



### **Pokyny pro vyšetřování HLA-specifických Ab**

Pokyny/ Pokyny pro spolupracující oddělení

číslo	:	POK_ODD_04
verze	:	03
exemplář	:	
strana	:	1 z 3
platí od	:	07.04.2016
přílohy	:	0
datum tisku	:	11.04.2016

## **POKYNY PRO VYŠETŘOVÁNÍ HLA-SPECIFICKÝCH PROTILÁTEK U PACIENTŮ PŘED A PO TRANSPLANTACI**

Metodiky pro detekci a charakterizaci HLA-specifických protilátek za využití pevné fáze (solid phase assays, SPI, neboli Luminex) jsou doporučovány jako nezbytné vyšetření před transplantací ledviny mezinárodními organizacemi Eurotransplant a Evropskou federací pro imunogenetiku (EFI). Jejich zavedení mělo za následek zásadní usnadnění a zpřesnění určení donor-specifických protilátek (DSA) před a po transplantaci. Přítomnost donor-specifických protilátek určené SPI před transplantací není kontraindikací k transplantaci, je ale důležitým vodítkem při vyhodnocení rizika vývoje protilátkami-zprostředkované rejekce. Z důvodu zlepšené diagnostiky specifity protilátek metodou Luminex se snižují náklady spojené s terapií protilátkami-zprostředkované rejekce po transplantaci. SPI metody jsou mnohem citlivější než dosud široce používaný komplement-dependentní lymfocytotoxický (CDC) test a proto vyžadují pečlivé zvážení při interpretaci výsledků. Laboratoř musí brát v úvahu, že hustota navázaného antigenu na povrchu polystyrenových kuliček mezi různými šaržemi se může lišit a v přítomnosti velké koncentrace protilátek může dojít k „prozone“ efektu. Eurotransplant nedoporučuje zakazovat HLA antigeny před transplantací jen na základě vyšetření SPI metodikou. Zde uvádíme obecné pokyny pro vyšetření protilátek u pacientů před a po transplantací ledviny, které jsou v souladu se standardy Evropské federace pro imunogenetiku (EFI) a Eurotransplantu.

1. Pro detekci protilátek proti HLA antigenům, laboratoř musí používat buď komplement-dependentní cytotoxickou techniku (CDC), nebo jinou metodu, která prokazatelně určuje protilátky proti HLA antigenům se stejnou nebo vyšší citlivostí než CDC technika.
2. Každá laboratoř musí mít program pro pravidelný screening vzorků séra od každého pacienta na přítomnost protilátek proti HLA antigenům. Séra všech potenciálních příjemců orgánů musí být vyšetřena v pravidelných časových intervalech (každé tři měsíce, 4x ročně).
3. Laboratoř musí mít dokumentovaný postup pro vyhodnocení senzibilizace každého pacienta. Vyšetření (screening) HLA specifických protilátek u všech potenciálních příjemců orgánů by mělo být provedeno do jednoho měsíce po krevní transfúzi, těhotenství anebo graftektomii.
4. Screening provádí HLA laboratoř přidružená k Transplantačnímu centru, kde je příjemce registrován. Informace o screeningu musí být zaznamenány v databázi TRINIS (Koordinační středisko transplantací, KST). Hodnota % PRA představuje procento dárců v panelu reagujících pozitivně se sérem příjemce.



#### **Pokyny pro vyšetřování HLA-specifických Ab**

Pokyny/ Pokyny pro spolupracující oddělení

číslo	:	POK_ODD_04
verze	:	03
exemplář	:	
strana	:	2 z 3
platí od	:	07.04.2016
přílohy	:	0
datum tisku	:	11.04.2016

5. Identifikace IgM protilátek musí být provedena pomocí dithiotreitolu (štěpí pentamer IgM molekuly). IgM protilátky mohou být důvodem neúměrně vysokých hodnot panel reaktivních protilátek (PRA) a falešně pozitivního crossmatch testu před transplantací.
6. HLA laboratoř musí provést detekci a definici protilátek proti HLA I a II třídy za využití techniky pevné fáze (Luminex) nejméně jednou ročně. Z této analýzy se má sestavit seznam HLA antigenů, proti kterým dotyčný pacient má protilátky. Seznam těchto HLA antigenů se předá dialyzačnímu středisku, kde je pacient evidován.
7. Přítomnost donor-specifických protilátek před transplantací určených metodou pevné fáze (Luminex) nemusí být kontraindikací k transplantaci.
8. V případě negativního lymfocytotoxického (CDC) crossmatch testu před transplantací a přítomnosti donor-specifických HLA protilátek proti I nebo II třídě určené za pomoci metodiky pevné fáze, hodnocení rizika rejekce se provádí na základě průměrné intenzity fluorescence (mean fluorescence intensity, MFI). Uvádíme relativní odhad hodnot MFI, podle kterých by se mělo hodnotit riziko protilátkami-zprostředkované rejekce. Analýza se ale může lišit u každého pacienta vzhledem historii senzitivace (počtu transplantací, gravidit atd.):
  - MFI proti antigenům I třídy do 1 500 – 2 000, proti II třídě 2 000 – 3 000 nízké riziko
  - MFI do 10 000 středně vysoké riziko (virtuální crossmatch pozitivní)
  - MFI 10 000 a více – vysoké riziko (virtuální crossmatch pozitivní).
9. U pacientů s panel-reaktivními protilátkami vyššími než 85% se retrospektivně po transplantaci ledviny doporučuje provést FACS crossmatch.
10. U všech pacientů s podezřením na akutní humorální rejekci po transplantaci se provádí testování HLA protilátek pomocí metody CDC crossmatch, FACS crossmatch a Luminex. Opakovaná detekce protilátek metodou Luminex by se neměla provádět častěji než jednou za 14 dní. Testování na přítomnost protilátek se může provést hned po provedení plazmaferézy.
11. U pacientů před transplantací srdce, kombinované transplantace ledviny a pankreatu a transplantace jater zatím v literatuře není jednoznačné doporučení o postupu testování protilátek SPI metodami.

#### Reference:

1. Standards for histocompatibility & immunogenetics testing, European Federation for Immunogenetics, Version 6.1



#### **Pokyny pro vyšetřování HLA-specifických Ab**

Pokyny/ Pokyny pro spolupracující oddělení

číslo	:	POK_ODD_04
verze	:	03
exemplář	:	
strana	:	3 z 3
platí od	:	07.04.2016
přílohy	:	0
datum tisku	:	11.04.2016

2. B.D. Tait, C. Susal, H.M. Gebel, et al. Consensus Guidelines on the Testing and Clinical Management Issues Associated With HLA and Non-HLA Antibodies in Transplantation. *Transplantation* 95(1), 19-47, 2013
3. D. Wettstein, G. Opelz, C. Süsal HLA antibody screening in kidney transplantation: current guidelines. *Langenbecks Arch Surg* 399:415–420, 2014
4. Guidelines for the detection and characterisation of clinically relevant antibodies in allotransplantation, British Society for Histocompatibility & Immunogenetics, 2010