



Immunologic selection for kidney transplantation; based on case study

Dr. Firouzeh Moeinzadeh

Associate professor of Nephrology

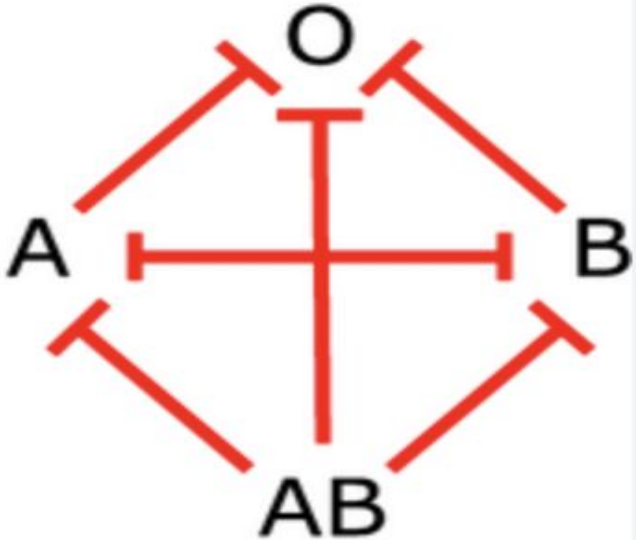
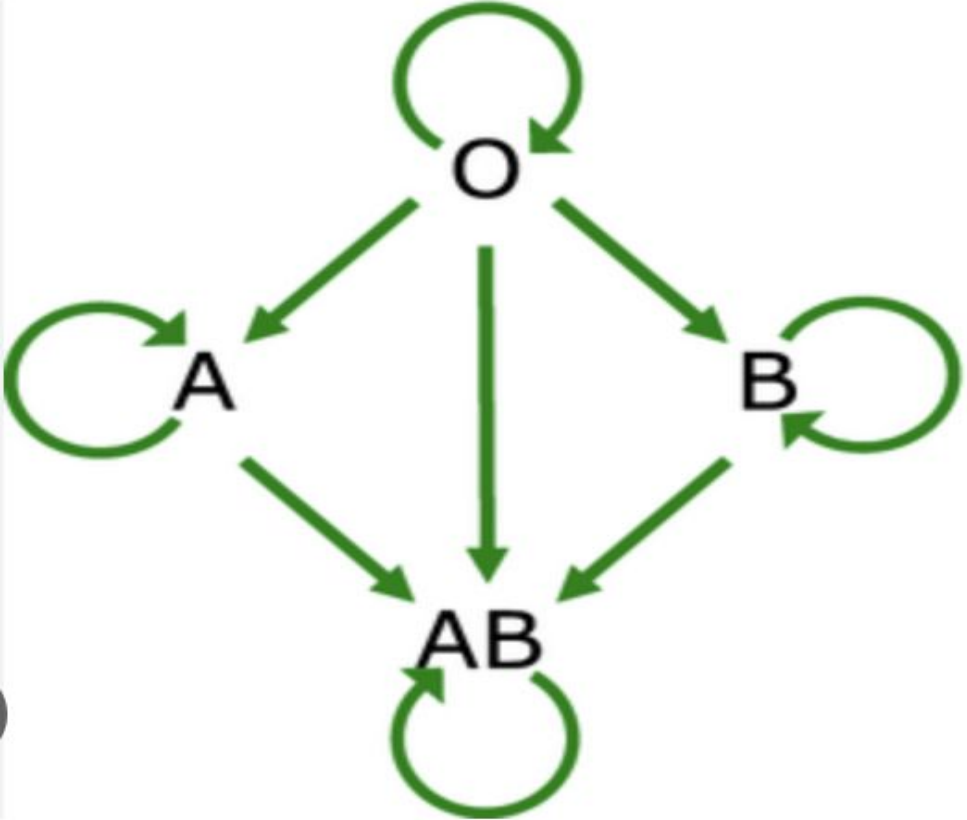
Isfahan Kidney Disease Research Center

Isfahan University of Medical Sciences

Outlines

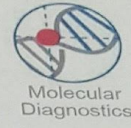
- ABO selection
- Panel reactive antibody
- HLA typing
- Anti HLA class I & II single Antibody
- WBC Cross match
- Case study

ABO compatibility



1-PANEL-REACTIVE ANTIBODY

- Patient's serum is incubated separately with B and T cells from a panel of donors selected to represent the HLA antigens commonly found in the local population.
- **Finding of 60% of PRA suggests that 60% of donors will be unacceptable for the patient because there are circulating antibodies that react with one or more of the donor's HLA antigens.**



Flow Panel Reactive Antibody (PRA) screening test

Ref: Milad-Esfahan	Sample ID: 04-2373	[REDACTED]
Name: [REDACTED]	Sex/age: F/48	Dialysis Status: Negative
Previous transplant: Negative	Blood transfusion: Negative	Number of pregnancy: 2 Abortion: -

Method: **Flow Cytometry**

A pooled panel of different microparticles coated with different purified HLA Class I and II antigens were used to detect anti HLA IgG antibodies by flow Cytometry.

Results:

Anti HLA class I antibody:	Anti HLA class II antibody
5%	2%

Recommendations:

Unsensitized patient.


Lab director:


Y.Shakiba

تلفن: ۶۶۵۶۵۸۶۶ - فکس: ۶۶۵۷۵۷۰۹ - آدرس: خیابان دکتر قریب- خیابان قدر- پلاک ۱۲۴- طبقه اول

Address: Dr. Gharib Street, Ghadr Street, number 124, first floor- Telephone: 66565866 – Fax: 6657570

Negative or
unsensitized
PRA
<5%


 آزمایشگاه تشخیص طبی یکتا
 Yekta Medical Diagnostic Laboratory


 Molecular Diagnostics

Flow Panel Reactive Antibody (PRA) screening test

Physician: Dr. Ref // Milad Esfahan	Sample ID: 03-2280	[Redacted]
National ID code: 1111075271		Blood group: A+
Name: [Redacted]	Sex/age: M/55	Dialysis Status: Positive
Previous transplant: Negative	Blood transfusion: Negative	Number of pregnancy: - Abortion: -

Method: Flow Cytometry

A pooled panel of different microparticles coated with different purified HLA Class I and II antigens were used to detect anti HLA IgG antibodies by flow Cytometry.


Results:

Anti HLA class I antibody:	Anti HLA class II antibody
7%	6%

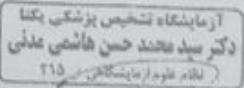
Low sensitized patient.


Recommendations:


1. Anti HLA class I and II antibody single antigen assay for determination donor specific antibodies.
2. Flow Cytometric cross match before transplant.
3. HLA typing of donor before transplant.


 Yekta Lab
 Molecular Department
 and
 HLA Typing

Lab director: Y.Shakiba


 آزمایشگاه تشخیص پزشکی یکتا
 دکتر میلاد سفید
 قائم مقام آزمایشگاه


 آزمایشگاه تشخیص طبی یکتا
 Yekta Medical Diagnostic Laboratory


 Molecular Diagnostics

Flow Panel Reactive Antibody (PRA) screening test

Physician: Dr.	Sample ID: 04-1028	[Redacted]
Name: [Redacted]	Sex/age: F/29	Dialysis Status: Positive
Previous transplant: Negative	Blood transfusion: Positive	Number of pregnancy: 4 Abortion: 3

Method: Flow Cytometry

A pooled panel of different microparticles coated with different purified HLA Class I and II antigens were used to detect anti HLA IgG antibodies by flow Cytometry.

Results:

Anti HLA class I antibody:	Anti HLA class II antibody
31%	5%

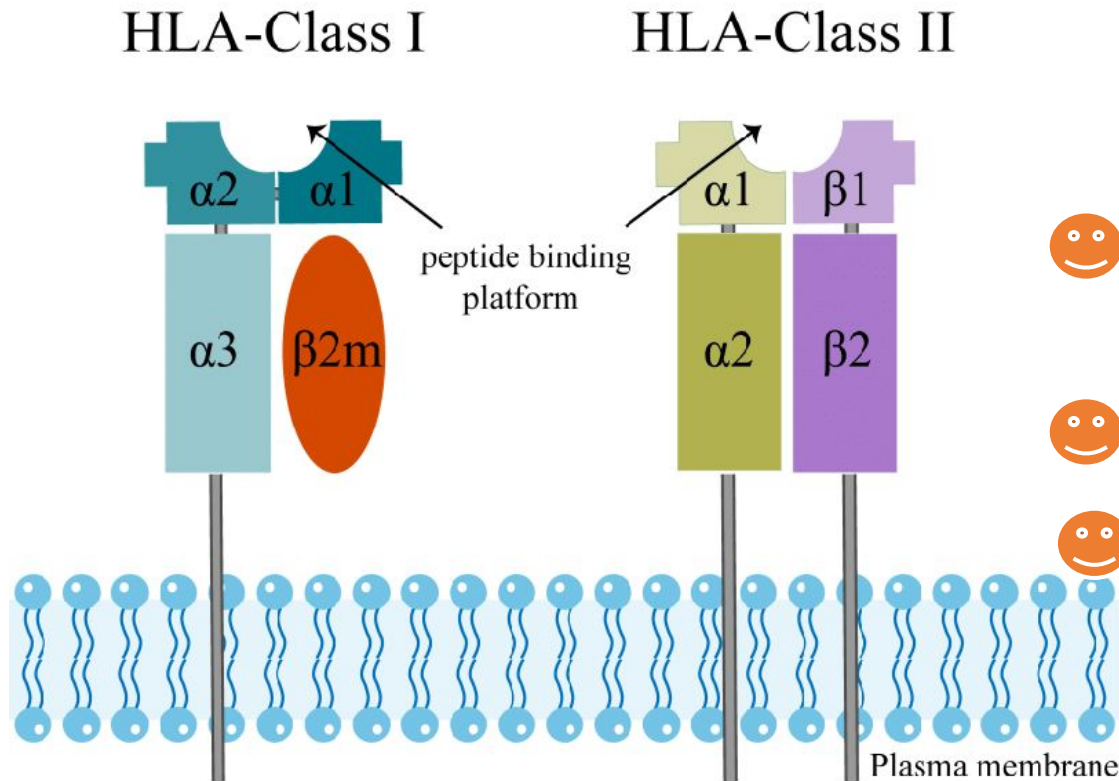
Sensitized patient.

Recommendations:

- 1- Anti HLA class I antibody single antigen assay for determination of donor specific antibodies.
- 2- Flow Cytometric cross match before transplant.
- 3- HLA typing of donor before transplant.

Lab director: Y.Shakiba

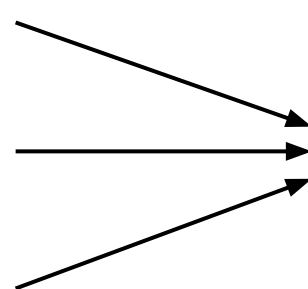
2-HLA compatibility



MHC class I	MHC class II
Comprised of an MHC-encoded a chain and a b2-microglobulin chain	Comprised of MHC-encoded a and b chains
Present on most cells	Present only on antigen-presenting cells
Bind endogenous antigens synthesized in a cell	Binds exogenous antigens
Present antigen to cytotoxic T cell lymphocytes	Present antigen to helper T cell lymphocytes
Bind CD8 adhesion molecules on cytotoxic T cells	Bind CD4 adhesion molecules on helper T cells
Presence of foreign or over-abundant antigens targets cell for destruction	Presence of foreign antigens induces antibody production, and attracts immune cells to area of infection

HLA class I

- HLA-A
- HLA-B
- HLA-C
- HLA-E
- HLA-F
- HLA-G



-Binding point for receptors of NK cells
-Important in CMV and post-transplant defense



-May be important in BMT involving NK cells
-Association with solid organ Tx: not yet been determined

HLA class II

- HLA-DR
- HLA-DQ
- HLA-DP

HLA typing

- Serological methods: Complement- dependent cytotoxicity(CDC)
 - For HLA -A,B
- Sequence-specific oligonucleotide probes
- Sequence-specific polymerase chain reaction (PCR)*
- Direct DNA typing



آزمایشگاه تشخیص طبی یکتا
Yekta Medical Diagnostic Laboratory



PCR Based HLA Typing Test

HLA-A-B-C-DRB1-DQB1-PCR

نام:	1282750119	کد ملی:	[REDACTED]
تاریخ پذیرش:	042132	شماره پذیرش:	1402-04-20
جنس:	مرد	سن:	61
سابقه پیوند:	کاترید پیوند اول	گروه پیوند:	O+
مرکز درمانی:	آزمایشگاه تشخیص طبی یکتا		

Results

HLA-A	A*02	A*02
HLA-B	B*18	B*27
HLA-C	C*02	C*12
HLA-DQB1	DQB1*03	DQB1*03
HLA-DRB1	DRB1*04	DRB1*11
HLA-DRB3/4/5	D583	D424
HLA-DPB1		
HLA-DPA1		
HLA-DQA1		

This sample has not been collected in our lab. Therefore our lab does not accept any responsibility about Patient's identity and sample qualifications and preanalytical errors.



www.yektalab.ir

دکتر عبدالله شکیمیا
متخصص ایمونولوژی (MD-PhD)
مقام پزشکی: ۱۳۳۴۴
پلاک آزمایشگاهی: ۱-۳۳۳۳

اطلاعات مربوط به گروه خونی، بر اساس شرح حال مراجعه کننده بوده و آزمایشگاه در رابطه با صحت آن مسئولیتی ندارد

آدرس: تهران-خیابان دکتر قربانچیان-خیابان شهریلاک 124-ظن: 02166932624
Address: No. 124, Ghadr Alley, Dr. Ghazib Street, Tehran, Iran. Telephone: 02166932624

Recipient



آزمایشگاه تشخیص طبی یکتا
Yekta Medical Diagnostic Laboratory



PCR Based HLA Typing Test

HLA-A-B-DRB1-DQB1-PCR

نام:	4559908591	کد ملی:	[REDACTED]
شماره پذیرش:	091172	شماره پذیرش فرد:	1402-09-11
جنس:	مرد	سن:	41
سابقه پیوند:	اطلا کتده پیوند	مرکز درمانی:	مرکز درمانی

Results

HLA-A	A*02 ✓	A*26
HLA-B	B*18 ✓	B*27 ✓
HLA-C		
HLA-DQB1	DQB1*03 ✓	DQB1*06
HLA-DRB1	DRB1*04 ✓	DRB1*13
HLA-DRB3/4/5	DRB3 ✓	DRB4 ✓
HLA-DEB1		
HLA-DPA1		
HLA-DQA1		

Yekta Lab
Molecular Diagnostic
and
HLA Typing

www.yektafab.ir

دکتر نیکبخت شکریا
M.D-Ph.D
تلفن: 02166932624
آدرس: تهران، خیابان گلستانه، پلاک 124

تمامی مدارک مربوط به پیوند خون بر اساس شرح عمل ارائه شده بوده و آزمایشگاه در رابطه با امنیت آن مسئولیت ندارد ***

آدرس: تهران، خیابان گلستانه، پلاک 124، تلفن: 02166932624

Address: No. 124, Ghadr Alley, Dr. Ghanh Street, Tehran, Iran. Telephone: 02166932624

Donor

3-HLA matching

- **HLA-DR** and **HLA-B** antigens offer the **most alloimmune burden** with less so from HLA-A.
- HLA DR mismatches are associated with a increased risk of acute rejection and **early** graft loss
- There is some evidence that HLA-A and HLA-B antigen mismatches are associated with **late** graft loss.

HLA matching

- HLA-DQ MM alone was not a risk factor for allograft loss but the **combination of HLA-DR and DQ MM** had the worst outcome
- Anti-HLA-DP antibodies are less common than antibodies to HLA-DR and –DQ
- The frequency of HLA-DP antibodies increases in patients who were **previously transplanted**, occurring in up to 45 % of subjects.
 - Correlate with reduced allograft survival among recipients of a second transplant

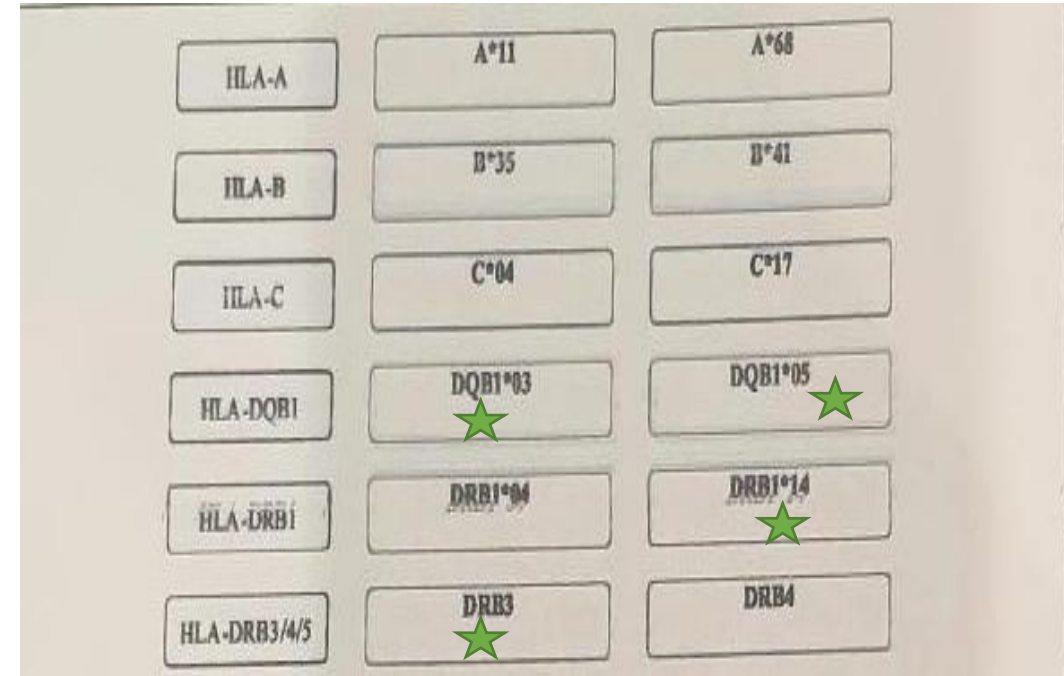
Case 1

HLA-A	A*01	A*02
HLA-B	B*18	B*27
HLA-C	C*02	C*12
HLA-DQB1	DQB1*03	DQB1*03
HLA-DRB1	DRB1*04	DRB1*11
HLA-DRB3/4/5	DRB3	DRB4

HLA-A	A*02 ✓	A*26
HLA-B	B*18 ✓	B*27 ✓
HLA-C		
HLA-DQB1	DQB1*03 ✓	DQB1*06
HLA-DRB1	DRB1*04 ✓	DRB1*13
HLA-DRB3/4/5	DRB3 ✓	DRB4 ✓

Case 2

Name	Rel.	Class I PCR	Class II PCR
[REDACTED]	Recipient	A*24-A*26 B*18-B*51 C*12-C*14	DQB1*03- DQB1*05 DRB1*11-DRB1*14 DRB3



4-Cross-reactive groups (CREGs)

- Some transplantation centers limit the selection of mismatched donors to those sharing mismatched antigens within HLA-A and HLA-B cross-reactive groups (CREGs)
- An HLA mismatch within a CREG group (“minor”) may result in better outcome than a mismatch outside CREG groups (“major”)
- CREG matching has been introduced as a possible approach to **increase the opportunity of a renal recipient** to receive a **“well-matched” kidney** and to reduce the number of transplant rejections.

Wade JA, Hurley CK, Takemoto SK, Thompson J, Davies SM, Fuller TC, Rodey G, Confer DL, Noreen H, Haagensohn M, Kan F, Klein J, Eapen M, Spellman S, Kollman C. HLA mismatching within or outside of cross-reactive groups (CREGs) is associated with similar outcomes after unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2007 May 1;109(9):4064-70. doi: 10.1182/blood-2006-06-032193. Epub 2007 Jan 3. PMID: 17202313; PMCID: PMC1874562.

Cross-reactive groups (CREGs)

CREG	Antigens included
A1C	A1, 3, 11, 19 (29, 30, 31), 36, 80
A2	A2, 9 (23, 24), 28 (68, 69), B17 (57, 58)
A10C	A10 (25, 26, 34, 66), 32, 33, 43, 74
BW4	A9 (23, 24), 25, 32, B13, 27, 37, 38, 44, 47, 49, 51, 52, 53, 57, 58, 59, 63, 77
B5C	B5 (51, 52.) 18, 35, 53
B5C2	B5 (51, 52), 15 (62, 63, 71, 72, 75, 76, 77), 17 (57, 58), 21 (49, 50), 35, 53, 73,78
BW6	B7, 8, 14, 18, 35, 39, 40 (60, 61), 41, 42, 45, 46, 48, 50, 54, 55, 56, 62, 64, 65, 67, 71, 72, 73, 75, 76
B7C	B7, 8, 13, 27, 41, 42, 47, 48, 54, 55, 56, 60, 61, 81
B8C	B8, 18, 38, 39, 64, 65
B12C	B12 (44, 45), 13, 37, 41, 47, 21 (49, 50), 40 60, 61)

Case 3

- Recipient: male 65 y, 2nd transplant.
- Rejection due to BKV nephropathy

**** BK virus (BKV) Qualitative Real time PCR ****

Patient ID	12-67919	Sample type	Plasma
Patient's Name	Jafar Javanmard	Report Date	1401/12/16
Received Date	1401/12/14		

RESULT

BK virus DNA Not detected (Negative)

COMMENT

HLA typing

HLA-A: A03

HLA-DQB1: DQB1 03, DQB1 05

HLA-B: B27, B51

HLA-DRB1: DRB1 11, DRB1 15

HLA3/4/5: DRB3, DRB5

High Risk Antigens (MFI > 1700)

Moderate Risk Antigens (MFI > 750 and < 1700)

Classified PRA (%PRA) %

A*23:01-A*24:02-A*24:03-

Calculated class I and II PRA: 86%.
Moderate chance to find a DSA negative donor.
HLA typing of potential donors and virtual cross matching is recommended.

Result

The results indicated that patient HLA typing consistent with:

HLA-A	*02	*31
HLA-B	<u>*51</u>	*52
HLA-DRB1	*01	<u>*15</u>
HLA-C	*12	*16
HLA-DQB1	<u>*05</u>	*05
HLA-DRB3*	Negative	
HLA-DRB4*	Negative	
HLA-DRB5*	Positive	

High Risk Antigens (MFI > 1700)

Moderate Risk Antigens (MFI > 750 and < 1700)

Classified PRA (%PRA) %

DRB1*10:01-DRB4*01:01-DQB1*03:02-DQB1*03:03-DQB1*06:02-DQB1*06:03-DQB1*06:04-DPB1*01:01-DPB1*03:01-DPB1*05:01-DPB1*06:01-DPB1*09:01-DPB1*11:01-DPB1*13:01-DPB1*14:01-DPB1*15:01-DPB1*17:01-DPB1*19:01-DPB1*28:01-DPA1*02:01-DPA1*02:02-

DRB1*04:01-DRB1*04:02-DRB1*04:03-DRB1*04:04-DRB1*14:01-

Calculated class I and II PRA: 86%.
Moderate chance to find a DSA negative donor.
HLA typing of potential donors and virtual cross matching is recommended.

Cross-reactive groups (CREGs)

CREG	Antigens included
A1C	A1, 3, 11, 19 (29, 30, 31), 36, 80
A2	A2, 9 (23, 24), 28 (68, 69), B17 (57, 58)
A10C	A10 (25, 26, 34, 66), 32, 33, 43, 74
BW4	A9 (23, 24), 25, 32, B13, 27, 37, 38, 44, 47, 49, 51, 52, 53, 57, 58, 59, 63, 77
B5C	B5 (51, 52.) 18, 35, 53
B5C2	B5 (51, 52), 15 (62, 63, 71, 72, 75, 76, 77), 17 (57, 58), 21 (49, 50), 35, 53, 73,78
BW6	B7, 8, 14, 18, 35, 39, 40 (60, 61), 41, 42, 45, 46, 48, 50, 54, 55, 56, 62, 64, 65, 67, 71, 72, 73, 75, 76
B7C	B7, 8, 13, 27, 41, 42, 47, 48, 54, 55, 56, 60, 61, 81
B8C	B8, 18, 38, 39, 64, 65
B12C	B12 (44, 45), 13, 37, 41, 47, 21 (49, 50), 40 60, 61)

ستاد گرانقدر سرکار خانم دکتر معین زاده

با سلام و احترام، بنا به دستور حضرتعالی مشاوره ایمونولوژی بیمار جعفر جوانمرد کاندید پیوند کلیه از اهداکننده زنده غیر نوبشاونده به حضور ارائه می گردد.

سن: ۴۵	گروه خونی: B+	سابقه پیوند: مثبت
سابقه بارداری و سقط: -	سابقه تزریق خون: مثبت	cPRA: 86%

نتایج آنتی HLA آنتی بدلی (Flow PRA):

Anti HLA class I antibody	Anti HLA class II antibody
	DRB1*10:01-DRB4*01:01-DQB1*03:02-DQB1*03:03- DQB1*06:02-DQB1*06:03- DQB1*06:04-DPB1*01:01- DPB1*03:01-DPB1*05:01-DPB1*06:01-DPB1*09:01- DPB1*11:01-DPB1*13:01-DPB1*14:01-DPB1*15:01- DPB1*17:01-DPB1*19:01- DPB1*28:01-DPA1*02:01- DPA1*02:02-
A*23:01-A*24:02-A*24:03-	DRB1*04:01-DRB1*04:02-DRB1*04:03-DRB1*04:04- DRB1*14:01-

نتایج HLA typing بیمار با اهداکننده آقای:

نام و نام خانوادگی	سن	گروه خونی	Class I	Class II
جعفر جوانمرد	65	B+	A*03 B*27-B*51	DQB1*03-DQB1*05 DRB1*11-DRB1*15 DRB3-DRB5
زینب نصوری	39	?	A*02-A*31 B*51-B*52 C*12-C*16	DQB1*05 DRB1*01-DRB1*15 DRB5

- بیمار فاقد DSA بوده و کنترل آنتی کلسیون نسبی و مطلق پیوند ندارد.
- با توجه به سن بیمار و احتمال کم نوزاد به retransplant میزان تطابق HLA با اهداکننده مناسب است.
- flow cross match با اهداکننده منفی است.
- با توجه به سابقه پیوند و تعدد HLA mismatch توصیه به Induction خون پیوند می شود.
- با توجه به CREG بودن A*02 در اهداکننده و آنتی بدلی علیه A*23-A*24 توصیه به DSA monitoring دوره ای بعد از پیوند می شود.
- تایپینگ HLA گیرنده و دهنده در این مرکز انجام نشده و مسئولیت صحت آن به عهده مرکز انجام دهنده می باشد.
- گروه خونی اهداکننده نامشخص است توصیه به انجام و بررسی سازگاری آن می شود.
- لازم به ذکر است که نتایج گروه خونی ارائه شده بر اساس اطلاعات داده شده توسط بیمار گزارش شده و تاکید مجدد آن توصیه می شود. مطابق این نامه تنها جنبه توصیه ای بر اساس ویژگی های ایمونولوژیک بیمار و اهدا کننده داشته و پزشک بیمار در انجام یا عدم انجام این توصیه، مسئول است.

با سپاس

دکتر بدالله شکیبیا

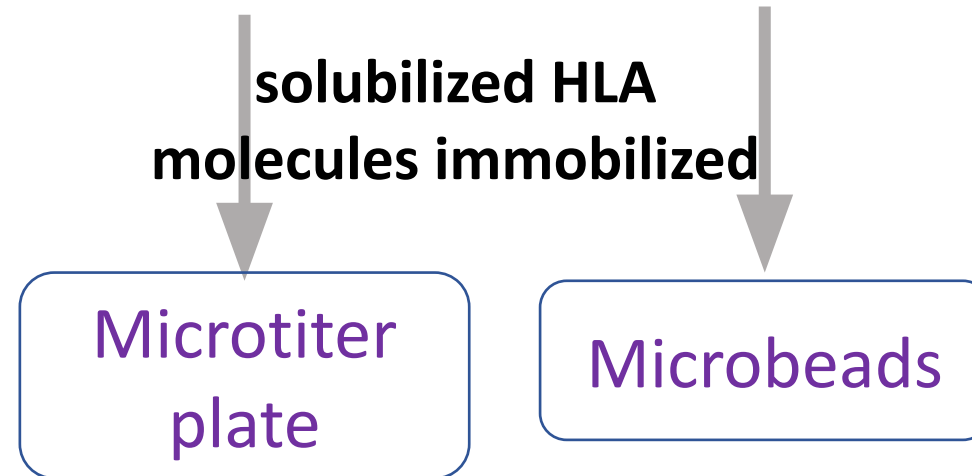
دکتر بدالله شکیبیا
متخصص ایمونولوژی (MD-PhD)
تخصص پزشکی
شماره پزشکی: ۳۴۳۳۳
شماره نظام پزشکی: ۳۳۷۴-۲

5-Anti HLA antibody

- Detection of HLAab preceding solid-organ transplantation and monitoring of DSA posttransplant **as a risk factor for AMR.**
- Role of HLAab in blood transfusion including refractory thrombocytopenia and selection of suitable platelet donors, TRALI after plasma transfusion, and immunization against HLA after red blood cell transfusion despite leukodepletion.

Anti HLA antibody detection

- Cell-based assays: the complement-dependent cytotoxicity test (CDC) or flow cytometry
- Solid-phase assays (SPA): ELISA and Luminex.



Lachmann N, Todorova K, Schulze H, Schönemann C. Luminex(®) and its applications for solid organ transplantation, hematopoietic stem cell transplantation, and transfusion. *Transfus Med Hemother*. 2013 Jun;40(3):182-9. doi: 10.1159/000351459. Epub 2013 May 8. PMID: 23922543, PMCID: PMC3725018.

Anti HLA antibody detection

- The standard Luminex assay detecting **IgG** HLAab: is currently the most widespread assay for antibody assessment in histocompatibility testing.
- IgM HLA: were pre-formed at the time of transplantation
- Pre-formed IgM antibodies may not be harmless autoantibodies
- Presence of IgM DSA should be sought in patients with IgG HLA- or DSA-negative AMR.

Dodd, P.; Willicombe, M.; Brookes, P.; Roufousse, C.; Santos-Nunez, E.; Goodall, D.; Clarke, C.; Charif, R.; Galliford, J.; McLean, A.; Taube, D.. Significance of HLA IgM and IgM Donor Specific Antibodies in Renal Transplantation.: Abstract# A123. Transplantation 98():p 435, July 15, 2014.



Luminex Single Antigen Bead Anti-HLA Class II Assay

Single-Ag-Class-II-IgG

نام:	1292766557	کد ملی:	
تاریخ پذیرش:	1402-04-07	شماره پذیرش:	04808
گروه خونی:	O+	جنس:	مرد
مرکز درمانی:	آزمایشگاه آسمان	سابقه پیوند:	کاندید پیوند دوم
سابقه تزریق خون:	مثبت	تعداد سقط:	-
تعداد بارداری:	-	گروه پیوند:	37

Reactive Antigens

High Risk Antigens (MFI>1700)

DQB1*03:02-DQB1*03:03-DQB1*04:01-DQB1*04:02-DQB1*05:01-DQB1*05:02-DQB1*05:03-DQB1*06:01-DQB1*06:02-DQB1*06:03-DQB1*06:04-DQA1*01:01-DQA1*01:02-DQA1*01:03-DQA1*01:04-DPB1*03:01-DPB1*06:01-DPB1*09:01-DPB1*17:01-

Moderate Risk Antigens (MFI>750 and <1700)

Calculated PRA (cPRA) %

Calculated class I and II PRA: 85%.
High chance to find a DSA negative donor.
HLA typing of potential donors and virtual cross matching is recommended.



www.yektafab.ir

دکتر یدالله شکیبیا
متخصص ایمونولوژی (MD-PhD)
تلفن پزشکی: ۰۲۱۶۶۹۳۲۶۲۴
تلفن آزمایشگاهی: ۰۲۱-۳۳۷۴۰۰۱۰

اطلاعات مربوط به گروه خونی براساس شرح حال مراجعه کننده بوده و آزمایشگاه در رابطه با صحت آن مسئولیتی ندارد

آدرس: تهران-خیابان دکتر قریب-خیابان قدریلاک 124-تلفن: 02166932624

Address: No. 124, Ghadr Alley, Dr. Gharib Street, Tehran, Iran. Telephone: 02166932624

Immunologic case selection in KT

Dr. Moeinzadeh

1402

1403

Yekta Lab
Molecular Department
HLA Typing

www.yektalab.ir

دکتر یدالله شکیبیا
(MD-PhD)
متخصص ایمونولوژی،
نظام پزشکی: ۳۳۳۳۳
نظام آموزش عالی: ۳۳۳۳۳

اطلاعات مربوط به گروه خونی بر اساس شرح حال مراجعه کننده بوده و آزمایشگاه در رابطه با صحت آن مسئولیتی ندارد
آدرس: تهران، خیابان دکتر قریب نیش خیابان قدریلاک 124-تلفن: 02166932624
Address: No. 124, Ghadr Alley, Dr. Gharib Street, Tehran, Iran. Telephone: 02166932624

Amnexus Single Antigen Bead Anti-HLA Class I Assay
Single-Ag-Class-I-IgG

نام خانوادگی:	محسن	نام:	1292766557
تاریخ پذیرش:	08615	شماره پذیرش:	نمونه آرسالی
گروه خونی:	مرد	جنس:	38
مرکز درمانی:	کاندید پیوند دوم	سابقه پیوند:	گیرنده پیوند
سابقه تزریق خون:	-	تعداد سقط:	-

Reactive Antigens

High Risk Antigens (MFI>1700)
A*25:01-A*26:01-A*66:01-

Moderate Risk Antigens (MFI>750 and <1700)
A*23:01-A*24:02-B*08:01-

Calculated class I and II PRA: 93%.
Low chance to find a DSA negative donor.
HLA typing of potential donors and virtual cross matching is recommended.

Calculated PRA (cPRA) %

آزمایشگاه تشخیص پزشکی یکتا
Yekta Medical Diagnostic Laboratory

Amnexus Single Antigen Bead Anti-HLA Class II Assay
Single-Ag-Class-II-IgG

نام خانوادگی:	محسن	نام:	1292766557
تاریخ پذیرش:	08615	شماره پذیرش:	نمونه آرسالی
گروه خونی:	مرد	جنس:	38
مرکز درمانی:	کاندید پیوند دوم	سابقه پیوند:	گیرنده پیوند
سابقه تزریق خون:	-	تعداد سقط:	-

Reactive Antigens

High Risk Antigens (MFI>1700)
DQB1*03:02-DQB1*03:03-DQB1*04:01-DQB1*04:02-DQB1*05:01-DQB1*05:02-DQB1*05:03-DQB1*06:01-DQB1*06:02-DQB1*06:03-DQB1*06:04-DQA1*01:01-DQA1*01:02-DQA1*01:03-DQA1*01:04-DQA1*04:01-DPB1*03:01-DPB1*06:01-DPB1*09:01-DPB1*14:01-DPB1*17:01-

Moderate Risk Antigens (MFI>750 and <1700)

Calculated class I and II PRA: 93%.
Low chance to find a DSA negative donor.
HLA typing of potential donors and virtual cross matching is recommended.

Calculated PRA (cPRA) %

Yekta Lab
Molecular Department
HLA Typing

www.yektalab.ir

دکتر یدالله شکیبیا
(MD-PhD)
متخصص ایمونولوژی،
نظام پزشکی: ۳۳۳۳۳
نظام آموزش عالی: ۳۳۳۳۳

اطلاعات مربوط به گروه خونی بر اساس شرح حال مراجعه کننده بوده و آزمایشگاه در رابطه با صحت آن مسئولیتی ندارد
آدرس: تهران، خیابان دکتر قریب نیش خیابان قدریلاک 124-تلفن: 02166932624
Address: No. 124, Ghadr Alley, Dr. Gharib Street, Tehran, Iran. Telephone: 02166932624

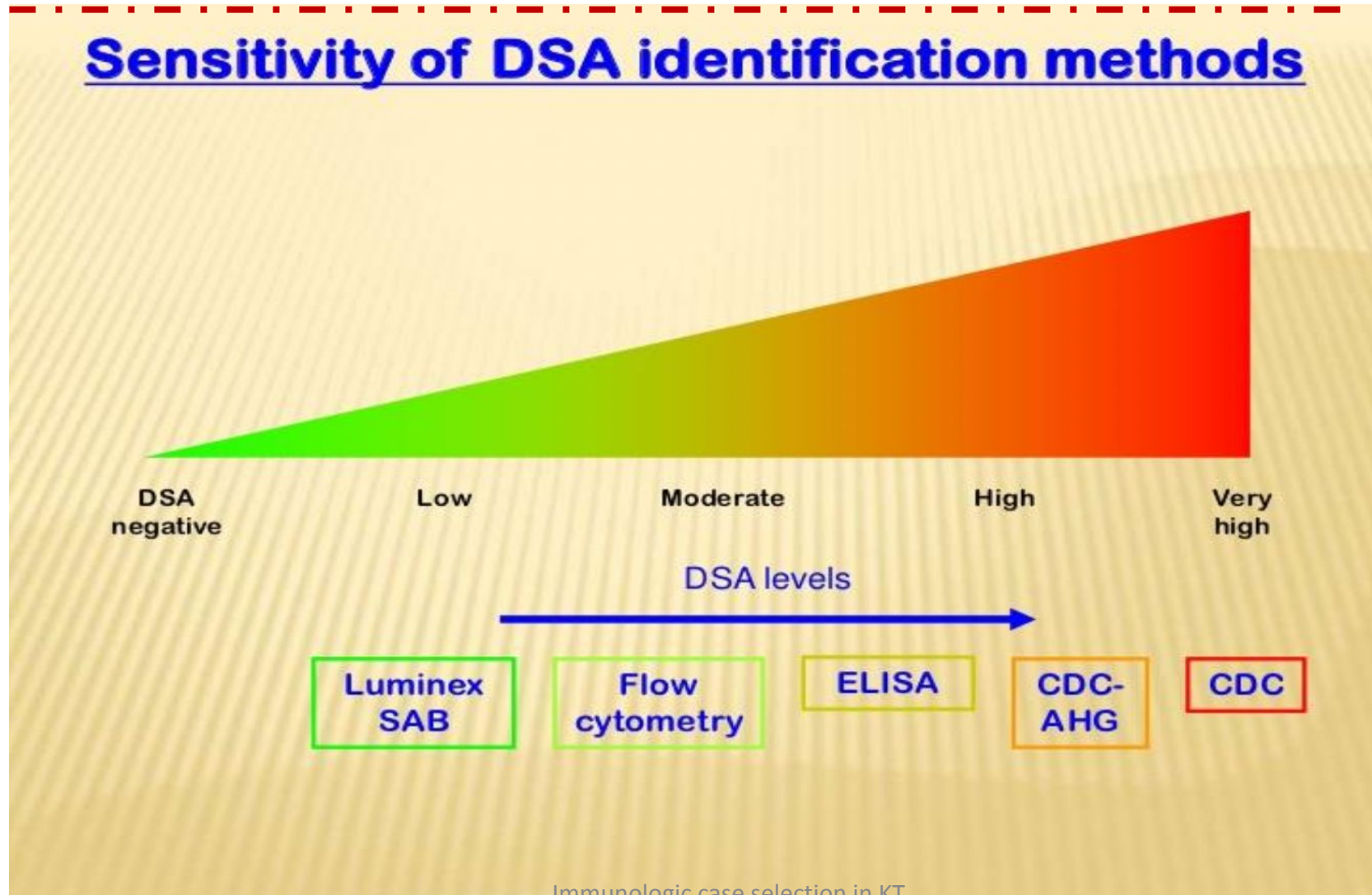
Mean Fluorescence Intensity (MFI)

- Preset MFI thresholds:
 - Decision points pre-and post-transplant to determine the necessity of pre-or post-transplant desensitization
 - Predict crossmatch results
 - Help diagnose and monitor antibody-mediated rejection (AMR)

Mean Fluorescence Intensity (MFI)

- MFI values are at best a semi-quantitative surrogate of antibody level
- MFI level alone does not necessarily equate with a deleterious outcome.
- Sera with MFIs >10,000 can still result in a negative crossmatch

Difference between Anti-HLA antibody detection methods



6-Calculated PRA or CPRA

- Calculate the likelihood that the recipient & donor would be incompatibility
- An estimation of the percentage of organ donors that will be crossmatch incompatible for a candidate.
- The Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN) and the Canadian CPRA calculators are both easily available as web based tools that assign actual CPRA values to a transplant candidate based on the unacceptable antigens that are entered in the system

Alvares, M., Anwar, S., Hashmi, S.K. *et al.* Development of a calculated panel reactive antibody calculator for the United Arab Emirates: a proof of concept study. *Sci Rep* **13**, 8468 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34860-y>

Calculated PRA or CPRA

- If no unacceptable antigens are entered, CPRA value defaults to 0

cPRA, %	Theoretical number of match runs to have a 95% chance of finding an acceptable donor
10	2
20	2
30	3
40	4
50	5
60	6
70	9
80	14
85	19
90	29
95	59
99	300
99.5	600
99.9	3000
99.99	30,000
99.999	300,000

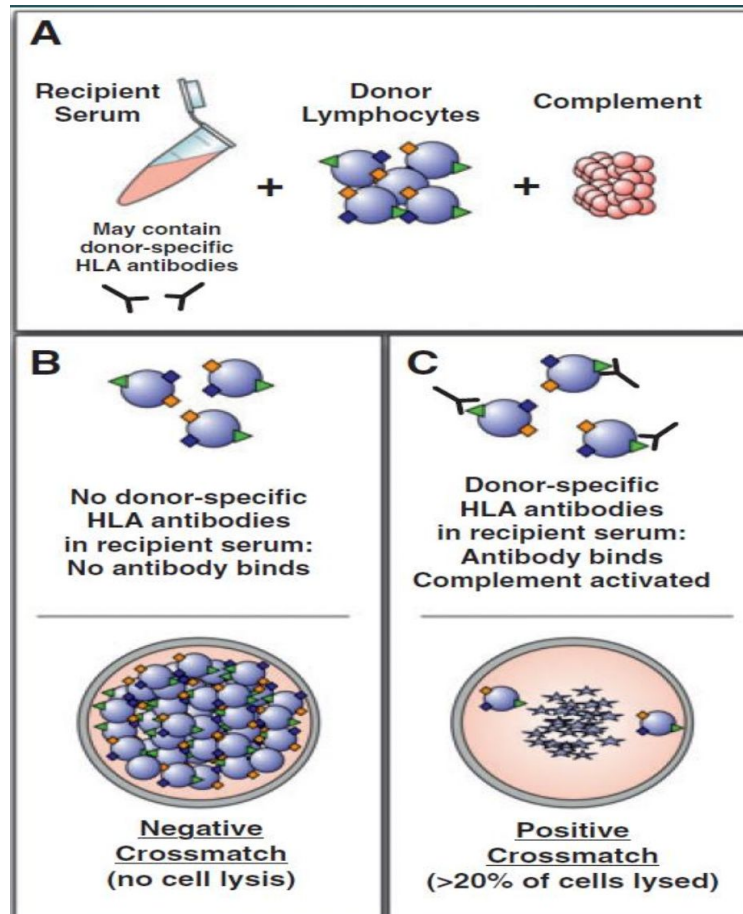
Non-HLA Antibodies

- Cause graft rejection
- The antigenic targets of non-HLA antibodies:
 - Minor histocompatibility antigens
 - Vascular receptors
 - Adhesion molecules
 - Intermediate filaments

7-Cross matching

- Complement detection cytotoxicity (CDC)
- Enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA)
- Flow cytometry
- luminex

CDC cross-match



A negative crossmatch in the presence of a DSA-Ab:

- I. When the antibody titre is too low to cause complement activation
- II. When the antibody is of a type that does not activate complement
- III. When the antigen for which the antibody is specific is expressed only at very low levels on the donor's lymphocytes



آزمایشگاه تشخیص طبی یکتا
Yekta Medical Diagnostic Laboratory



Complement Dependent Cytotoxicity Assay (PRA)

CDC-PRA-T-Cell-Neat

کد ملی:	1292766557	نام:	محسن	نام خانوادگی:	امیری
پریشک:	نمونه ارسالی	شماره پذیرش:	04808	تاریخ پذیرش:	1402-04-07
سن:	37	جنس:	مرد	گروه خونی:	O+
نسبت:	گیرنده پیوند	سابقه پیوند:	کاتالید پیوند دوم	مرکز درمانی:	آزمایشگاه ایامهیان
تعداد بارداری:	-	تعداد سقط:	-	سابقه تزریق خون:	مثبت
نوع نمونه:	سرم	پذیرش ارسالی:	455	اولویت انجام:	عادی

Results: (Based on 50 Random Lymphocytes)

Type of Test	Detected Anti-HLA Ab	Percent (%)	Interpretation
CDC-PRA-Noat	Class-I-Total	0	Negative
CDC-PRA-AHG	Class-I-Total		
CDC-PRA-DTT	Class-I-IgG		
CDC-PRA-B-Cell-Neat	Class-I and II-Total		
CDC-PRA-B-Cell-DTT	Class-I and II-IgG		

- 1-Negative T cell CDC-PRA does not exclude low titer Anti-HLA class I or High titer class II antibodies.
- 2-T cell CDC-PRA only detects complement-fixing antibodies.
- 3-Clinical desicion for organ Transplant should not be made only based on Negative T cell CDC-PRA result.
- 4-Complementary Bead Based Single Antigen Assay is recommended to rule out possible Anti-HLA Antibodies.



دکتر عبدالله شکیبا
(MD-PHO)
محلته تخصصی پیوند اعضا
تهران، خیابان دکتر قریب، پلاک 124، تلفن: 02166932624

اطلاعات مربوط به گروه خونی بر اساس شرح حال مراجعه کننده بوده و آزمایشگاه در رابطه با صحت آن مسئولیت ندارد

آدرس: تهران-خیابان دکتر قریب-خیابان قدریلاک 124-تلفن: 02166932624

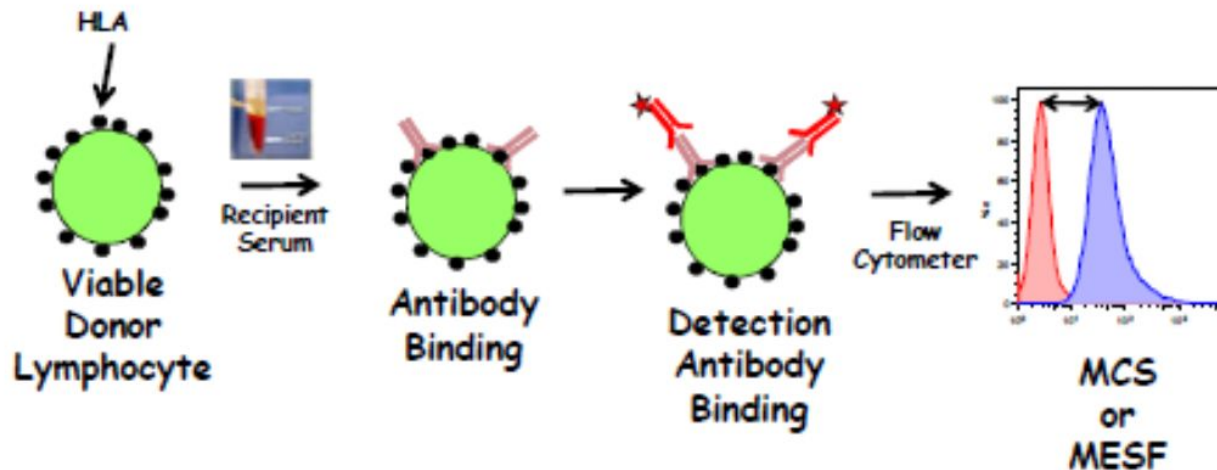
Address: No. 124, Ghadr Alley, Dr. Gharib Street, Tehran, Iran. Telephone: 02166932624

www.yektalab.ir

Flowcytometric cross-match

Crossmatch Detects HLA Antibodies Donor Cells and Recipient Serum

Flow Cytometry Crossmatch



T cell reaction	B-Cell	Specificity
Negative	Negative	None
Positive	Positive	HLA class I/II
Negative	Positive	HLA class II?
Positive	Negative	Low Titer class I? Non HLA Ab?

Patient Classification based on cross match results

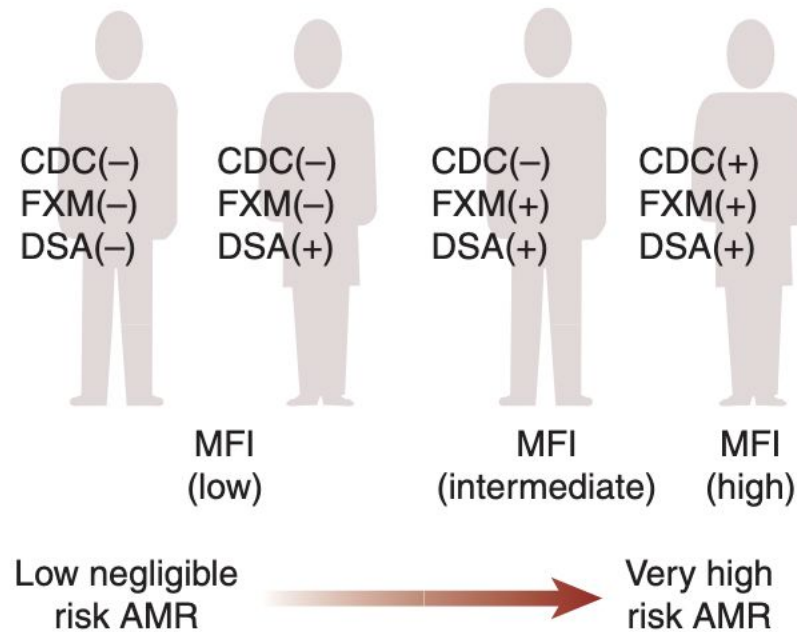


Figure 1 | Four groups of potential transplant candidates. AMR, antibody-mediated rejection; CDC, complement-dependent cytotoxicity; DSA, donor-specific antibody; FXM, flow cross-match; MFI, mean fluorescence intensity.

8-Virtual cross match

- Living related donor
- Living unrelated donor (unique)
- Cadaveric donor

Case 4

- 38 y/o male. 2nd Kidney transplantation candidate
- First KT survive for 17 years and rejected due to drug use irregulare



Anti-HLA Antibody Screening Test

Flow-PRA-IgG

نام خانوادگی:	محمدسن	نام:	1292766557	کد ملی:	
تاریخ پذیرش:	08615	شماره پذیرش:		پزشک:	
گروه خونی:	مرد	جنس:	38	سن:	
مرکز دومانی:	گاندی پویلد دوم	سابقه پیوند:		نسبت:	
سابقه تزریق خون:	-	تعداد سقط:	-	تعداد بارداری:	

Results

Class of Antibody	Class of HLA	Percent (%)	Interpretation
Anti HLA Antibody (IgG)	Class I	7	Sensitized.
	Class II	22	
Anti HLA Antibody (IgM)	Class I		
	Class II		
Anti HLA Antibody (IgA)	Class I		
	Class II		

Sensitized Patient.

Recommendations:

- 1-Anti HLA class I and II antibody single antigen assay (IgG) for determination of DSA.
- 2-Flow Cytometric cross match before transplant.
- 3-HLA typing of donor before transplant and Virtual cross matching.



www.yektalab.ir

دکتر یزدان الله شکریا
متخصص ایمونولوژی (MD-PhD)
تهران، خیابان دکتر قریب نیش خیابان قدزینلاک 124-تلفن: 02166932624

This sample has not been collected in our lab. Therefore our lab does not accept any responsibility about Patient's identity, sample qualifications and preanalytical errors.

***اطلاعات مربوط به گروه خونی بر اساس شرح حال مراجعه کننده بوده و آزمایشگاه در رابطه با صحت آن مسئولیتی ندارد ***
آدرس: تهران-خیابان دکتر قریب نیش خیابان قدزینلاک 124-تلفن: 02166932624
Address : No. 124, Ghadr Alley, Dr. Gharib Street, Tehran, Iran. Telephone: 02166932624

Yekta Single Antigen Bead Anti-HLA Class I Assay
Single-Ag-Class-I-IgG

نام خانوادگی:	محسن	نام:	1292766557
تاریخ پذیرش:	08615	شماره پذیرش:	نمونه آرسالی
گروه خونی:	مرد	جنس:	38
مرکز درمانی:	کاندید پیوند دوم	سابقه پیوند:	گیرنده پیوند
سابقه تزریق خون:	-	تعداد سقط:	-

Reactive Antigens

High Risk Antigens (MFI>1700)
A*25:01-A*26:01-A*66:01-

Moderate Risk Antigens (MFI>750 and <1700)
A*23:01-A*24:02-B*08:01-

Calculated class I and II PRA: 93%.
Low chance to find a DSA negative donor.
HLA typing of potential donors and virtual cross matching is recommended.

Calculated PRA (cPRA) %

Yekta Lab Molecular Department
www.yektalab.ir
دکتر یدالله شکیبیا (MD-PhD) متخصص ایمونولوژی، نظام پزشکی: ۳۳۳۳۳، نظام آموزش عالی: ۳۳۳۳۳

اطلاعات مربوط به گروه خونی بر اساس شرح حال مراجعه کننده بوده و آزمایشگاه در رابطه با صحت آن مسئولیتی ندارد.
آدرس: تهران، خیابان دکتر قربانیش خیابان قدریلاک 124-تلفن: 02166932624
Address: No. 124, Ghadr Alley, Dr. Gharib Street, Tehran, Iran. Telephone: 02166932624

آزمایشگاه تشخیص پزشکی یکتا
Yekta Medical Diagnostic Laboratory
Yekta Single Antigen Bead Anti-HLA Class II Assay
Single-Ag-Class-II-IgG

نام خانوادگی:	محسن	نام:	1292766557
تاریخ پذیرش:	08615	شماره پذیرش:	نمونه آرسالی
گروه خونی:	مرد	جنس:	38
مرکز درمانی:	کاندید پیوند دوم	سابقه پیوند:	گیرنده پیوند
سابقه تزریق خون:	-	تعداد سقط:	-

Reactive Antigens

High Risk Antigens (MFI>1700)
DQB1*03:02-DQB1*03:03-DQB1*04:01-DQB1*04:02-DQB1*05:01-DQB1*05:02-DQB1*05:03-DQB1*06:01-DQB1*06:02-DQB1*06:03-DQB1*06:04-DQA1*01:01-DQA1*01:02-DQA1*01:03-DQA1*01:04-DQA1*04:01-DPB1*03:01-DPB1*06:01-DPB1*09:01-DPB1*14:01-DPB1*17:01-

Moderate Risk Antigens (MFI>750 and <1700)

Calculated class I and II PRA: 93%.
Low chance to find a DSA negative donor.
HLA typing of potential donors and virtual cross matching is recommended.

Calculated PRA (cPRA) %

Yekta Lab Molecular Department
www.yektalab.ir
دکتر یدالله شکیبیا (MD-PhD) متخصص ایمونولوژی، نظام پزشکی: ۳۳۳۳۳، نظام آموزش عالی: ۳۳۳۳۳

اطلاعات مربوط به گروه خونی بر اساس شرح حال مراجعه کننده بوده و آزمایشگاه در رابطه با صحت آن مسئولیتی ندارد.
آدرس: تهران، خیابان دکتر قربانیش خیابان قدریلاک 124-تلفن: 02166932624
Address: No. 124, Ghadr Alley, Dr. Gharib Street, Tehran, Iran. Telephone: 02166932624

HLA-A	A*02	A*24
HLA-B	B*44	B*50
HLA-C	C*06	C*16
HLA-DQB1	DQB1*02	DQB1*03
HLA-DRB1	DRB1*07	DRB1*11
HLA-DRB3/4/5	DRB3	DRB4

Donor

HLA-A	A*01	A*02
HLA-B	B*35	B*49
HLA-C	C*04	C*06
HLA-DQB1	DQB1*02	DQB1*03
HLA-DRB1	DRB1*07	DRB1*11
HLA-DRB3/4/5	DRB3	DRB4

Recipient

HLA-A	A*02	A*24
HLA-B	B*44	B*50
HLA-C	C*06	C*16
HLA-DQB1	DQB1*02	<u>DQB1*03</u>
HLA-DRB1	DRB1*07	DRB1*11
HLA-DRB3/4/5	DRB3	DRB4

High Risk Antigens (MFI>1700)

A*25:01-A*26:01-A*66:01-

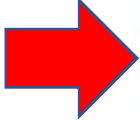
Moderate Risk Antigens (MFI>750 and <1700)

A*23:01-A*24:02-B*08:01-

High Risk Antigens (MFI>1700)

DQB1*03:02-DQB1*03:03-DQB1*04:01-DQB1*04:02-DQB1*05:01-DQB1*05:02-
DQB1*05:03-DQB1*06:01-DQB1*06:02-DQB1*06:03-DQB1*06:04-DQA1*01:01-
DQA1*01:02-DQA1*01:03-DQA1*01:04-DQA1*04:01-DPB1*03:01-DPB1*06:01-
DPB1*09:01-DPB1*14:01-DPB1*17:01-

HLA-A	A*02	A*24
HLA-B	B*44	B*50
HLA-C	C*06	C*16
HLA-DQB1	DQB1*02	<u>DQB1*03</u>
HLA-DRB1	DRB1*07	DRB1*11
HLA-DRB3/4/5	DRB3	DRB4



PCR Based HLA Typing Test

HLA-DQB1-HighRes-PCR

HLA-A		
HLA-B		
HLA-C		
HLA-DQB1	DQB1*02:02	<u>DQB1*03:01</u>
HLA-DRB1		
HLA-DRB3/4/5		

High Risk Antigens (MF1>1700)

DQB1*03:02-DQB1*03:03-DQB1*04:01-DQB1*04:02-DQB1*05:01-DQB1*05:02-
DQB1*05:03-DQB1*06:01-DQB1*06:02-DQB1*06:03-DQB1*06:04-DQA1*01:01-
DQA1*01:02-DQA1*01:03-DQA1*01:04-DQA1*04:01-DPB1*03:01-DPB1*06:01-
DPB1*09:01-DPB1*14:01-DPB1*17:01-

تاریخ: ۱۴۰۲/۰۹/۲۴

استاد گرانقدر سرکار خانم دکتر معین زاده

با سلام و احترام، بنا به دستور حضرتعالی مشاوره ایمونولوژی بیمار محسن امیری کاندید پیوند کلیه از اهداکننده زنده غیر خویشاوند به حضور ارائه می گردد.

سن: 38	گروه خونی: O+	سابقه پیوند: مثبت
سابقه بارداری و سقط: -	سابقه تزریق خون: منفی	cPRA: 93%

نتایج آنتی HLA آنتی بادی (Flow PRA):

Anti HLA class I antibody	Anti HLA class II antibody
A*25:01-A*26:01-A*66:01-	DQB1*03:02-DQB1*03:03-DQB1*04:01-DQB1*04:02-DQB1*05:01-DQB1*05:02-DQB1*05:03-DQB1*06:01-DQB1*06:02-DQB1*06:03-DQB1*06:04-DQA1*01:01-DQA1*01:02-DQA1*01:03-DQA1*01:04-DQA1*04:01-DPB1*03:01-DPB1*06:01-DPB1*09:01-DPB1*14:01-DPB1*17:01
A*23:01-A*24:02-B*08:01-	

نتایج HLA typing بیمار یا اهداکننده آقای:

نام و نام خانوادگی	سن	گروه خونی	Class I	Class II
محسن امیری	38	O+	A*02-A*24 B*44-B*50 C*06-C*16	DQB1*02-DQB1*03 DRB1*07-DRB1*11 DRB3-DRB4
رسول سرهنگند	42	O+	A*01-A*02 B*35-B*49 C*04-C*06	DQB1*02:02-DQB1*03:01 DRB1*07-DRB1*11 DRB3-DRB4

- بیمار فاقد DSA بوده و کنترا اندیکس بیون تمبی و مطلق پیوند ندارد.
- میزان تطابق HLA با اهداکننده مناسب است.
- توصیه به انجام CDC and flow cross match با اهداکننده می شود.
- با توجه به سابقه پیوند توصیه به Induction حین پیوند می شود.
- توصیه به DSA monitoring بعد از پیوند می شود.
- لازم به ذکر است که نتایج گروه خونی ارائه شده بر اساس اطلاعات داده شده توسط بیمار گزارش شده و تأیید مجدد آن توصیه می شود. مطابق این نامه تنها جنبه توصیه ای بر اساس ویژگی های ایمونولوژیک بیمار و اهدا کننده داشته و پزشک بیمار در انجام یا عدم انجام این توصیه، مستقر است.

یا مهاس

دکتر یدالله شکیبا
متخصص ایمونولوژی (MD-PhD)
نظام پزشکی: ۱۲۵۳۳۳
نظام آموزش پزشکی: ۳۳۷۴ - ۱

دکتر یدالله شکیبا

Immunologic case selection in KT
Dr. Moeinzadeh

Case 5

- A 46 y/o female candidate for KT, first transplantation
- ADPKD case and underwent bilateral nephrectomy due to refractory pain.

Panel Reactive Antibody (PRA) Screening

Patient's Name: Mahnaz Jafari Ghorbayand ABO Rh: A
 Gender: Age: Female: 44 Referred by: Dr. Firoozeh Moein Zadeh
 National ID: 1381624056 Sampling Date: 1403/08/30
 Patient's ID: 26703 Reporting date: 1403/08/25

Patient History

Blood transfusion: YES	Dialysis status: YES
Organ transplantation type: NO	Pregnancy/abortion: -

Specimen and test method:
 Patient serum / Lumirex bead-based assays (IgG detection)

Results:

Anti-HLA Class I Antibodies (A/B/C)	Negative	5%
Anti-HLA Class II Antibodies (DR/DQ/DP)	Negative	5%

Method	Description	Result (%)	Reference Value
CDC-PRA	Complement dependent Cytotoxicity Panel Reactive Antibody	10	Positive<=40 Negative<=40

Recommendation:

Non-sensitized patient for both HLA class I & II antigens.

Division of Immunogenetics & Transplantation Immunology

HLA-typing SSO-PCR
(Luminex xMAP Technology)

Patient's Name: Mahnaz Jafari Gharehbood National ID: 1881024256
 Status: Recipient Patient's ID: 3815
 ABO/Rh: A+ Referred by: Dr. Firoozeh Mostafaei
 Gender: Female Sampling Date: 1403/02/14
 Age: 43 Reporting date: 1403/03/18

Specimen and typing method:
Patient blood (DNA) | SSO-PCR (Low resolution)

Class I	A	*02	*11
	B	*35	*52
	C		
Class II	DQB1	*05	*05
	DRB1	*14	*16
	DRB3/4/5	DRB3/5	

Performed by: Amir Dabiri, M.Sc. Medical Immunology, Technical Support Supervisor
 Scientific advisor: Shihab Kazemian, Ph.D. Medical Immunology
 Akhbari Nasr Azarsani, DCLS Director of Basic Clinical Laboratory

Recipient

DRB3/4/5????

Donor

HLA Type

A A*02, A*11

Worklist: Serology: A2/A2*/A203/A230/ANHL1, A11

NMDP: A*02:XX, A*11:MS

Batch: A_334E1 Hit table: V22, IMGT db: 3.51.0, ver:8/10/2022

Method: SSP Authorized Result: 9/3/2024 N/A

B B*51,-; B*51, B*51

Worklist: Serology: B51 (Bw4)/B5102 (Bw4)

NMDP: B*51:EV, B*51:ANYC

Batch: B_334E1 Hit table: V18, IMGT db: 3.51.0, ver:4/21/2023

Method: SSP Authorized Result: 9/3/2024 N/A

C C*15, C*16

Worklist: Serology: Cw7

NMDP: C*15:FKP, C*16:Q2

Batch: C_334E1 Hit table: V8, IMGT db: 3.51.0, ver:8/10/2022

Method: SSP Authorized Result: 9/3/2024 N/A

Results (Alleles)		Serologic Type		Frequency
HLA-DRB	DRB1*01 DRB1*16	DR1, -	DR16(2), -	CWD
HLA-DQB1	DQB1*05 DQB1*05	DQ5(1)	DQ5(1)	CWD

استاد ارجمند،

سرکار خانم دکتر مبین زاده

با سلام و احترام،

منا به دستور حضرتعالی نتیجه تست HLA Typing کلاس دو آدی علی دفاعی روشن، با استناد به رپورت ارائه شده توسط ایشان و HLA Linkage disequilibrium، به شکل زیر میباشد.

لازم به ذکر است موارد موجود در این گزارش، بر مبنای نتایج ارائه شده توسط بیمار یا همراهان او بوده و این امر بر عهده مسئولیتش در قبال صحت و سقم این اطلاعات ندارد.

Specimen and typing method: Patient blood (DNA) SSP-PCR (Low resolution)			
Class I	A		
	B		
	C		
Class II	DQB1	*05	*05
	DRB1	*01	*16
	DRB3/4/5		DRB5

Shirin Koutkaveh, PhD
Director of Transplantation Dept.,
Basir Clinical Laboratory

Ahmad Basir Kazerooni, DCL S
Director of Basir Clinical Laboratory

دکتر شیرین کوهکاوچ، دکترا
مدیر کلینیک انتقال عضو
مکان: تهران، خیابان آزادی، پلاک ۱۰۰

آزمایشگاه
بسیر کلینیک
تهران، خیابان آزادی، پلاک ۱۰۰

Linkage disequilibrium

HLA- DRB1: 1 or 8 or 10



DRB5

Linkage disequilibrium



- Refers to the nonrandom association of alleles at multiple DNA markers that results from their close proximity to one another within a chromosome and co-inheritance.

HLA- DRB1



DRB3/4/5



- DRB1*3 DRB1*11 DRB1*13 DRB1*14  DRB3
- DRB1*4 DRB1*7 DRB1*9  DRB4

Case 6

- Female 54 y/o, No Hx of KT
- 6 pregnancies
- Blood transfusion +

Patient History		
Blood transfusion: YES	Dialysis status: YES	
Organ transplantation/ type: NO	Pregnancy/ abortion: 6 pregnancies	
Specimen and test method: Patient serum / Flow Cytometry (IgG detection)		
Results:		
Anti-HLA Class I Antibodies (A/B/C)	Sensitized	12%
Anti-HLA Class II Antibodies (DR/DQ/DP)	Sensitized	36%
Recommendation: Sensitized patient for HLA class I & II antigens. Single Antigen Beads (SAB) immunoassay to determine Donor Specific Antibodies (DSA) against HLA class I & II antigens is recommended.		

MFI	Specificity*			
	Anti-HLA A	Anti-HLA B	Anti-HLA C	Bw
	A*80:01	B*08:01	C*04:01	Bw6
Strongly Positive				
Weakly Positive Antigens	None	None	None	

MFI	Specificity*		
	Anti-HLA DR	Anti-HLA DP	Anti-HLA DQ
Strongly Positive Antigens	DRB1*03:01	None	DQA1*03:02
	DRB1*03:02		
	DRB1*03:03		DQB1*03:01
	DRB1*08:01		DQB1*03:02
	DRB1*08:02		DQB1*03:03
	DRB1*11:01		
	DRB1*11:03		
	DRB1*11:04		
	DRB1*12:01		
	DRB1*12:02		
	DRB1*13:01		
	DRB1*13:03		
	DRB1*13:05		
	DRB1*14:01		
	DRB1*14:05		
	DRB1*14:04		
	DRB3*03:01		
DRB5*02:02			
Weakly Positive Antigens	None	None	None

Class I	A	<u>*02</u>	*30
	B	*15	*50
	C		
Class II	DQB1	*04	<u>*05</u>
	DRB1	*01	*04
	DRB3/4/5		
	<u>DRB4</u>		

Donor

CPRA: 98%!!!!

Class I	A	<u>*02</u>	*02
	B	*15	*17
	C		
Class II	DQB1	*02	<u>*05</u>
	DRB1	*07	*16
	DRB3/4/5		
	<u>DRB4:5</u>		

Recipient

WBC crossmatch

- Flowcytometric: T-cell: Neg:<10%
- B-Cell: 11.2% (<10%)

- CDC: Negative

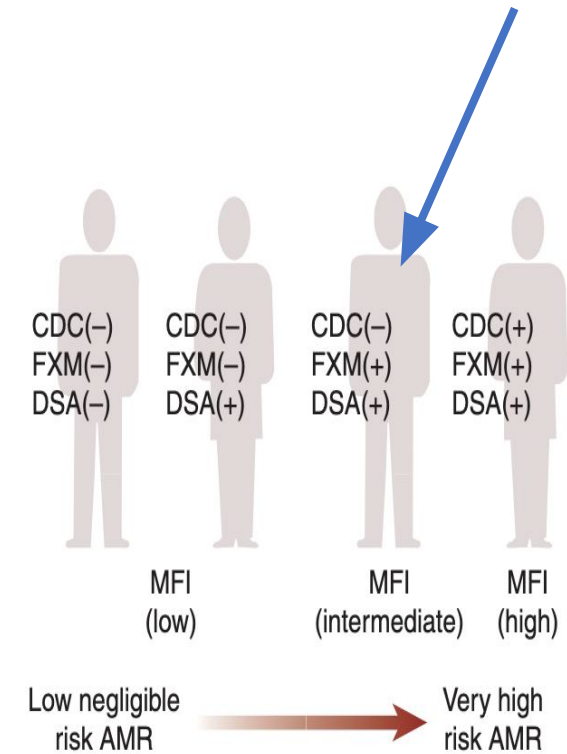


Figure 1 | Four groups of potential transplant candidates. AMR, antibody-mediated rejection; CDC, complement-dependent cytotoxicity; DSA, donor-specific antibody; FXM, flow cross-match; MFI, mean fluorescence intensity.