

DNA-HLA DQ genotypGäller för
Klinisk kemi

MA

DNA-HLA DQ genotyp**Bakgrund**

Celiaki (gluteninducerad enteropati) är en immunologisk sjukdom i tunntarmen som hos predisponerade individer leder till histologiska förändringar i tunntarmen och malabsorption med olika symtom. Sjukdomen orsakas av gluten som finns i vete, råg och korn.

Celiaki är vanligt förekommande i Sverige med en prevalens på 1/100 (1). Hos nära släktingar till celiakipatienter, patienter med autoimmuna sjukdomar, personer med vissa kromosomavvikelser t.ex. Downs syndrom och Turners syndrom samt IgA brist är prevalensen cirka 10 gånger högre än i den friska befolkningen (2). Under behandling med glutenfri diet återgår tarmförändringarna till det normala och det autoimmuna tillståndet försvinner.

Genetiska studier har visat att celiaki är starkt associerad med HLA (Human leukocyte antigen) klass II generna på kromosom 6p21. HLA DQA1 och DQB1 generna ligger intill varandra och deras genprodukter bildar tillsammans en HLA-DQ molekyl. Ca 95% av patienter med celiaki har allelerna DQA1*05 och DQB1*02 som tillsammans kodar för en HLA-DQ2 molekyl. Resterande 5% är nästan uteslutande bärare av DQA1*03 och DQB1*0302 som tillsammans ger HLA-DQ8 molekyl. Nästan inga patienter med celiaki saknar någon av dessa HLA DQ risk alleler (3,4). Däremot är 30-40% av normalbefolkningen också bärare av dessa alleler. Således kan inte HLA-typning användas till att förutsäga celiaki men analysen kan användas vid utredning av sjukdomen.

Indikation

Analysen rekommenderas vid utredning av celiaki f.f.a. för att säkerställa diagnos i oklara fall som t.ex. vid otydliga antikropps- och/eller histologiska analysresultat men kan även användas för att uppskatta risken att insjukna i celiaki hos symptomfria personer med förhöjd risk, så som nära släktingar till celiakipatienter, typ 1 diabetiker, personer med Sjögrens syndrom, Basedows sjukdom eller Downs syndrom, samt personer med IgA brist.

Tolkning

Celiaki är starkt associerad med DQ2, d.v.s. närvaro av allelen DQB1*02 med antingen DQA1*05 eller DQA1*02 och DQ8, d.v.s. DQB1*0302 tillsammans med DQA1*03. Bärare av två DQ2 har högst risk för celiaki. Avsaknad av DQ2 och DQ8 talar starkt emot celiaki.

Analysprincip

Analysen utförs på DNA extraherat från EDTA-blod. PCR utförs med sekvensspecifika primers (PCR-SSP) som kan urskilja olika DRB1, DQA1 och DQB1-alleler. Sekvensspecifika primers för DQA1 *01, *02, *03, *04, *05, *06 samt DQB1 *02, *0301, *0302, *0303, *0304, *05, *06 och *0602 används (se bilaga 6 och 7). Dessutom inkluderas primers som detekterar allelgrupperna DRB1 *01, *03/*11/*13/*14, *04, *07, *08/*12, *09, *10 och *15/*16 för att bekräfta närvaro av riskalleler då dessa ingår i välkända haplotyper tillsammans med DQ2 och DQ8 och dels för att säkerställa eventuella tvetydiga resultat (se bilaga 8). PCR-produkterna analyseras med kapillärelektrofores och rådata bearbetas i GeneMapper.

Referensintervall

Ej tillämpbar på kvalitativ analys.

DNA-HLA DQ genotypGäller för
Klinisk kemi

MA

Metodkaraktistika**Interferenser och felkällor**

Om DNA-provet innehåller inhibitorer uteblir tolkningsbara signaler och provet analyseras om. Principiellt kan andra homologa DNA-sekvenser hybridisera med primers och ge felaktig information. Detta har eliminerats i den initiala optimeringen av metoden och sedermera validerats. Kontamination med genomiskt DNA eller PCR-produkt kan ge upphov till missvisande resultat.

Mätområde

Metoden detekterar följande HLA-alleler/allelgrupper:

DRB1 *01, *03/*11/*13/*14, *04, *07, *08/*12, *09, *10 och *15/*16,

DQA1 *01, *02, *03,*04, *05, *06

DQB1 *02, *0301, *0302, *0303, *0304, *04, *05, *06 och *0602.

Detektionsgräns

Ej tillämpbar på kvalitativ analys.

Mätosäkerhet

Ej tillämpbar på kvalitativ analys.

Spårbarhet

DNA-sekvenser för olika HLA-alleler utifrån vilka primers är konstruerade är hämtade från IMGT/HLA databas, version 3.12.0 <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/index.html>.

Ackreditering

Metoden är ej ackrediterad.

Referenser

1. Ivarsson A., Persson L., Nyström L, et al., Epidemic of celiac disease in Swedish children. Acta Paediatr 2000; 89:165-71.
2. Mearin, M.L., Celiac disease among children and adolescents. Curr.Probl.Pediatr.Adolesc.Health.Care., 2007;37:86-105.
3. Sollid LM, Markussen G, Ek J, Gjerde H, Vartdal F, Thorsby E. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. J.Exp.Med. 1989;169:345-50.
4. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, Barbato M, Nenna R, Maiella G, et al. HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. Hum.Immunol. 2009;70:55-9.
5. Lavant EH, Agardh DJ, Nilsson A, Carlson JA. A new PCR-SSP method for HLA DR-DQ risk assessment for celiac disease. Clin Chim Acta 2011;412:782-4.
6. Klitz W, Maiers M, Spellman S et al. New HLA haplotype frequency reference standards: high-resolution and large sample typing of HLA DR-DQ haplotypes in a sample of European Americans. Tissue Antigens 2003; 62:296-307.
7. Burdett L, Smith K, Tu B , Guitierrez M , Buck K. , Maiers M., Ng J., Hartzman R. and Fernandez-Vina M.. DRB-DQB1 diversity in the analysis of 4727 donors typed by SBT. Hum Immunol. 2003;64(10 Suppl):S6.
8. Maiers, M., Gragert, L., Klitz, W. High resolution HLA alleles and haplotypes in the US population. Human Immunology. 2007;68:779-88.