

AperTO - Archivio Istituzionale Open Access dell'Università di Torino

## NGS e HLA: l'esperienza di un singolo centro

### **This is the author's manuscript**

*Original Citation:*

*Availability:*

This version is available <http://hdl.handle.net/2318/1562409> since 2016-05-25T08:32:25Z

*Publisher:*

NESSUNO

*Terms of use:*

Open Access

Anyone can freely access the full text of works made available as "Open Access". Works made available under a Creative Commons license can be used according to the terms and conditions of said license. Use of all other works requires consent of the right holder (author or publisher) if not exempted from copyright protection by the applicable law.

(Article begins on next page)

SEGRETERIA SCIENTIFICA

Caro,  
P  
T  
L

COLUCCI ROSSELLA  
Cell. +39 329 5832670 E-mail: [colucrosella@libero.it](mailto:colucrosella@libero.it)  
SANTARSIA GIOVANNI  
Cell. +39 329 5832755 E-mail: [gsantarsia@gmail.com](mailto:gsantarsia@gmail.com)  
SANTOSPIRITO EUSTACHIO VINCENTO  
329 5832756 E-mail: [e.santospirito@alice.it](mailto:e.santospirito@alice.it)  
SARACINO ANGELO  
Cell. +39 329 5832712 E-mail: [asaracino@wind.it](mailto:asaracino@wind.it)

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA



PRISCO  
PROVIDER di  
eventi & comunicazioni  
Riconoscimento ID 627

Tel. +39 0835 330413  
Cell. +39 389 9547037  
E-mail: [convegni@priscoprovider.it](mailto:convegni@priscoprovider.it)

[www.aibt2015.com](http://www.aibt2015.com)

**AIBT** ASSOCIAZIONE ITALIANA  
DI IMMUNOGENETICA  
E BIOLOGIA DEI TRAPIANTI

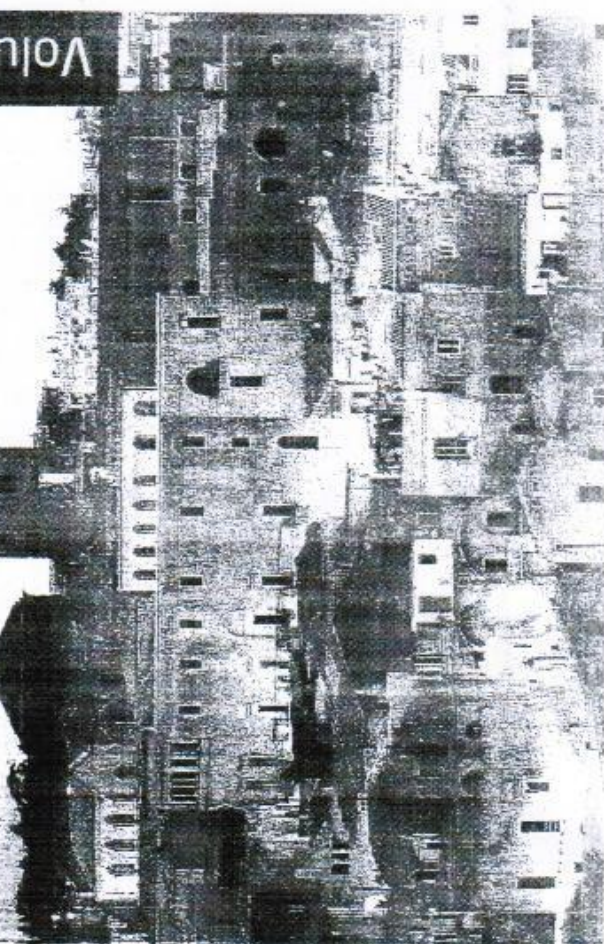
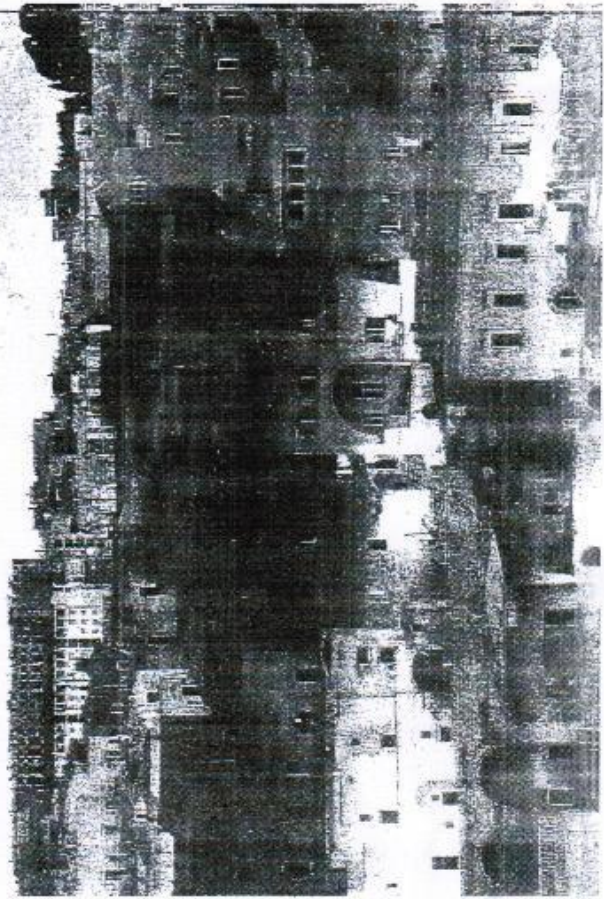
# XXII CONGRESSO NAZIONALE AIBT

MATERA  
8/9/10 ottobre 2015  
Auditorium "R. Gervasio"  
Piazza del Sedile

Volume degli ABSTRACT

Volume degli ABSTRACT

XXII CONGRESSO NAZIONALE AIBT **AIBT**



## NGS E HLA: L'ESPERIENZA DI UN SINGOLO CENTRO

F. E. Bertinetto, G. A. Mazzola, E. Garino, T. Melchiorre, D. Bongioanni, A. De Masi, E. Navaretti, E. Dametto, A. Amoroso

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

In questi ultimi anni l'avvento della tecnologia Next Generation Sequencing (NGS) ha portato ad una valida alternativa al tradizionale metodo Sanger (SBT) per la tipizzazione del Sistema HLA.

La NGS infatti consente di ottenere risultati ad elevata risoluzione (terzo o quarto campo), spesso univoci, senza dover ricorrere all'utilizzo di ulteriori tecniche per la risoluzione di ambiguità, situazione ricorrente con la tecnica SBT. Inoltre, essa permette la tipizzazione massiva in parallelo di numerosi campioni contemporaneamente ad un costo sempre più competitivo rispetto ad altre tecniche.

Nel nostro centro sono state effettuate 4 dimostrazioni con 4 diverse ditte produttrici di kit di NGS per HLA al fine di valutarne il possibile utilizzo nella routine di laboratorio.

Per tutte le ditte sono stati tipizzati i loci HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 (Omixon: 32 campioni di cui uno escluso dall'analisi in quanto non tipizzato con Sanger; GenDx: 16 campioni; Illumina: 12 campioni; Rose e -DQA1, -DPA1, -DRB3/4/5 con la ditta Illumina: di queste ultime due ditte i dati non sono mostrati in quanto le analisi risultano ancora in corso).

Come piattaforma di sequenziamento è stato utilizzato l'Illumina MiSeq. I risultati dell'analisi primaria sono mostrati in tabella 1.

Corsi (n°)	Omixon		GenDx
	1	2	
Campioni (n°)	16	16	16
Illumina Flow Cell	Standard	Standard	Nano
% Reads >= Q30	79,6	77,0	88,0
Cluster Density (K/mm2)	630 +/- 26	1112 +/- 25	1187 +/- 0
Cluster Passing Filters (%)	86,45 +/- 4,05	86,39 +/- 3,83	87,67 +/- 0,38

Total Reads	11931260	20530376	1578298
Passing Filter Reads	10311104	17746564	1383747
Passing Filter Reads (%)	97,1768	97,2414	97,8812
	4,2 G	7,0 G	0,4 G

Tabella 1. Dati relativi alle singole corse di ciascuna ditta.

I risultati della tipizzazione mediante NGS, confrontati con quelli ottenuti con metodo Sanger, sono illustrati in tabella 2. Per quanto riguarda la ditta Omixon sono stati ottenuti due risultati, uno dal sequenziamento di ogni singolo locus per campione separatamente e uno dal pool dei vari loci per singolo campione.

Locus	Ditta	Risoluzione* (%)	Ambiguità**	Fallimenti
HLA-A	Omixon (n=31)	30 (96,77)	1	1
	Omixon pool (n=31)	31 (100)		
HLA-B	GenDx (n=16)	15 (93,75)		1
	Omixon (n=31)	30 (96,77)	1	
HLA-C	Omixon pool (n=31)	31 (100)		
	GenDx (n=16)	16 (100)		
	Omixon (n=31)	30 (96,77)	1	
	Omixon pool (n=31)	29 (93,55)	1	1
HLA-DRB1	GenDx (n=16)	16 (100)		
	Omixon (n=31)	29 (93,55)		2
HLA-DQB1	Omixon pool (n=31)	30 (96,77)		1
	GenDx (n=16)	13 (81,25)	3	
	Omixon (n=31)	28 (90,32)		3
	Omixon pool (n=31)	27 (87,10)		4
	GenDx (n=16)	16 (100)		

Tabella 2. Risultati ottenuti con le diverse ditte per i loci HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1. \* Risoluzione uguale o più alta rispetto a quella ottenuta con metodo Sanger. \*\* Ambiguità da risolvere secondo gli Standard EPT.

I risultati di questo primo studio confermano un'elevata prestazione della NGS supportandone l'introduzione in laboratorio, anche in considerazione dell'evoluzione di tale tecnica applicata all'HLA e del continuo miglioramento dei singoli kit e software commercializzati dalle diverse ditte.

Per il nostro centro sarà molto importante in un prossimo futuro avviare la tecnica NGS: in questo modo potranno essere tipizzati i donatori volontari di CSE il cui reclutamento in Piemonte, molto attivo nelle iniziative e negli eventi di sensibilizzazione, ha subito un notevole incremento a partire dal 2012.