

Corso di formazione continua di labmed

22 gennaio 2019

Ruolo della tipizzazione HLA nel trapianto renale

Geraldina Lüders, TAB dipl. SSS; Laboratorio di tipizzazione HLA Ospedale Universitario Zurigo USZ



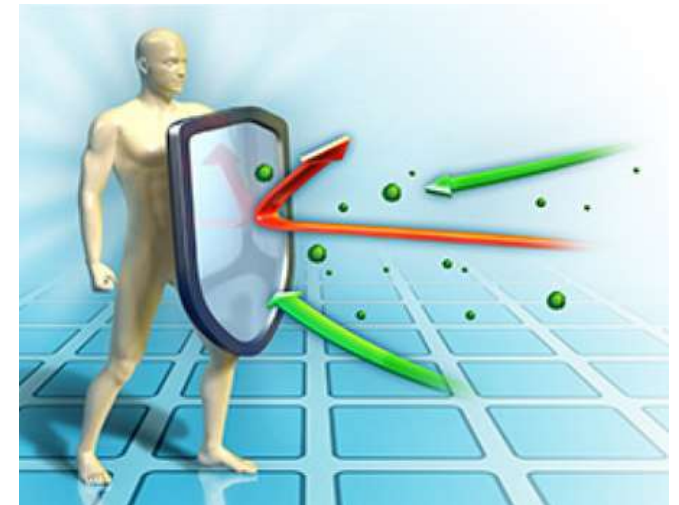
UniversitätsSpital
Zürich

Il sistema HLA

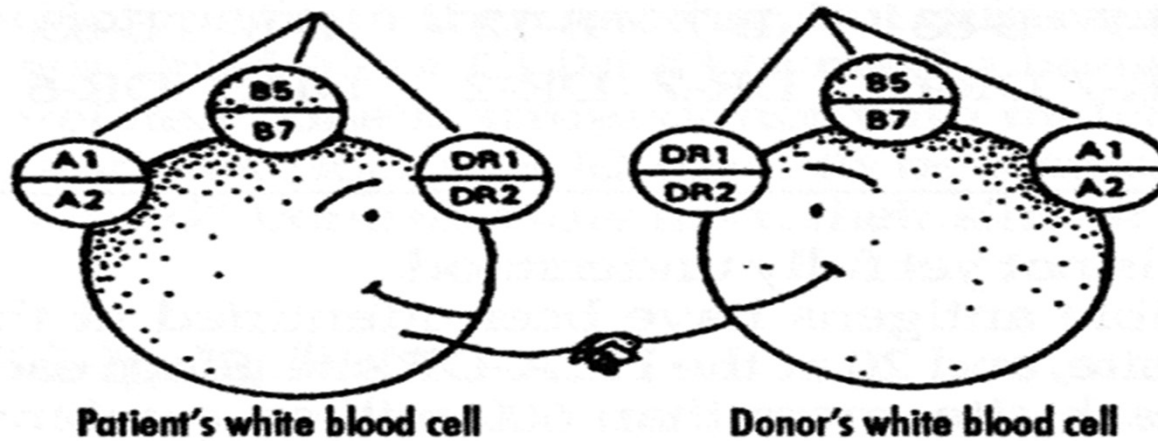
HLA = **H**uman **L**eukocyte **A**ntigens → antigeni leucocitari umani

Il sistema HLA ci difende dai corpi invasivi estranei

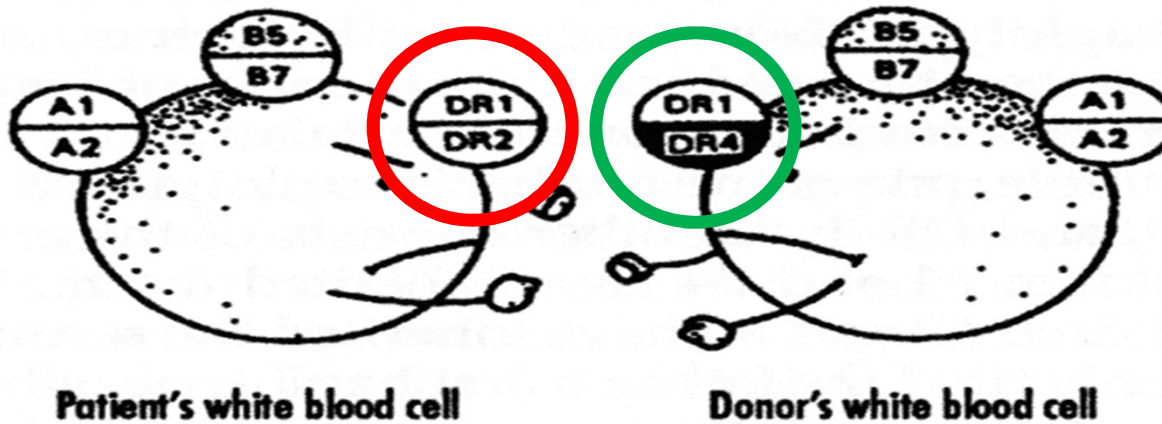
- Riconosce cosa è proprio e cosa è estraneo
- Distrugge i corpi estranei
- Memoria immunologica nel nostro corpo
- Responsabile se un trapianto viene accettato o rigettato



II sistema HLA



Perfect 6 antigen match; cells react only slightly against each other.



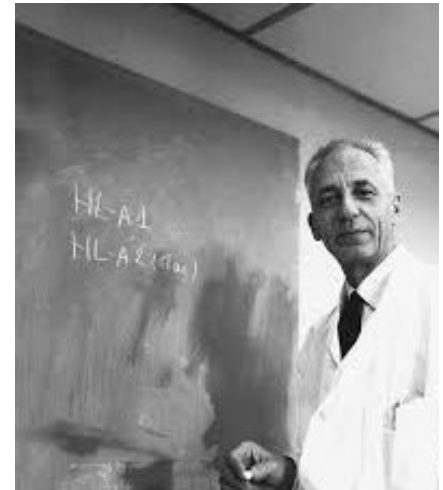
With a mismatch at one or more loci (in this case, DR), cells will react vigorously against each other.

Cenni storici del HLA

1958 – Scoperta del primo antigene HLA detto HLA-A2

1965 – Descrizione di tutto il sistema HLA

1980 – Premio Nobel



Prof. Jean Dausset

Il sistema HLA

Il sistema HLA comprende due grandi settori:

Antigeni HLA →

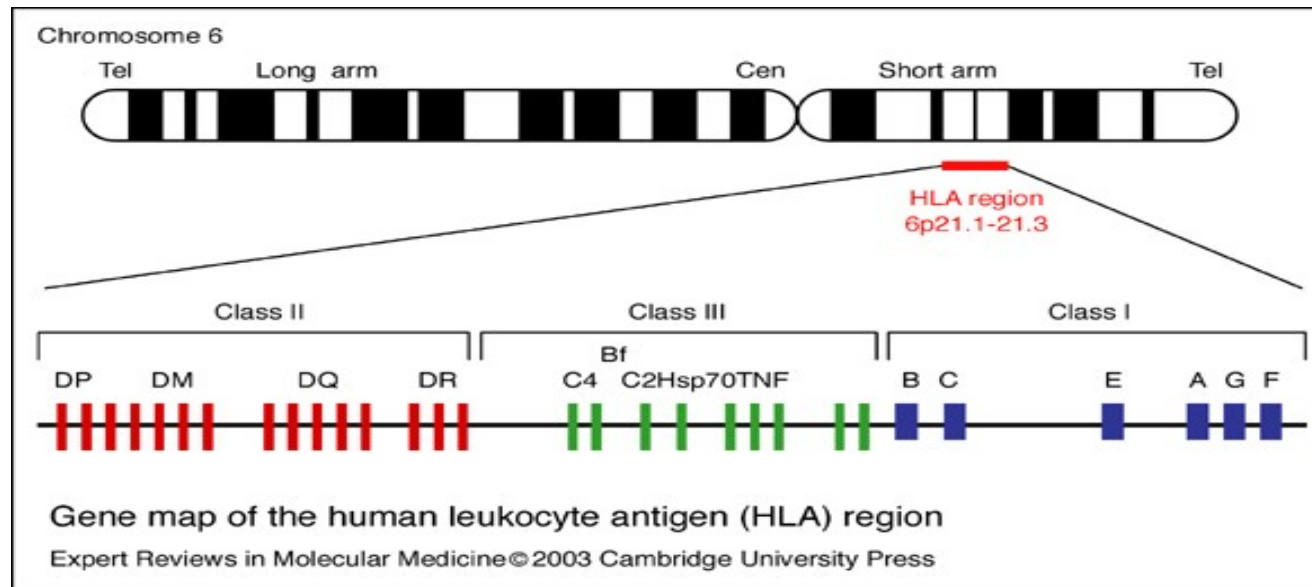
ereditati

Anticorpi HLA →

acquisiti

Gli antigen HLA:

Cromosoma Nr.6



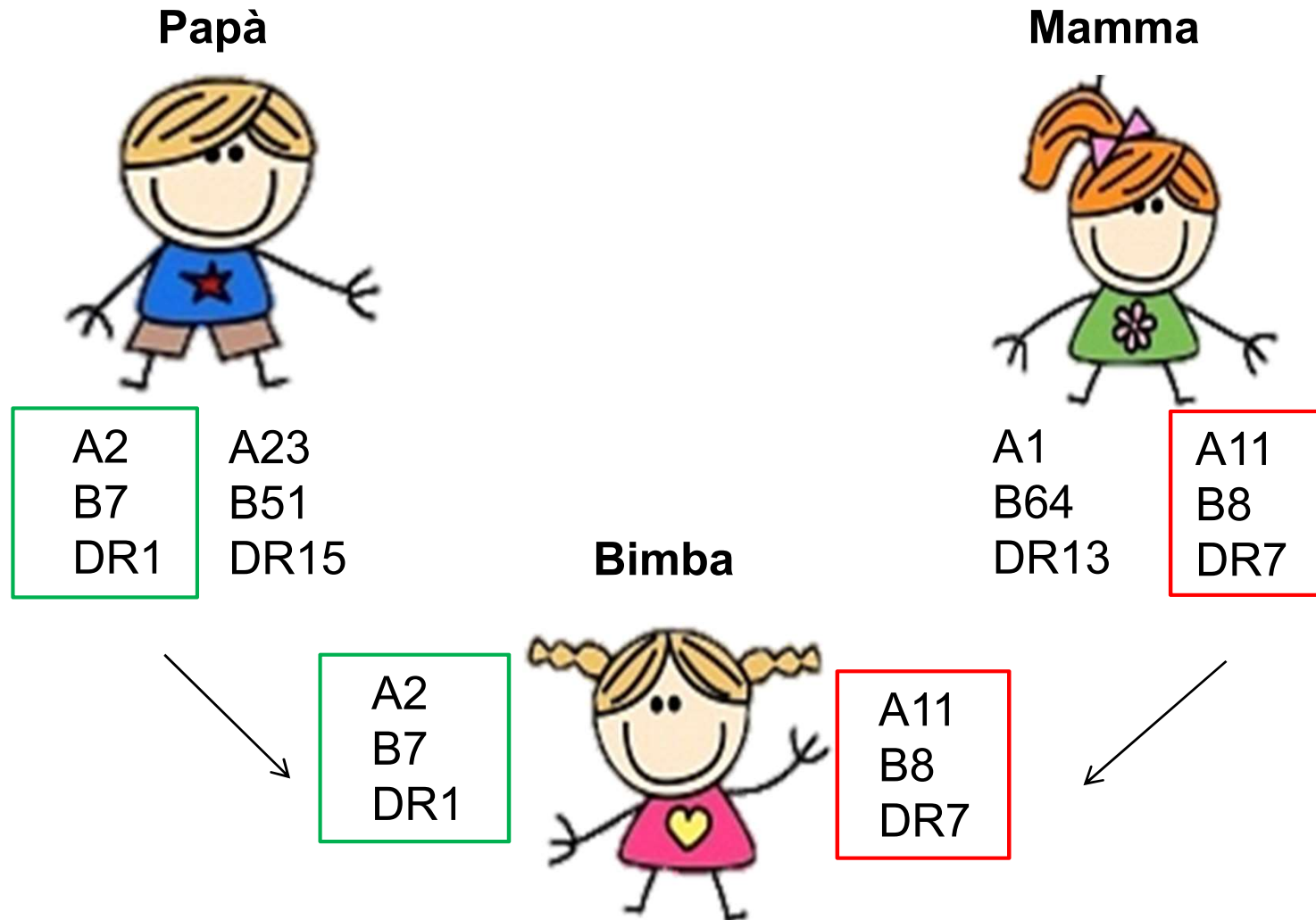
Classe II

HLA-DR
HLA-DQ
HLA-DP

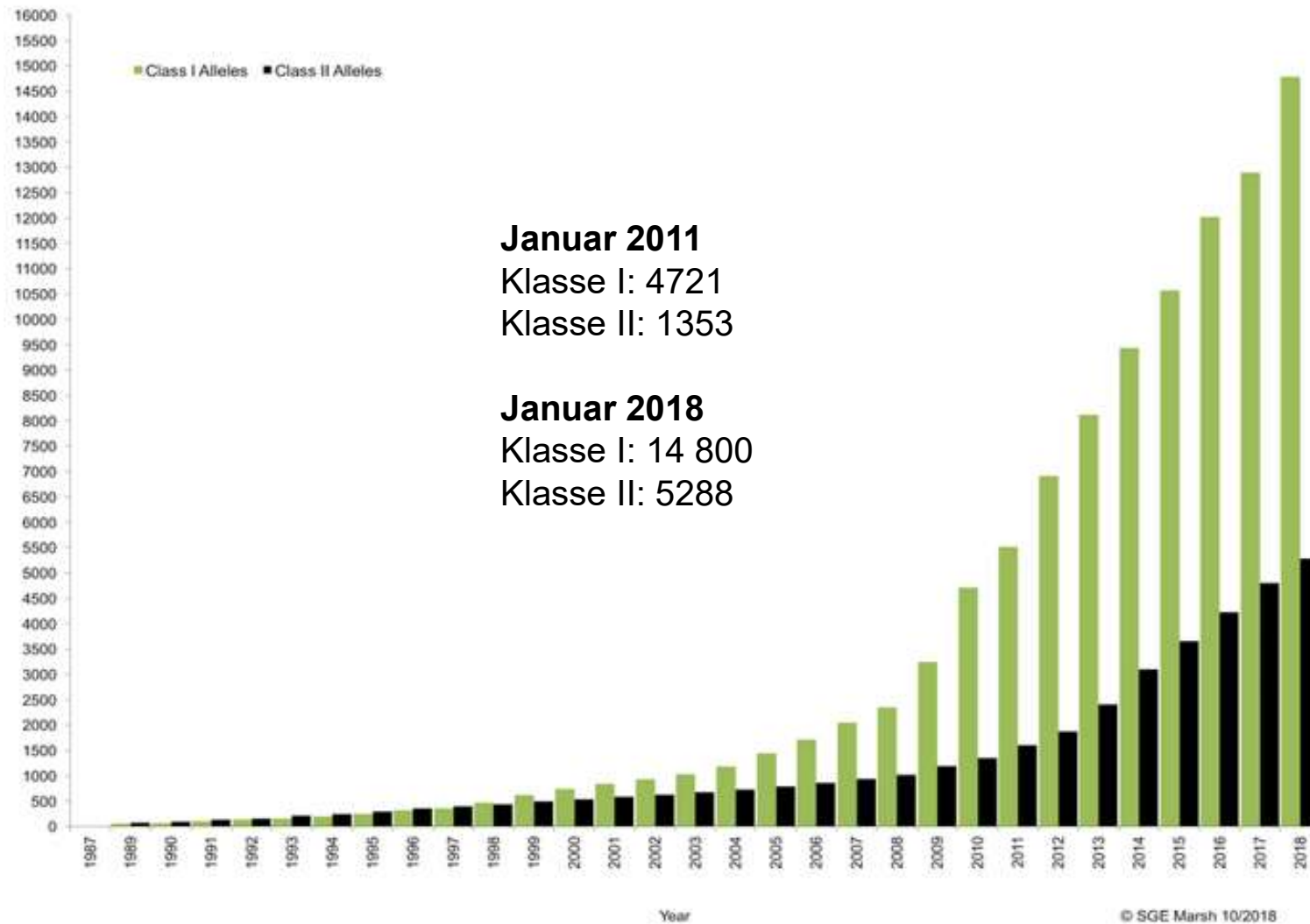
Classe I

HLA-A
HLA-B
HLA-C

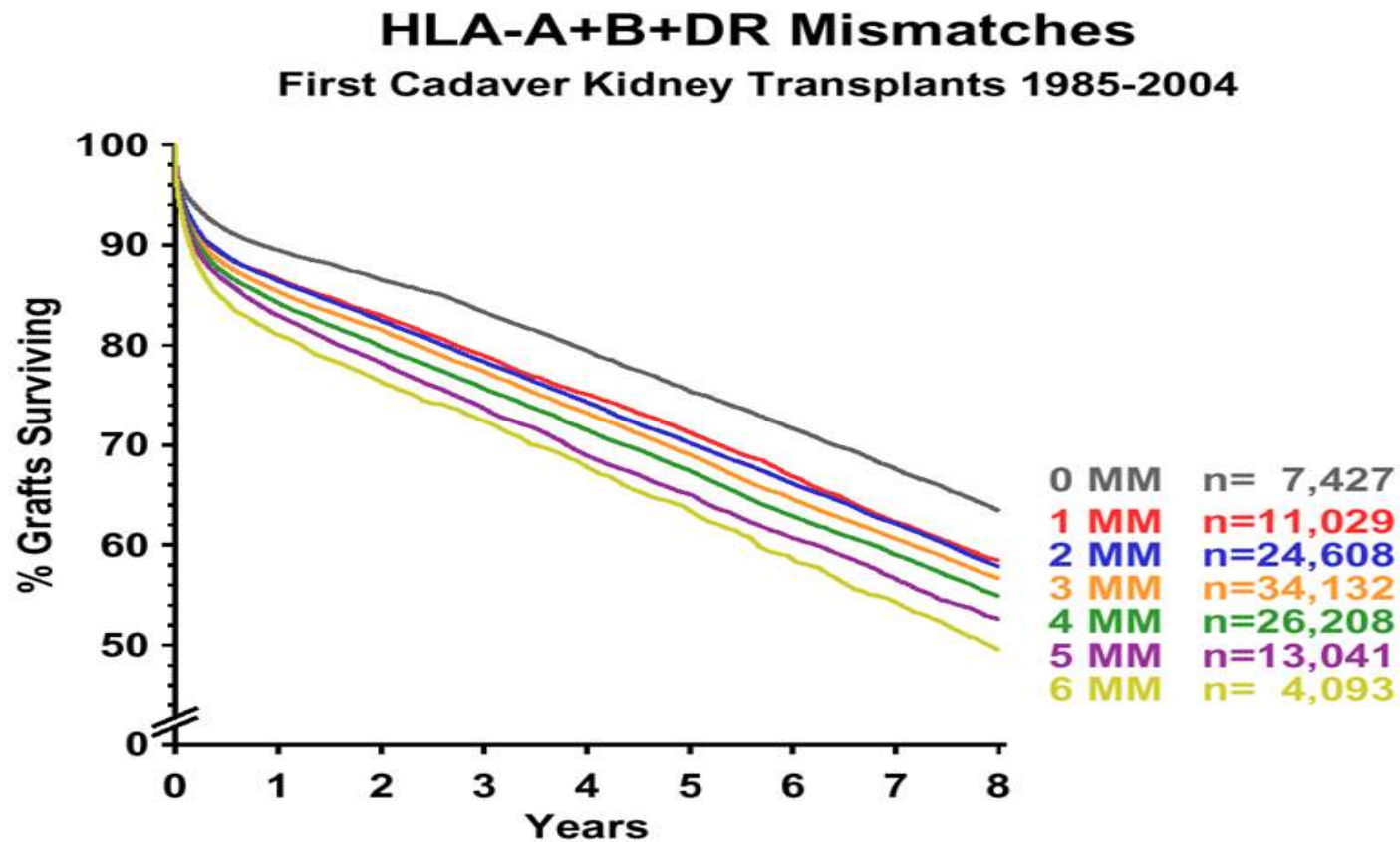
La trasmissione degli antigeni HLA:



Il sistema HLA é polimorfo

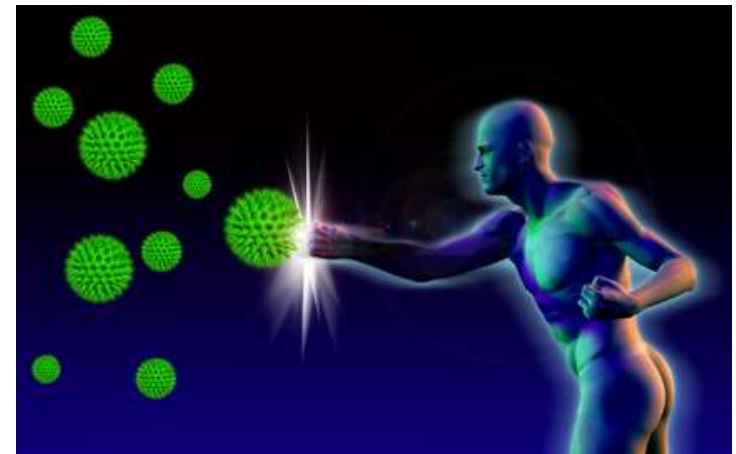


Match degli HLA nel trapianto dei reni



Gli anticorpi HLA:

Proteine per la difesa, che troviamo nel sangue.
Gli anticorpi riconoscono tutto ciò che è estraneo al corpo.
Nel caso di un trapianto possono provocare il rigetto dell'organo trapiantato.

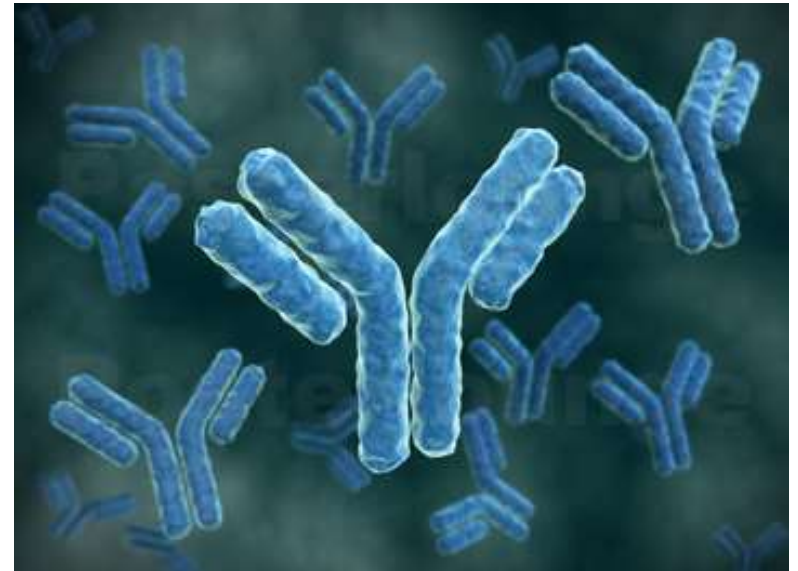


Gli anticorpi HLA:

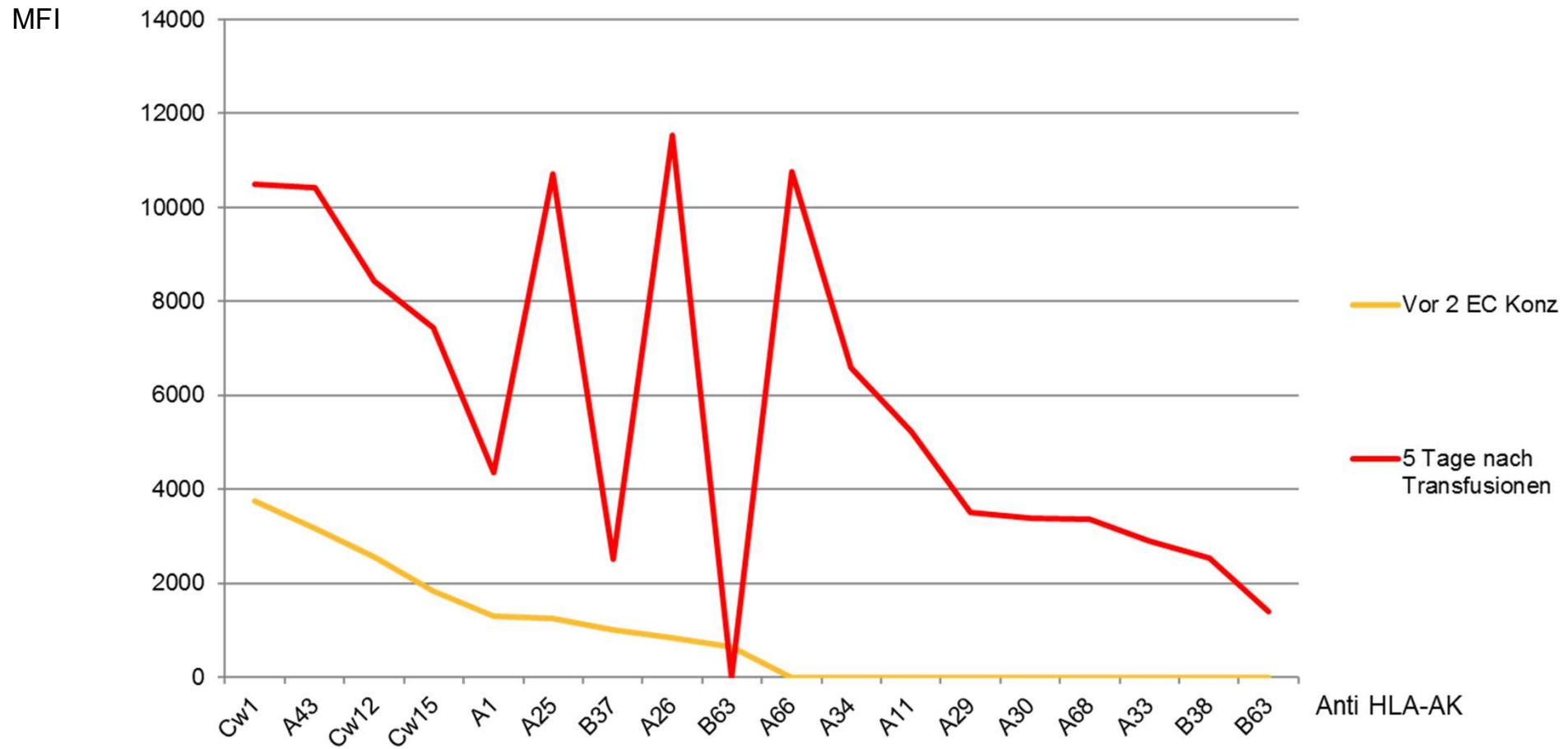
Grossa sfida!

- Gravidanza
- Trasfusioni
- Trapianti

riduzione/stop immunosoppressione



Esempio decorso anticorpi dopo transfusioni di due flaconi di sangue



Dalla registrazione all'inserimento sulla lista d'attesa



Colloquio interdisciplinare
→ 1x settimana

Nefrologi
Chirurghi
Psicologi
Coordinazione dei trapianti
Laboratorio HLA



Laboratorio HLA

richiede prelievi di sange

Verifichia →

paziente già trapiantato
gravidanze
trasfusioni



UniversitätsSpital
Zürich

Dalla registrazione all'inserimento sulla lista d'attesa

1° Tipizzazione

Determinazione degli Ag HLA

Screening anticorpi

Gruppo sanguigno



2° Tipizzazione

Ri-determinazione degli Ag HLA

Screening anticorpi

Determinazioni auto-anticorpi

Gruppo sanguigno



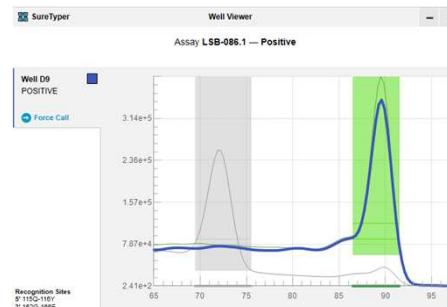
Determinazione Antigeni HLA:



Estrazione DNA dal sangue EDTA

PCR (=Polimerase Chain Reaction)

PCR real-time



UniversitätsSpital Zürich
HLA-Labor HOER B 19
Rämistrasse 100
CH-8091 Zürich

TEST INFO

Sample Date: 12.10.2018	Test Date: 10/15/2018	Kit Lot #: K3634-AC
Sample ID: 0001762438	DNA-Conc.: 24.7 ng/ul (1.88/0.59)	reviewed by: rsran
Patient ID:	Geb.Datum: :	tested by: camti

SUMMARY

This session includes tests for A, B, C, DR, DQA, DQB, DPA and DPB

TEST	GENOTYPE	PHENOTYPE	TEST	GENOTYPE	PHENOTYPE
HLA-A	A*02 A*02	A2 A2	HLA-C	C*07 C*07	Cw7 Cw7
HLA-B	B*07 B*07	B7 B7	Bw		Bw6 Bw6
HLA-DRB1	DRB1*12 DRB1*15	DR12 DR15	HLA-DRB345	DRB3*02 DRB5*01	DR52 DR51
HLA-DQA1	DQA1*01 DQA1*05	DQA01 DQA05	HLA-DQB1	DQB1*03 DQB1*05	DQ7 DQ5
HLA-DPA1	DPA1*01 DPA1*01	DPA01 DPA01			

EPITYPE	ALLELES	HVR-A	HVR-B	HVR-C	HVR-D	HVR-E	HVR-F
EDP04	DPB1* 04:01:01:01 (+157 rare alleles)	LFQG	EEFA	AAE	ILEEK	M	GGPM
EDP04	DPB1* 04:01:01:01 (+155 rare alleles)	LFQG	EEFA	AAE	ILEEK	M	GGPM

This genotype consists of alleles from a single group.
This epitope was AUTOMATICALLY chosen because it is the only one which does not require a rare allele.

(Notice: Cannot exclude other combinations. Review all results.)
All test results are based on IMGT/HLA release: version 3.31.0 - Jan 2018

For in vitro diagnostic use.

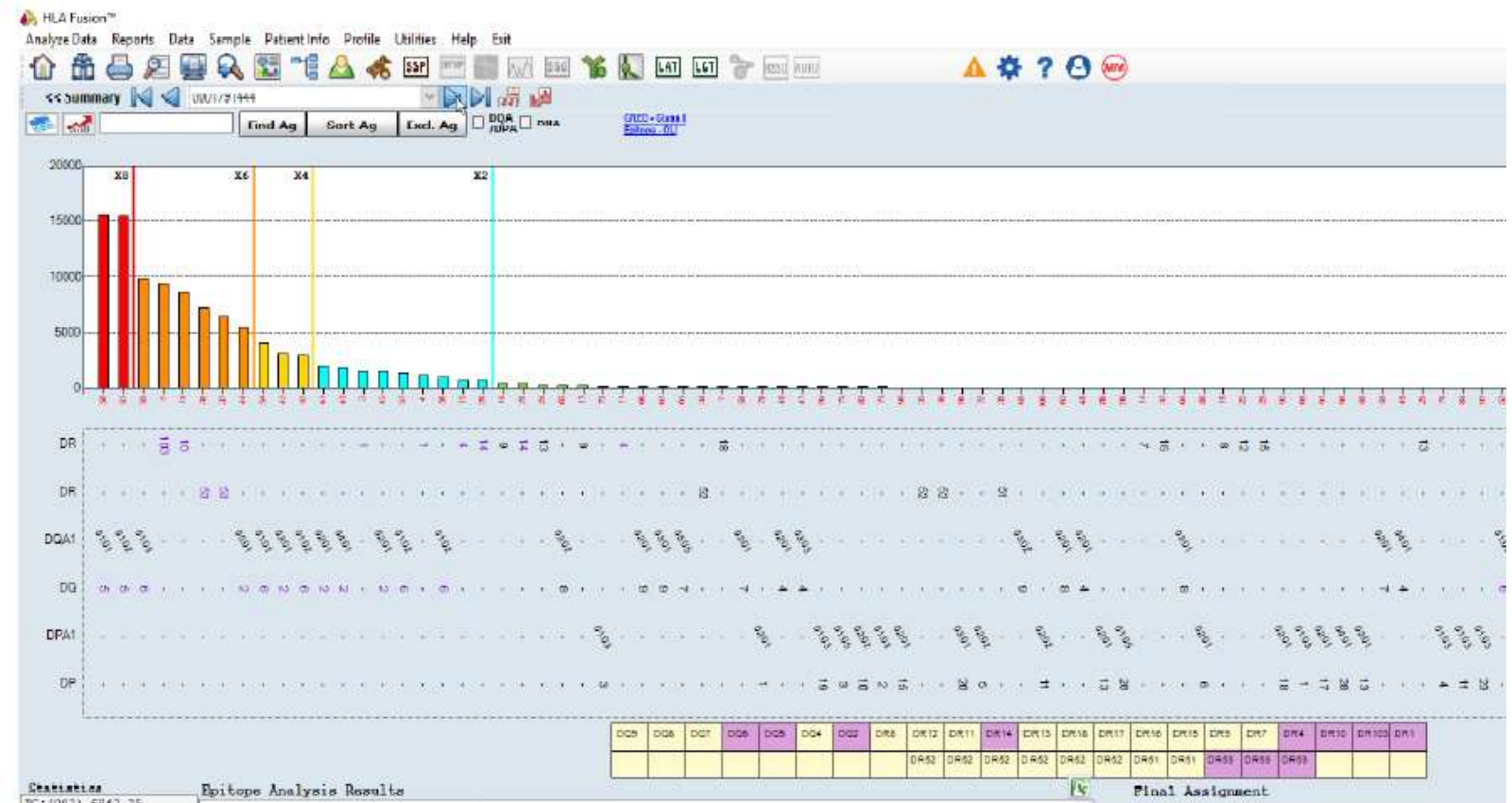
LABORATORY ASSIGNMENT

HLA-A: A2 A2	HLA-B: B7 B7	Bw: Bw6 Bw6
HLA-C: Cw7 Cw7	HLA-DRB1: DR12 DR15	HLA-DRB345: DR52 DR51
HLA-DQA1: DQA01 DQA05	HLA-DQB1: DQ7 DQ5	
HLA-DPA1: DPA01 DPA01	HLA-DPB1: DPB1*04:01:01:01 DPB1*04:01:01:01	



UniversitätsSpital
Zürich

Determinazione Anticorpi HLA:



MFI = intensità media di fluorescenza

Esempio Antigeni -Anticorpi

Antigeni HLA paziente

A2, A68;

B7, B44;

DR13, DR15;

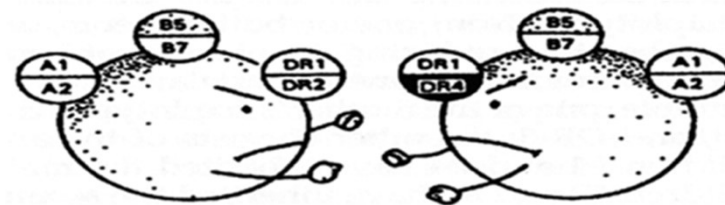
Antigeni HLA del rene trapiantato

A2, **A3**;

B7, **B61**;

DR7, DR17;

Contro le caratteristiche rosse si possono formare gli anticorpi



Dalla registrazione all'inserimento sulla lista d'attesa



Paziente viene convocato al policlinico chirurgico

Chirurgo
Nefrologo
Coordinazione dei trapianti

Prelievi di sangue sierologie

→ **Se necessario anche per laboratorio HLA**



Tutti i mesi

Lista pazienti per essere inseriti sulla lista d'attesa per i reni (8-15 Pazienti)

→ **Controllo /Rivalutazione**

Viene stabilito un concetto immunologico per ogni singolo paziente per essere trapiantato con il miglior organo possibile

ogni 3 mesi richiesta sangue nativo

Esempio formulario HLA

Verlauf der Anti HLA-Antikörper Befunde von Empfänger:

Luminex-Single ausblenden			Berichtsdatum einblenden			Peak einblenden		*= C1q Wert vorhanden (siehe Hauptformular mit *)			
Serum Datum	CDC PRA Kl. I	Lymphoscreen Kl. I	CDC PRA Kl. II	Lymphoscreen Kl. II	Luminex-Mix Klasse I IgG	Luminex-Mix Klasse II IgG	Luminex-Single Klasse I		Luminex-Single Klasse II	Bemerkung	DSA
-	-	-	-	-	14.01.2019	Serum+0.2M EDTA	-	-	-	-	-
Last	-	-	-	-	neg 0	pos 116	-	-	-	vor TPL	-
-	-	-	-	-	-	-	07.01.2019	Serum+0.2MEDTA	07.01.2019	Serum+0.2MEDTA	-
-	-	-	-	-	-	-	MFI-neg. (<500)		DQ5 MFI-15567	DQ2 MFI-5451	Donor 1994, 1, TPL DR103 MFI-9386, 07.01.2019, Last Donor 1994, 1, TPL DQ5 MFI-15567, 07.01.2019, Last
-	-	-	-	-	-	-			DR1 MFI-1531		
-	-	-	-	-	-	-			DR4 MFI-885		
-	-	-	-	-	-	-			DR14 MFI-885		
-	-	-	-	-	-	-			DR53 MFI-7211		

 Entscheid Planungssitzung

DQ5(1)

DR103



HLA typing

RS-2019-0025

A	3	B	52 (5)	Cw	7	DR	14 (6)	DRB3/4/5	DR52	DQ	5 (1)	DP	DPB1*04:01 (DP4)
A	3	B	60 (40)	Cw	12	DR	7	DRB3/4/5	DR53	DQ	9 (3)	DP	DPB1*04:01 (DP4)

PRA Peak											
* 67 [%] !!											
Calculated PRA (A, B, DR) : 97.88 [%] Number of accepted DSA (A, B, DR) : 0											
Date of serum for class I antibodies 12.09.2018 Clear MFI Values of class I antibodies											
A antigen											
Antibody	MFI Value	Center Specific	Prev-TX	Antibody	MFI Value	Center Specific	Prev-TX	Antibody	MFI Value	Center Specific	Prev-TX
1		☐	☐	29 (19)	4531	☐	☐	88 (10)	19383 !	☒	☐
2		☐	☐	30 (19)	4970	☐	☐	88 (28)	5062	☐	☐
3		☐	☐	31 (19)	1484	☐	☐	89 (28)	4942	☐	☐
11	13968 !	☐	☒	32 (19)	6077	☐	☐	74 (19)		☐	☐
23 (9)	1832	☐	☐	33 (19)	3548	☐	☐	80		☐	☐
24 (9)	1390	☐	☐	34 (10)	16811 !	☒	☐	203		☐	☐
25 (10)	20384 !	☒	☐	36		☐	☐	210		☐	☐
26 (10)	21254 !	☒	☒	43	17422 !	☒	☐				
B antigen											
Antibody	MFI Value	Center Specific	Prev-TX	Antibody	MFI Value	Center Specific	Prev-TX	Antibody	MFI Value	Center Specific	Prev-TX
7	15082 !	☐	☒	50 (21)		☐	☐	71 (70)		☐	☐
8		☐	☐	51 (5)	5907	☐	☒	72 (70)		☐	☐
13	10645 !	☐	☐	52 (5)		☐	☐	73	3364	☐	☐
18		☐	☐	53	2467	☐	☐	75 (15)	4859	☐	☐
27	10789 !	☐	☐	54 (22)		☐	☐	76 (15)	4200	☐	☐
35		☐	☐	55 (22)	5733	☐	☐	77 (15)	5448	☐	☐
37		☐	☐	56 (22)	2919	☐	☐	78		☐	☐
38 (16)	1920	☐	☐	57 (17)	3268	☐	☐	81	13406 !	☐	☐
39 (16)		☐	☐	58 (17)	2461	☐	☐	82	1270	☐	☐
41	1652	☐	☐	59	4291	☐	☐	703		☐	☐
42	4633	☐	☐	60 (40)		☐	☐	3901		☐	☐
44 (12)		☐	☐	61 (40)	11421 !	☐	☐	3902		☐	☐
45 (12)		☐	☐	62 (15)	3833	☐	☒	4005		☐	☐
46	5650	☐	☐	63 (15)	4861	☐	☐	5102		☐	☐
47	3648	☐	☐	64 (14)		☐	☐	5103		☐	☐
48	8452	☐	☐	65 (14)		☐	☐				
49 (21)	4925	☐	☐	67	3698	☐	☐				

Monitoraggio anticorpi

- *Accertamenti*
- *Registrazione sulla lista d'attesa*
- **Arco di tempo durante la lista d'attesa**

ogni 3 mesi !!! Regolato dalla legge

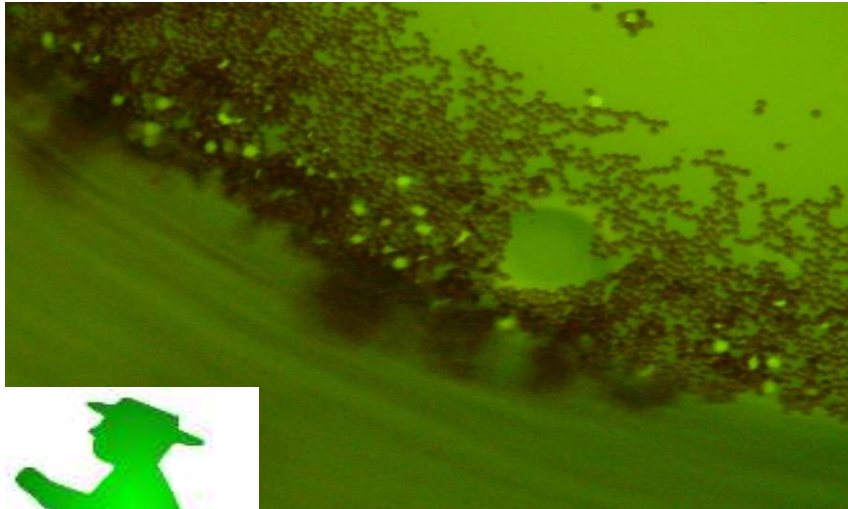
- **Dopo eventi di sensibilizzazione** (14 giorni dopo)
- **Attivazione sulla lista d'attesa**
- **Prima del trapianto**
- **Dopo il trapianto a seconda di uno schema definito**



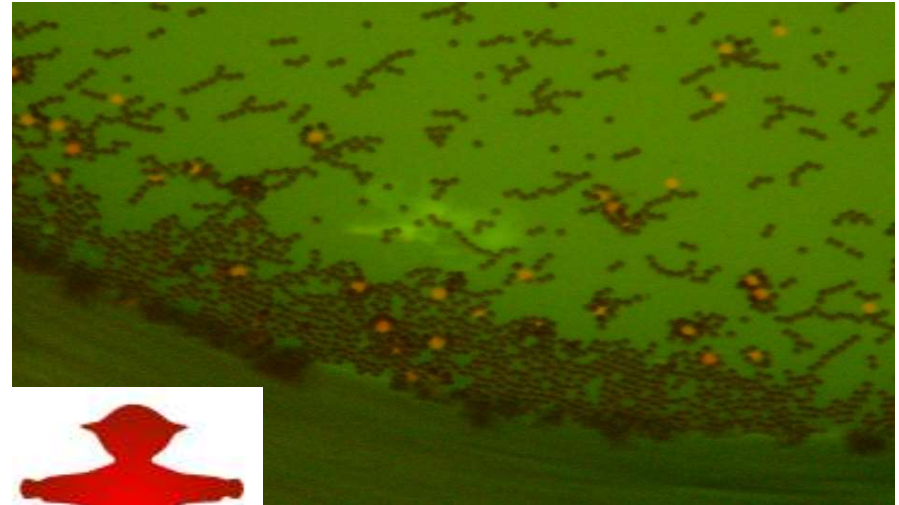
Offerta per paziente / test XM



Test XM (trapianto nella provetta)



Trapianto ok



Stop trapianto



Programma trapianti ospedale universitario Zurigo USZ

Trapianti 2018

- 14 Cuori
- 19 Polmoni
- 2 Isole di Langerhans
- 5 Pancreas
- 54 Fegati
- 100 Reni**
 - di cui 30 da vivente

Lista di attesa attuale

- 17 Cuori
- 20 Polmoni
- 2 solo isole di Langerhans
- 6 solo pancreas
- 65 Fegati
- 367 Reni**



Laboratorio HLA interdisciplinare

Direktor



Dr. Jakob Nilsson

Bereichsleiter
Hämatopoietische
Stammzellen



Leitende BMA



Bereichsleiter
Abdominale
Organe



Bereichsleiter
Thorakale
Organe



Biomed. Analytikerinnen HF



Grazie per l'attenzione

typisierung@usz.ch

Fonti di informazione figure:

www.wellsana.de

Luminex corporation

www.fid.gesundheitswesen.de

www.posterlounge.co.uk



**UniversitätsSpital
Zürich**

