

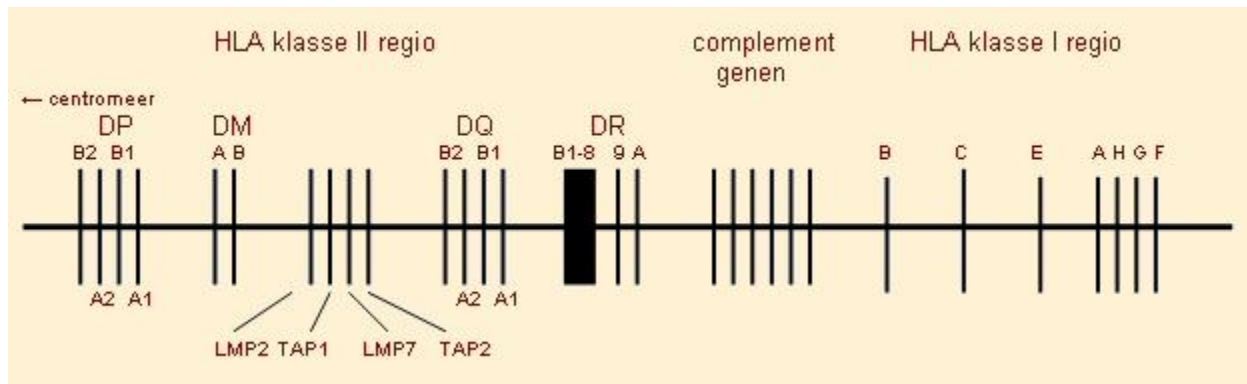
# HLA-typing en HLA-geassocieerde aandoeningen

## Het HLA-systeem

1. Inleiding
2. Niertransplantatie, corneatransplantatie, allogene beenmergtransplantatie
3. Bloedtransfusie, trombocytentransfusie, transfusion-related lung injury (TRALI)
4. HLA-klasse I geassocieerde ziekten
5. HLA-klasse II geassocieerde ziekten

### 1. Inleiding

De genetische informatie van het HLA-systeem (HLA = humane leukocytenantigeen) is gelegen op de korte arm van chromosoom 6 (figuur 1).



De genproducten van het HLA-systeem zijn te verdelen in HLA-klasse I en klasse II celmembraangebonden glycoproteïnen, enkele complementfactoren (C2, C4, Bf), het enzym 21-hydroxylase en tumor necrosis factor (TNF). Tot de HLA-klasse I antigenen behoren de HLA-A, -B en -C moleculen, die voorkomen op het celoppervlak van alle kernhoudende cellen en trombocyten.

Daarentegen bevinden de HLA-klasse II moleculen, waartoe de HLA-DR, -DQ en -DP antigenen behoren, zich op de celmembraan van cellen die actief aan de immuunrespons deelnemen (zoals monocyt en macrofagen) en die tot taak hebben lichaamsvreemde structuren aan te bieden aan het immuunapparaat.

Het HLA-systeem wordt gekenmerkt door een sterk polymorfisme. Dit betekent dat er van elk gen een groot aantal allelische vormen bestaan. HLA-moleculen worden door middel van een letter-cijfer combinatie aangeduid, zoals HLA-A1, HLA-B8, HLA-Cw7, HLA-DR17, HLA-DQ2. De HLA-C locus producten dragen altijd een 'w' (bijvoorbeeld Cw7) om verwarring met de complement nomenclatuur te voorkomen.

De combinatie van HLA-allelen waarvan de genetische informatie is gelegen op hetzelfde chromosoom 6, wordt een HLA-haplotype genoemd (bijvoorbeeld HLA-A1,-B8,-Cw7,-DR17, -DR52,-DQ2). Ieder individu erft één haplotype van zijn moeder en één haplotype van zijn vader.

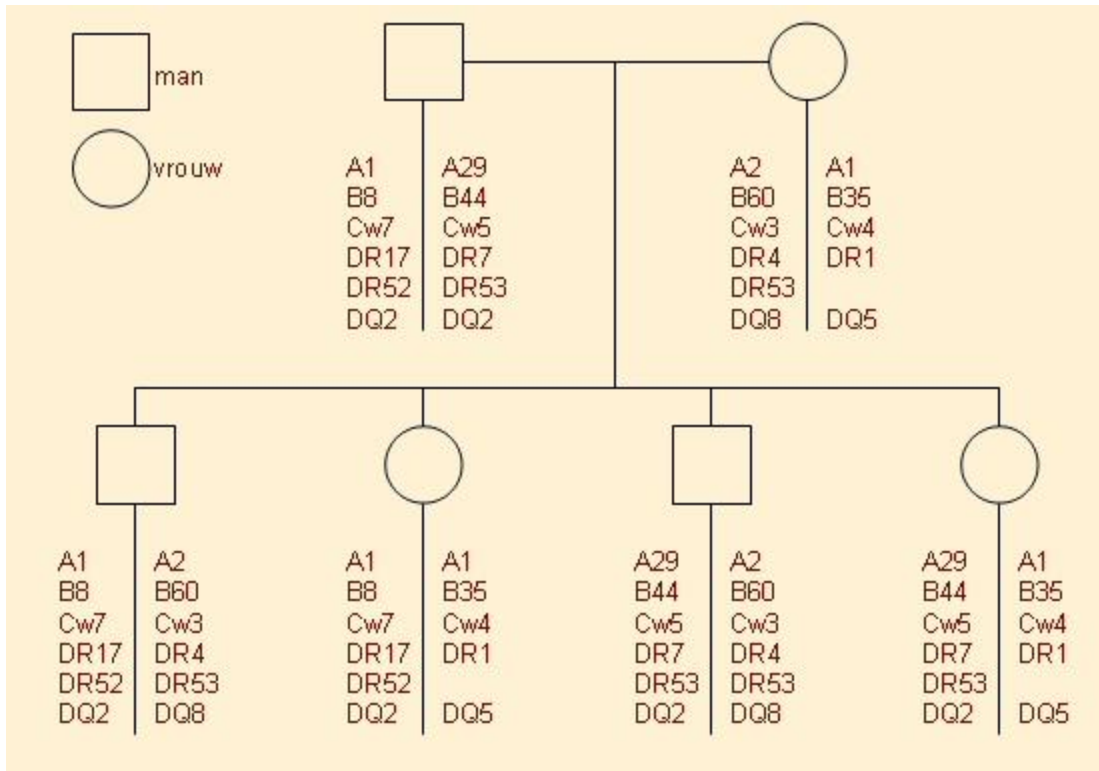
Aan de hand van een gezin bestaande uit vader, moeder en vier kinderen is in figuur 2 een voorbeeld van een overervingpatroon weergegeven. Op basis van de HLA-typing van één individu kunnen zonder familieonderzoek alleen de afzonderlijke allelen worden vastgesteld en niet de overgeërfde maternale en paternale haplotypen (tabel 1).

Soms lijkt er maar één HLA-allel van een bepaald gen aanwezig. In dit geval is er sprake van homozygotie: dezelfde genetische informatie is van beide ouders overgeërfd. In zeldzame gevallen kan

op één van de chromosomen een nog niet eerder gedefinieerd HLA-allel aanwezig zijn of er is sprake van een genetisch defect waardoor het genproduct niet tot expressie komt.

De biologische betekenis van HLA-moleculen is gelegen in de regulatie van de cellulaire immuunrespons tegen lichaamsvreemde structuren, zoals virussen en bacteriën. Daarnaast spelen HLA-antigenen een belangrijke rol bij het ontstaan van transplantatie-immuniteit en kan immunisatie tegen HLA-antigenen de oorzaak zijn van ongewenste reacties na bloed (component) transfusies.

*Figuur 2: Voorbeeld van een overervingpatroon van een gezin bestaande uit vader, moeder en vier kinderen*



*Tabel 1: Voorbeeld van een willekeurige HLA-typing*

HLA-A locus	A11	A30
HLA-B locus	B35	B13
HLA-C locus	Cw4	Cw6
HLA-DR locus	DR4	DR14
	DR53	DR52
HLA-DQ locus	DQ8	DQ5

*De afzonderlijke haplotypen kunnen zonder familieonderzoek niet worden vastgesteld. Bij routine HLA-typing worden de HLA-DP-allelen niet bepaald.*

## Methoden van HLA-typering

Een HLA-typering kan bepaald worden met behulp van serologische en/of DNA-technieken.

Een serologische HLA-typering (= fenotypering) wordt verricht door middel van incubatie van geïsoleerde lymfocyten met een panel van goed gedefinieerde HLA-antistoffen. Antistofbinding wordt bepaald in een complement-afhankelijke microcytotoxiciteitstest (CDC), waarbij cellysis wordt gemeten met een kleurstof die vrijkomt uit de gelyseerde cellen. Het gebruik van DNA-technieken voor het bepalen van HLA-allelen heeft geleid tot meer inzicht en een betere definitie van polymorfe HLA-antigenen. De meest gebruikte DNA-technieken zijn de 'sequentie-specifieke oligonucleotide' (SSO) techniek en de 'sequentie-specifieke primer' (SSP) reactie.

Echter, de laatste jaren wordt steeds meer gebruik gemaakt van de 'sequence base typing' (SBT) techniek als DNA-typeertechniek voor het vaststellen van aanwezigheid van de verschillende HLA-allelen. Als uitgangsmateriaal voor de DNA-typeertechnieken wordt gebruik gemaakt van genomisch DNA geïsoleerd uit lymfocyten.

Bij de SSO-techniek wordt met behulp van PCR het polymorfe deel van een HLA-gen geamplificeerd met primers gericht tegen niet-polymorfe delen van de genen. Het geamplificeerde DNA wordt door middel van de Dot Blot of 'reverse' Dot Blot methode gehybridiseerd met sequentie-specifieke oligonucleotiden. Hybridisatie van de SSO's met het geamplificeerde DNA wordt gedetecteerd door middel van toevoeging van streptavidin-horseradish peroxidase (SA-HRP) conjugaat. Aankleuring van het gebiotinylerde geamplificeerde DNA gebeurt met behulp van waterstofperoxide en een substraat, bijvoorbeeld tetramethylbenzidine (TMB). Afhankelijk van het te analyseren locus en gewenste resolutie zijn 24 tot 56 SSO's nodig voor het definiëren van de allelen van één HLA-locus.

Bij de SSP-techniek wordt gebruik gemaakt van sequentie-specifieke primers die gericht zijn tegen de polymorfe gensegmenten. PCR-amplificatie duidt op de aanwezigheid van het desbetreffende HLA-allel. Het voordeel van de SBT-techniek boven de hierboven genoemde technieken is dat van de geamplificeerde gensegmenten de nucleotide-volgorde kan worden bepaald. Hierdoor is het mogelijk om alle relevante polymorfe gensequenties te analyseren waardoor op alle niveaus de HLA-typering kan worden vastgesteld.

Een volledige HLA klasse I en klasse II genotypering (= HLA-A\*, -B\*, -Cw\*, -DRB1\*, -DRB3\*, -DRB4\*, -DRB5\*, -DQB1\*, -DPA1\* en -DPB1\* typering) wordt alleen verricht voor het vaststellen van potentiële beenmergdonoren bij HLA-identieke onverwante donor-ontvanger combinaties.

## 2. Niertransplantatie, corneatransplantatie, allogene beenmergtransplantatie

### Kliniek

1) *Niertransplantatie*: de HLA-typering van patiënten met een terminale nierinsufficiëntie die in aanmerking komen voor een niertransplantatie is van belang om voor hen een zo compatibel mogelijke donornier te kunnen vinden. De HLA-typering van de donor moet daarbij zoveel mogelijk overeenkomen met die van de ontvanger om afstoting van het transplantaat te voorkomen. Vooral overeenkomsten in de HLA-DR-antigenen zijn hierbij van belang. Ook is het mogelijk dat verwanten van de patiënt een nier willen afstaan. Of dit aanbod te accepteren is kan door HLA-typering worden vastgesteld.

2) *Corneatransplantatie*: bij corneatransplantatie is het van belang dat patiënten met een verhoogd risico op vaatingroei of circulerende HLA-antistoffen, met een HLA-A, -B compatibele donorcornea worden getransplanteerd.

3) *Allogene beenmergtransplantatie*: in het algemeen wordt voor patiënten die in aanmerking komen voor een beenmergtransplantatie het liefst gebruik gemaakt van HLA-identieke eerste graadsverwanten als donor. Dit om het risico van transplantaatafstoting of het optreden van 'graft-versus-host' ziekte (GVHD) zo klein mogelijk te houden. Echter, onder bepaalde voorwaarden is het mogelijk dat HLA-identieke niet-familieleden en HLA-incompatibele verwante donoren als beenmergdonor kunnen fungeren. De belangrijkste oorzaak van transplantaatafstoting of het optreden van 'graft-versus-host' ziekte is de

activatie van T-lymfocyten gericht tegen HLA-verschillen tussen donor en ontvanger.

### **Diagnostiek**

HLA-typering

HLA-typering vindt plaats middels de methoden beschreven onder 'Methoden van HLA-typering'.

T-cel functie

De functionele eigenschappen van de T-cellen worden gemeten in een gemengde lymfocytenkweek (MLC) en daarnaast wordt het aantal specifiek reagerende cytotoxische T-lymfocyten (CTL) vastgesteld. Deze functionele testen zijn met name van belang voor de donorselectie van HLA-identieke niet-familieleden en HLA-incompatibele verwante beenmergdonoren. Om het risico van transplantaatafstoting, maar vooral van GVHD te beperken, is het belangrijk dat de MLC met lymfocyten van de potentiële donor en ontvanger negatief is en dat er geen donor anti-ontvanger CTL-precursorcellen (CTLp) gemeten worden. Het risico op het optreden van GVHD bij niet-verwante beenmergtransplantatie blijkt nauwgezet te correleren met het aantal donor CTL-precursors gericht tegen de ontvanger.

### **3. Bloedtransfusie, trombocytentransfusie, transfusion-related lung injury (TRALI)**

#### **Kliniek**

1) *Bloedtransfusiereactie*: een transfusiereactie treedt op tijdens het toedienen van een bloedtransfusie en uit zich in koude rillingen, pijn in de lendenen en/of moeite met doorzuchten. Een dergelijke transfusiereactie kan berusten op de aanwezigheid van HLA-antistoffen.

2) *Refractair zijn van trombocytencentraten*: het refractair zijn van trombocytencentraten kenmerkt zich in het trombocytopenisch blijven van de patiënt, ondanks toegediende trombocytencentraten. De oorzaak is vaak de aanwezigheid van antistoffen gericht tegen HLA-klasse I antigenen. Een transfusie afkomstig van HLA-klasse I gematchte donoren levert dan veelal goede resultaten op.

3) *TRALI*: Transfusion related acute lung injury (TRALI) is een zeldzame maar ernstige transfusiereactie die optreedt na de toediening van plasmahoudende bloedcomponenten. Kenmerkend voor TRALI is het plotselinge optreden van dyspnoe, cyanose en soms shock ten gevolge van longoedeem. Er zijn verschillende verklaringen voor het optreden van dit acute respiratoire distress syndroom (ARDS), namelijk een immunogene oorzaak: hierbij zouden circulerende HLA-antistoffen aanwezig bij de ontvanger reageren met leukocyten in het donorbloed (TRALI met immunogene oorzaak). Maar ook leukocytenantistoffen aanwezig in de plasmahoudende bloedcomponenten kunnen de oorzaak van TRALI zijn. TRALI is vermoedelijk het gevolg van activatie van leukocyten, die vervolgens vastlopen in de longcirculatie, wat kan leiden tot longoedeem ten gevolge van beschadiging van het vaatbed (zie ook [hoofdstuk 1](#)).

In een minderheid van de TRALI-gevallen zouden vasoactieve stoffen aanwezig in een bloedproduct de oorzaak van het TRALI-beeld zijn.

#### **Diagnostiek**

Bij patiënten die een bloed(componenten)transfusie moeten ontvangen en die bij een voorgaande transfusie complicaties vertoonden (transfusiereacties) is een onderzoek op de aanwezigheid van HLA-antistoffen vaak nuttig. Bij het refractair zijn van trombocytencentraten biedt onderzoek naar HLA-klasse I antistoffen uitsluitel omtrent de mogelijke rol daarvan.

In geval van TRALI zal het plasma van de donor en van de ontvanger moeten worden onderzocht op aanwezigheid van antistoffen tegen lymfocyten, granulocyten en leukocyten (zie [hoofdstuk 1](#)). Indien leukocytenantistoffen aantoonbaar zijn in plasma van de donor of de ontvanger, dient met behulp van een kruisproef dan wel via HLA-typering de aanwezigheid van het antigeen waartegen de antistoffen gericht zijn bij de ontvanger dan wel de donor van het bloedproduct vastgesteld te worden.

#### 4. HLA-klasse I geassocieerde ziekten

##### Kliniek

- 1) *Ziekte van Bechterew = Spondylitis Ankylopoëtica (SA)*: de ziekte van Bechterew is een chronisch ontstekingsproces van de gewrichten tussen de wervels, gepaard gaand met zeer geleidelijke verstijving en deformatie van zowel de gewrichten als de gewrichtsbanden, tenslotte resulterend in een voorovergekromde, stijve rug en een starre borstkas.
- 2) *Ziekte van Reiter*: de ziekte van Reiter omvat een combinatie van klachten, bestaande uit ontsteking van de urinebuis, het oogbindvlies en één of meerdere gewrichten.
- 3) *Acute uveïtis anterior (AUA)*: acute uveïtis anterior is een aandoening van het oog met ontsteking van het regenboogvlies, straallichaam en vaatvlies van het oog.
- 4) *Birdshot chorioretinopathie*: Birdshot chorioretinopathie kenmerkt zich door een aandoening van het vaatvlies en het netvlies van het oog.
- 5) *Ziekte van Behçet*: de ziekte van Behçet kenmerkt zich door onder andere oppervlakkige zweren van de slijmvliezen van mond, ogen en uitwendige geslachtsorganen.
- 6) *Hereditaire hemochromatose*: Hereditaire hemochromatose is een ijzerstapelingsziekte waarbij afzetting van ijzer in weefsels en organen plaatsvindt ten gevolge van overmatige ijzerresorptie vanuit de darmen.

##### Diagnostiek

- 1) Het stellen van de diagnose 'ziekte van Bechterew' kan met name in het beginstadium grote moeilijkheden opleveren. Uit epidemiologisch onderzoek is gebleken dat er een zeer hoge associatie bestaat tussen de ziekte van Bechterew en het voorkomen van het HLA-B27-allel, in die zin dat 90% van de patiënten deze genetische merker draagt. Het is de vraag of de zeer kleine groep Bechterew patiënten die het HLA-B27-allel niet bezit (plusminus 10%) zich onderscheidt van de meerderheid van HLA-B27-positieve Bechterew patiënten. Uit onderzoek is gebleken dat bij het merendeel van de HLA-B27-negatieve Bechterew patiënten deze aandoening gepaard gaat met het voorkomen van een aantal andere aandoeningen, zoals psoriasis en inflammatoire darmaandoeningen (met name de ziekte van Crohn) bij de patiënt of bij eerstegraads familieleden van de patiënt.

Voor de diagnostiek bij de individuele patiënt verliest de bepaling van het HLA-B27-allel echter een belangrijk deel van zijn waarde doordat de frequentie van HLA-B27 in de Kaukasische bevolking 9% is en de frequentie van de ziekte van Bechterew ongeveer 1 promille bedraagt. De bepaling van het HLA-B27-allel lijkt dan ook vooral van belang in de beginfase van de aandoening, wanneer op grond van klinische criteria geen definitieve diagnose kan worden gesteld. Bij patiënten die niet één van de met HLA-B27-negatieve Bechterew geassocieerde aandoeningen vertonen en waarbij deze ook niet bij de eerstegraads familieleden aanwezig zijn, pleit de *afwezigheid* van het HLA-B27-allel sterk tegen de diagnose ziekte van Bechterew.

Uit familieonderzoek is gebleken dat de HLA-B27-positieve verwanten van een HLA-B27-positieve Bechterew patiënt een verhoogd risico voor sacroïllitis hebben: bij 25% van deze groep treft men tekenen van sacroïllitis aan. HLA-B27-negatieve verwanten hebben geen verhoogd risico hiervoor.

- 2) De ziekte van Reiter is ook geassocieerd met het HLA-B27-allel. Tegenover 100 HLA-B27-positieve patiënten worden 27 HLA-B27-negatieve patiënten gevonden. Ook hier dient er uiteraard mee rekening te worden gehouden dat de frequentie van HLA-B27 in de Kaukasische bevolking 9% is en dat slechts een klein aantal van deze personen de ziekte van Reiter krijgt.

- 3) Bij vijftig procent van de acute uveïtis anterior (AUA) patiënten is het HLA-B27-allel aanwezig. HLA-B27-positieve patiënten onderscheiden zich van HLA-B27-negatieve patiënten in die zin dat het optreden van AUA bij HLA-B27-positieve patiënten frequent (55-90%) het eerste teken is van een zich ontwikkelende spondylitis ankylopoëtica. Bovendien is de prognose van AUA bij HLA-B27-positieve patiënten aanzienlijk gunstiger dan bij HLA-B27-negatieve patiënten, bij wie eerder de ontwikkeling van een chronische uveïtis wordt gezien en het beloop nogal eens wordt gecompliceerd door het optreden

van glaucoom en cataract.

4) Birdshot chorioretinopathie vertoont een vrijwel volledige associatie met het HLA-A29 antigeen.

5) In epidemiologisch onderzoek is aangetoond dat de ziekte van Behçet geassocieerd is met HLA-B5 antigenen, met name HLA-B51 en HLA-B52.

6) Hereditaire hemochromatose is een autosomaal recessieve aandoening ten gevolge van mutaties in het HFE-eiwit, waarvan het gen gelegen is binnen het HLA-complex, dichtbij het HLA-A3-allel. Het HFE-eiwit is betrokken bij de regulatie van de opname van ijzer uit de darm doordat het competeert met transferrine voor binding aan de transferrinereceptor. Mutaties in HFE leiden tot overmatige opname van ijzer. Dit kan leiden tot stapeling van ijzer en daarmee tot ernstige schade aan lever, hart, gewrichten en endocriene organen bij volwassenen. Bij diagnose voor eindstadium orgaanschade is regelmatige flebotomie (aderlaten) een effectieve en levensreddende behandeling doordat met de erythrocytenverwijdering de ijzervoorraden gedepleteerd worden. Beenmergerythropoiese compenseert effectief voor het bloedverlies.

De belangrijkste ziekte-geassocieerde mutatie in HFE is substitutie van Cysteïne-282 door Tyrosine. Daarnaast zijn er aanwijzingen dat dubbele heterozygotie voor de Cys282Tyr mutatie met een andere mutatie (His63Asp) ook aanleiding kan geven tot het ontwikkelen van de ziekte. Door bij deze 'at risk' patiënten de ijzerstofwisseling periodiek te vervolgen, kunnen tijdig maatregelen worden genomen om ijzerstapeling te voorkomen. De Cys282Tyr mutatie komt bij 10-13% van alle Kaukasische (blanke) mensen voor, en bij 0,5% van hen in homozygote vorm.

Recente literatuurgegevens wijzen uit dat van de homozygoten ongeveer 1% hereditaire hemochromatose ontwikkelt. Binnen families met deze ziekte is de penetrantie echter veel hoger. Het verdient daarom aanbeveling in geval een patiënt met zekerheid als hemochromatose-patiënt is geïdentificeerd, familie-onderzoek te laten uitvoeren om andere dragers van het ziektegen binnen de familie op te sporen. Immers, de kans bij dragers van dit gen op homozygoot nageslacht is aanzienlijk. Bij Sanquin Diagnostiek worden de Cys282Tyr mutatie en de His63Asp mutatie in het DNA uit een klein bloedmonster bepaald met behulp van de PCR-techniek.

## 5. HLA-klasse II geassocieerde ziekten

### Kliniek

1) *Insuline-afhankelijke diabetes mellitus (IDDM)*: IDDM kenmerkt zich door onvoldoende insuline productie door de alvleesklier, wat uiteindelijk leidt tot suikerziekte.

2) *Coeliakie*: Coeliakie is een spijsverteringsstoornis die gekenmerkt wordt door een overgevoeligheid voor eiwitverbindingen (gluten) die in graanproducten voorkomen.

3) *Multipele sclerose (MS)*: Multipele sclerose is een neurologische aandoening die gekenmerkt wordt door toenemende uitvalsverschijnselen van spieren en gevoelszenuwen.

4) *Narcolepsie*: Narcolepsie of slaapziekte is een neurologische afwijking die gekenmerkt wordt door aanvallen van slaapzucht. Een tweede belangrijk symptoom is het plotseling bilateraal verlies van spiertonus (cataplexie).

5) *Sensibilisatie tegen trombocyt HPA-1a ( $Zw^b$ ) antigeen*: sensibilisatie tegen trombocyten HPA-1a-antigeen kan zich uiten in het ontstaan van neonatale alloïmmuun trombocytopenie (NAITP) bij pasgeborenen en posttransfusie purpura bij ouderen.

6) *Primaire scleroserende cholangitis (PSC)*: kenmerkend voor primaire scleroserende cholangitis is een verharding van de galwegen ten gevolge van galwegontsteking.

## Diagnostiek

1) Bij insuline-afhankelijke diabetes mellitus (IDDM) wordt een hoge frequentie van HLA-DR3 en/ of HLA-DR4 allelen gevonden. Familieonderzoek heeft aangetoond dat de kans dat deze aandoening zich voor het 30ste levensjaar bij HLA-identieke verwanten van IDDM-patiënten openbaart 15% bedraagt. Bij HLA-niet-identieke verwanten is dit percentage 1%. Ook bij deze ziekte kan de risicogroep met HLA-typering worden vastgesteld.

2) Bij coeliakie patiënten is een hoge associatie aangetoond met het HLA-DQB1\*02/DQA1\*0501- en/of HLA-DQB1\*0302/DQA1\*03 allel. Bij verdenking op coeliakie is de afwezigheid van met name HLA-DQB1\*02/DQA1\*0501 en HLA-DQB1\*0302/DQA1\*03 dan ook een argument tegen de diagnose.

3) Multipole sclerose wordt vijfmaal vaker bij individuen met het HLA-DRB1\*15, -DQA1\*01, -DQB1\*06 haplotype aangetroffen dan bij HLA-DRB1\*15-negatieve individuen. Belangrijker echter is dat de aanwezigheid van HLA-DRB1\*15 significant vaker gepaard gaat met de ontwikkeling van multipole sclerose na het doormaken van een neuritis optica.

4) Narcolepsie is een aandoening die de sterkste associatie vertoont met een HLA-antigeen. Onderzoek in verschillende bevolkingsgroepen heeft uitgewezen dat vrijwel alle narcolepsie patiënten het HLA-DRB1\*1501, -DQA1\*0102, -DQB1\*0602 (= HLA-DR15/-DQ6) haplotype bezitten. De sterke, vrijwel volledige associatie van narcolepsie met het HLA-DRB1\*1501 allel betekent dat HLA-DR15-typering een nuttige bijdrage kan leveren aan de diagnostiek van narcolepsie. Al geeft de aanwezigheid van het HLA-DRB1\*15 haplotype steun aan de diagnostiek, bedacht moet worden dat de frequentie van HLA-DRB1\*15 in de normale bevolking 25% bedraagt. De afwezigheid van het HLA-DRB1\*15 haplotype is dan ook een belangrijk argument tegen de diagnose, zodat dan andere oorzaken voor hypersomnie of cataplexie moeten worden overwogen.

5) Het ontstaan van neonatale alloimmun trombocytopenie bij pasgeborenen en posttransfusie purpura bij ouderen (vrijwel altijd vrouwen) kan worden veroorzaakt door antistoffen tegen het trombocyt HPA-1a-antigeen. Echter, niet alle HPA-1a-negatieve individuen ontwikkelen na sensibilisatie (transfusie en/of zwangerschap) door HPA-1a-positieve trombocyten anti-HPA-1a-antistoffen. In het geval van HPA-1a-incompatibiliteit is gebleken dat alleen HPA-1a-negatieve individuen die het HLA-DRB3\*0101-allel (= HLA-DR52a) bezitten, anti-HPA-1a-antistoffen kunnen maken. Bij een HPA-1a-negatief individu is het daarom aan te bevelen, indien er nog kinderwens bestaat of als er een relatief verhoogd risico is dat de betreffende persoon een bloedtransfusie zal behoeven, om een HLA-DRB3\*0101-typering te laten verrichten met behulp van DNA-analyse.

6) De ontwikkeling van primaire scleroserende cholangitis wordt mede bepaald door genetische factoren. Vrijwel alle patiënten zijn positief voor het HLA-DRB3\*0101-allel (= HLA-DR52a). Het bepalen van het HLA-DRB3\*0101-allel kan dan ook behulpzaam zijn bij de diagnostiek en met name bij het onderscheid van primaire biliaire cirrose, waarbij geen betrokkenheid van het HLA-DRB3\*0101-allel is vastgesteld. Het typeren van het HLA-DRB3\*0101 vindt plaats door middel van DNA-analyse.