

Standardní operační postup (SOP)

ČNRDD/L01/verze03

HLA data dárců – pravidla reportování, záznam do databáze ČNRDD

1. Cíl

1. Zajistit jednoznačný a mezinárodně korektní (dle WHO nomenklatury a EFI standard) formát zápisu a reportu HLA

2. Postup

2.1 Obecné principy:

- 2.1.1 HLA data dárců musí být reportována a zapisována výhradně ve formátu konformním s platnou WHO nomenklaturou a EFI standardy.
- 2.1.2 Primární zodpovědnost za správné vydávání HLA dat má vedoucí centrální HLA laboratoře ČNRDD.
- 2.1.3 Vedoucí HLA laboratoře průběžně sleduje WHO nomenklaturu a EFI standardy a dohlíží nad kontinuální konformitou s jejich aktuálními verzemi.
- 2.1.4 Přehled poslední WHO nomenklatury platné od března 2010 viz následující tabulka:

Nomenklatura	Označuje:
HLA	HLA region a předpona pro HLA gen
HLA-DRB1	Specifický HLA lokus , např. DRB1
HLA-DRB1*13	Skupina alel, které kódují DR13 antigen
HLA-DRB1*13:01	Specifická HLA alela
HLA-DRB1*13:01N	„Null“ alela (alela, která není exprimována)
HLA-DRB1*13:01:02	Alela, která se liší synonymní mutací
HLA-DRB1*13:01:01:02	Alela s mutací mimo kódující region
HLA-A*24:09N	„Null“ alela
HLA-A*30:14L	Alela kódující protein se signifikantně redukovanou nebo "nízkou" expresí na buňkách
HLA-A*24:02:01:02L	Alela kódující protein se signifikantně redukovanou nebo "nízkou" expresí na buňkách a kde se mutace nachází mimo kódující region
HLA-B*44:02:01:02S	Alela kódující protein, který je exprimován pouze jako „sekreční“ molekula
HLA-A*03:01:01Q	Alela s mutací prokazatelně ovlivňující expresi na povrchu buněk, nicméně toto nebylo dosud jednoznačně potvrzeno a její expresní status zůstává tedy zatím 'Questionable'

2.2 Vlastní aplikace pravidel pro HLA reportování, zapisování

- 2.2.1 Fenotypy a genotypy musí být vyjádřeny dle následujících příkladů:
Jednotlivá alela: HLA-B*07
Jednotlivý antigen: HLA-B7 (nebo B7 pokud je HLA zjevné z kontextu)
- 2.2.2 Označení lokusu musí být vždy obsahem zápisu, reportu.
- 2.2.3 Report HLA typu:
Sérologické stanovení: HLA-A2,30; B7,44; Cw5; DR1,4; DQ5,7
DNA stanovení: HLA-A*02,*30; B*07,*44; C*05,*16; DRB1*01,*04; DQB1*05,*03:01
- 2.2.4 "Broad" antigeny a epitopy BW4 a Bw6 mohou být reportovány v závorkách
- 2.2.5 Pokud je na daném lokusu nalezen pouze 1 antigen/alela, výsledný fenotyp jej může obsahovat dvakrát (např A* 01,01) pouze byla-li homozygotie potvrzena rodinou studií.

2.2.6 Daná alelická skupina může být reportována 2x v případě. Že její NMDP kódy ukazují přítomnost 2 různých alel stejné alelické skupiny (např. DRB1*13:AB, 13:DENP)

2.3 Specifická aplikace HLA terminologie – rezoluce (rozlišení, ambiguozy, příklady reportů)

2.3.1 Rezoluce – úroveň typizace

- "2-digits" (synonymum: broad nebo generická typizace, low resolution) = DNA typizace s výsledkem na úrovni „split-level“ sérologie. Platí především pro HLA II. třídy a HLA-A. Pro některé alelické skupiny HLA-B (B*15, 40) má tato úroveň typizace v některých parametrech nižší rozlišení než sérologie.

Příklady:

DRB 1* 11 je ekvivalent k sérologicky definované DR11

B*40 může být sérologicky jak B60 tak B61, tak B*40 alelou bez sérologického ekvivalentu.

- "4digits" (Synonymum: high resolution, alelická typizace) = Stanovení specifické alely v dané alelické skupině. Tato úroveň typizace nesmí obsahovat ambiguozy na úrovni CWD („common and well defined alleles“) (viz Cano et al. Human Immunology 68, 392–417, 2007) Může obsahovat ambiguozy s „rare“ alelami dle Cano et. al. Může obsahovat navíc alely, které se neliší v ARS (antigen recognition site), jejich sekvence pro exon 2 +/-3 jsou identické.

Příklady:

B*07:02

B*35:03/55 (ambiguozita je vzácnou alelou)

C*07:01/06- ambiguozita je identická v exonu 2+3

2.3.2 Ambiguozita

=případ kdy typizační technika nedovolí rozlišit mezi 2 a více možnostmi (kombinacemi alel). Ambiguozy jsou buď uvnitř jedné a té samé alelické skupiny nebo obsahují různé alelické skupiny lokusu. Typickým příkladem ambiguozyt „přes“ alelické skupiny jsou alelické skupiny DRB1* 03/11/13/14, při typizaci SSOP. V souvislosti s používáním sekvenace (nepoznává cis-trans pozici) roste počet tohoto typu ambiguozyt. Výsledek HLA typizace obsahující ambiguozytu musí být do databáze ČNRDD zadán dle doporučení HLA laboratoře. Na základě frekvence haplotypů/alel dané populace musí HLA laboratoř musí jasně označit nejpravděpodobnější typizační výsledek, nicméně všechny další možné kombinace alel musí být zaznamenány a a případně k dispozici v typizující laboratoři.

2.3.3 NMDP kódy

Tyto kódy mohou být použity pouze v případě, jsou-li automaticky generovány HLA softwarem (obvykle dodává výrobce typizačních kitů), který je pravidelně aktualizován minimálně 1x ročně, tak aby produkoval aktuální kódy

2.4 Reporty HLA typizací, příklady

2.3.2 Každá HLA typizace zasláná do databáze CNMDR musí kromě vlastního výsledku HLA typizace přímo obsahovat, či umožnit identifikaci a dohledatelnost těchto dat:

- o Unikátní identifikaci dárce (viz SOP/L01)
- o Použitou typizační techniku
- o Datum typizace
- o Datum vydání výsledku
- o Signaturu zodpovědné osoby laboratoře (možno i elektronická)

2.4.2 Alely (antigeny) lokusu (genu) musí být vždy odděleny čárkou. Jakákoliv jiná separace (lomítko, dvojtečka, tečka) nejsou akceptovatelné. Vždy musí být přítomno označení lokusu. Příklad: DRB 1* 01:01 , 07:01

2.4.3 Je-li přítomen pouze 1 antigen (alela), pak může být reportován 2x pouze je-li homozygotie doložena rodinnou studií.

Příklad: DRB 1* 01

2.4.4 V případě ambiguozyt nemusí být reportovány všechny možnosti pokud ambiguozyt nejsou CWD (viz výše). Musí být uveden nejpravděpodobnější typ dle frekvence alel/haplotypu dané populace. Možnost přítomnosti „vzácných“ alel (ambiguozyt však musí být zmíněna v poznámce/komentáři k typizaci

Příklad: DRB 1 * 11 nebo 11, 13:27

3 Formuláře NA

4 Související SOP

4.1 ČNRDD/L02/Export HLA dat dárců z laboratoře databáze ČNRDD, akceptace HLA výsledků databází

ZMĚNY/REVIZE:

datum:	revidoval/schválil:	podpis:	revize/změna*:
1.1.2009	Jindra/PJ		implementace SOP
1.1.2010	Jindra/PJ		Výroční revize, beze změn.
1.1.2011	Jindra/PJ		Výroční revize, aktualizace formát HLA nomenklatury (s „:“). Vznik verze02.
1.1.2012	Jindra/PJ		Výroční revize, upraveny směrnice pro vydávání vzácných ambiguošit. Vznik verze03.
1.1.2013	Jindra/PJ		Výroční revize, pouze drobné úpravy formulací
1.1.2014	Jindra/PJ		Výroční revize, beze změn.
1.9.2016	Jindra/PJ		Výroční revize, beze změn, compliance se std WMDA 2017.
1.2.2018	Jindra/PJ		Výroční revize, beze změn

* silně vyznačeny pravidelné roční revize