

Olgu Sunumu

Diyaliz Hastalarında Panel Reaktif Antikor Düzeyinin Tespiti: İki Yöntem ve İki Analizin Karşılaştırılması

Detection of Panel Reactive Antibodies in Patients Under Dialysis: Comparison of Two Methods and Two Analysis

Elçin Latife Kurtoğlu¹, İdris Şahin², Hülya Taşkapan², Elif Yeşilada¹, Başak Kayhan¹

¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nefroloji Bilim Dalı, Malatya, Türkiye

Özet

İnsan doku uygunluk antijenleri sınıf-I ve sınıf- II'ye karşı özgül antikorlar (Panel Reaktif Antikor-PRA-) doğum; kan transfüzyonu ve/veya organ transplantasyonu sonrası gelişir. PRA, nakil sonrası graft'in reddinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle PRA analizi organ bekleyen hastaların takibinde nakil öncesi ve sonrası yapılması zorunlu rutin testlerdendir. PRA testi, tarama ve tanımlama olarak isimlendirilen; iki farklı analiz ile gerçekleştirilmektedir. Tarama PRA varlığının tespitine yönelik kalitatif bir test'tir. Tanımlama ise çoğunlukla donör spesifik antikor tespitinde kullanılan kantitatif bir test'tir. Tanımlama sadece özgül PRA yüzdesini vermekle kalmaz aynı zamanda ölçüm yöntemine de bağlı olarak donör spesifik antikor tespitini de sağlar. PRA ölçümü için kompleman bağımlı sitotoksosite; Enzyme Linked Immunoassay (ELISA), Akım sitometri ve Luminex yöntemleri kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, laboratuvarımızda böbrek nakli bekleme listesindeki diyaliz hastaları için yaptığımız rutin PRA analizinde kullanılan ELISA ve Luminex yöntemlerinin tarama ve tanımlama analizlerinde etkinliğini karşılaştırmaktır. Laboratuvarımıza başvuran 154 hastadan yapılan analizlere göre; ELISA ve Luminex PRA tarama sonuçları arasında %85 uyum bulunurken, her iki yöntemle yapılan tanımlama sonuçları arasında ise toplamda %72 uyum saptanmıştır. Aynı yöntemin tarama ve tanımlama sonuçları incelendiğinde; ELISA PRA tarama ve tanımlama sonuçlarının %19 oranında uyumsuzluk gösterdiği belirlenirken, Luminex PRA tarama ve tanımlama sonuçları arasında %2 gibi ELISA sonuçlarına göre daha az bir uyumsuzluk olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak; nakil öncesi rutin PRA analizi için ELISA yöntemi yerine Luminex yönteminin kullanılması; doğru ve hızlı sonuç alınabilmesi bakımından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: PRA, ELISA, Luminex, Transplantasyon, Diyaliz

Abstract

Specific antibodies (Panel Reactive Antibodies-PRA-) against human leukocyte antigens class I and class II are performed post-natal period, after blood transfusion and /or solid organ transplantation. Therefore PRA analysis performed before and after organ transplantation in the management of patients waiting for one of the mandatory routine tests. PRA tests are performed with two different assays called as screening and identification. Screening is a qualitative test for the detection of the presence of PRA. Identification is a quantitative test and is usually used to detect donor specific antibodies. Identification does not only give percentage of PRA but also allows the determination of specific antibodies. Measurement of PRA is performed by complement dependent cytotoxicity, Enzyme Linked Immunoassay (ELISA), flow cytometry and luminex methods. The aim of this study was to compare the effectiveness two methods ELISA and luminex together with two analysis screening and identification in PRA detection in dialysis patients waiting for kidney transplantation. According to analysis of serum samples of 154 patients applied to our laboratory, 85% harmony observed between results of ELISA and luminex for screening and 72% harmony observed for identification analysis. When we investigate the difference between two analysis for the same method, ELISA PRA screening and identification analysis showed 19% disharmony, however that was 2% disharmony for luminex screening and identification. As a result, prior to transplant in order to get accurate and fast results in routine PRA analysis instead of ELISA method preferring Luminex method would be eligible.

Key Words PRA, ELISA, Luminex, Transplantation, Dialysis

Giriş

İnsan doku uygunluk antijenleri (*ing.* Human leukocyte antigen-HLA-) sınıf-I ve sınıf-II'ye özgül antikorların organ ve doku naklindeki önemi 40 yılı aşkın süredir bilinmektedir (1, 2). Panel reaktif antikor (PRA) olarak da isimlendirilen bu antikorlar, kan transfüzyonu, gebelik ve organ nakli gibi çeşitli duyarlılaştırıcı olaylar ile gelişebilmektedir (1, 3, 4). Böbrek nakli için bekleyen bu duyarlılaşmış hastalar nakilden sonra gelişebilecek olan, hiperakut rejeksiyon, akut rejeksiyon, antikor-aracılı rejeksiyon, gecikmiş greft fonksiyonu ve daha uzun dönem komplikasyonlar için risk altındadırlar (5, 6). Bu nedenle, 1960'lardan bu yana, böbrek nakli için bekleyen hastalardaki anti-HLA antikorlarının varlığı ve özgülüğü PRA testleri ile belirlenmektedir (2, 5, 6). PRA testleri, tarama ve tanımlama olmak üzere iki farklı uygulamaya sahiptir (7). PRA tarama testleri ile hasta serumundaki sınıf I ve sınıf II HLA antikorlarının varlığı ya da yokluğu tespit edilmektedir. PRA sınıf I/sınıf II tarama sonuçları negatif olarak belirlenen hastalar duyarlılaşmamış olarak kabul edilirken, PRA sınıf I/sınıf II tarama sonuçları pozitif olan

hastalar için ise; serumlarında bulunan allo-IgG antikorlarının hangi antijenlere karşı geliştiğinin tespiti amacıyla PRA sınıf I/II tanımlama testleri yapılmaktadır (7, 8).

Tanımlama testi sonucunda bulunan yüzde PRA değeri, alloantikor özgülüğünü belirlemede, sonraki aşamada verici ile yapılacak olan cross-match sonucunu tahmin etmede ve ayrıca nakil için öncelikli hastalara karar vermede kullanılmaktadır (9). Ancak, PRA testlerinin sonuçları, kullanılan tekniklere, panelin ya da ticari kitin HLA kompozisyonuna bağlı olarak büyük ölçüde değişkenlik gösterebilmektedir (5, 10, 11). Geçmişte, PRA belirlenmesi kompleman-bağımlı sitotoksosite (CDC) yöntemindeki lenfosit hedefleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve CDC yöntemi PRA belirlemede uzun zaman alan standart teknik olarak kabul görmüştür (1, 9). Ancak, son yıllarda biyoteknolojik gelişmeler ışığında CDC-PRA'dan daha fazla duyarlılığa ve özgülüğe sahip olan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Luminex ve akım sitometri gibi solid faz tekniklerin

keşfedilmesiyle anti-HLA antikorlarının belirlenmesi ve tanımlanması alanında büyük bir ilerleme yaşanmıştır (5, 8, 12).

Bu geliştirilen yeni teknikler sayesinde testlerin analitik duyarlılığı ve özgüllüğü artmış ve aynı zamanda hızlı sonuç verme olanağı sağlanmıştır. Araştırmamızın amacı, laboratuvarımızda böbrek nakli bekleme listesine giren diyaliz hastaları için yaptığımız rutin PRA analizinde kullanılan ELISA ve Luminex yöntemlerinin hem tarama hem de tanımlama analizinde etkinliğini karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmaya 2009-2011 yılları arasında İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi'ne başvuran ve son dönem böbrek yetmezliği teşhisiyle hemodiyaliz programına alınan, böbrek nakli bekleme listesine kayıtlı 154 hasta dahil edilmiştir. Hasta grubu 76 kadın ve 78 erkekten oluşmaktadır. 154 diyaliz hastasından alınan serum örneklerinden hem PRA tarama hem de PRA tanımlama analizi yapılmıştır. PRA tarama ve tanımlama analizlerinde ELISA (Biotest, Germany-AbScreen-AbIdent) ve Luminex (Gen-Probe, Stamford USA) yöntemleri kullanılmıştır.

ELISA PRA Tarama ve Tanımlama Yöntemi

ELISA PRA sınıf I ve sınıf II tarama testleri, kit (Biotest, AbScreen HLA classI/II) içeriğinde mevcut olan reaktifler kullanılarak, üretici firmanın belirttiği yöntem takip edilerek çalışılmıştır. Kısaca, kuyularında HLA-sınıf I/II antijenlerin bulunduğu striplere 50 µl hasta serumu eklenmiş ve 37° C'de 45 dk inkübe edilmiştir. Bağlanmayan antikorlar yıkama işlemiyle uzaklaştırıldıktan sonra ilgili kuyulara anti-insan alkalen-IgG konjugat eklenmiş ve 37° C'de 45 dk inkübe edilmiştir. Bağlanmayan IgG'ler yıkama işlemiyle uzaklaştırıldıktan sonra ilgili kuyulara substrat p-nitrofenil fosfat (PNPP) eklenmiştir. Oda ısısında 30 dk inkübasyondan sonra sodyum hidroksit solüsyonu eklenip, ELISA okuyucuda 405-410 nm'de ölçüm yapılmıştır. ELISA PRA sınıf I veya sınıf II sonuçları pozitif çıkan hastalar için ise ELISA PRA sınıf I veya II tanımlama testi (Biotest, AbIdent HLA classI/II) uygulanarak pozitiflik yüzdesi belirlenmiştir.

Luminex PRA Tarama ve Tanımlama Yöntemi

Tüm serum örnekleri Luminex PRA-tarama (LIFECODES LifeScreen Deluxe; GEN-PROBE) ve tanımlama kitlerinden (LIFECODES Class I/II ID; GEN-PROBE) çıkan reaktifler ile Luminex cihazında test edilmiştir. Örnekler üretici firmanın belirttiği yöntem takip edilerek çalışılmıştır. Kısaca, her hastaya ait 12,5 µl serum örneği ve

5 µl sınıf I/II antijenleri ile kaplanmış olan Luminex boncukları 96 kuyuluk plaklarda ilgili yerlere eklenerek 30 dk inkübe edilmiştir. Süre sonunda vakum manifold sistemi kullanılarak 3 kez yıkama işlemi yapılmıştır. Kuyulara anti-human phycoerythrin-IgG konjugattan 50 µl eklenerek 30 dk inkübe edilmiştir. Tüm inkübasyonlar oda ısısında, karanlıkta ve bir rotator sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda plak Luminex-Life-Match cihazına yüklenmiş ve sonuçlar Quick-Type programında analiz edilmiştir. Her boncuktan yayılan sinyal yoğunluğu, üretici firmanın belirlediği negatif ve pozitif kontrol serum örnekleriyle muamele edilen boncuklarla karşılaştırılmıştır. Luminex PRA sınıf I veya sınıf II sonuçları pozitif çıkan hastalar için ise Luminex PRA sınıf I veya II tanımlama testi uygulanarak HLA sınıf I ve sınıf II antikorlarının spesifikliğı ve yüzde değerleri belirlenmiştir.

İstatistik

İstatistiksel analizler SPSS 10.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntemler arasındaki istatistiksel farklar parametrik olmayan verileri kapsayan yöntemler için ki-kare analizi yapılarak, parametrik verileri kapsayan yöntemler için Mann-Whitney U testi kullanılarak saptanmıştır.

Bulgular

PRA HLA Sınıf-1 tarama sonucunda ELISA yöntemiyle 25/154 (%17) örnek pozitif bulunurken; aynı örnekler Luminex yöntemiyle çalışıldığında 46/154 (%30)'sı pozitif bulunmuştur. PRA HLA Sınıf-2 tarama analizinde ise ELISA yöntemiyle 22/154 (%14) örnek pozitif bulunurken; Luminex yöntemiyle 53/154 (%34)'ü pozitif bulunmuştur. ELISA yöntemiyle pozitif bulunan PRA Sınıf-I ve PRA Sınıf-II tarama analizlerinin tümü LUMINEX yöntemiyle de pozitif bulunmuştur (Tablo 1).

Sonuç olarak, PRA Sınıf-1 tarama analizinde örneklerin %12'si ($p<0.05$; $\chi^2=14.4$) ELISA ve Luminex ölçümleri arasında uyumsuzluk gösterirken; PRA Sınıf-2 tarama analizinde örneklerin %20'si ($p<0.05$; $\chi^2=26.47$) ELISA ve Luminex ölçümleri arasında uyumsuzluk göstermektedir.

PRA HLA Sınıf-1 tanımlama sonucunda ELISA yöntemiyle 25/154 (%16) örnek pozitif bulunurken; aynı örnekler Luminex yöntemiyle çalışıldığında 45/154 (%29)'sı pozitif bulunmuştur. PRA HLA Sınıf-2 tarama analizinde ise ELISA yöntemiyle 26/154 (%17) örnek pozitif bulunurken; Luminex yöntemiyle 55/154 (%34)'ü pozitif bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 1. ELISA ve LUMINEX yöntemleri ile çalışılan 154 serum örneğinin PRA tarama test sonuçlarının dağılımı.

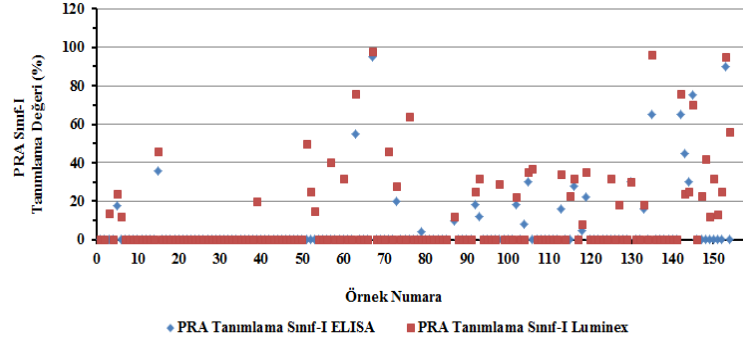
Yöntem	Sınıf-I			Sınıf-II		
	Pozitif (%)	Negatif	Toplam	Pozitif (%)	Negatif	Toplam
ELISA PRA Tarama	25 (%17)	129	154	22 (%14)	132	154
LUMINEX PRA Tarama	46 (%30)	108	154	53 (%34)	101	154

Tablo 2. ELISA ve LUMINEX yöntemleri ile çalışılan 154 serum örneğinin PRA tanımlama test sonuçlarının dağılımı.

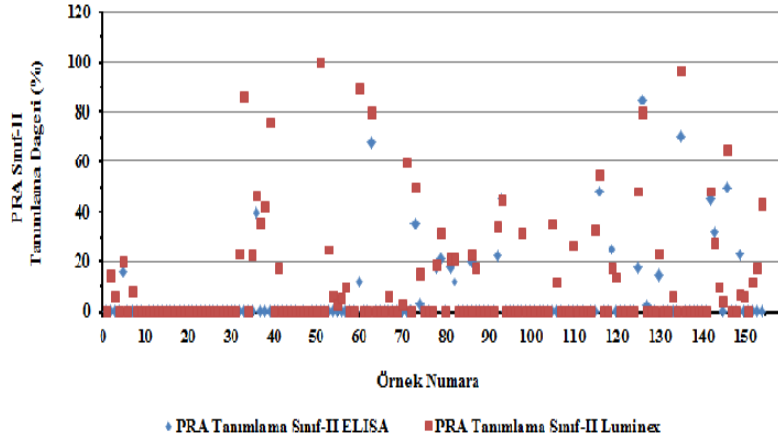
Yöntem	Sınıf-I			Sınıf-II		
	Pozitif (%)	Negatif	Toplam	Pozitif (%)	Negatif	Toplam
ELISA PRA Tanımlama	25 (%17)	129	154	26 (%16)	128	154
LUMINEX PRA Tanımlama	45 (%29)	109	154	55 (%35)	99	154

ELISA PRA tanımlama ve Luminex tanımlama sonuçları arasında 57/154 (%28) örnekte uyumsuz sonuç saptanmıştır ($p<0.001$) (Şekil 1A-1B). Ayrıntılı incelendiğinde, PRA Sınıf-I tanımlama analizine bakıldığında 24 örnek ELISA ve Luminex yöntemlerinde farklı sonuçlar vermiştir. Bu örneklerin 22'sinde ELISA tanımlama negatif iken Luminex'de pozitif; 2'sinde ELISA pozitif iken

Luminex'de negatif bulunmuştur (Şekil 1A). PRA Sınıf-II tanımlama analizinde 33 örnek ELISA ve Luminex yöntemlerinde farklı sonuçlar vermiştir. Bu örneklerin 32'sinde ELISA tanımlama negatif iken Luminex pozitif; 1'inde ELISA pozitif iken Luminex negatif bulunmuştur (Şekil 1B).



Şekil 1a. Serum örneklerinde PRA Sınıf-I tanımlama düzeylerinin ELISA ve Luminex yöntemleri ile ölçüm değerleri.



Şekil 1b. Serum örneklerinde PRA Sınıf-II tanımlama düzeylerinin ELISA ve Luminex yöntemleri ile ölçüm değerleri.

ELISA yöntemiyle yapılan tarama ve tanımlama test sonuçları karşılaştırıldığında; ELISA tanımlama analizinde toplamda (Sınıf-I ve Sınıf II beraber) 30/154 (%19) örnek ELISA tarama sonuçları ile uyumsuz bulunmuştur. Ayrıntılı olarak incelendiğinde ELISA PRA Sınıf-I tarama ile ELISA PRA Sınıf-I tanımlama analizi arasında 26 örnekte uyumsuzluk saptanmıştır. Bu 26 örneğin 13'ünde (73., 92., 102., 104., 113., 116., 118., 130., 133., 135., 142., 153., 154. örnekler) PRA tarama sonucu negatif iken tanımlama sonuçları pozitif; 13 örnekte (25., 88., 94., 103., 114., 117., 120., 131., 134., 136., 146., 147., 154. örnekler) PRA tarama sonucu pozitifken tanımlama sonucu negatif bulunmuştur. ELISA PRA Sınıf-II tarama ile tanımlama analizi arasında ise 4 örnekte uyumsuzluk saptanmıştır. Bu örneklerin 4'ünde (73., 74., 131., 146. örnekler) PRA tarama Sınıf-II sonucu negatif iken aynı yöntem ile tanımlama sonuçları pozitif bulunmuştur (sırasıyla; %35, %3, %15 ve %50).

Luminex tanımlama analizinde toplamda 3/154 (%2) örnek Luminex tarama sonuçları ile uyumsuzluk gösterdiği saptanmıştır. Ayrıntılı olarak incelendiğinde Luminex PRA Sınıf-I tarama ile tanımlama analizi arasında 1 örnekte uyumsuzluk saptanmıştır. Bu örnekte (147) Luminex PRA Sınıf-I tarama sonucu pozitif iken tanımlama sonucu negatif (%0) bulunmuştur. Luminex PRA Sınıf-II tarama ile

tanımlama analizi arasında 2 örnekte uyumsuzluk saptanmıştır. Bu iki örnekte (38. ve 82.) Luminex PRA Sınıf-II tarama sonucu negatif iken tanımlama sonuçları pozitif (%42 ve %21) bulunmuştur.

Tartışma

Bu çalışmada İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Hastanesinde diyalize giren ve böbrek nakli olmayı bekleyen 154 hastanın ELISA ve Luminex yöntemleriyle çalışılan PRA tarama ve tanımlama sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Yapılan analizlere göre; ELISA PRA ve Luminex PRA sınıf I tarama sonuçları arasında %87 uyum bulunurken, PRA sınıf II tarama sonuçları arasında %80 uyum bulunmuştur. Luminex PRA tarama testinde ELISA yöntemiyle bulunan sonuçlara göre daha fazla pozitiflik saptanmıştır. Her iki yöntemle yapılan tanımlama sonuçları arasında ise toplamda %72 uyum saptanmıştır. Bunun dışında aynı yöntemin tarama ve tanımlama sonuçları incelendiğinde; ELISA PRA tarama ve tanımlama sonuçlarının %19 oranında uyumsuzluk gösterdiği belirlenirken, Luminex PRA tarama ve tanımlama sonuçları arasında %2 gibi ELISA sonuçlarına göre daha az bir uyumsuzluk olduğu belirlenmiştir. Anti-HLA antikorları böbrek nakli için zorlu bir engeldir (6). Bu nedenle, HLA antikorlarının spesifitesi ve panel reaktivitenin belirlenmesi temeline dayanarak, hasta

serumlarının dikkatli taranmasıyla böbrek nakillerinin başarı şansı arttırılabilir (13). Muhtemel solid organ alıcılarında sensitizasyon düzeyini ölçmek ve prognozu öngörmek için farklı PRA yöntemleri dünya genelinde kullanılmaktadır (14). Colombo ve arkadaşlarının yaptığı, böbrek nakli için bekleyen ve nakil olmuş toplam 1421 hastayı içeren bir çalışmada PRA tarama yöntemi olarak Luminex ve CDC metodları kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre iki yöntem arasında %85 uyum olduğu gösterilmiş ve bazı antikorların spesifitelerinin belirlenmesinde ise CDC metodunun başarısız olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca, Luminex yönteminin daha az pahalı, daha kullanışlı ve sonuçların analizinde belli bir uzmanlık gerektirmemesi bakımından bir başka PRA yöntemi olan akım sitometriye göre daha avantajlı olduğu da belirtilmiştir (15). Jung ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise böbrek nakli olmuş hastalardan elde edilen toplam 111 serum örneği ELISA, Tepnel-Luminex ve One Lambda-Luminex PRA yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. İki Luminex yöntemi arasında belli bir fark gözlenmezken her iki Luminex yönteminden elde edilen sonuçların ELISA'ya göre daha fazla pozitiflik içerdiği ve her üç yöntem arasındaki uyumun %62.2 olduğu belirlenmiştir. Sonuçta HLA antikorlarının belirlenmesinde Luminex yönteminin ELISA'ya göre daha sensitive olduğu ve transplantasyon laboratuvarlarında rutin bir test olarak kullanılabilceği belirtilmiştir (16). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise Kurtulmuş ve arkadaşları kronik böbrek yetmezliği olan hastalardan elde ettikleri serumların analizinde akım sitometri PRA ve Luminex PRA yöntemlerini kullanmışlardır. Sınıf I PRA testinin her iki yöntem arasındaki uyumu %67.6 bulunurken, sınıf II PRA testi sonuçları %70.7 uyum göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Luminex yöntemiyle daha fazla pozitiflik tespit edilmiştir (1). Muro ve arkadaşları, böbrek nakli olmuş tek bir olguya ait serum örneğini dört farklı PRA yöntemi ile analiz etmişlerdir. CDC, ELISA ve akım sitometri ile tespit edilemeyen antikorların Luminex yöntemiyle tespit edildiği, bu sonuçlar ışığında da Luminex yönteminin antikor belirlemede diğer yöntemlerden daha güvenli ve sensitive olduğu sonucuna varmışlardır (11). PRA yöntemlerinin birbirlerine göre üstünlüklerinin tartışıldığı Picascia ve arkadaşlarının yaptığı derlemede solid faz teknolojilerin CDC yönteminden daha sensitive ve spesifik olduğu ve ayrıca Luminex yaklaşımının ELISA'dan kesinlikle daha hassas olduğu belirtilmiştir (2). Tait ve arkadaşlarının yaptığı bir derlemede ise tüm organ nakilleri öncesinde HLA antikorlarının belirlenmesinde Luminex yöntemlerinin ELISA'dan daha büyük hassasiyete sahip olduğu vurgulanmıştır (12). Yapılan mevcut literatür taraması sonuçlarına göre bulgularımızın literatürle uyumlu olduğu sonucuna varmış bulunmaktayız.

Sonuç

Sonuç olarak nakil öncesinde hasta serumundaki antikorların yoğunluğunun ve türünün tespit edilmesi son derece önemlidir (17). Teknolojide yaşanan hızlı gelişmeler muhtemelen yakın gelecekte PRA testlerini daha kullanışlı hale getirecektir (7). Bizim sonuçlarımıza göre ise nakil öncesi rutin PRA analizi için ELISA yöntemi yerine Luminex yönteminin kullanılması; doğru ve hızlı sonuç alınabilmesi bakımından önemlidir.

Kaynaklar

1. Kurtulmuş Y, Ayna TK, Soyöz M, Özyılmaz B, Tanrısev M, Afacan G, Colak H, Pirim I. Comparison of Anti-HLA Antibodies of Kidney Transplant Candidates with Chronic Renal Failure by

- Two Different Methods: Flow-PRA and Luminex PRA. *Transplant Proc* 2013; 45(3): 875-7.
2. Picascia A, Infante T, Napoli C. Luminex and antibody detection in kidney transplantation. *Clin Exp Nephrol* 2012; 16(3): 373-81.
3. Huh KH, Kim MS, Kim HJ, Joo DJ, Kim BS, Ju MK, Kim SI, Kim YS. Renal transplantation in sensitized recipients with positive luminex and negative CDC (complement-dependent cytotoxicity) crossmatches. *Transpl Int* 2012; 25(11): 1131-7.
4. Fuggle SV, Martin S. Tools for Human Leukocyte Antigen Antibody Detection and Their Application to Transplanting Sensitized Patients. *Transplantation* 2008; 86(3): 384-90.
5. Jang JY, Kim YJ, Kim Y, Park YJ, Han K, Oh EJ. Application of calculated panel reactive antibody using HLA frequencies in Koreans. *Ann Lab Med* 2012; 32(1): 66-72.
6. Cecka JM. Calculated PRA (CPRA): The New Measure of Sensitization for Transplant Candidates. *Am J Transplant* 2010; 10(1): 26-9.
7. Gebel HM, Bray RA. Sensitization and sensitivity: defining the unsensitized patient. *Transplantation* 2000; 69(7): 1370-4.
8. Murphey CL, Forsthuber TG. Trends in HLA antibody screening and identification and their role in transplantation. *Expert Rev Clin Immunol* 2008; 4(3): 391-9.
9. Kerman RH, Orosz CG, Lorber MI. Clinical Relevance of Anti-HLA Antibodies Pre and Post Transplant. *Am J Med Sci* 1997; 313(5): 275-8.
10. Elgueta S, Fuentes C, López M, Hernández J, Arenas A, Jiménez M, Gajardo JG, Rodríguez H, Labraña C. Effect of Implementing Anti-HLA Antibody Detection by Luminex in the Kidney Transplant Program in Chile. *Transplant Proc* 2011; 43(9): 3324-6.
11. Muro M, Llorente S, González-Soriano MJ, Minguela A, Gimeno L, Alvarez-López MR. Pre-formed Donor-Specific Alloantibodies (DSA) Detected Only by Luminex Technology Using HLA-Coated Microspheres and Causing Acute Humoral Rejection and Kidney Graft Dysfunction. *Clin Transpl* 2006; 379-83.
12. Tait BD, Hudson F, Cantwell L, Brewin G, Holdsworth R, Bennett G, Jose M. Review article: Luminex technology for HLA antibody detection in organ transplantation. *Nephrology (Carlton)* 2009; 14(2): 247-54.
13. Barocci S, Valente U, Nocera A. Detection and analysis of HLA class I and class II specific alloantibodies in the sera of dialysis recipients waiting for a renal retransplantation. *Clin Transpl* 2007; 21(1): 47-56.
14. Mishra MN, Baliga KV. Significance of panel reactive antibodies in patients requiring kidney transplantation. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2013; 24(3): 495-9.
15. Colombo MB, Haworth SE, Poli F, Nocco A, Puglisi G, Innocente A, Serafini M, Messa P, Scalapogno M. Luminex technology for anti HLA antibody screening: evaluation of performance and impact on laboratory routine. *Cytometry B Clin Cytom* 2007; 72(6): 465-71.
16. Jung S, Oh EJ, Yang CW, Ahn WS, Kim Y, Park YJ, Han K. Comparative Evaluation of ELISA and Luminex Panel Reactive Antibody Assays for HLA Alloantibody Screening. *Korean J Lab Med* 2009; 29(5): 473-80.
17. Ayna TK, Diler AS, Şentürk H, Gürtekin M, Çarın M. Flow Cytometry ile Panel Reaktif Antikorların Belirlenmesi. *Klinik Gelişim*. 2006. Cilt: 19, Say: 2.

Sorumlu Yazar:

Başak KAYHAN

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, MALATYA 44100
E-mail: basak.kayhan@inonu.edu.tr