

HLA-B27 pozitivitás vizsgálati lehetőségei

Pálinkás László, Uherkovichné Paál Mária, Berki Tímea
Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ
Immunológiai és Biotechnológiai Intézet



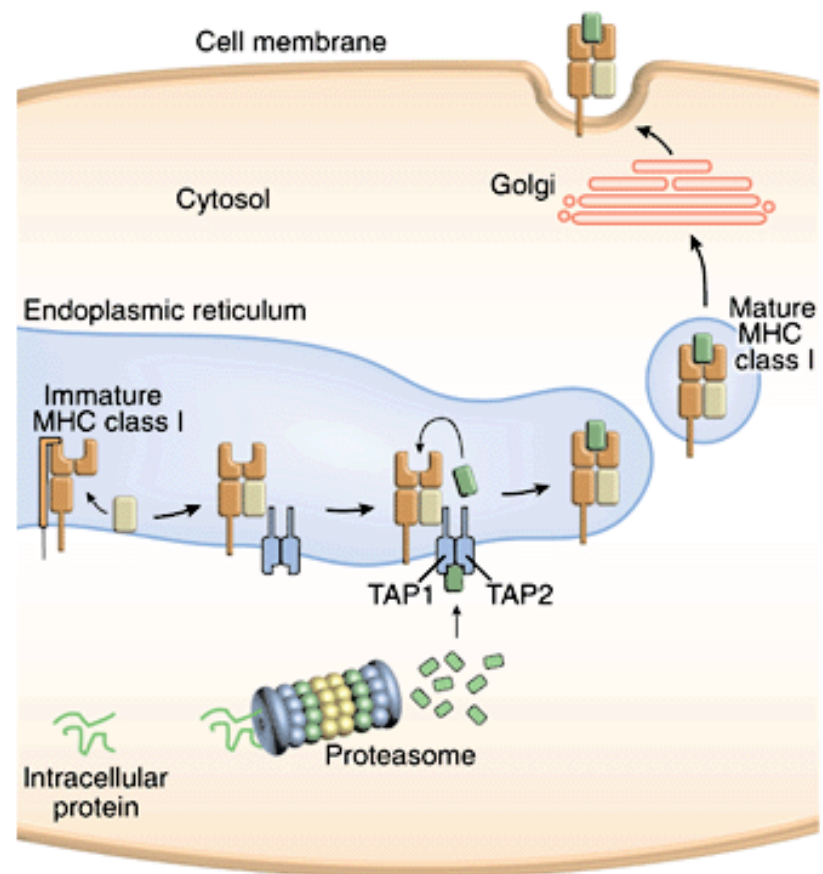
HLA-B27

Humán Leukocita Antigén B27 az I osztályú hisztokompatibilitási komplexhez (MHC-I) tartozó sejtfelszíni glikoprotein, amely a 6. kromoszóma B lókuszában kódolódik.

Az MHC-I antigének az összes magas sejtek felületén megtalálható, szerepük az intracelluláris antigének bemutatása a vírussal fertőzött, illetve daganatos sejtek elpusztítására képes CD8+ T – sejteknek.

Heterodimer protein: egy alfa láncból és egy béta 2 mikroglobulin alkotja.

A **kaukázusi populációban 8%**, az afrikaiban 4%, a kínaiakban 2-9% és a japánban 0.1-0.5% hordozza a HLA-B27 antigént.

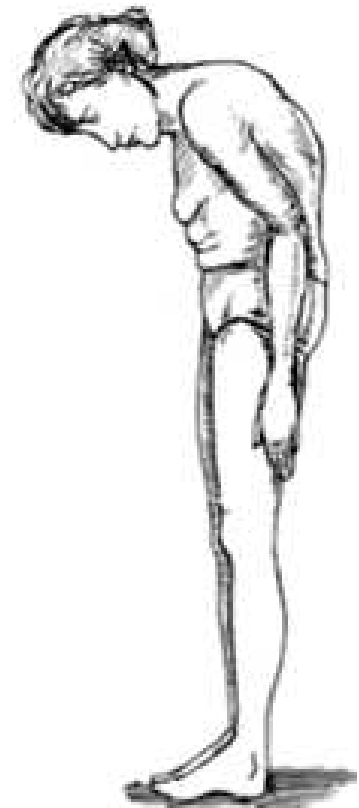


HLA-B27 és patológia

Szeronegatív spondylarthropátiák – olyan gyulladásos ízületi betegségek, ahol a szerológiai tesztek reuma faktor (RF) negatívak. A RF egy nem specifikus markere más reumás megbetegedéseknek (például a reumatoid aritrisznek).

Gyakori HLA-B27 pozitivitással járó alcsoportok:

- * Spondylitis ankylopoetika (kaukázusiaknál ~92%),
- * reaktív arthritisz (Reiter szindróma) (~60-80%),
- * gyulladásos bélbetegséggel társuló arthritisz (~60%),
- * pszoriázishoz társuló arthritisz (~60%),
- * izolált anterior uveitisz (~50%),
- * nem differenciált spondylarthropátiák (~20-25%).

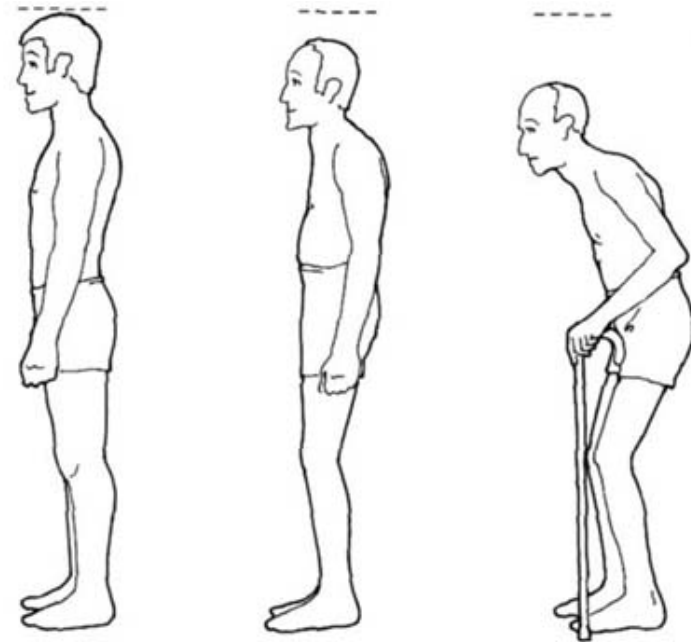


Spondylitis ankylopoetica



A **Bechterew kór** (más néven spondylitis ankylopoetica, rheumatoid spondylitis) esetén a betegek több mint **90%-a** HLA-B27 pozitív. Az ankylosis rigidséget, merevséget jelent, a spondyl pedig a gyulladt gerincoszlopot jelzi.

Főleg fiatal férfiak betegsége, amely fájdalommal és gyulladással jár a keresztcsonti, a csigolyák közötti és a bordák ízületeinél. Előrehaladott állapotban a mellkas és a gerinc teljes merevségéhez vezet. Ez nagyon kellemetlen, mivel végül egy görbe testhelyzetbe szorítja a beteget, amely szerencsére a mai kezelések hatására kevésbé gyakori végállapot.



Reiter szindróma

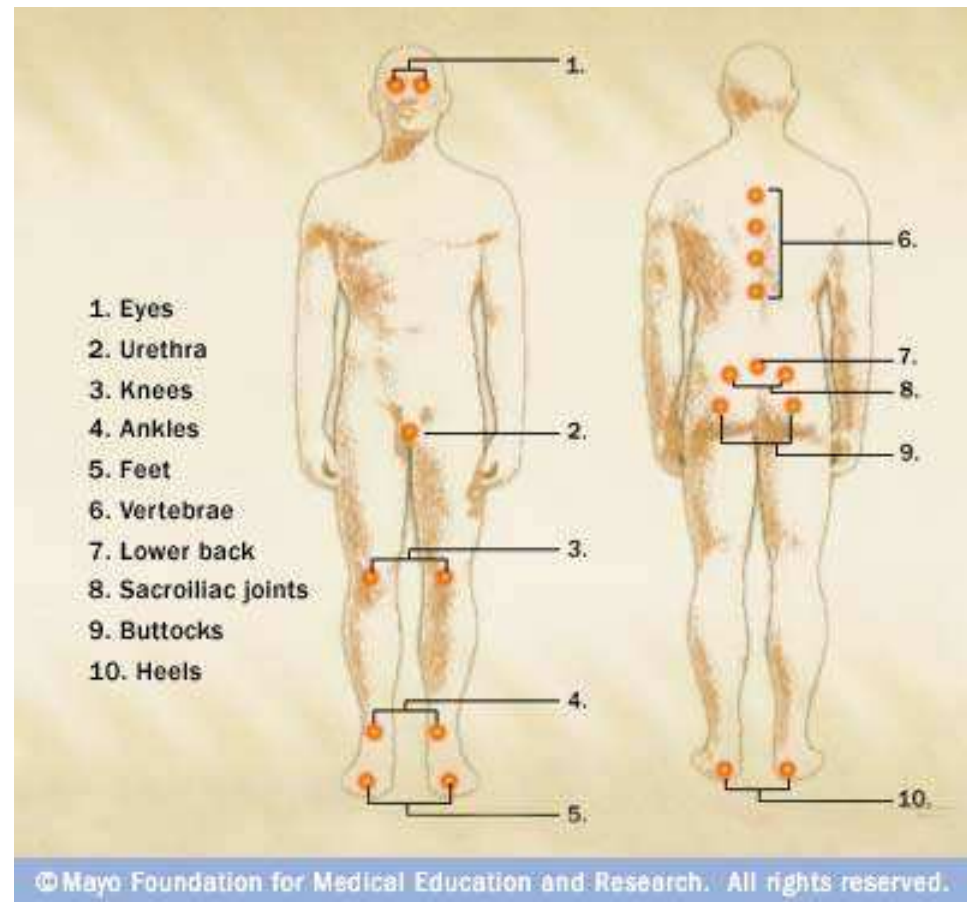
Az ízületi gyulladások egy fajtája, reaktív artritisz. A szindrómához tartozik a reaktív artritisz mellett legalább egy nem ízületi gyulladás, például: szem, bőr vagy izom érintettség.

A betegek kb. **80%**-a HLA-B27 pozitív.

A reaktív artritisz tünetei általában napokkal vagy hetekkel a kiváltó infekció után jelentkeznek.

A tünetek több hétes – hónapos időtartam alatt néha jelentkeznek, néha elmúlnak.

A reaktív ízületi gyulladás sokáig diagnosztizálatlan maradhat, mert a tünetek néha nagyon enyhék.



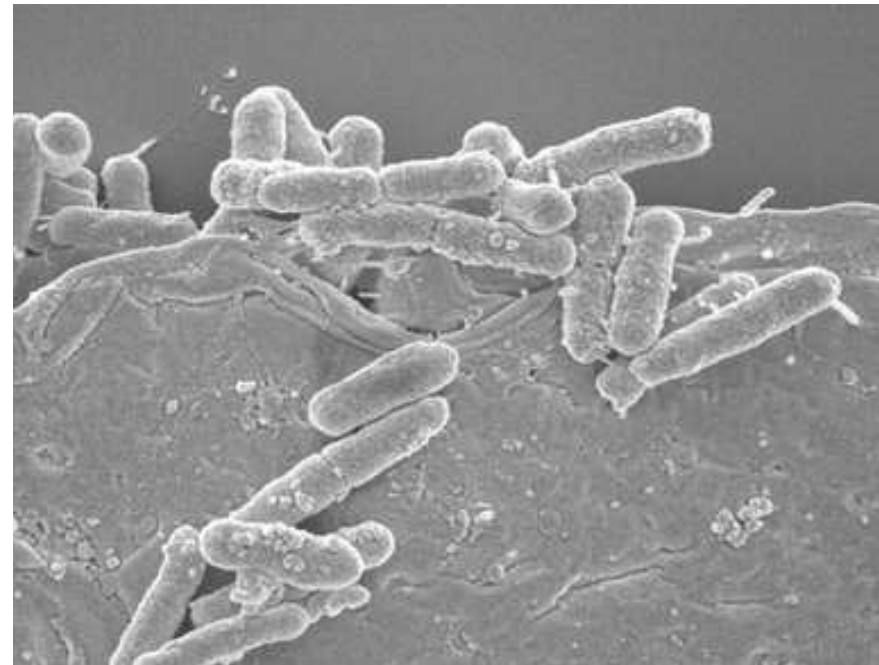
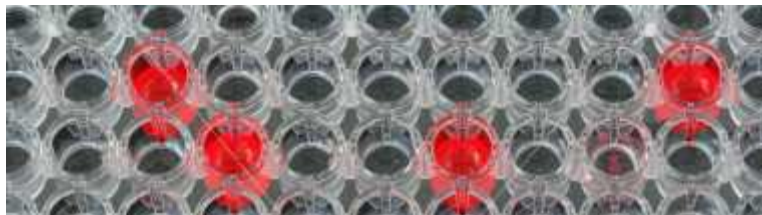
Kiváltó faktorok

30-60 nappal az ízületi gyulladás előtt:

- enterális
- urogenitális
- néha pulmonális (légúti) infekciók.

Feltételezett infektív ágensek:

- *Salmonella* ssp.
- *Yersinia enterocolitica*
- *Chlamydia trachomatis*



EFI standardok HLA tipizálásra

5.6. kiadás (November 16, 2008)



European Federation
for Immunogenetics

K fejezet – Betegség asszociációnál egyetlen HLA típus vizsgálata

K2.000 **Antigén vizsgálat**

K2.100 **Kontroll sejteket** kell vizsgálni minden új reagensnél.

- negatív sejt
- pozitív sejt
- keresztreakáló sejt

K2.200 **Kontroll szérumot** kell vizsgálni minden vizsgálatnál.

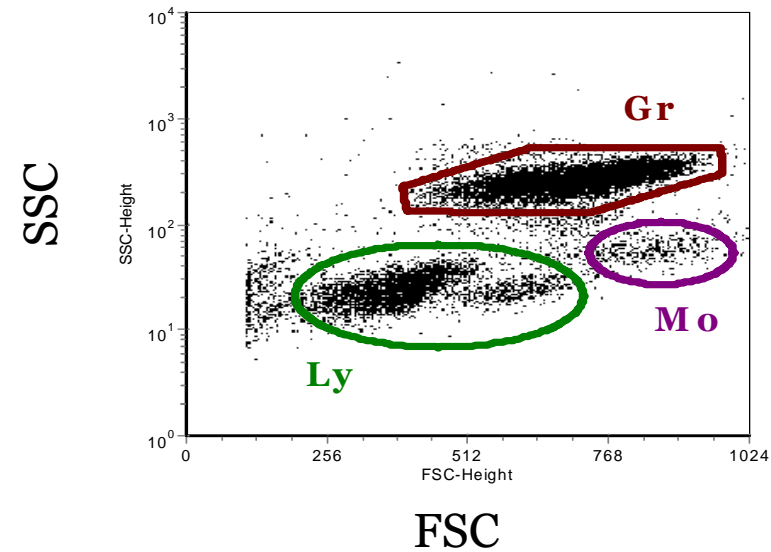
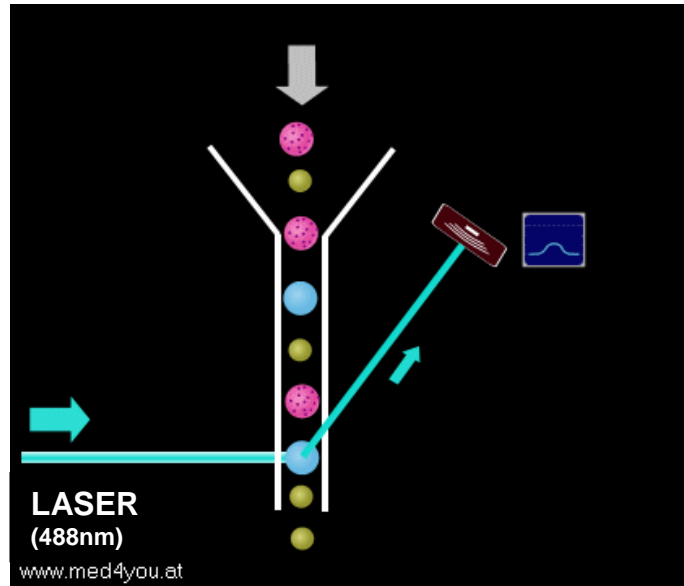
- negatív szérum
- pozitív szérum
- keresztreakáló szérum

K3.000 **Molekuláris technika**

Minden vizsgálatnál szükséges

- pozitív DNS
- negatív DNS használata.

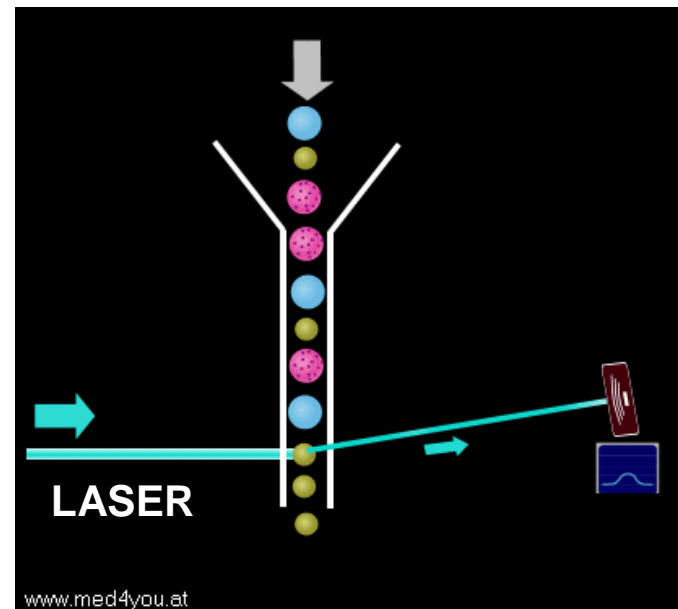
Áramlási citometria



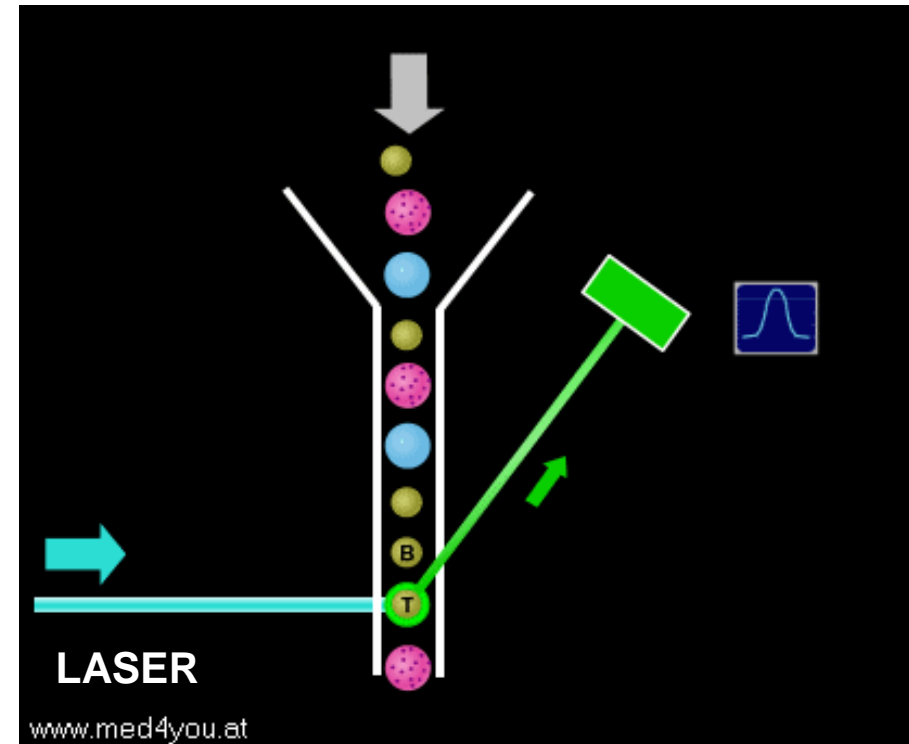
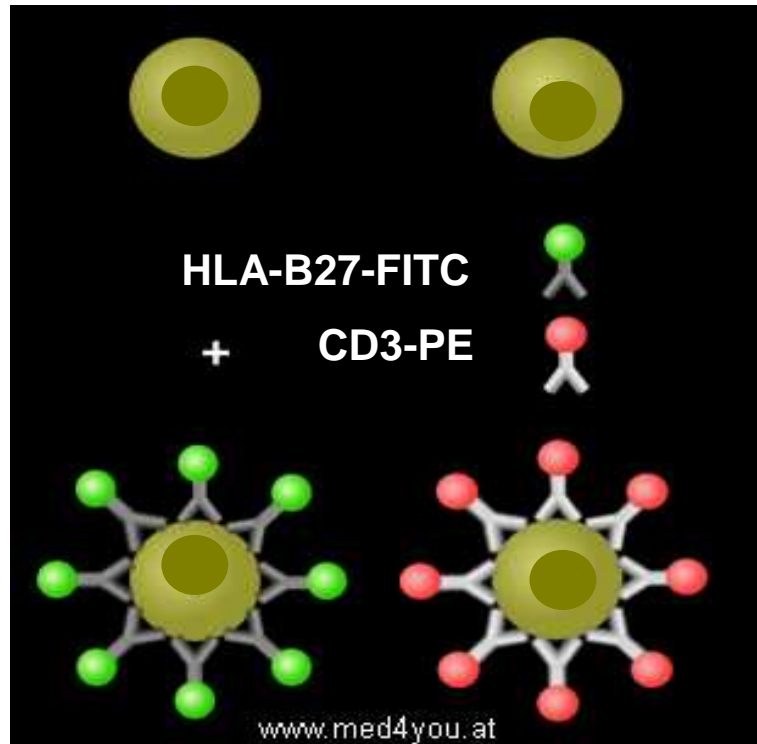
Side scatter = granularitás

Fizikai paraméterek

Forward scatter = méret



Áramlási citometria



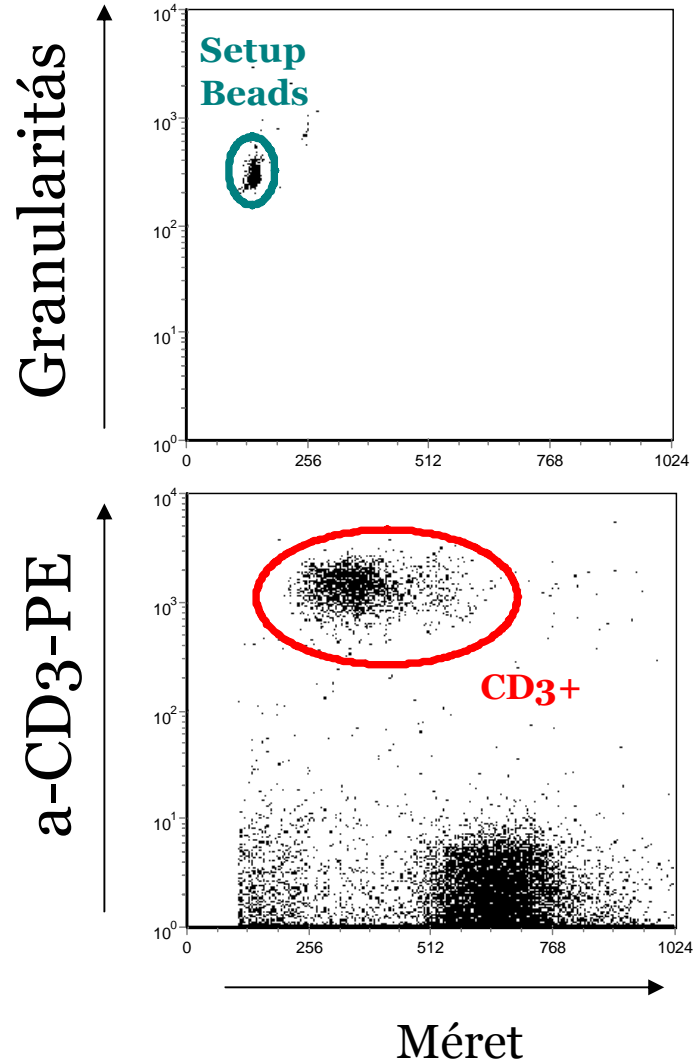
BD™ HLA-B27 System

Anti-HLA-B27 – FITC
Anti-CD3 – PE

clone GS145.2 (IgG1, kappa)
clone SK7 (IgG1, kappa)

HLA-B27 szűrő teszt

CD3-PE / HLA-B27-FITC

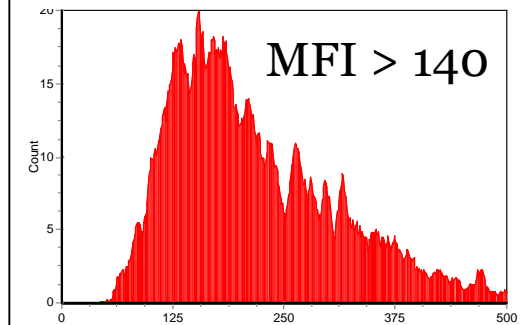
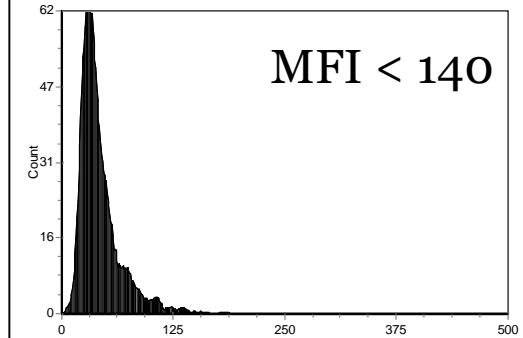
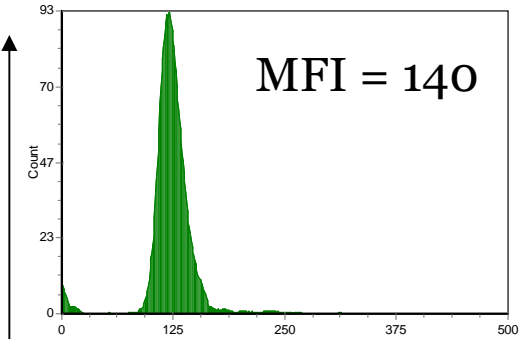


**Cut off
(setup beads)**

**Negatív
minta**

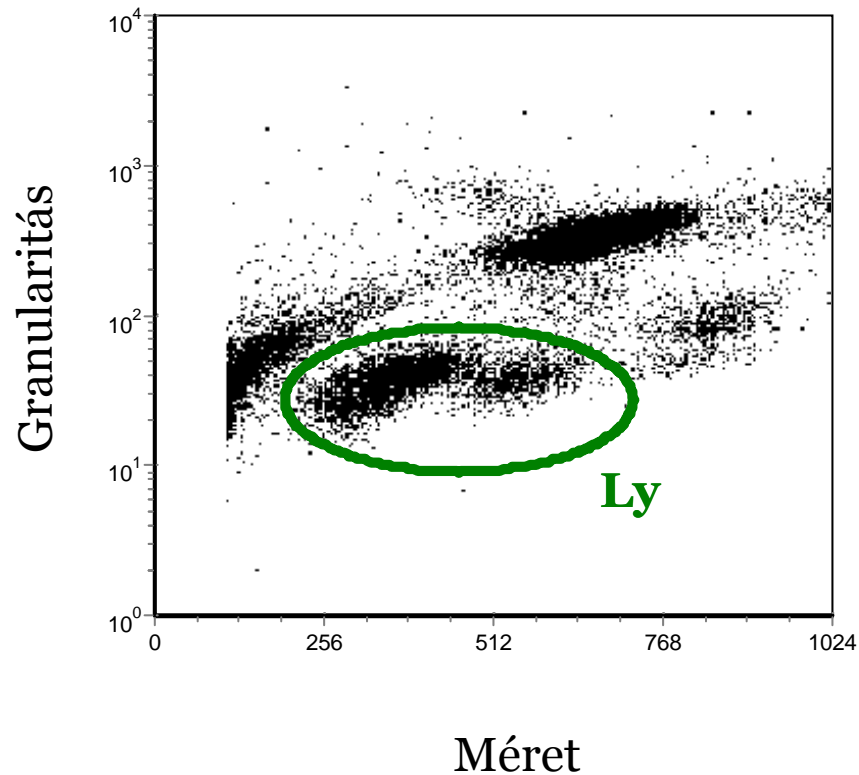
**Pozitív
minta**

Cell count

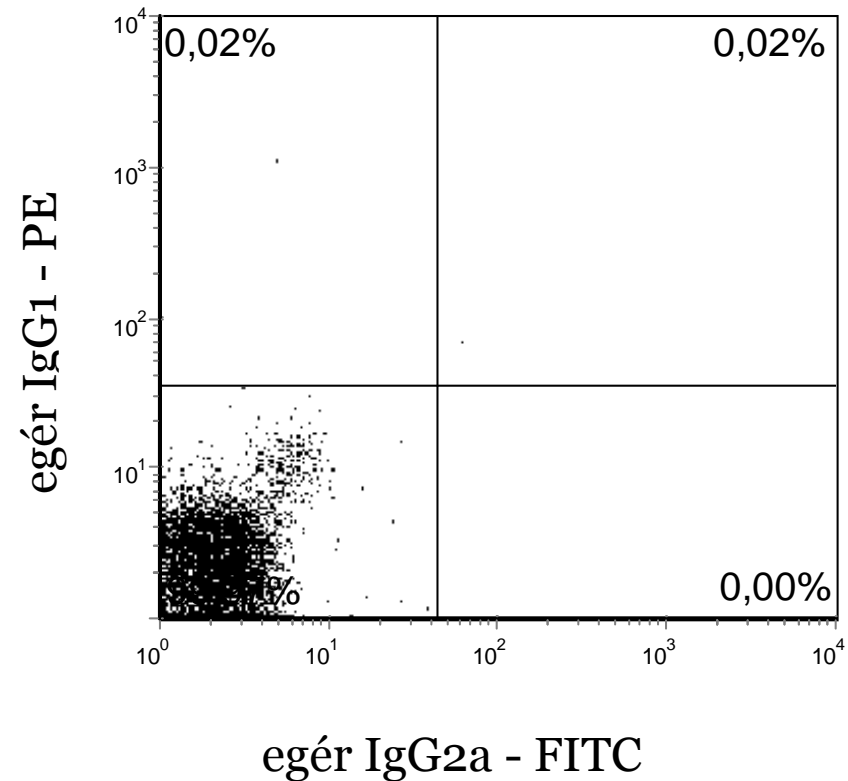


Izotípus kontroll teszt

Limfociták kapuzása



Izotípus (negatív) kontroll

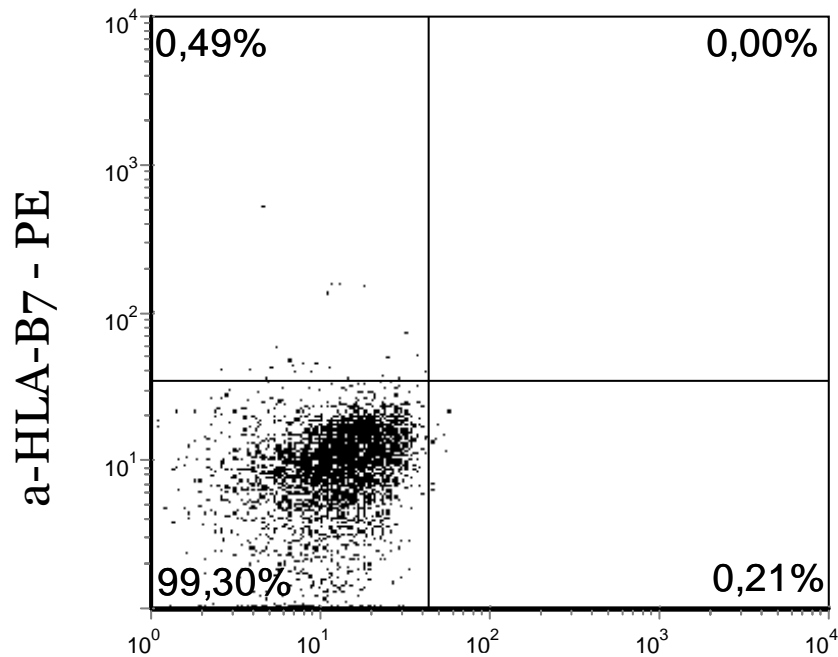


Simultest Control (Beckton Dickinson)

Anti-keyhole limpet hemocyanin-FITC clone: X40 (IgG2a)
Anti-keyhole limpet hemocyanin-PE clone: X39 (IgG1)

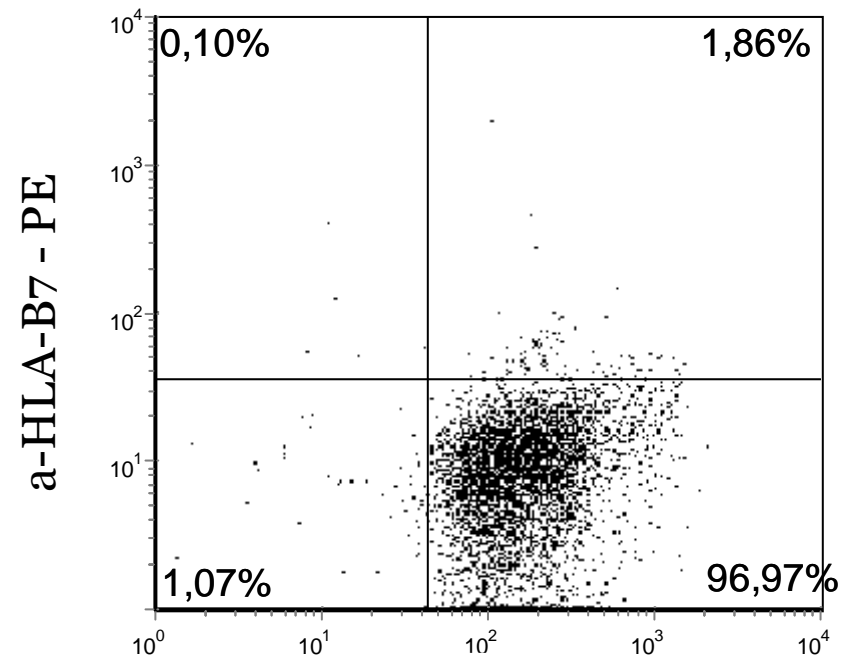
Konfirmáló HLA-B27 teszt

HLA-B27 Negatív



a-HLA-B27 - FITC

HLA-B27 Pozitív



a-HLA-B27 - FITC

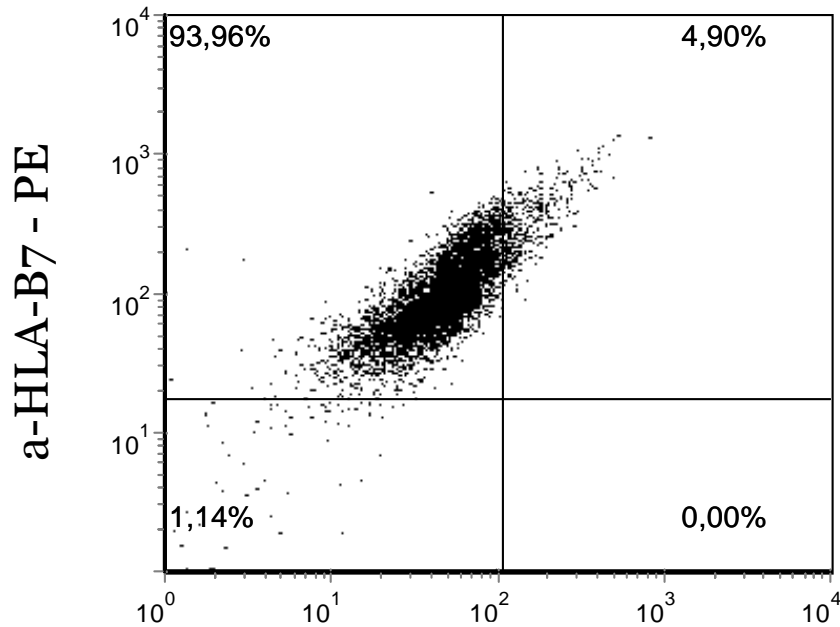
IOTest[®] (Bekman Coulter)

Anti-HLA-B27-FITC
Anti-HLA-B7-PE

clone: HLA-ABC-m3 (IgG2a)
clone: BB7.1 (IgG1)

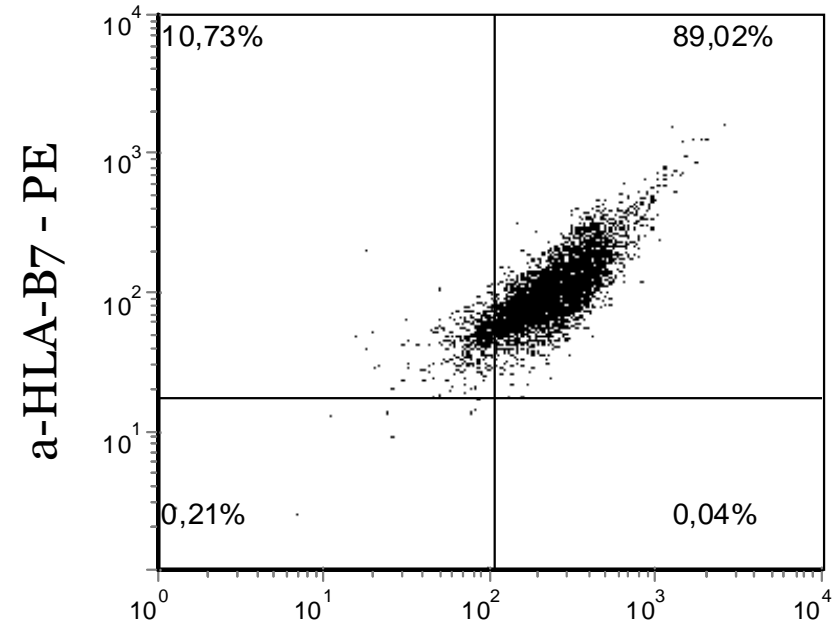
Keresztreakció HLA-B7-tel

HLA-B27 - / HLA-B7 +



a-HLA-B27 - FITC

HLA-B27 + / HLA-B7 +



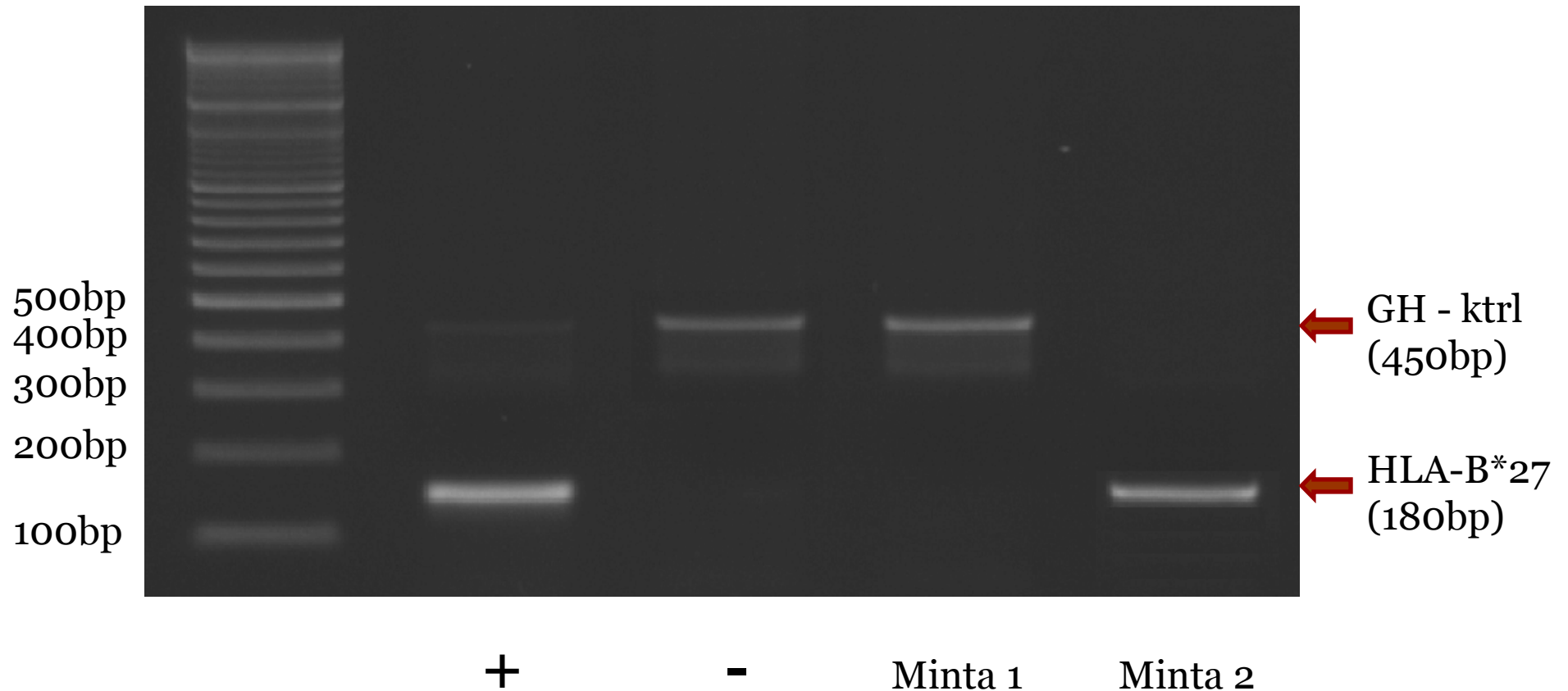
a-HLA-B27 - FITC

IOTest® (Bekman Coulter)

Anti-HLA-B27-FITC
Anti-HLA-B7-PE

clone: HLA-ABC-m3 (IgG2a)
clone: BB7.1 (IgG1)

Molekuláris biológiai diagnosztika kétes esetekben



Olerup SSP™ HLA-B*27 alacsony felbontás

Minőségügyi szemlélet

Részt veszünk a **UKNEQAS** HLA-B27 programjában.

(United Kingdom National External Quality Assessment Service)



VIZSGÁLÓ
NAT-1-1552/2008

2008 óta NAT-1/1552/2008 számon akkreditált vizsgáló laboratórium vagyunk.



Laboratóriumunk minőségirányítási rendszerét a következő ISO standardok alapján építette ki:

MSZ EN ISO/IEC 17025:2005 *Vizsgáló- és kalibrálólaboratóriumok felkészültségének általános követelményei*

MSZ EN ISO 15189:2007 *Orvosi laboratóriumok. A minőségre és a felkészültségre vonatkozó külön követelmények*

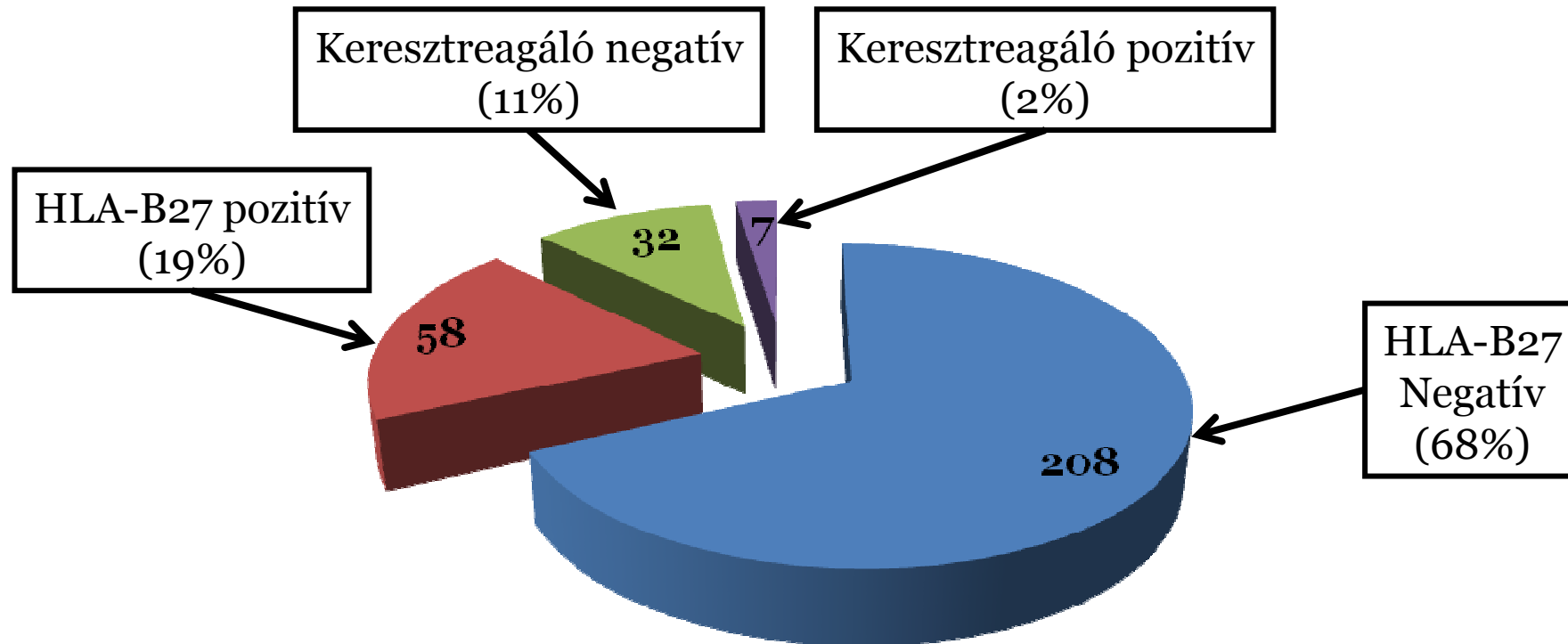
Vizsgálati eredmények



VIZSGÁLÓ
NAT-1-1552/2008

2009. I. félévében

6625 beteget vizsgáltunk, ebből 305 esetben (5%) kértek HLA-B27 kimutatást.



Köszönöm a figyelmet!

