

New Developments and Innovation in the Transplant Diagnostic Services

offered at the South African National Blood Service (SANBS)

28th SATS & 5th SATiBA Congress 6 – 8 September 2019 Krystal Beach Hotel, Gordons Bay









* Lavendri Govender, Derrick Nelson, Ute Jentsch

*Senior Biomedical Scientist, Molecular R&D, Specialised Laboratory Services, South African National Blood Services

lavendri.Govender@sanbs.org.za





BACKGROUND

VISION

"The Cornerstone of Healthcare in South Africa, through the Gift of Life"

SCOPE OF TESTS

- HLA typing
- HLA antibody
- CDC crossmatch
- Virtual crossmatch
- HLA next generation sequencing (NGS)
- ABO typing



INTRODUCTION

To provide a descriptive overview of assay improvements and innovative new testing platforms implemented in the Tissue Immunology Laboratories in the past 18 months



Luminex Instrument – 1st line HLA Typing

LX100/200



xMAP Technology

- 100 Bead Region Map
- Uses a Red 638 nm laser
- Uses two dyes
- Reads Two Different Emission Wavelengths 1.Red 2.Infrared

NEW!!! FlexMap3D (FM3D)





xMAP Technology

- 1000 Bead Map Region (500 beads used to date)
- Uses a Red 638 nm laser
- Has a third internal dye
- Reads Three Different Emission Wavelengths 1.Red 2.Infrared &

3.Extended Infrared Dye

SANBS

FM3D – allows for a more extensive allele coverage, providing a higher definition HLA result with shorter HLA allele strings and a reduction in HLA ambiguities



LABXpress – Automation for Luminex Assays

- Fully automates the HLA antibody assays, reducing hands-on time from 8hrs – 3 hrs.
- Automates the HLA typing assay from pre- amplification, reducing hands-on time from 4hrs – 2 hrs.
- High throughput testing capability 8 x 96-well trays in one run.
- Reduced consumables, no disposable tips required due to a 8-channel head
- Consistent results obtained, no technologist variation



HLA High Resolution Typing



HLA NGS continued...

- Moved to an improved assay
- Loci coverage has increased from 5 loci to 11 loci (HLA-A, B, C, DRB1/3/4/5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1)
- Reduced turnaround time from 4 to 3 days.
- HLA Twin Analysis Software
 - > Dual algorithm genotyping software consensus genotyping and statistical genotyping



HLA Typing analysis result HI A-A HI A-R HLA-C HLA-DPR HLA-DOA1 19-13-09-55 Allele 1 @ ● ● HLA-A*02-01:01:02L Ø ● ● HLA-B*18:01:01:02 Ø ● ● HLA-C*07:01:01:01 Ø ● ● HLA-DPB1*04:01:01:01 Ø ● ● HLA-DOA1*01:02:01:01 HLA-DQB1*03:01:01:03 HLA-A*02:01:01:01 09_13-09-55 Allele 2 🐵 🗢 HLA-A*03:01:01:01 HLA-DPB1*04:01:01:02 lele 1 🔗 🛑 🔶 HI A-A*32-01-01 HLA-B*14:01:01 HIA-C*04:01:01:01 Allele 2 🔗 🔿 🕒 HI & A*68-02-01-01 HI A-B*53:01:01 2-18-57 Allele 1 🐵 🖶 HLA-A*02:02:01 HLA-B*38:01:01 HLA.DDB1*105:0 2.18.57 Allele 2 🐵 😑 🖶 HLA-A*26:01:01 HLA-DPB1*351-0* HI A.A*11-01-01-01 HLA-A*68:01:02:02 HLA.DPB1*04-01-01-02 HLA.A*11-01-01-01 HI A.B*44-02-01-01 HIA.DDB1*01-01-01 e 2 🐵 🖷 🖶 HI A-A*68-01-02-02 HIA-B*44:02:01:03 HIA-DPB1*04-01-01-0 HI A-DOA1*03:03:0 HIA-DOB1*03:01:01:0 HLA-DPB1*04:01:01 A 10 A 100 A 10 A DDD1*104-01 HLA-DQA1*01:03:01:0 HLA-A*02:01:01:01 HLA-DPB1*02-01-02 2 9 HLA-A*26:01:01 HLA-DPB1*414:0 HLA-DPB1*104:01 Allele 1 🗠 🖷 🐴 HI A-A*01-01 HLA-B*07:02:0 HLA-C*06:02:01:01 © • • HLA HLA-DQA1*03:03:



https://www.omixon.com/products/holotype-hla/

Monotype ABO NGS kit

- ABO donor/recipient compatibility is important for transplant serology tests
- Introduced ABO NGS that is performed on the Illumina MiSEQ sequencer
- To resolve complex ABO serology cases including post stem transplant where the patient takes on the donors ABO group resulting in initial difficult serological determination of ABO group



Other New Assays to assist in Transplant Diagnostics

- C1q Screen used to detect a subset of clinically relevant complement fixing antibodies that are associated with antibody-mediated rejection and graft failure.
- CREG (cross reactive epitope groups) Analysis analysis tool to assist find suitable compatible donor/recipient matches.

		a manual balance		CRONE COMPANY						~					
<< Summary 🔯 💜 11893843_09072019	- >		1												Sample Da
B57 Find Ag Sort Ag	Sort Lo	cus Excl	Cw Cw		-32 CREG - OLI	Jana 10817							X6 -	Use Defau	it Overlay
2501			-						_					Θ $\overline{0}$	÷
X8 X6 X8															
2000															
1500															
1000															
500															
												92902 0			
A 8 . 8 8 . 8	1 F 1 1 1	101-103	8 .	8.28.	8	64 60 1	23 - 24 -				8888.	88 84 .	. 8	8	32 1 74
B · · · · £ 5 · · · · 2 · · 5 4 · · · ·	5 · 4 · 63	3 8	8. 2 3 8	8 . 2 4	88	83	8 . 8	8 . 8	2 8 8 8 8 8	3 . 8 . 8	5	8 5 5	238.2	2~2 4	12
	-														
Bw	* . * 0 *		***		0010000	*							10 1 10 10 10	0000110	1 10 10 1 1
Bw	4 • 4 © 4	4 · · 4	***	r · © · · 4		40		o co · •	• • • • • • • • • • • • • • • • • • •	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		•••••••	0.000		
Bw	4 · 4 0 4	* • • *	440.4	r · © · · •		40	••••	0014		9 9 9 9 9			0.000	000.00	
Bw		· 75 · 4	•••	r · © · · •	· · ē · · • •	••••••	••••••	• • • • •	• • • • • • • • • • • • • • • • • • •	• • • • • • •	• • • • •			••••	
Bw		, 75	• • • • •		, , <u>0</u> , , , ,		e e	• • • •		• 10 • 10 • •	· · · · ·				
Bw	• • • • • • •	• 4 • • 4	• • • • • •	• • • • • • •	• • • • • • • •	• • • • • •		• • • • •	• • • • • • • • •	· · · · · · · ·	8C			•••••	Bw4 Bw6
BW · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	4 · 4 0 4	00 15 4 01 15 1 0128 0	2000 2000 2000 2000 2000 2000 2000 200	00208 00208 00208 00208	99-18 99-18 99-18 99-18 99-18 91-18 - 6 - 6 - 6 - 6 - 6 - 6 - 6 - 6 - 6 - 6	4	01 7C 8760 7C 847000 84700 84700 84700 84700 84700 84700 84700 84700 840	(0)183 	00449	00100 00000 000000 000000 000000 000000 0000	8C 8900	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	2 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	9	Bw4 Bw6
Bw	2C A040	4 15 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16	(0)058 (0)058 (0)058 (0)058 (0)158) (0)158 (0)158 (0)158) (0)158 (0)158) (0	9 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	(395/28) (395/28) (91/28) (10) (10) (10) (10) (10) (10) (10) (10	4 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	01 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	(0)040 (0)040 (0)040 (0)100 (0)100 (0)100 (0)100 (0)100 (0)040 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000 (0)000	* * 8 855(8) · · · 8 856(9) · · · · 8 · · · · 8 · · · · 8 · · · 8 856(9) · · · 8 856(9) · · · 8 856(9) · · · 8 8 · · · 8 8 · · · 8 8 · · · 8 8 · · · 8 8 · · · 8 8 · · · 8 8 · · · 8 8 · · · 8 8 · · · 8 8 </td <td>(0)063 (0)063 (0)168 (0</td> <td>12 13 14 14 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15</td> <td>2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2</td> <td>2008 2008</td> <td>- ω ω Bw4 Bw6</td>	(0)063 (0)063 (0)168 (0	12 13 14 14 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15	2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	2008 2008	- ω ω Bw4 Bw6
Bw	2C 2C 2C 202040 1011 AD	4 · · · 4 · · · · · · · · · · · · · · ·	C (60(4) ESU(5) Th S	2 (902/9) (902/9) (902/9) (902/9) (902/9)	9	8 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9	7C 87(6) ope Analys	6 9 · 4	0 0 4 0 0 0 0 0 4 0 0 0 0 0 10 0 0 10 0 0 10 0 0 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	**************************************	(0)003 (0)003 (0)208 (0	12 12 13 14 15 14 15 14 15 14 15 14 15 14 15 14 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15	C BARGO DE REGOLO	0 0 0 0 · · 0 	вич Вич6
Bw	2C 2C 2C 22 22 22 22 22 22 22 22 22 22 2	4 4 5 ~ 4 6 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	C B B B B B C B B C B B C B C B C B C B C B C B C B C B C B C B C B C B C B C B C C C B C C C B C C C B C C C B C C C B C C C B C C C B C C C C C B C C C C C B C C C C C C C C C C C C C	90 · · · + 90 · · · · · · 90 · · · · · · · 90 · · · · · · · 90 · · · · · · · · 90 · · · · · · · 90 · · · · · · · · · 90 · · · · · · · · · 90 · · · · · · · · · 90 · · · · · · · · · · · · · · · 90 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	© © · · · © © · · · 02 · · · · 874(6) 874(6	8000 800 8000 8	7C 87(6) 87(7) 87(7	• ⊕ • • • • • • • • • • • • • • • • • •	0 0 7 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0		(0)003 (0)003 (0)108 (0	12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 1	C BAR(6) C B	0 0 0 0 0 	Bw4 Bw6
Bw	 ₹ • ₹ © ₹ 2C 20 ₹ 20 ₹	5 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2	C 880(4) C 880(R (Q) (1 (1 (1 (1 (1 (1 (1 (1 (1 (1 (1 (1 (1	© © · · © © · · 01 · · · • 8766 \$Inc 100	2 0 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	7C 87 60 60 60 60 7C 87 60 60 60 7C 87 60 60 60 7C 87 60 60 60 60 60 60 60 60 60 60		0 0 4 0 0 0 	9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9	(0)103 (0	12 12 12 12 12 12 12 12 12 12	C BAR(6) C	© © © • • • © • • • • • • • • • • • • •	
Bw	2C	5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	C 884(4) C 884(863(4) 10 0.57 0.57	© © · · © © · · 0 · · · © © · · 0 · · · • © © · · · • • © © · · 0 · · · • © © · · · • • © © · · · • • © © · · · • • © © · · · • • © © · · · • • © © © · · · • • • •		7C 02 · · · · 0 7C 02 · · · · · 02 · · · · · 03 · · · · · 04 · · · · 05 · · · · · · 05 · · · · · · 05 · · · · · · · · 05 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	87(6) 87(7) 15 K630 < X6 1 0	0 0 4 0 0 0 	(0)930 (0)9300 (0)	(0)103 (0	11 12 13 14 14 15 16 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	C BARGO BARGA DS	© © © · · · ©	Bw4 Bw6
Bw · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	2C 2C 2C 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	• • • • • • • • • • • • • • • • • • •	C B B B B B C B B C B B C B B C B C B C B C B C B C B C B C C C B C C C B C C C C B C C C C C C C C C C C C C	W R 0 0.57 0 0.57 0 0.57 0 0.57	© © · · • © © · · 0 · · • © © · · 0 · · • • • © © · · 0 · · • • • • • • • • • • • • • • •		7C 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	87(6) 87(7) 15 K630 < X6 1 0 0	0 0 4 0 0 0 	(9)99 (9)9) (9)9 (9)9 (9)9) (9)9 (9)9) (9)9 (9)9) (9)9 (9)9 (9)9) (9)9 (9)9) (9)9 (9)9) (9)9 (9)9) (9)9 (9)9) (9)9 (9)9) (9)9 (9)9) (9)9 (9)9) ((0)000 (0)0003 (0)100 (Timel Assigna Spec.	C seeds of s	© © © + + ©	
Bw · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	20 20 30 4 30 4 5 5 5 5 20 7 4 1 2 5 20 7 4 5 7 6 7 7 7 7 7 8 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7	• <u>9</u> ~ • • <u>9</u> ~ • 6 8 8 8 8 8 8 9 1 2 1 2 1 0 1 1 1 1 1 1 1 1	C E E E E E E E E E E E E E	N R 0 0.57 0 0.57 0 0.57 0 0.57	© © · · • © © · · □ · · · • © © · · □ · · · · · · · · · · · · · · · · ·	Epite Spec Acc	7C 1 1 1 0 7C 1 7C 1 1 1 0	ο ω · • • · · Φ · · • · · Φ · · • • · · Φ · · • • • • • • • • • • • • •	0 0 7 0 0 0 0 0 7 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	(0)098 (0)00 (0)00) (0)000 (0)000 (2 (000) (000) (000) (12 12 12 12 12 12 12 12 12 12	C BARAD BERT PSA DS	© © © • • • ©	0 00 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Bw	2C 2C 2 2 3 3 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5	• <u>9</u> ~ • • <u>9</u> ~ • 6 6 8 8 8 9 1 2 1 2 1 0	C C E E E E E E E E E E E E E	N R 0 0.57 0 0.57 1 0.7	© © · · · © © · · <u>0</u> · · · · ○ B ¹⁷ (0) B ¹⁷ (0) B ¹⁷ (0) B ¹⁷ (0) B ¹ (0) S0		00 7C 10 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	ο ω · • • · · Φ · · • · · Φ · · • • · · Φ · · • • • • • • • • • • • • •	0 0 7 0 0 0 0 0 7 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	(00000 (00000 (00000 00000 00000 00000 00000 00000 0000	8C (80(0))) (80(0)) (80(0)))) (80(0))) (80(0)))) (80(0)))) (80(0)))) (80(0)))) (80(0)))))(80	12 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	C Beech	© © © 0 1 1 0 	
BW · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	2C 2C 2C 2C 2C 2C 2C 2C 2C 2C	• \$2 ~ • • • • • • • • • • • • • • • • • •	C (C (S) (C) (C) (C) (C) (C) (C) (C) (C	1 (<u>10</u>) 1 (<u>10</u>	• • • • • • • • • • • • • • • • • • •	Base Base Base </td <td>7C 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10</td> <td>0 ω · • • • • • • • • • • • • • • • • • •</td> <td>© © ♥ © © © © © © © © © 0 0 0 0 0 0 0 0</td> <td>9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9</td> <td>(0000) (0000) (00000) (0000) (00000) (00000) (00000) (00000) (000) (000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (000) (000) (0000) (00)</td> <td>12 13 14 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15</td> <td>C READ</td> <td>© © © • • • ©</td> <td></td>	7C 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	0 ω · • • • • • • • • • • • • • • • • • •	© © ♥ © © © © © © © © © 0 0 0 0 0 0 0 0	9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9	(0000) (0000) (00000) (0000) (00000) (00000) (00000) (00000) (000) (000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (0000) (000) (000) (0000) (00)	12 13 14 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15	C READ	© © © • • • ©	
Bw	2C 2	• \$2 ~ • • • • • • • • • • • • • • • • • •	C C B B C B C B C B C B C B C B C B C B C C B C C B C C B C C C B C C C C C C C C C C C C C	N R 0 0.57 0 0.57	© © · · · © © · · · © © · · · © © · · · © © · · · · © © · · · · © © ·	Records For Contract of Contra	7C 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	ο ω · • • • · · · · · · · · • · · · · · · • · · · ·	© © ♥ © © ♥ © © ©	(0) (0) (0) (0) (0) (0) (0) (0) (0) (0)	8C 800000000000000000000000000000000000	12 14 15 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16		© © © ©	0 0 1 Bw4 Bw6 1 Bw4 Bw5
BW	20 20 20 20 20 20 20 20 20 20	• • • • • • • • • • • • • • • • • • •	C C C C C C C C C C C C C C	N R 0 0.57 0 0.57	*Inc 100 100 50	service servic	7C 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	0 00 + 4 +	Image: Non-State Image: Non-State<	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	8C 1990 1997 1997 1997 1997 1997 1997 1997	11 10 10 10 10 10 10 10 10 10			X Assign -ve
Bw	2C 2C 2C 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	• <u>\$</u> • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	C C R R C R C R C R R R R R R R R R R R R R	N R 0 0.57 0 0.57		8 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	7C 100 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 1 € 10 0 1 € 10 0 1 10 0 1 10 0 1 10 0 1	0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	6C (800) (00) (00	12 13 14 14 15 14 15 14 14 14 14 14 14 14 14 14 14	C BARGO DE CONTRACTOR DE CONTR		Dwd Dwd Dwd Dwd E E W T
Bw	2C 2C 2C 2 2 3 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	s s s s s s s s s s s s s s s s s s s	C C C C C C C C C C C C C C	Image: Non-Section 1 Image: No	• • • • • • • • • • • • • • • • • • •		7C BERG BALL 1 0 7C BERG BALL 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	87(6) 15 Κα50 < X6 1 0 0 1	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	(1993) (1993) (1993) (1993) (1993) (1993) (1993)	8C 8000000 800000 800000 80000 80000 80000 80000 80000 80000 80000 80000 80000 80	12 14 15 15 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16		w Data) Save>	Bwé Bwé Bwé Bwé Bwé Bwé Image: State Sta



.

KIR Typing







And then there is more to come...

- Molecular hub housing all our molecular processes and offer a center of excellence for HLA and ABO NGS
- Preparation for EFI accreditation
- Flow Crossmatch
- KIR-HLA outcomes in bone marrow transplants and HIV outcomes
- New state-of-art, environmentally friendly laboratory premises being designed and will based in Mount Edgecombe, Durban



Acknowledgements

- LISA (Lagitre South Africa) Gianfranco Gianella, Malegola, Albert, Ugene
- Nina Lauterbach, Efi Melista Omixon team for use of slides and webinars, technical support
- Donald/Dr Silke/Oliver Inqaba Biotechnical Industries
- Testing/Analysis/Interpretation team Angeline Moonsamy, Lavendri Govender
- Support team Dr Ute Jentch Lead Consultant, Kuben Vather
- Tissue Immunology laboratory, CK staff, Derrick Nelson, Shelagh Kavonic
- Innotrain/Haemotec Morne Toms, Innotrain product specialists (KIR typing), slides, literature

REFERENCES

 Hult, Annika, Studies of the ABO and FORS Histo-Blood Group Systems: Focus on Flow Cytometric

and Genetic Analysis, Lund University, 2013

- Olsson Martin et al, Genomic analysis of clinical samples with serologic ABO blood grouping discrepancies: identification of 15 novel A and B subgroup alleles BLOOD, vol 8, no.5, 2001.
- Innotrain website (<u>www.innotraim.com</u>), literature
- Vilches and Parham, 2002, Moesta et al., 2008, Gardiner, 2008, Khakoo et al., 2004
 - Middleton and Gonzelez, 2009



