

## TIPAJE HLA:

### A) AMPLIFICACIÓN DEL ADN

1. **Preparación hoja de trabajo:** Calcular la cantidad de cada uno de los reactivos que tenemos que usar en función de la cantidad de muestras y del locus a analizar según las siguientes tablas:

Nº muestras	Master Mix	Muestra de ADN	Taq	Agua sin nucleasas
1	7.5 ul	100 ng	0.25 ul	Hasta 25 ul

2. Vortear las muestras y los Master Mix.
3. Preparar las mezclas según volúmenes anteriores.
4. Hacer un spin a las muestras y añadir volumen de DNA tomando de la parte superior.
5. Añadir el volumen de mezcla correspondiente homogeneizando mediante pipeteo.
6. Introducir los tubos sobre el termociclador
7. Cerrar bien los tubos.

### **2. Programa de amplificación:**

95°C 5 min

---

95°C 30 sg  
 60°C 45 sg  
 72°C 45 sg

Número de ciclos: 8

---

95°C 30 sg  
 63°C 45 sg  
 72°C 45 sg

Número de ciclos: 32

---

72°C 15 min

4° C ∞

## **B) HIBRIDACIÓN**

1. Pre-calentar los beads entre 5-10 min a 55- 60°C
2. Pasar el mix de beads por el ultrasonidos 1 min.
3. Agitar en vortex los beads y añadir a cada pocillo:

**5 µl de DNA amplificado + 15 µl del Mix de beads**

**Nota importante:** Volver a agitar el vial de beads después de dispensar cada fila de pocillos.

4. Ejecutar el programa de hibridación

**97°C            5 Minutos**

**47°C            30 Minutos**

**56°C            10 Minutos**

**Mantener a 56°C**

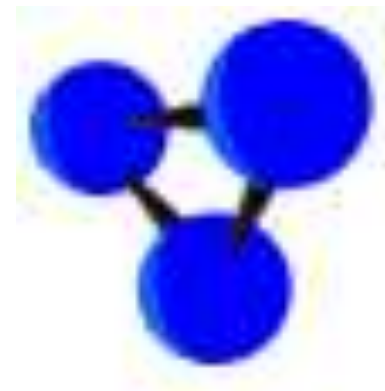
5. Preparar la mezcla de la Solución de Dilución y la Estreptavidina para n + 1 muestras.

**Para 1 muestra: 130 µl Solución dilución + 0.65 µl Estreptavidina.**

6. Introducir las muestras en el programa Quick-Type.
7. Añadir 130 µl de la Solución de Estreptavidina a las muestras, pipeteando suavemente, al finalizar los 10 minutos a 56°C del programa de hibridación manteniendo la placa en el termociclador.
8. Sacar inmediatamente las muestras del termociclador.
9. Colocar las muestras en el analizador.
10. Hacer click en **Start Plate** en la pantalla **Run Batch**.

# TECNOLOGÍA LUMINEX Y TRASPLANTE

Pablo Sanchez Velasco

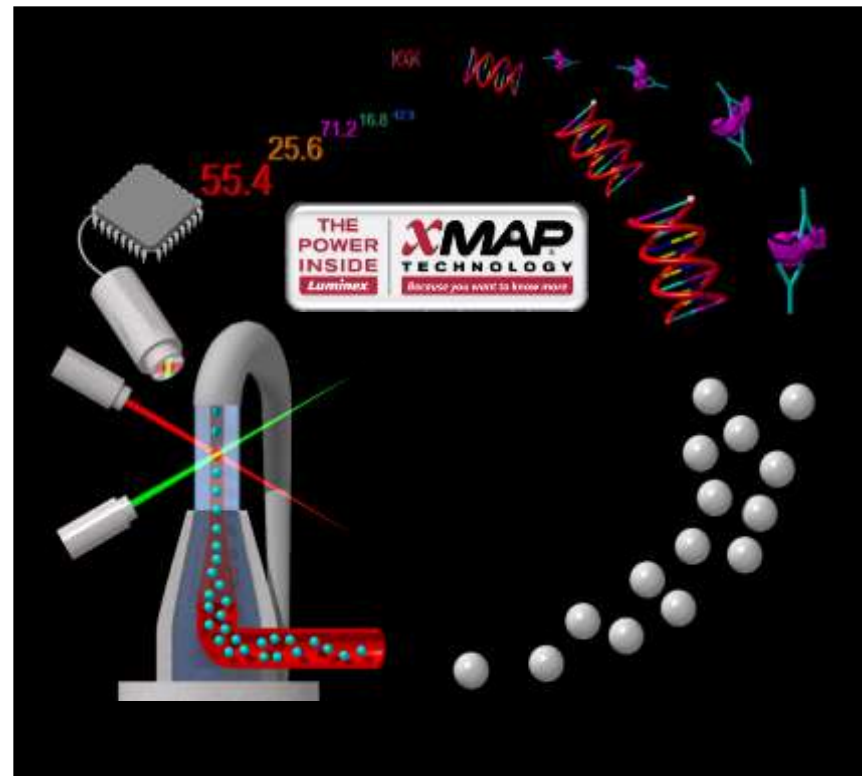




## xMAP TECHNOLOGY Y LUMINEX Corp

**MAP:** Multiple Analytes Profiling  
**X:** Your Variable

- 5 COMPONENTES BÁSICOS:
  - Reactivos biológicos
  - Microesferas
  - Fluidos
  - Ópticas
  - Procesador digital de alta velocidad





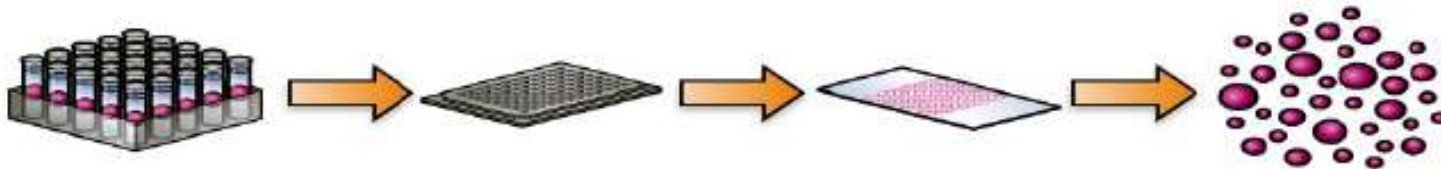
## ENSAYO MULTIPLEX:

Análisis de múltiples analitos en una única muestra

Anticuerpos  
en sandwich:  
Inmunoensa-  
yo ELISA

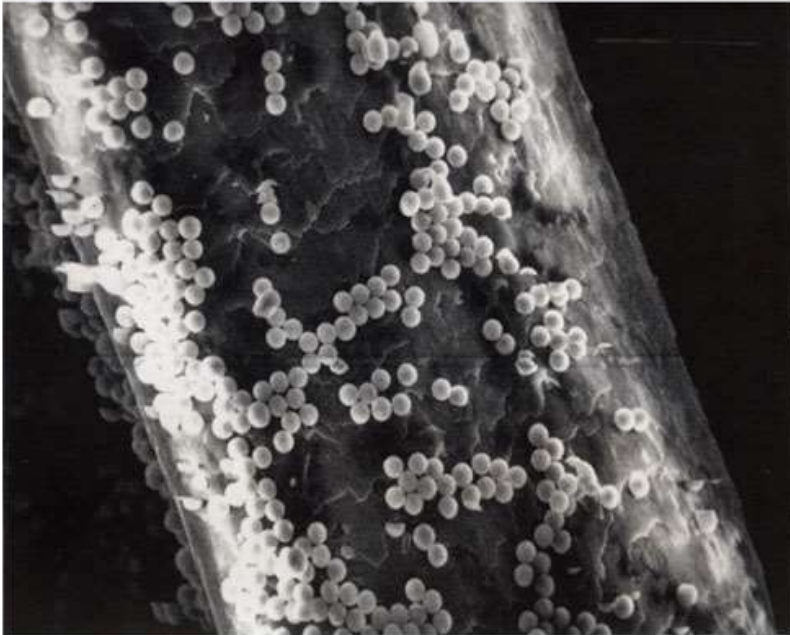
Anticuerpos  
inmoviliza-  
dos en  
chips: Array  
plano

Anticuerpos  
conjugados en  
microesferas:  
Array en  
suspensión



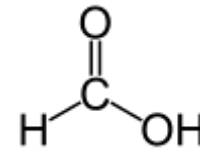


### xMAP : El poder está en las microesferas



Partículas de 3.4 micrones sobre pelo humano, 1000x

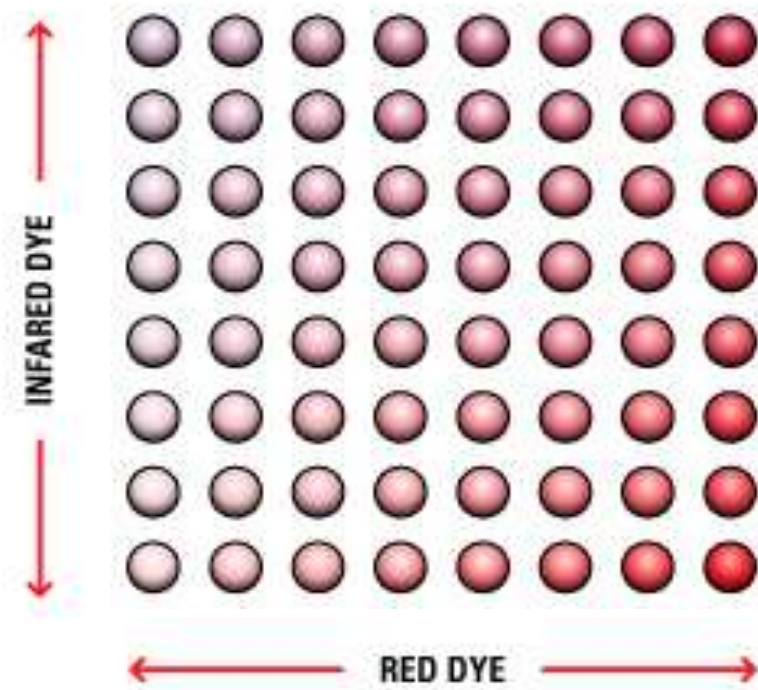
- Microesferas de poliestireno de 5,6 micrones
- Superficie carboxilada



- Tamaño pequeño
  - Suspensión en líquidos
  - Cinéticas rápidas
  - Alta relación superficie-volumen



### 100 GRUPOS DE ESFERAS DE DIFERENTES COLORES

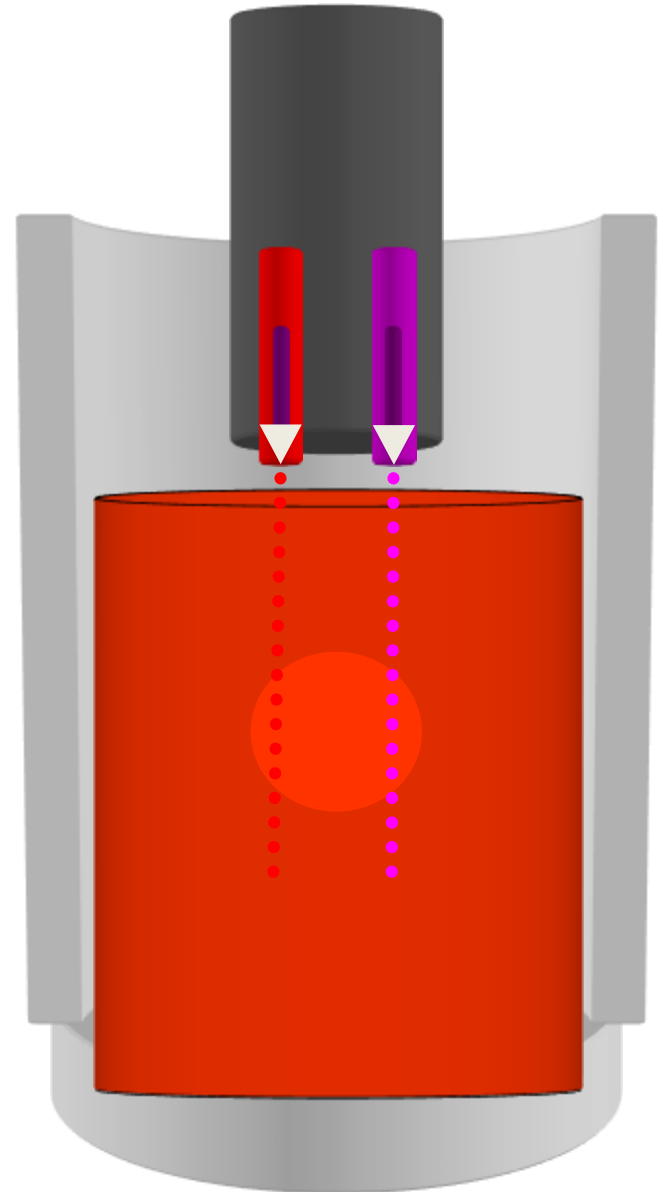


- Se usa una combinación de 2 colorantes para distinguir un grupo de microesferas de otro
- Cada grupo tiene una única fluorescencia de colorante rojo e infrarrojo
- Todas las esferas de un grupo se identifican con un número de identificación ID
- Los 100 grupos permiten estudiar varios analitos (multiplex) en el mismo volumen de reacción



### PRODUCCIÓN DE GRUPOS DE ESFERAS DE DIFERENTES COLORES

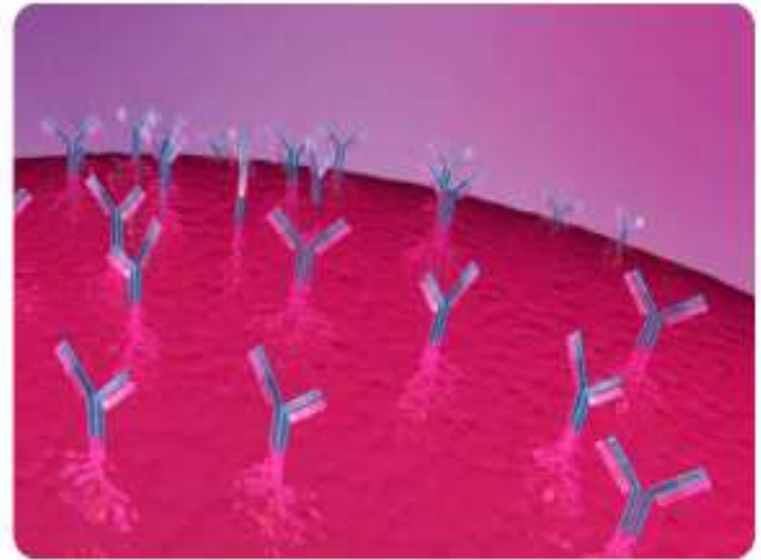
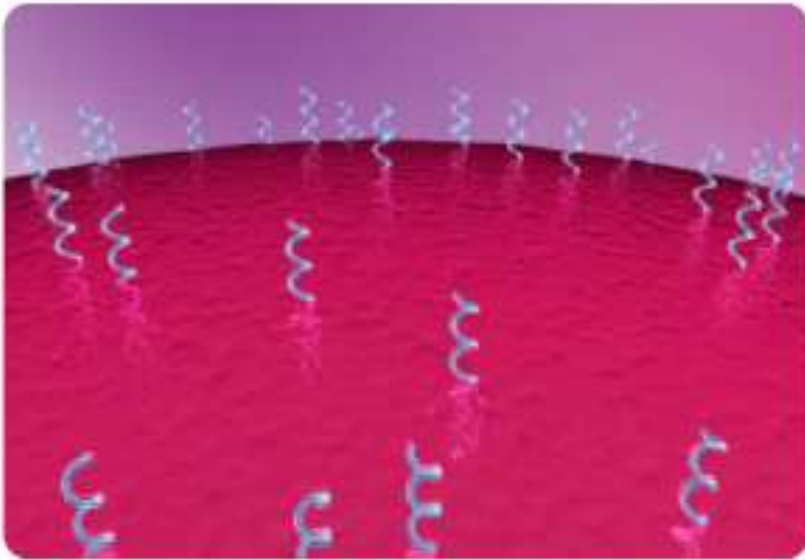
- Se usan 2 colorantes fluorescentes: rojo e infrarrojo
- Se mezclan en la proporción adecuada en solventes orgánicos
- Esferas se inchan y el colorante difunde al interior





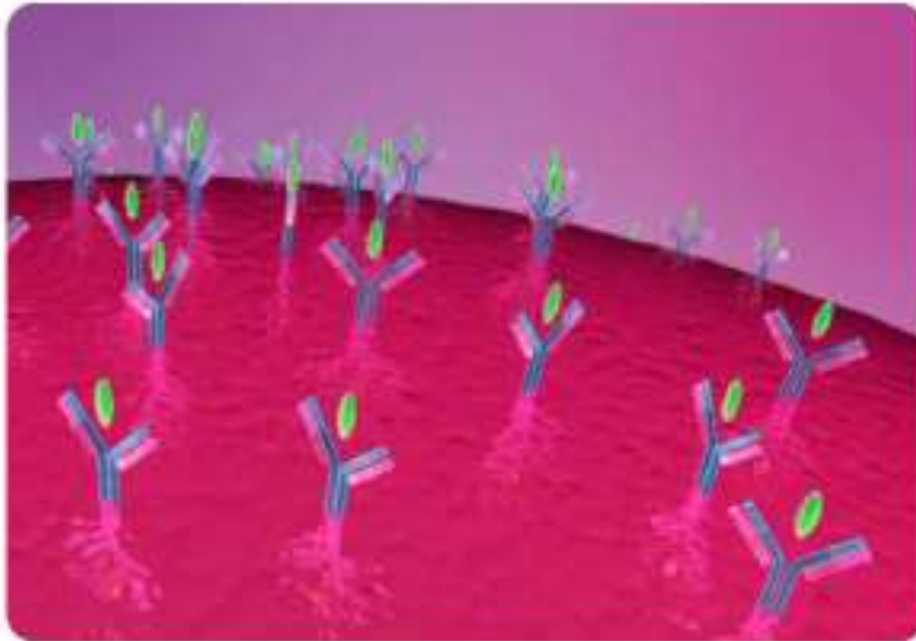


1. Las microesferas están cubiertas un reactivo de captura (oligo, anticuerpo, péptido, receptor)



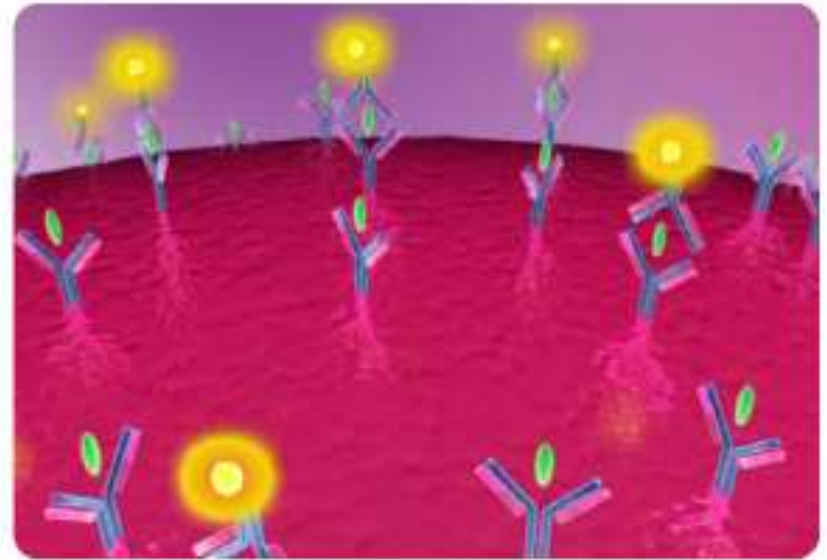
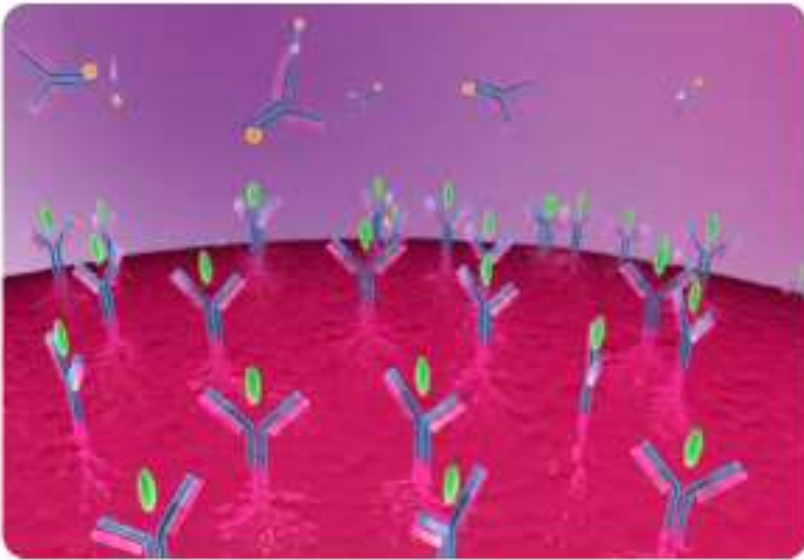


2. Se añade la muestra (analito) a las microesferas



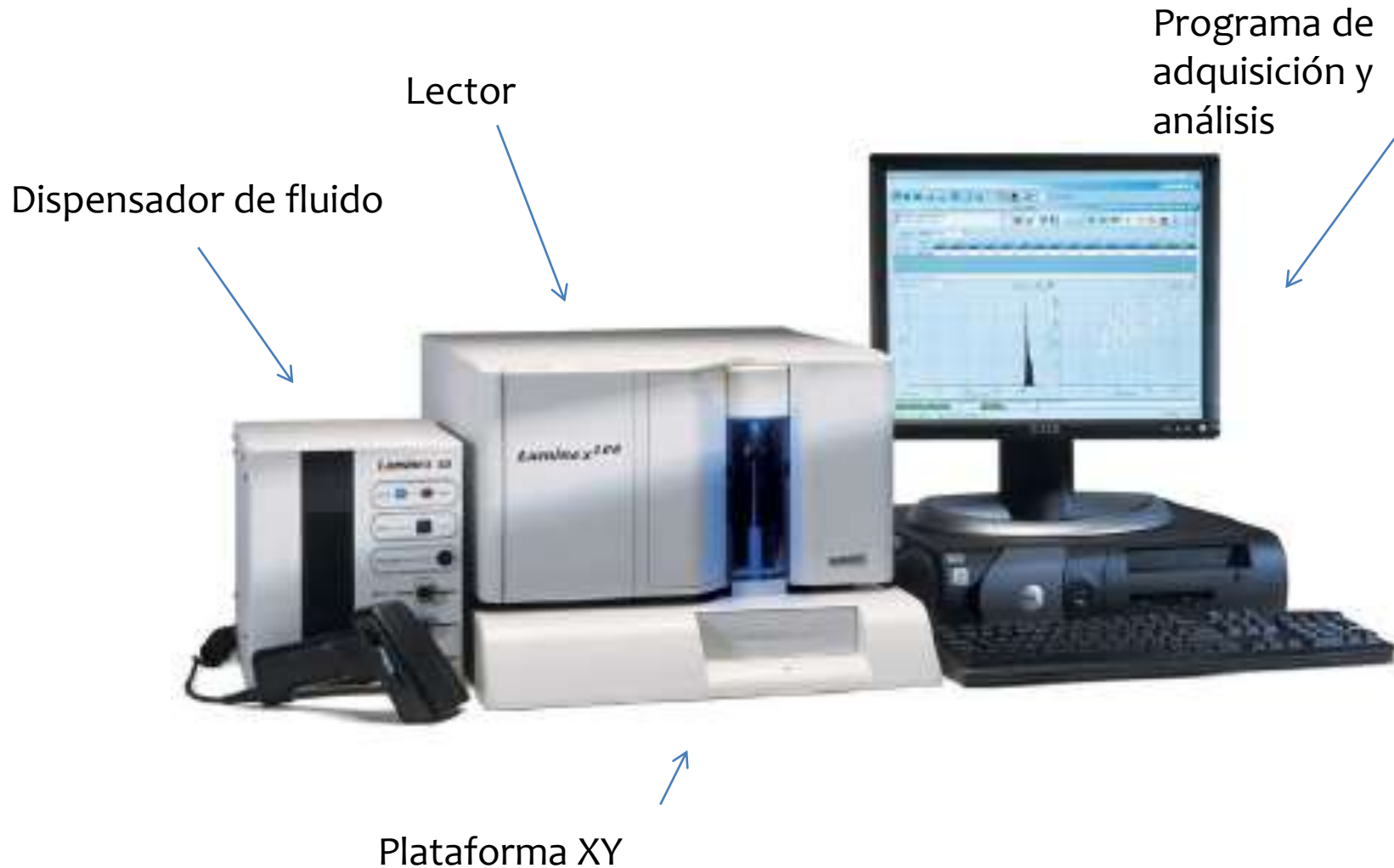


3. Un anticuerpo de detección biotinilado se une a las microesferas
4. Se añade un reporter fluorescente (SA-PE)





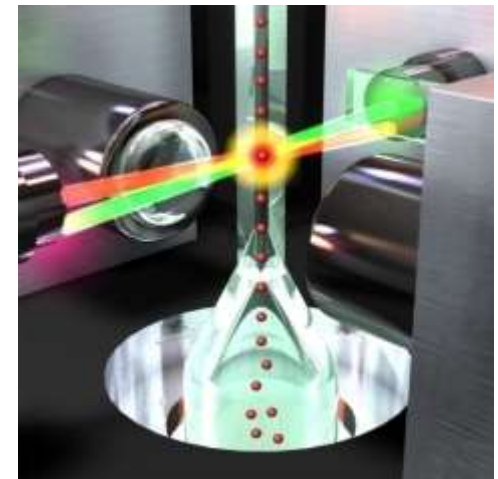
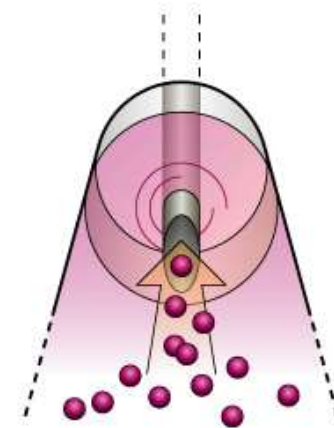
## LUMINEX





### DETECCIÓN DE LAS MICROESFERAS:

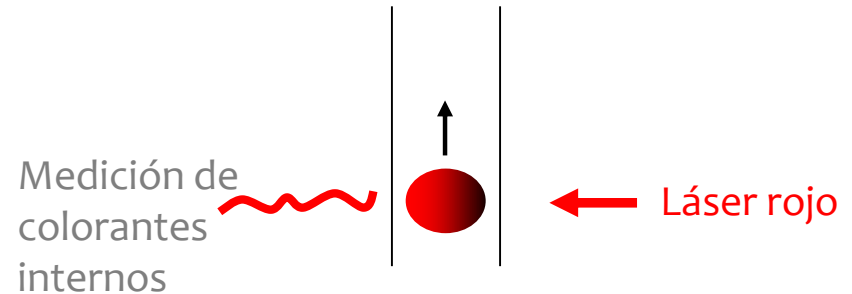
- Aspiración de la muestra
- Se inyecta fluido de sistema (sheath fluid) a la muestra (90 ul/sec)
- La muestra forma una columna fina que fuerza a las esferas a alinearse para pasar por la cuveta de detección



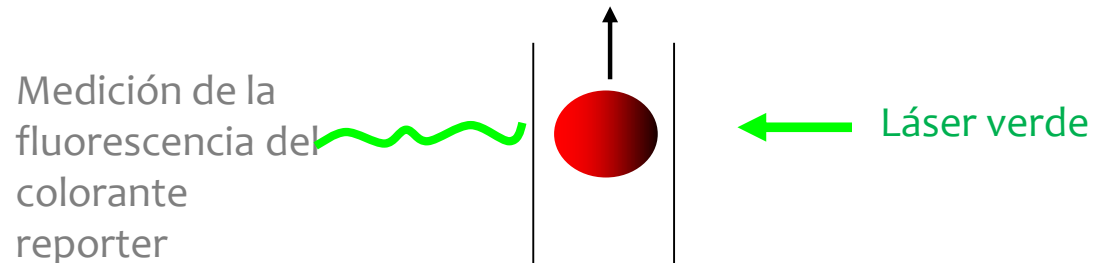


➤ Se detecta cada elemento que pasa por la cuveta de detección

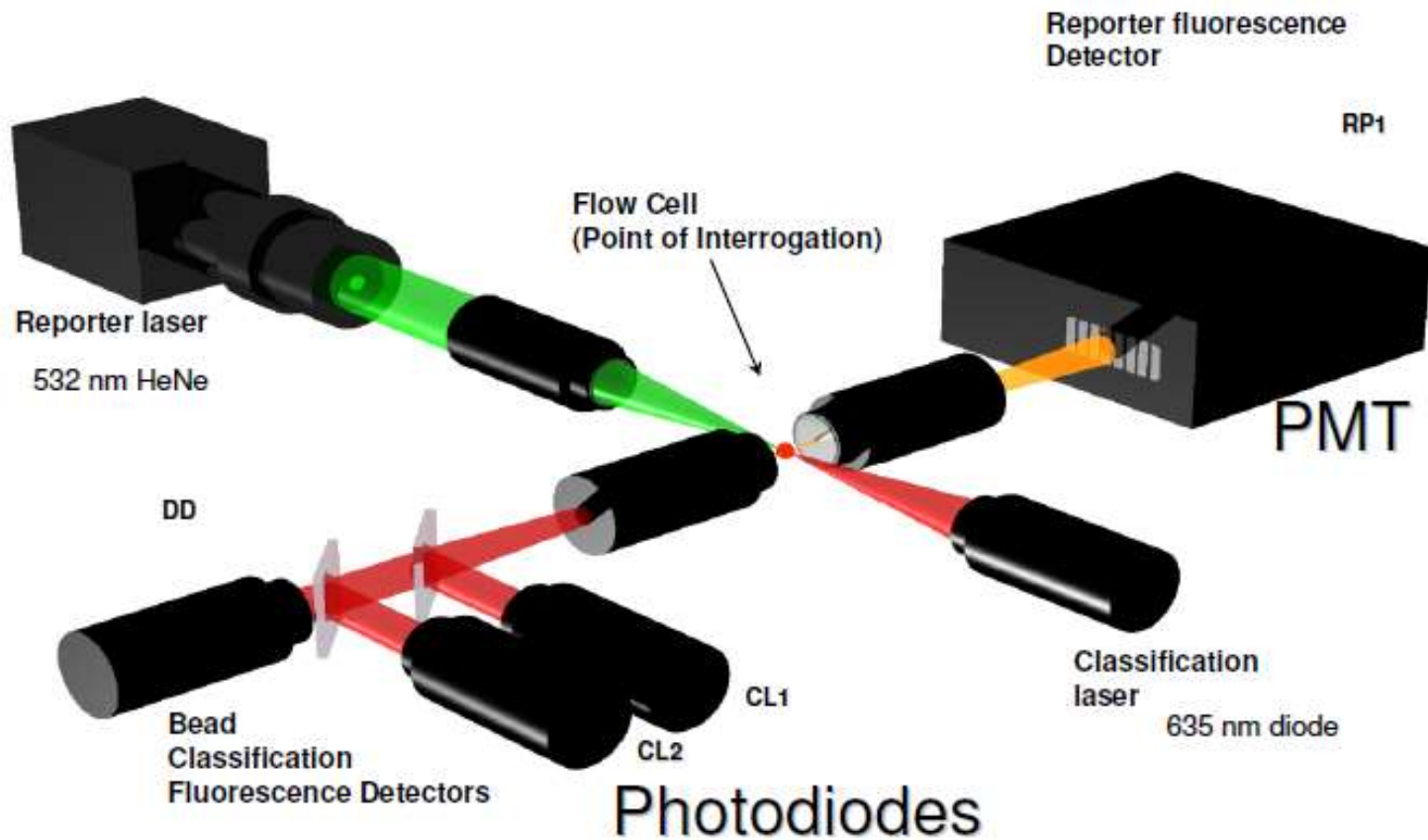
- > El láser rojo excita al colorante interno de la microesfera
- > Se clasifica la esfera en uno de los 100 grupos (ID)



- > El láser verde excita los fluoróforos externos asociados a la unión de PE
- > Se mide la intensidad de fluorescencia (analito)

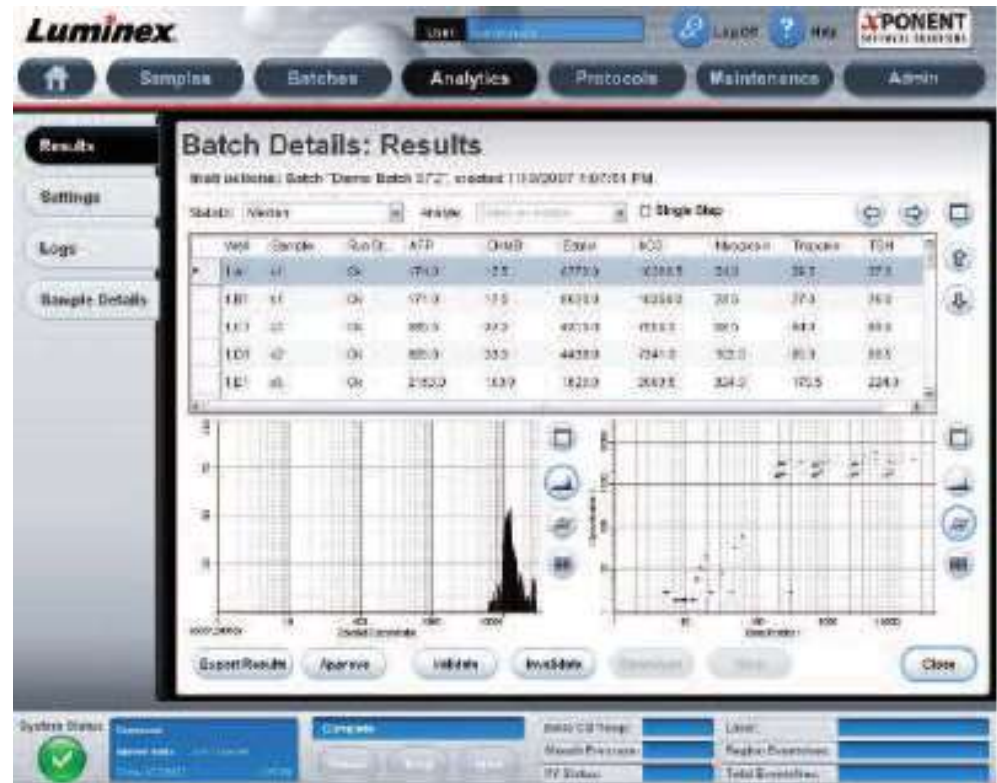


# TECNOLOGÍA LUMINEX DETECCIÓN





- Permite el control del fluoanalizador
- Permite la adquisición y análisis
- Fácil de usar
- Compatible con esferas magnéticas
- Fácil importación / exportación de protocolos
- Muestra resultados en tiempo real
- Se miden 9600 resultados en 1 hora
- Almacena datos en una base de datos





# TECNOLOGÍA LUMINEX

## PROGRAMA xPONENT



- Encendido del aparato
  - Prime
  - Lavados: 70% isopropanol y líquido de sistema
- Realizar calibración
- Programar el experimento
  - Importar protocolo
  - Introducir identificación de las muestras
- Leer muestras
- Realizar otro experimento o apagar el aparato
  - Limpieza con hipoclorito sódico
  - Lavado con agua

Component	Location	Status	Interval
Wentz		Pending	
Probe		Pending	
Alcohol Flush	1:ET	Pending	
Wash	1:BF	Pending	
Wash	1:BF	Pending	
CAL1	1:A30	Pending	
MagCAL1	1:W	Pending	
CAL2	1:CB	Pending	
COH1	1:AT	Pending	
MagCOH1	1:BT	Pending	
COH2	1:CT	Pending	
Wash	1:BF	Pending	
Fluoresc1	1:D1	Pending	
Fluoresc2	1:ET	Pending	
Wash	1:BF	Pending	

Name	Protocol	Protocol Version	Date	Status
Block1_block1_02	River_Cases_17-Plex	1	10/15/2012 4:57 AM	Pending
area1_block1_hsp_01	River_Cases_17-Plex	1	10/15/2012 3:55 AM	Pending
multibatch_block1_17_01	River_Cases_17-Plex	1	10/15/2012 12:34 PM	Pending
M&A_TPLUC_DINBETEC	River_Cases_17-Plex	1	10/15/2012 12:41 PM	Pending
hsp_hsp_block1_17_02	River_Cases_17-Plex	1	10/15/2012 1:00 PM	Pending
hsp_hsp_block1_17_03_10	River_Cases_17-Plex	1	10/15/2012 1:00 PM	Pending
hsp_hsp_block1_17_03_12	River_Cases_17-Plex	1	10/15/2012 2:11 PM	Pending

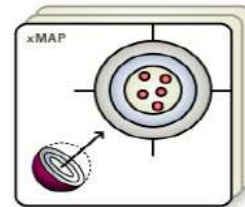


### ESPECIFICACIONES:

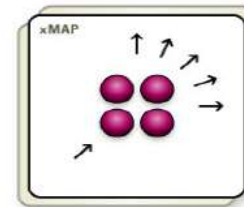
- Muestra: 25-50 ul por pocillo
- Formato: placa 96 pocillos
- Sensibilidad: menos de 200 MESF (molecules of equivalent standard fluorescence)
- Capacidad multiplex: hasta 100 ensayos por pocillo
- Tiempo de lectura: 30 min/placa

### PRECISA, EFICIENTE Y FLEXIBLE:

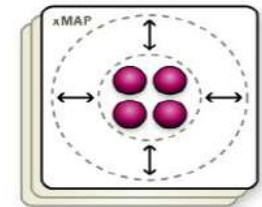
- Resultados multiplex seguros y confiables
- Múltiples reacciones en un solo tubo reducen los costos de los consumibles
- El mismo instrumento puede usarse para diferentes aplicaciones
- La plataforma XY trabaja con placas de 96 pocillos
- Experimentos de 1 a 96 muestras
- Poner la placa e irse



Accuracy/Precision



Efficiency



Flexibility



### TIPOS DE MUESTRA

- Suero
- Plasma
- Sobrenadantes de cultivos
- Lisados
- Orina
- Spots de sangre
- Fluido gingival
- Fluido nasal
- Lágrimas
- Líquido cefalorraquídeo
- Saliva
- Fluido bronqueo-alveolar
- Secreciones vaginales

### VOLUMEN DE MUESTRA

- Protocolos normales: 25-50 ul
- Protocolos reducidos: 25 ul, 10 ul, 5 ul, 1 ul





### COMPARACIÓN xMAP Y ELISA

#### Comparison of the xMAP and ELISA Technologies

Side-by-side comparison of Multiplexing vs. ELISAs  
(Study of 10 different analytes in 80 test samples).



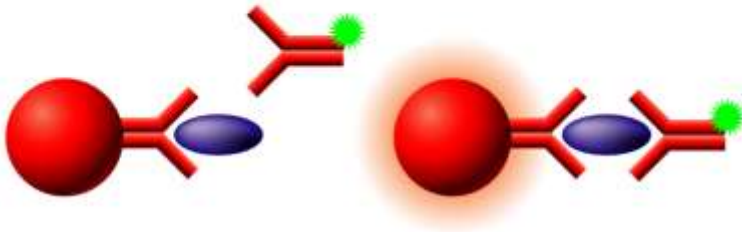
	xMAP Technology	ELISA
Number of plates required	1	10
Results per plate	800	80
Total sample used per panel	50 $\mu$ L	4 ml
Internal controls possible?	YES	NO
Dynamic Range	1-10,000 pg/ml	10-2500 pg/ml
Lower limit of detection	$\sim$ 1 pg/ml	$\sim$ 1 pg/ml



### PLATAFORMA ABIERTA

Immunoassay

---



Nucleic Acid Assay

---



Enzyme Assay

---



Receptor-Ligand

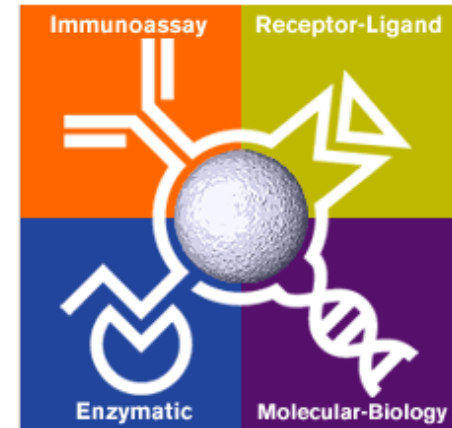
---





## xMAP Technology **Applications Overview**

Open-architecture xMAP® technology, developed by Luminex, is ideally suited to a wide range of applications throughout the drug-discovery and diagnostics fields, as well as basic research. Highly sensitive and accurate, yet designed for high throughput and increased assay speed, xMAP technology can help clinicians and researchers alike save time and costs while boosting productivity.



Learn more about the rapidly expanding menu of applications our partners have developed using the xMAP technology platform.

### **Life Science Research**

#### **Protein Expression Profiling**

- Cancer Markers
- Cardiac Markers
- Cellular Signaling
- Cytokines, Chemokines, and Growth Factors
- Endocrine
- Isotyping
- Matrix Metalloproteinases
- Metabolic Markers
- Neurobiology
- Transcription Factors/Nuclear Receptors

#### **Genomic Research**

- FlexmiR® v2 Custom microRNA Assay
- FlexmiR microRNA Panels
- Gene Expression Profiling
- Genotyping

### **Diagnostics**

#### **Genetic Disease**

- Cystic Fibrosis
- Cytochrome p450

#### **Immunodiagnosics**

- Allergy Testing
- Autoimmune Disease
- HLA Testing
- Infectious Disease
- Vaccine Testing

#### **Biodefense/Environmental**





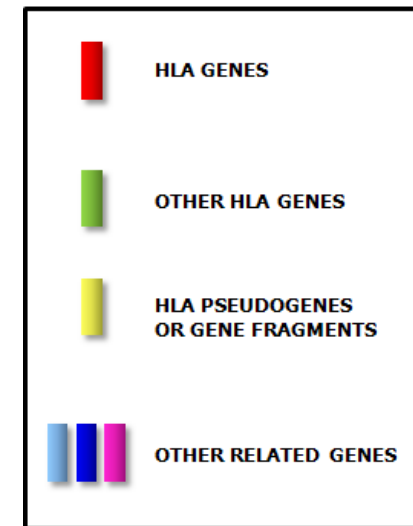
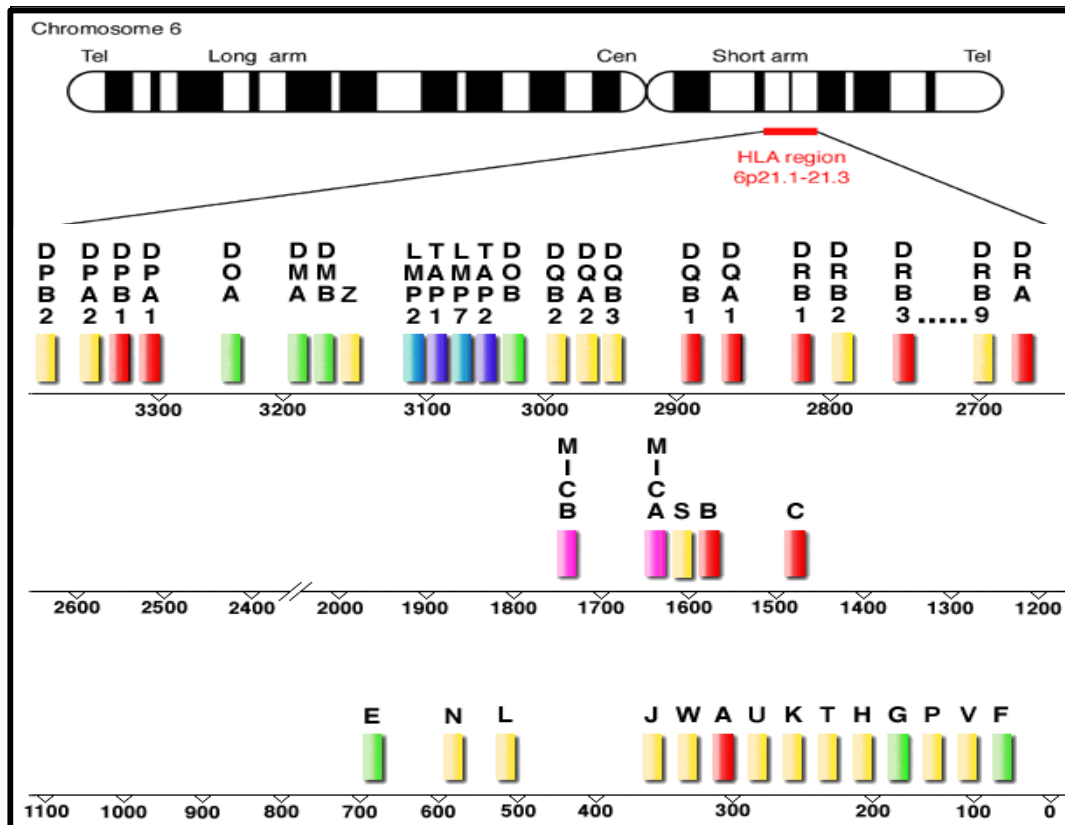
- El “human leukocyte antigen” (HLA) system es el nombre del “major histocompatibility complex” (MHC) en humanos.
- Como resultado de su descubrimiento histórico como factores en el [trasplante](#), las proteínas codificadas por estos genes también se conocen como [antígenos](#). En un trasplante, de un órgano o de células madre, las moléculas de MHC actúan como antígenos y pueden provocar la [respuesta inmune y el rechazo del trasplante](#).
- Las moléculas MHC fueron identificados y nombrados después de comprobar su papel en el rechazo del trasplante entre los ratones de diferentes cepas. Aunque se tardó más de 20 años en aclarar la función del MHC en la presentación de antígenos peptídicos a los linfocitos T citotóxicos.

# HLA

## INTRODUCCIÓN



- El sistema MHC es poligénico; los genes MHC son altamente polimórficos y se expresan de forma codominante.





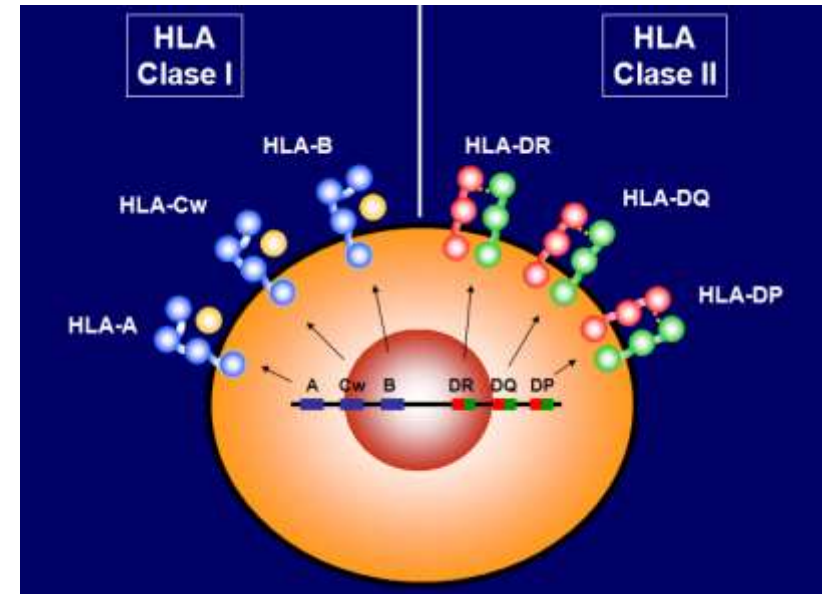
# HLA

## INTRODUCCIÓN

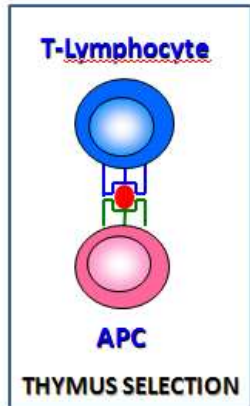


### ➤ Presentación antigénica:

- reconocimiento de lo propio y no propio
- respuesta inmune

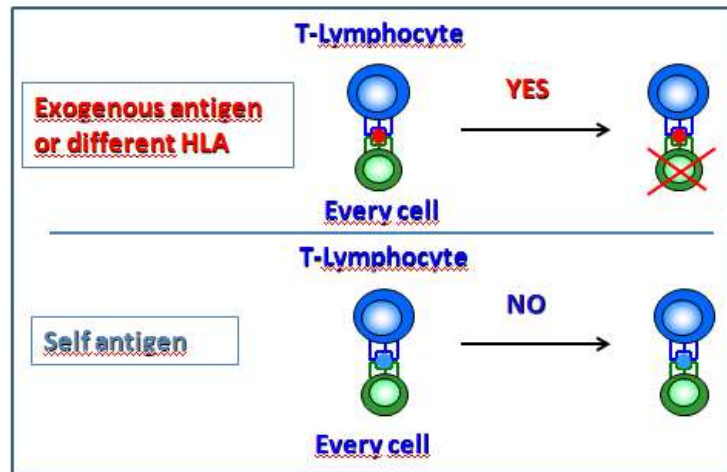


### SELF/NON-SELF DISCRIMINATION



HLA-DR, -DQ, -DP

### IMMUNE RESPONSE

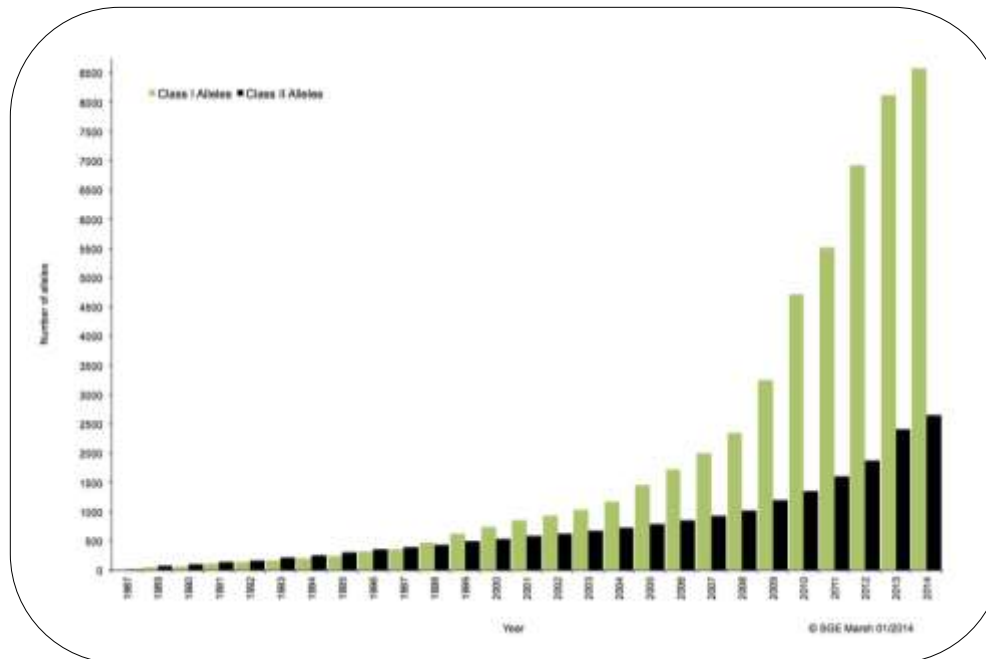


HLA-A, -B, -C



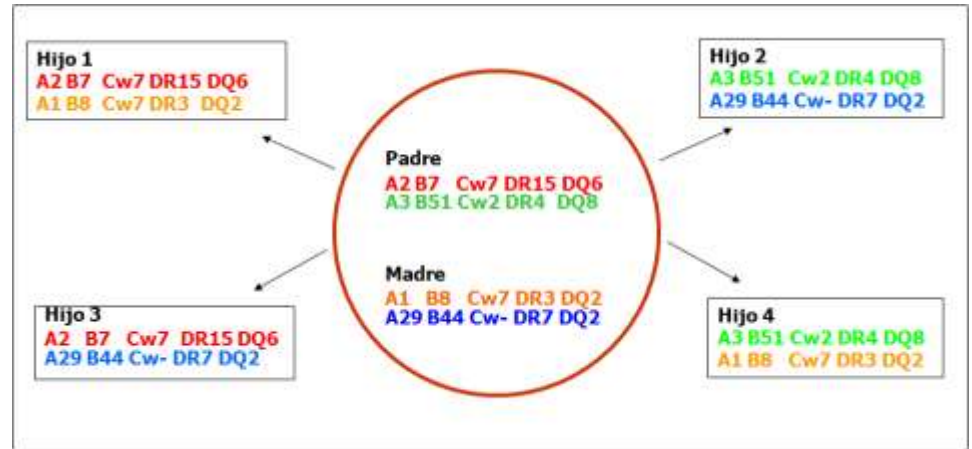
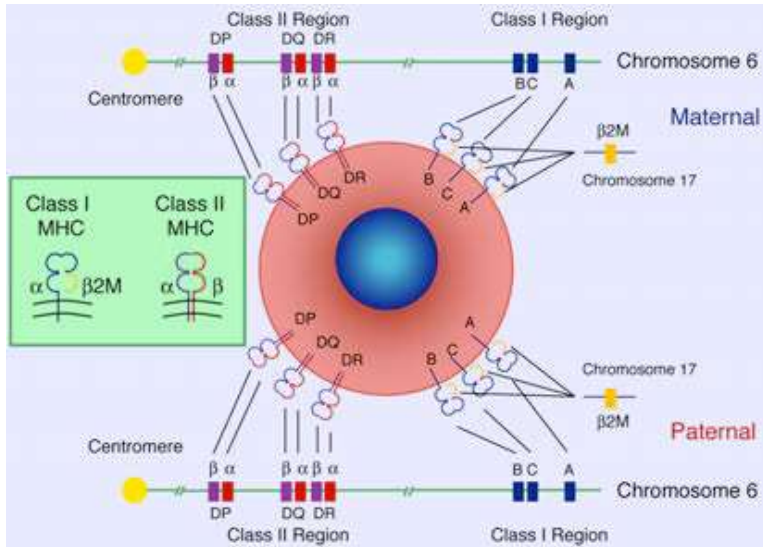
## ➤ Elevado grado de polimorfismo: Antígenos / Alelos

	A	C	B	DRB	DQB	DPB
<b>Serología</b>	6	7	20	48	9	23
<b>Combinaciones:</b>	8.346.240					
<b>Genética molecular</b>	1698	2271	1213	1074	158	149
<b>Combinaciones:</b>	118.266.912.103.858.632					





## ➤ Desequilibrio de ligamiento (Haplotipo extendido)





### ➤ APLICACIONES

#### ➤ Médicas

- Compatibilidad HLA
- Tx de órgano sólido
- Tx precursores hematopoyéticos (TMO, SP, SCU)
- Marcadores de enfermedad
- Farmacogenética

#### ➤ No Médicas

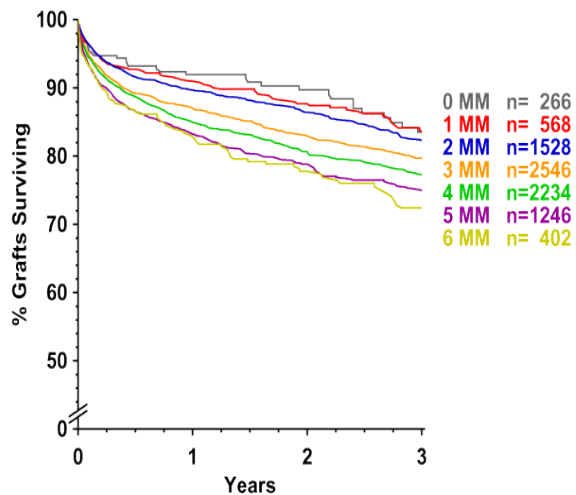
- Forense (Paternidad, restos forenses)
- Genética de poblaciones (Historia, epidemiología)



- Antígenos HLA presentes en la superficie celular afectan al trasplante
- El complejo mayor de histocompatibilidad reconoce y discrimina entre lo propio y lo extraño
- Estudio de compatibilidad HLA
  - *Receptor*: a) tipaje HLA-A, B, DR; alta resolución DRB1 para Tx precursores hematopoyéticos  
b) anticuerpos HLA
  - *Donante*: tipaje HLA-A, B, DR; alta resolución DRB1 para Tx precursores hematopoyéticos

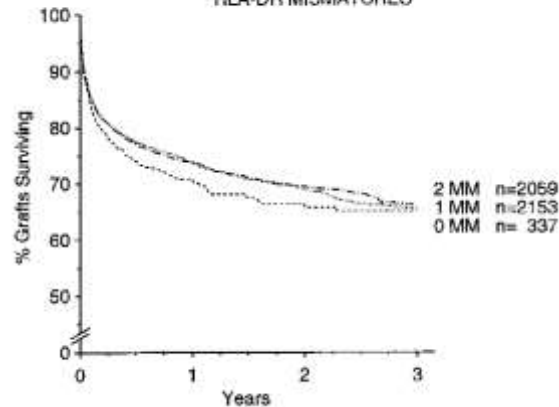
## HLA-A+B+DR Mismatches

First Cadaver Kidney Transplants 1990-2000  
Cold Ischemia 0-12 hours

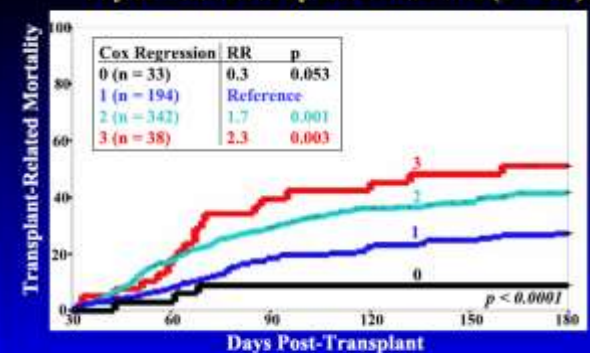


## LIVER TRANSPLANTS

1.TX 1988-1994  
HLA-DR MISMATCHES



## Day 30 - 180 TRM by HLA-Mismatch (n = 607)



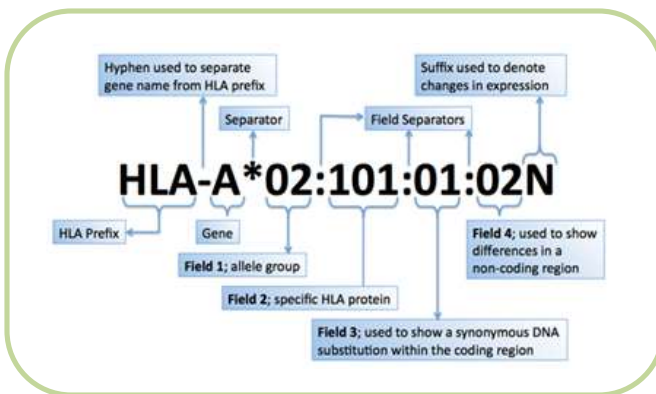
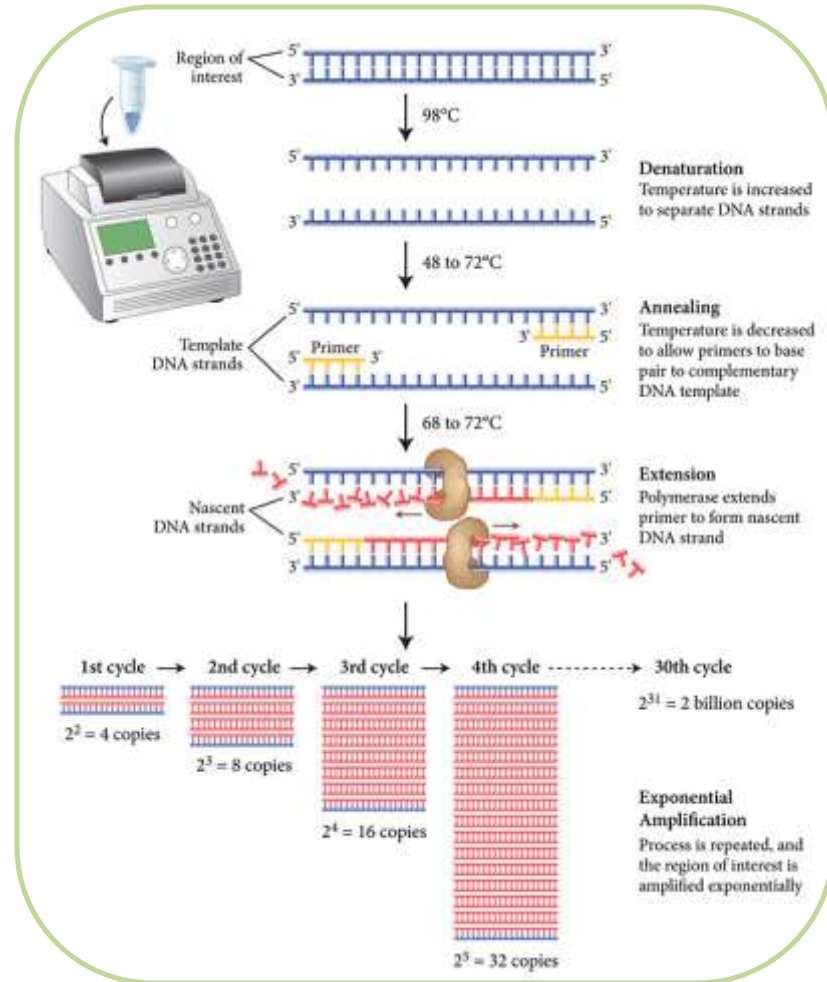
Increasing HLA-mismatch was associated with progressive increase in day 30 - 180 TRM



### ➤ GENÉTICA MOLECULAR: ALELOS HLA

Volumen/Resolución	baja	Intermedia	alta
bajo	SSP	SSP	SSP
medio		SSO-RELI	SBT
alto		SSO-Luminex®	

PCR-SSO (SSO=Sequence Specific Oligonucleotides probes, RELI=Reverse Line blot)  
 PCR-SSP (SSP=Sequence Specific Primers)  
 SBT = Sequencing Based Typing

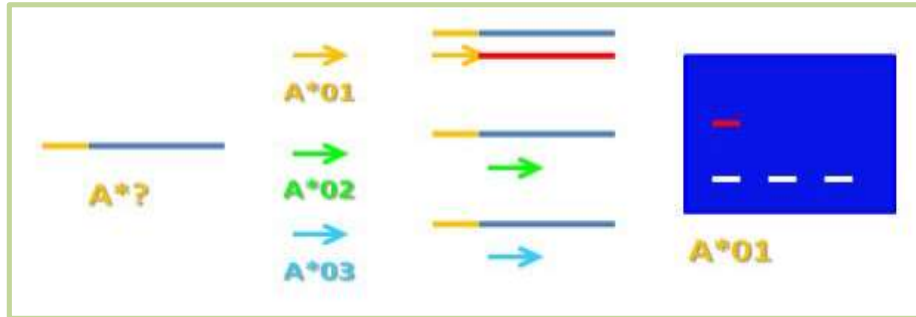


# HLA

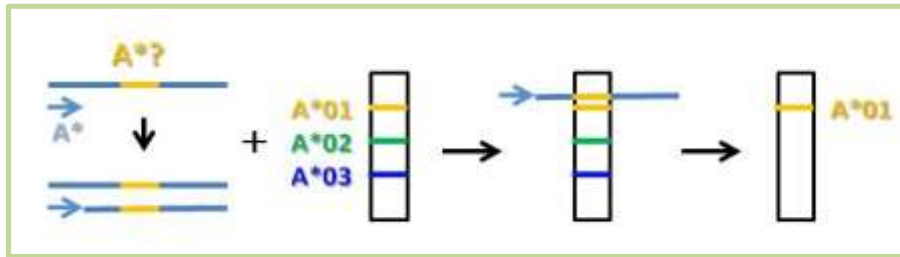
## TIPAJE Y ANTICUERPOS



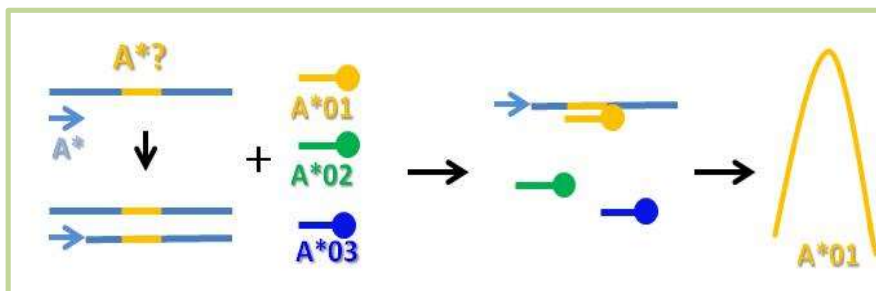
### SSP



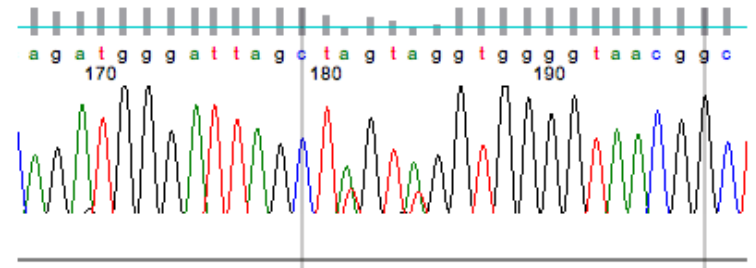
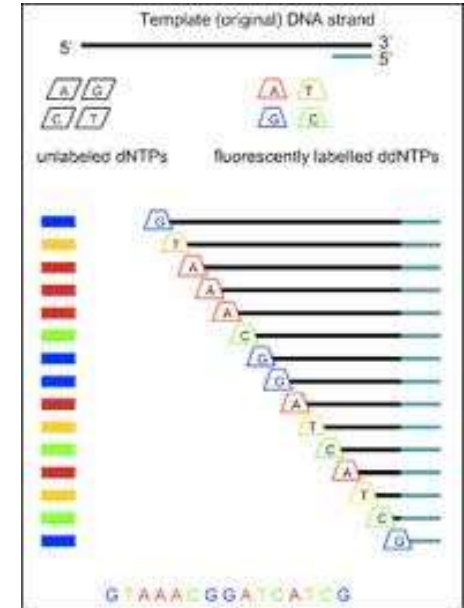
### SSO-RELY



### SSO-LUMINEX



### SBT



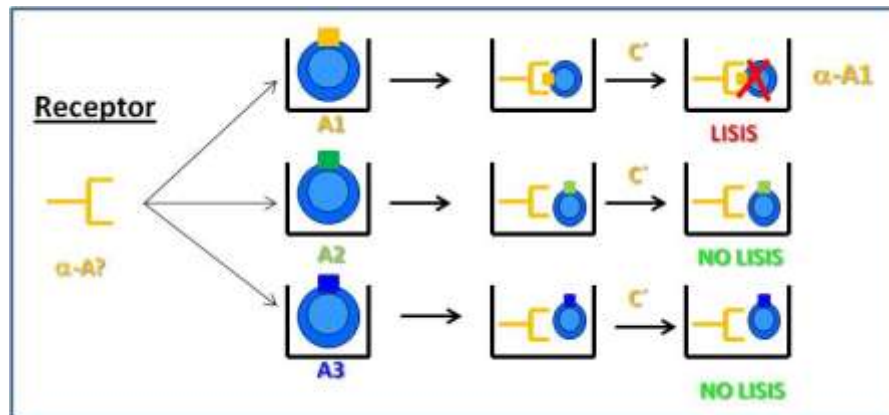
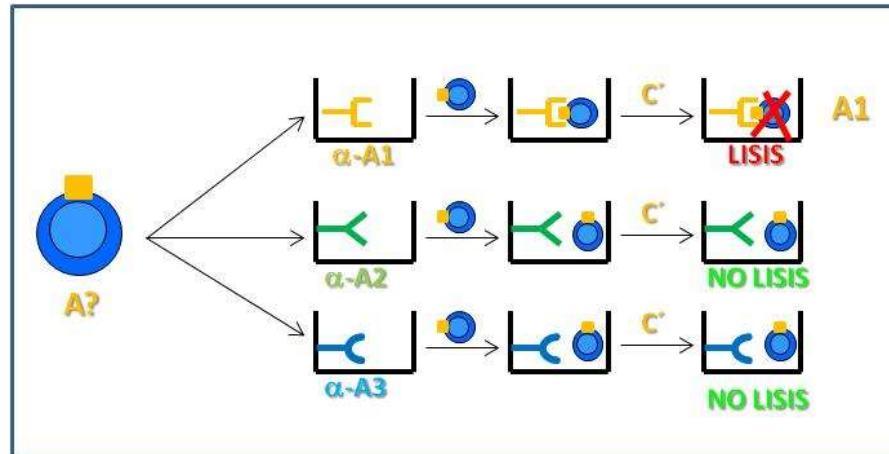


### ➤ SEROLOGÍA: ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS

- Detección de anticuerpos citotóxicos
- Pruebas cruzadas

#### Microlinfo- citotoxicidad:

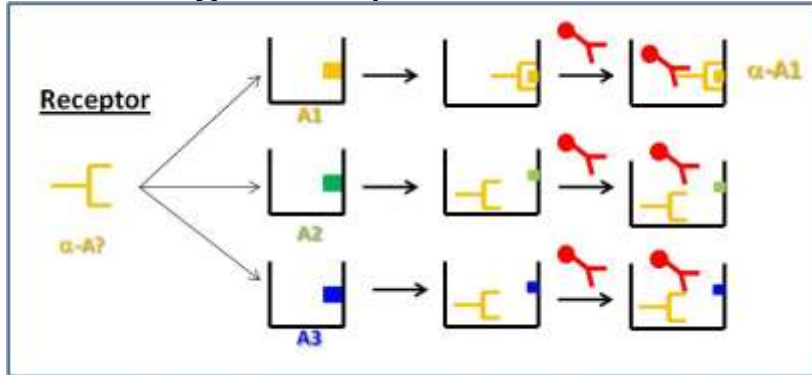
Linfocitos T/B/  
totales  
+ Extensión  
tiempo de  
incubación ó  
+ AHG



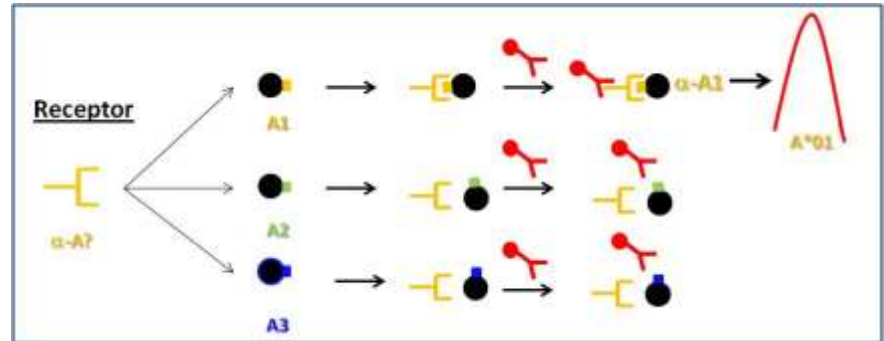




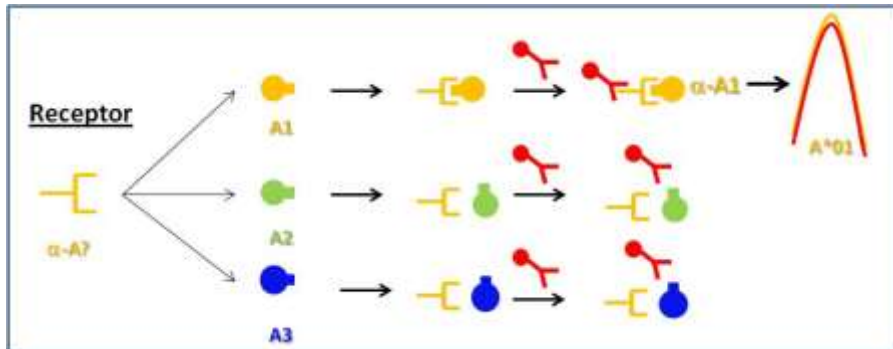
## ELISA: Ag HLA específico



## CITOMETRÍA DE FLUJO



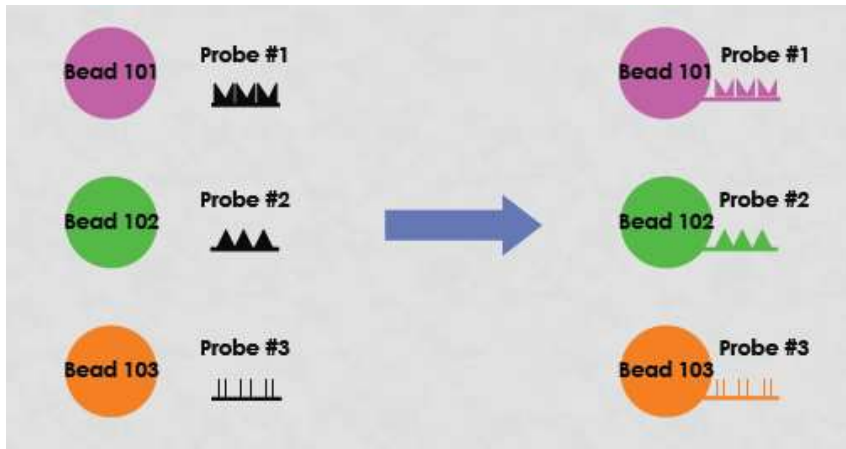
## LUMINEX





## ➤ METODOLOGÍA

- Detección simultánea de hasta 100 grupos de esferas en una única suspensión
- Cada grupo de esferas tiene unida una sonda (oligonucleótido) específica de alelo o grupo de alelos



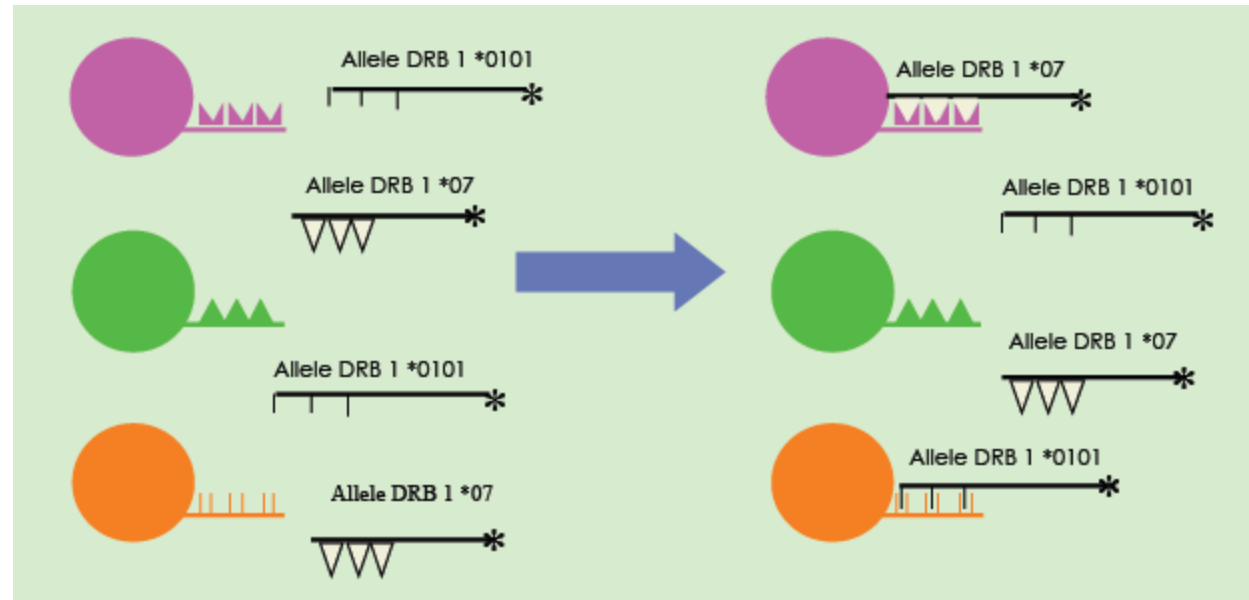
The screenshot shows the Luminex software interface. The main window displays 'Step 2: Select Analytes for '091730-91673A-DRG1''. The interface includes a grid of beads and a table of analytes.

Name	Analysis	Units	Count	Region
CO6	No Analysis	n	60	2
Probe 001	No Analysis	n	60	3
Probe 003	No Analysis	n	60	4
Probe 004	No Analysis	n	60	6
Probe 005	No Analysis	n	60	7
Probe 006	No Analysis	n	60	8
Probe 007	No Analysis	n	60	9
Probe 008	No Analysis	n	60	11
Probe 009	No Analysis	n	60	12
Probe 010	No Analysis	n	60	13
Probe 013	No Analysis	n	60	14
Probe 014	No Analysis	n	60	10
Probe 015	No Analysis	n	60	17
Control bead	No Analysis	n	60	16



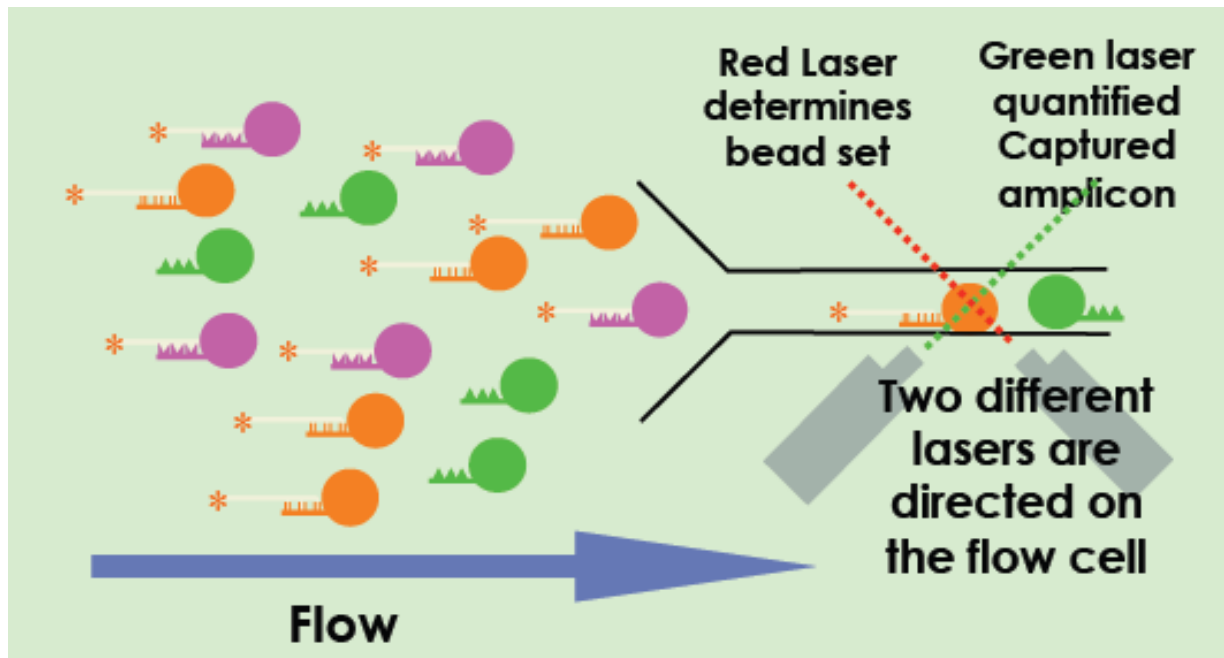
- Se hace una PCR multiplex para amplificar oligonucleótidos específicos de alelos de un locus. Un primer está en exceso.
- El amplicón marcado con biotina durante la PCR se mezcla con la solución de bolitas. Durante la incubación el ADN se unirá a las sondas complementarias
- La reacción de hibridación se marca con SA-PE

## SSO





- El Luminex aspirará la muestra y la pasará por los 2 láseres
  - El laser rojo discriminara el tipo de bolita
  - El laser verde cuantificara la fluorescencia del ADN unido a la bolita





- Se colecta la información de la señal de por lo menos 60 microesferas individuales de cada región (ID)
- El programa calcula y muestra el valor de la mediana de la intensidad de Fluorescencia (MFI) de todos los eventos

- El programa muestra los datos en tiempo real
- Se genera un archivo .csv con los datos adquiridos





## ➤ Análisis y determinación del tipaje:



Match IT DNA

File Settings Tools Help

Home Search  OK

DNA 22-8-2013 dr

Sample Info Reports Comments/Reviewer Info KIR Typing Messaging Sample: 480071

Save Sample 480071 Pairwise ON Merge Supplemental Batch Save Layout

Delete Search Batch Navigation 22-8-2013 dr Display What IF Assignments Merge Null Allele Batch Restore Layout

Hide or Homozygous

Final Assignment: Sample Locus Suggested Assignments Layout

Batch List

Search 22-8-2013 dr

Batch Name	Match Type
22-8-2013 dr	
479464	Exact
480050	Exact
480051	No Match
480052	Exact
480071	Exact
480072	Exact
480128	Exact
480186	Exact
480241	Exact
480311	Exact
480315	Exact
480318	Exact
480320	Exact
480384	Exact

Final Typing Assignments

Locus	Batch Name	AG1	AG2
HLA-A			
HLA-B			
HLA-C			
HLA-DRB1	22-8-2013 dr	07:W6V	03:W6R
HLA-DRB3			
HLA-DRB4			
HLA-DRB5			

Batch Probe Graph

Probe Name 025 MFI Show failed amp Common YAxis Reset Cutoff Edit Graph Print

Batch: 22-8-2013 dr | Probe: 025 - Adjusted Value

Final Typing Assignments Specificities

Suggested Assignments

AG1	AG2	SE1	SE2	Match Type	With Probe
07:01:01:01	03:01:01:01	DR7	DR17(3)	Exact	
07:01:01:01	03:01:01:02	DR7	DR17(3)	Exact	
07:01:01:01	03:01:03	DR7	DR17(3)	Exact	
07:01:01:01	03:01:05	DR7	DR17(3)	Exact	
07:01:01:01	03:01:08	DR7	DR17(3)	Exact	
07:01:01:01	03:01:11	DR7	DR17(3)	Exact	

Sample Analysis

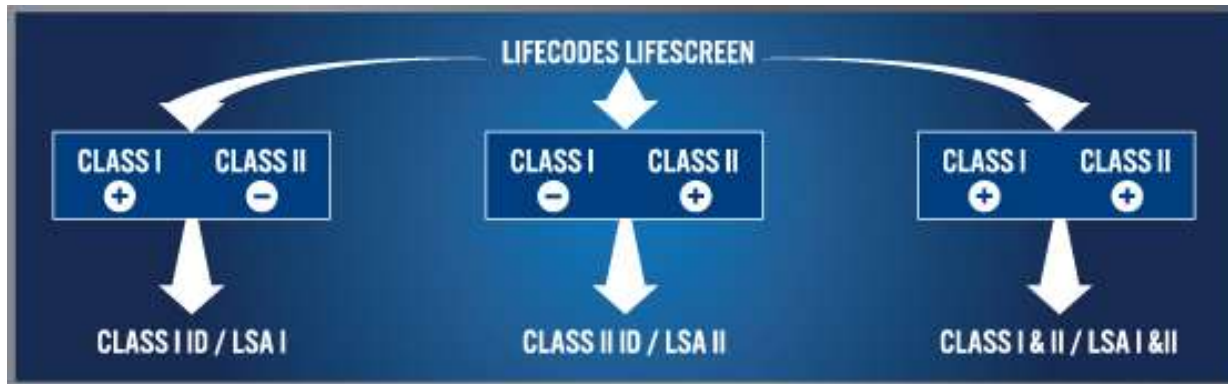
Pairwise Sample Score and Type Reset Allele Comparison Probe CON : 7474

001	003	004	005	006	007	008	009	010	013	014	015	016	019	021	023	024	025	026	027	029	031	033	036	037	038	039	040	041	043	044
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
-100	87	-96	-99	-98	154	-100	-91	126	-99	-71	-96	-49	40	-85	-99	-99	59	-87	-99	-99	148	-96	47	-97	-82	28	-93	-73	-100	52



## ➤ METODOLOGÍA

- Detección simultánea de hasta 100 grupos de esferas en una única suspensión
- Cada grupo de esferas tiene unido mezcla de antígenos o un antígeno específico



### CRIBAJE (Lifescreen)

- Varios antígenos diferentes en cada grupo de esferas
  - 7 esferas Clase I
  - 5 esferas Clase II

### ANTICUERPOS ESPECÍFICOS (LSA)

- Un antígeno en cada grupo de esferas
  - Clase I : 92 antígenos (A, B, C)
  - Clase II : 81 antígenos (DR, DQ, DP)
- IgG, C3d



## SCREENING

5 ul esferas + 12,5 ul suero

↓ Agitar 30 min. a TA

↓ 3 lavados

+ 50 ul conjugado diluido

↓ Agitar 30 min a TA

Diluir y leer en Lx

## LSA

40 ul esferas + 10 ul suero

↓ Agitar 30 min. a TA

↓ 3 lavados

+ 50 ul conjugado diluido

↓ Agitar 30 min a TA

Diluir y leer en Lx

## C3d

40 ul esferas + 10 ul suero

↓ Agitar 30 min. a TA

+ 30 ul suero negativo

↓ 3 lavados

+ 50 ul conjugado C3d diluido

↓ Agitar 30 min a TA

↓ 1 lavado

Resuspender y leer en Lx





# HLA

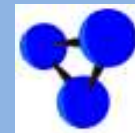
## LUMINEX-ANTICUERPOS



- Se recolecta la información de la señal de por lo menos 60 microesferas individuales de cada región (ID)
- El programa calcula y muestra el valor de la mediana de la intensidad de Fluorescencia (MFI) de todos los eventos

- El programa muestra los datos en tiempo real
- Se genera un archivo .csv con los datos adquiridos





## ➤ Análisis de anticuerpos:



## SCREENING

Match IT!

File Settings Tools Exports/Reports Help

Home Search  OK

Antibody 121120 SCREEN

Sample Navigation: < 129410879 >

Batches

LMX Analysis

Batch Name: 121120 SCREEN Assign Cutoff: 3, 3  
 Run Date: 20/11/12 Assign Adjust: 5, 5  
 Lot Number: 073112-LMX Supplemental Assign Cutoff: 3, 3  
 Expiration Date: 15/07/13 Supplemental Assign Adjust: 5, 5

Reviewed By:

CON Ranges  
 CON 1: 61 - 941 CON 2: 32 - 607 CON 3: 64 - 2421

Save Assignments Complete Approve

---

Sample: 129410932 Well Position: 10  Locked Bead Counts

Patient: 129410932

Draw Date: Class I Assignment: Negative Class II Assignment: Negative

	CI-01	CI-02	CI-03	CI-04	CI-05	CI-06	CI-07	CII-01	CII-02	CII-03	CII-04	CII-05	Pos Ctrl / CONs
Raw	135	110	150	161	144	100	120	259	262	198	187	155	20323
Adj Val1	-1.84	-2.8	-1	-0.86	-1.27	-1.87	-1.86	-0.58	-1.06	-1.2	-1.65	-1.93	85
Adj Val2	-2.06	-3.17	-1.25	-1.25	-1.26	-2.42	-2.07	-0.77	-1.21	-1.44	-2.09	-2.25	79
Adj Val3	-0.89	-1.97	-0.55	-0.55	-1.2	-1.21	0.23	-0.14	-0.59	-1.09	-1		88
Score	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

---

Sample: 129410934 Well Position: 11  Locked Bead Counts

Patient: 129410934

Draw Date: Class I Assignment: Positive Class II Assignment: Positive

	CI-01	CI-02	CI-03	CI-04	CI-05	CI-06	CI-07	CII-01	CII-02	CII-03	CII-04	CII-05	Pos Ctrl / CONs
Raw	532	4219	2377	1458	2537	264	834	15692	14408	15740	13677	7411	18384
Adj Val1	-0.99	15.25	8.14	3.93	8.68	-1.84	0.56	68.35	61.95	68.67	58.89	30.25	218
Adj Val2	0.75	31.19	17	9.07	18.43	-1.45	3.48	128.93	117.58	129.44	111.45	58.6	118
Adj Val3	0.76	22.04	11.97	6.34	13	-0.76	2.42	91.23	83.14	91.4	78.67	41.61	167
Score	0	3	3	2	3	0	0	3	3	3	3	3	

---

Sample: 129410935 Well Position: 12  Locked Bead Counts

Patient: 129410935

Current Window Server: (local)\EVOLUTION\Database: MatchIT11032010060611



## ➤ Análisis de anticuerpos:



LSA

The screenshot displays the Match IT! software interface. The main window shows a table of results for various antibodies. The table columns include Bead, BCM, BCR, AD-BCR, Assignment, A/B/Cw, Bw, Raw Value, Raw Value Graph, and Epitopes. The results are color-coded: red for positive, yellow for weak, and green for negative. The summary panel on the right shows 'Single Antigen Results' for Bw4 and Bw6, and 'Antibody Assignments' for various HLA alleles.

Bead	BCM	BCR	AD-BCR	Assignment	A/B/Cw	Bw	Raw Value	Raw Value Graph	Epitopes
280	12591	125.28	139.98	Positive	B*81:01	Bw6	13057	[Bar]	6501A
236	12687	126.24	208.66	Positive	B*07:02	Bw6	13033	[Bar]	6501A
261	9632	95.84	104.17	Positive	B*42:01	Bw6	9803	[Bar]	6501A
274	7245	72.09	79.31	Positive	B*55:01	Bw6	7464	[Bar]	6501A
252	6828	67.94	73.92	Positive	B*27:08	Bw6	7059	[Bar]	6501A, 65...
281	6676	66.43	70.67	Positive	B*82:02	Bw6	6918	[Bar]	6501A
251	6318	62.87	69.54	Positive	B*27:05	Bw4	6547	[Bar]	6501A, 65...
275	4166	41.45	52.14	Positive	B*56:01	Bw6	4593	[Bar]	6501A
259	3290	32.73	36.74	Positive	B*40:02	Bw6	3711	[Bar]	6501*+16...
278	3538	35.20	35.20	Positive	B*73:01	Bw6	3676	[Bar]	6501A, 65...
258	1927	19.17	38.89	Positive	B*40:01	Bw6	2605	[Bar]	6501*+16...
266	1823	18.13	22.70	Positive	B*47:01	Bw4	2122	[Bar]	6501*+16...
273	1418	14.11	16.70	Weak	E*54:01	Bw6	2088	[Bar]	6501A
230	1239	10.59	14.06	Weak	A*66:02	Bw6	1740	[Bar]	
260	1351	13.44	15.43	Weak	E*41:01	Bw6	1645	[Bar]	
238	1057	10.52	15.02	Weak	E*08:01	Bw6	1455	[Bar]	
250	990	9.85	15.18	Weak	B*27:03	Bw4	1337	[Bar]	6501A, 65...
249	757	7.53	8.58	Weak	B*18:01	Bw6	1228	[Bar]	
237	594	5.91	9.75	Weak	B*07:03	Bw6	1116	[Bar]	
255	-146	-1.45	-1.65	Negative	B*37:01	Bw4	736	[Bar]	
283	-181	-0.93	-1.84	Negative	C*02:02	Bw6	484	[Bar]	
267	-122	-1.21	-2.21	Negative	B*48:01	Bw6	399	[Bar]	6501*+16...
239	-96	-0.96	-1.41	Negative	B*13:02	Bw4	355	[Bar]	6501*+16...
269	-103	-1.02	-1.45	Negative	E*50:01	Bw6	353	[Bar]	
298	-288	-1.48	-3.23	Negative	C*17:01	Bw6	340	[Bar]	
290	-452	-2.33	-2.99	Negative	C*07:01	Bw6	308	[Bar]	
221	-27	-0.23	-0.25	Negative	A*30:01	Bw6	295	[Bar]	

Summary Panel (Right):

Single Antigen Results  
Calculation used for result: Standard Calculation  
Include Weak:   
Remaining Antibodies:

Antigen	% Positive	BCM
Bw4	10	6318
Bw6	39	12687

Antibody Assignments:

Antigen	% Positive	BCM
B*07:02	100	12687
B*27:05	100	6318
B*27:08	100	6828
B*40:01	100	1927
B*40:02	100	3290
B*42:01	100	9632
B*47:01	100	1823
B*55:01	100	7245
B*56:01	100	4166
B*73:01	100	3538

Current Window | Server: (local)\EVOLUTION\database: MatchIT11032010060611

# HLA LUMINEX-ANTICUERPOS



Sample Info    Reactivity Adjustment    Grouping    History    Print Reports

Patient Name: 3092post    Run Date: 22/01/14    Reset Assignments    Update By:    Completed

Patient HLA Type:    Standard Calculation    Comments:    Approved

Lot ID: 092036-061-...    Sample Info    Calculations    Comments

Result	PCP	BCR	AC-BCR	Assignment	A/B/C/e	Sex	Raw Value	Raw Value Graph	Epitopes
211	17807	141.72	105.00	Positive	A*02:03		10100	[Bar]	142HT
210	17413	138.20	104.02	Positive	A*02:07		17742	[Bar]	142HT
208	16497	127.75	177.92	Positive	A*02:01		16419	[Bar]	142HT
233	15548	123.40	162.79	Positive	A*03:01		15972	[Bar]	142HT
231	13717	108.07	138.33	Positive	A*06:01		14061	[Bar]	142HT
209	12949	101.98	117.76	Positive	A*02:02		13190	[Bar]	142HT
232	10738	85.23	158.37	Positive	A*08:02		11176	[Bar]	142HT
252	1049	10.09	11.49	Negative	B*25:01	Dev	1490	[Bar]	
276	692	8.58	11.12	Negative	B*07:01	Dev	1090	[Bar]	
259	498	4.76	9.87	Negative	B*29:09	Dev	1096	[Bar]	
272	407	3.91	4.24	Negative	B*03:01	Dev	742	[Bar]	
281	18	0.17	0.22	Negative	B*14:02	Dev	728	[Bar]	
240	88	0.66	1.09	Negative	B*14:01	Dev	710	[Bar]	
214	54	0.43	0.49	Negative	A*11:02		685	[Bar]	
298	266	1.54	1.94	Negative	C*17:03		631	[Bar]	
290	-448	-2.61	-3.32	Negative	C*07:03		511	[Bar]	
279	285	2.69	3.03	Negative	B*08:01	Dev	607	[Bar]	
249	283	2.72	2.80	Negative	B*08:01	Dev	477	[Bar]	
284	63	0.37	0.46	Negative	C*05:03		463	[Bar]	
246	-110	-1.06	-1.84	Negative	B*15:13	Dev	450	[Bar]	
275	28	0.14	0.17	Negative	B*09:01	Dev	457	[Bar]	
277	154	1.46	2.17	Negative	B*05:01	Dev	456	[Bar]	
294	-949	-2.03	-3.94	Negative	C*12:02		375	[Bar]	
248	66	-0.83	-1.32	Negative	B*15:18	Dev	374	[Bar]	
291	43	0.28	0.29	Negative	C*07:02		369	[Bar]	
366	-22	-0.22	-0.28	Negative	B*47:01	Dev	346	[Bar]	
262	114	1.09	1.83	Negative	B*44:02	Dev	324	[Bar]	

Single Antigen Results

Calculation used for result: Standard Calculation

Include Weak

Remaining Antibodies

Antigen	% Positive	BCR
No items exist in this view.		

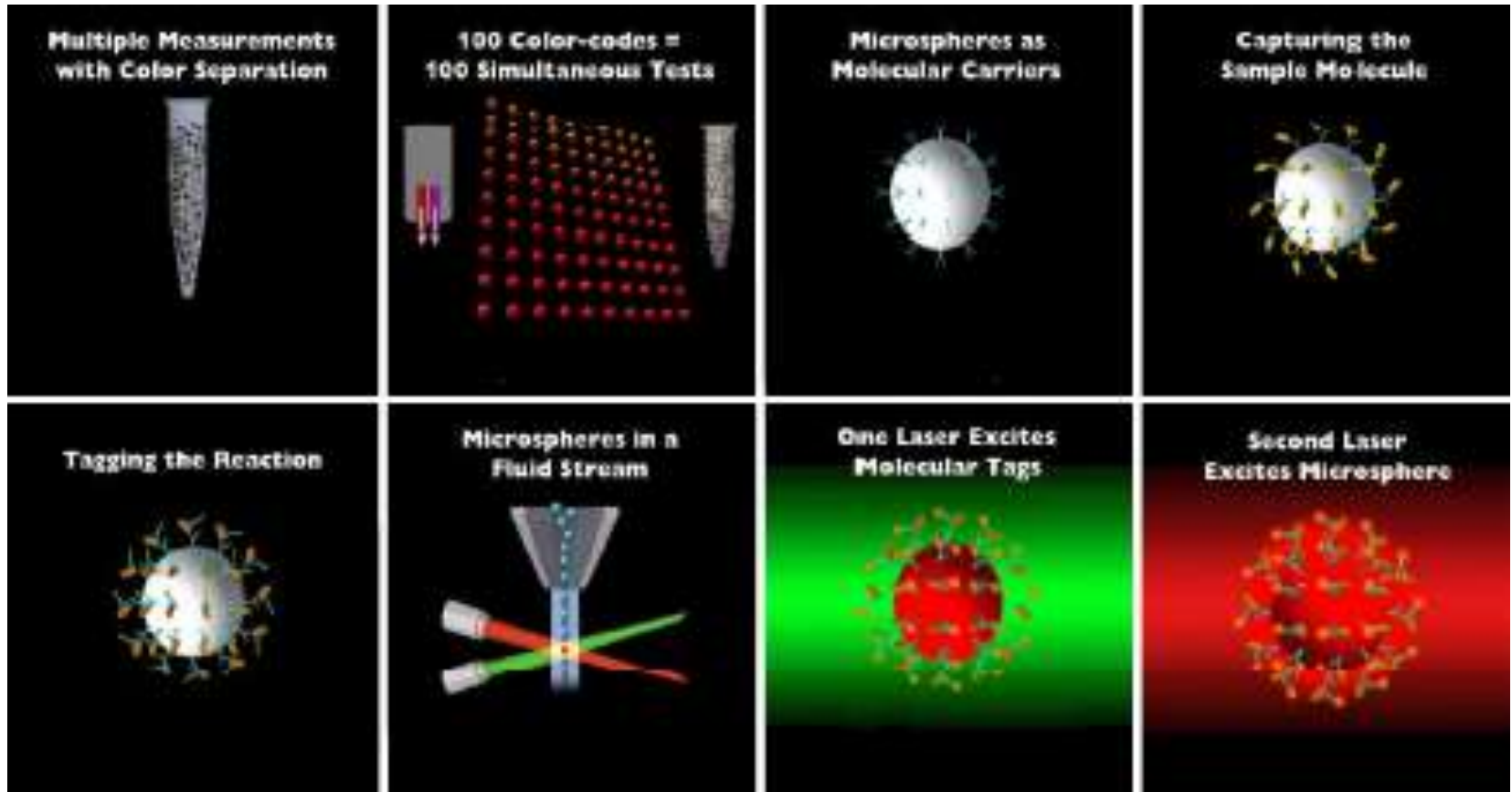
Antibody Assignments

Antigen	% Positive	BCR
A*02:01	100	16097
A*02:02	100	12949
A*02:03	100	17413
A*02:05	100	17807
A*06:01	100	13717
A*08:02	100	10738
A*09:01	100	15548





## LUMINEX

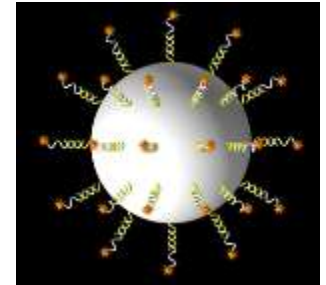




### SSO

- Técnica sencilla para determinación de tipaje
- Resolución: baja - intermedia, alta (eRes)
- Resultado 2-4-6 dígitos o NMDP
- Volumen: bajo – alto
- Posibilidad de secuenciación usando el amplificado del SSO

xMAP + LIFECODES



### ANTICUERPOS



- Técnica sencilla para cribaje y detección de anticuerpos específicos
- Alta sensibilidad
- Posibilidad de variar ajustes de asignación
- C3d
- IgM
- Permite comparar análisis de diferentes fechas

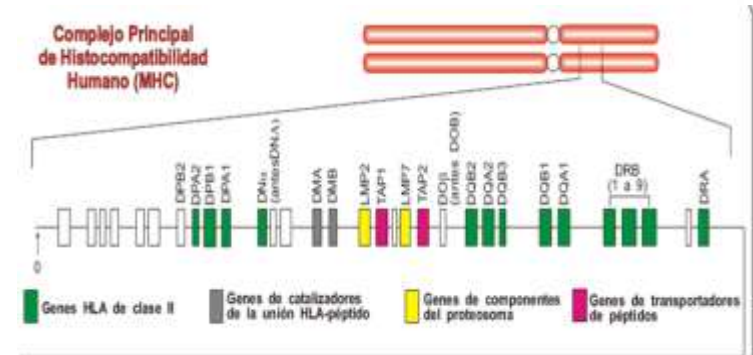
### OTROS

- MicA
- KIR
- PAK



## DIAGNÓSTICA LONGWOOD S.L.

- **1991:** Constitución
- **1992:** Inicio de actividad
- **Actividad:** Distribución en España y Portugal de reactivos de diagnóstico in vitro
- **Ámbito:** HLA, enfermedades genéticas, bancos de sangre y microbiología
- **2011:** Fabricación productos propios
- **2012:** Filial Blackhills Diagnostic Resources 
- **2013:** Constitución Diagnóstica Longwood Latinoamérica 





- Servicio al cliente y departamento de Soporte Técnico altamente cualificados
- Rápida respuesta ante incidentes
- Representación de empresas líderes
- Incorporación continua de nuevos productos
- Importante inversión en equipos en cesión
- Producto propio
- Marca España en actividad de transplantes





# DIAGNÓSTICA LONGWOOD

## PRODUCTOS



### Histocompatibilidad ▼

TIPAJE HLA  
AC ANTI-HLA  
COMPLEMENTO CONEJO  
GENVINSET /  
ENFERMEDAD

### Banco de Sangre ▼

PLAQUETAS  
CRIOPRESERVACION  
GENOTIPADO  
GRUPOS  
SANGUINEOS

### Hematología ▼

COAGULACION

Diagnóstico Molecular

Respuesta Inmune

Investigación

Otros ▼

LESS



OriGen  
BIOMEDICAL



protrans  
medizinische diagnostische produkte gmbh



PRONTO  
DIAGNOSTICS

LIFECODES®



LIFECODES®

Elucigene®  
Clarity without complexity

CYLEX  
ImmuKnow®

LIFECODES®

Bio type®  
Diagnostic GmbH



BDR

BDR



**MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN**

**PABLO SANCHEZ**