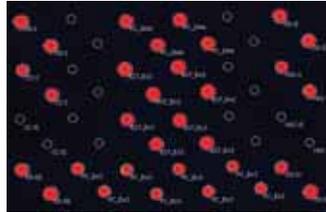




## EUROArray HLA-B27 Direct



- Erfassung aller weltweit bekannten HLA-B\*27-Subtypen und Anzeigen des möglichen Vorliegens der nicht-krankheitsassoziierten Allele HLA-B\*27:06 und HLA-B\*27:09
- Hohe Ergebnissicherheit durch zahlreiche integrierte Kontrollen
- Direkter Einsatz von EDTA-Blut: keine separate DNA-Isolierung nötig

### Technische Daten

<b>Substrat</b>	Einzelsträngige DNA-Sonden, Länge: 20 bis 50 Nukleotide
<b>Testablauf</b>	DNA-Extraktion / PCR (ca. 60 min) / Hybridisierung (60 min) / vollautomatische Auswertung Gesamt-Arbeitszeit ca. 2 min je Probe inkl. DNA-Extraktion mit Direkt-Verfahren (bei 40 Proben pro Lauf)
<b>Reagenzien</b>	Gebrauchsfertig
<b>Kontrollen</b>	DNA-Negativkontrolle und weitere integrierte Kontrollen
<b>CE-IVD-Zertifikat</b>	Kompletter Prozess inkl. DNA-Extraktion ist validiert
<b>Packungsformat</b>	5, 10 oder 20 Objektträger, jeder mit 5 Testfeldern oder 8 Objektträger jeweils mit 3 Testfeldern
<b>Bestell-Nr.</b>	<b>MN 5110-0505-V, -1005-V, -2005-V, -0803-V</b>

### Klinische Bedeutung

Der EUROArray HLA-B27 Direct dient zum molekulargenetischen Nachweis krankheitsassoziiierter HLA-B\*27-Allele. Insgesamt sind für HLA-B27 130 unterschiedliche Subtypen (B\*27:01 – B\*27:105) beschrieben worden, die sich jeweils nur in wenigen Basen unterscheiden und gemeinsam vom EUROArray HLA-B27 Direct erfasst werden.

Das membranständige HLA-B27-Protein ist mit dem Auftreten mehrerer Autoimmunerkrankungen assoziiert, wie z. B. Morbus Bechterew (Spondylitis ankylosans, Ankylosierende Spondylitis, AS), urethro-okulo-artikuläres Syndrom (Morbus Reiter, Symptombkombination Urethritis, Konjunktivitis/Uveitis, Arthritis), Reaktive Arthritis (para-/postinfektiöse Arthritis), akute Uveitis anterior bzw. akute Iridozyklitis, Periarthritis (Periarthropathia) humeroscapularis, Arthritis psoriatica (Psoriasis-Arthritis) und juvenile idiopathische Arthritis. Auch Enteropathien (chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, CED) sind mit HLA-B\*27 assoziiert.

Besonders deutlich ist der Zusammenhang zwischen Morbus Bechterew und dem Vorliegen von HLA-B27. Etwa 3 bis 6% der HLA-B\*27-Träger erkranken am Morbus Bechterew. Rund 90% aller Bechterew-Patienten sind Träger dieses Gewebsantigens, insbesondere der Subtypen B\*27:02, B\*27:04 und B\*27:05. Die Subtypen B\*27:06 und B\*27:09 sind hingegen nicht mit dem Auftreten von Morbus Bechterew assoziiert. Folglich ist zur Diagnosesicherung in bestimmten Populationen eine Subtypendifferenzierung erforderlich. Das Testsystem EUROArray HLA-B27 erfüllt diese Anforderung auf hoher Qualitätsstufe.

Die molekulargenetische Bestimmung von HLA-B27 ist zu den früher häufig eingesetzten Lymphocytotoxizitätstests in Konkurrenz getreten. Bei Antikörpern können Kreuzreaktivitäten (mit z. B. HLA-B7) auftreten und es kann zu möglichen falsch-negativen Befunden in der Immunphänotypisierung bei niedriger HLA-B\*27 Expression kommen. Durch die Verwendung allelspezifischer Primer ist die molekulargenetische HLA-B\*27-Bestimmung dagegen spezifischer und sensitiver als serologische Methoden.

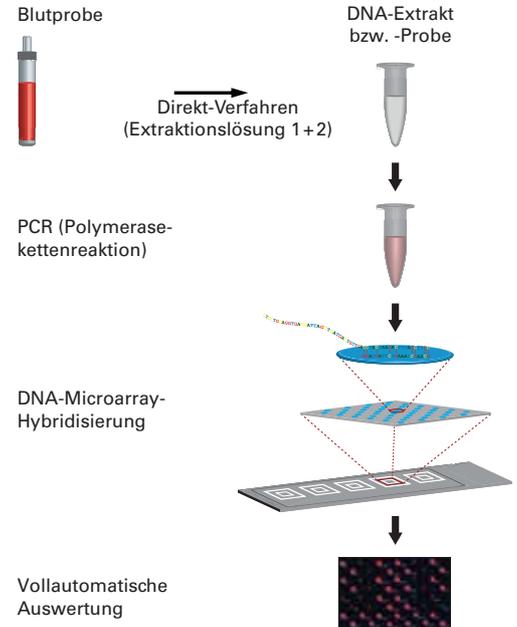
### Stellenwert

Der EUROArray HLA-B27 Direct ermöglicht einen schnell und einfach durchzuführenden HLA-B\*27-Nachweis in einem einzigen Reaktionsansatz. Das Direkt-Verfahren ermöglicht den direkten Einsatz von Vollblutproben und macht eine separate DNA-Isolierung überflüssig.



## Testprinzip

Der EUROArray ist ein In-vitro-Test zur molekulargenetischen Bestimmung krankheitsassoziiierter HLA-B\*27-Allele in humaner, genomischer DNA. Als Probenmaterial dient EDTA-Blut (Direkt-Verfahren) oder isolierte genomische DNA des Patienten. Bei Verwendung des Direkt-Verfahrens wird die genomische DNA der Blutzellen für die Polymerasekettenreaktion (PCR) zugänglich gemacht, indem das Blut mit der im Testsystem enthaltenen Extraktionslösung verdünnt und für eine Minute inkubiert wird. Im ersten Analyseschritt werden aus dem so hergestellten Extrakt bzw. alternativ einer genomischen Patienten-DNA-Probe mit Hilfe der PCR zwei Abschnitte des HLA-B-Gens sowie als Positivkontrolle ein  $\beta$ -Globin-Genfragment vervielfältigt. Eine Amplifizierung der HLA-B-Genabschnitte erfolgt nur, falls ein HLA-B\*27-Allel in der Probe vorliegt. Alle PCR-Produkte werden bei ihrer Entstehung mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert. Im zweiten Schritt werden die Produkte mit einem Microarray analysiert, auf dem zur vervielfältigten DNA komplementäre Sonden immobilisiert sind. Die Bindung (Hybridisierung) des fluoreszierenden PCR-Produkts am korrespondierenden Microarray-Spot wird mit dem EUROIMMUN Microarray Scanner detektiert. Alle Spot-Signale werden mit der EUROArrayScan-Software automatisch ausgewertet. Ein Fluoreszenzsignal an den HLA-B\*27-spezifischen Spots zeigt die Anwesenheit eines HLA-B\*27-Allels in der Patienten-DNA an.



## Testdurchführung

Bei direktem Einsatz von EDTA-Blut wird die Probe zunächst für eine Minute mit Extraktionslösung 1 inkubiert und anschließend Extraktionslösung 2 zugesetzt. Für die PCR wird ein Aliquot dieses Extrakts oder alternativ einer gereinigten DNA-Probe mit den vorgefertigten PCR-Reagenzien gemischt. Die PCR-Ansätze werden im Thermocycler und anschließend auf EUROArray-Objektträgern mit Microarray-BIOCHIPS unter Anwendung der TITERPLANE®-Technik inkubiert. Das Scannen und Auswerten erfolgt mit dem EUROArrayScan-System (Microarray Scanner inkl. EUROArrayScan-Software). Dies ermöglicht eine vollautomatische Auswertung der EUROArray-Analysen und eine detaillierte Dokumentation der Ergebnisse.

## Sensitivität und Spezifität

Das Microarray-Testsystem erfasst alle HLA-B\*27-Subtypen und zeigt ein mögliches Vorliegen der nicht krankheitsassoziierten Subtypen HLA-B\*27:06 und HLA-B\*27:09 an.

Referenzproben	Referenzmethode	Sensitivität bezogen auf Referenzmethode	Spezifität bezogen auf Referenzmethode
100 EDTA-Blutproben <sup>1</sup> von Blutspendern, Deutschland (13 HLA-B*27 positiv, 87 HLA-B*27 negativ vorcharakterisiert)	molekulargenetisch	100 %	100 %
55 DNA-Proben <sup>2</sup> der „International Histocompatibility Working Group“ (IHWG): „Sequence Polymorphism Reference Panel (SP Reference Panel)“ sowie „HLA (Anthropology) Reference Panel“ (6 HLA-B*27 positiv, 49 HLA-B*27 negativ vorcharakterisiert)	molekulargenetisch	100 %	100 %

<sup>1</sup>Die Untersuchungen wurden sowohl direkt aus EDTA-Blut mit Hilfe des Direkt-Verfahrens als auch mit DNA-Proben durchgeführt, die aus EDTA-Blut mit Hilfe des „DNA whole blood kit S CE IVD“ isoliert wurden. <sup>2</sup>Diese Untersuchung wurde nicht für das Direkt-Verfahren durchgeführt.

## Robustheit

Mit dem Direkt-Verfahren war die Bestimmung der 100 untersuchten EDTA-Blutproben in allen Fällen (100 %) erfolgreich. Für DNA-Proben war die Bestimmung ebenfalls in allen Fällen (100 %) erfolgreich (n = 150).

## Literatur

- Bowness P. HLA B27 in health and disease: a double-edged sword? *Rheumatology (Oxford)*. 2002 Aug; 41(8):857-68.
- EUROIMMUN AG. Stöcker W, Schlumberger W, Krüger C. Alle Beiträge zum Thema Autoimmundiagnostik. In: Gressner A, Arndt T (Hrsg.) *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg (2012).
- EUROIMMUN AG. Köhler S, Komorowski L, Stöcker W. Diagnosis of inflammatory bowel diseases, more particularly ulcerative colitis. *Deutsches Patent Nr. DE102004018418* (2005).
- Khan MA, Mathieu A, Sorrentino R, Akkoc N. The pathogenetic role of HLA-B27 and its subtypes. *Autoimmun Rev*. 2007 Jan; 6(3):183-9.