

PROVA ESTINTA (Firma candidato sul retro)

Concorso pubblico, per titoli ed esami, per la copertura di n. 10 posti di tecnico sanitario di laboratorio biomedico, a tempo indeterminato e a tempo pieno

PROVA SCRITTA 1

1. **L'ECM è:**
 - a. Il processo attraverso il quale il professionista si mantiene aggiornato per rispondere alle esigenze del SSN e al proprio sviluppo professionale
 - b. Una tecnica di biochimica
 - c. Una procedura di accreditamento dei percorsi clinici
2. **Secondo il codice deontologico perché è importante per il TSLB basare la propria pratica su evidenze scientifiche e contribuire alla definizione di linee guide e protocolli?**
 - a. Per assicurare standard elevati di qualità e sicurezza nelle prestazioni sanitarie
 - b. Solo per ottenere riconoscimenti accademici
 - c. Per evitare controversie legali
3. **La camera di Burkner è:**
 - a. Una particolare cappa a flusso turbolento
 - b. Una camera per il conteggio microscopico di elementi corpuscolati
 - c. Un capillare per elettroforesi ad alto voltaggio
4. **Si definiscono aerobi i batteri che crescono:**
 - a. In presenza di ossigeno
 - b. In assenza di ossigeno
 - c. Indifferentemente, in assenza o presenza di ossigeno
5. **Quale additivo è presente nella provetta normalmente utilizzato per l'esame emocromocitometrico?**
 - a. EDTA
 - b. Litio eparina
 - c. Ossalato di calcio
6. **A quale temperatura fonde la paraffina comunemente utilizzata nelle inclusioni istologiche?**
 - a. 45° C
 - b. 37°-38° C
 - c. 57°-60° C
7. **Quale terreno viene utilizzato per l'isolamento dei miceti:**
 - a. Sale Mannite
 - b. Sabouraud
 - c. Agar cioccolato

8. In un campione emolizzato è inattendibile il valore del:
- a. HDL
 - b. Potassio
 - c. Trigliceridi
9. La glicosuria è:
- a. Presenza di sangue nella saliva
 - b. Presenza di glucosio nelle urine
 - c. Presenza di sangue nelle urine
10. Cos'è la VES?
- a. La velocità con cui sedimentano gli eritrociti
 - b. La velocità con cui sedimentano le piastrine
 - c. La velocità con cui sedimentano i linfociti
11. Quale campione di urina è idoneo per poter eseguire l'urinocultura:
- a. La raccolta di urine delle 24h
 - b. Un campione di urina raccolto in qualsiasi momento della giornata
 - c. La prima urina del mattino raccolta con la tecnica del mitto intermedio
12. Gli anticorpi sono principalmente:
- a. Lipidi
 - b. Proteine
 - c. Carboidrati
13. Qual è il fissativo d'elezione per la fissazione di tessuti istologici?
- a. Alcool 95°
 - b. Formalina
 - c. Liquido di Bouin
14. Un soggetto di gruppo "O Rh Positivo" quali anticorpi naturali ha nel siero?
- a. Sia anti-A che anti-B
 - b. Anti-D
 - c. Anti-B
15. La *Candida albicans* è:
- a. Un protozoo
 - b. Un virus
 - c. Un fungo saprofita
16. Lo strumento con il quale si ottengono le sezioni istologiche è:
- a. Microtomo
 - b. Bisturi
 - c. Microscopio ottico

17. Il D-Dimero è:

- a. Un prodotto di degradazione della fibrina
- b. Un prodotto di secrezione delle piastrine
- c. Un prodotto di degradazione delle emazie

18. Che cos'è l'ematocrito

- a. Rapporto percentuale tra i globuli bianchi e il plasma
- b. Rapporto percentuale tra le piastrine e il plasma
- c. Rapporto percentuale tra gli elementi corpuscolati del sangue e il plasma

19. Il processo diagnostico di laboratorio comprende le seguenti fasi:

- a. Fase di preparazione strumentale, fase di calibrazione e fase di esecuzione del controllo di qualità
- b. Fase di accettazione della richiesta, fase di esecuzione del prelievo e fase di trasporto dei campioni presso il Laboratorio di riferimento
- c. Fase preanalitica, fase analitica e fase post-analitica

20. Che cosa significa HPLC?

- a. Reazione immunometrica
- b. Cromatografia Liquida ad Alta Pressione
- c. Reazione colorimetrica

Concorso pubblico, per titoli ed esami, per la copertura di n. 10 posti di tecnico sanitario di laboratorio biomedico, a tempo indeterminato e a tempo pieno

PROVA SCRITTA 2

1. **Cosa attesta l'abilitazione all'esercizio della professione per il TSLB?**
 - a. I corsi ECM
 - b. L'iscrizione all'Ordine e al relativo albo professionale
 - c. Il certificato di partecipazione ai corsi
2. **Dove può svolgere la propria attività il Tecnico Sanitario di Laboratorio Biomedico:**
 - a. Solo in ospedali pubblici
 - b. Solo in cliniche specializzate
 - c. In ospedali pubblici o privati
3. **Che cosa si intende per E.C.M.**
 - a. Educazione continua in medicina
 - b. Educazione completa alla movimentazione
 - c. Estensione completa della matrice
4. **Si definiscono anaerobi i batteri che crescono:**
 - a. In presenza di ossigeno
 - b. In assenza di ossigeno
 - c. Indifferentemente, in assenza o presenza di ossigeno
5. **I campioni di sangue destinati all'esecuzione delle prove di compatibilità devono:**
 - a. Essere identificati dal codice fiscale del paziente
 - b. Essere conservati non più di 3 giorni dopo la trasfusione
 - c. Essere firmati da chi ha effettuato il prelievo
6. **Esaminando al microscopio un preparato istologico dopo colorazione con ematossilina-eosina, si potrà osservare:**
 - a. Sia il nucleo che il citoplasma colorati in rosso rosato
 - b. Il nucleo colorato in blu violetto, mentre il citoplasma in rosso rosato
 - c. Sia il nucleo che il citoplasma colorati in blu violetto
7. **Le pipette automatiche di precisione, usate in laboratorio, devono essere tarate e certificate:**
 - a. Mai, in quanto quelle di nuova generazione non si stano
 - b. Quando ne capita l'occasione
 - c. Una volta all'anno da un servizio di ingegneria clinica che rilascia un certificato

PROVA NON ESTRATTA
15/01/2025 Savat

8. Nella Polymerase Chain Reaction qual è la funzione del PRIMER:
- a. È responsabile della denaturazione del DNA
 - b. È una sequenza a singolo filamento di DNA (Forward e Reverse) composta da circa 20 nucleotidi che servono da innesco per la sintesi del DNA
 - c. Permette l'appaiamento dei filamenti di DNA complementare
9. La Chemiluminescenza è:
- a. Una colorazione colorimetrica
 - b. Una reazione chimica nella quale viene emessa energia sotto forma di luce
 - c. Una reazione che misura la torbidità
10. Quali sono le fasi del processo dell'esame istologico:
- a. Campionamento - inclusione - taglio - colorazione
 - b. Inclusione - colorazione - campionamento - taglio
 - c. Taglio - campionamento - inclusione - colorazione
11. Quale classe di immunoglobuline appare per prima nella risposta immunitaria primaria?
- a. IgG
 - b. IgM
 - c. IgA
12. In quali materiali, di norma, si ricercano i parassiti umani?
- a. Sangue
 - b. Feci
 - c. Entrambi i precedenti materiali
13. La presenza di sangue nelle urine è definita:
- a. Ematuria
 - b. Glicosuria
 - c. Glicolisi
14. In un campione emolizzato è inattendibile il valore di:
- a. Glucosio
 - b. Trigliceridi
 - c. Potassio
15. La colorazione di Ziehl Neelsen identifica:
- a. La capsula dei batteri
 - b. I micobatteri
 - c. I flagelli
16. In cosa consiste l'esame "elettroforesi delle sieroproteine?"
- a. Separazione delle proteine sottoposte ad un campo elettrico
 - b. Migrazione delle macromolecole proteiche
 - c. Dosaggio quantitativo degli enzimi

17. Finalità del Point of Care Testing (POCT)

- a. Vantaggi costo-beneficio
- b. Diminuzione degli errori nella fase preanalitica delle analisi
- c. Disponibilità immediata del risultato

18. Quale dei seguenti test di laboratorio è più specifico per la diagnosi di infarto del miocardio?

- a. Troponina
- b. Lipasi
- c. GGT

19. Quale dei seguenti elementi non fa parte dei Globuli Bianchi:

- a. Neutrofili
- b. Piastrine
- c. Eosinofili

20. Nelle indagini di laboratorio il follow up è utile per:

- a. Fare medicina preventiva
- b. Confermare o escludere un sospetto diagnostico
- c. Monitorare l'evoluzione della malattia e l'assunzione dei farmaci

Concorso pubblico, per titoli ed esami, per la copertura di n. 10 posti di tecnico sanitario di laboratorio biomedico, a tempo indeterminato e a tempo pieno

PROVA SCRITTA 3

1. **Cosa si intende per DPI?**
 - a. Dispositivo di procedure interventistiche
 - ☒ b. Dispositivo di protezione individuale
 - c. Dispositivo di protezione inferiore
2. **Quali sono i provvedimenti per un TSLB che non rispetta il codice deontologico?**
 - a. Solo una multa economica
 - ☒ b. Possibili sanzioni disciplinari secondo le norme vigenti
 - c. Solo una richiesta di correzione da parte del supervisore
3. **Il D-Dimero è:**
 - a. Un prodotto di degradazione del fibrinogeno
 - b. Un prodotto di secrezione delle piastrine
 - ☒ c. Un prodotto di degradazione della fibrina
4. **Quale tra i batteri elencati possono essere associati ad intossicazione alimentare?**
 - a. Helicobacter Pylori
 - b. Stafilococco Epidermidis
 - ☒ c. Salmonella Typhi
5. **Nell'allestimento di un preparato istologico, che funzione ha la fissazione del campione?**
 - a. Capacità di preservare l'integrità antigenica
 - b. Capacità di impedire la realizzazione di processi autolitici e putrefattivi
 - ☒ c. Entrambe le risposte sono corrette
6. **La colorazione base dei preparati istologici è:**
 - ☒ a. Ematossilina-Eosina
 - b. PAS
 - c. Tricromica di Masson
7. **Cosa è l'HPLC:**
 - ☒ a. Cromatografia Liquida ad Alta prestazione
 - b. Reazione colorimetrica
 - c. Spettrometria di massa
8. **L'ematuria è:**
 - a. Presenza di sangue nella saliva
 - ☒ b. Presenza di sangue nelle urine
 - c. Presenza di glucosio nelle urine

PROVA NON
ESTRATTA
15/01/2025
Sano

9. Il principio base delle tecniche immunoenzimatiche è:
- a. La misurazione della torbidità
 - b. La misurazione della luce rifratta
 - c. L'interazione antigene/ anticorpo con uso di un enzima come marcatore
10. In una frigo-emoteca contenente emocomponenti, la temperatura:
- a. Non è importante
 - b. Deve essere controllata una volta al mese
 - c. Deve essere controllata e registrata in continuo, tramite dischetti di registrazione cartaceo o sistemi di monitoraggio automatico/informatizzato
11. Il fissativo più usato in anatomia patologica è:
- a. Bouin
 - b. Formalina
 - c. Acqua distillata
12. Il termine Rh positivo indica la presenza nelle emazie dell'antigene:
- a. D
 - b. c
 - c. E
13. L'acronimo LDH indica:
- a. Lattato deidrogenasi
 - b. Creatina chinasi
 - c. Gamma glutamil-transpeptidasi
14. Si definiscono anaerobi stretti i batteri che crescono:
- a. In presenza di ossigeno
 - b. In assenza di ossigeno
 - c. Indifferentemente, in assenza o presenza di ossigeno
15. Nel siero di sangue di gruppo B si rilevano anticorpi:
- a. Anti-A
 - b. Anti-B
 - c. Nessuna delle risposte è corretta
16. Quali tra questi è un esempio di fissazione fisica che rappresenta un'alternativa all'impegno di fissativi chimici nella preparazione di preparati istologici:
- a. La centrifugazione
 - b. Il congelamento
 - c. La sterilizzazione
17. Che cosa si intende per emostasi
- a. L'attivazione delle piastrine
 - b. La trasformazione del fibrinogeno in fibrina
 - c. Tutte le alternative proposte sono corrette

18. Qual è l'esame di screening che permette di separare le proteine del siero in base alla loro mobilità in un campo elettrico?

- ☒ a. Elettroforesi delle sieroproteine
- b. Dosaggio quantitativo delle immunoglobuline
- c. PCR

19. Quale dei seguenti test viene eseguito per la diagnosi di diabete:

- ☒ a. Glicemia
- b. Creatinfosfochinasi (CK)
- c. Lattatodeidrogenasi(LDH)

20. Nelle indagini di laboratorio lo screening è utile per:

- ☒ a. Fare medicina preventiva
- b. Valutare la gravità della malattia
- c. Monitorare l'evoluzione della malattia e l'assunzione dei farmaci

Concorso pubblico, per titoli ed esami, per la copertura di n. 10 posti di tecnico sanitario di laboratorio biomedico, a tempo indeterminato e a tempo pieno

PROVA PRATICA 1

1. Descrivere le principali variabili preanalitiche:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. Descrivere la tecnica dell'Elettroforesi:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Concorso pubblico, per titoli ed esami, per la copertura di n. 10 posti di tecnico sanitario di laboratorio biomedico, a tempo indeterminato e a tempo pieno

PROVA PRATICA 2

1. Descrivere i principali errori dei campioni di laboratorio:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. Descrivere la tecnica dell'Antibiogramma e a cosa serve:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

PROVA NON ESSISTENTE
15/01/2025 

Concorso pubblico, per titoli ed esami, per la copertura di n. 10 posti di tecnico sanitario di laboratorio biomedico, a tempo indeterminato e a tempo pieno

PROVA PRATICA 3

1. Descrivere a cosa servono i Controlli di Qualità:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. Descrivere il sistema trasfusionale ABO:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

PROVA NON ESISTENTE

15/01/2023 

Concorso pubblico, per titoli ed esami, per la copertura di n. 10 posti di tecnico sanitario di laboratorio biomedico, a tempo indeterminato e a tempo pieno

PROVA ORALE

- ☒ 1. Esame emocromocitometrico *SACCHI*
- 2. Esame chimico fisico delle urine
- 3. La colorazione di Gram
- 4. L'emocoltura
- 5. Colorazione di Ematossilina-Eosina
- ☒ 6. I marcatori biochimici dell'infarto del miocardio *SACCHI*
- 7. Gli enzimi marcatori di epatiti
- 8. Quali emocomponenti si ricavano del sangue intero e come
- ☒ 9. Interferenza dell'emolisi nelle analisi di Chimica Clinica *ARMAS*
- ☒ 10. Controllo di qualità interno *LENZA*
- ☒ 11. Variabili preanalitiche *UNALI*
- 12. Variabili analitiche
- ☒ 13. Variabili post-analitiche *DE VITA*
- 14. Gli errori più frequenti nella fase preanalitica
- ☒ 15. Che cos'è un terreno di coltura *ARMAS*
- ☒ 16. Descrivere i processi in anatomia patologica *CASANO*
- ☒ 17. Cos'è una curva da carico *CASANO*

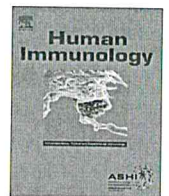
Concorso pubblico, per titoli ed esami, per la copertura di n. 10 posti di tecnico sanitario di laboratorio biomedico, a tempo indeterminato e a tempo pieno

PROVA INFORMATICA

1. Che cos'è un file Excel? ~~SCARITO~~
2. Cosa è una mailing list? ~~SCARITO~~
3. Che caratteristiche ha un monitor touch screen?
4. Cos'è un Hard Disk?
5. A cosa serve una chiavetta USB?
6. Cosa si intende con il termine di notebook? ~~SACCHI~~
7. La firma digitale ha valore legale?
8. Cosa significa fare un backup di un disco?
9. Uno scanner serve per? ~~ARRAS~~
10. Il software antivirus necessita di aggiornamenti? ~~LETIZIA~~
11. Quale può essere un veicolo di virus? ~~RINALDI~~
12. In generale è possibile recuperare anche i file cancellati dal Cestino?
13. Che cosa accade se invio un messaggio di PEC (Posta Elettronica Certificata) ad una casella tradizionale (non PEC)? ~~DE VITA~~
14. A cosa serve il backup dei dati?
15. Microsoft Word è? ~~AMATO~~
16. Microsoft Excel è? ~~CASSANO~~
17. Microsoft PowerPoint è? ~~CATAUE~~
18. Cosa è il LIS?



Contents lists available at ScienceDirect

journal homepage: www.elsevier.com/locate/humimm

Research article

Challenges in the application of NGS in the clinical laboratory

Yuxin Yin, Carrie Butler, Qiheng Zhang*

UCLA Immunogenetics Center, Department of Pathology & Laboratory Medicine, Los Angeles, CA, USA



ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 November 2020

Revised 25 February 2021

Accepted 29 March 2021

Available online 21 April 2021

Keywords:

Next-generation sequencing

Clinical

Immunology

Genomics

Precision medicine

ABSTRACT

Next-generation sequencing (NGS), also known as massively parallel sequencing, has revolutionized genomic research. The current advances in NGS technology make it possible to provide high resolution, high throughput HLA typing in clinical laboratories. The focus of this review is on the recent development and implementation of NGS in clinical laboratories. Here, we examine the critical role of NGS technologies in clinical immunology for HLA genotyping. Two major NGS platforms (Illumina and Ion Torrent) are characterized including NGS library preparation, data analysis, and validation. Challenges of NGS implementation in the clinical laboratory are also discussed, including sequencing error rate, bioinformatics, result interpretation, analytic sensitivity, as well as large data storage. This review aims to promote the broader applications of NGS technology in clinical laboratories and advocate for the novel applications of NGS to drive future research.

© 2021 American Society for Histocompatibility and Immunogenetics. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Since Sanger sequencing [1] was first developed in 1977, it has been considered the “Gold Standard” sequencing method in the clinical laboratory. However, Sanger sequencing is limited by its low throughput and high cost. Next-generation sequencing (NGS) is also known as “massively parallel sequencing”. It refers to the high-throughput sequencing technology which enables a large number (millions to billions) of DNA templates to be sequenced in parallel, thereby generating an unprecedented amount of genetic information in a single run [2]. The benefits of NGS include higher sequencing capacity, ability to multiplex samples, and lower sequencing cost if batched. The advances in NGS technologies have made high resolution, high throughput, and unambiguous HLA typing possible compared to traditional methods [3–14].

The human leukocyte antigen (HLA) genes are the most polymorphic genes in the human genome. HLA has many clinical implications in allogeneic transplantation, inflammation, and autoimmune diseases. The massive sequencing capacity of NGS permits its broad research and clinical applications in different areas of immunology and the field of transplantation. The degree of HLA matching between transplant recipients and donors significantly affects the outcomes of both solid organ transplant and hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) [15–17]. The implementation of NGS technologies in routine clinical work per-

mits in-depth characterization of the full length of HLA gene sequences; thereby provides optimal HLA matching of donor-recipient pairs for organ transplantation. In renal transplantation, a growing body of literature has highlighted the association between a greater number of HLA molecular mismatches including eplets or small groups of polymorphic amino acid mismatches, and adverse allograft outcomes which require high-resolution HLA typing of both donors and recipients [18]. Despite the matching, the expression levels of HLA genes can also have crucial roles in transplantation. Petersdorf et al. demonstrated those *HLA-DPB1* alleles with rs9277534G at 3'UTR are associated with high expression *HLA-DPB1* alleles and rs9277534A are associated with low expression allele. Recipients with rs9277534A-linked *DPB1* who received donors that carried rs9277534G-linked *DPB1* had higher risks of acute graft-versus-host disease (GVHD) [19]. In solid organ transplantation, monitoring donor-derived cell-free DNA (dd-cfDNA) after transplantation can greatly help the early diagnosis of allograft rejection. Non-invasive NGS assays have been developed to quantify dd-cfDNA without the need for prior genotyping of the donor and recipient and replace invasive biopsies [20,21]. In HSCT, NGS has also been reported to be utilized for monitoring chimerism post HSCT. The advances in NGS make it possible to sequence as many single nucleotide polymorphisms (SNP) as possible. Additionally, minimal residual disease (MRD) detection can also be incorporated into the same NGS run to monitor disease relapse [22]. Moreover, NGS permits sequencing MICA, MICB [23], and KIR [24,25] to study their roles in transplantation. Using NGS TCR repertoire sequencing, Sykes and colleagues have provided evi-

* Corresponding author.

E-mail address: jqzhang@mednet.ucla.edu (Q. Zhang).

dence for T cell clonal deletion as a mechanism of allograft tolerance in patients who received combined kidney and bone marrow transplants [26].

Traditional HLA methods, such as SBT (sequencing-based typing), SSO (sequence specific oligonucleotide probes), and SSP (sequence specific primer) usually only cover exons 2–4 for HLA class I and exons 2–3 for class II. Due to incomplete coverage of the HLA genes, phasing (cis-trans) ambiguities and ambiguities caused by polymorphic nucleotide difference(s) outside sequencing regions are common. HLA typing ambiguities were reported ranging from 24% to 53% depending on the HLA loci and the version of the HLA database used [27–29]. At UCLA Immunogenetics center, we also experienced > 50% of ambiguities using Sanger sequencing before we switched to NGS in 2014. Resolving HLA typing ambiguities in HLA laboratories is labor-intensive, costly, and significantly increases the turnaround time. The current NGS typing approaches, however, cover all exons and most introns of the HLA genes, therefore significantly reducing these ambiguities. Despite these great benefits of NGS, the implementation of the technology in clinical diagnostic laboratories has proceeded slowly. The challenges of the implementation of NGS include the high initial installation cost, challenges in training due to the complex workflow, longer turnaround time compared to existing methods, and steep learning curve. As sequencing technology continues to evolve, third-generation sequencing technology has also advanced significantly. Although third-generation sequencing provides a better option for *de novo* sequence assembly, currently the high error rate limits its application in the clinical laboratory. Therefore, this review will focus on the short-read second-generation sequencing of HLA.

2. NGS platform comparison

One of the first decisions a clinical laboratory needs to make is what type of NGS platform to purchase. There are a wide variety of instruments on the market that differ by installation cost, chemistry, read length, sequencing capacity, instrument footprint, and sequencing time. Currently, Illumina and Ion Torrent are the two major NGS platforms on the market. Both methods sequence DNA by synthesis. In the Illumina sequencing process, DNA is sequenced by incorporation of the fluorescently labeled, reversibly terminating nucleotides. Before the incorporation of the next set of nucleotides, chemical cleavage of the terminator occurs to enable the next sequencing cycle. After each incorporation, a charge-coupled device (CCD) for four-, two-channel chemistry or a complementary metal-oxidesemiconductor (CMOS) for one-channel chemistry will record the incorporated nucleotide. In the four-channel system, each of the four nucleotides is labeled with a separate dye. In each amplification cycle, each dye signal is imaged by using two lasers and four filters. The two-channel method uses two fluorescent dyes and two images to determine four nucleotides. For example, clusters seen in red or green images are interpreted as C and T bases, respectively. Clusters observed in both red and green images are flagged as A bases (appearing as yellow clusters), while unlabeled clusters are identified as G bases. In the one-channel chemistry, 4 types of nucleotides are added to the sequencing reaction with only A bases and T bases labeled with fluorescence. During the first imaging step, the light emission from DNA incorporation is recorded by the CMOS sensor. The second chemistry step removes the fluorescent label from A bases and adds a fluorescent label to C bases. The second image is also recorded by the CMOS sensor. In both chemistry steps, G bases are unlabeled. The combination of image 1 and image 2 are used to identify which bases are incorporated at each sequencing cycle (A = on/off; C = off/on; T = on/on; G = off/off). The one- and two-channel sys-

tems provide faster and more affordable sequencing methods and make NGS more applicable in clinical laboratories.

Unlike Illumina, multiple nucleotides can be added during a single sequencing cycle, in the Ion Torrent sequencing, a single type of nucleotides is added in each sequencing round. When a nucleotide is added to the DNA template, hydrogen ions are released. The release of hydrogen ions will change the pH of the solution and convert it into digital information (0, 1) by semiconductors underneath the well. Unlike Illumina, multiple nucleotides of the same type can be incorporated during a single sequencing cycle in Ion Torrent technology. Homopolymers are consecutive repetitions of a base in a string. For example, when the incorporation of six consecutive adenines (AAAAAA-homopolymer run) to a DNA template is recorded as six signals. Due to this sequencing feature, the Ion Torrent platform is prone to insertion and deletion mutations (indel) errors, since the six consecutive adenines can be read as seven (insertion) or five (deletion). Despite these pros and cons, both platforms provide accurate and reliable sequencing data for clinical use when there are enough coverage and adequate quality control.

Commonly used sequencers from Illumina and ThermoFisher are listed in Table 1. Laboratories may choose the right instrument based on cost (instrumental and reagents), footprint, the sample volume of the laboratory, and sequencing time to determine if turnaround time can be met. Illumina currently offers four-benchtop and one-production scale instruments. The benchtop sequencers include iSeq100, MiniSeq, MiSeq, NexSeq, and the production scale sequencer includes NovaSeq6000. The advantages of Illumina sequencers include high throughput, high accuracy sequencing data. Additionally, paired-end sequencing also provides a greater ability to identify the relative positions of polymorphism sites and characterize repetitive sequence regions by filling in gaps of consensus sequence at both ends to achieve complete overall coverage. A disadvantage of the Illumina platform is the set-up cost is higher than the Ion Torrent system. The Ion Torrent series of machines including the Ion PGM, Ion S5/S5XL, and Ion Proton (ThermoFisher) (Table 1). The advantages of the Ion Torrent technology include relatively lower sequencing cost, faster sequencing speed. The drawbacks of the Ion Torrent include lower throughput and higher sequencing error particularly in sequences with homopolymer runs. However, with enough sequencing coverage, both platforms provide accurate HLA typing results (Table 2) [4,5,7–13,29–42]. In our laboratory, we successfully detected A*24:11 N which has a cytosine (C) insert at exon 4 resulting in an 8C homopolymer run using the Ion Torrent platform. Accurate numbers of 16 thymine (T) in intron 2 of DQB1*02:01:01:01 and 18 T in DQB1*02:02:01:01 were also correctly identified with adequate coverage. However, the Ion Torrent sequencing platform had difficulty accurately elucidating 27 T in DRB1*15:02:01:01 versus 26 T in DRB1*15:02:01:02 in intron 5 resulting in typing ambiguities in our hands. Nonetheless, since most of the homopolymer runs located in exons are less than 10 repeats, therefore it does not affect the accuracy of the HLA typing up to the 3rd field.

Table 2 summarizes recent publications on HLA genotyping using Illumina and Ion Torrent platforms. These platforms differ by their sequencing capacity, sequencing time, chemistry, footprint, and price. The Illumina sequencing platform output ranges from less than 1 Gb (iSeq100) to over 6000 Gb (NovaSeq6000) per run, and the number of reads has increased from millions to billions. The run time of the Illumina sequencers ranges from 5 to 55 h depending on the read length and chemistry. As for Ion Torrent sequencers, the output ranges from 20 Mb (Ion PGM) to 10 Gb (Ion Proton) per run, and the reads have increased from 0.2 million to around 80 million. The run time for the Ion Torrent sequencers is much shorter (2–7 h depends on the read length and chemistry for sequencing) than the Illumina platform.