

HLA – Typisierung mittels rSSO	
(molekulargenetische Typisierung der Loci A, B, Cw, DR, DQ und DP)	
<b>Indikation:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Routineuntersuchung im Rahmen einer Transplantation (solide Organe)</li> <li>• Vor geplanter Transfusion HLA-kompatibler Thrombozytenkonzentrate</li> </ul>
<b>Methode:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Die Luminex-Technologie ist ein Verfahren, das durch die Verwendung spezifischer Gensonden die Differenzierung polymorpher Sequenzmotive innerhalb der HLA-Allele erlaubt. In einem ersten Schritt wird der zu untersuchende HLA-Lokus (HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ oder -DP) mittels PCR amplifiziert. Die dabei verwendeten Primer sind biotinyliert, so dass die entstehenden PCR-Produkte (Amplifikate) ebenfalls biotinyliert sind. Die Amplifikate werden anschließend chemisch denaturiert und mit Mikrokugeln inkubiert, die mit allelspezifischen Oligonukleotiden (Gensonden) beschichtet sind. Dabei binden die einzelsträngigen Amplifikate an die für sie spezifischen Oligonukleotide. Ungebundene Amplifikate werden durch Waschen entfernt.</li> <li>• Im zweiten Schritt werden die gebundenen, biotinylierten Amplifikate mittels Streptavidin-Phycoerythrin (SAPE) gefärbt, nicht gebundenes SAPE wird durch Waschen entfernt. Nach Aufnahme der Proben in einer geeigneten Pufferlösung werden sie im Luminex-Gerät gemessen.</li> <li>• Im Luminex-Gerät findet die Messung der Mikrokugeln und der gebundenen Amplifikate mit Hilfe zweier Laser statt. Jedes Mikrokugelpanel verfügt über eine individuelle Farbkodierung, die über den Bestimmungslaser detektiert wird. Mit dem Reporterlaser wird die Stärke bzw. Fluoreszenzintensität (FI) der Phycoerythrin-Färbung der gebundenen Amplifikate gemessen. Nach Abgleich der Mikrokugel-Identitäten durch die zugehörige Software werden die Werte für die jeweiligen Mikrokugelpopulationen gemittelt und stellen als „Mittlere Fluoreszenzintensität“ (MFI) das Ergebnis dar.</li> </ul>
<b>Material:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 ml Citrat- oder EDTA-antikoaguliertes Vollblut</li> </ul>
<b>Transport/Präanalytik:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Raumtemperatur</li> </ul>
<b>Auftragsbearbeitung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Durchführung: wöchentlich</li> <li>• Befundung: aufgrund der Komplexität der Teste kann eine Befundung bis zu 8 Wochen in Anspruch nehmen</li> </ul>
<b>Referenzbereich:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• entfällt</li> </ul>

