



**HOSPITAL CAYETANO HEREDIA**  
**Unidad de Trasplante Renal**  
**Lab. de Histocompatibilidad y Biología Molecular**



# Estudio de los anticuerpos anti-HLA en el Trasplante Renal.

- Crossmatch
- PRA y cPRA
- Donor Specific Antibody (DSA)
  - Crossmatch virtual

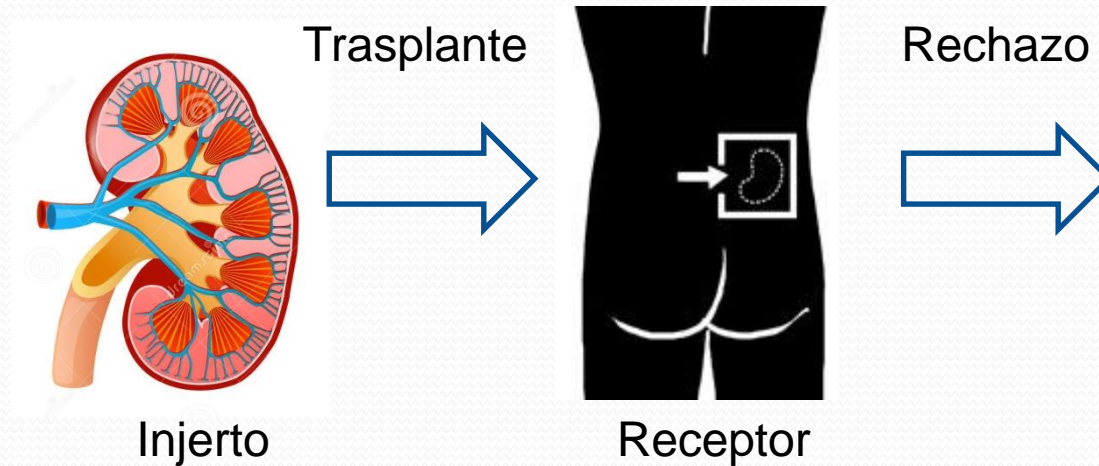
**PhD. Victor Neyra**



**UNIVERSIDAD PERUANA**  
**CAYETANO HEREDIA**

*Email: [victor.neyra@upch.pe](mailto:victor.neyra@upch.pe)*

# Sistema de Histocompatibilidad



	Componentes	Polimorfismo	Inmunogenicidad
1	Antigenos Grupo sanguineo: ABO	Poco	Muy alto
2	Antigenos Complejo Mayor de Histocompatibilidad: HLA	Mucho	Alto
3	Antigenos menor histocompatibilidad: HA-1, HA-2, HA-3 etc	Mucho mas	Bajo

# Complejo Mayor de Histocompatibilidad

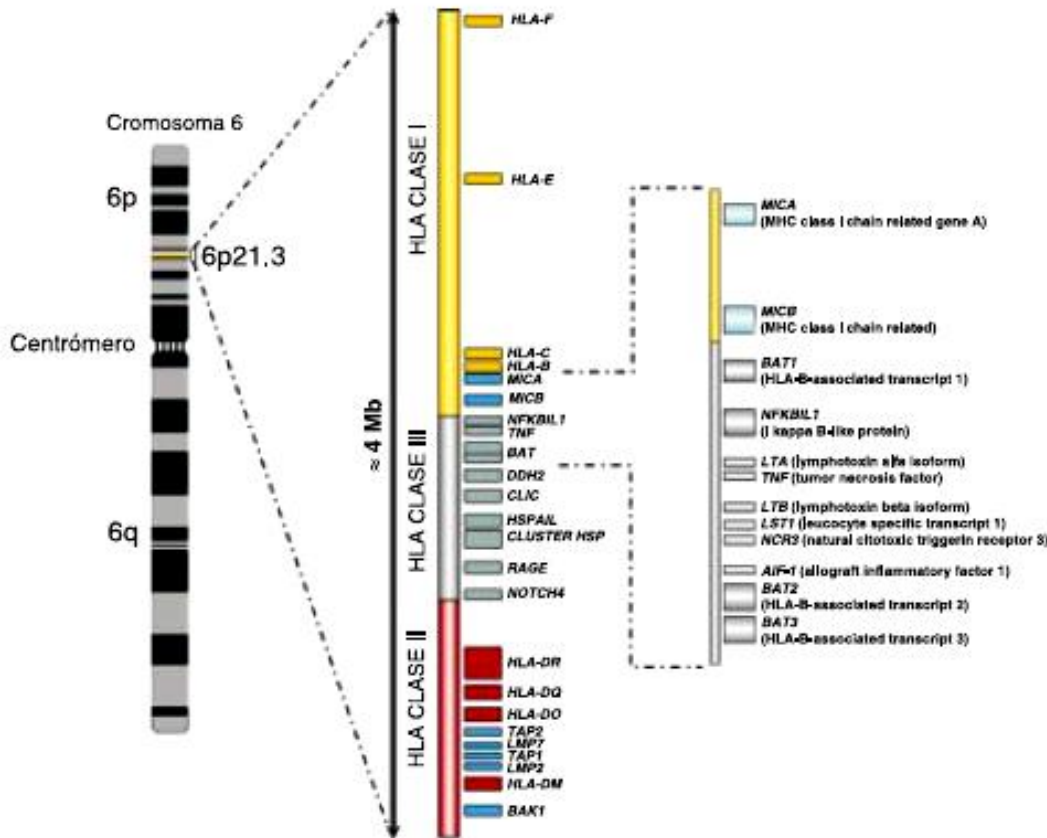
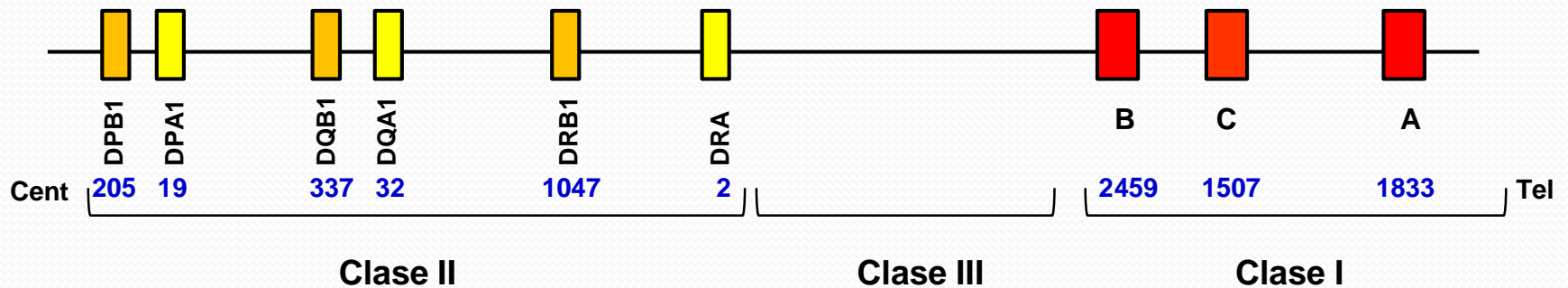


Figura 2. Complejo mayor de histocompatibilidad.

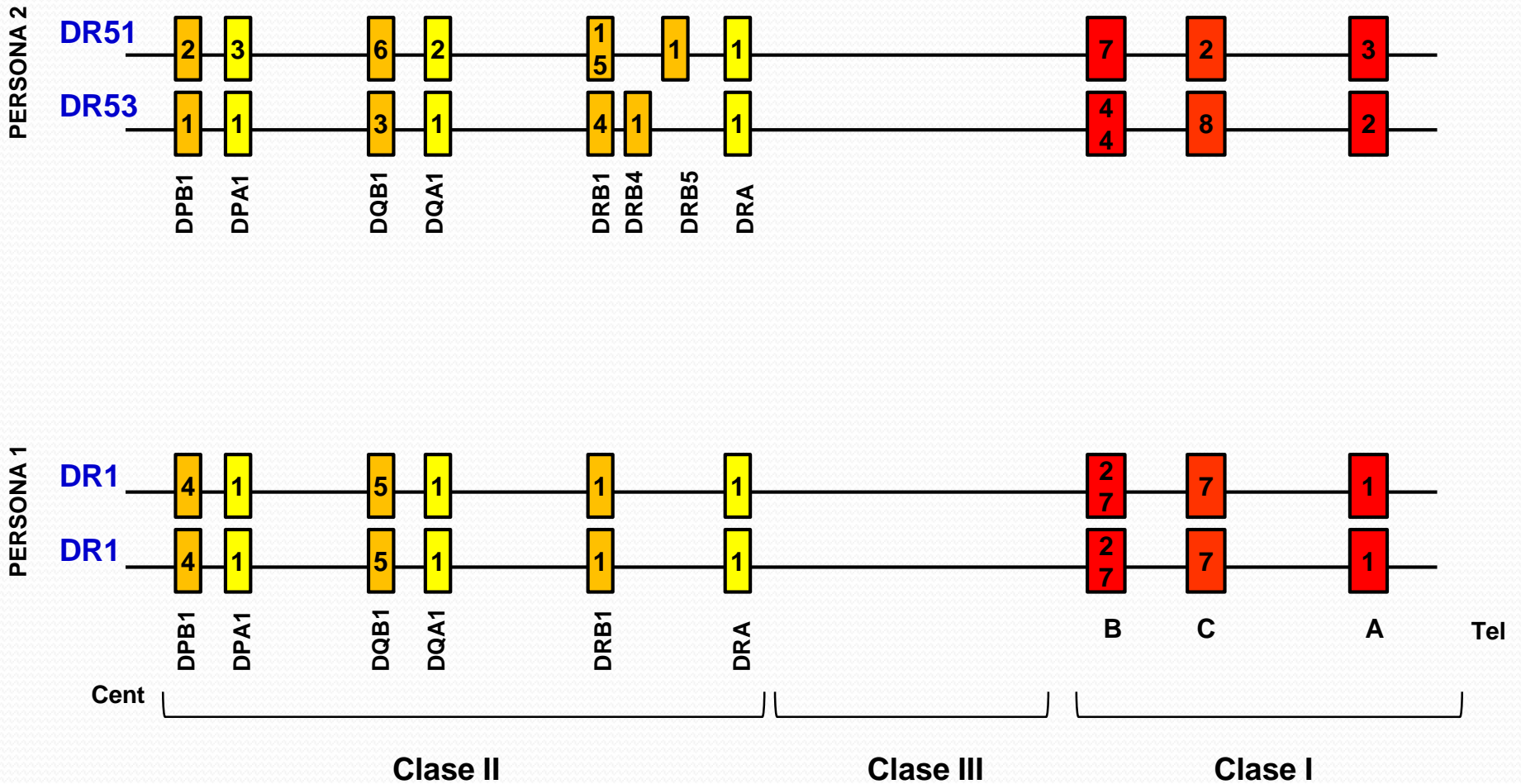
La figura muestra el complejo mayor de histocompatibilidad, única región del genoma ligada con la artritis reumatoide de forma consistente. Es un complejo de genes inmunorreguladores distribuidos en tres regiones (clase I, clase III y clase II), que ocupan una región de 4,6 Mb en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3). En amarillo se resalta la región clase I, en azul la región no-HLA clase I-II, en gris la región que contiene genes no-HLA clase III y en rojo la región HLA clase II.

- Localizado en el cromosoma 6p21.3.
- Aproximadamente 4,600 Kb
- La región del genoma mas densamente poblado.
  - 224 genes han sido identificados
  - 128 genes predicción expresados
  - 50 de estos genes muestran función inmune.
  - La región del genoma mas densamente poblado
- Físicamente agrupados en tres regiones:
  - Clase I
  - Clase II
  - Clase III

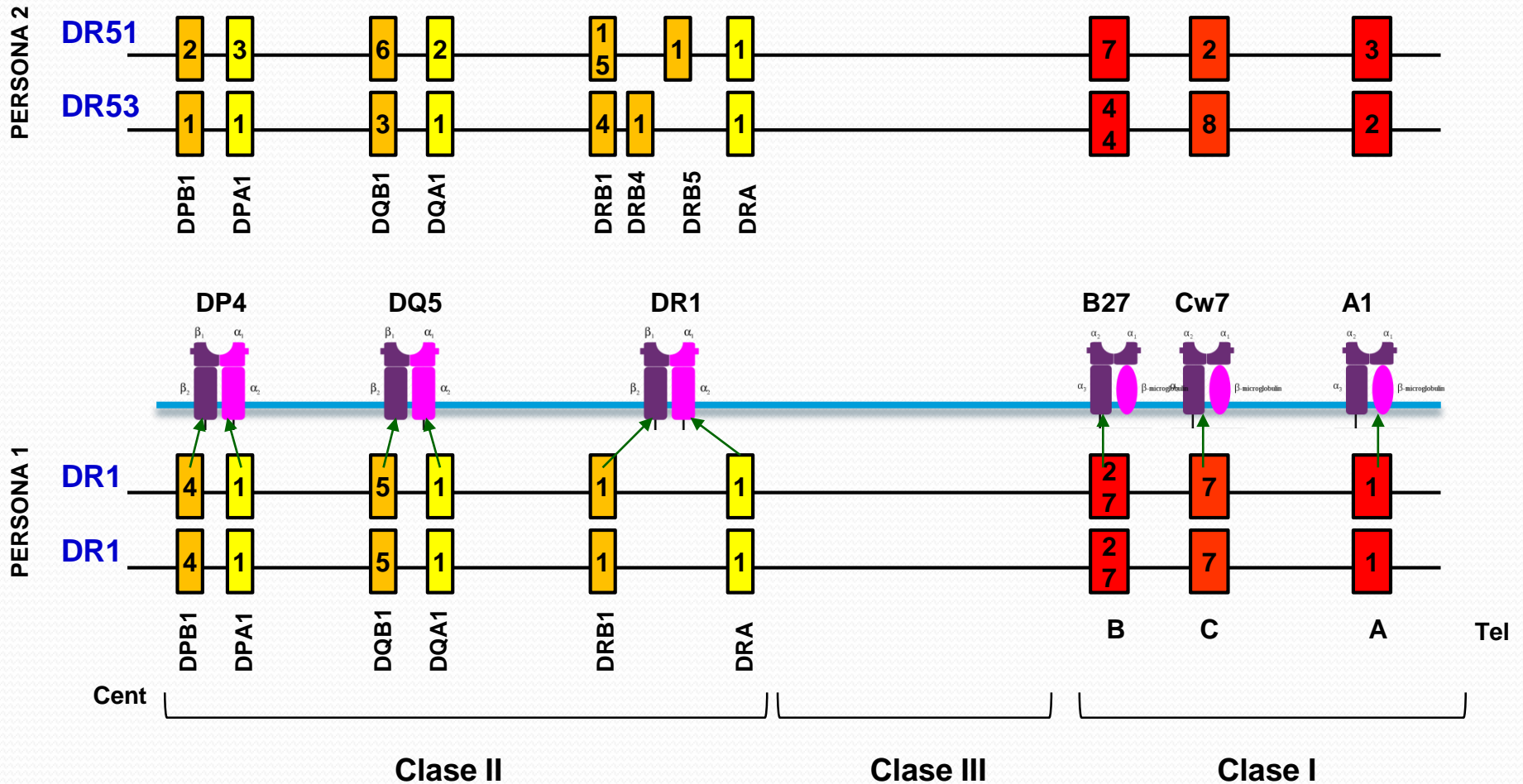
# Genes HLA son poligénicos y polimórficos



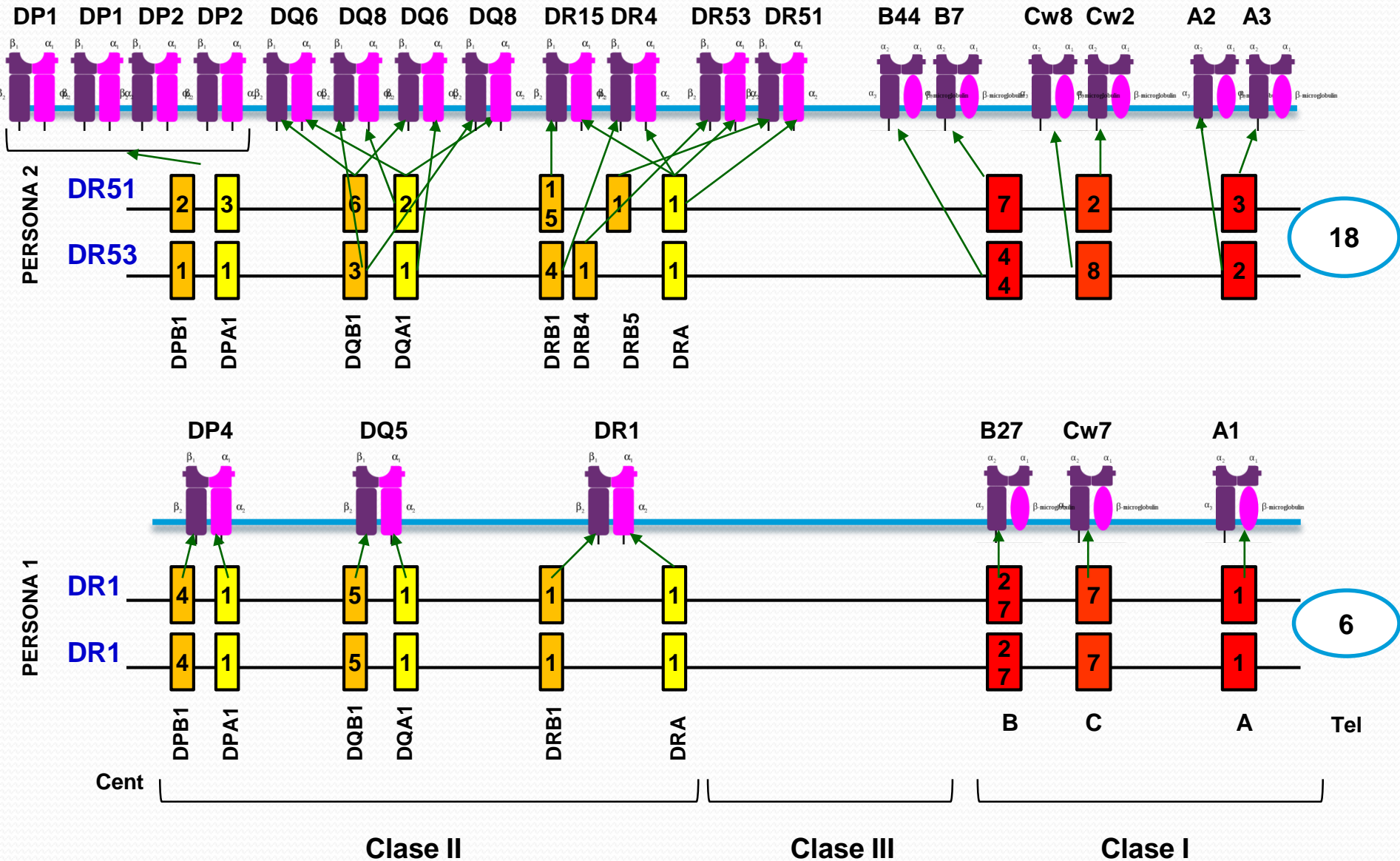
# HLA difiere sustancialmente entre individuos



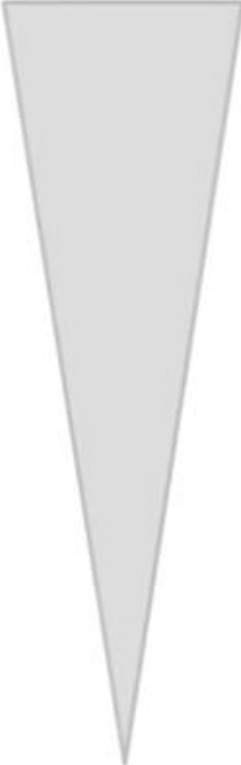
# HLA difiere sustancialmente entre individuos



# HLA difiere sustancialmente entre individuos

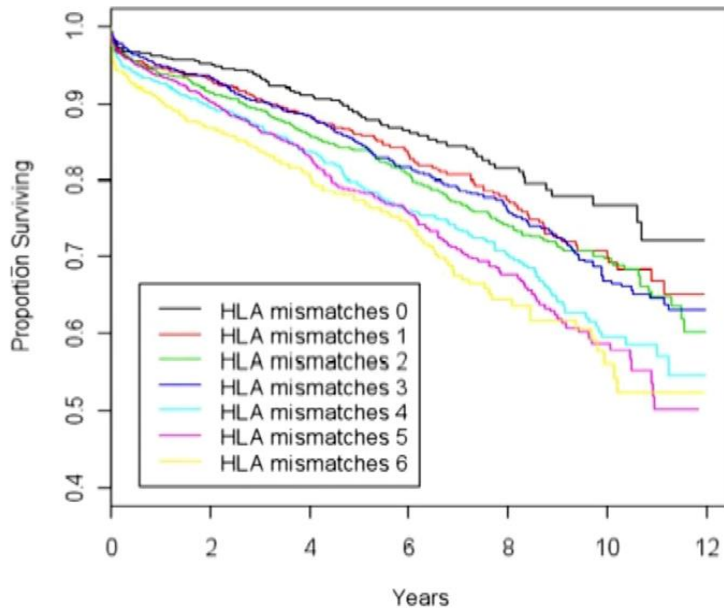


# Terminología “Matching” para trasplante de órganos sólidos

	HLA types	Matching	Best match
1.	<b>Recipient</b> A1,A3,B8,B27,DR3,DR15 <b>Donor</b> A1,A3,B8,B27,DR3,DR15	HLA-identical	
2.	<b>Recipient</b> A1,A3,B8,B27,DR3,DR15 <b>Donor</b> A1,A1,B8,B27,DR3,DR15	Zero mismatch	
3.	<b>Recipient</b> A1,A3,B8,B27,DR3,DR15 <b>Donor</b> A1,A1,B8,B8 ,DR3,DR3	Zero mismatch	
4.	<b>Recipient</b> A1,A3,B8,B27,DR3,DR15 <b>Donor</b> A1,A3,B8,B27,DR3,DR9	1 DR mismatch	
5.	<b>Recipient</b> A1,A3,B8,B27,DR3,DR15 <b>Donor</b> A1,A2,B8,B44,DR3,DR9	Haploidentical	
6.	<b>Recipient</b> A1,A3,B8,B27,DR3,DR15 <b>Donor</b> A2,A24,B7,B62,DR1,DR9	HLA Disparate (6 antigens mismatch)	

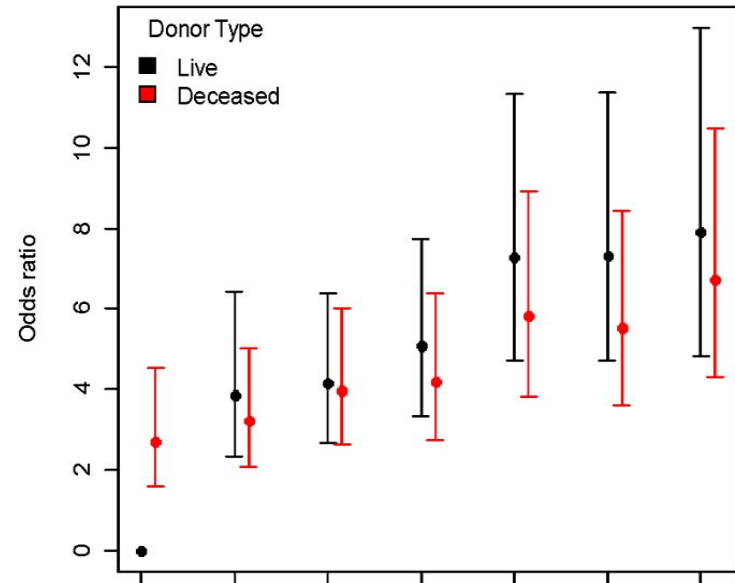


**Kaplan Meier Curve-Overall Graft Failure**



Years	0 HLA-MM	1 HLA-MM	2 HLA-MM	3 HLA-MM	4 HLA-MM	5 HLA-MM	6 HLA-MM
0	550	734	1795	1792	1181	1330	654
4	337	432	900	1042	601	611	285
8	140	194	360	439	225	189	82

(a)



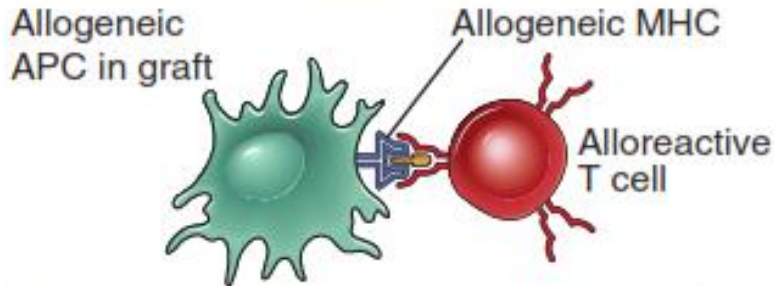
HLA-mismatches	Live donor	Deceased donor
0	1.00	1.00
1	4.00 (2.38, 6.67)*	1.19 (0.79, 1.79)
2	4.17 (2.71, 6.67)*	1.47 (1.01, 2.13)*
3	5.26 (3.33, 7.69)*	1.54 (1.04, 2.27)*
4	7.14 (4.76, 11.11)*	2.13 (1.43, 3.12)*
5	7.69 (4.76, 11.11)*	1.96 (1.33, 2.86)*
6	8.33 (5.00, 12.50)*	2.38 (1.56, 3.57)*

(b)

- a) Kaplan–Meier survival curve of overall graft failure according to the number of HLA mismatches with corresponding numerical table of the number at risk at 0, 4 and 8 years post-transplant (adapted from *Lim WH et al Clin Transplant* 2012).
- b) Odds ratio plot of HLA mismatches and acute rejection according to donor type (reference live donor 0 HLA mismatch) and corresponding table of the adjusted odds ratio between HLA mismatches and acute rejection according to donor type (reference live or deceased donor 0 HLA mismatch; adapted from *Lim WH et al Clin Transplant* 2012).

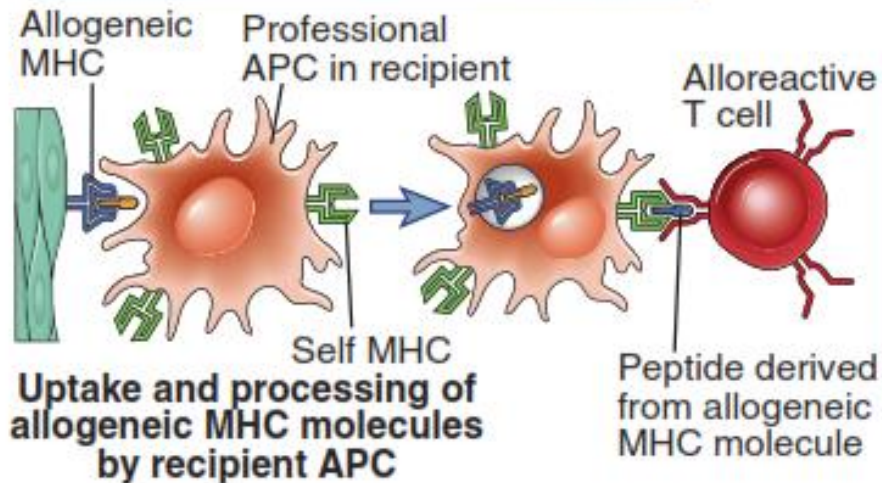
# Reconocimiento de aloantígenos por Linfocitos aloreactivos

## A Direct alloantigen recognition



**T cell recognizes unprocessed allogeneic MHC molecule on graft APC**

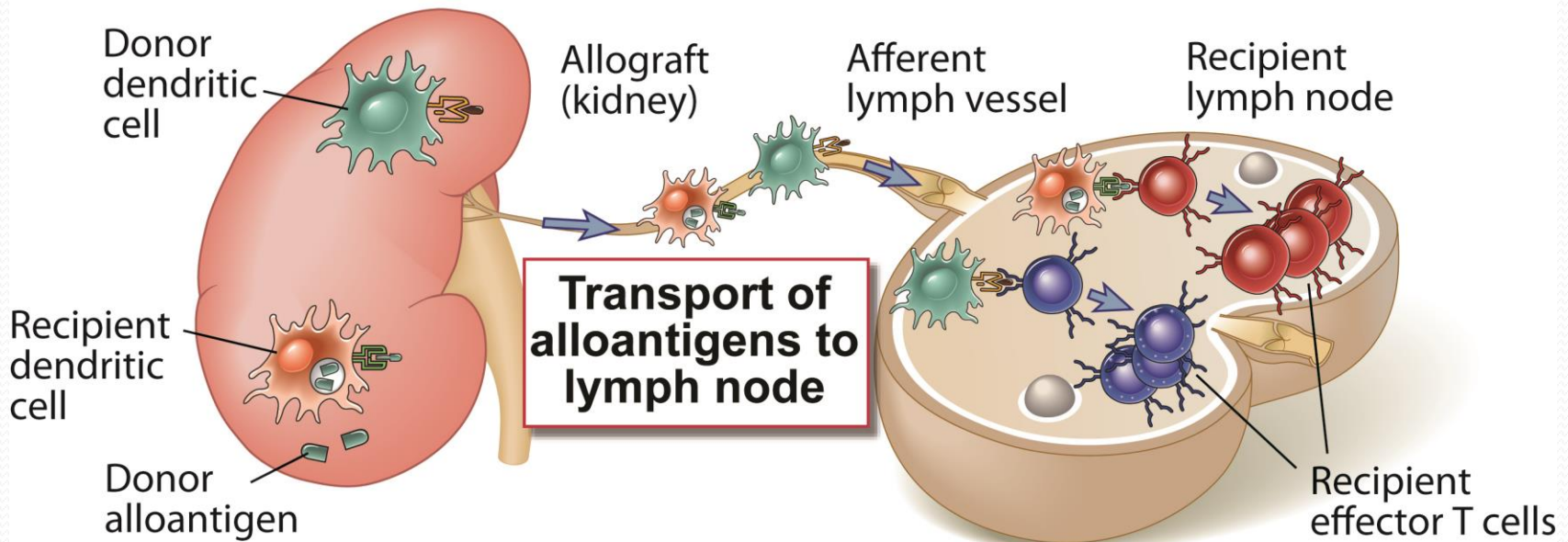
## B Indirect alloantigen presentation



**Presentation of processed peptide of allogeneic MHC molecule bound to self MHC molecule**

# Inmunología Trasplante Renal

## Sensitization

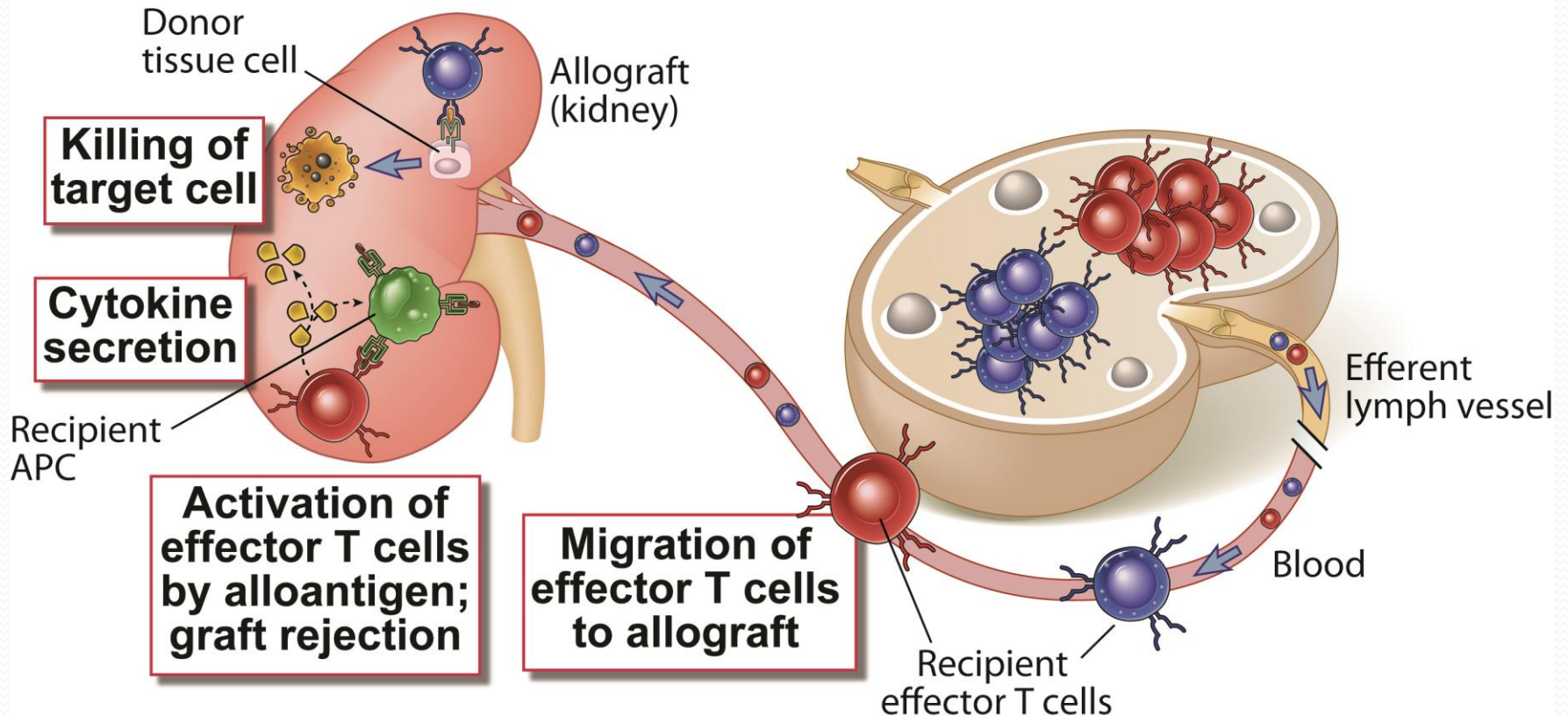


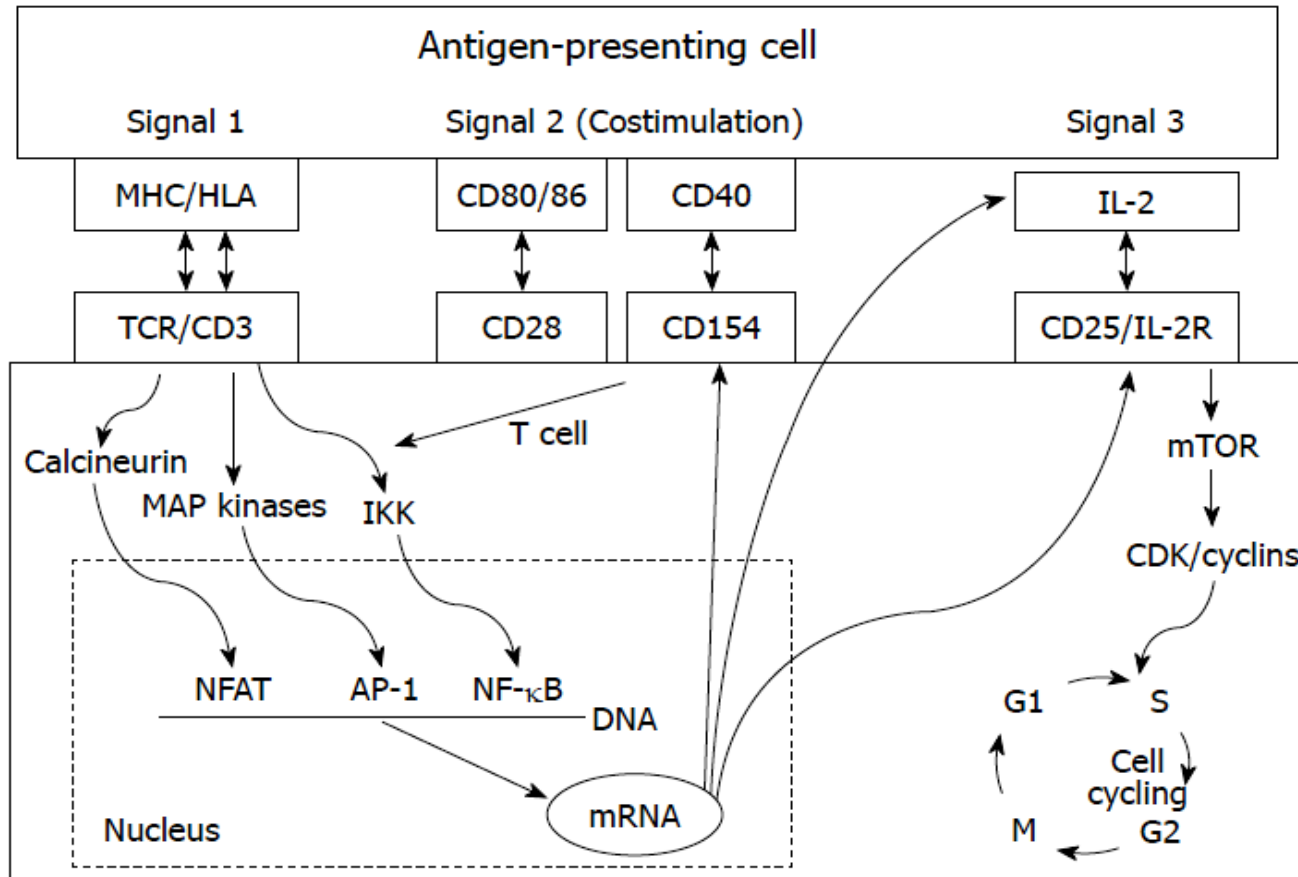
**Activation of T cells, generation of effector T cells by direct and indirect antigen presentation**



# Inmunología Trasplante Renal

## Rejection





**Figure 1 The 3-signal model of T cell activation.** MHC: Major histocompatibility complex; HLA: Human leukocyte antigens; IL: Interleukin; TCR: T-cell receptors; NFAT: Nuclear factor of activated T cells; mTOR: Mechanistic target of rapamycin.

# Introducción

## El estudio inmunológico de la pareja donante-receptor

- Cuantificar y minimizar la probabilidad de pérdida del injerto a corto y largo plazo.
- Es necesario hacer el estudio pre-trasplante y post-trasplante mediante el uso de diversas tecnologías .
- Los resultados no solo evitara los trasplantes de alto riesgo sino ofrecer el tipo de tratamiento inmunosupresor adecuado a cada nivel de riesgo.
- Para determinar los aloanticuerpos existen diferentes métodos que tienen diferente sensibilidad y diferente valor pronóstico, unos determinan un alto riesgo de rechazo hiperagudo, otros un aumento en el riesgo de pérdida de injerto en retrasplantes.

# Tamizaje de aloanticuerpos, identificación de aloanticuerpos anti-HLA o PRA

- 1.1) **Prueba Tamizaje:** (Reactividad Celular)-Crossmatch o Prueba Cruzada. (crossmatch-CDC) tiene un alto valor pronóstico positivo (VPP) sobre la pérdida del injerto (80%). Esta técnica detecta la presencia en suero de anticuerpos citotóxicos de clase IgG1, IgG3 e IgM.
  
- 1.2) **Pruebas Serológicas:** (Anticuerpos)-Panel de Anticuerpos Reactivos (PRA), basado en un panel de glicoproteínas HLA de clase I y II, fijados en una fase sólida.
  - ELISA
  - Citotometría de flujo
  - Luminex®

### 1.3) Asignación de especificidad anti-HLA con técnicas de fase sólida.

- Dianas multi-alélicas de un individuo único: cada microesfera está rebozada de los antígenos purificados procedentes de una línea celular (en general dos alelos) de clase I locus 2A + 2B + 2C, o bien clase II 2DR y/o 2DQ y/o 2DP.
- Dianas con antígenos aislados (o «single antigen»): cada microesfera está rebozada con un solo alelo HLA clase I o de HLA clase II.



# Métodos para la evaluación de anticuerpos anti-HLA

## Antígeno no específico

- Crossmatch-CDC.
  - Estándar
  - Modificado
    - DTT
    - Anti-globulina
- Crossmatch Citometría de flujo (células).
  - Linfocitos T/B
  - Pronase

## Antígeno específico

- ELISA.
  - PRA % (I & II)
  - Especificidad (I & II)
- Citometría de flujo (perlas)
  - PRA % (I & II)
  - Especificidad (I & II)
- Luminex®
  - PRA % (I & II)
  - Single antigen
  - Donor Specific Antibodie (DSA)

# Crossmatch-CDC

## (Citotoxicidad dependiente del Complemento)

- Reacción antígeno-anticuerpo con fijación de complemento y visualización de la reacción con un colorante.
- Se pueden utilizar células (linfocitos T y/o B) aislados de S.P, ganglio linfático o bazo.
- La reacción se cuantifica según el porcentaje de células muertas.
- Este es el método de referencia clásico.
- Prueba cruzada pre-trasplante frente a células T y células B (Patel y Terasaki 1969).

# The New England Journal of Medicine

Copyright, 1969, by the Massachusetts Medical Society

Volume 280

APRIL 3, 1969

Number 14

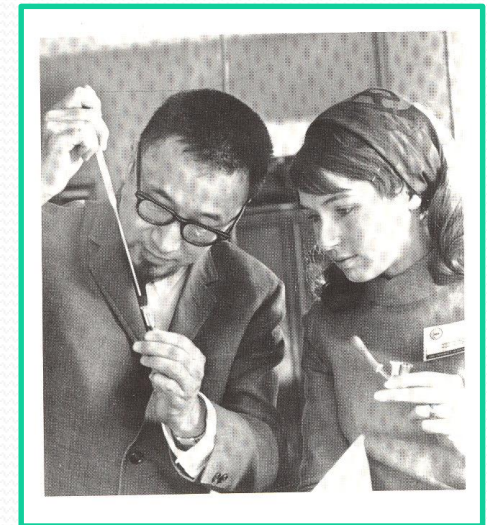
## SIGNIFICANCE OF THE POSITIVE CROSSMATCH TEST IN KIDNEY TRANSPLANTATION\*

RAMON PATEL, M.R.C.P., AND PAUL I. TERASAKI, PH.D.

**Problema Especificidad**

CDC xM (n=225)	Hyperacute or Accelerated Rejection	Functional Graft
<b>Positive</b> (n=30)	<b>24</b>	<b>6</b>
<b>Negative</b> (n=195)	<b>8</b>	<b>187</b>

**Problema Sensibilidad**

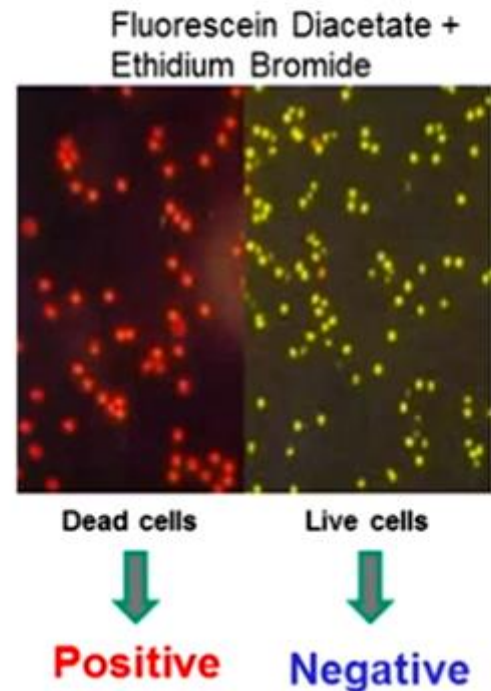
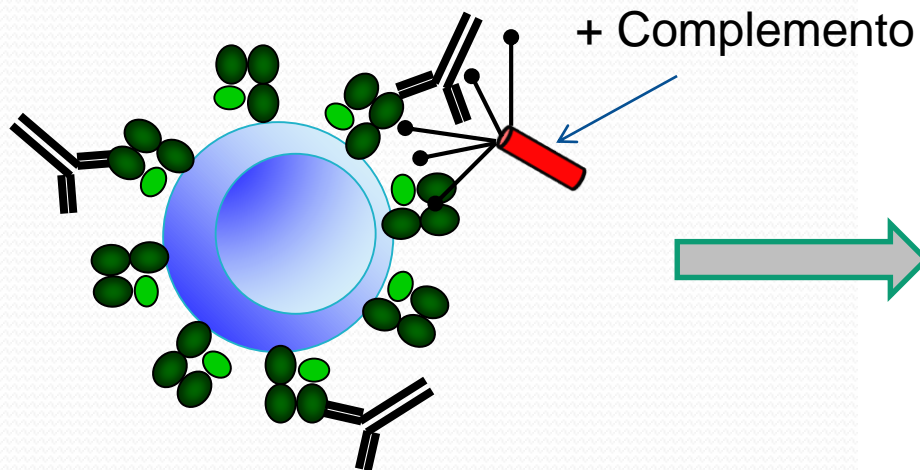
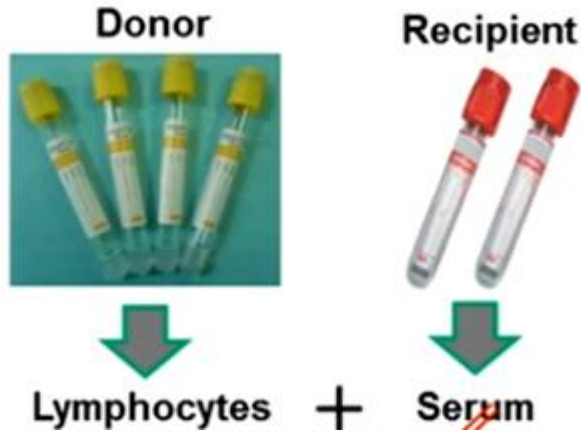


# Prueba cruzada linfocitaria (o *Crossmatch-CDC*)

## 1.1) Prueba cruzada linfocitaria por Citotoxicidad dependiente del Complemento (CDC) entre donante y receptor

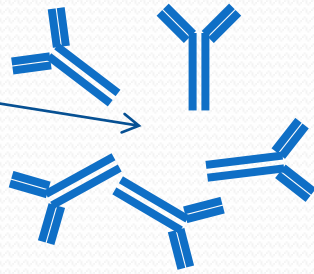
- Detecta anticuerpos de clase IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgM.
- Se realiza utilizando sub-poblaciones de linfocitos T y B es posible diferenciar los anticuerpos anti-HLA-I de los anti-HLA-II .
- Tratamiento adicional con DTT (Ditriotreitol), para romper puentes bisulfuro de los auto-anticuerpos citotóxicos IgM. (Frecuente en pacientes con enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico; artritis reumatoide, cirrosis biliar primaria, etc.).

# Crossmatch-CDC (Citotoxicidad dependiente del Complemento)



# Crossmatch-CDC Modificado

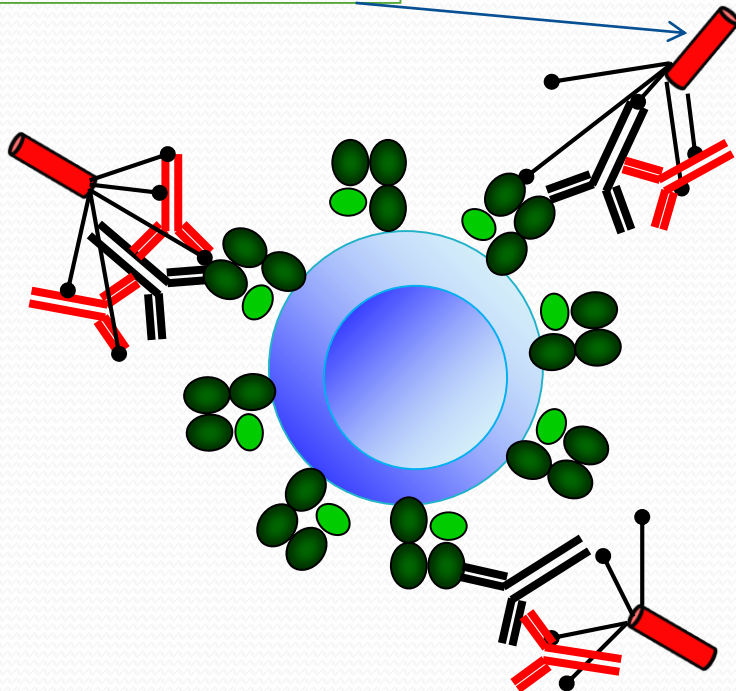
DTT, rompe puentes bisulfuro



## 1) Incrementa las Especificidad:

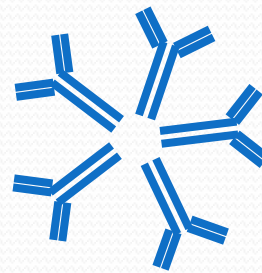
- Elimina IgM, por acción del DTT

+ Complemento



## 2) Incrementa la Sensibilidad:

- AHG
- Mayor tiempo de incubación

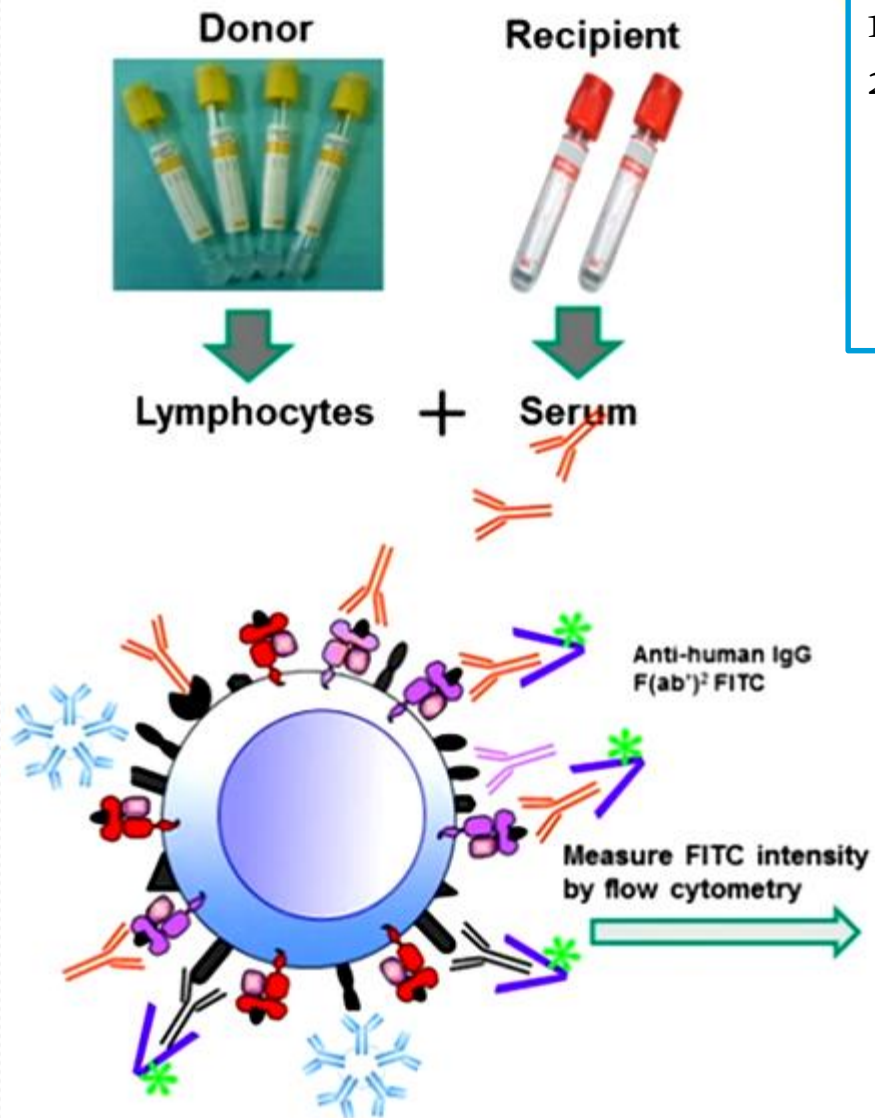


DTT: Ditioneitol

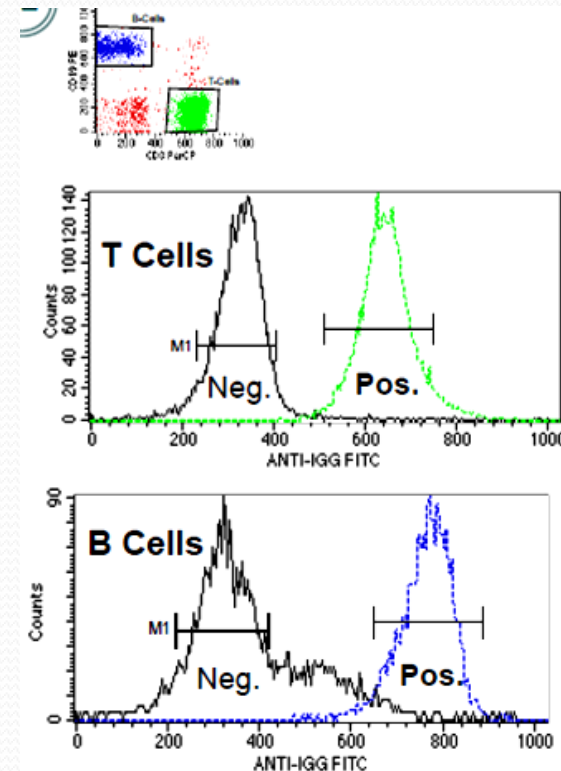
AHG: Anti-human globulin



# Crossmatch-Citometría de Flujo

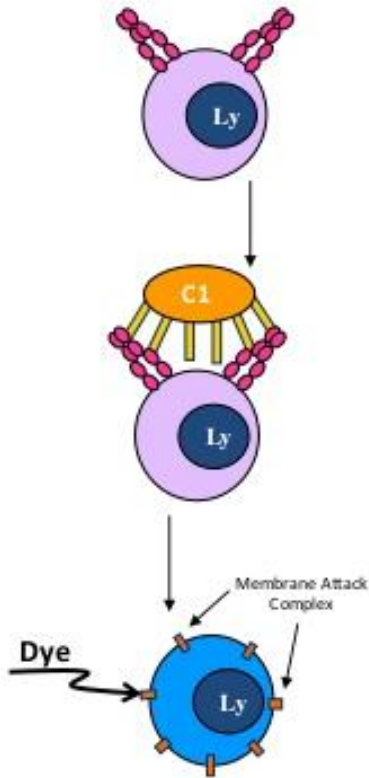


- 1) Detecta solo anticuerpos IgG
- 2) Tratamiento de los linfocitos con Pronasa: elimina receptores Fc de linfocitos B que se unirían a IgG inespecíficamente aumentando el background.

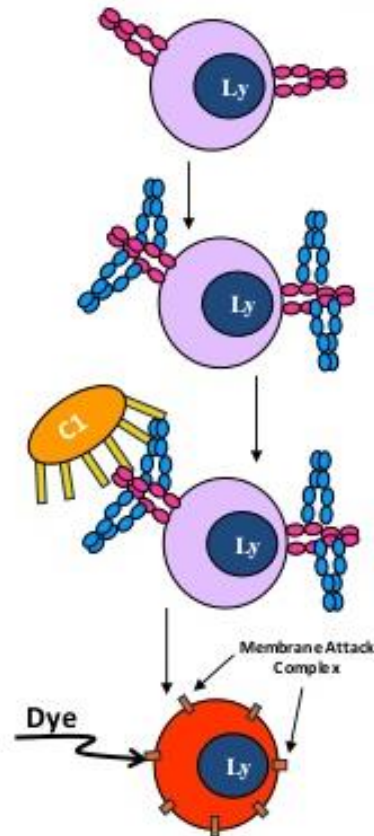


# Evolución del Crossmatch

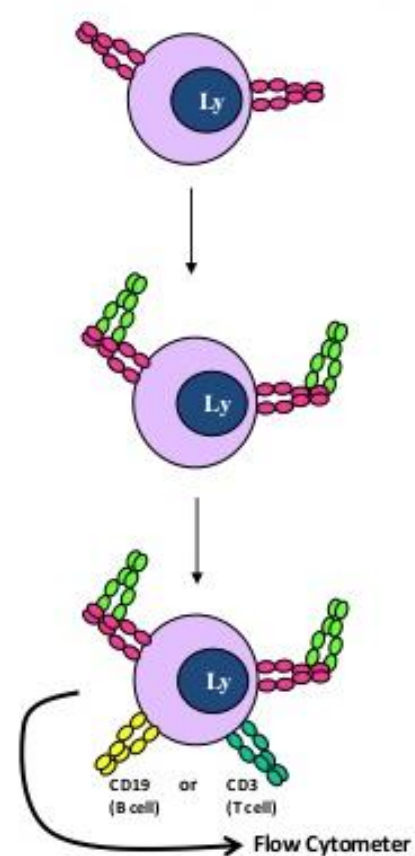
## Cytotoxicity



## Enhanced Cytotoxicity



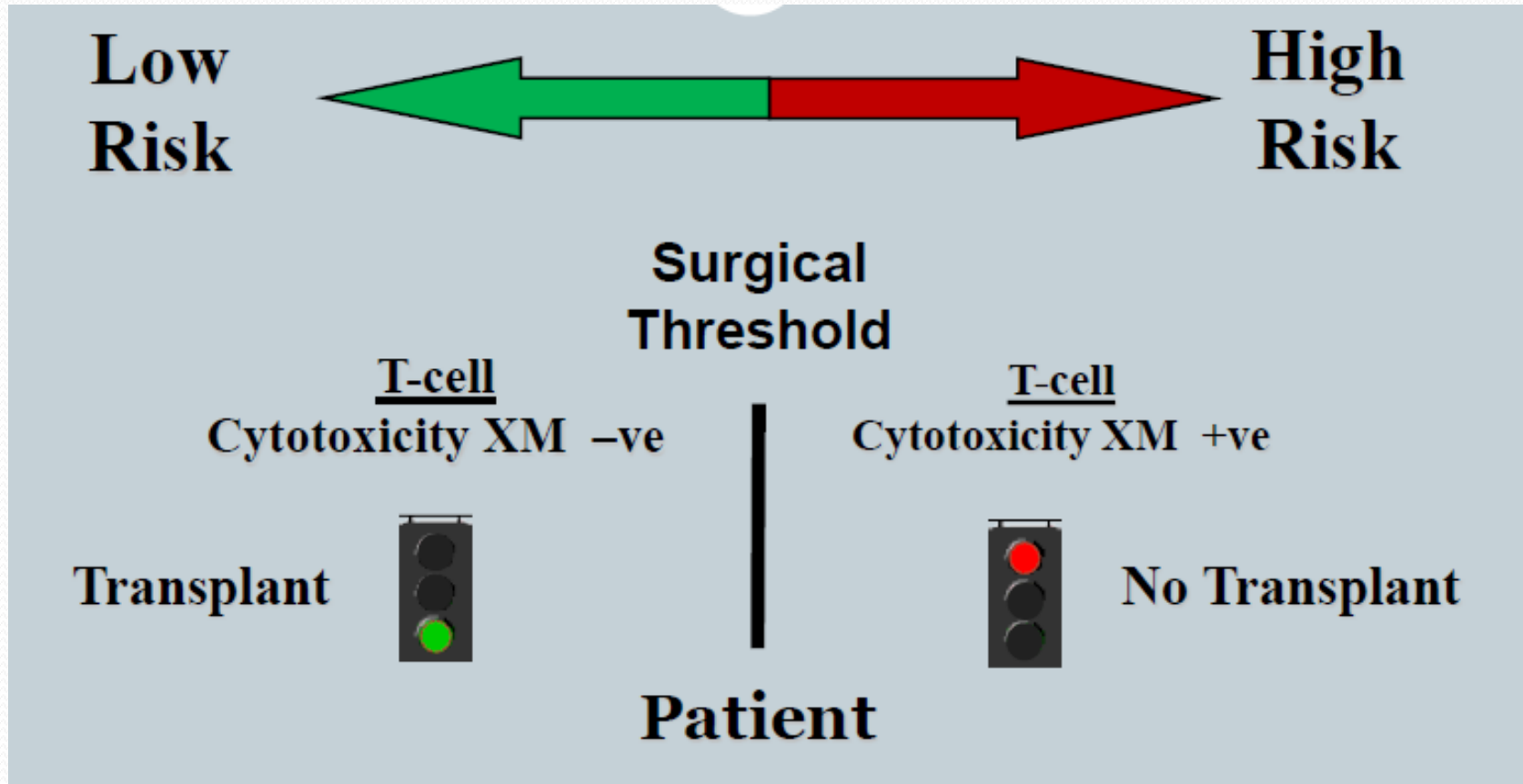
## Flow Cytometry



Bray et al Immunol Res. 29:41, 2004



# Paradigma de los años 1970s-80s del Crossmatch



# Como los individuos son sensibilizados a los antígenos HLA

- Trasplante
- Embarazo
- Trásfusión sanguínea, plaquetas.
- Infecciones
- Vacunación

# Anticuerpos anti HLA

No se presentan en forma natural  
Trasplante, Embarazo, Transfusiones

## Vacunas

Infecciones bacterianas, virales,  
fúngicas

¿Durante el periodo fetal?

Epitopo de la  
molécula HLA

Epitopos Públicos  
y Privados

Epitopos públicos  
son diferentes  
secuencias aa

Terasaki  
"Análisis de  
epitopos"  
Duquesnoy  
"HLAMatchmaker"

# Determinaciones en la primera fase del estudio pre-trasplante:

- a) Tipificación HLA del receptor y de los posibles donantes.
- b) Aloanticuerpos por citotoxicidad dependiente de complemento frente a panel (PRA-CDC) y cribado de aloanticuerpos anti-HLA por fase sólida.
- c) En enfermos sensibilizados, puede ser útil identificar las incompatibilidades aceptables mediante una determinación de antígeno aislado en fase sólida y la evaluación del «crossmatch virtual» (VCM).

# Panel de Anticuerpos Reactivos (PRA)

## Cual es el propósito del PRA?

- CONOCER el grado de sensibilización de un paciente ANTES de un trasplante.
- En caso si esta sensibilizado, CONOCER específicamente que anticuerpos se han producido.
- Hacer un SEGUIMIENTO post-trasplante, frente a la posibilidad de un rechazo o un segundo trasplante.

# Panel de Anticuerpos Reactivos (ELISA-PRA)

- Búsqueda en simultáneo de anticuerpos contra HLA Clase I y Clase II.
- Aprox. 33% de los individuos pueden desarrollar anticuerpos anti-HLA.
- PRA (Panel de anticuerpos reactivos) se expresa en porcentaje.
- Diversos métodos:
  - ELISA.
  - Citometria de flujo
  - Luminex®.

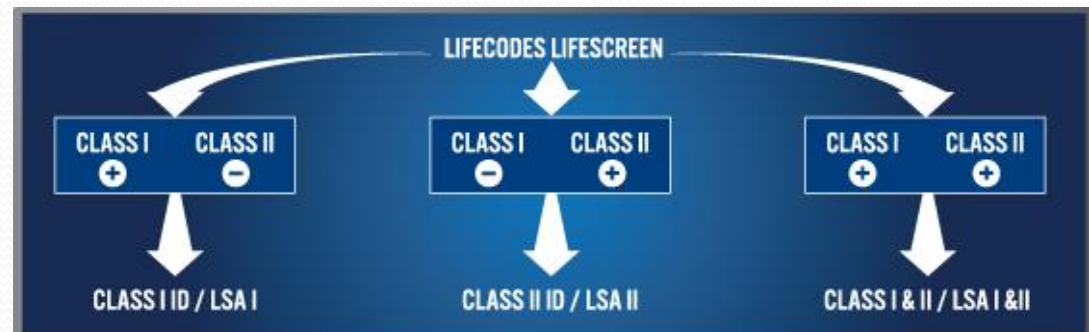
## Procedimiento:

### •1er paso: Tamizaje (HLA clase I y clase II)

1. HLA clase I, glicoproteínas aprox. 300 donadores (1/3 caucásicos, 1/3 afro-americanos y 1/3 hispánicos).
2. HLA clase II, glicoproteínas purificado de Linfocitos B.

### •2do paso: Identificación de anticuerpos anti-HLA clase I y clase II.

1. HLA clase I, panel de 40 donantes (líneas celulares de linfocitos).
2. HLA clase II, panel de 30 diferentes líneas celulares de linfocitos B transformados.



# Panel de Anticuerpos Reactivos (ELISA-PRA)

QUIK-ID®Class I

	Y	G	B	P	R	O
A	1	9	17	25	33	N
B	2	10	18	26	34	N
C	3	11	19	27	35	N
D	4	12	20	28	36	N
E	5	13	21	29	37	P
F	6	14	22	30	38	NA
G	7	15	23	31	39	B
H	8	16	24	32	40	B

N = Control Neg  
 P = Control Pos  
 B = Blanco  
 NA = No Antígeno

Letras para los Colores:

Y = Amarillo  
 G = Verde  
 B = Azul  
 P = Purpura  
 R = Rojo  
 O = Naranja

QUIK-ID®Class II

	P	F	W	V	B
A	1	9	17	25	N
B	2	10	18	26	N
C	3	11	19	27	N
D	4	12	20	28	N
E	5	13	21	29	P
F	6	14	22	30	P
G	7	15	23	MO	B
H	8	16	24	NA	B

N = Control Neg  
 P = Control Pos  
 B = Blanco  
 NA = No Antígeno  
 MO = Solo Monoclonal

Letras para los Colores:

P = Rosa  
 F = Fucsia  
 W = Blanco  
 V = Violeta  
 B = Negro

Fig. 1



# Resultados (ELISA-PRA), calculo "PRA" HLA clase I

Antigen Panel List -- Rel OD Sort (X = Suppressed)										Negative	Positive					
X	Well	Pan ID	Rel OD	= (RawOD)-(Factors)	ANTIGENS -> -> -> -> ->											
39	+	H5	MAD981	1.547	= ( 1.785)-( 0.238)	A02	A02	B54	B60	C01	C07	---	W 6		1.547	
30	+	G4	TCH077	1.317	= ( 1.555)-( 0.238)	A01	A02	B37	B76	C04	C06	W 4	W 6		1.317	
26	+	C4	TY636	1.258	= ( 1.484)-( 0.226)	A02	A30	B07	B56	C01	C07	---	W 6		1.258	
14	+	G2	CAS321	1.249	= ( 1.468)-( 0.219)	A02	A34	B46	B75	C01	C04	---	W 6		1.249	
29	+	F4	JX432	1.244	= ( 1.479)-( 0.235)	A02	A36	B07	B72	C02	C07	---	W 6		1.244	
20	+	E3	PMT422	1.214	= ( 1.440)-( 0.226)	A02	A74	B18	B65	C05	C08	---	W 6		1.214	
15	+	H2	WAR374	1.188	= ( 1.430)-( 0.242)	A02	A23	B45	B50	C06	---	---	W 6		1.188	
17	+	B3	TR373	1.174	= ( 1.395)-( 0.221)	A02	A29	B13	B44	C06	C16	W 4	---		1.174	
22	+	G3	JKI546	1.161	= ( 1.367)-( 0.206)	A02	A23	B42	B53	C06	C17	W 4	W 6		1.161	
9	+	B2	MFZ325	1.119	= ( 1.341)-( 0.222)	A02	A26	B27	B38	C01	C12	W 4	---		1.119	
18	+	C3	BOG477	1.032	= ( 1.219)-( 0.187)	A02	A25	B08	B27	C01	C07	W 4	W 6		1.032	
36	+	E5	NT927	0.946	= ( 1.255)-( 0.309)	A01	A02	B35	B52	C04	C12	W 4	W 6		0.946	
8	+	A2	NCK610	0.848	= ( 1.130)-( 0.282)	A02	A03	B37	B62	C03	C06	W 4	W 6		0.848	
4	+	E1	158CBC	0.624	= ( 0.817)-( 0.193)	A32	A68	B57	B62	C03	C06	W 4	W 6		0.624	
33	+	B5	AK342	0.518	= ( 0.730)-( 0.212)	A01	A69	B08	B73	C07	C15	---	W 6		0.518	
3	+	D1	66LB	0.404	= ( 0.614)-( 0.210)	A30	A68	B35	B81	C04	C08	---	W 6		0.404	
7	+	H1	YNE770	0.344	= ( 0.550)-( 0.206)	A01	A33	B07	B57	C07	C07	W 4	W 6		0.344	
35	+	D5	ICH467	0.308	= ( 0.530)-( 0.222)	A29	A68	B49	B71	C03	C07	W 4	W 6		0.308	
23	+	H3	LB634	0.209	= ( 0.450)-( 0.241)	A01	A66	B52	B58	C07	C12	W 4	---		0.209	
25	+	B4	LB364	0.160	= ( 0.373)-( 0.213)	A25	A33	B55	B58	C03	C06	W 4	W 6		0.160	
5		F1	70HC	-0.016	= ( 0.208)-( 0.224)	A01	A03	B44	B51	C07	C15	W 4	---		-0.016	
16		A3	8LB	-0.025	= ( 0.176)-( 0.201)	A01	A26	B07	B27	C02	C07	W 4	W 6		-0.025	
6		G1	148CBC	-0.026	= ( 0.192)-( 0.218)	A03	A31	B35	B60	C03	C04	---	W 6		-0.026	
32		A5	HII402	-0.032	= ( 0.185)-( 0.217)	A11	A24	B59	B67	C01	C07	W 4	W 6		-0.032	
2		C1	117CBC	-0.036	= ( 0.193)-( 0.229)	A11	A26	B38	B60	C03	C12	W 4	W 6		-0.036	
1		B1	117DFW	-0.038	= ( 0.158)-( 0.196)	A03	A24	B39	B62	C03	C07	---	W 6		-0.038	
21		F3	LER780	-0.039	= ( 0.153)-( 0.192)	A31	A32	B08	B39	C07	C12	---	W 6		-0.039	
19		D3	HC079	-0.050	= ( 0.160)-( 0.210)	A11	A30	B48	B56	C01	C08	---	W 6		-0.050	
0		A1	140DFW	-0.055	= ( 0.148)-( 0.203)	A24	---	B35	B61	C03	C04	---	W 6		-0.055	
31		H4	AHN822	-0.068	= ( 0.156)-( 0.224)	A26	A30	B51	B62	C03	C14	W 4	W 6		-0.068	
27		D4	LB758	-0.073	= ( 0.183)-( 0.256)	A23	A33	B41	B47	C07	C08	W 4	W 6		-0.073	
28		E4	LB017	-0.079	= ( 0.171)-( 0.250)	A30	A80	B18	B78	C02	C16	---	W 6		-0.079	
34		C5	THI458	-0.080	= ( 0.121)-( 0.201)	A24	A26	B60	B77	C07	C08	W 4	W 6		-0.080	
24		A4	LB763	-0.092	= ( 0.144)-( 0.236)	A66	A74	B45	B72	C02	C16	---	W 6		-0.092	
13		F2	PHL262	-0.093	= ( 0.125)-( 0.218)	A03	A32	B55	B64	C03	C08	---	W 6		-0.093	
38		G5	JA118	-0.099	= ( 0.160)-( 0.259)	A33	A74	B53	B72	C02	C04	W 4	W 6		-0.099	
10		C2	YH106	-0.120	= ( 0.105)-( 0.225)	A11	A31	B39	B61	C03	C07	---	W 6		-0.120	
37		F5	LB684	-0.123	= ( 0.108)-( 0.231)	A03	A33	B47	B63	C06	C14	W 4	---		-0.123	
12		E2	HC114	-0.123	= ( 0.134)-( 0.257)	A24	A26	B07	B13	C06	C07	W 4	W 6		-0.123	
11		D2	YZH541	-0.137	= ( 0.099)-( 0.236)	A25	A32	B18	B49	C07	C12	W 4	W 6		-0.137	
45		F6	=NAW	-0.181	= ( 0.051)-( 0.231)	X--	X--	X--	X--	X--	X--	X--	X--		-0.181	



# Resultados (ELISA-PRA), calculo "PRA" HLA clase I

## Preliminary HLA Class I Antigen Report - Subject to Supervisor Review

Sample ID - 019-12.1.R01    Technician ID - Adolfo Marcelo

Patient Name: Yovi Rosales  
Extra Field 1: NONE  
Patient Phenotype: NONE

Patient ID: NONE  
Extra Field 2: NONE

PRA 50%

<u>DATES</u>	<u>FILES</u>	<u>CUTOFFS</u>
Draw Date: Not Used	Lot #: 042011L1.QID	Pos. Cutoff: 2.
Receive Date: Not Used	Antigen File: Comb.Ant	Incl. Cutoff: 50.1%
Elisa Date: 05/16/2012 15:05	Creg File: Std3.Crg	R-Val Cutoff: 0.25
Mean of 4 negative control(s) = 0.116 -> A6 =0.127, B6 =0.104, C6 =0.116, D6 =0.116		
Mean of 1 positive control(s) = 1.549 -> E6 =1.549		
Suppr. Phenotype: NO		
Suppr. Antigens: NO		
Test Temp °C = No Temp		
NAW = F6 =NAW -0.181		MAB = NONE

----- Antigen Short Tail Results -----  
 PRA = 20wells/40wells => 50.0%

Antigen	Cnt	Sum	++	+-	-+	--	Inc%	CIn%	r	Cum r	X2	Cum X2	Avg.OD
A02	14	41	14	7	0	20	100%	100%	0.703:r	0.694:r	20.25:X2	19.26:X2	1.203:OD
A68	3	27	3	4	0	20	100%	100%	0.598:r	0.816:r	9.64:X2	26.67:X2	0.445:OD
B58	2	24	2	2	0	20	100%	100%	0.674:r	0.905:r	10.91:X2	32.73:X2	0.184:OD
A69	1	22	1	1	0	20	100%	100%	0.690:r	0.951:r	10.48:X2	36.19:X2	0.518:OD
B57	1	21	1	0	0	20	100%	100%	1.000:r	1.000:r	21.00:X2	40.00:X2	0.344:OD

(Remaining wells are negative)  
 (Remaining r-values are invalid - require divide by zero)  
 (Remaining inclusions and/or r-values are <= their cutoff values)

# Resultados (ELISA-PRA), calculo "PRA" HLA clase II

Antigen Panel List -- Rel OD Sort (X = Suppressed)

X	Well	Pan ID	Rel OD	= (RawOD)-(Factors)	ANTIGENS -> -> -> -> -> ->	Negative	Positive
65	+	B9	804	0.892 = ( 1.156)-( 0.264)	DR15 DR-- DRW51 -- DQ06	0.892	
62	+	G8	119	0.656 = ( 1.144)-( 0.488)	DR09 DR16 DRW51 DRW53 DQ05 DQ09	0.656	
60	+	E8	812	0.607 = ( 1.057)-( 0.450)	DR09 DR-- DRW53 -- DQ02	0.607	
85	+	F11	412	0.606 = ( 0.885)-( 0.279)	DR01 DR09 DRW53 -- DQ05 DQ09	0.606	
58	+	C8	656	0.568 = ( 0.894)-( 0.326)	DR103 DR15 DRW51 -- DQ06 DQ07	0.568	
72	+	A10	888	0.506 = ( 0.849)-( 0.343)	DR08 DR16 DRW51 -- DQ05 DQ07	0.506	
75	+	D10	663	0.442 = ( 0.744)-( 0.302)	DR07 DR15 DRW51 -- DQ06 DQ09	0.442	
82	+	C11	480	0.414 = ( 0.666)-( 0.252)	DR08 DR15 DRW51 -- DQ04 DQ06	0.414	
81	+	B11	264	0.351 = ( 0.617)-( 0.266)	DR09 DR11 DRW52 DRW53 DQ02 DQ07	0.351	
56	+	A8	325	0.272 = ( 0.610)-( 0.338)	DR01 DR103 -- -- DQ05 DQ07	0.272	
80	+	A11	215	0.164 = ( 0.547)-( 0.383)	DR13 DR16 DRW51 DRW52 DQ05 DQ06	0.164	
61	+	F8	544	0.067 = ( 0.399)-( 0.332)	DR10 DR11 DRW52 -- DQ05 DQ07	0.067	
84	+	E11	461	0.062 = ( 0.479)-( 0.417)	DR01 DR07 -- -- DQ05 DQ09	0.062	
69	+	F9	100	0.038 = ( 0.479)-( 0.441)	DR10 DR12 DRW52 -- DQ05	0.038	
64		A9	328	-0.016 = ( 0.331)-( 0.347)	DR01 DR04 DRW53 -- DQ05 DQ07		-0.016
57		B8	064	-0.056 = ( 0.308)-( 0.364)	DR103 DR08 -- -- DQ04 DQ05		-0.056
79		H10	317	-0.072 = ( 0.379)-( 0.451)	DR10 DR14 DRW52 -- DQ05 DQ07		-0.072
78		G10	225	-0.138 = ( 0.201)-( 0.339)	DR04 DR04 DRW53 -- DQ07 DQ08		-0.138
74		C10	126	-0.151 = ( 0.106)-( 0.257)	DR17 DR-- DRW52 -- DQ02		-0.151
73		B10	814	-0.155 = ( 0.102)-( 0.257)	DR11 DR13 DRW52 -- DQ07		-0.155
66		C9	699	-0.173 = ( 0.087)-( 0.260)	DR11 DR11 DRW52 -- DQ07		-0.173
83		D11	373	-0.177 = ( 0.091)-( 0.268)	DR07 DR-- DRW53 -- DQ02		-0.177
86		G11	=MAB	-0.183 = ( 0.099)-( 0.282)	X---- X---- X- X- X--- X--		-0.183
77		F10	205	-0.184 = ( 0.104)-( 0.288)	DR11 DR12 DRW52 -- DQ07		-0.184
63		H8	822	-0.186 = ( 0.134)-( 0.320)	DR12 DR14 DRW52 -- DQ07		-0.186
71		H9	333	-0.188 = ( 0.100)-( 0.288)	DR07 DR17 DRW52 DRW53 DQ02 DQ02		-0.188
87		H11	=NAW	-0.203 = ( 0.079)-( 0.282)	X---- X---- X- X- X--- X--		-0.203
67		D9	587	-0.207 = ( 0.078)-( 0.285)	DR13 DR18 DRW52 -- DQ02 DQ04		-0.207
68		E9	532	-0.229 = ( 0.078)-( 0.307)	DR12 DR17 DRW52 -- DQ02 DQ07		-0.229
76		E10	440	-0.253 = ( 0.131)-( 0.384)	DR04 DR17 DRW52 DRW53 DQ02 DQ04		-0.253
59		D8	560	-0.274 = ( 0.119)-( 0.393)	DR08 DR18 DRW52 -- DQ04 DQ07		-0.274
70		G9	372	-0.285 = ( 0.104)-( 0.389)	DR04 DR14 DRW52 DRW53 DQ05 DQ08		-0.285

# Resultados (ELISA-PRA), calculo "PRA" HLA clase II

## Preliminary HLA Class II Antigen Report - Subject to Supervisor Review

Sample ID - 019-12.2.R01 Technician ID - Adolfo Marcelo

Patient Name: Yovi Rosales  
Extra Field 1: NONE  
Patient Phenotype: NONE

Patient ID: NONE  
Extra Field 2: NONE

PRA 47%

<u>DATES</u>	<u>FILES</u>	<u>CUTOFFS</u>
Draw Date: Not Used	Lot #: 062111B2.QID	Pos. Cutoff: 2.
Receive Date: Not Used	Antigen File: Comb.Ant	Incl. Cutoff: 50.1%
Elisa Date: 05/21/2012 11:07	Creg File: Std3.Crg	R-Val Cutoff: 0.25
Mean of 4 negative control(s) = 0.141 -> A12=0.143, B12=0.145, C12=0.136, D12=0.140		
Mean of 2 positive control(s) = 1.618 -> E12=1.641, F12=1.594		
Suppr. Phenotype: NO		
Suppr. Antigens: NO		
Test Temp °C = No Temp	NAW = H11 =NAW -0.203	MAB = G11 =MAB -0.183

### ----- Antigen Short Tail Results -----

PRA = 14wells/30wells => 46.7%

Antigen	Cnt	Sum	++	+-	-+	--	Inc%	CIn%	r	Cum r	X2	Cum X2	Avg.0D
DRW51	7	30	7	7	0	16	100%	100%	0.590:r	0.590:r	10.43:X2	10.43:X2	0.520:0D
DR09	3	23	3	4	0	16	100%	100%	0.586:r	0.756:r	7.89:X2	17.14:X2	0.521:0D
DR01	3	20	2	2	1	15	67%	92%	0.490:r	0.800:r	4.80:X2	19.20:X2	0.106:0D
DR10	3	18	2	0	1	15	67%	88%	0.791:r	0.875:r	11.25:X2	22.97:X2	0.011:0D

(Remaining wells are negative)

(Remaining r-values are invalid - require divide by zero)

(Remaining inclusions and/or r-values are <= their cutoff values)

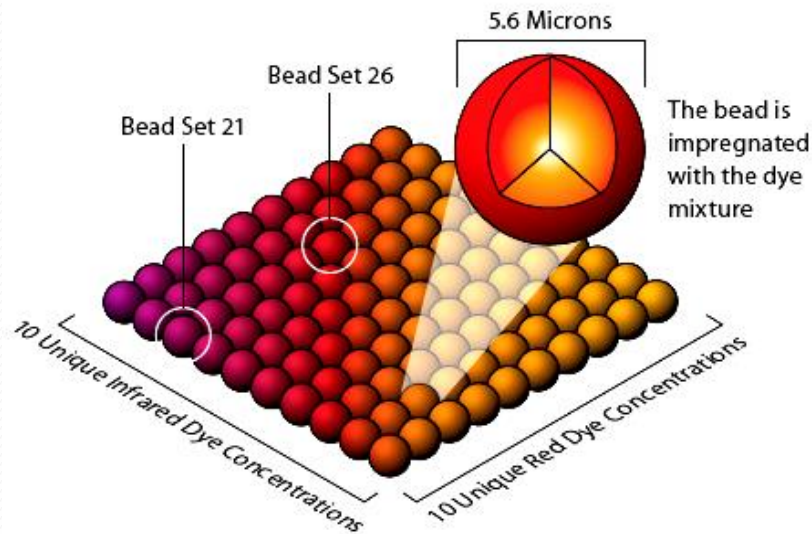
# Fase solida Luminex®



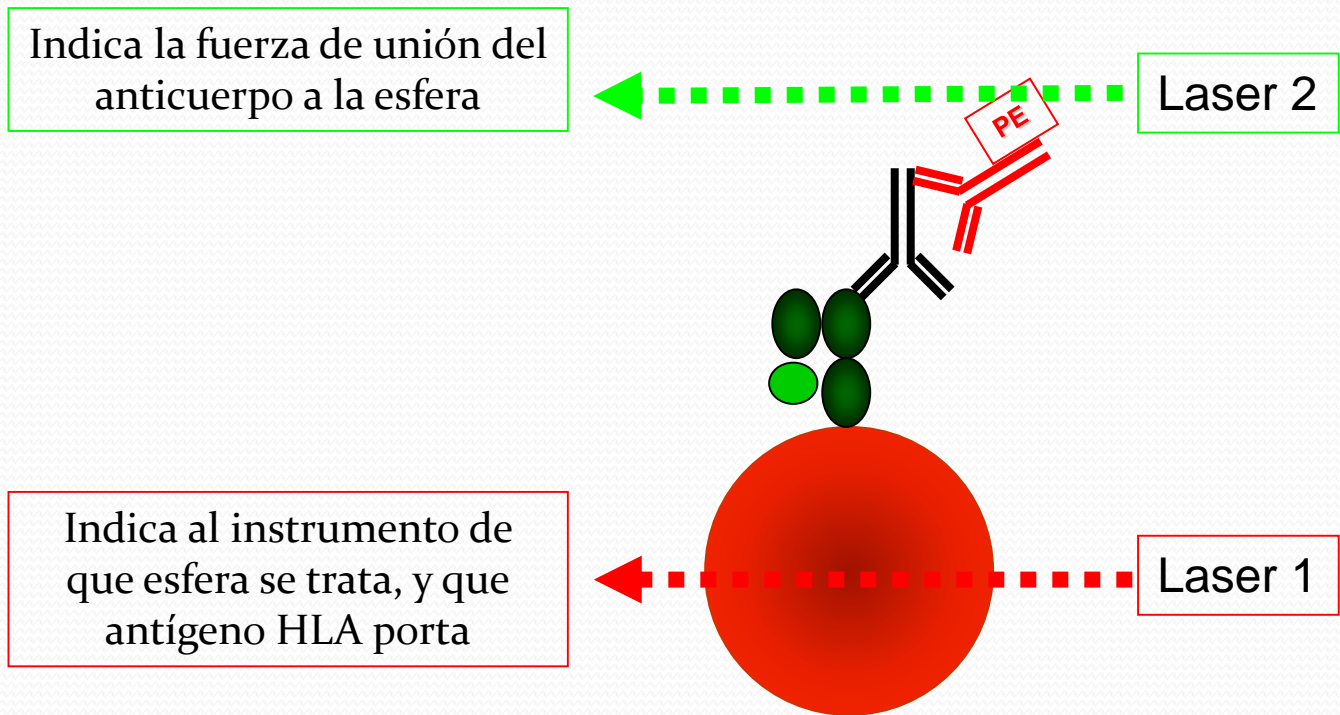
- Controles + 96 específicos (clase I) o 76 específicos (clase II)

- Tiempo de ensayo = 2 horas

- Alta sensibilidad y especificidad



# Fase solida Luminex®



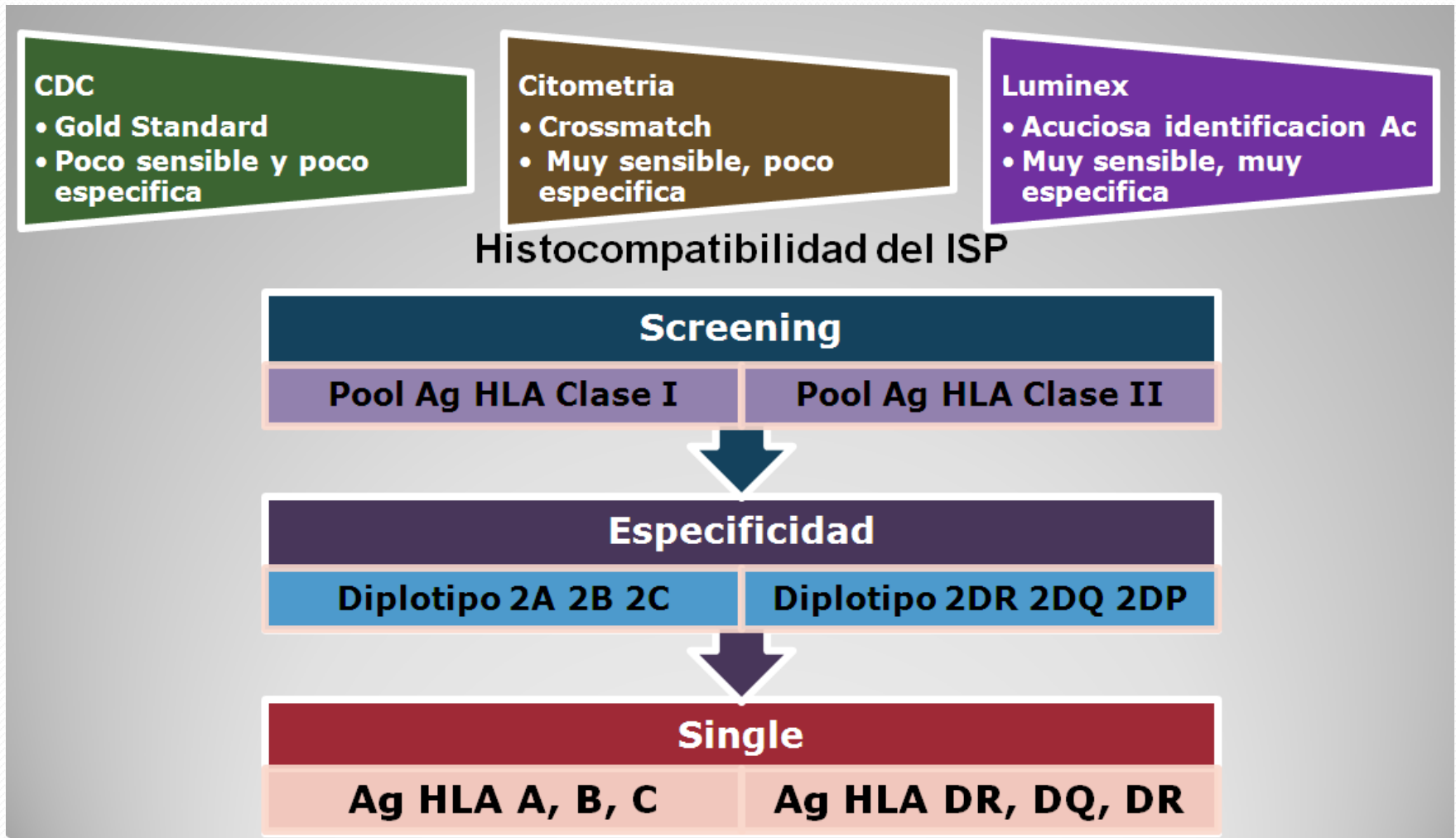
“Single antigen”  
beads:

Class I beads:  
HLA-A, -B, -C loci

Class II beads:  
HLA-DR, -DQ, -DP



# Anticuerpos anti-HLA, Fase solida Luminex®



# Diferentes ensayos con Luminex®

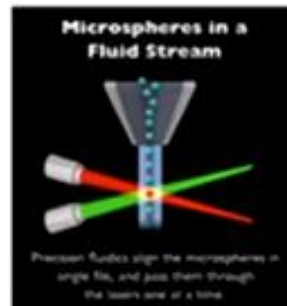
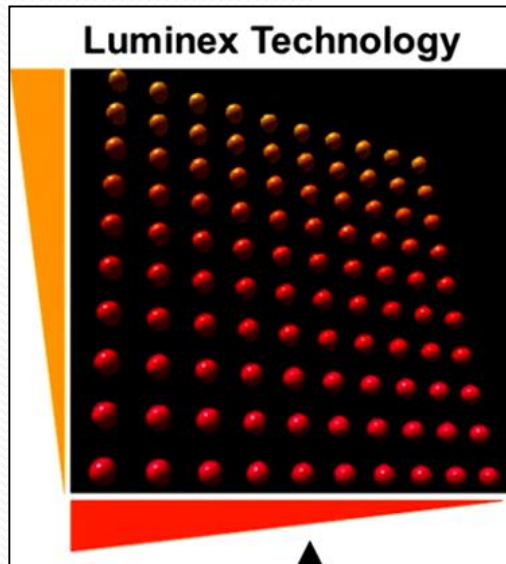
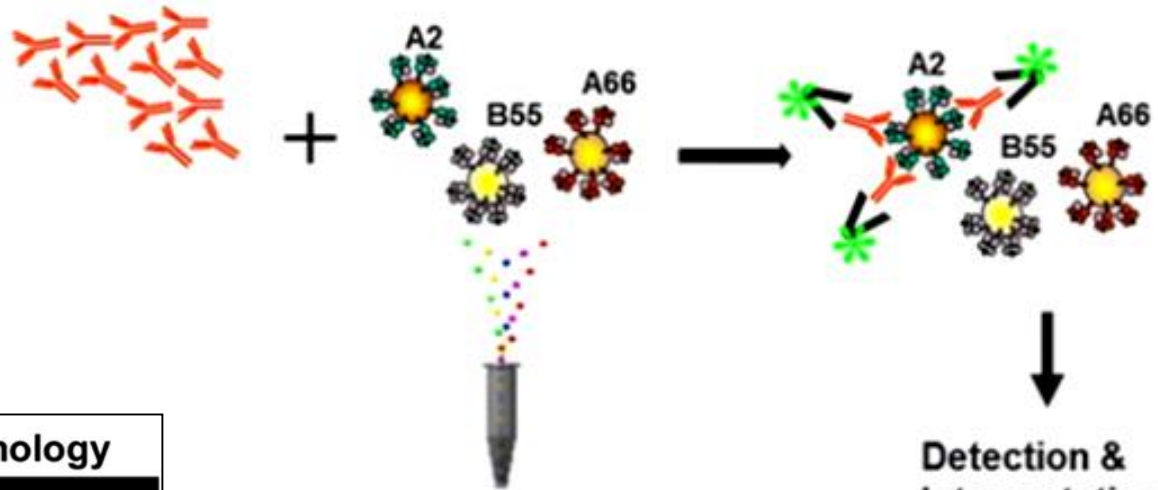
3 tipos de ensayos, analizando y detectando anticuerpos anti-HLA (One Lambda):

1. LABScreen Mixed (LSMix) – Solo Tamizaje
2. LABScreen PRA (LumPRA<sub>1</sub> or LumPRA<sub>2</sub>) – Tamizaje y determinación específica de grupos anticuerpos anti-HLA
3. LABScreen “Single Antigen” (LSA<sub>1</sub> or LSA<sub>2</sub>) – Determinación específica de anticuerpos anti-HLA a nivel de un antígeno.

# “Single antigens” (Luminex®)

patient's serum

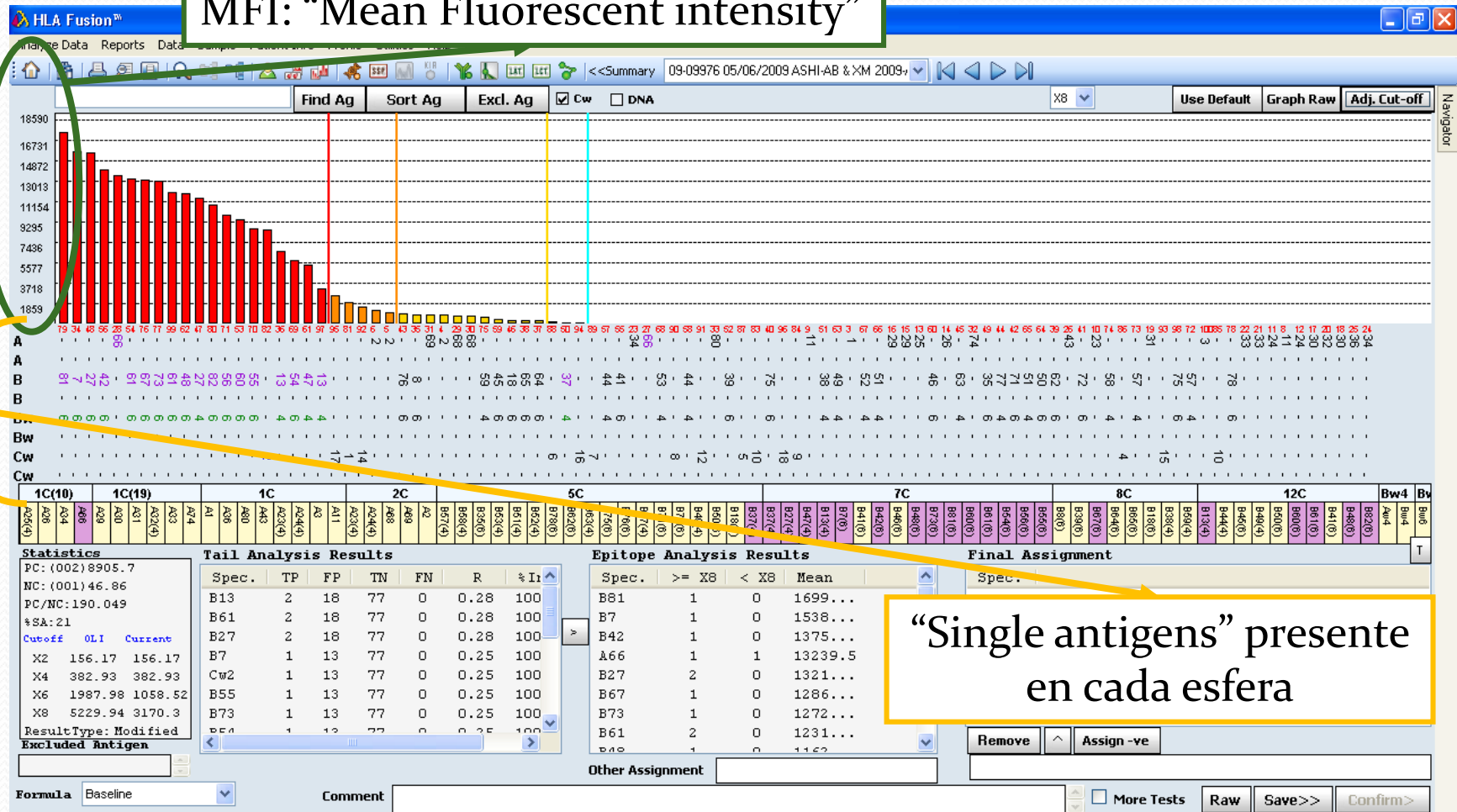
Single Antigen beads





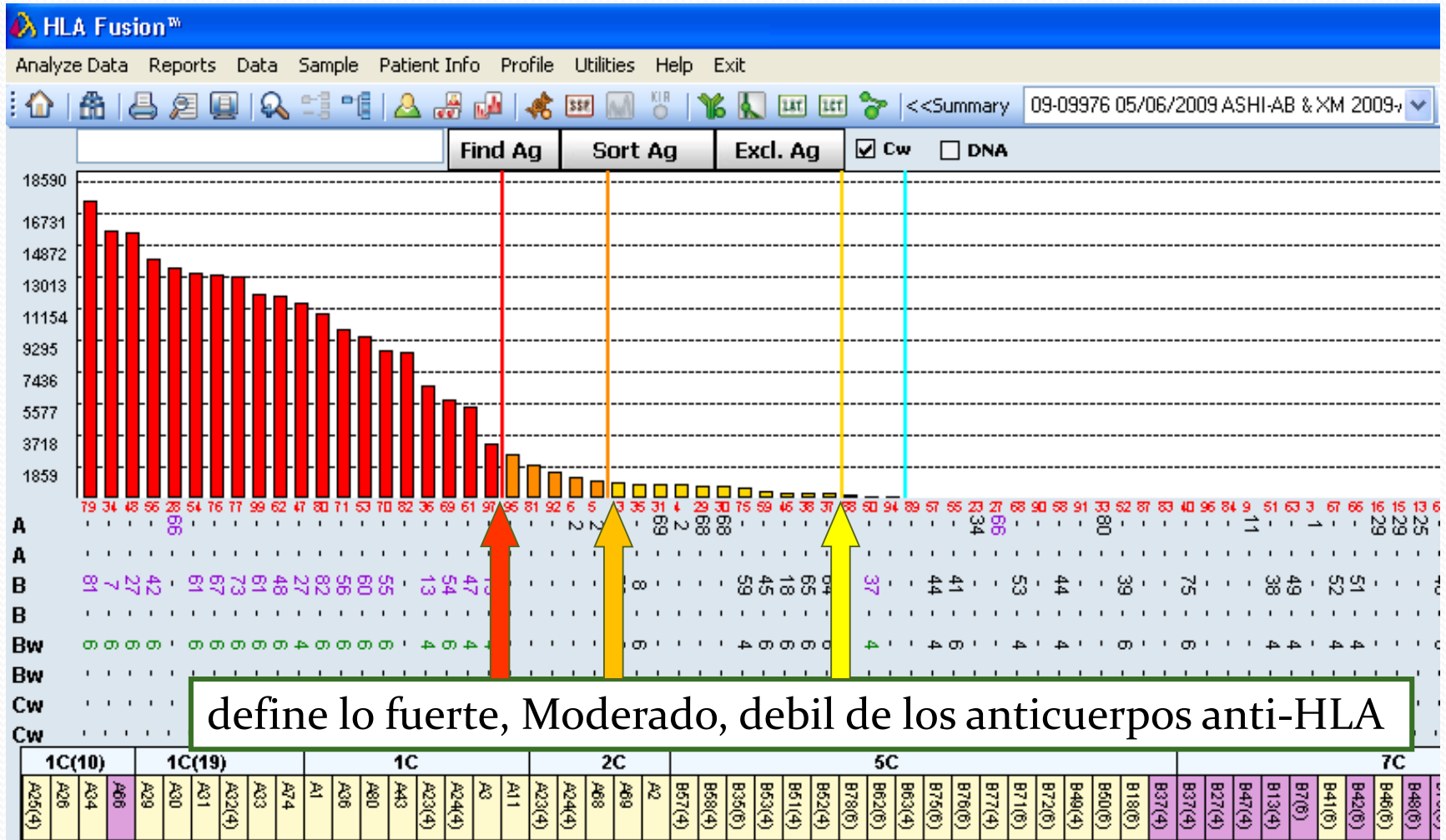
# “Single antigens” datos (Luminex®)

MFI: “Mean Fluorescent intensity”



“Single antigens” presente en cada esfera

# “Single antigens” datos (Luminex®)



# PRA vs cPRA

## PRA

1. Se basa su aproximación, en un panel de antígenos, que varía según casa comercial.
2. Su valor es inconsistente y variado, muchas veces no representa las frecuencias de antígeno en la población de donantes.
3. Es necesario acompañar estos resultados con “crossmatch-CDC”, para trasplante renal.

## PRA calculado “cPRA”

1. Se basa en un cálculo de la frecuencia de la reacción de un conjunto de incompatibilidades inaceptables para un paciente, contra un panel de 14.000 donantes fallecidos .
2. Por lo tanto, el cPRA da una medida de las posibilidades de un paciente de encontrar a un donante compatible en grupo de donantes.
3. Se calcula ingresando los resultados de “Single antigens” obtenidos por fase sólida Luminex, a la “UNET PRA Calculator”

<http://optn.transplant.hrsa.gov/converge/resources/allocationcalculators.asp?index=78>

# PRA Calculado (cPRA)

	Numero	Proporcion
Blancos	9,811	0.687
Afro-Americanos	2,101	0.147
Hispanicos	2,037	0.143
Asiaticos	333	0.023
<b>Total</b>	<b>14,282</b>	<b>1.000</b>

Frecuencia etnica fue basado sobre donantes renales cadavericos, recogidos desde enero, 2007 hasta diciembre del 2008\*

\* Based on OPTN data as of August 19, 2011

# PRA Calculado (cPRA)

2. Para cada etnia por separado:
  - $S_1$  - Suma de cada 1 locus su frecuencia haplotipica (A, B, DR, DQ, C)
  - $S_2$  - Suma de cada 2 locus su frecuencia haplotipica (AB, ADR, ADQ, AC, BDR, BDQ, BC, DRDQ, DRC, DQC)
  - $S_3$  - Suma de cada 3 locus su frecuencia haplotipica (ABDR, ABDQ, ABC, ADRDQ, ADRC, ADQC, BDRDQ, BDRC, BDQC, DRDQC)
  - $S_4$  - Suma de cada 4 locus su frecuencia haplotipica (ABDRDQ, ABDRC, ABDQC, ADRDQC, BDRDQC)
  - $S_5$  - Suma de 5 locus su frecuencia haplotipica (ABDRDQC)
  - cPRA para cada etnia es:

**probabilidad de un positivo crossmatch** =  $1 - \text{probabilidad de un negativo crossmatch} = 1 - (1 - S_1 + S_2 - S_3 + S_4 - S_5)^2$

optn.transplant.hrsa.gov/converge/resources/allocationcalculators.asp?index=78

U.S. Department of Health & Human Services

Home Governance Members Learn Data News Resources

### CPRA CALCULATOR

#### UNACCEPTABLE ANTIGENS

Check the antigens that are unacceptable.

Check all A unacceptable antigens:

1  2  3  9  10  11  19  23  24  25

26  28  29  30  31  32  33  34  36  43

66  68  69  74  80  203  210  2403  6601  6602

Check all B unacceptable antigens:

5  7  8  12  13  14  15  16  17  18

21  22  27  35  37  38  39  40  41  42

44  45  46  47  48  49  50  51  52  53

54  55  56  57  58  59  60  61  62  63

64  65  67  70  71  72  73  75  76  77

78  81  82  703  804  1304  2708  3901  3902  3905

4005  5102  5103  7801  8201

Check BW unacceptable antigen:

4  6  N/A

Check all C unacceptable antigens:

1  2  3  4  5  6  7  8  9  10

12  14  15  16  17  18

Check all DR unacceptable antigens:

1  2  3  4  5  6  7  8  9  10

11  12  13  14  15  16  17  18  103  1403

1404

Check DR51/52/53 unacceptable antigens:

51  52  53

Check all DQ unacceptable antigens:

1  2  3  4  5  6  7  8  9

Reset Calculate

Colocar los resultados de “single antigen” fase solida por luminex®

Antígenos inaceptables

“unacceptable antigens”.

Ejemplo:

A2, A68, A69, B57 y B58

<http://optn.transplant.hrsa.gov/converge/resources/allocationcalculators.asp?index=78>

← → ↻ optn.transplant.hrsa.gov/converge/resources/allocationcalculators.asp?index=78

Aplicaciones Google Hotmail ...: UPCH ... Email UPCH EVD UPCH Varios HLA websites Patologia

U.S. Department of Health & Human Services

Home Governance ▾ Members ▾ Learn ▾ Data ▾ News ▾ Resources ▾

### CPRA CALCULATOR

#### UNACCEPTABLE ANTIGENS

Check the antigens that are unacceptable.

Check all A unacceptable antigens:

1  2  3  9  10  11  19  23  24  25

26  28  29  30  31  32  33  34  36  43

66  68  69  74  80  203  210  2403  6601  6602

Check all B unacceptable antigens:

5  7  8  12  13  14  15  16  17  18

21  22  27  35  37  38  39  40  41  42

44  45  46  47  48  49  50  51  52  53

54  55  56  57  58  59  60  61  62  63

64  65  67  70  71  72  73  75  76  77

78  81  82  703  804  1304  2708  3901  3902  3905

4005  5102  5103  7801  8201

Check BW unacceptable antigen:

4  6  N/A

Check all C unacceptable antigens:

1  2  3  4  5  6  7  8  9  10

12  14  15  16  17  18

Check all DR unacceptable antigens:

1  2  3  4  5  6  7  8  9  10

11  12  13  14  15  16  17  18  103  1403

1404

Check DR51/52/53 unacceptable antigens: <http://optn.transplant.hrsa.gov/converge/resources/allocationcalculators.asp?index=78>

51  52  53

Check all DQ unacceptable antigens:

1  2  3  4  5  6  7  8  9

Reset Calculate

## Ejemplo: A2, A68, A69, B57 y B58

### CPRA CALCULATOR

#### UNACCEPTABLE ANTIGENS

A: 2 68 69

B: 57 58

BW:

C:

DR:

DRW:

DQ:

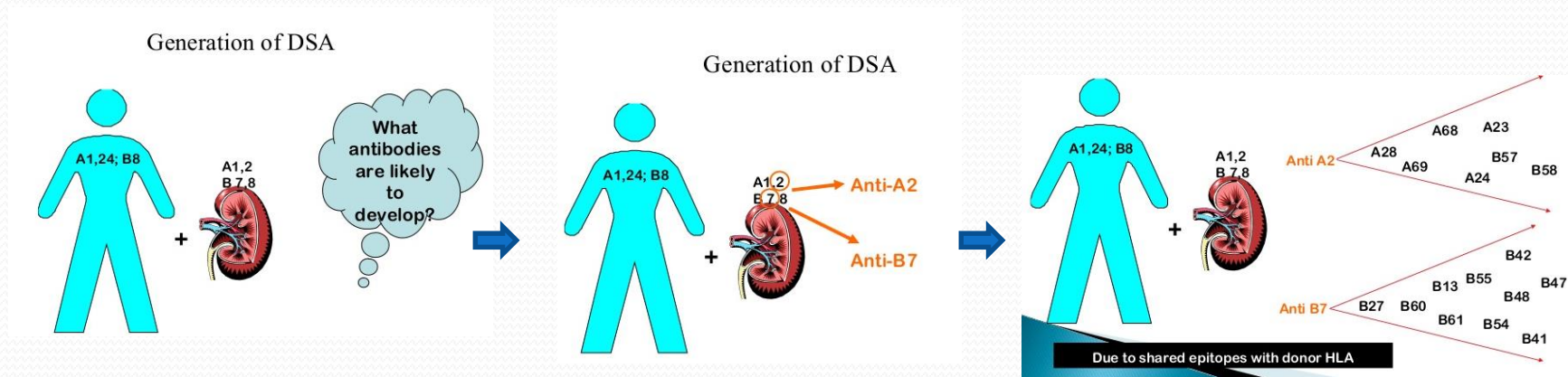
**BACK** → **CPRA VALUE**  
**61**

Paciente tiene posibilidad de crossmatch positivo con 61% de los donantes en la base de datos.

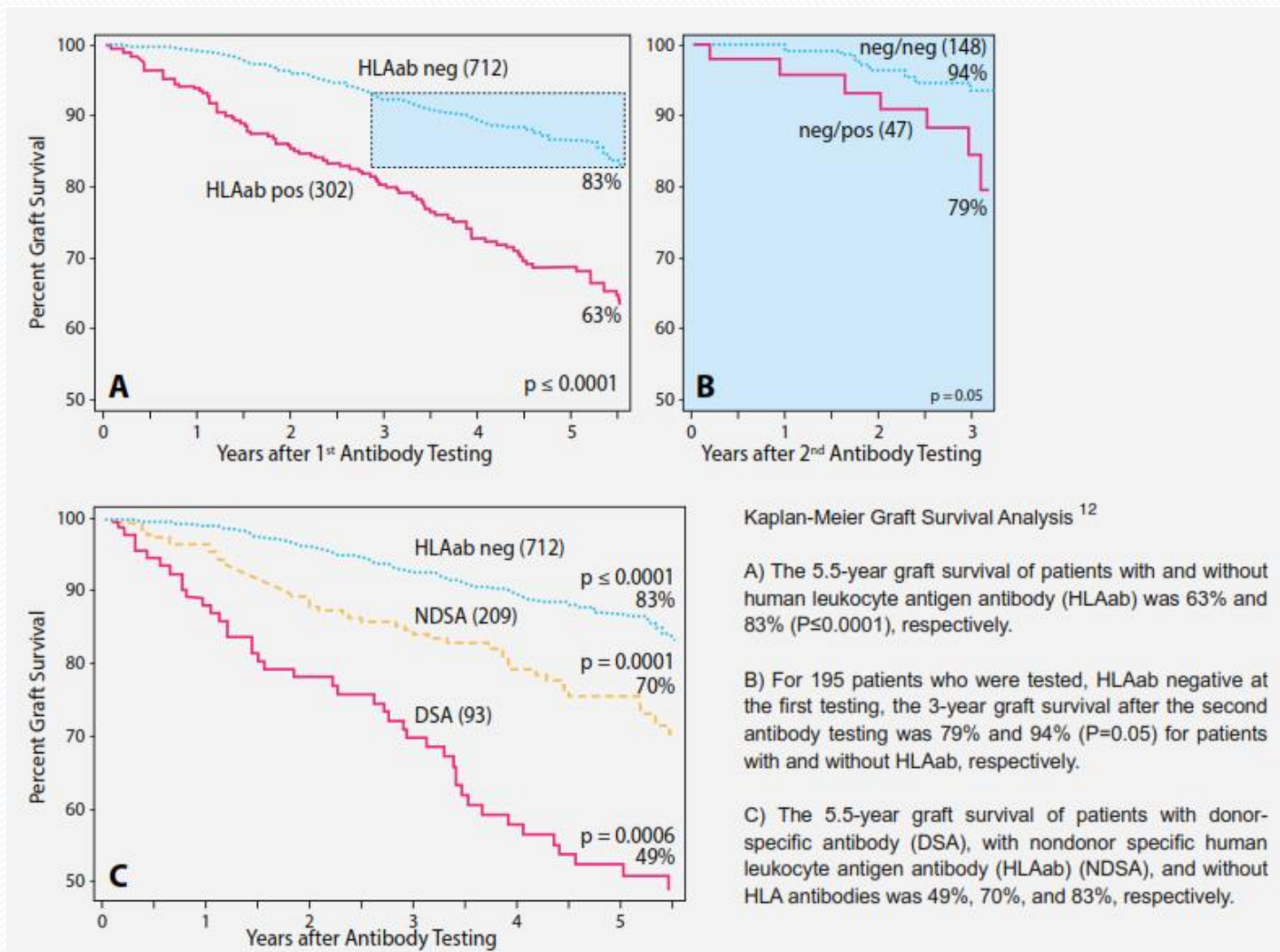


# Anticuerpos HLA donante específico (DSA)

- Ya sea detectado pre-o post- trasplante, la presencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos expresados en los órganos del donante, cuando no se trata ataca al órgano trasplantado, aumentando el riesgo y/o pérdida del injerto.
- La detección (pre-trasplante) y el monitoreo (post-trasplante, se realiza mediante ensayos con la tecnología Luminex® (“Single antigen”))



# Anticuerpos HLA donante específico (DSA)



Kaplan-Meier Graft Survival Analysis<sup>12</sup>

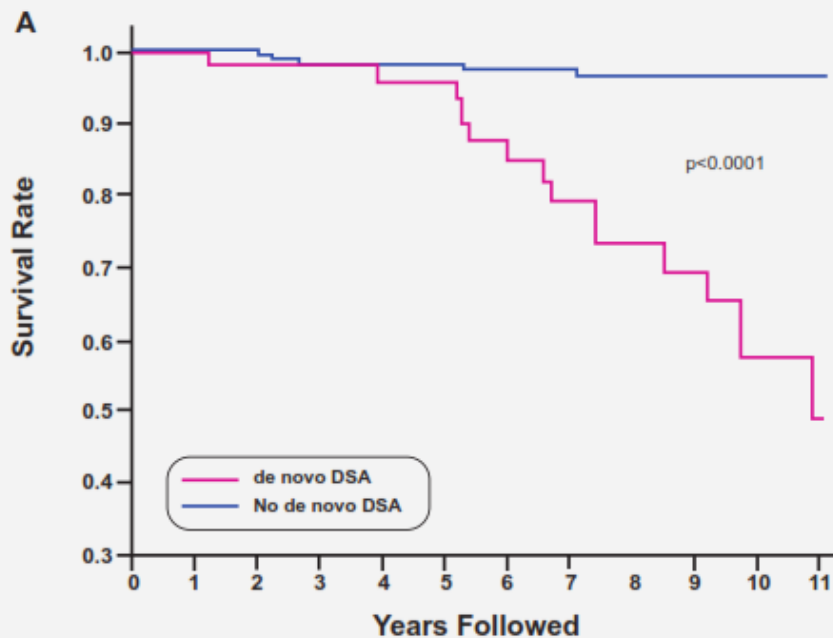
A) The 5.5-year graft survival of patients with and without human leukocyte antigen antibody (HLAab) was 63% and 83% ( $P \leq 0.0001$ ), respectively.

B) For 195 patients who were tested, HLAab negative at the first testing, the 3-year graft survival after the second antibody testing was 79% and 94% ( $P = 0.05$ ) for patients with and without HLAab, respectively.

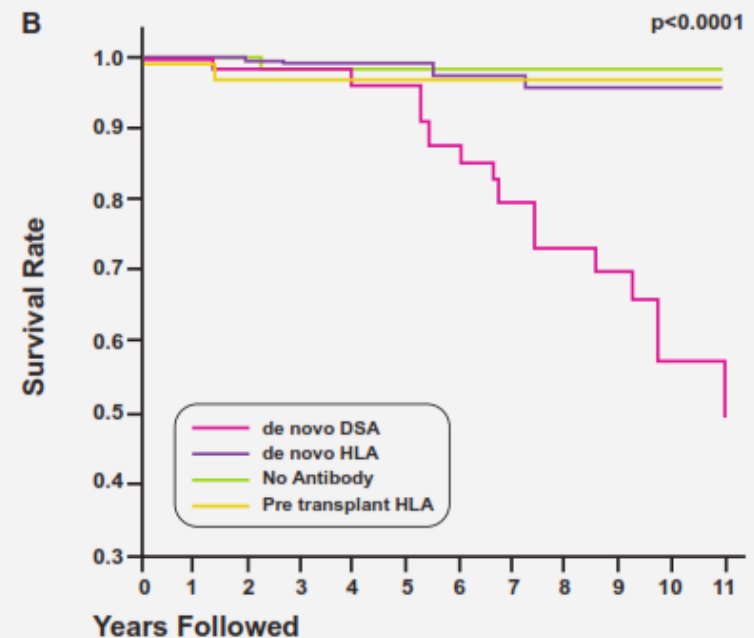
C) The 5.5-year graft survival of patients with donor-specific antibody (DSA), with nondonor specific human leukocyte antigen antibody (HLAab) (NDSA), and without HLA antibodies was 49%, 70%, and 83%, respectively.

# Efecto de Anticuerpos donante específico (DSA), en la sobrevida del injerto renal

## Effect of DSA on Renal Allograft Survival<sup>10</sup>



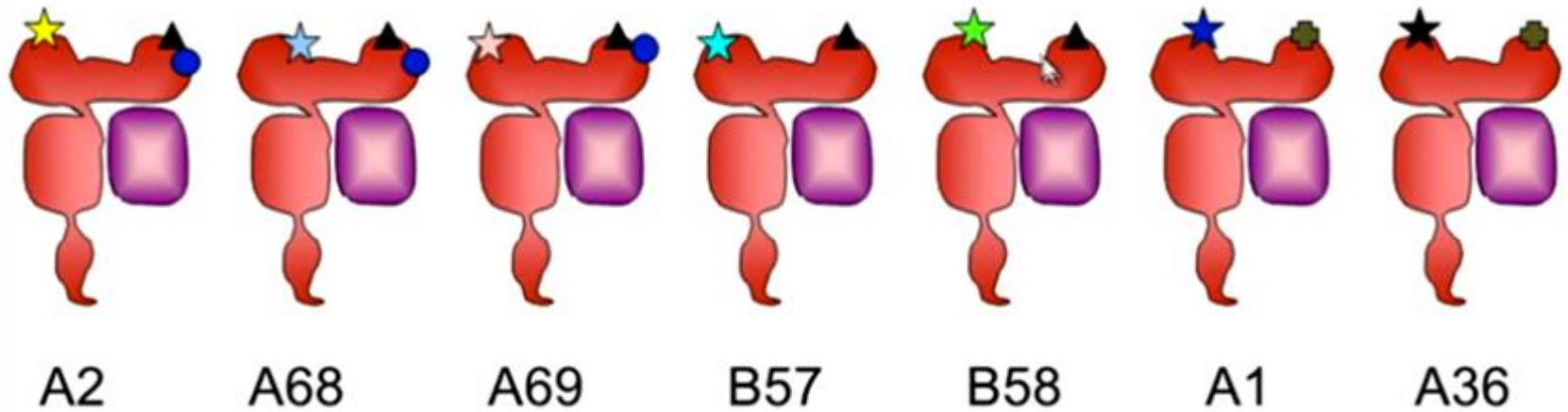
(A) The graft survival of patients with *de novo* donor-specific antibodies (dnDSA) versus those without.



(B) The graft survival of pre-transplant human leukocyte antigen (HLA) antibodies, post-transplant *de novo* HLA antibodies, or no antibodies compared to patients with dnDSA.



- One HLA has multiple antibody targets
- One antibody can bind to multiple HLA molecules



Public Epitopes



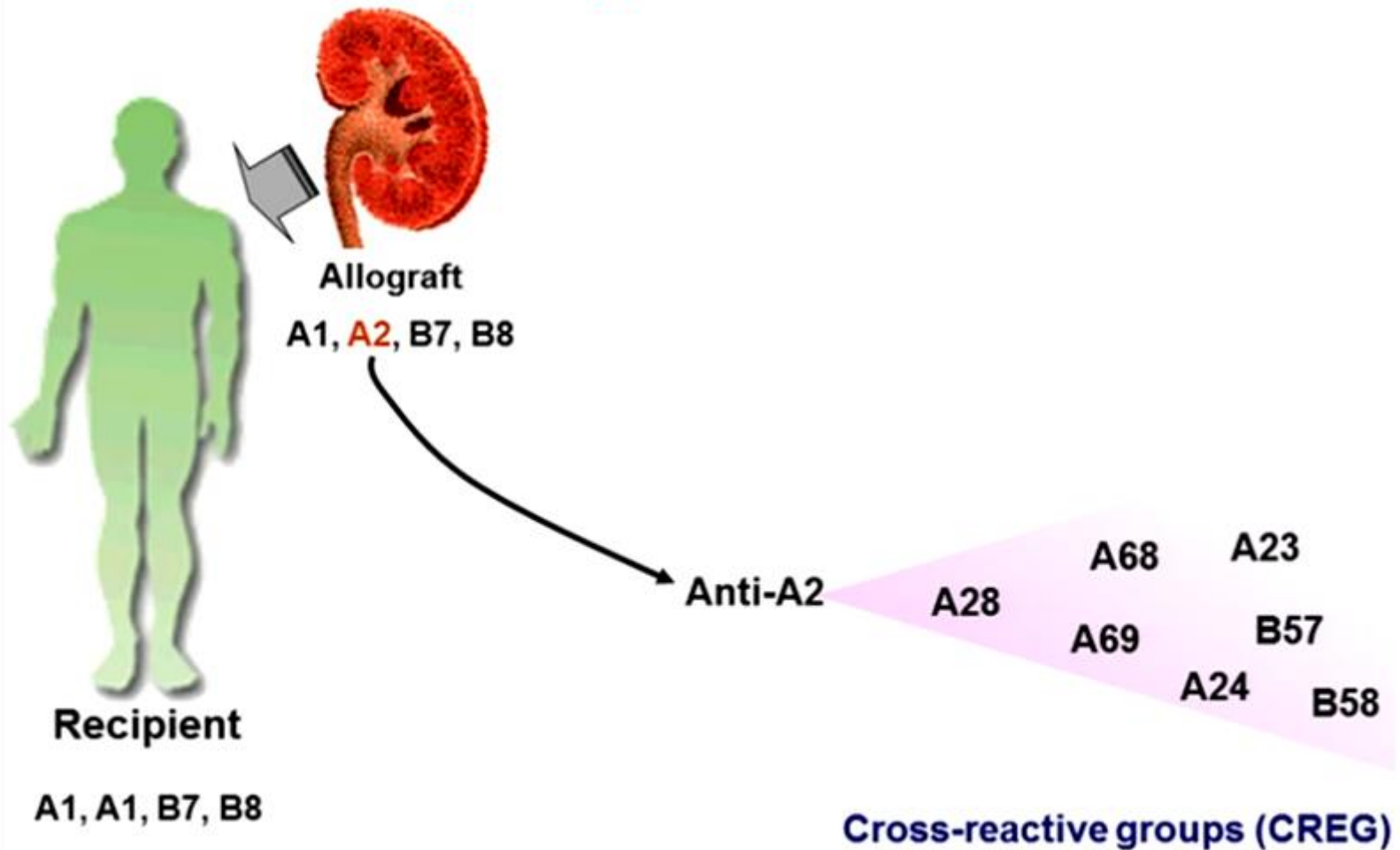
Private Epitopes





**No antibodies to self-HLA are made (autoantibodies).**

**Individuals alloimmunized by a specific HLA type can make antibodies to many HLA types.**





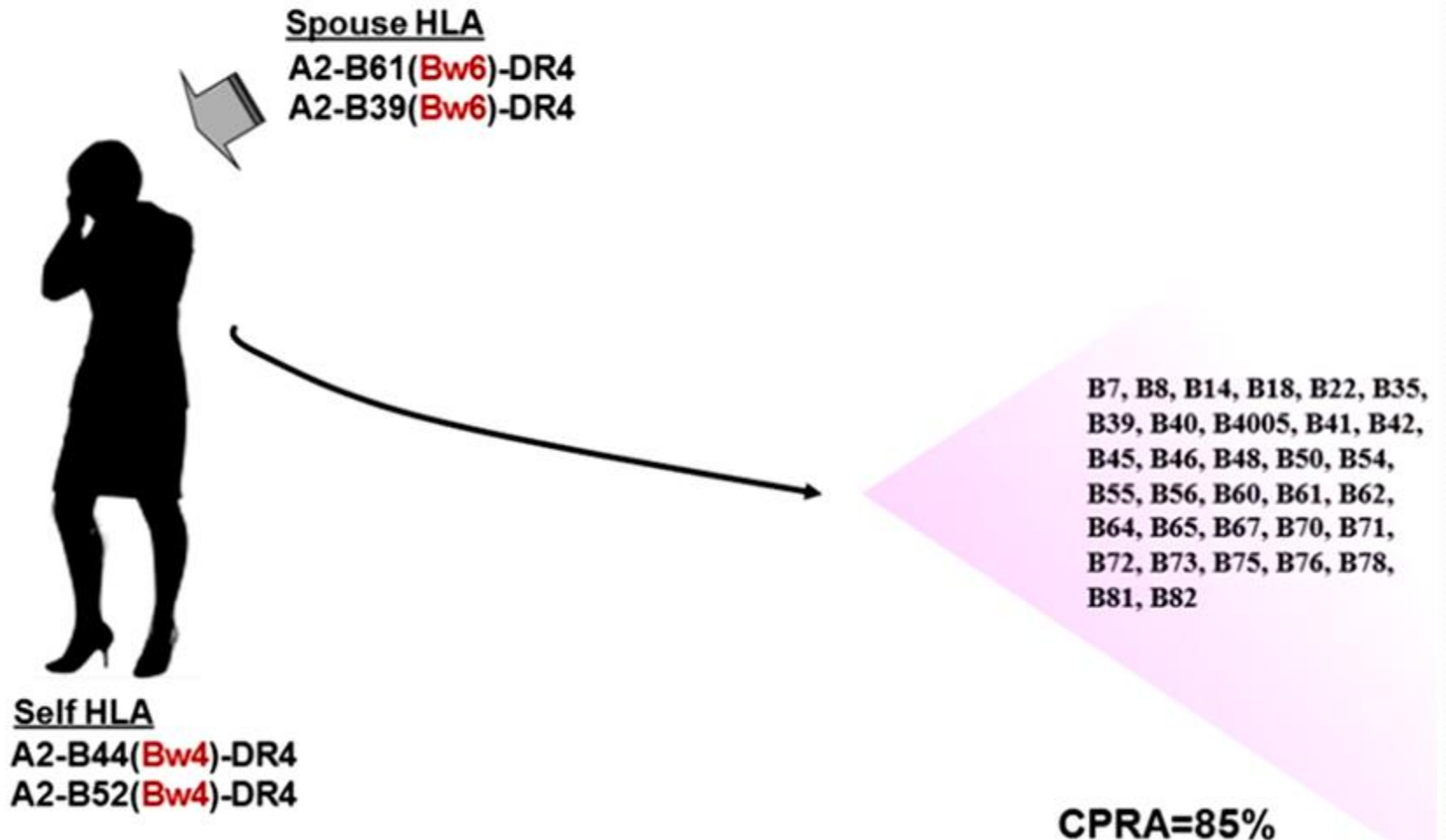
## Cross-reactive groups (CREG)

---

Group	HLA Class I Specificities
1C	A1, A3, A11, A29, A30, A31, A36, A80
2C	A2, A23, A24, A68, A69, B57, B58
4C	A23, A24, A25, A32, B <sub>w</sub> 4
5C	B18, B35, B46, B49, B50, B51, B52, B53, B62, B63, B71, B72, B73, B75, B76, B77, B78
6C	B <sub>w</sub> 6
7C	B7, B8, B13, B27, B41, B42, B47, B48, B54, B55, B56, B59, B60, B61, B67, B81, B82
8C	B8, B18, B38, B39, B59, B64, B65, B67
10C	A25, A26, A32, A33, A34, A43, A66, A74
12C	B13, B37, B41, B44, B45, B47, B49, B50, B60, B61

---

**Women alloimmunized by HLA-Bw6 motif can make antibodies to 2/3 of HLA-B types.**



# Bw4 & Bw6 Antibodies

A	B	Cw	DR	DR	DQ
11	46	1	8		6
24	46	1	14	52	5



# Prueba cruzada virtual “Virtual crossmatch”

- Se usa para determinar la presencia o ausencia de anticuerpos HLA donante-específicos (DSA) en un paciente comparando el perfil de especificidad de los anticuerpos HLA del paciente con el tipo HLA del donante propuesto sin tener que realizar una prueba cruzada clásica tal como una prueba cruzada por citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) o *citometría* de flujo.

# Prueba cruzada virtual “Virtual crossmatch”

- Esta prueba está indicada en pacientes candidatos a trasplante, en mujeres con embarazos previos y en caso de resultados positivos en el cribado por fase sólida pero negativos por CDC.
- Esta técnica permite conocer con precisión y con alta sensibilidad si un receptor posee anticuerpos IgG contra cada uno de los antígenos del sistema HLA.
- Se pueden identificar anticuerpos contra moléculas HLA de clase I (A, B, C) y contra moléculas HLA de clase II (DR, DP y DQ). Los reactivos tienen un coste elevado.

# “Virtual crossmatch”- Infaltables

- **Evaluación del donante**

- Requiere una completa y exacta tipificación molecular HLA.
  - HLA-A, -B, -C (Clase I)
  - HLA-DRB<sub>1</sub>, -DRB<sub>3</sub>, -DRB<sub>4</sub>, -DRB<sub>5</sub>, -DQB<sub>1</sub>, -DQA<sub>1</sub>, -DPB<sub>1</sub>, -DPA<sub>1</sub> (Clase II)

- **Evaluación del Receptor**

- Tipificación molecular HLA, Clase I y II
- Evaluación de todos los anticuerpos anti-HLA y su fuerza mediante “single antigen beads” por Luminex®.
- (MFI – *mean fluorescence intensity*) proporciona una medida de la fuerza del anticuerpo.

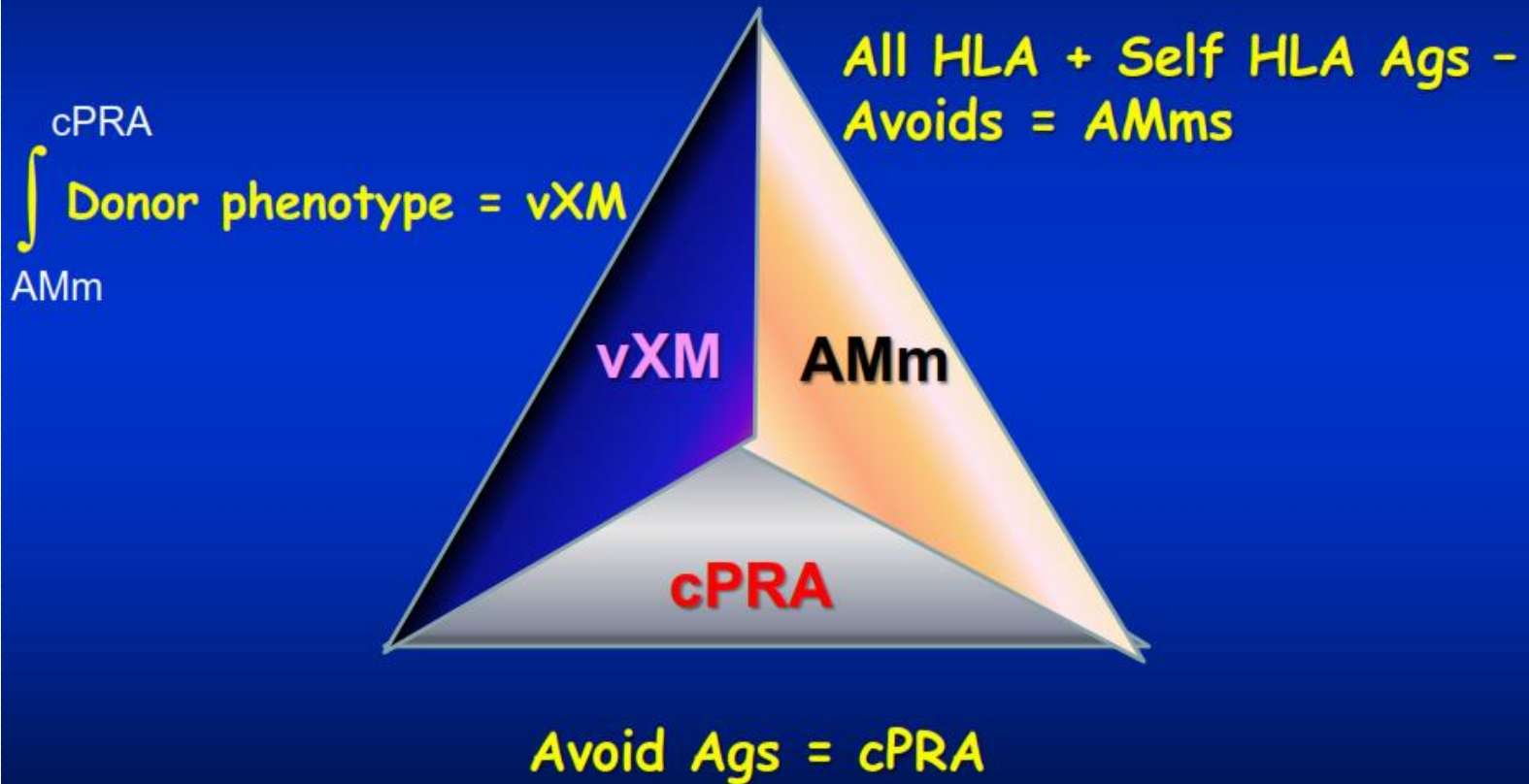


# “Virtual crossmatch”- Criterios

## Que criterios deberían ser considerados para hacer un “virtual crossmatch”?

- Considerar un “virtual crossmatch” cuando se tenga suficientes datos: tipificación HLA donante-receptor, determinación de “single antigen” del paciente (receptor), así como anticuerpos donante específico “Donor Specific Antibodies” (DSA).
- Pacientes (receptor) deben ser evaluados para anticuerpos anti-HLA contra (A,B,C,DRB<sub>1</sub>, DRB 3,4,5, DQB<sub>1</sub>, DQA<sub>1</sub>, DPB<sub>1</sub>, DPA<sub>1</sub>).
- Deben ser evaluados como recientes (<30 días), sin embargo una muestra debe ser obtenido el día del trasplante.
- Debe estar registrado todos los eventos potenciales de sensibilización en el paciente (receptor).

# Relationship between vXM, cPRA and AMm



# “Virtual crossmatch”- Dudas

- ¿Es posible que la detección de anticuerpos anti-HLA en el receptor , y tipificación molecular HLA en el donante y “virtual crossmatch” pueden hacerse en lugares distintos? SI
  - Tecnología y POEs acreditados y certificados.
  - Resultados confiables y totales para quien realiza el “Virtual crossmatch”
  - Quien realiza el “Virtual Crossmatch”, debe se un profesional calificado y debidamente entrenado para discusión final con los clínicos.
- ¿Se puede hacer una prueba cruzada virtual, si el suero del receptor tiene una antigüedad mayor a 30 días? NO
  - No es preciso
  - Posibilidad de eventos pro-inflamatorios y transfusiones que pueden aumentar la sensibilidad del paciente durante ese tiempo,

# “Virtual crossmatch”- Ventajas

- a) Añade precisión al actual crossmatch.
- b) Elimina el crossmatch físico, sin embargo puede ser utilizado como complementado con “Virtual crossmatch”.
  - No requiere de mas muestras.
  - Reduce la carga de trabajo en el Laboratorio.
  - Reduce costos.
- c) Mejora la eficiencia de selección del receptor adecuado.
- d) Aumento de la sensibilidad y especificidad, conduciendo a un mejor emparejado donante / receptor.
- e) Reduce el tiempo de isquemia fría.
- f) Permite el acceso de pacientes sensibilizados (pacientes trasplantados).
- g) Permite el acceso al programa de trasplante a pacientes inmunológicamente y geográficamente desfavorecidos.
- h) Mejora la evaluación del riesgo de rechazo del injerto.

# “Virtual crossmatch”- Desventajas

## **Pacientes**

- a) Existe la posibilidad de negar el uso de un órgano de un donante que podrían ser trasplantado con éxito.
- b) No garantiza la compatibilidad al 100%

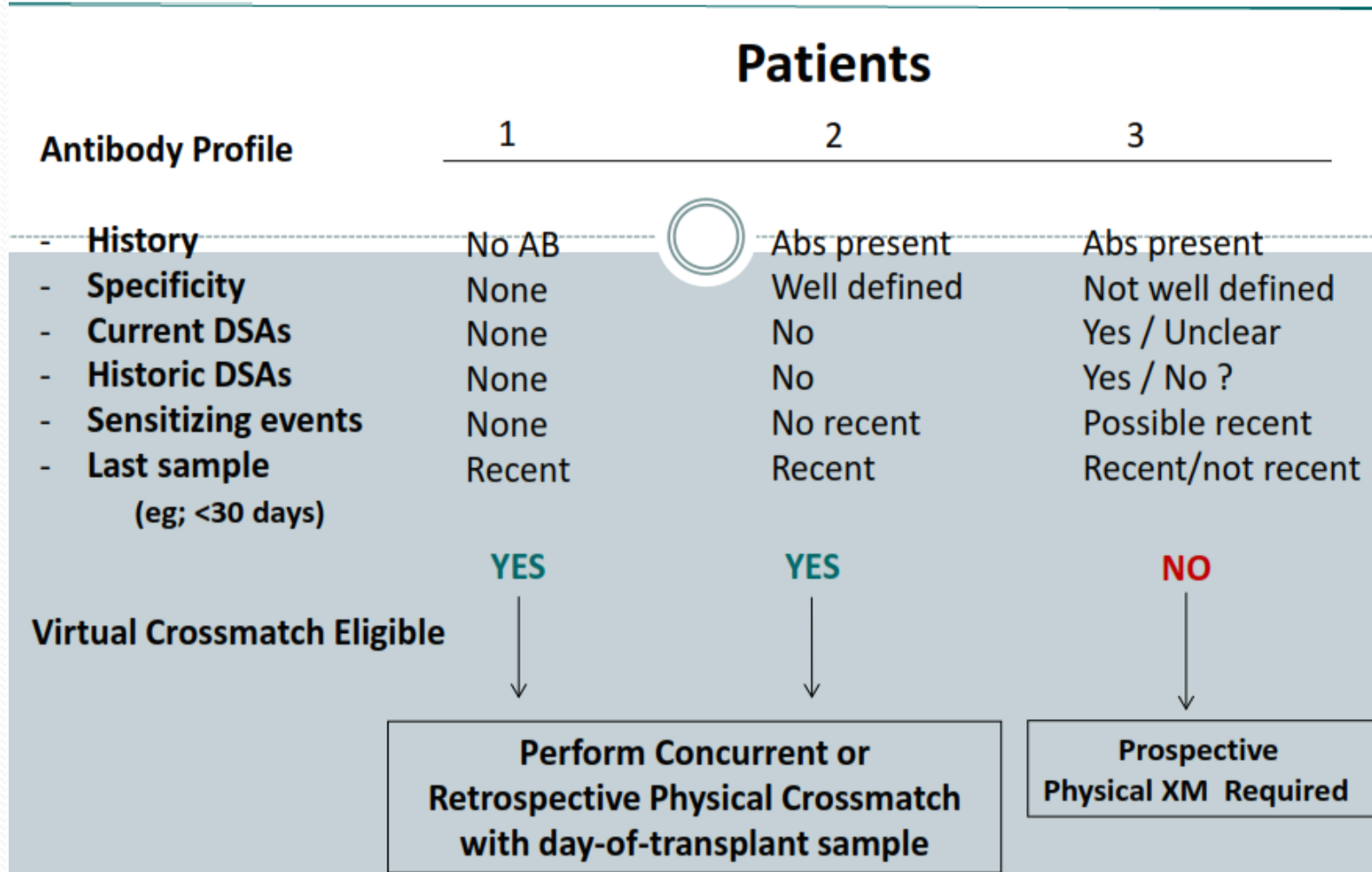
## **Laboratorios**

- a) Reducción de personal debido a la disminución de “crossmatch” físico cuando se hacen con menos frecuencia.
- b) Aumento del tiempo de interpretación no reembolsable.
- c) requiere más coordinación con programa de trasplante

## **Programas de trasplante**

- a) El personal del programa de trasplante tienen que aprender un nuevo vocabulario interpretativo.
- b) Tiempo y trabajo adicional para asegurar que los pacientes entienden sus riesgos.

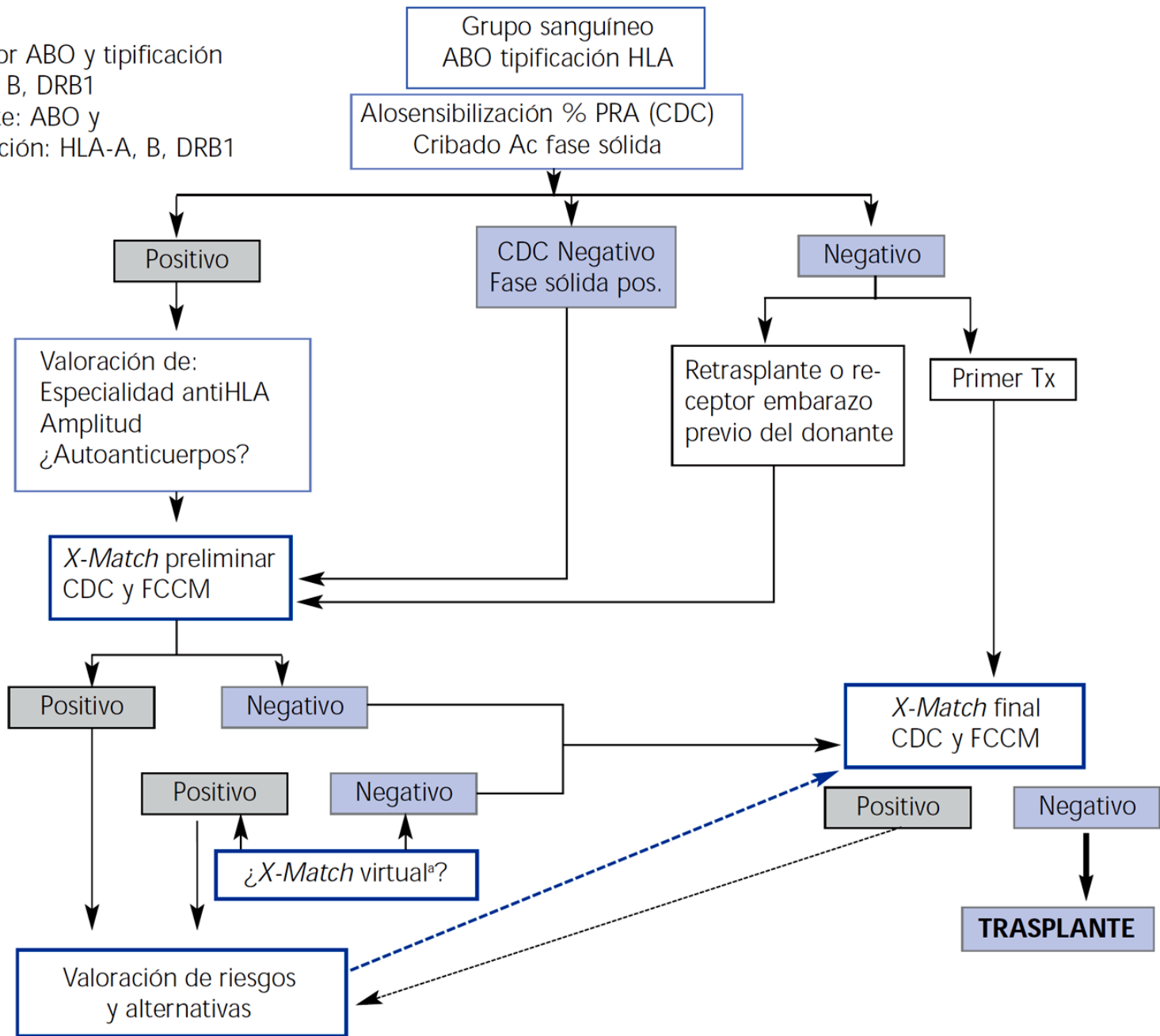
# Decision Algorithms – Selected Examples



Adapted from S. Leffell



Receptor ABO y tipificación  
HLA-A, B, DRB1  
Donante: ABO y  
Tipificación: HLA-A, B, DRB1



<sup>a</sup> Receptor: si anticuerpos contra HLA: C, DQB1, DPB1  
Del donante: Tipaje HLA-C, DQB1, DPB1

# Algorithms for the determination of unacceptable HLA antigen mismatches in kidney transplant recipients

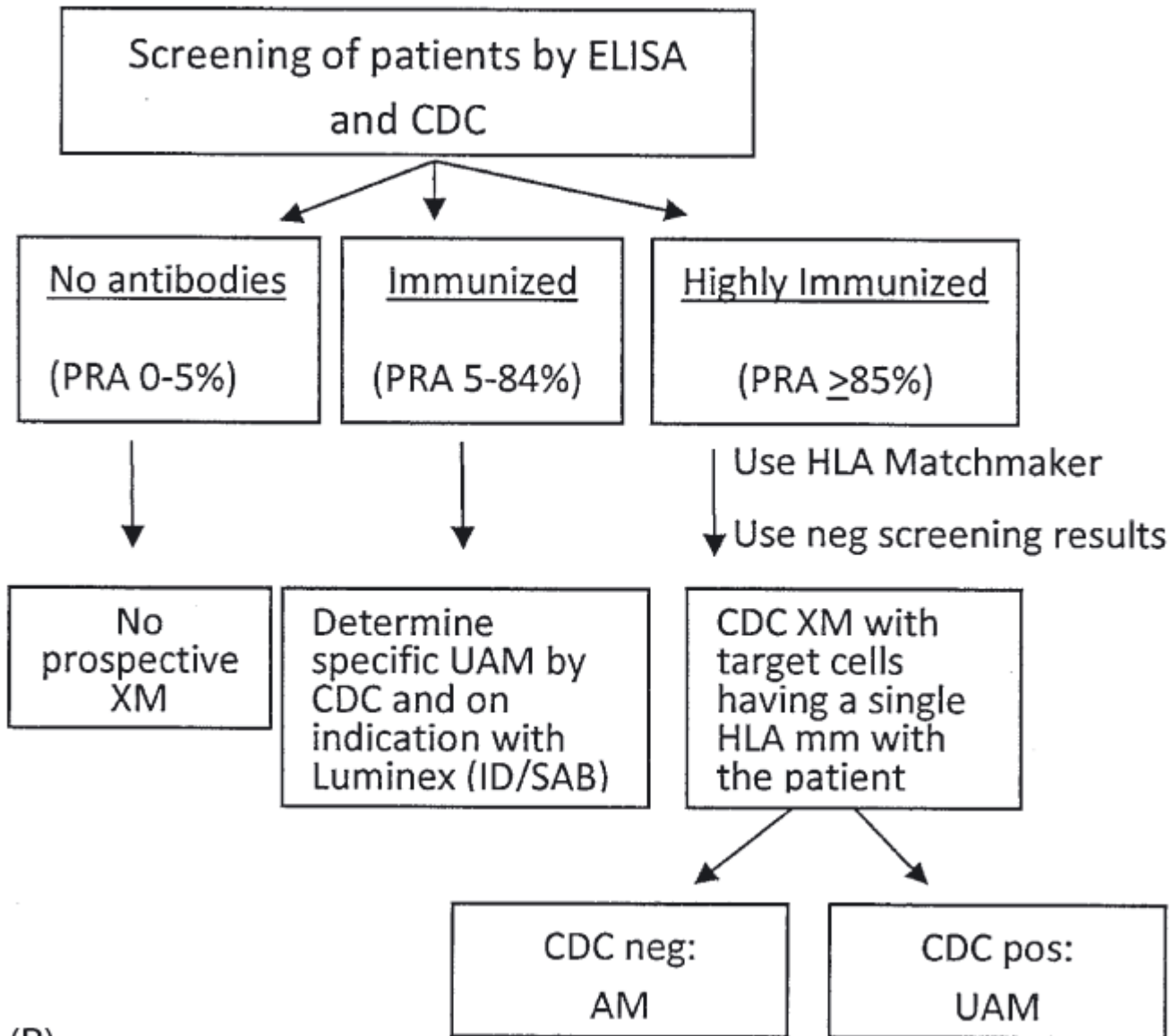
C. Süsal<sup>1</sup>, D. L. Roelen<sup>2</sup>, G. Fischer<sup>3</sup>, E. F. Campos<sup>4</sup>, M. Gerbase-DeLima<sup>4</sup>, G. Hönger<sup>5</sup>, S. Schaub<sup>5</sup>, N. Lachmann<sup>6</sup>, J. Martorell<sup>7</sup> & F. Claas<sup>2</sup>

**Table 1** Different algorithms for the determination of unacceptable HLA antigen mismatches in kidney transplantation

Center	Allocation organization	Number of patients active on the waiting list	Number of Tx per year	Algorithm since	XM methods	Methods for assignment of UAM	RMM = UAM (Yes/No)	Special measures based on pretransplant risk assessment	Omission of prospective XM	References to algorithm
Leiden	ET	250	DD: 180 LD: 200	1996	CDC (FC for LD)	CDC is leading. In SPI no link with cutoffs. Only if epitope is shared with UAM in CDC	Not per definition, only in case of specific antibodies. For class II also if graft was rejected within the first year	No	Yes if no HLA antibodies in CDC and ELISA	De Meester (2)
Vienna	ET	350	DD: 145 LD: 23	2007	CDC (FC for LD)	CDC is basis, SPI if plausible (immunization by previous Tx; >1000 MFI)	Not per definition, only in case of antibodies in SAB	Yes	No but planned	Böhmgig (8)
São Paulo	Brazilian transplant system/São Paulo transplant system	4400	LD: 292 DD: 618	2009	CDC-AHG-T, CDC-B, T/B FC with pronase	SAB with >1500 MFI is contraindication for Tx	No	Yes	No	Holanda-Cavalcanti (14)
Basel	Swiss transplant	200	DD: 30 LD: 30	2004	Virtual and CDC	SAB with >500 MFI is regarded as risk for transplantation	No	Yes	Yes if SAB <500 MFI	Bächler (17), Amico (18)
Berlin	ET	1600	DD: 142 LD: 100	2007	Virtual and CDC using T, B, and unseparated lymphocytes	CDC, SAB (>1000 MFI), HLA matchmaker	Yes	Yes	No	Huber (25)
Barcelona	OCATT	1000	DD: 410 LD: 149	2010	CDC for DD CDC + FC for LD	CDC or SAB with >3000 MFI, MFI > (5 × Lowest MFI)	No if CDC neg	Yes	No	Amico (9), Lefaucheur (21)

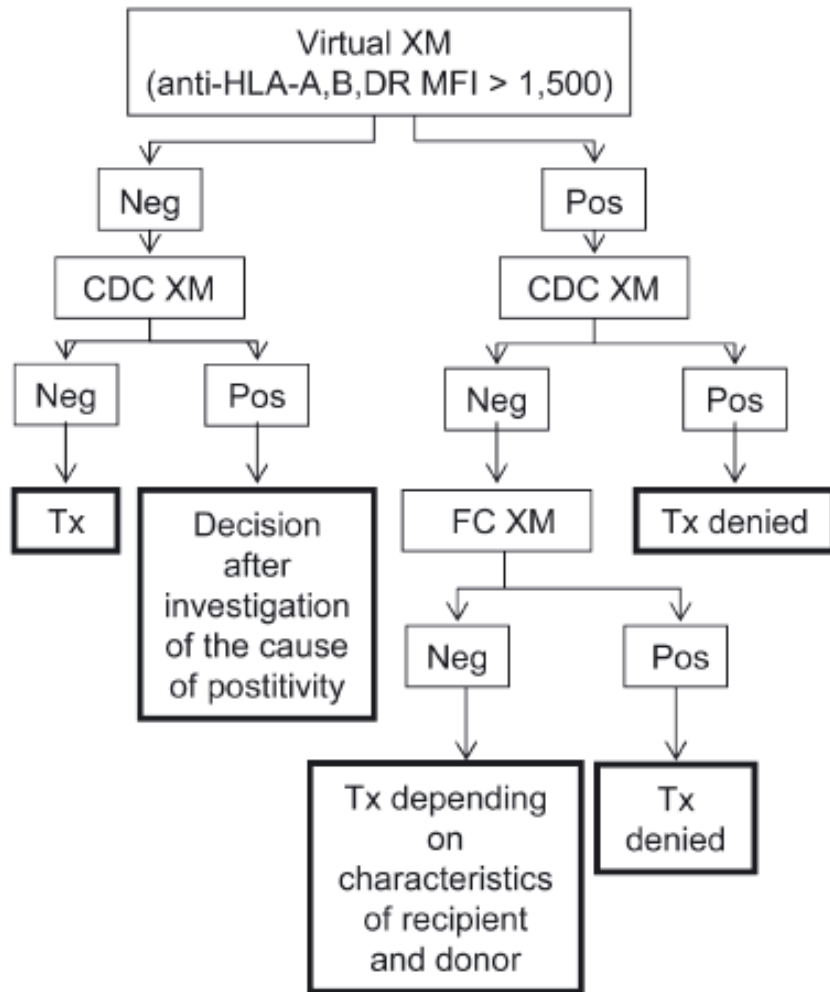
CDC, complement-dependent cytotoxicity; DD, deceased donor; ET, Eurotransplant; FC, flow cytometry; HLA, human leukocyte antigen; LD, living donor; MFI, mean fluorescence intensity; OCATT, Catalan Transplant Organization; RMM, repeated mismatches; Tx, transplant; UAM, unacceptable mismatches; XM, crossmatch

(A)

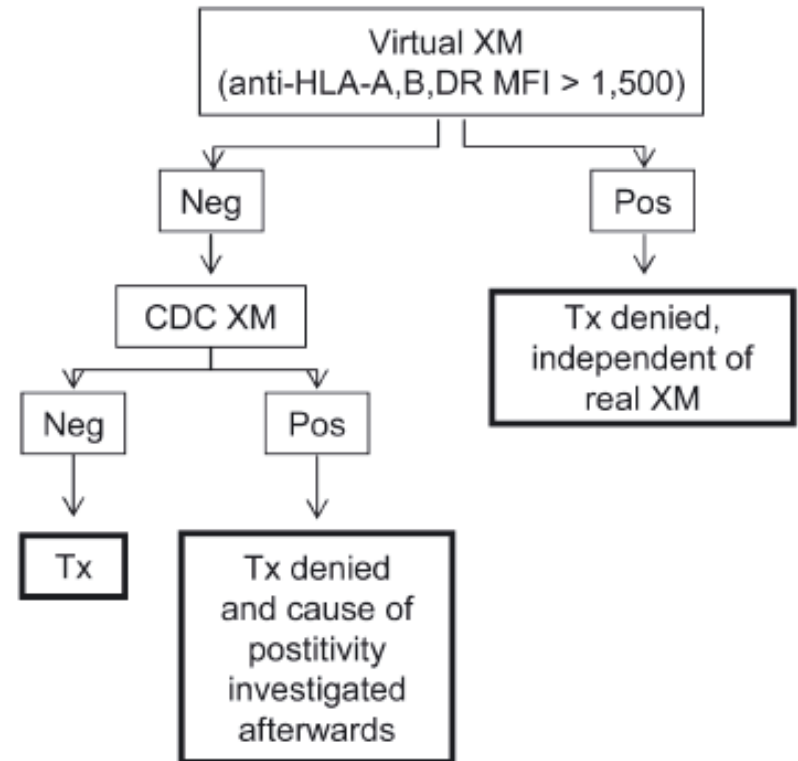


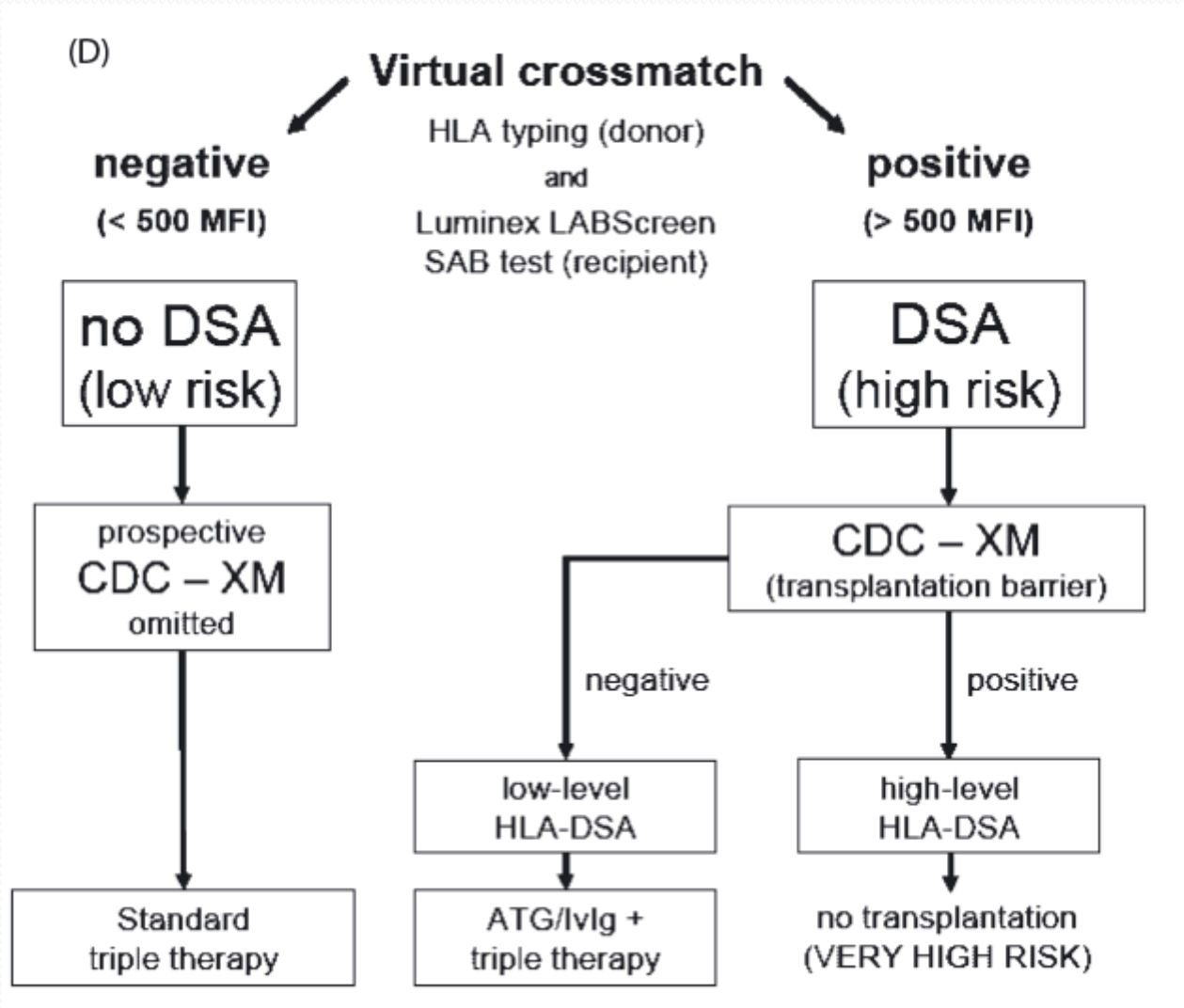
(B)

### Tx with Living Donors

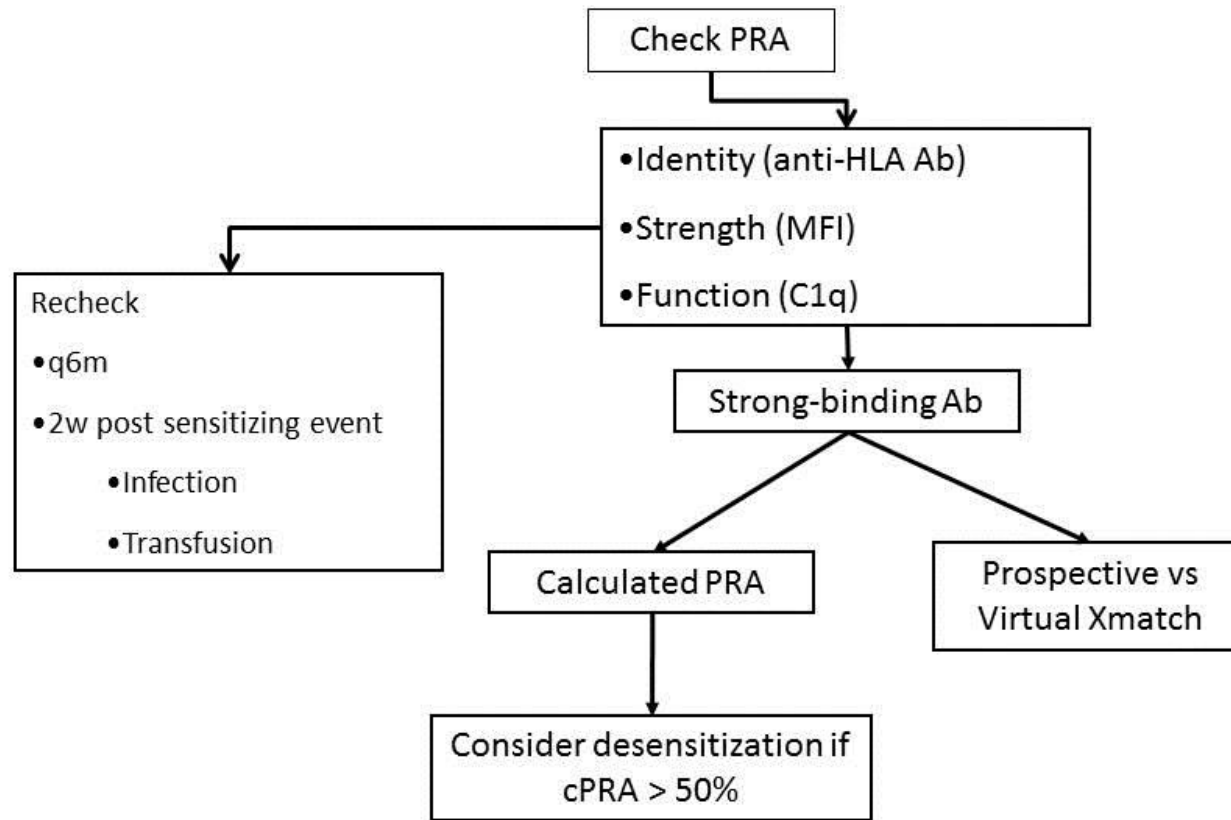


### Tx with Deceased Donors





# Pre-transplant Protocol: Management of Sensitized Patients



Reproduced with permission from Kittleson MM, Kobashigawa A. *Curr Opin Organ Transplant* 2012;17:551-7.



# Evolving Clinical Paradigm (2014 →)

Low  
Risk

High  
Risk

T and B cell

Surgical  
Threshold

T and B cell

CDC-XM & solid-phase -ve &  
or  
Flow-XM &  
solid-phase -ve  
or  
Solid-phase -ve  
reliable history  
VXM -

CDC-XM +ve & Solid Phase +ve  
or  
Flow-XM +  
&/or  
Level of Solid Phase +ve  
VXM +

Patient

←  
**Transplant**

→  
**Contraindicated**

# Acción de los inmunosupresores

