

# SENSITIVITÄT IN KOMPLEMENT ABHÄNGIGEM ZYTOTOXTEST VERSUS LUMINEX ASSAY

Marie-Luise Arnold

Labor für Immungenetik, Medizinische Kliniken 3&5

**Universitätsklinikum  
Erlangen**



# Hintergrund

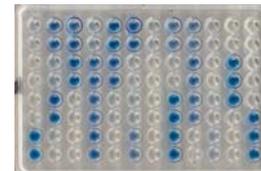
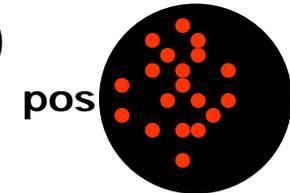
## Methoden der anti-HLA Antikörpertestung:

CDC (Complement-Dependent Cytotoxicity)

ELISA (Platten-gebunden)

Luminex-Assay (Bead-gebunden)

FLOW (Flow-cytometrie-assay)



Wie interpretieren wir die Ergebnisse ?

CDC

ELISA/  
Luminex

FLOW

Ziel-Ag: Kl. I+II getrennt

nein

ja

ja

für Kl.II: adsorbieren

ja

nein

nein

c' - abhängig

ja

nein

nein

Ig Isotypen+Subclassen

IgG1+3, IgM

IgG1-4

IgG1-4

Ziel-Ag: membranständig

ja

nein

ja

pos durch non-HLA Ag

ja

nein

ja

Standard-Technik:

Screening ↔ x-match

ja

nein

nein

**„Der Eine kann ohne den Anderen nicht!“**

# CDC versus Luminex

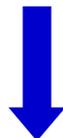
- Höhere Sensitivität im Luminex Assay vs. CDC
  - >> Erkennung von sogn. „schwachen“ Ak's
  
- Erkennung von nicht-komplement antivierenden Ak's (IgG2 and IgG4) in Luminex\*

\* *PREVALENCE AND SPECIFICITY OF IgG AND IgA–NON-COMPLEMENT BINDING ANTI-HLA ALLOANTIBODIES IN RE-TRANSPLANT CANDIDATES*

ML Arnold, M Dechant, IIN Doxiadis, BM Spriewald; *Tissue Antigens*; 2008 Jun; 72(1): 60-66

# Studie

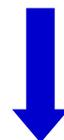
6 Seren von Patienten nach Tx  
spenderspezifische Ak gegen Klasse I und/oder II



unverdünnt und mit 10 Verd.stufen  
von 1:2 bis 1:1024 (n=11/Serum)



Ak-Suchtest  
in CDC und Luminex



Kreuzproben  
mit 2 Spenderzellen



CDC: PBL, T-Lymph,  
B-Lymph, Milzzellen  
n=264

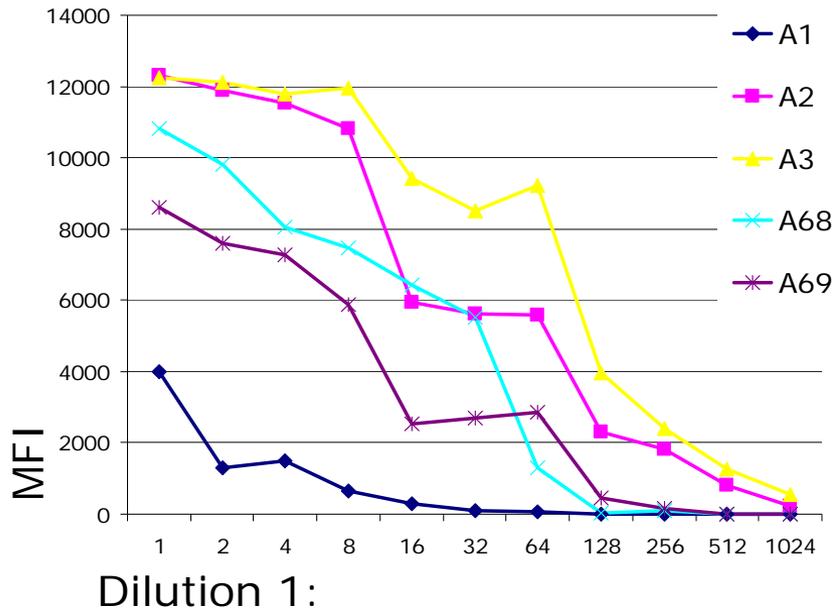


Luminex: Ag-Eluate  
für Klasse I und II  
n=132

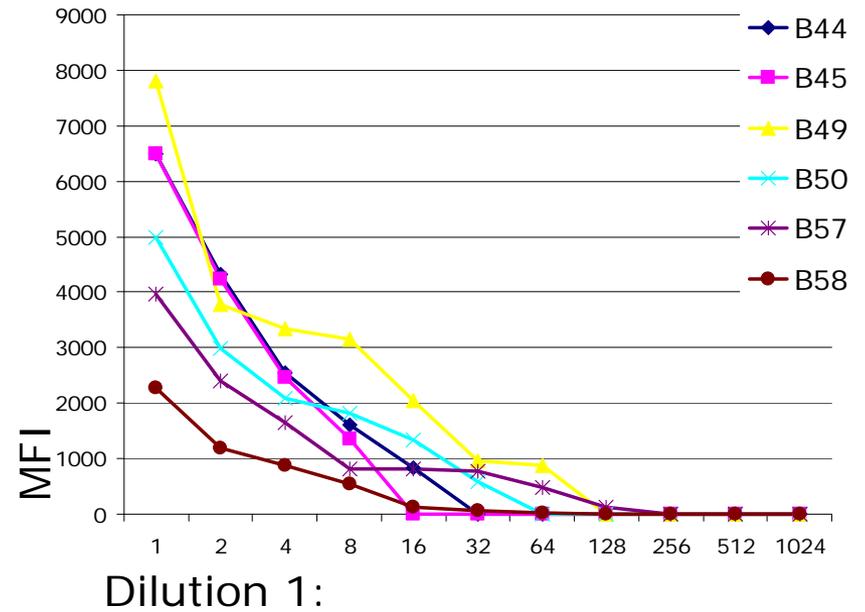


# Ak-Suchtest im Luminex

## HLA Klasse I-A

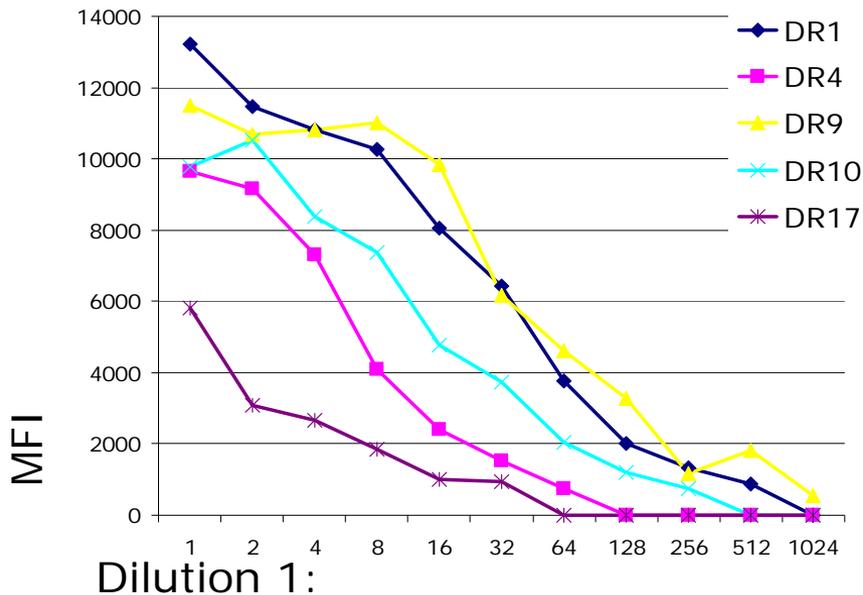


## HLA Klasse I-B

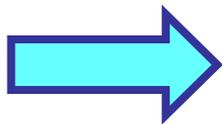
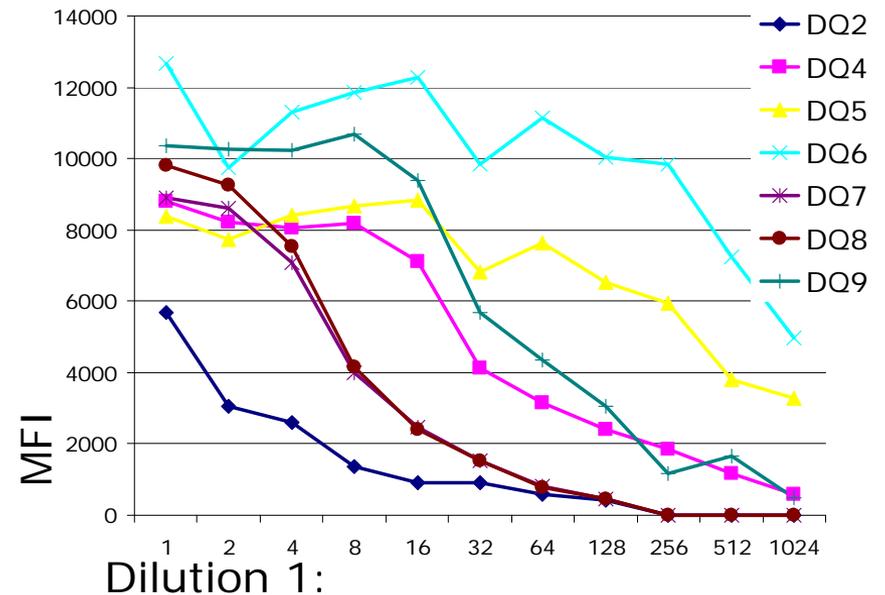


# Ak-Suchtest im Luminex

## HLA Klasse II-DR



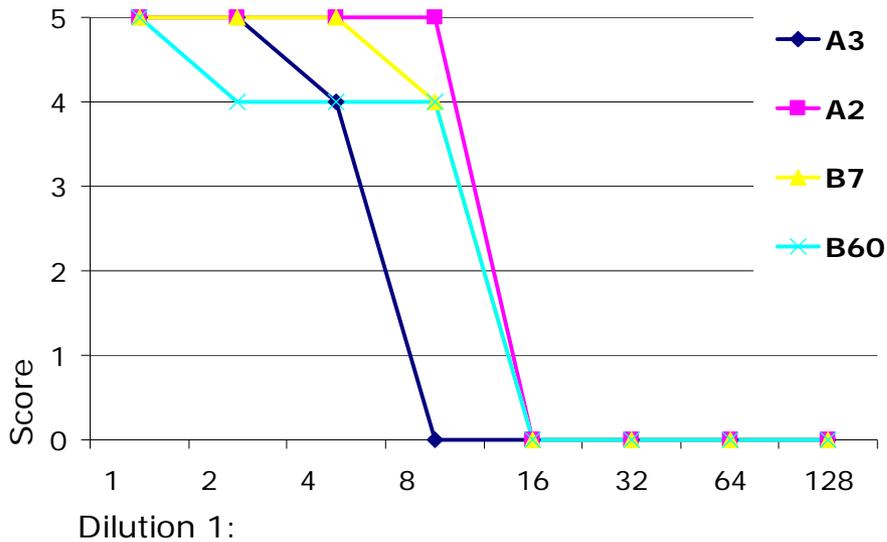
## HLA Klasse II-DQ



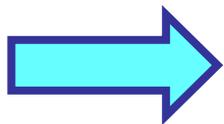
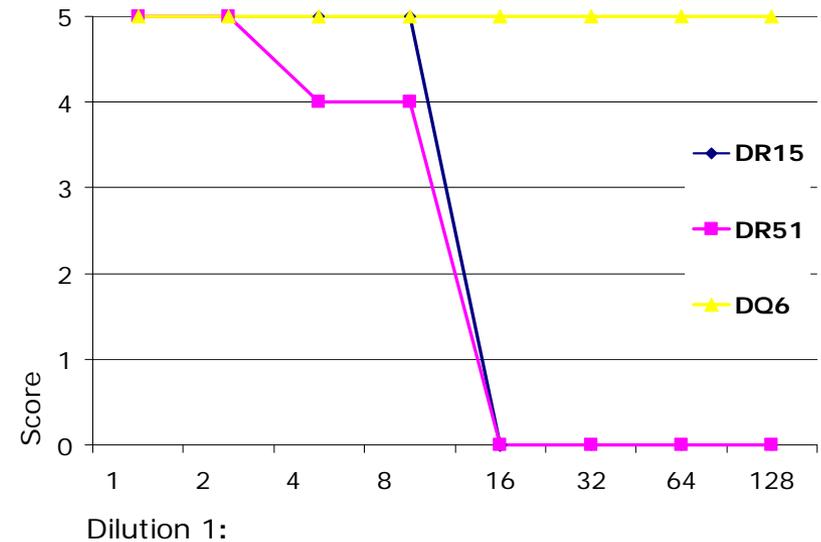
Die Stärke der Reaktion scheint abhängig von der Ak-Spezifität

# Ak-Suchtest im CDC

## HLA Klasse I



## HLA Klasse II

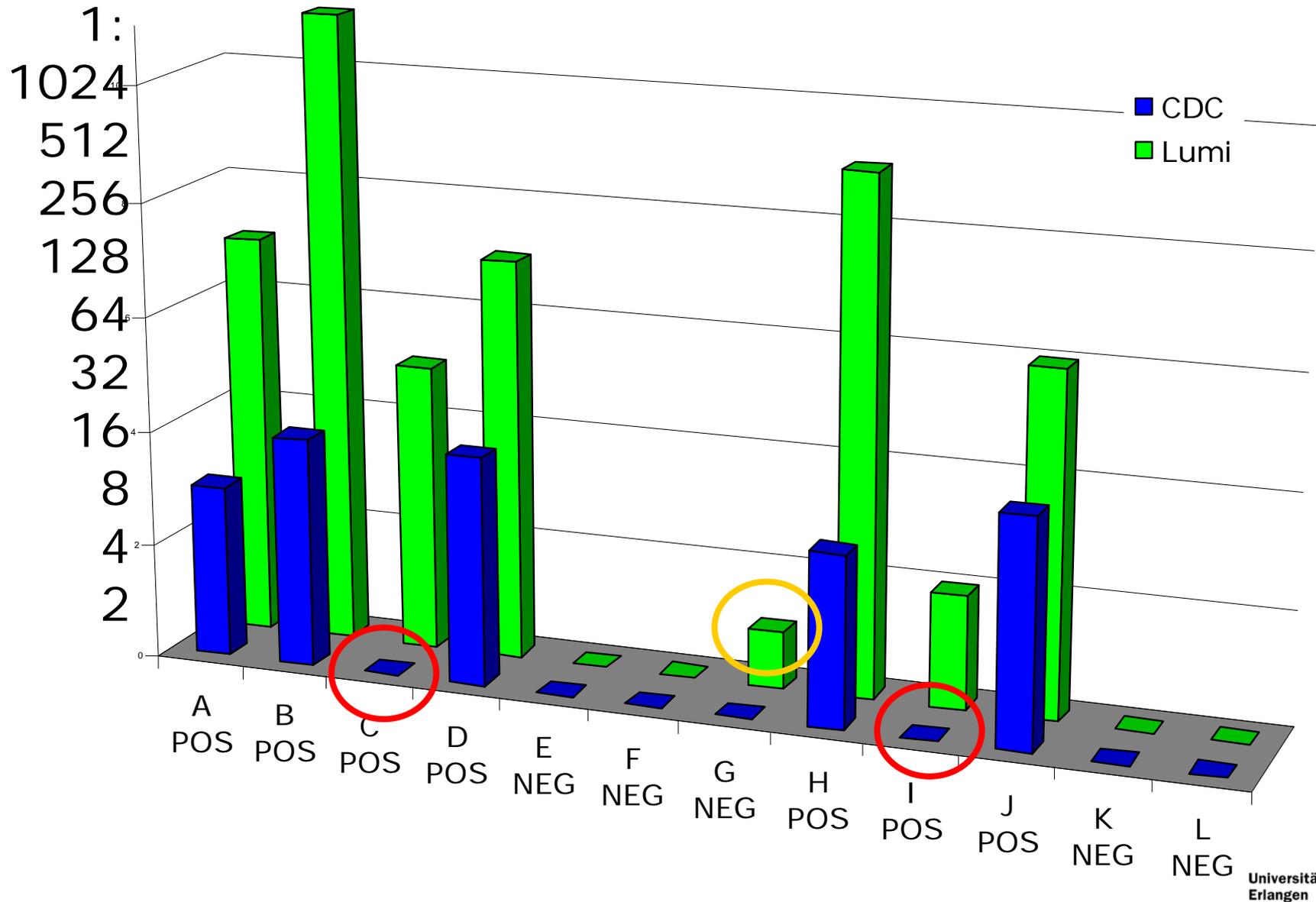


Im CDC ist der Abfall der Reaktion deutlich früher als im Luminex

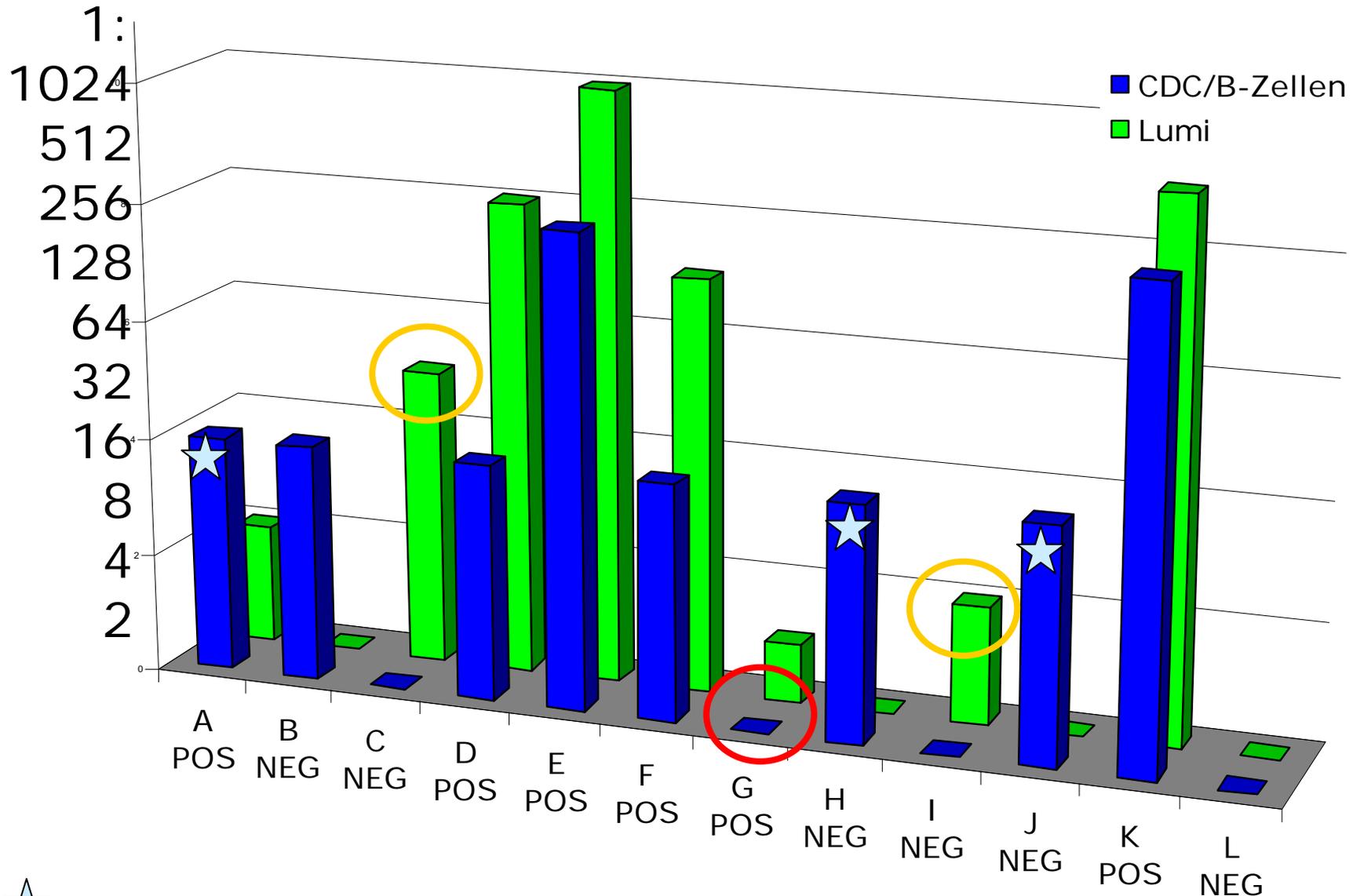
# Virtuelle Kreuzprobe

	Virtuell Crossmatch			CDC-XM		Luminex-XM		comment
	Class I	Class II	pos due to	Class I	Class I+II	Class I	Class II	
Sera			Ab-Specificities	T-cells	B-cells			
A	pos	pos	A3,DQ6	pos	pos	pos	pos	
B	pos	neg	A2,3	pos	pos	pos	neg	B-Cell-CDC pos due to Class I Abs
C	pos	neg	B7,61	neg	neg	pos	pos	
D	pos	pos	B7,61,DR15,DQ6	pos	pos	pos	pos	
E	neg	pos	DQ6	neg	pos	neg	pos	
F	neg	pos	DR15,51	neg	pos	neg	pos	
G	neg	pos	DQ6	neg	neg	pos	pos	
H	pos	neg	A2	pos	pos	pos	neg	B-Cell-CDC pos due to Class I Abs
I	pos	neg	B7,60	neg	neg	pos	pos	
J	pos	neg	B7,60	pos	pos	pos	neg	B-Cell-CDC pos due to Class I Abs
K	neg	pos	DQ6	neg	pos	neg	pos	
L	neg	neg	negative	neg	neg	neg	neg	

# Kreuzprobe: HLA Klasse I



# Kreuzprobe: HLA Klasse II



★ CDC-positiv wegen Kl. I Ak

# Zusammenfassung 1

- Ak-Suchtest:

Reaktionsabfall im:	CDC	Luminex
HLA-Klasse I	1:8	1:32
HLA-Klasse II	1:16	1:256-1024

- Kreuzprobe:

CDC ist im Durchschnitt 4 log-Stufen früher negativ;

im Vergleich zur virtuellen Kreuzprobe reagiert  
der CDC (3/12) unerwartet **negativ**

die Luminex-Kreuzprobe 3/12 unerwartet **positiv**



# Zusammenfassung 2

- Erst die Summe aller Testergebnisse zeigt das genaue Antikörperprofil eines Patienten
- Beurteilung immer mit dem Hintergrund der immunologischen Ereignisse des Patienten  
→ enge Zusammenarbeit mit den Tx-Zentren
- Die Luminex-Kreuzprobe bietet eine gute Ergänzung zur CDC-Kreuzprobe bei z.B. Lebendspende-Kreuzprobe und/oder Patienten mit unklarem Antikörper Befund, z.B. „CNEP“ Patienten

# Vielen herzlichen Dank !!

Institut für Klinische Immunologie,  
Universität Erlangen-Nürnberg  
Bernd M Spriewald

Katja Goldmann

Martina Geithner  
Margarete Herber  
Silvia Klöcker  
Birgit Lauer  
Ingrid Mons  
Doris Roppelt

