evaluated
Total	4253	3	6	15	2	41

ARD, antigen recognition domain; HLA, human leukocyte antigen.

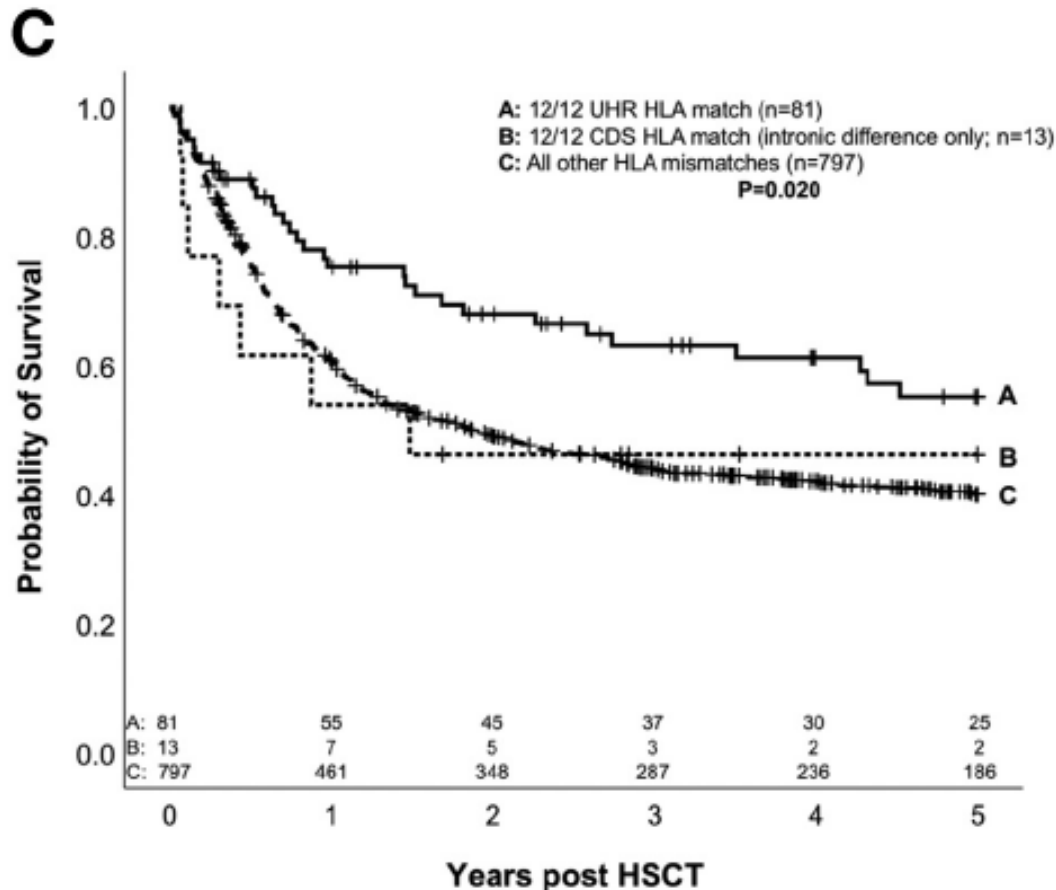
Limited HLA sequence variation outside of antigen recognition domain exons of 360 10 of 10 matched unrelated hematopoietic stem cell transplant donor-recipient pairs



Recipients Receiving Better HLA-Matched Hematopoietic Cell Transplantation Grafts, Uncovered by a Novel HLA Typing Method, Have Superior Survival: A Retrospective Study



5Y-OS: UHR matched vs. mismatched: 54.8% vs 30.1

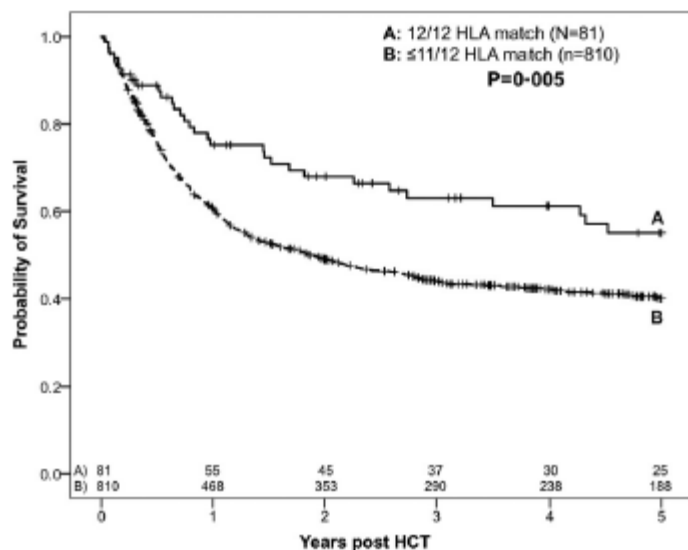
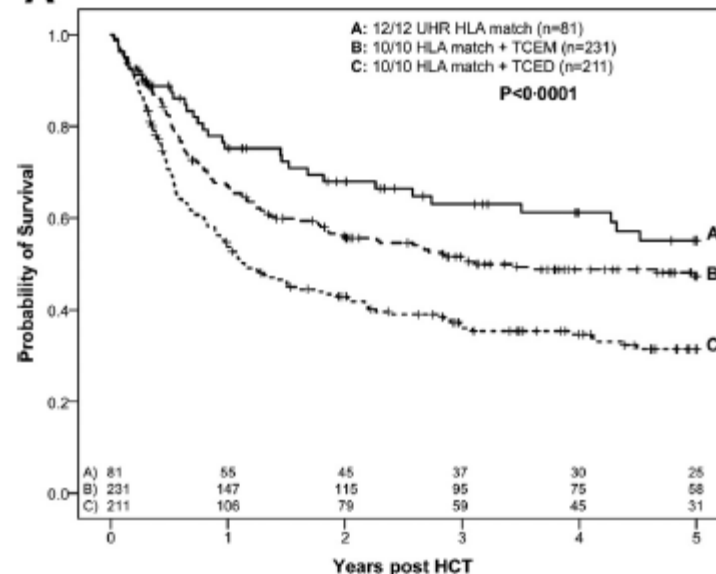


INTRONIC DIFFERENCE ARE CLINICALLY RELEVANT

5Y-OS: UHR match 55.1%, intronic mismatch: 46.2%

HLA mismatch 40.1 (p=0.02)

Mayor, BBMT 2019

B**A**

**UHR 12/12 OR 10/10 + DP PERMISSIVE TCE:
 BETTER <12/12 OR 10/10 + DP NON PERMISSIVE**

Multivariate Analysis of OS, NRM, and aGVHD

	OS			NRM			aGVHD Grades II-IV		
	No. of Cases	Relative Risk (95% CI)	P	No. of Cases	Relative Risk (95% CI)	P	No. of Cases	Odds Ratio (95% CI)	P
HLA matching status									
12/12	76	1.0		77	1.0		76	1.0	
10/10+TCEM	219	1.28 (.8-1.9)	.24	221	1.13 (.6-2.2)	.72	159	1.98 (.97-4.0)	.059
10/10+TCED	192	1.98 (1.3-2.9)	.001	201	1.75 (.92-3.3)	.091	155	2.37 (1.1-4.9)	.018

Mayor, BBMT 2019

Regarding “Recipients Receiving Better HLA-Matched Hematopoietic Cell Transplantation Grafts, Uncovered by a Novel HLA Typing Method, Have Superior Survival: A Retrospective Study”

In summary, the conclusion reached by the Mayor et al. study regarding the relevance of non-ARD mismatches on outcome is not warranted based on the data provided. This is concerning because this publication encourages requirements for additional matching of regions not yet shown to be relevant and, for many transplant programs, ultra-high resolution testing that is not yet readily available in their laboratories. This may create confusion and, if not inhibit transplants that occur today based on recommended HLA matching, could delay the identification of donors and delay transplantations where time is of the essence. Additional studies on the role of non-ARD mismatches in contemporary transplant populations are necessary. The Center for International Blood and Marrow Transplant Research has initiated a study evaluating ultra-high resolution matching in a cohort of nearly 6000 recent (2000 to 2017) transplants. The results of this study and others will pro-

Direct HLA Genetic Comparisons Identify Highly Matched Unrelated Donor-Recipient Pairs with Improved Transplantation Outcome

139 HCT PAIRS: 14 NO MM IN ANY EXONS HIGH MATCH
5 NO MM IN INTRONS
9 MM IN INTRONS 5 IN INTRON 1 OF DPA1

COMPARE: 14 NEM NO EXON MNISMATCH
27 HEL MM IN HLA-ABC, DRB1
125 LEL MM IN DRB3/4/5, DQ, DP

NEM: BETTER ONLY III-IV GRADE GvH

NEM + LEL: BETTER OS + NRM

Table 2

Comparison of Post-Transplantation Outcomes Based on Recipient-Donor HLA Matching

Outcome	HEL mismatch (n = 27)	LEL mismatch (n = 124)	NEM (n = 15)	P Value
OS, yr, median (range)	1.3 (.8-3.3)	6.7 (3.5-∞)	NR (2.5-∞)	.001
1 yr OS, %	55.6 (35.2-71.8)	77.6 (69.2-84)	85.1 (52.3-96.1)	
2 yr OS, %	40.7 (22.5-58.2)	69.5 (60.6-76.8)	85.1 (52.3-96.1)	
PFS, yr, median (range)	.8 (.5-2.9)	6.7 (2.3-∞)	4.4 (.8-∞)	.005
1 yr PFS, %	40.7 (22.2-58.2)	70.4 (61.6-77.6)	70.1 (38.5-87.6)	
2 yr PFS, %	37 (19.6-54.6)	61.5 (52.4-69.4)	70.1 (38.5-87.6)	
Relapse, %				.41
1 yr	29.6 (13.7-47.5)	16.8 (10.8-23.9)	22.1 (4.5-47.0)	
2 yr	29.6 (13.7-47.5)	20.0 (13.5-27.5)	22.1 (4.5-47.0)	
NRM, %				.13
1 yr	29.6 (13.6-47.6)	12.8 (7.6-19.3)	7.8 (0-30.8)	
2 yr	33.3 (16.3-51.4)	18.4 (12.2-25.7)	7.8 (0-30.8)	
Grade II-IV acute GVHD, %				.56
Day +100	40.7 (22.1-58.6)	31.2 (23.2-39.4)	28.5 (8.2-53.3)	
Day +180	40.7 (22.1-58.6)	31.2 (23.2-39.4)	28.5 (8.2-53.3)	
Grade III-IV acute GVHD, %				.30
Day +100	14.8 (4.5-30.8)	10.4 (5.8-16.5)	0	
Day +180	14.8 (4.5-30.8)	15.2 (9.5-22.1)	0	

Significant P values are in bold type.

NR indicates not reached.

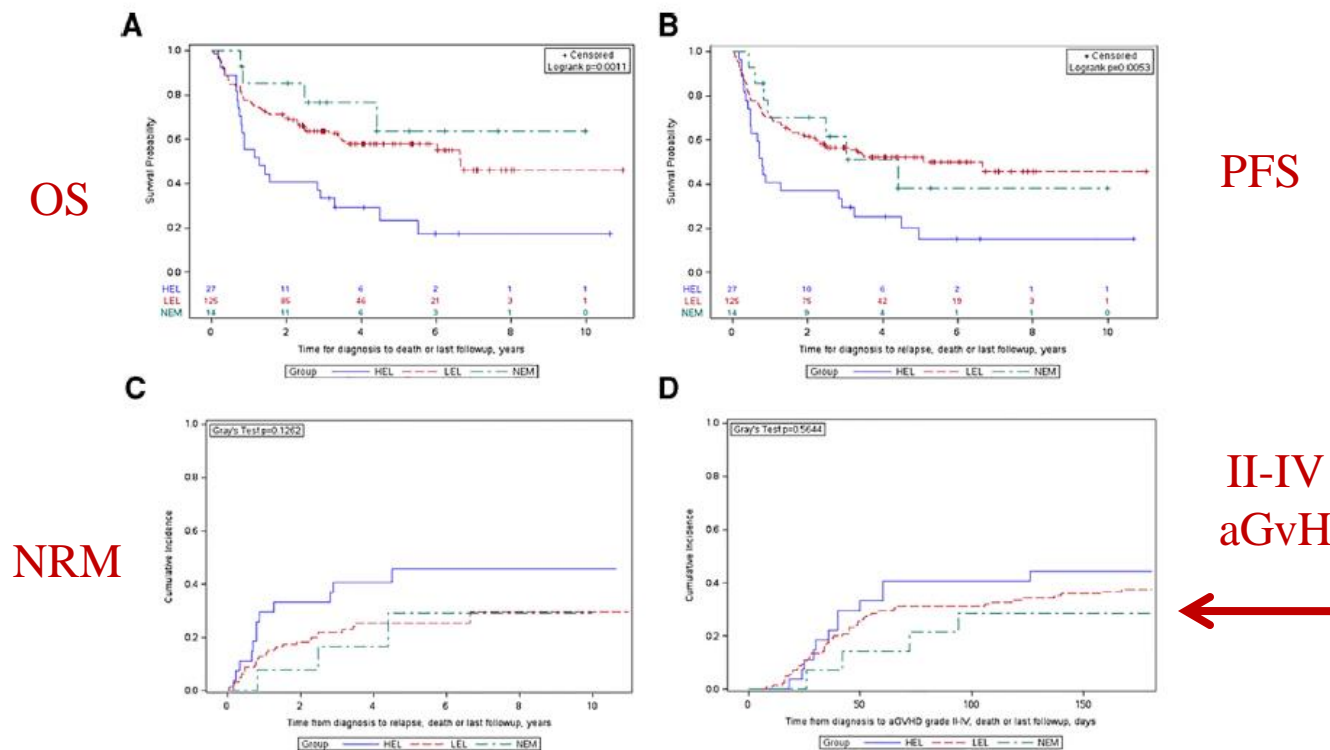


Figure 4. Transplantation outcomes of the HEL-mismatched, LEL-mismatched, and NEM subgroups. (A) Kaplan-Meier plot of OS. (B) Kaplan-Meier plot of PFS. (C) Cumulative incidence plot of NRM. (D) Cumulative incidence plot of grade II-IV acute GVHD.

Vazirabad, BBMT 2019

MHC Haplotype Matching for Unrelated Hematopoietic Cell Transplantation

III-IV aGvHD

Table 3. Adjusted Effect of *HLA-A*, *-B*, *-DRB1* Haplotype Mismatching on Risks of Grades III–IV Acute GVHD, Recurrent Malignancy, Transplant-Related Mortality, and Mortality after HCT from HLA-Identical Unrelated Donors

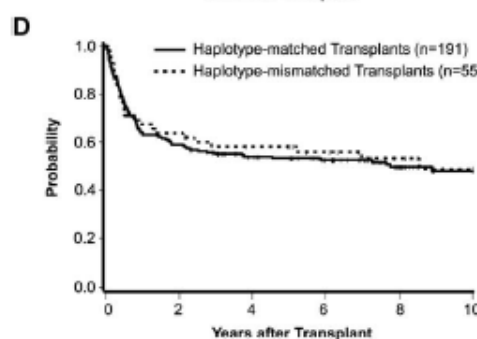
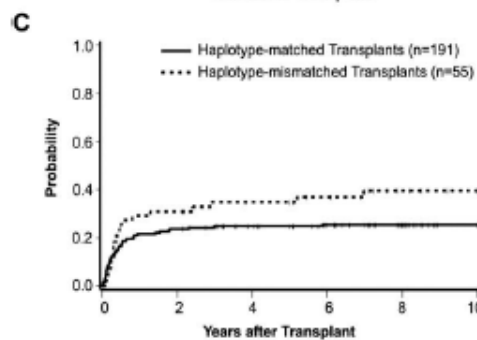
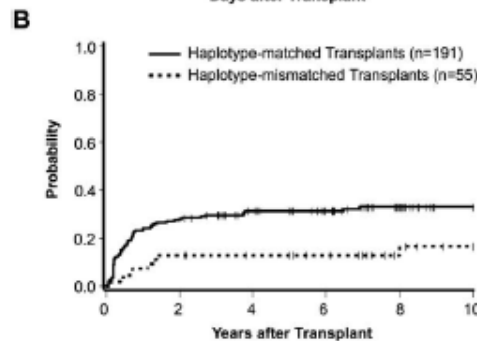
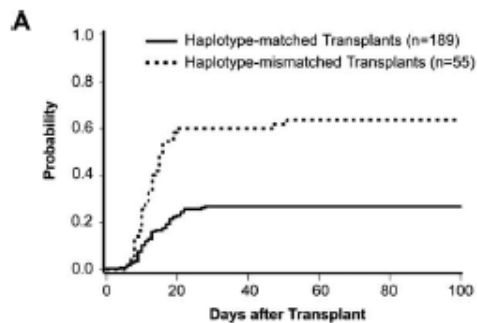
Clinical Outcome	OR or HR ^a	95% CI	p-Value
Grades III–IV acute GVHD	4.51	2.34–8.70	<0.0001
Recurrent malignancy	0.45	0.22–0.92	0.03
Transplant-related mortality	1.44	0.86–2.40	0.17
Mortality	0.95	0.62–1.47	0.83

Petersdorf, PLOS 2007

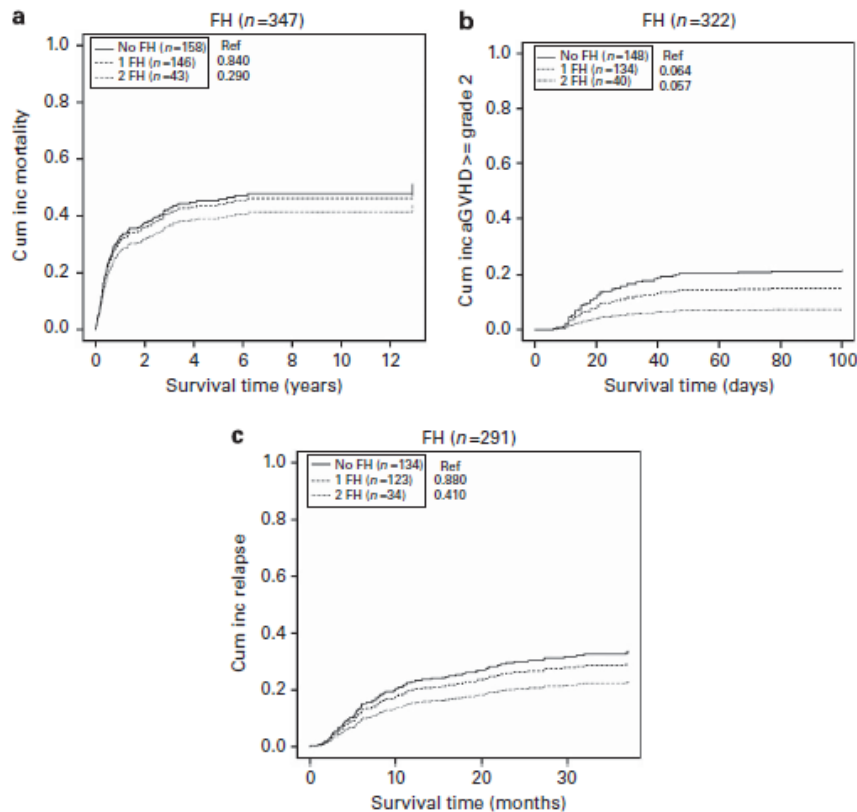
relapse

TRM

HAPLOTYPE MATCHING
THIRD GENERATION SEQUENCING?
OS



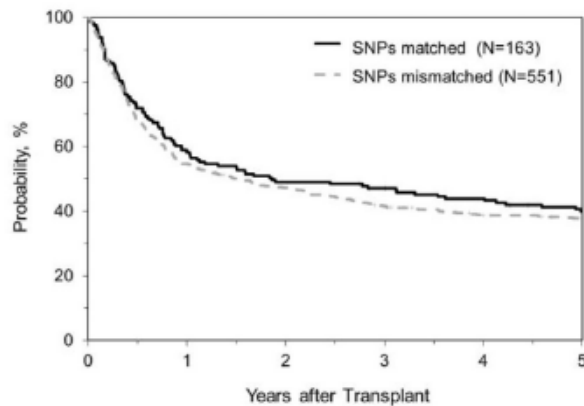
The impact of frequent HLA haplotypes in high linkage disequilibrium on donor search and clinical outcome after unrelated haematopoietic SCT



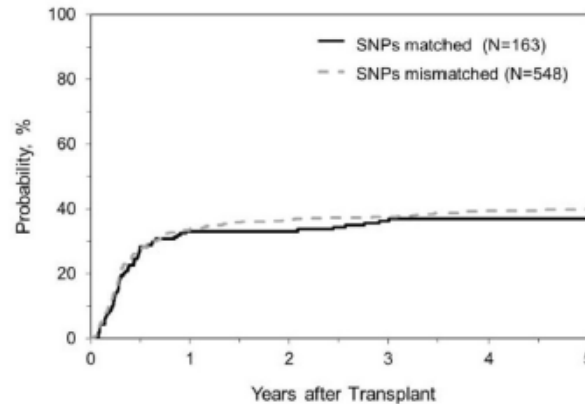
**(FREQUENT) HAPLOTYPES MATCHING:
BETTER A-GVH, WORSE RELAPSE, SAME SURVIVAL**

Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms in the Gamma Block of the Major Histocompatibility Complex in Association with Clinical Outcomes of Hematopoietic Cell Transplantation: A Center for International Blood and Marrow Transplant Research Study

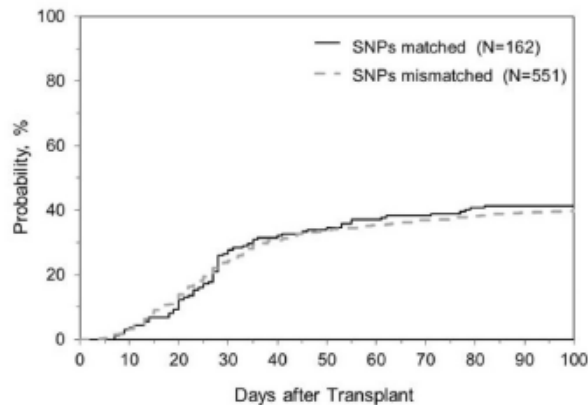
a Overall Survival



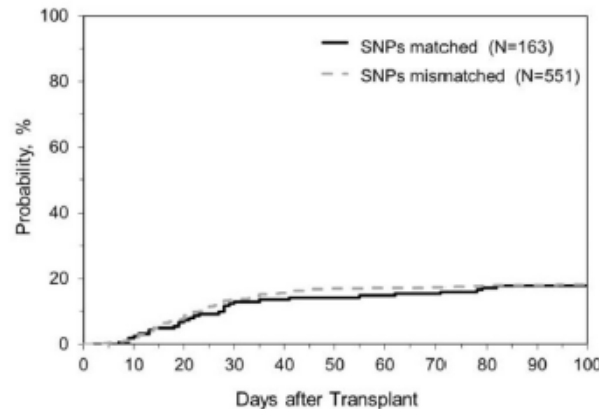
b Relapse



c Grades II-IV Acute GvHD



d Grades III-IV Acute GvHD



**GAMMA BLOCK
MATCHING:
NO EFFECT ON OUTCOME**

Figure 4. Associations between SNP mismatches and clinical outcomes. (A) OS, (B) Relapse, (C) Grade II-IV aGVHD, (D) Grade III-IV aGVHD.

High HLA-DP Expression and Graft-versus-Host Disease

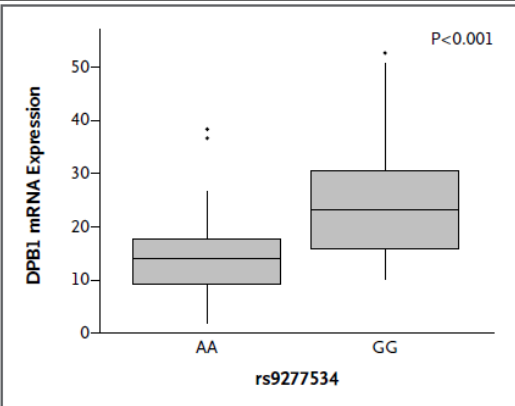


Figure 3. Correlation of HLA-DPB1 Expression with the rs9277534 Allele in the 3' Untranslated Region of HLA-DPB1.

Table 1. Hazard Ratios for Outcomes of HLA-DPB1 Mismatches in Transplant Recipients, According to the rs9277534 Allele Linked to the Mismatch.*					
Clinical End Point	HLA-DPB1–Linked rs9277534 Allele		G Allele vs. A Allele in Recipient		P Value for Interaction†
	Donor	Recipient	Hazard Ratio (95% CI)	P Value	
Grade II, III, or IV acute GVHD	A	G	1.54 (1.25–1.89)	<0.001	0.01
	G	A	1.01 (0.78–1.32)	0.90	
Grade III or IV acute GVHD	A	G	1.50 (1.12–2.01)	0.007	0.28
	G	A	1.15 (0.80–1.66)	0.43	

Petersdorf , NEJM 2015

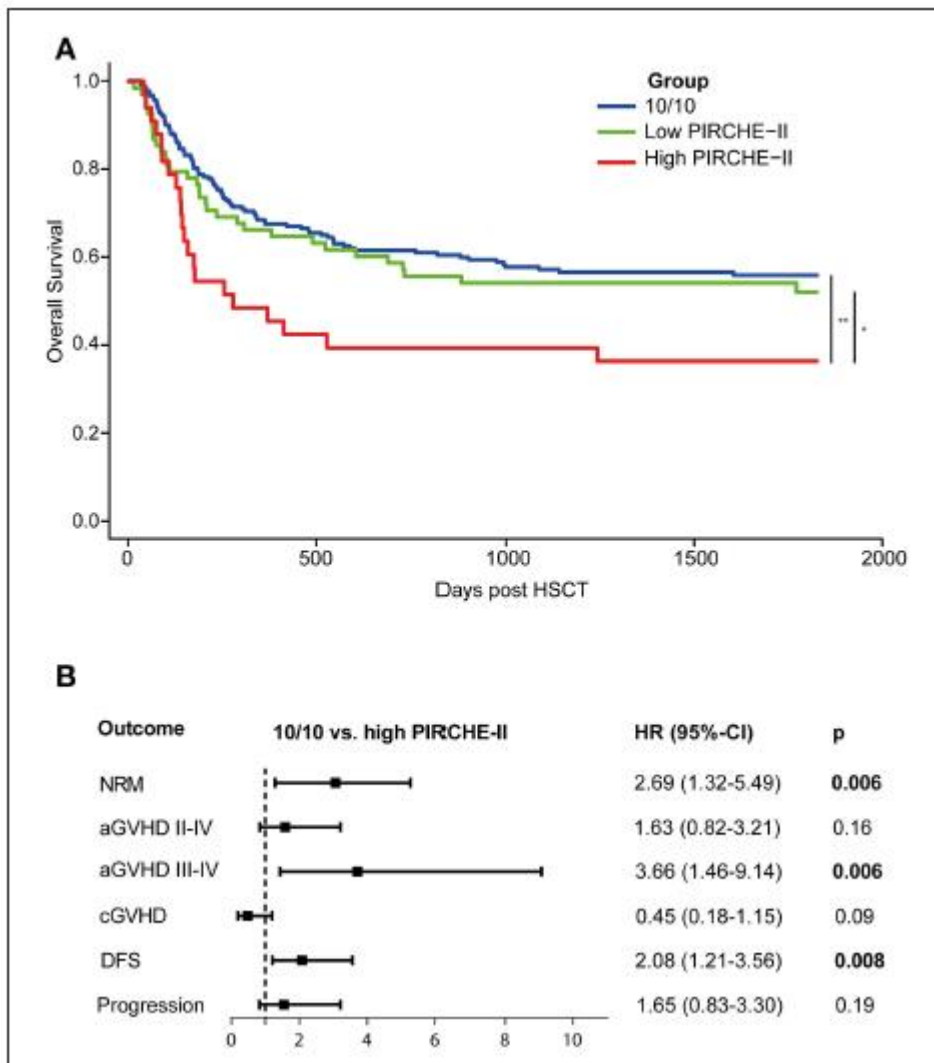
Predicting an HLA-DPB1 expression marker based on standard DPB1 genotyping: Linkage analysis of over 32,000 samples

rs9277534	Previously defined linkages (confirmed)	Novel linkages
A (Low Expression)	02:01, 02:02, 04:01, 04:02, 17:01	23:01, 24:01, 30:01, 31:01, 39:01, 40:01, 41:01, 46:01, 51:01, 55:01, 59:01, 71:01, 81:01, 105:01, 109:01, 124:01, 126:01, 133:01, 138:01, 416:01, 464:01, 535:01
G (High Expression)	01:01, 03:01, 05:01, 06:01, 09:01, 10:01, 11:01, 13:01, 14:01, 15:01, 16:01, 19:01, 20:01	18:01, 21:01, 25:01, 26:01, 29:01, 34:01, 35:01, 36:01, 45:01, 50:01, 52:01, 57:01, 63:01, 85:01, 88:01, 90:01, 104:01, 130:01, 131:01, 136:01, 296:01, 350:01, 414:01, 463:01

HIGH LINKAGE DISEQUILIBRIUM DPB1- rs9277534: 99,6% PREDICTING

Schoene , Hum Imm 2018

Exploratory Study of Predicted Indirectly ReCognizable HLA Epitopes in Mismatched Hematopoietic Cell Transplantations



EXONS OUTSIDE ARD:
INDIRECT RECOGNITION
PIRCHE – II ???

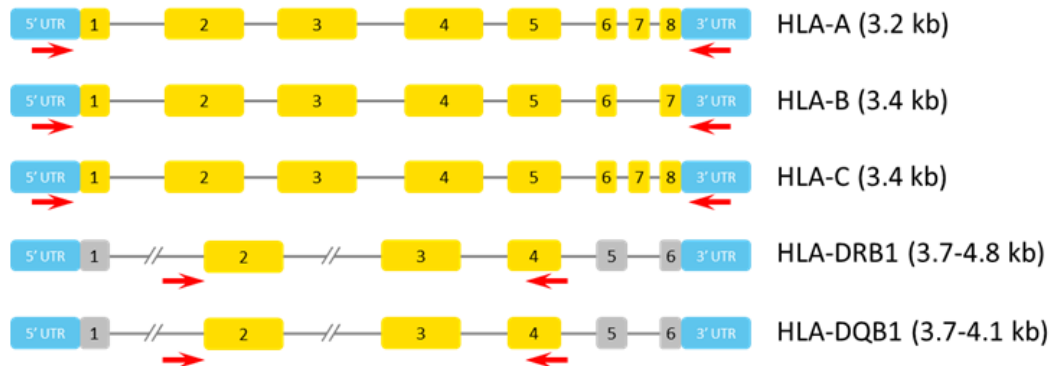
Geneugelijk, FIMMU 2019

Materiali e metodi

Copertura genica kit NGSgo:

GENDX

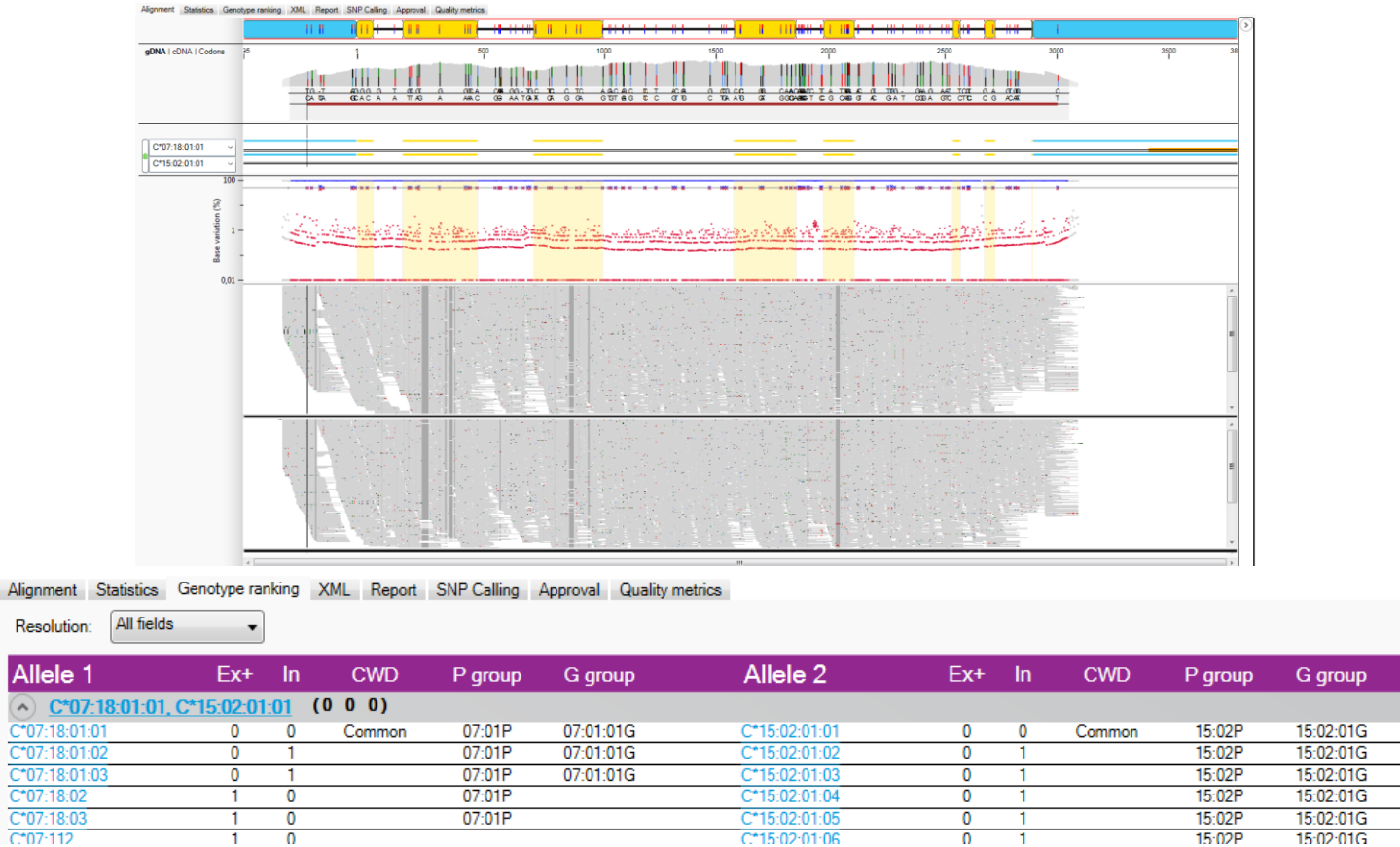
- Classe I: intero gene
- Classe II: dall'esone 2 all'inizio dell'esone 4



→ NGSgo®-AmpX amplification primer

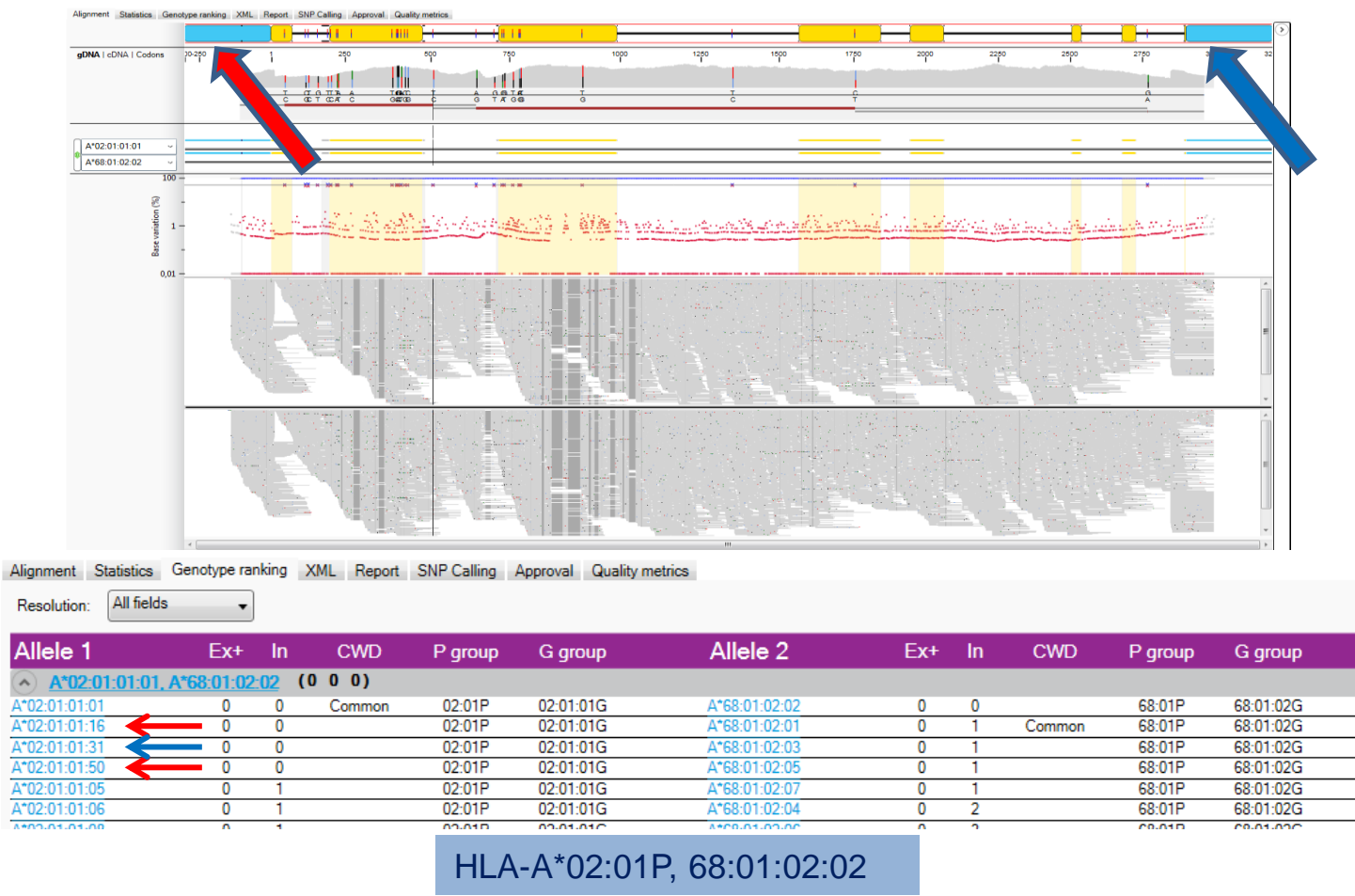
Yellow box: Amplified exon Grey box: Exon not amplified

Risultati classe I: tipizzazione univoca

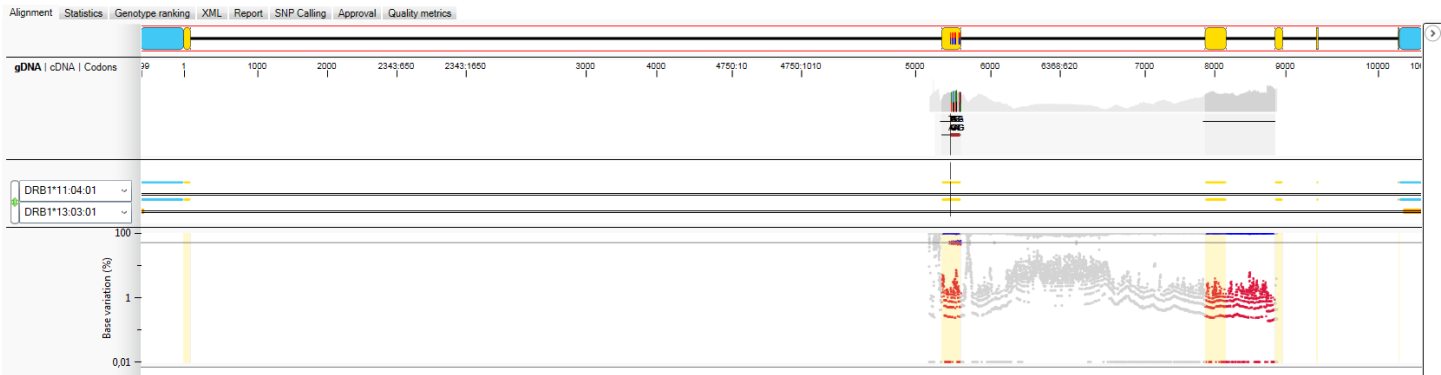


HLA-C*07:18:01:01,
15:02:01:01

Risultati classe I: differenze in regioni non coperte



Risultati classe II: tipizzazione univoca



Alignment Statistics Genotype ranking XML Report SNP Calling Approval Quality metrics											
Resolution: All fields											
Allele 1	Ex+	In	CWD	P group	G group	Allele 2	Ex+	In	CWD	P group	G group
DRB1*11:04:01, DRB1*13:03:01 (0 0 0)											
DRB1*11:04:01	0	0	Common	11:04P	11:04:01G	DRB1*13:03:01	0	0	Common	13:03P	13:03:01G
DRB1*11:04:02	1	0	Common	11:04P		DRB1*13:03:02	1	0	Well-Doc.	13:03P	
DRB1*11:06:01	1	0	Common	11:06P	11:06:01G	DRB1*13:03:03	1	0		13:03P	
DRB1*11:18	1	0	Well-Doc.			DRB1*13:03:04	1	0		13:03P	
DRB1*11:42:01	1	0	Well-Doc.	11:42P		DRB1*13:03:05	1	0		13:03P	

HLA-DRB1*11:04:01,
13:03:01

Risultati classe II: differenze in regioni non coperte



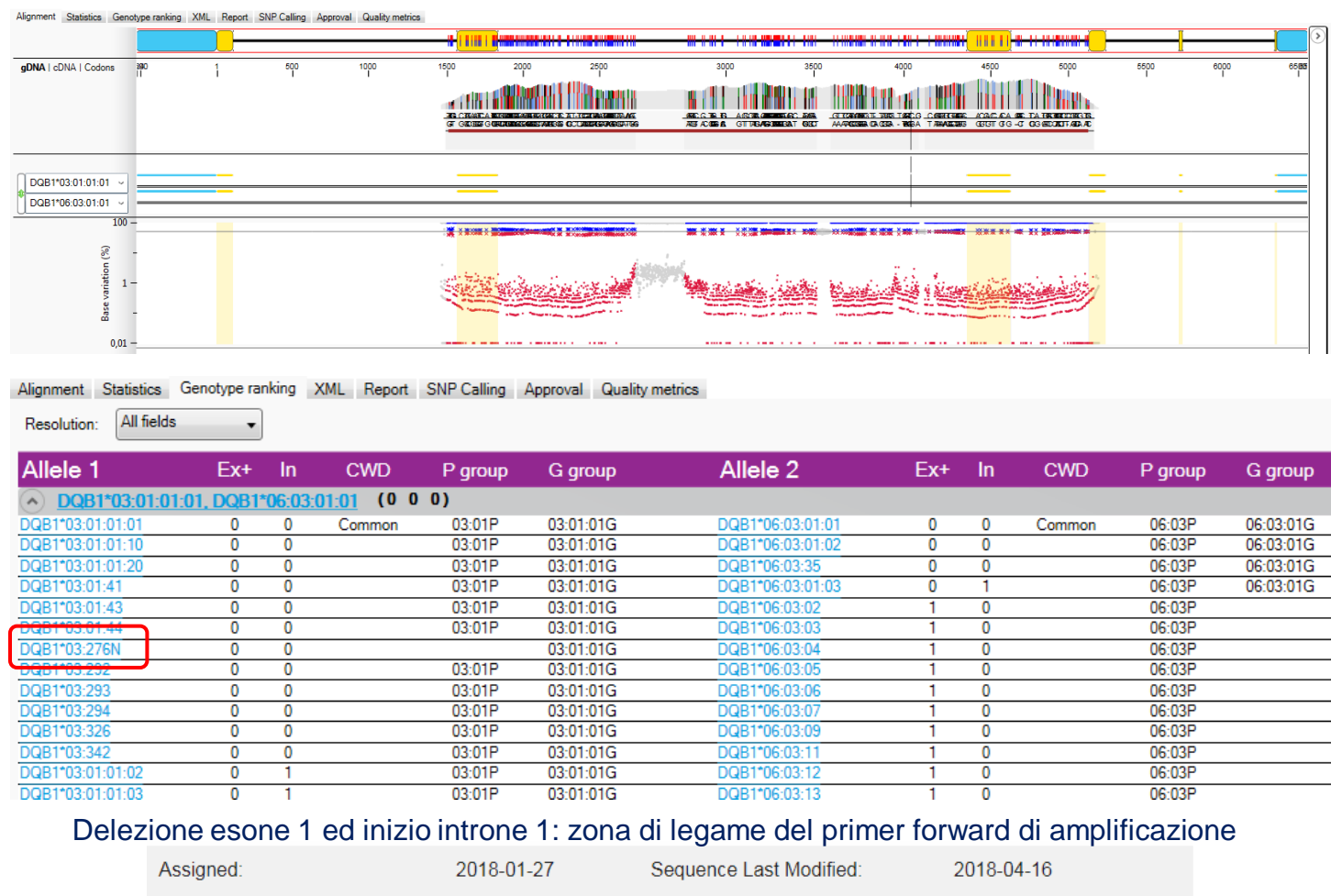
Alignment Statistics Genotype ranking XML Report SNP Calling Approval Quality metrics											
Resolution: All fields											
Allele 1	Ex+	In	CWD	P group	G group	Allele 2	Ex+	In	CWD	P group	G group
DRB1*03:01:01:01, DRB1*07:01:01:01 (0 0 0)											
DRB1*03:01:01:01	0	0	Common	03:01P	03:01:01G	DRB1*07:01:01:01	0	0	Common	07:01P	07:01:01G
DRB1*03:01:01:02	0	0		03:01P	03:01:01G	DRB1*07:01:01:02	0	0		07:01P	07:01:01G
DRB1*03:01:01:03	0	0		03:01P	03:01:01G	DRB1*07:01:01:03	0	0		07:01P	07:01:01G
DRB1*03:147	0	0		03:01P	03:01:01G	DRB1*07:01:01:04	0	0		07:01P	07:01:01G
DRB1*03:01:02	1	0	Well-Doc.	03:01P		DRB1*07:79	0	0		07:01P	07:01:01G
DRB1*03:06	1	0	Well-Doc.			DRB1*07:93	0	0		07:01P	07:01:01G
DRB1*03:07:01	1	0	Well-Doc.	03:07P	03:07:01G	DRB1*07:03	1	0	Well-Doc.		
DRB1*03:15:01	1	0	Well-Doc.	03:15P		DRB1*07:05	1	0	Well-Doc.		

HLA-DRB1*03:01:01:01
HLA-DRB1*03:01:01:02
HLA-DRB1*03:01:01:03
HLA-DRB1*03:147

} Differenze introniche
→ Differenza all'esone 5

HLA-DRB1*03:01P, 07:01P

Risultati classe II: ambiguità al di fuori del gruppo P



Risultati classe II: ambiguità al di fuori del gruppo P

- Confronto con AIBT, IBMDR e Commissioner EFI
- Confronto con Ditta fornitrice dei kit di tipizzazione NGS

In the latest release of IPD-IMGT/HLA database (3.32.0), a new DQB1 null-allele was added. The **DQB1*03:276N** allele carries a large deletion, spanning the entire 5'UTR, exon 1 and the beginning of intron 1. This deletion will have the following consequences when using GenDx DQB1 amplification primers present in NGSgo-AmpX and SBTextcellerator.

NGSgo-AmpX DQB1 and SBTextcellerator DQB1

This amplification strategy amplifies DQB1 exon 2, exon 3 and part of exon 4.

The DQB1*03:276N allele will be amplified normally with this strategy.

The DQB1*03:276N allele will show up as an allele ambiguity in samples carrying a DQB1*03:01:01:01, DQB1*03:01:01:10, or DQB1*03:01:01:20 allele, as the sequences of these alleles are identical in the amplicon.

AlleleSEQR DQB1

This amplification strategy amplifies DQB1 exon 2 and exon 3 in separate amplifications.

The DQB1*03:276N allele will be amplified normally with this strategy.

The DQB1*03:276N allele will show up as an allele ambiguity in samples carrying DQB1*03:01 alleles.

NGSgo-AmpX DQB1-WG (whole-gene)

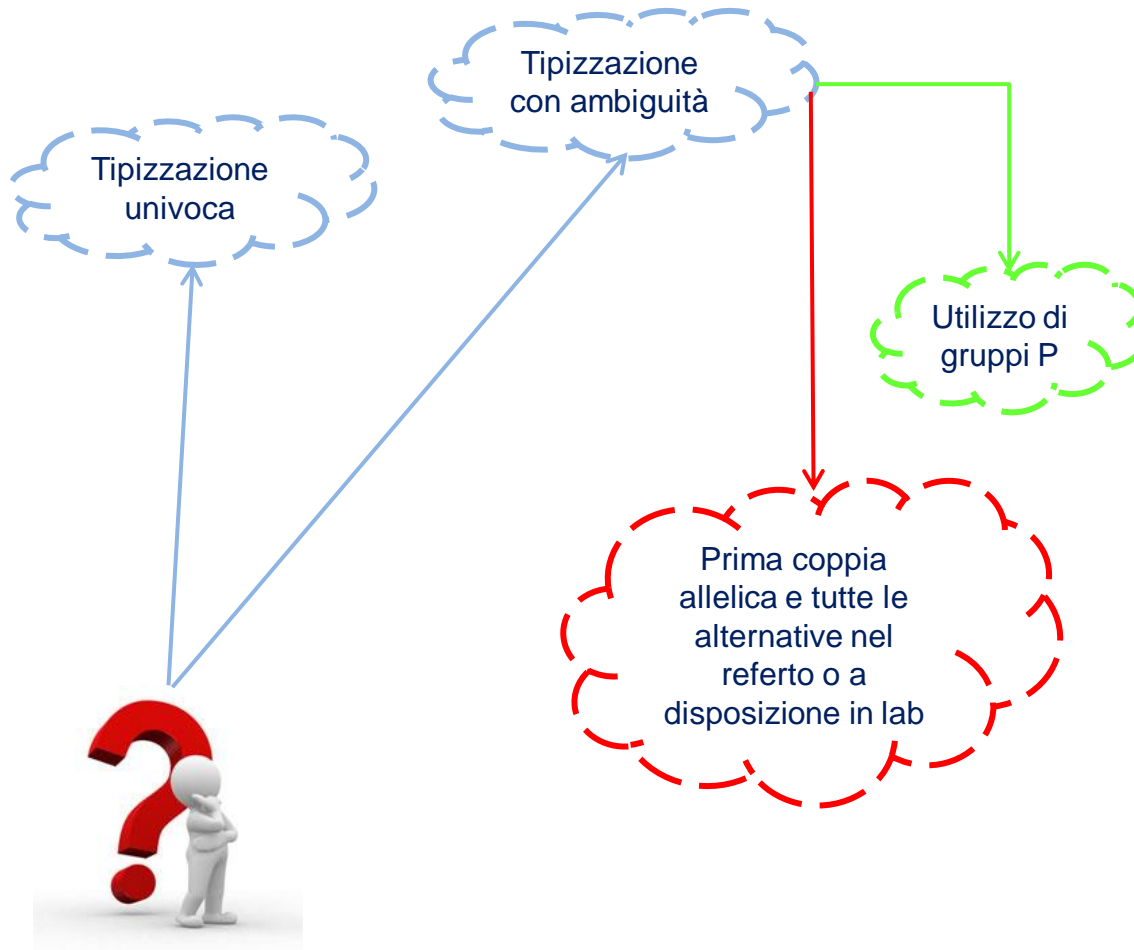
This amplification strategy amplifies whole-gene DQB1 from 5'UTR to 3'UTR.

The DQB1*03:276N allele will not be amplified with this strategy, as the forward primer binding site is deleted.

- In heterozygous samples, not carrying the DQB1*03:276N allele, the null allele can be excluded correctly.
- In heterozygous samples, carrying the DQB1*03:276N allele, the null allele will not be amplified, leading to a false homozygous DQB1 typing result.
- In homozygous samples, we cannot exclude the possibility that the DQB1*03:276N null allele may be present.

Ambiguità attualmente risolvibile mediante SSP

Come comunicare il dato NGS all'ematologo?



Transizione tra SBT ed NGS



- trapianto di CSE (pazienti, familiari, MUD, ecc.) e donatori CSE all'iscrizione
- materiale di partenza: sangue intero, swab

Problematiche emerse → Transizione tra SBT ed NGS



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EFL (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE FAMIGLIA NUM. F16248

DR. SERVIZIO DI ONCOLOGIA E EMATOLOGIA
AZ. OSP. SAN LUIGI
REGIONE GONZOLE
10043 ORBASSANO TO

IMM.	COGNOME-NOME	ETÀ	CATEGORIA DI APPARTENENZA	RELAZIONE FAMILIARE	DATA ULT. TEST
B50358			PAZIENTE IN LISTA TRAPIANTO - MIDOLLO		15/11/2018
B50359			DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE	FRATELLO/ORELLA	03/12/2018
B50360			CONSAQUINEO PAZIENTE EMATOLOGICO		
B50361			DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE	FRATELLO/ORELLA	03/12/2018
			CONSAQUINEO PAZIENTE EMATOLOGICO		

TIPIZZAZIONE GENOVICA: CLASSE I

Cognome Nome	ALLELI HLA-A*	Prelevato	ALLELI HLA-B*	Prelevato	ALLELI HLA-C*	Prelevato
	01:01P, 02:02P	02/11/2018	51:01P	02/11/2018	14:02P, 15:02P	02/11/2018
	SEQUENZA commerciale GENDX		SEQUENZA commerciale GENDX		SEQUENZA commerciale GENDX	
	Alternative HLA-C*: 14:28P/C*15:13;					
	02:01P, 23:01:01:01	19/11/2018	40:01P, 45:01:01	19/11/2018	03:04:01:01, 06:02P	19/11/2018
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
	01:01:01:01, 02:02:01:01	19/11/2018	51:01P	19/11/2018	14:02P, 15:13:01:01	19/11/2018
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
	01:01:01:01, 02:02:01:01	19/11/2018	51:01P	19/11/2018	14:02P, 15:13:01:01	19/11/2018
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	

TIPIZZAZIONE GENOVICA: CLASSE II

Cognome Nome	ALLELI HLA-DQA1*	Prelevato	ALLELI HLA-DQB1*	Prelevato
	02:01P, 11:04P	02/11/2018		
	SEQUENZA commerciale GENDX			
	07:01P, 13:02:01:02	19/11/2018		
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)			
	03:01P, 11:04:01	19/11/2018		
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)			
	03:01P, 11:04:01	19/11/2018		
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)			

DATA STAMPA REFERTO: Martedì 04 Dicembre 2018 09:07



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EFL (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE FAMIGLIA NUM. F16248

Cognome Nome	ALLELI HLA-DQA1*	Prelevato	ALLELI HLA-DQB1*	Prelevato
			02:01:01, 03:01P	19/11/2018
			NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
			02:01:01, 03:01P	19/11/2018
			NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	

E' stata eseguita la tipizzazione di primo ingresso dei fratelli. La paziente risulta fenotipicamente identica ad e diversa da per i loci HLA tipizzati. Si fa notare che l'identità tra la paziente e le sorelle è presente anche a livello del locus HLA-C. Le diverse tecniche utilizzate (SBT per la paziente e NGS per le sorelle) hanno permesso di identificare in maniera univoca l'allele C*15:13:01:01 per le sorelle, mentre per la paziente l'allele C*15:13:01:01 è compreso all'interno di C*15:02P.

Gli alleli HLA-A*, B*, C*, DRB*, DQA1*, DQB1* e DPB1* sono stati assegnati in base alle sequenze pubblicate sulle banche dati molecolari al momento dell'esecuzione dei test.

Per ogni locus HLA tipizzato le ambiguità comprese all'interno dei gruppi P sono disponibili presso il laboratorio.

Firma: *[Signature]*
Firmato in originale

SECONDA TIPIZZAZIONE GENOVICA
BIOLOGO COLLABORATORE
(Dr.ssa Gina Mazzola)

ALLELI HLA-C*	Prelevato
14:02P, 15:02P	02/11/2018
SEQUENZA commerciale GENDX	
03:04:01:01, 06:02P	19/11/2018
NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
14:02P, 15:13:01:01	19/11/2018
NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
14:02P, 15:13:01:01	19/11/2018
NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	

DATA STAMPA REFERTO: Martedì 04 Dicembre 2018 09:07

Problematiche emerse → Transizione tra SBT ed NGS



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EFL (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE FAMIGLIA NUM. F15679

DR.
EMATOLOGIA
AZ. OSP. S. GIOVANNI BATTISTA
CORSO BRAMANTE 88
10126 TORINO TO

IMM.	COGNOME-NOME	ETA'	CATEGORIA DI APPARTENENZA		RELAZIONE FAMILIARE	DATA ULT TEST
B42981			PAZIENTE IN LISTA TRAPIANTO - MIDOLLO			06/04/2018
TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE I						
Cognome Nome	ALLELI HLA-A*	Prelievo	ALLELI HLA-B*	Prelievo	ALLELI HLA-C*	Prelievo
	02:01P, 02:05-01:01	08/03/2018	15:220, 44:03P	08/03/2018	04:01P, 12:03-01:01	08/03/2018
NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		
TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE II						
Cognome Nome	ALLELI HLA-DRB1*	Prelievo				
	07:01P, 14:01P	08/03/2018				
NGS - Next Gen. Seq (GenDx)						
Cognome Nome	ALLELI HLA-DQA1*	Prelievo	ALLELI HLA-DQB1*	Prelievo		
			02:02-01:01, 05:03P	08/03/2018		
NGS - Next Gen. Seq (GenDx)						

E' stata eseguita la tipizzazione di primo ingresso della paziente.

Si fa presente che l'allele HLA-B*15:220 fa parte del gruppo B*15:03P.

Medico richiedente:

Gli alleli HLA-A*, B*, C*, DRB*, DQA1*, DQB1* e DPB1* sono stati assegnati in base alle sequenze pubblicate sulle banche dati molecolari al momento dell'esecuzione del test.

Per ogni locus HLA tipizzato le ambiguità comprese all'interno dei gruppi P sono disponibili presso il laboratorio.

Firma:

[Firma]

Dr. Riccardo Collarone
Dipartimento Medicina di Laboratorio
(Dipartimento Medicina di Laboratorio)

DATA STAMPA REFERTO: Venerdì 06 Aprile 2018 12:58



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EFL (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE COMPLESSO HLA

DR.
EMATOLOGIA
AZ. OSP. S. GIOVANNI BATTISTA
CORSO BRAMANTE 88
10126 TORINO TO

IMM.	COGNOME-NOME	ETA' NUM.FAMIGLIA	CATEGORIA DI APPARTENENZA	DATA ULT. TEST		
B42981		F15679	PAZIENTE IN LISTA TRAPIANTO - MIDOLLO	06/11/2018		
B50179		F15679	DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE CCNSANGUINEO	06/11/2018		
			PAZIENTE EMATOLOGICO			
TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE I						
Cognome Nome	ALLELI HLA-A*	Prelievo	ALLELI HLA-B*	Prelievo	ALLELI HLA-C*	Prelievo
	02:01P, 02:08P	30/10/2018	15:03P, 44:03P	30/10/2018	D4:01P, 12:03P	30/10/2018
	SEQUENZA commerciale GENDX		SEQUENZA commerciale GENDX		SEQUENZA commerciale GENDX	
	Alternative HLA-A*: A*02:102/A*02:623					
	02:01P, 02:08P	30/10/2018	15:03P, 44:03P	30/10/2018	D4:01P, 12:03P	30/10/2018
	SEQUENZA commerciale GENDX		SEQUENZA commerciale GENDX		SEQUENZA commerciale GENDX	
	Alternative HLA-A*: A*02:102/A*02:623					
TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE II						
Cognome Nome	ALLELI HLA-DRB1*	Prelievo				
	07:01P, 14:01P	30/10/2018				
	SEQUENZA commerciale GENDX					
	07:01P, 14:01P	30/10/2018				
	SEQUENZA commerciale GENDX					
Cognome Nome	ALLELI HLA-DQA1*	Prelievo	ALLELI HLA-DQB1*	Prelievo		
	02:01P, 05:03P	30/10/2018				
	SEQUENZA commerciale GENDX					
	02:01P, 05:03P	30/10/2018				
	SEQUENZA commerciale GENDX					

E' stato eseguito il test di conferma del paziente e del fratello.

Gli alleli HLA-A*, B*, C*, DRB*, DQA1*, DQB1* e DPB1* sono stati assegnati in base alle sequenze pubblicate sulle banche dati molecolari al momento dell'esecuzione del test.

Per ogni locus HLA tipizzato le ambiguità comprese all'interno dei gruppi P sono disponibili presso il laboratorio.

Firma:

[Firma]

Dr. Riccardo Collarone
Dipartimento Medicina di Laboratorio
(Dipartimento Medicina di Laboratorio)

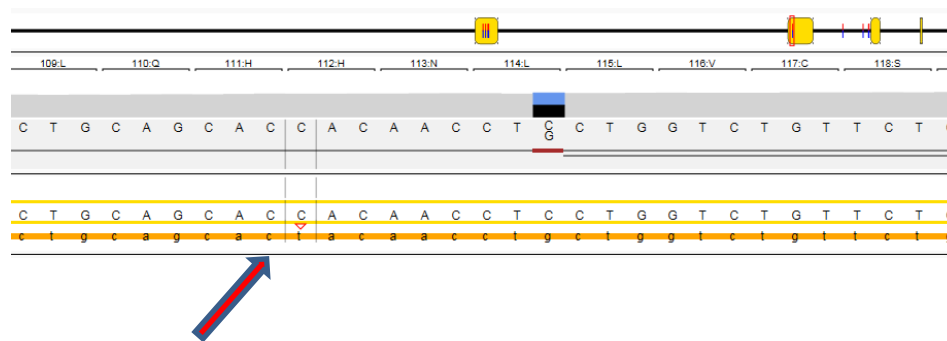
DATA STAMPA REFERTO: Martedì 13 Novembre 2018 08:06

Mutazioni / Nuove varianti alleliche

- Database **IMGT/HLA**: alcuni alleli non sono sequenziati completamente



Locus DRB1: esone 3, gDNA 7922, cDNA 421, Codone 112a, **TAC** → **CAC**, Tyr → His



Mutazioni / Nuove varianti alleliche

- **Posizione** della mutazione:

1. Mutazioni negli introni e in UTR
2. Mutazioni negli esoni diversi da quelli fondamentali
3. Mutazioni negli esoni 2 e 3 per classe I e esone 2 per classe II (Standard EFI)



Mutazioni **altri esoni/introni/UTR**:

- non confermate

Mutazioni **esoni fondamentali**:

- confermate con SBT o in una nuova corsa NGS



Attenzione: codoni di stop e zone di splicing

Mutazioni / Nuove varianti alleliche

La politica del laboratorio, tesa a fornire in tempi rapidi una risposta efficace alle ematologie, è quella di adottare la seguente linea di comportamento:

- Mutazioni in UTR o introni



- Tipizzazione univoca
- Tipizzazione con alternative:
gruppo P di appartenenza



Nessuna nota
sul referto

-
- Mutazioni esoniche al di fuori degli esoni 2 e 3 per la classe I e 2 per la classe II



Identificazione dell'allele con il
termine "New"



descrizione
della mutazione
nel referto

Mutazioni / Nuove varianti alleliche



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EFL (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE FAMIGLIA NUM. F16563

DR.SSA
REPARTO DI ONCOLOGIA PEDIATRICA
OSP. INF. REGINA MARGHERITA
PIAZZA POLONIA 94
10126 TORINO TO

(*)=DECEDUTO
IMM. COGNOME-NOME ETÀ CATEGORIA DI APPARTENENZA RELAZIONE FAMILIARE DATA ULT. TEST
B55597 PAZIENTE IN LISTA TRAPIANTO - MIDOLLO 29/04/2019

TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE I

Cognome Nome	ALLELI HLA-A*	Prelevato	ALLELI HLA-B*	Prelevato	ALLELI HLA-C*	Prelevato
	26:01:01:01, 68:01:02:02	09/04/2019	44:02P, 44:02:01:03	09/04/2019	05:01:01:02, 07:04P	09/04/2019
	NGS - Next Gen. Seq.(GenDx)		NGS - Next Gen. Seq.(GenDx)		NGS - Next Gen. Seq.(GenDx)	

TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE II

Cognome Nome	ALLELI HLA-DRB1*	Prelevato
	11:01P, 11:04:01	09/04/2019
	NGS - Next Gen. Seq.(GenDx)	
Cognome Nome	ALLELI HLA-DQA1*	Prelevato
	03:01P, NEW	09/04/2019
	NGS - Next Gen. Seq.(GenDx)	

Il paziente è stato attivato.

Per quanto riguarda il locus HLA-DQB1 è presente una mutazione all'esone 3 in posizione nucleotidica 399, codone 101, a carico di uno dei due alleli DQB1*03. Paragonando la sequenza con il database di riferimento, l'allele che mostra la più alta omologia è DQB1*03:01:01:02, rispetto al quale è presente una G al posto di una C, per cui si passa da ATC (ILE) ad ATG (MET). Poiché la mutazione cade nel 3° esone l'allele NEW farà in ogni caso parte dello stesso gruppo P dell'allele DQB1*03:01:01:02, cioè DQB1*03:01P.

La mutazione è stata confermata con due diverse tecniche.

Come da indicazione di IBMDR (vedi mail allegata) si inserisce l'allele NEW sul sito IBMDR dedicato come DQB1*03:01P.

Gli alleli HLA-A*, B*, C*, DRB*, DQA1*, DQB1* e DPB1* sono stati assegnati in base alle sequenze pubblicate sulle banche dati molecolari al momento dell'esecuzione dei test.

Per ogni locus HLA tipizzato le ambiguità comprese all'interno dei gruppi P sono disponibili presso il laboratorio.

Firma: *Elena Garino*
S.C. IMMUNOGENETICA E BIOLOGIA DEI TRAPIANTI U.
DIRIGENTE CHIMICO MATR. 16962D
DR.SSA ELENA GARINO

DATA STAMPA REFERTO: Giovedì 02 Maggio 2019 08:19

Mutazioni esoniche al di fuori degli esoni 2 e 3 per la classe I e 2 per la classe II

Comunicazione con IBMDR

----- Messaggio originale -----
Da: "simona pollichieni" <simona.pollichieni@ibmdr.galliera.it>
A: "Norma maria Ferrero" <nferrero@cittadellasalute.to.it>
Cc: "Elena Garino" <egarino@cittadellasalute.to.it>, "Renato Marciano" <renato.marciano@ibmdr.galliera.it>
Inviato: Martedì, 30 aprile 2019 14:26:09
Oggetto: Re: Fwd: Attivazione ricerca MUD con mutazione DQ

Cara Norma,

trattandosi di alleli appartenenti al gruppo P, avvierei la ricerca con l'allele DQB1*0301P, risoluzione sufficiente per stabilire la compatibilità HR dei donatori non familiari. Vi chiederei però, se possibile, di inviare referto HLA con la nota che trattasi di un allele NEW, che inseriremo nella cartella del paziente, anche per motivi di tracciabilità.

Ovviamente anche il CT andrà di ciò informato.

Un caro saluto

Simona

Mutazioni / Nuove varianti alleliche

La politica del laboratorio, tesa a fornire in tempi rapidi una risposta efficace alle ematologie, è quella di adottare la seguente linea di comportamento:

- Mutazioni in UTR o introni



- Tipizzazione univoca
- Tipizzazione con alternative:
gruppo P di appartenenza



Nessuna nota
sul referto

- Mutazioni esoniche al di fuori degli esoni 2 e 3 per la classe I e 2 per la classe II



~~Identificazione dell'allele con il
termine "New"~~

- Tipizzazione univoca
- Tipizzazione con alternative:
gruppo P di appartenenza



descrizione
della mutazione
nel referto

Mutazioni / Nuove varianti alleliche

Mutazioni esoniche al di fuori degli esoni 2 e 3 per la classe I e 2 per la classe II

RICERCA ANAGRAFICA		IMM. B56686	ID. LLU	COGNOME-NOME
SESSO		NATO/A L.	ETA'	COMUNE NASCITA

Classe I	A	B	C	Classe II	DRB1	DRB3/4/5	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1
METODICA ESTRAZIONE: ESTRAZIONE AUTOMATICA TECAN - DNA ESTRATTO DA: SANGUE INTERO										
ESTRAZIONE: 14/05/2019-DN01 (Conc.: 0,032 mg/ml) Dep.: 871-3-2										
CLASSE I - HLA-B* (AOU S.Giovanni Battista)										
METODICA: NGS - Next Gen. Seq (GenDx)										
PRELIEVO	DATA TEST	Metod.	ALLELE1	ALLELE2	Fas lav					
14/05/2019	03/06/2019	NG	DQB1*05:01:01:02							
14/05/2019	03/06/2019	NG	DRB1*01:01:01							
14/05/2019	04/06/2019	NG	A*02:01:01:01	A*11:01:01:01						
14/05/2019	04/06/2019	NG	B*27:05P	B*35:01P						
14/05/2019	04/06/2019	NG	C*03:04:01:01	C*04:01:01:01						

Nuovo Test	Modifica	Elimina	SIEROLOGIA	Note
------------	----------	---------	------------	------

record: 1/1

NOTE

TIPIZZAZIONE GENOMICA CLASSE I - HLA-B*

DATA TEST: 04/06/2019

METODICA ESTRAZIONE: ESTRAZIONE AUTOMATICA TECAN - DNA ESTRATTO DA: SANG

ESTRAZIONE: 14/05/2019-DN01 (Conc.: 0,032 mg/ml) Dep.: 871-3-2

METODICA: NGS - Next Gen. Seq (GenDx)

NMDP CODES

bioinformatics.nmdp.org/HLA/numeric.v3.html

NOTE RELATIVE ALLA TIPIZZAZIONE

MUTAZIONE AL 1° ESONE NELLE POSIZIONI NUCLEOTIDICHE 5 E 11 (E IN 5'UTR IN POSIZIONE GDNA -18), CODONI -23 E -21: L'ALLELE B*35:01:01:02 MUTATO PRESENTA UNA T AL POSTO DI UNA G, PER CUI SI PASSA DA CGG (ARG) A CTG (LEU) E UNA T AL POSTO DI UNA C, PER CUI SI PASSA DA ACG (THR) A ATG (MET). MUTAZIONE CONFERMATA CON SBT.

Mutazioni / Nuove varianti alleliche

La politica del laboratorio, tesa a fornire in tempi rapidi una risposta efficace alle ematologie, è quella di adottare la seguente linea di comportamento:

- Mutazioni in UTR o introni

- Tipizzazione univoca
- Tipizzazione con alternative: gruppo P di appartenenza

Nessuna nota sul referto

- Mutazioni esoniche al di fuori degli esoni 2 e 3 per la classe I e 2 per la classe II

~~Identificazione dell'allele con il termine "New"~~

descrizione della mutazione nel referto

- Tipizzazione univoca
- Tipizzazione con alternative: gruppo P di appartenenza

- Mutazioni esoniche negli esoni 2 e 3 per la classe I e 2 per la classe II

Identificazione dell'allele con il termine "New"

descrizione della mutazione nel referto

Mutazioni / Nuove varianti alleliche



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EFI (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE FAMIGLIA NUM. F16745

24/7

DR.
REPARTO DI EMATOLOGIA
OSPEDALE POLICLINICO
CATANIA

IMM.	COGNOME-NOME	(*)=DECEDUTO	ETA'	CATEGORIA DI APPARTENENZA	RELAZIONE FAMILIARE	DATA ULT. TEST
B58911				PAZIENTE IN LISTA TRAPIANTO - MIDOLLO		
B58907				DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE	FRATELLO/SORELLA	19/07/2019
				CONSANGUINEO PAZIENTE EMATOLOGICO		
B58908				DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE	FRATELLO/SORELLA	19/07/2019
				CONSANGUINEO PAZIENTE EMATOLOGICO		
B58909				DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE	FRATELLO/SORELLA	19/07/2019
				CONSANGUINEO PAZIENTE EMATOLOGICO		
B58910				DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE	FRATELLO/SORELLA	19/07/2019
				CONSANGUINEO PAZIENTE EMATOLOGICO		

TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE I

Cognome Nome	ALLELI HLA-A*	Prelevato	ALLELI HLA-B*	Prelevato	ALLELI HLA-C*	Prelevato
	26:01:01:01, 30:01:01:01	09/07/2019	13:02:01:01, 51:01P	09/07/2019	06:02:01:01, 14:02P	09/07/2019
	NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	
	25:01:01:01, 26:01:01:01	09/07/2019	18:01P, 51:01P	09/07/2019	12:03:01:01, 14:02P	09/07/2019
	NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	
	25:01:01:01, 26:01:01:02	09/07/2019	15:01:01:01, 18:01P	09/07/2019	03:03P, 12:03:01:01	09/07/2019
	NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	
	25:01:01:01, 26:01:01:01	09/07/2019	18:01P, 51:01P	09/07/2019	12:03:01:01, 14:02P	09/07/2019
	NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	

TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE II

Cognome Nome	ALLELI HLA-DRB1*	Prelevato
	07:01P	09/07/2019
	NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	
	07:01P, 11:01P	09/07/2019
	NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	
	11:01P, 14:01P	09/07/2019
	NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	
	07:01P, 11:01P	09/07/2019
	NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	

DATA STAMPA REFERTO: Mercoledì 24 Luglio 2019 09:23



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EFI (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE FAMIGLIA NUM. F16745

Cognome Nome	ALLELI HLA-DQA1*	Prelevato	ALLELI HLA-DQB1*	Prelevato
			02:01P, NEW	09/07/2019
			NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	
			02:01P, 05:01P	09/07/2019
			NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	
			03:01P, 05:03P	09/07/2019
			NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	
			02:01P, 03:01P	09/07/2019
			NGS - Next Gen. Seq (GenDx)	

presenta una mutazione al locus DQB1 nell'esone 2, posizione nucleotidica 142, codone 16. L'allele mutato presenta la migliore omologia con DQB1*02:02:01:01, ma nella posizione sopracitata presenta una C al posto di una T, per cui si passa da TAC (Tyr) a CAC (His). La mutazione è stata confermata con tecnica SBT.

Gli alleli HLA-A*, B*, C*, DRB*, DQA1*, DQB1* e DPB1* sono stati assegnati in base alle sequenze pubblicate sulle banche dati molecolari al momento dell'esecuzione dei test.

Per ogni locus HLA tipizzato le ambiguità comprese all'interno dei gruppi P sono disponibili presso il laboratorio.

Firma:

Firmato in originale

Mutazioni esoniche negli esoni 2 e 3 per la classe I e 2 per la classe II

DATA STAMPA REFERTO: Mercoledì 24 Luglio 2019 09:23

Problematiche emerse → Mutazioni e cambio librerie



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EPI (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE FAMIGLIA NUM. F16444

DR
EMATOLOGIA
AZ. OSP. S. GIOVANNI BATTISTA
CORSO BRAMANTE 88
10126 TORINO TO

15/05

RM	COGNOME-NOME	(*)DECEDUTO ETA	CATEGORIA DI APPARTENENZA	RELAZIONE FAMILIARE	DATA ULT. TEST
B55879			PAZIENTE IN LISTA TRAPIANTO - IDOLLO		06/02/2019
B55803			DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE CONSANGUINEO PAZIENTE EMATOLOGICO	FIGLIO	02/05/2019
B55804			DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE CONSANGUINEO PAZIENTE EMATOLOGICO	FIGLIO	13/05/2019
B55805			DONATORE MIDOLLO - FAMILIARE CONSANGUINEO PAZIENTE EMATOLOGICO	FIGLIO	02/05/2019

TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE I

Cognome Nome	ALLELI HLA-A*	Prelevato	ALLELI HLA-B*	Prelevato	ALLELI HLA-C*	Prelevato
	03:11:01:01, 30:01:01:01	30/01/2019	35:08:01:01, 44:02:01:01	30/01/2019	01:02P, 04:01:01:06	30/01/2019
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
	03:01:01:01	18/04/2019	35:01:01:14, 44:02P	18/04/2019	01:02P, 04:01P	18/04/2019
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
	03:01:01:01, 29:02:01:01	18/04/2019	36:01:01:01, 44:02P	18/04/2019	01:02P, 12:03:01:01	18/04/2019
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
	29:02:01:01, 30:01:01:01	18/04/2019	35:08:01:01, 36:01:01:01	18/04/2019	04:01:01:28, 12:03:01:01	18/04/2019
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)		NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	

TIPIZZAZIONE GENOMICA: CLASSE II

Cognome Nome	ALLELI HLA-DRB1*	Prelevato
	07:01P, 11:01P	30/01/2019
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
	01:01P, 11:01P	18/04/2019
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
	04:02P, 11:01P	18/04/2019
	SEQUENZA commerciale GENDX	
	04:02:01, 07:01P	18/04/2019
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	

Cognome Nome	ALLELI HLA-DQA1*	Prelevato	ALLELI HLA-DQB1*	Prelevato
	02:01P, 03:01P	30/01/2019		
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)			
	03:01P, 05:01P	18/04/2019		
	NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)			

DATA STAMPA REFERTO: Mercoledì 15 Maggio 2019 12:08



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EPI (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE FAMIGLIA NUM. F16444

Cognome Nome	ALLELI HLA-DQA1*	Prelevato	ALLELI HLA-DQB1*	Prelevato
			03:01P, 03:02P	18/04/2019
			SEQUENZA commerciale GENDX	
	Alternative HLA-DQB1*: 03:10P/DOB1*03:184; DOB1*03:69/DOB1*03:70; DOB1*03:74/DOB1*03:138; 03:02P/DOB1*03:278N; 03:03P/03:04P; 03:14P/DOB1*03:113;			
			02:01P, 03:02P	18/04/2019
			NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	

E' stata eseguita la tipizzazione di primo ingresso del figlio.

Si fa notare che la figlia è l'unica ad aver ereditato dalla madre l'aplotipo A*30, C*04, B*35, DRB1*07. In alta risoluzione l'allele HLA-C della madre risulta essere C*04:01:01:06, quello della figlia C*04:01:01:28. Questo è dovuto al fatto che la tipizzazione eseguita in NGS della madre era stata letta con la libreria 3.35.0 di luglio 2018 che aveva indicato come risultato C*04:01:01:05 con un mismatch a livello dell'introne 5. La tipizzazione della figlia è invece stata letta con la libreria 3.35.0 di gennaio 2019 che ha indicato come risultato C*04:01:01:28 (allele assegnato in data 2018-10-26) senza mismatch. La sequenza del gene HLA-C è identica tra madre e figlia.

Gli alleli HLA-A*, B*, C*, DRB*, DQA1*, DQB1* e DPB1* sono stati assegnati in base alle sequenze pubblicate sulle banche dati molecolari al momento dell'esecuzione dei test.

Per ogni locus HLA tipizzato le ambiguità comprese all'interno dei gruppi P sono disponibili presso il laboratorio.

Firma: Firmato in originale

Stampa: (sempre Giga Medical)

ALLELI HLA-C*	Prelevato
01:02P, 04:01:01:06	30/01/2019
NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
01:02P, 04:01P	18/04/2019
NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
01:02P, 12:03:01:01	18/04/2019
NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	
04:01:01:28, 12:03:01:01	18/04/2019
NGS - Next Gen. Seq. (GenDx)	

Paziente

Figli

DATA STAMPA REFERTO: Mercoledì 15 Maggio 2019 12:08

Problematiche emerse → Mutazioni e cambio librerie



S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (P. O. Molinette)
Dipartimento Medicina di Laboratorio
Laboratorio Accreditato EPT (European Federation for Immunogenetics)
via Santena 19 - 10126 Torino Telefono: +39 011 6336521 - fax: +39 011 6336529
e-mail: immunologia_trapianti@molinette.piemonte.it

RISPOSTA TIPIZZAZIONE COMPLESSO HLA

DR
EMATOLOGIA
AZ. OSP. S. GIOVANNI BATTISTA
CORSO BRAMANTE 88
10126 TORINO TO

C.F. _____ FAM. _____ NAT/O/A _____ IL _____ ETA' _____ IMM. _____
CATEG. PAZIENTE IN LISTA TRAPIANTO - MIDOLLO _____

TIPIZZAZIONE GENOMICA:

CLASSE I)	ALLELI	METODICA	DNA ESTRATTO DA	PRELIEVO	DATA TEST
HLA-A*	03:01:01:01, 30:01:01:01	NGS - Next Gen. Sec. (GenDx)	SANGUE INTERO	28/05/2019	10/06/2019
HLA-B*	31:08:01:01, 44:02P	NGS - Next Gen. Sec. (GenDx)	SANGUE INTERO	28/05/2019	10/06/2019
HLA-C*	01:02P, 04:01:01:28	NGS - Next Gen. Sec. (GenDx)	SANGUE INTERO	28/05/2019	10/06/2019

CLASSE II)	ALLELI	METODICA	DNA ESTRATTO DA	PRELIEVO	DATA TEST
HLA-DRB1*	07:01P, 11:01P	NGS - Next Gen. Sec. (GenDx)	SANGUE INTERO	28/05/2019	10/06/2019
HLA-DQB1*	02:01P, 03:01P	NGS - Next Gen. Sec. (GenDx)	SANGUE INTERO	28/05/2019	10/06/2019

La tipizzazione della paziente è stata riconfermata su un secondo prelievo.
Si fa notare che la paziente è stata attivata con tipizzazione al locus HLA-C come C*01:02P,04:01:01:06 mentre nel test conferma risulta essere C*01:02P,04:01:01:28. Come già descritto nel referto del 15/05/2019 relativo alla tipizzazione di primo ingresso dei figli della paziente questo è dovuto al fatto che la tipizzazione eseguita in NGS al momento dell'attivazione era stata letta con la libreria 3.33.0 di luglio 2018 che aveva indicato come risultato C*04:01:01:06 con un mismatch a livello dell'introne 5. La tipizzazione del test conferma è invece stata letta con la libreria 3.35.0 di gennaio 2019 che ha indicato come risultato C*04:01:01:28 (allele assegnato in data 2018-10-26) senza mismatch.

Gli alleli HLA-A*, B*, C*, DRB*, DQA1*, DQB1* e DPB1* sono stati assegnati in base alle sequenze pubblicate sulle banche dati molecolari al momento dell'esecuzione dei test.

Per ogni locus HLA tipizzato le ambiguità comprese all'interno dei gruppi P sono disponibili presso il laboratorio.

Firma:
Firmato in originale
Dr. Anna Maria Molinette
Responsabile Laboratorio
(Dr. Anna Maria Molinette)

ATTIVAZIONE
HLA-C*01:02P, 04:01:01:06

TEST CONFERMA
HLA-C*01:02P, 04:01:01:28

Conclusioni

Nessuna!



Tante domande aperte

- 1) Tipizzazione NGS: in caso di ambiguità (riconducibili ai gruppi P) utilizzo dei gruppi P o no?
- 2) Mutazioni

Tipo mutazione	Come indicare l'allele		Comunicazione all'ematologo
Mutazioni in UTR o introni	Gruppo P?	Allele unico? Allele al 2° campo?	?
Mutazioni in altri esoni	Gruppo P?	Allele unico? Allele al 2° campo?	Descrizione mutazione nel referto?
Mutazioni negli esoni fondamentali	NEW		Descrizione mutazione nel referto
Porta a codoni di stop	NEW		Descrizione mutazione nel referto
Localizzata in zona di splicing	NEW		Descrizione mutazione nel referto

Linea comune AIBT?

Inserimento nelle raccomandazioni AIBT?