

# HLA-A,B Antijenlerinin Serolojik Yöntemle Tespit Edilememesi ve Moleküler Yöntemlerin Kullanımı

## Undetected HLA-A,B Antigens By Serological Method And Application Of Molecular Methods.

Arş.Gör. Yalçın SEYHUN, Arş.Gör. Çiğdem KEKİK, Arş.Gör. Gonca KARAHAN  
Doç.Dr. Fatma S.OĞUZ, Prof.Dr. Mahmut N.ÇARİN

İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

### Özet

HLA sistemi böbrek ve kemik iliği transplantasyonlarında graft rejeksiyonunun en önemli belirleyicilerinden birisidir. Bu nedenle HLA antijenlerinin doğru ve güvenilir tanımlanması önemlidir. EFI tarafından akredite laboratuvarlarımızda HLA-A, B tiplemesi için rutin olarak serolojik yöntem kullanılmaktadır. Serolojik yöntem ile homozigot antijen tespit edildiğinde ya da antijenler tespit edilemediğinde moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Çalışmamızın amacı, serolojik yöntemin yetersiz kaldığı durumları irdelenmek ve moleküler yöntem ile elde edilen karşılaştırmalı sonuçları tartışmaktır. Çalışma grubuna serolojik yöntem ile HLA-A/B antijenleri saptanamayan, tek antijen saptanan, saptanmasında zorluklar yaşanan veya moleküler yöntem ile doğrulanması ya da tespiti gereken, böbrek ve kemik iliği transplantasyonlarına hazırlanan hastalar (n=1292) ile vericilerden (n=275) oluşan 1567 kişi alınmış ve beş gruba ayrılarak incelenmiştir. HLA-A,B antijenlerinin tespiti için moleküler yöntemler kullanılarak 2138 test yapılmış ve iki yöntem arasındaki uyumsuzluk oranı HLA-A için %8.8, HLA-B için %14.2 olarak bulunmuştur. Serolojik yöntem ile saptanamayan ve moleküler yöntemlerin uygulanması sonucunda belirlenen antijenler arasında HLA-A32 ve -B15'in (%7.3,15.8) en sık olduğu görülmüştür. Moleküler yöntemlerin hasta örneklerine uygulanmasının, transplantasyon başarısını arttıracaklarını düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** HLA, serolojik yöntem, moleküler yöntem, transplantasyon.

### Abstract

Since human leucocyte compatibility has a crucial effect in renal transplantations and there is the need for full-match HLA compatibility between the donor and the recipient for successful bone marrow transplantations. It is clearly evident that HLA system plays a major role in kidney and bone marrow transplantations. Hence, accurate and reliable identification of these antigens is very important. We perform CDC assay for the typing of HLA-A,-B in our EFI accredited laboratories. In case of homozygosity or detection of an ambiguous antigen, molecular methods are performed in addition to CDC. The purpose of our study was to demonstrate the comparative results of two methods concerning the cases in which molecular typing was needed in addition to CDC and to list the antigens that could not be identified by CDC but molecular typing. The study group included 1567 individuals consisting of patients with chronic renal deficiencies (n=646), hematological malignancies (n=646) and their donors (n=275). Samples were typed by CDC and PCR-SSP/SSO methods for HLA-A,-B. The study group was divided into 5 groups as cases with single HLA-A and/or -B and with ambiguous HLA-A and/or -B. By molecular methods, 2138 tests were performed. The concordance between CDC assay and molecular methods was 8.8% for HLA-A and 14.2% for HLA-B. The most frequent antigens which could not be identified by CDC but molecular methods were HLA-A32, B15 (7.3, 15.8 %). We believe that performing molecular tissue typing methods at least particularly to patient samples will increase the transplantation success.

**Key Words:** HLA, serological method, molecular method, transplantation.

Gaziantep Tıp Dergisi 2008, 41-45.

## GİRİŞ

Büyük doku uyum kompleksi (Major Histocompatibility Complex, MHC) gen bölgesi, alloreaktiveden sorumlu hücre yüzey glikoproteinlerini kodlayan ve altıncı kromozom (6p21.31) üzerinde yerleşmiş, yaklaşık olarak 4 mega baz çiftlik bir yer kaplayan gen kümesidir. MHC genel bir isimdir ve her bir türün ayrı bir MHC simgesi vardır.

İlk doku antijenleri lökositlerde saptandığı için insan lökosit antijenleri (Human Leukocyte Antigens, HLA) olarak tanımlanmışlardır. Klasik HLA antijenleri, MHC Sınıf I gen bölgesindeki HLA-A,-B,-C ve sınıf II gen bölgesindeki HLA-DR,-DQ,-DP genlerinde kodlanmaktadır (1). Polimorfik özelliği olan bu genlerin aktarımı kodominanttır. Bir lokusta aynı antijeni taşıyan birey, o lokus için homozigot olarak tanımlanmıştır. MHC molekülleri graft rejeksiyonun temel belirleyicileridirler. Bu nedenle aynı MHC moleküllerini eksprese eden bireyler birbirlerinin doku graflarını kabul edebilirler veya farklı MHC gen bölgelerine sahip bireyler arasında graft rejeksiyonu gelişebilir (2,3).

Transplantasyon, organ yetersizliği tanısı konulmuş hastalarda ya da kemik iliği gibi fonksiyonel dokuların yetersizliğinde uygulanan bir tedavi yöntemidir. Kemik iliği transplantasyonlarında (KİT) öncelikli parametre doku uyumu iken, kalp ve karaciğer transplantasyonlarında kan grubu uyumu ile boy-kilo uyumu ön plandadır.

✉ Yazışma Adresi:  
Arş.Gör. Yalçın SEYHUN,  
İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD  
Temel Bilimler Binası Çapa / İSTANBUL  
Tel/Fax: 0212 635 11 68  
E-mail: dryseyhun@yahoo.com  
Bu çalışma, aşağıda belirtilen kongrede ve şekilde, daha az sayıda olgu ile, poster olarak sunulmuştur: Seyhun Y, Kekik C, Karahan G, Oguz F, Carin M. Comparative results of serological and molecular methods in HLA-A,B tissue typing: A five years experience. 19th European Histocompatibility Conference 2005, İstanbul, Turkey.

Böbrek transplantasyonlarında ise kan grubu uyumu ile beraber HLA uyumunun derecesinin yüksek olması önemlidir. HLA uyumu yüksek transplantasyonlarda graft survisinin daha iyi olduğu ve immünsupresif tedavi kullanımının daha az olduğu bildirilmiştir (4-7).

HLA tiplmesi için uygulanabilecek testler serolojik ve moleküler testlerdir. Mikrolenfositotoksiste olarak da isimlendirilen serolojik yöntem sadece HLA-A, B tiplmesi için kullanılmaktadır. HLA-DR,-DQ,-DP ve gerektiğinde HLA-A,-B tiplmesi ise moleküler yöntemle yapılmaktadır. Serolojik yöntem basit ve hızlı sonuç veren, ancak antijen-antikor birleşmesine ve komplemana bağımlı olması, tekrarının zor olması, değerlendirmesinin ölü hücre oranları ile yapılmasından dolayı dezavantajları olan bir yöntemdir. Moleküler yöntemler ise hızlı ve güvenilir sonuç veren, homozigotluğu kesin olarak tespit edebilen yöntemlerdir.

Çalışmamıza serolojik yöntem ile HLA-A/B antijenleri saptanamayan, tek antijen saptanan, saptanmasında zorluklar yaşanan ve moleküler yöntem ile doğrulanması veya tespiti gereken, böbrek transplantasyonu veya KİT için başvuran hasta ve vericileri alınmıştır. Çalışmamızın amacı, serolojik yöntemin yetersiz kaldığı durumları irdelemek ve moleküler yöntem ile elde edilen karşılaştırmalı sonuçları tartışmaktır.

## GEREÇ

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı HLA Doku Tipleme laboratuvarlarında 01.01.2001 ile 01.07.2007 tarihleri arasında, 3942 kronik böbrek yetersizliği (KBY) tanısı konmuş hasta ve 1599 vericisi ile KİT'e hazırlanan 2108 hasta ve 7141 vericisinin HLA-A, B, DR testleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma grubuna ise bu tarihler arasında başvuran; serolojik yöntem ile HLA-A/B antijenleri saptanamayan, tek antijen saptanan, saptanmasında zorluklar yaşanan veya moleküler yöntem ile doğrulanması ya da tespiti gereken KBY tanısı konmuş hastalar (n=646), KİT'e hazırlanan, hematolojik malignite (HM) tanısı konmuş hastalar (n=646) ve vericilerden oluşan 1567 kişi alınmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1.** Çalışma grubuna alınan hasta sayıları.

	Toplam Hasta Sayısı	Çalışma Grubu	%
KBY*	3942	646	16.3
HM**	2108	646	30.6
Verici	8740	275	3.1

\* Kronik böbrek yetersizliği tanısı konmuş hastalar.

\*\* KİT'e hazırlanan, hematolojik malignite tanısı konmuş hastalar.

European Federation for Immunogenetics (EFI) tarafından akredite laboratuvarlarımızda, serolojik yöntem ile antijen saptanamadığında, şüpheli sonuçlarda ya da homozigot antijen tespitinde moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada serolojik yöntem ile karşılaşılan sorunlar ve moleküler yöntem gerektiren durumlara göre beş grup oluşturulmuştur: Grup I izole edilen lenfositlerin kötü olması, ölü hücre oranının yüksek olması veya serolojik tipleme için yeterli oranda hücre olmaması nedeniyle serolojik yöntem kullanılmamış, sadece moleküler yöntem kullanılmış örneklerden; Grup II serolojik yöntem ile homozigot olarak tespit edilmiş ve moleküler yöntem ile doğrulanmış örneklerden; Grup III serolojik yöntem ile şüpheli olarak tespit edilmiş ve moleküler yöntem ile doğrulanması istenmiş örneklerden; Grup IV serolojik yöntem ile homozigot tespit edilmesine karşın ek antijen saptanmış (Grup IVa) ya da şüphelenilen antijenlerin dışında moleküler yöntem ile tespit edilmiş örneklerden; Grup V ise serolojik yöntem ile tespit edilememiş, moleküler yöntem ile tespit edilmiş örneklerden oluşturulmuştur.

## YÖNTEM

**Serolojik Yöntem:** Lenfosit yüzeyindeki HLA antijenleri ile anti-HLA antikorlarının etkileşimine dayanan mikrolenfositotoksiste yönteminde, heparinli kandan Ficoll-Hypaque yöntemi ile izole edilen lenfositler, kuyucuklarında parafin ve anti-HLA antikorları içeren plaklara eklenir. İnkübasyonu takiben ortama tavşan serumundan elde edilen kompleman eklenir. Böylece antijen-antikor birleşmesi gerçekleşen hücrelerde hücre bütünlüğü kaybolur. Formaldehid eklenmesi ile reaksiyon durdurulur ve eosin eklenerek lizise uğramış hücrelerin boyayı alması sağlanır (8). Çalışmada kullanılan bu yöntemde, değerlendirme ölü hücrelerin oranına göre yapılmıştır.

**Moleküler Yöntem:** Çalışmada, EDTA'lı (etilen diamin tetraasetik asit) kandan dietil trimetil amonyum bromid tuzları ile denatürasyon ve presipitasyon yöntemi ile DNA elde edilmiştir (9). PCR-SSP (Polimerase Chain Reaction Sequence Specific Primer) yönteminde (Olerup SSP™ AB, GenoVision; Qiagen, Vienna, Austria), diziyeye özgü primerler ile amplifikasyon yapılarak jel elektroforezde yürütülen PCR ürünleri UV altında görüntülenerek pozitif bantlar değerlendirilmiştir. PCR-SSO (Polimerase Chain Reaction Sequence Specific Oligonucleotide) yönteminde (Dyna® Biotech, Oslo, Norway) ise genomik DNA, amplifiye edildikten sonra oligonükleotit proplar ile hibridize edilerek değerlendirilmiştir (10,11).

## BULGULAR

HLA-A,B tiplmesi için KBY hastalarının %16.3'ünde moleküler yöntem ile de test yapılması gerekirken, KİT'e hazırlanan hastalarda ve verici grubunda bu oranın %30.6 ve %3.1 olduğu gözlenmiştir (Tablo 1). Çalışma grubunu oluşturan 1567 kişinin 1333'üne serolojik yöntem ile HLA-A, B testleri yapılmış ve moleküler yöntem ile tespit veya doğrulama gerektirdiğinden 1670 test uygulanmıştır. 234 kişiye (%14.9) ise sadece moleküler yöntem ile HLA-A, B tiplmesi yapılmış ve 468 test (%21.9) uygulanmıştır.

**Tablo 2.** Hasta sayıları ve yapılan testler.

	KBY	HM	Verici	Toplam
HLA-A, B	158	327	86	571
HLA-A	243	150	82	475
HLA-B	245	169	107	521
Toplam	646	646	275	1567

**Tablo 3.** Test sayıları ve gruplara göre dağılımı.

Hastalar	Testler	Çalışma grupları				
		Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
KBY (n:646)	HLA-A	0	126	67	42	8
	HLA-B	0	81	65	82	17
	HLA-A,B	38	149	52	62	15
<b>Toplam</b>		<b>38</b>	<b>356</b>	<b>184</b>	<b>186</b>	<b>186</b>
HM (n:646)	HLA-A	0	48	69	28	5
	HLA-B	0	22	79	46	22
	HLA-A,B	404	97	91	55	7
<b>Toplam</b>		<b>404</b>	<b>167</b>	<b>239</b>	<b>129</b>	<b>34</b>
Verici (n:275)	HLA-A	0	24	33	21	4
	HLA-B	0	15	57	28	7
	HLA-A,B	26	45	57	40	4
<b>Toplam</b>		<b>26</b>	<b>84</b>	<b>147</b>	<b>89</b>	<b>15</b>
<b>TOPLAM</b>		<b>468</b>	<b>607</b>	<b>570</b>	<b>404</b>	<b>89</b>

Çalışma grubunu oluşturan hasta sayıları ve yapılan testler Tablo 2’de, yapılan testlerin hastalara ve gruplara göre dağılımı ise Tablo 3’te gösterilmiştir.

Serolojik yöntem ile tespit edilemeyen, yanlış tespit edilen ya da moleküler yöntem ile ek antijen tespit edilen gruplar (Grup IV, V) incelendiğinde, yapılan test sayılarına göre (n:2138) serolojik yöntemin hata oranı %23 (n:493) olarak bulunmuştur (Tablo 3). Uyumsuzluk oranı HLA-A için %8.8 (n:188), HLA-B için %14.2 (n:305) olarak tespit edilmiştir. Hatalı tiplendirme yapılan antijenler incelendiğinde (Grup IV), en sık hatalı tiplendirme yapılan antijenlerin HLA-B15 (%13.9), -A32 (%7.2), -A31 (%5.7) olduğu, en sık tespit edilemeyen antijenlerin ise (Grup V) HLA-B15 (%24.7), -A32 (%7.9), -A33 (%4.5) olduğu belirlenmiştir.

Grup IV içerisinde yer alan olguların %42.8’ini (n:173) serolojik yöntem ile homozigot tespit edilmesine karşın ek antijen saptanmış olgular (Grup IVa) oluşturmaktadır. Bu grupta da tespit edilemeyen ve en sık karşılaşılan antijenler ile yüzdeleri sırasıyla HLA- B15, -B53, -A32 ( %15, 8.1, 6.9) olarak görülmüştür (Tablo 4).

## TARTIŞMA

Kemik iliği transplantasyonlarında HLA uyumunun alıcı/verici arasında tam olması gerekliliği ve böbrek transplantasyonlarında HLA antijenlerinin uyum sayısı ile graft survisi arasındaki anlamlı ilişki bulunması, HLA antijenlerinin saptanmasında uygun yöntemlerin kullanılmasının önemini ortaya koymaktadır. Alıcı ve verici arasındaki uyumun belirlenmesi için, HLA-A, B tiplemesinde genellikle serolojik yöntemler kullanılsa da gerektiğinde moleküler yöntemlere de başvurulmaktadır.

Her iki yöntemin karşılaştırılmasına dayanan çalışmalar yapılmış ve serolojik yöntemin yetersiz olabildiği, farklı oranlarda hatalı sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Tan ve ark., 525 kişiden oluşturdukları çalışma grubunda, Çin toplumunda karşılaştırma sonuçlarını yayınlamışlar ve uyumsuzluk oranının HLA-A ve -B için %9 ve %12.2 olduğunu bildirmişlerdir (12).

Mytilineos ve ark. ise siyah ırktan seçilen, böbrek transplantasyonu için hazırlanan hastalar ve donörlerinden oluşan 421 kişi ile yaptıkları retrospektif çalışmalarında, HLA-A ve -B için uyumsuzluk oranlarını %4.8 ile %10.5 olarak bildirmişlerdir (13). Kulcsarova ve ark., daha küçük bir grupta (n=50) yaptıkları çalışmanın sonucunda bu oranları %9 ve %11 olarak bildirmişlerdir (14). Li ve ark., kordon kanından hazırlanan örneklerde (n=36) karşılaştırma testleri uygulamış ve serolojik yöntemin hata oranını %13.8 olarak bildirmiştir (15).

HLA-A için %8.8, -B için ise %14.2 oranında uyumsuzluk saptanan çalışmamızda, böbrek ve kemik iliği transplantasyonuna hazırlanan hastalar ve vericileri çalışma grubuna alınarak özellikle serolojik yöntemin yetersiz kaldığı ve moleküler yöntem gereklilik duyulan durumlar incelenmiştir. Bu oran diğer çalışmalara göre yüksektir ancak çalışma grubuna alınan olguların özelliğinden kaynaklanmaktadır. Çalışmamızdaki farklılık, seçilen çalışma grubunun sadece serolojik olarak tespit edilemeyen ya da tespitinde sorun yaşanan örneklerden oluşturulmuş olmasıdır. Olguların %12.3'ü (n:234) lenfosit oranının düşük olması veya lenfosit sayısının yetersizliği nedeniyle serolojik olarak testlenememiş, özellikle KİT'e hazırlanan hastalarda olmak üzere diğer hastalarda da lenfosit sayısı ve kalitesi ile ilgili sorunlar yaşanmış olduğu için moleküler yöntem ile antijenler belirlenmiştir.

Hematolojik malignite tanısı konmuş hastaların %30.6'sında serolojik yöntem ile sonuç alınamamış ve moleküler yöntem ile testleri sonuçlandırılmıştır. Hatalı sonuç grubunu oluşturan antijenleri (HLA-A25, A26, A30, A31, A32, A33, A68, A69, B15, B35, B51, B52, B53) incelediğimizde, bu antijenlerin tespiti daha zor, anti-HLA antikoru eldesi güç olan ve birbirleriyle çapraz reaksiyon verebilen antijenlerden (CREG; cross reactive group) oluştuğu görülmüştür (16). CREG içerisinde yer alan antijenlerden ikisinin aynı kişide olduğu durumlarda serolojik yöntemin yetersiz kaldığı belirlenmiştir.

Özellikle HLA-A19 ve HLA-B15 grup antijenlerinin ve özellikle HLA-A30, 31, 32, 33 ile HLA-B62, 63, 75 antijenlerinin, serolojik yöntem ile tespitinde sorunlarla karşılaşıldığı gözlenmiştir. HLA-A19 ve HLA-B15 grubu antijenlerin tiplendirilmesinde bildirilen hata oranları bir çalışmada %14.7 ile %20.9 iken, başka bir çalışmada ise %64 ile %20.3 olarak bildirilmiştir (12,13). Çalışmamızda ise bu oranlar %24.1 ve %15.8 olarak bulunmuştur.

HLA tiplendirmesinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması, HLA-Cw ve HLA-DR için yapılmış ve bu çalışmalarda da serolojik yöntemin hatalı sonuçlar verdiği gösterilmiştir (17-19). Çalışma sonuçlarımız, daha önce yayınlanan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Hasta grupları ve ırklara bağlı olmaksızın, benzer sonuçlar ve serolojik hata oranları bildirilmiştir. Çalışmamızda özellikle hematolojik malignite tanısı konmuş hastalar olmak üzere, transplantasyona hazırlanan hastaların HLA-A, B antijenlerinin tespitinde moleküler yöntemlerin kullanılması; serolojik yöntem ile belirlenmiş HLA-A19 ve HLA-B15 grubu antijenlerin moleküler yöntem ile doğrulanmasının gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Tablo 4.** Hatalı sonuçların antijenlere ve gruplara göre dağılımı.

Antijen	Grup IVa (n:173)		Grup IV (n:404)		Grup V (n:89)		Grup IV, V (n:493)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
A25	4	2.3	9	2.2	2	2.3	11	2.2
A26	3	1.7	11	2.7	1	1.1	12	2.4
A30	4	2.3	13	3.2	2	2.3	15	3
A31	11	6.4	23	5.7	3	3.4	26	5.3
A32	14	8.1	29	7.2	7	7.9	36	7.3
A33	7	4.1	17	4.2	4	4.5	21	4.3
A68	4	2.3	10	2.5	3	3.4	13	2.6
A69	3	1.7	7	1.7	1	1.1	8	1.6
B15	26	15	56	13.9	22	24.7	78	15.8
B35	8	4.6	15	3.7	1	1.1	16	3.2
B51	10	5.8	17	4.2	1	1.1	18	3.6
B52	9	5.2	16	4.0	2	2.3	18	3.6
B53	12	6.9	20	5.0	3	3.4	23	4.7

**KAYNAKLAR**

1. Abbas AK. Celluler and molecular immunology. (3th ed).WB Saunders Company. 1997;(2):16-33.
2. Thiru S, Waldman H. Pathology and Immunology of transplantation and Rejection. Blackwell Science Ltd. 2001;(1):1-21.
3. Titiz İ. Renal Transplantasyona Pratik Yaklaşım. (İkinci Baskı). 2004;(1):11-100.
4. Opelz G, Wujciak T, Dohler B. Is HLA matching worth the effort? *Transplant Proc.* 1999;31:717-720.
5. Opelz G, Wujciak T, Döhler B, Scherer S, Mytilineos J. HLA compatibility and organ transplant survival. Collaborative Transplant Study. *Rev Immunogenet.* 1999;1(3):334-42.
6. Opelz G, Döhler B. Effect of human leukocyte antigen compatibility on kidney graft survival: comparative analysis of two decades. *Transplantation.* 2007;84(2):137-43.
7. Aydingoz SE, Takemoto SK, Pinsky BW, Salvalaggio PR, Lentine KL, Willoughby L, et al. The impact of human leukocyte antigen matching on transplant complications and immunosuppression dosage. *Hum Immunol.* 2007;68(6):491-9.
8. Terasaki PI, McClelland JD. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature.* 1964;204:998-1000.
9. Gustincich S, Manfioletti G, Del Sal G, Schneider C, Carninci P. A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques.* 1991;11(3):298-300.
10. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens.* 1992;39(5):225-35.
11. Buyse I, Decorte R, Baens M, Cuppens H, Semana G, Emonds MP, et al. Rapid DNA typing of class II HLA antigens using the polymerase chain reaction and reverse dot blot hybridization. *Tissue Antigens.* 1993;41(1):1-14.
12. Tan J, Tang X, Xie T. Comparison of HLA class I typing by serology with DNA typing in a Chinese population. *Transplant Proc.* 2000;32(7):1859-61.
13. Mytilineos J, Lempert M, Scherer S, Schwarz V, Opelz G. Comparison of serological and DNA PCR-SSP typing results for HLA-A and HLA-B in 421 Black individuals: a Collaborative Transplant Study report. *Hum Immunol.* 1998;59(8):512-7.
14. Kulсарова E, Kralovicova J, Parnicka Z, Ferencik S, Buc M. Comparison of the results of HLA typing using serologic and molecular genetics methods. *Bratisl Lek Listy.* 2000;101(3):134-7.
15. Li D, Liu H, Yu Y, Xi B. Comparison of serological and DNA typings for HLA-AB of cord blood samples. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2000;21(8):397-9.
16. Laux G, Opelz G. Immunological relevance of CREG matching in cadaver kidney transplantation. *Transplantation.* 2004;78(3):442-6.
17. Torio A, Moya-Quiles MR, Muro M, Montes-Ares O, Ontañón J, Minguela A, et al. Discrepancies in HLA-C typing in transplantation: comparison of PCR-SSP and serology results. *Transplant Proc.* 2002;34(1):419-20.
18. Ferraz AS, Saber LS, Voltarelli JC, Mytilineos J, Opelz G, Donadi EA. Comparative study of HLA-DR typing by serology and sequence-specific primer analysis in a genetically highly diverse population of kidney transplant recipients. *Transplant Proc.* 2002;34(2):463-5.
19. Mytilineos J, Christ U, Lempert M, Opelz G. Comparison of typing results by serology and polymerase chain reaction with sequence-specific primers for HLA-Cw in 650 individuals. *Tissue Antigens.* 1997;50(4):395-400.