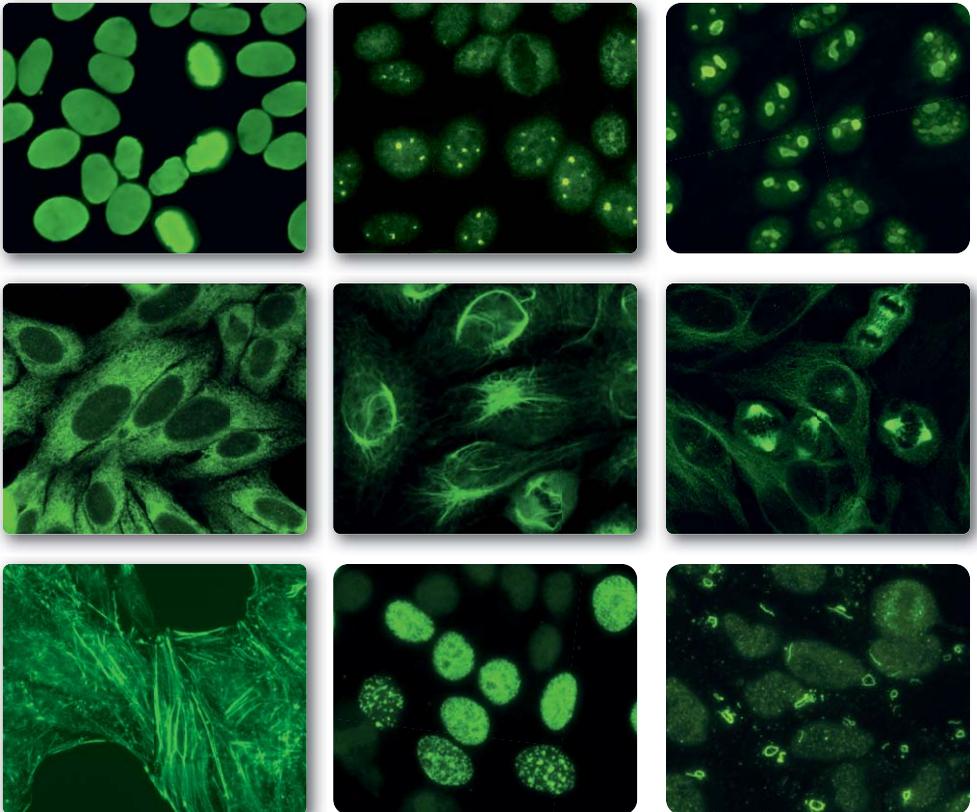




ANA-Diagnostik mittels indirekter Immunfluoreszenz



Inhaltsverzeichnis

Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA)	3
Autoantikörper negativ (AC-0)	10
Autoantikörper gegen Zellkerne, Muster homogen (AC-1)	11
Autoantikörper gegen dsDNS	12
Autoantikörper gegen Zellkerne, Muster DFS (AC-2)	13
Autoantikörper gegen Zentromere (AC-3)	14
Autoantikörper gegen Nukleoplasma, feingranulär (AC-4)	15
Autoantikörper gegen Ku (AC-4)	16
Autoantikörper gegen Mi-2 (AC-4)	17
Autoantikörper gegen TIF1-gamma (AC-4)	18
Autoantikörper gegen Nukleoplasma, grobgranulär (AC-5)	19
Autoantikörper gegen Nuclear Dots (AC-6)	20
Autoantikörper gegen Few Nuclear Dots (AC-7)	21
Autoantikörper gegen PM-Scl (AC-8)	22
Autoantikörper gegen U3-nRNP/Fibrillarin (AC-9)	23
Autoantikörper gegen RNS-Polymerase I (AC-10)	24
Autoantikörper gegen NOR-90 (AC-10)	25
Autoantikörper gegen Kernmembran (AC-11 / AC-12)	26
Autoantikörper gegen PCNA (AC-13)	27
Autoantikörper gegen CENP-F (Cyclin II – Mitosin) (AC-14)	28
Autoantikörper gegen F-Actin (AC-15)	29
Autoantikörper gegen Tropomyosin (AC-16)	30
Autoantikörper gegen Vimentin (AC-16)	31
Autoantikörper gegen Vinculin (AC-17)	32
Autoantikörper gegen Lysosomen (AC-18)	33
Autoantikörper gegen PL-7 und PL-12 (AC-19)	34
Autoantikörper gegen ribosomale P-Proteine (AC-19)	35
Autoantikörper gegen SRP (AC-19)	36
Autoantikörper gegen Jo-1 (AC-20)	37
Autoantikörper gegen Mitochondrien (AC-21)	38
Autoantikörper gegen Golgi-Apparat (AC-22)	39
Cytoplasmatische „Rods and Rings“ (AC-23)	40
Autoantikörper gegen Zentrosomen (AC-24)	41
Autoantikörper gegen Spindelfasern (AC-25)	42
Autoantikörper gegen NuMA (AC-26)	43
Autoantikörper gegen Trennzone (Midbody) (AC-27)	44
Autoantikörper gegen MCA (AC-28)	45
Autoantikörper gegen Topoisomerase I (Scl-70) (AC-29)	46
Verdünnungsschema für die Immunfluoreszenz	47
EUROPattern: Automatische IIFT-Auswertung	50



Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA)

Definition

Autoantikörper gegen Zellkerne sind Autoantikörper, die sich gegen Antigene des Zellkerns richten. Bei der Bezeichnung dieser Autoantigene hat man sich entweder nach biochemischen Merkmalen gerichtet (DNS, Histone, Ribonukleoproteine: RNP), oder nach mit den Autoantikörpern assoziierten Krankheiten (SS-A, SS-B: Sjögren-Syndrom, Antigene A und B; PM-Scl: Polymyositis, Progressive Systemsklerose), manchmal aber auch nach dem Namen der Patienten, bei denen die Antikörper zuerst beschrieben wurden (Sm, Ro, La).

**In der HEp-2-Zelle werden über 100 Autoantigene präsentiert.
Die wichtigsten sind:**

Polynukleotide	Doppelstrang-DNS, Einzelstrang-DNS, RNS
Histone	H1, H2A, H2B, H3, H4, H2A-H2B-Komplex
Ribonukleoproteine	U1-(n)RNP, Sm, SS-A (Ro), SS-B (La)
Antigene des Nukleolus	U3-(n)RNP/Fibrillarin, RNS-Polymerase I, PM-Scl (PM-1), 7-2-RNP (To), 4-6-S-RNS, NOR-90 (Nukleolus-Organisator)
Zentromere	Kinetochor-Proteine
Weitere Proteine	Topoisomerase I (Scl-70), PCNA (Cyclin I), Kerngranula, Ku, Mi-2, Lamine, Lamin-Rezeptoren

Analytik

Goldstandard für die Bestimmung der Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA) ist der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) mit humanen Epithelzellen (HEp-2) und Primatenleber, der für seine hohe Sensitivität und Spezifität bekannt ist – positive und negative Proben ergeben einen großen Signalunterschied, weil man bei der mikroskopischen Auswertung genau feststellen kann, wie sich ein Indikator-Farbstoff (in der Regel Fluorescein) in einem Gewebe oder in Zellen verteilt. Für jeden gebundenen Autoantikörper ergibt sich ein typisches Fluoreszenzmuster, je nach Lokalisation der einzelnen Autoantigene. Bei einem positiven Resultat setzt man zur endgültigen Differenzierung Testsubstrate mit definierten Einzelantigenen (ELISA, Westernblot, Linienblot) ein. Die alleinige Verwendung dieser monospezifischen Testmethoden reicht für die Bestimmung der Autoantikörper gegen Zellkerne nicht aus, da bisher nicht alle relevanten



Antigene in aufgereinigter Form verfügbar sind. Auch zur Kontrolle ihrer Plausibilität ist immer ein IIFT parallel zu monospezifischen Tests durchzuführen.

Bewertung

Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA) im Serum von Patienten sind ein charakteristischer Befund bei vielen Erkrankungen, vor allem (aber nicht ausschließlich) des rheumatischen Formenkreises. Im Vordergrund stehen:

Autoimmunerkrankung	Prävalenz ANA in %
Systemischer Lupus erythematoses (SLE, aktiv)	95 – 100
Medikamenten-induzierter Lupus erythematoses	100
Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom)	100
Rheumatoide Arthritis	20 – 40
Andere rheumatische Erkrankungen	20 – 50
Progressive Systemsklerose	85 – 95
Polymyositis/Dermatomyositis	30 – 50
Sjögren-Syndrom	70 – 80
Autoimmun-Hepatitis	30 – 40
Colitis ulcerosa	26

Der Nachweis von Autoantikörpern gegen Zellkerne stellt für viele Autoimmunerkrankungen ein wesentliches Diagnostikum dar. Antikörper gegen nukleäre Antigene sind gegen verschiedene Zellkernbestandteile (biochemische Substanzen des Zellkerns) gerichtet. Diese umfassen die Nukleinsäuren, Zellkernproteine und Ribonukleoproteine. Sie sind ein charakteristischer Befund bei verschiedenen Erkrankungen, vor allem solchen des rheumatischen Formenkreises. Die Häufigkeit (Prävalenz) antinukleärer Antikörper bei entzündlichen rheumatischen Erkrankungen liegt zwischen 20% und 100%, am niedrigsten bei der Rheumatoiden Arthritis, und zwar zwischen 20% und 40%. Folglich ist die differenzierte Antikörperdiagnostik gegen nukleäre Antigene zur Identifizierung der einzelnen rheumatischen Erkrankungen und zur Abgrenzung gegenüber anderen Autoimmunerkrankungen unabdingbar.

Systemischer Lupus erythematoses

Beim Systemischen Lupus erythematoses (SLE), auch Lupus erythematoses disseminatus (LED) genannt, gilt der Nachweis der Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS als wichtigstes Kriterium für die Diagnose. Immunkomplexe



aus Doppelstrang-DNS und entsprechenden Autoantikörpern verursachen Gewebeschäden in Subcutis, Nieren und anderen Organen. Der Antikörpertiter korreliert mit der Krankheitsaktivität. Ebenso gelten Antikörper gegen Nukleosomen und Sm als pathognomonisch für den Systemischen Lupus erythematoses. Daneben sind bei dieser Krankheit Antikörper gegen weitere Polynukleotide, Ribonukleotide, Histone und andere Antigene des Zellkerns nachweisbar. Beim Medikamenten-induzierten Lupus erythematoses mit den Symptomen Arthralgien, Arthritis, Exanthem, Serositis, Myalgien, Leber- und Milzvergrößerung treten konstant Antikörper gegen Histone auf. Diese reversible Form des SLE kann ausgelöst werden durch Antibiotika (z. B. Penicillin, Streptomycin, Tetracycline), Chemotherapeutika (z. B. INH, Sulfonamide), Antiepileptika (z. B. Phenytoin, Hydantoine), Antiarrhythmika (z. B. Procainamid, Practolol), Antihypertensiva (z. B. Reserpin, Hydralazin), Psychopharmaka (z. B. Chlorpromacin), Thyreostatika (z. B. Thiouracilderivate), antirheumatische Basistherapeutika (z. B. Gold, D-Penicillamin) und andere wie z. B. Kontrazeptiva und Allopurinol.

Autoantikörper bei Systemischem Lupus erythematoses (SLE)

Antigen	Prävalenz in %
Doppelstrang-DNS	60–90
Einzelstrang-DNS	70–95
Nukleosomen	50–70
RNS	50
RNS-Helikase A	6
Histone	50–80
U1-nRNP	15–40
Sm	5–40
SS-A (Ro)	20–60
SS-B (La)	10–20
PCNA-like	3
Ku	10
Ribosomale P-Proteine	10

Mischkollagenose

Bei der Mischkollagenose sind hohe Autoantikörpertiter gegen U1-nRNP charakteristisch. Der Antikörpertiter korreliert mit der Krankheitsaktivität.



Autoantikörper bei Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom)

Antigen	Prävalenz in %
U1-nRNP	95–100
Einzelstrang-DNS	20–50

Rheumatoide Arthritis

Bei Rheumatoider Arthritis (RA) werden bei bis zur Hälfte der Patientenseren Antikörper gegen Histone festgestellt, seltener finden sich Titer gegen U1-nRNP. Antikörper gegen RANA („Rheumatoid Arthritis Nuclear Antigen“) sind mit HEP-2-Zellen nicht nachweisbar.

Autoantikörper bei Rheumatoider Arthritis

Antigen	Prävalenz in %
Histone	15–50
Einzelstrang-DNS	8
U1-nRNP	3

Progressive Systemsklerose

Die Progressive Systemsklerose (Progressive Systemische Sklerodermie = PSS, Sklerodermie) kann sich in zwei nicht immer eindeutig gegeneinander abgrenzbaren Formen manifestieren. Bisher wurden nur bei der diffusen Form Antikörper gegen Fibrillarin, RNS-Polymerase I und Topoisomerase I (Scl-70) beobachtet. Autoantikörper gegen Zentromere sind mit der limitierten Form der PSS assoziiert.

Autoantikörper bei Progressiver Systemsklerose (limitierte Form)

Antigen	Prävalenz in %
Zentromere	80–95

Autoantikörper bei Progressiver Systemsklerose (diffuse Form)

Antigen	Prävalenz in %
Fibrillarin	5–10
PM-Scl (PM-1): (75-kDa- / 100-kDa-Hauptantigen)	13 (10/7)



Autoantikörper bei Progressiver Systemsklerose (diffuse Form)

Antigen	Prävalenz in %
Topoisomerase I (Scl-70)	25–75
RNS-Polymerase I	4
Ku, einschl. Overlap-Syndrom mit PM/DM	25–50
7-2-RNP (To)	selten
NOR-90 (Nucleolusorganisator-Region)	selten

Polymyositis/Dermatomyositis

Autoantikörper gegen PM-Scl treten bei Polymyositis und Dermatomyositis auf. Auch andere Zellkern-Antikörper (Mi-1, Mi-2 und Ku) und Antikörper gegen Jo-1 können bei diesen Erkrankungen nachgewiesen werden.

Autoantikörper bei Polymyositis und Dermatomyositis

Antigen	Prävalenz in %
PM-Scl (PM-1), einschl. Overlap-Syndrom mit PSS	24–55
Jo-1 (Histidyl-tRNS-Synthetase)	25–35
Mi-1	10
Mi-2	5–30
Ku, einschl. Overlap-Syndrom mit PSS	25–50
Einzelstrang-DNS	40–50
SRP	5
TIF1-gamma	5
PL-7, PL-12 (Aminoacyl-tRNS-Synthetasen)	3–4

Sjögren-Syndrom

Beim (primären) Sjögren-Syndrom treten Antikörper gegen SS-A und SS-B auf, vorwiegend miteinander kombiniert. Zusätzlich können Autoantikörper gegen Speicheldrüsen-Ausführungsgänge bei 40% bis 60% der Fälle vorliegen.

Autoantikörper bei primärem Sjögren-Syndrom

Antigen	Prävalenz in %
SS-A (Ro)	40–95
SS-B (La)	40–95



Autoantikörper bei primärem Sjögren-Syndrom

Antigen	Prävalenz in %
Einzelstrang-DNS	13
(Speicheldrüsen-Ausführungsgänge)	40–60)

Primär-biliäre Cholangitis (früher: Primär-biliäre Leberzirrhose)

Neben Antikörpern gegen Mitochondrien sind mit der Primär-biliären Cholangitis eine Reihe von Autoantikörpern gegen Zellkerne assoziiert, die teilweise als pathognomonisch anzusehen sind. Darüber hinaus findet man bei PBC auch häufig Antikörper gegen SS-A und gegen Zentromere, die beide, wie auch die Antikörper gegen gp210, auf eine ungünstigere Prognose hinweisen.

Autoantikörper bei Primär-biliärer Cholangitis

Antigen	Prävalenz in %
AMA-M2	95
Nuclear Dots	25–40
Kernmembran	20–40
SS-A	20
Zentromere	20–30

Auch bei subjektiv gesund erscheinenden Personen können Antikörper gegen Zellkerne nachgewiesen werden, mit einer Prävalenz von 5% und meistens niedrigen Titern (verschiedene Immunglobulinklassen, vorwiegend aber IgM).

Autoantikörper gegen Zellkerne: Die wichtigsten assoziierten Krankheiten

Antigen	Krankheit	Prävalenz in %
dsDNS	System. Lupus erythematodes (SLE)	60–90
	SLE	70–95
	Medikamenten-induzierter SLE	60
ssDNS	Mischkollagenose	20–50
	Polymyositis/Dermatomyositis	40–50
	Progressive Systemsklerose (PSS), Sjögren-Syndrom, Rheum. Arthritis (RA)	8–14
RNS	SLE	50
	PSS, Sjögren-Syndrom	65



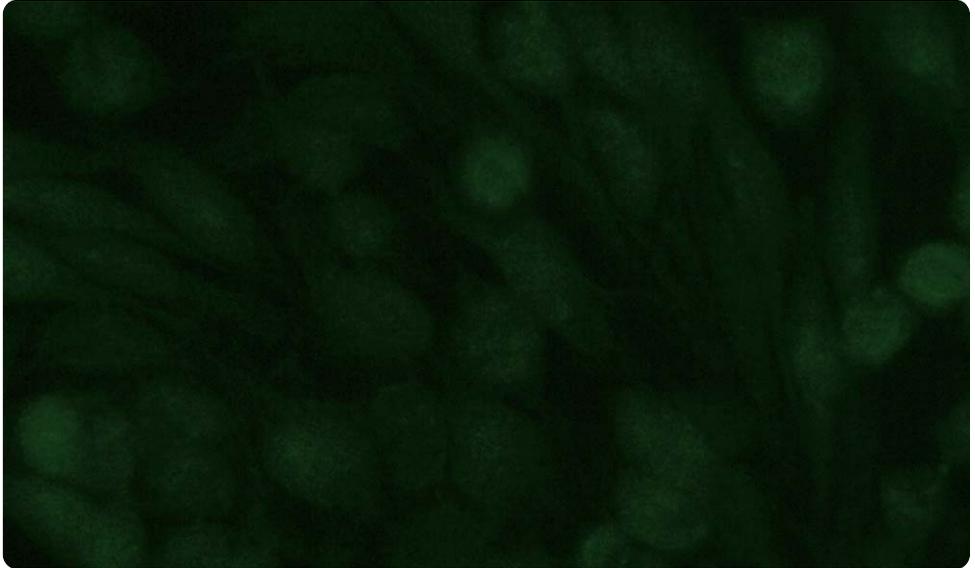
Autoantikörper gegen Zellkerne: Die wichtigsten assoziierten Krankheiten

Antigen	Krankheit	Prävalenz in %
Histone	Medikamenten-induzierter SLE	95
	SLE	50–80
	RA	15–50
U1-nRNP	Mischkollagenose	95–100
	SLE	15–40
	RA	3
Sm	SLE	5–40
SS-A (Ro)	Sjögren-Syndrom	40–95
	SLE	20–60
	Neonatales Lupus-Syndrom	100
SS-B (La)	Sjögren-Syndrom	40–95
	SLE	10–20
Fibrillarin	PSS, diffus	5–10
RNS-Polymerase I	PSS, diffus	4
RNS-Helikase A	SLE	6
PM-Scl (PM-1)	Poly-/Dermatomyositis/Overlap-Syndr.	24–55
	PSS, diffus	13
Zentromere	PSS, limitiert	80–95
Topoisomerase I	PSS, diffus	25–75
PCNA-like	SLE	3
Ku	SLE	10
	Poly-/Dermatomyositis, PSS	25–50
Mi-1, Mi-2	Dermatomyositis	5–30

Antikörper gegen Bestandteile des Cytoplasmas der HEp-2-Zellen sind am Immunfluoreszenzmuster nicht immer eindeutig differenzierbar. Nur wenige Cytoplasma-reaktive Antikörper lassen sich einer bestimmten Krankheit zuordnen – unter anderem Antikörper gegen Mitochondrien bei Primär-biliärer Cholangitis und gegen die Proteine Jo-1, PL-7 und PL-12 bei Polymyositis und Dermatomyositis. Weitere seltene Antikörper bei Polymyositis sind gegen OJ, EJ und Signal-Erkennungs-Partikel (SRP) gerichtet. Andere cytoplasmatische Antikörper – gegen Ribosomen, Golgi-Apparat, Lysosomen und Cytoskelettanteile wie Vimentin oder Cytokeratine – sind von untergeordneter klinischer Bedeutung. Auch der diagnostische Nutzen Mitose-assoziiertter Antigene ist noch nicht endgültig geklärt. Die Zusammenschau der aufgeführten Argumente belegt die herausragende immunologische Relevanz und den damit verbundenen diagnostischen Wert der Autoantikörper gegen Zellkerne.



Autoantikörper negativ (AC-0)

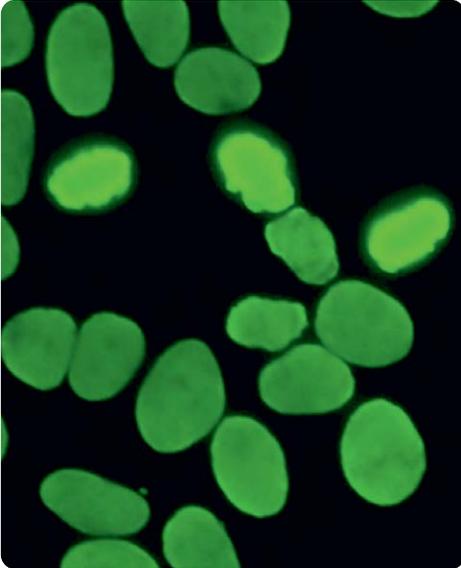


HEp-2-Zellen

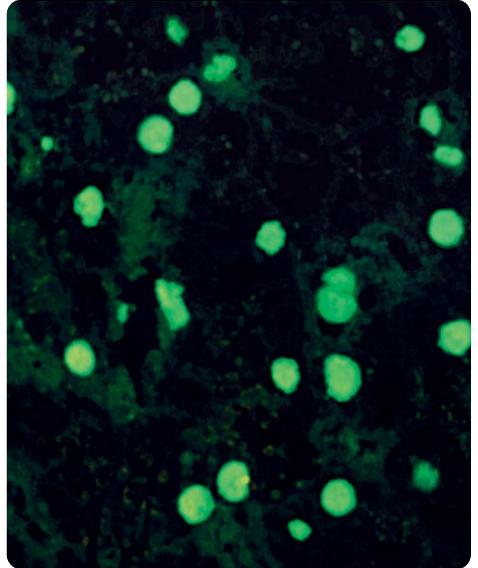
HEp-2-Zellen weisen keine spezifische Fluoreszenz auf.



Autoantikörper gegen Zellkerne, Muster homogen (AC-1)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

HEp-2-Zellen zeigen eine homogene Fluoreszenz der Zellkerne. Die kondensierten Chromosomen der mitotischen Zellen sind positiv, die Umgebung der Chromosomen ist dunkel.

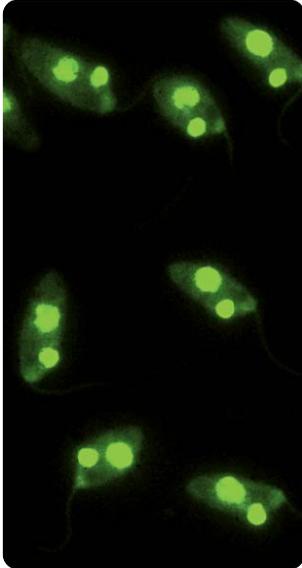
Auf der **Primatenleber** ist eine homogene, zum Teil aber auch eine grob- bis feinschollige Fluoreszenz der Zellkerne zu beobachten.

Bekannte Zielantigene: dsDNS, ssDNS, Nukleosomen und Histone.

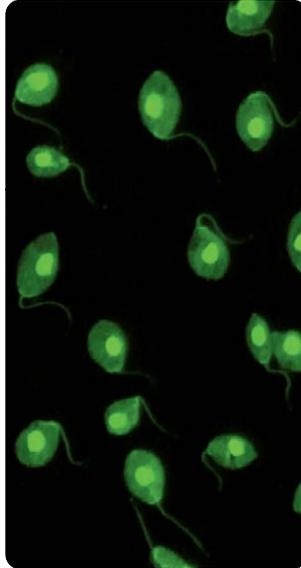
Klinische Assoziation: SLE, Medikamenten-induzierter SLE und Juvenile Idiopathische Arthritis.



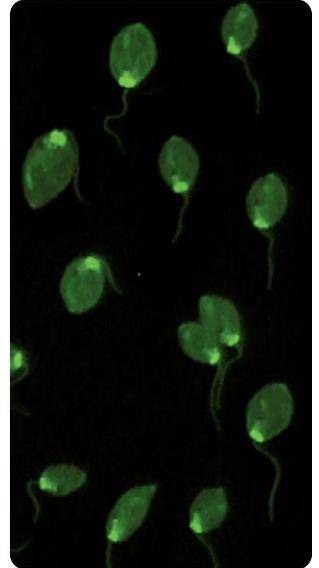
Autoantikörper gegen dsDNS



AAk gegen dsDNS pos.
(Kinetoplast)



AAk gegen dsDNS neg.
(Zellkern)



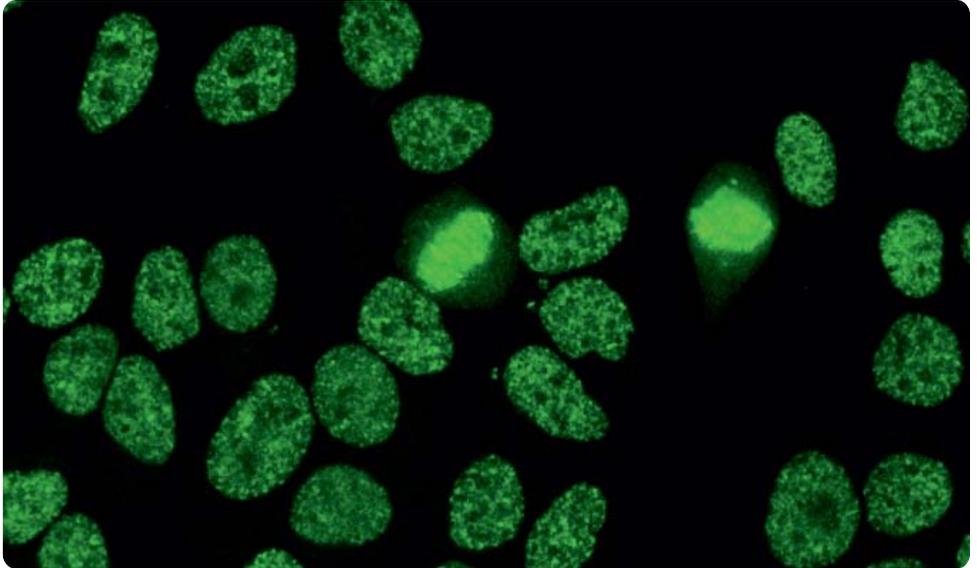
AAk gegen dsDNS neg.
(Basalkörperchen)

Standardsubstrat für die Immunfluoreszenz ist der Hämoflagellat **Crithidia lucilliae**. Er besitzt ein dsDNS-haltiges Riesenmitochondrium (Kinetoplast), das außer dsDNS im wesentlichen keine Antigene aufweist, die auch im Zellkern vorkommen. Antikörper, die mit dem Kinetoplasten reagieren, sind daher ausschließlich gegen dsDNS gerichtet. Sie ergeben bei *C. lucilliae* eine homogene, zum Teil randbetonte Fluoreszenz des Kinetoplasten. Eine Reaktion des Zellkerns wird nicht bewertet, die Fluoreszenz des Basalkörperchens der Geißel ist ohne Bedeutung. Antikörper gegen ssDNS können den Kinetoplasten nicht anfärben.

Klinische Assoziation: Antikörper gegen dsDNS findet man ausschließlich bei SLE, und zwar je nach Untersuchungsmethode und Krankheitsaktivität in 60% bis 90% der Fälle.



Autoantikörper gegen Zellkerne, Muster DFS (AC-2)



HEp-2-Zellen

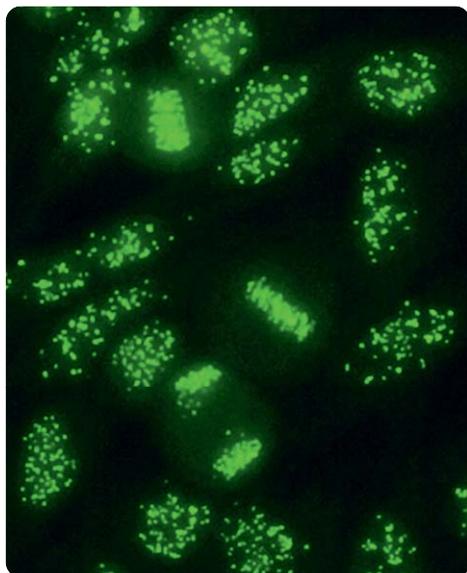
Bei Autoantikörpern gegen das DFS70-Antigen (und ggf. weitere Antigene) zeigen **HEp-2-Zellen** eine gleichmäßig über den Zellkern verteilte, dichte und fein gepunktete Fluoreszenz (dense fine speckled) mit granulärer Anfärbung der kondensierten Chromosomen.

Bekanntes Zielantigen: DFS70.

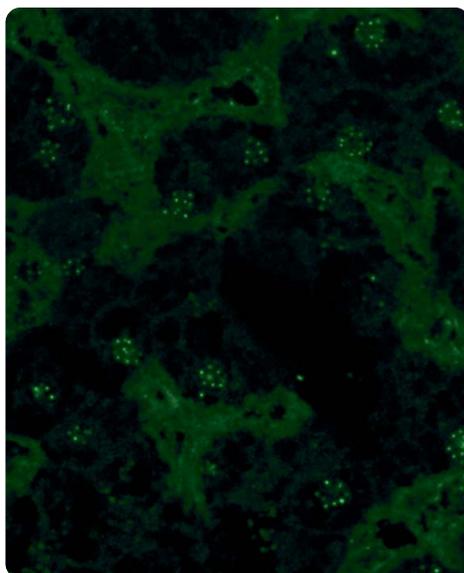
Klinische Assoziation: Autoantikörper gegen DFS70 sind bei Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen (u.a. Atopische Dermatitis, Asthma und Interstitielle Zystitis) und auch bei Gesunden nachgewiesen worden. Es wurde diskutiert, ob ein Nachweis dieser Autoantikörper aufgrund der vermuteten geringen Prävalenz bei systemischen Autoimmunerkrankungen des rheumatischen Formenkreises als Ausschlusskriterium dienen kann. Zwischenzeitlich konnte jedoch gezeigt werden, dass Anti-DFS70-Antikörper auch mit Prävalenzen von bis zu 11% bei rheumatischen Autoimmunerkrankungen auftreten. Die klinische Assoziation bleibt unklar.



Autoantikörper gegen Zentromere (AC-3)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

Auf **HEp-2-Zellen** zeigt sich ein sehr spezifisches Fluoreszenzmuster, welches durch feine, gleich große Granula (in der Regel 46 oder 92 Zentromere je Zellkern) charakterisiert ist. Die Granula der Interphase-Zellen sind gleichmäßig über den Zellkern verteilt, bei mitotischen Zellen sind sie je nach Stadium bandförmig in der Äquatorialebene (Metaphase) oder in zwei parallelen, sich den Zentriolen nähernden Bändern (Anaphase) angeordnet.

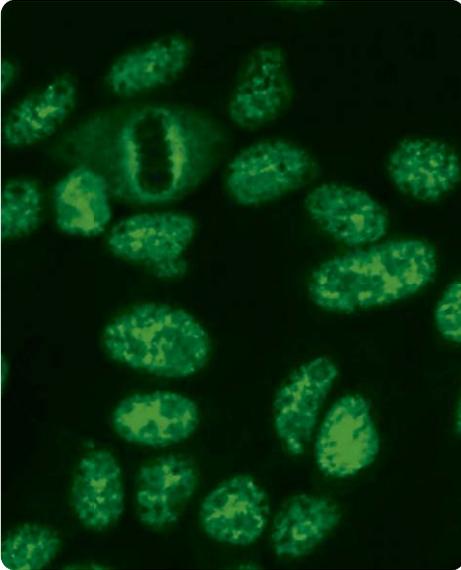
Auf Gewebeschnitten der **Primatenleber** stellen sich 10 bis 20 über den Zellkern verteilte Granula dar, die im Vergleich zum Bild bei HEp-2-Zellen wesentlich schwächer fluoreszieren und leicht übersehen werden können. Mitotische Zellen sind auf der Leber nur selten zu identifizieren.

Bekannte Zielantigene: CENP-A und -B.

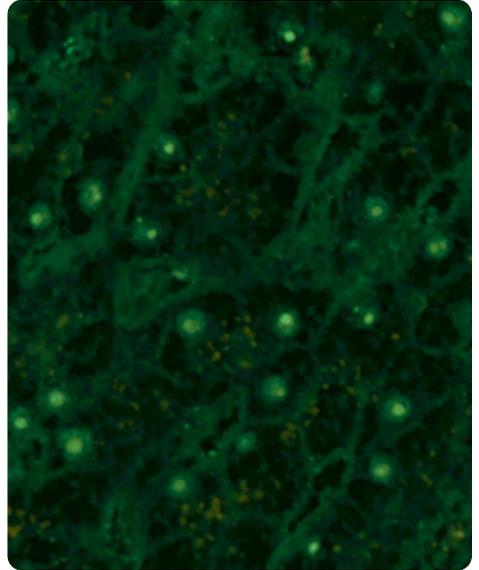
Klinische Assoziation: Mit hoher Spezifität und einer Prävalenz von 80–95% sind Antikörper gegen Zentromere pathognomonisch für die limitierte Form der Progressiven Systemklerose. Bei der limitierten Form sind die Akren bevorzugt, und die inneren Organe sind nur wenig betroffen.



Autoantikörper gegen Nukleoplasma, feingranulär (AC-4)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

HEp-2-Zellen zeigen in der Interphase eine feingranuläre Fluoreszenz der Zellkerne. Die Nukleoli erscheinen ebenfalls positiv, sind aber vom Nukleoplasma etwas abgesetzt, bei einem Teil der Proben sind sie ausgespart. Mitotische Zellen weisen ebenfalls eine granuläre Fluoreszenz auf, unter Freilassung der Chromosomen.

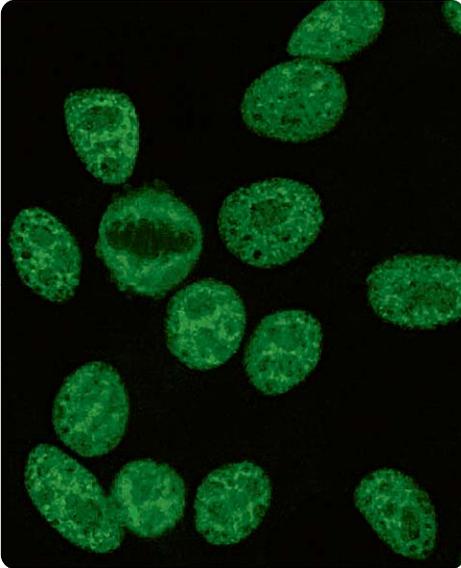
Auf **Primatenleber** fehlt die entsprechende granuläre Reaktion der Hepatocytenkerne, dagegen zeigen sich dort bei höheren Antikörpertitern glatt fluoreszierende Nukleoli.

Bekannte Zielantigene: SS-A und SS-B.

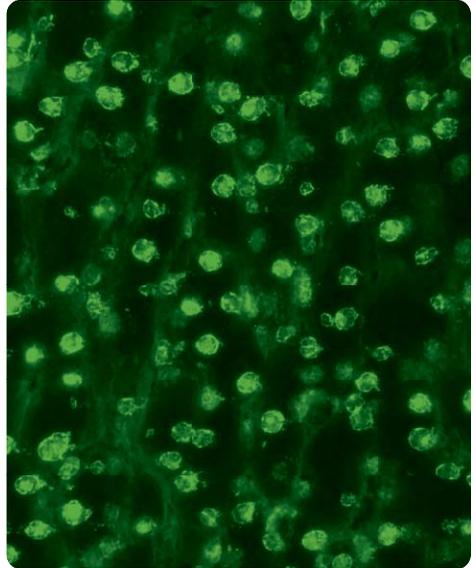
Klinische Assoziation: Sjögren-Syndrom, SLE und Neonataler LE.



Autoantikörper gegen Ku (AC-4)



Hep-2-Zellen



Primatenleber

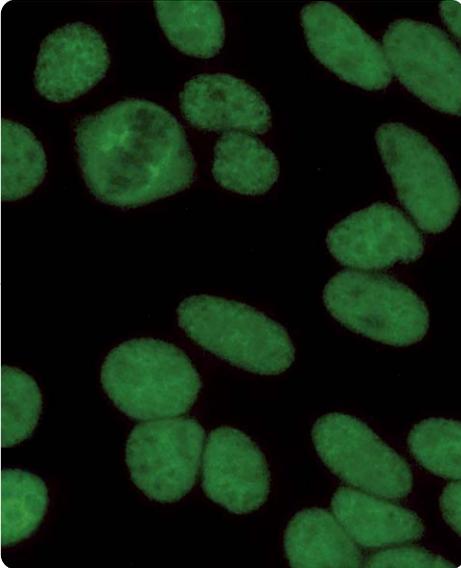
Antikörper gegen Ku zeigen mit **Hep-2-Zellen** eine feingranuläre Fluoreszenz der Zellkerne, die Nukleoli sind teilweise positiv. Es ist kaum ein Unterschied zu Autoantikörpern gegen SS-A, SS-B, Sm und RNP zu erkennen.

Dagegen zeigt die parallel, möglichst im selben Feld inkubierte **Primatenleber** eine typische schollig-fleckige Färbung der Zellkerne, die fast unverwechselbar Autoantikörper gegen Ku beweist.

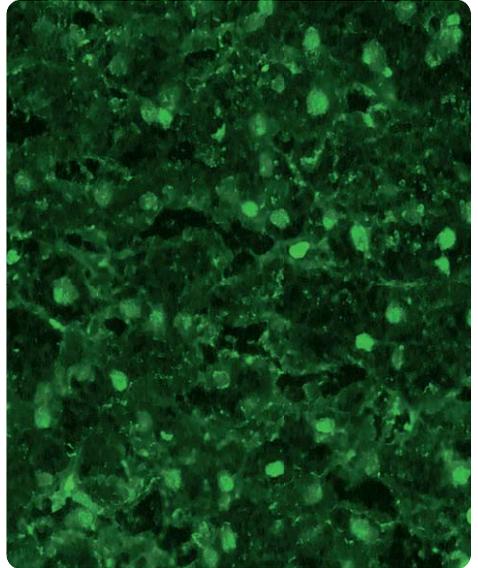
Klinische Assoziation: Autoantikörper gegen Ku treten mit folgenden Prävalenzen auf: Überlappungssyndrom aus Poly-/Dermatomyositis und Progressiver Systemisklerose 24–55% (häufig einhergehend mit primärem pulmonalem Hochdruck), verschiedene Myositisformen 5–10%, Systemischer Lupus erythematodes 10% und Progressive Systemisklerose bis zu 5%.



Autoantikörper gegen Mi-2 (AC-4)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

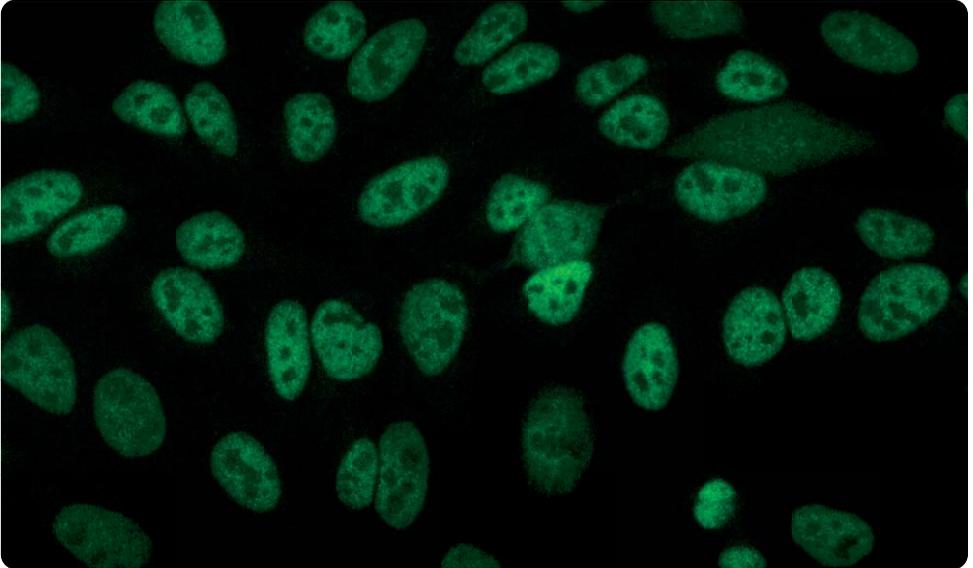
Antikörper gegen Mi-2 zeigen im indirekten Immunfluoreszenztest mit **HEp-2-Zellen** eine feingranuläre Fluoreszenz der Zellkerne. Die Nukleoli sind teilweise ausgespart.

Auf **Primatenleber** rufen Autoantikörper gegen Mi-2 eine feingranuläre Fluoreszenz der Hepatocytenkerne hervor.

Klinische Assoziation: Antikörper gegen Mi-2 sind hochspezifisch für eine Dermatomyositis mit Nagelfalz-Hypertrophie. Sie werden bei 5–30% der Patienten mit Dermatomyositis und bei 8–12% der Patienten mit Idiopathischer Myositis beobachtet.



Autoantikörper gegen TIF1-gamma (AC-4)



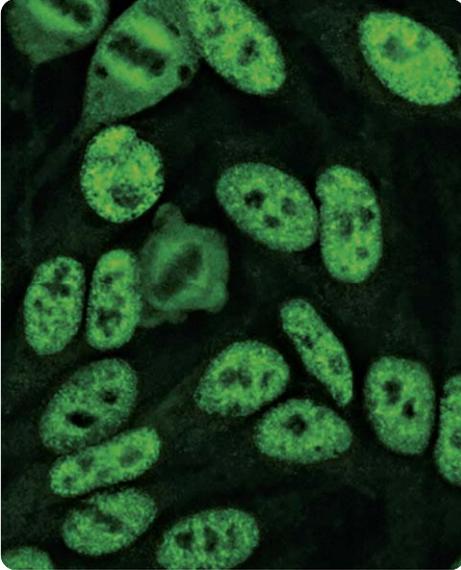
HEp-2-Zellen

Antikörper gegen TIF1-gamma zeigen mit **HEp-2-Zellen** eine feingranuläre Fluoreszenz, die über den gesamten Zellkern verteilt ist, wobei die Nukleoli ausgespart sind. Mitotische Zellen weisen ebenfalls eine feingranuläre Fluoreszenz unter Freilassung der Chromosomen auf.

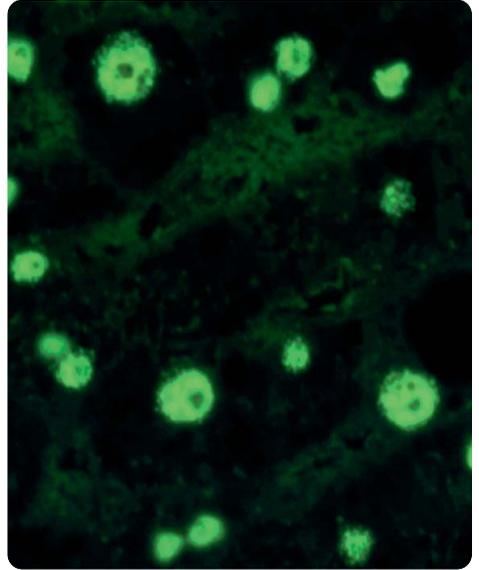
Klinische Assoziation: Antikörper gegen TIF1-gamma finden sich mit einer Prävalenz von 5% bei Patienten mit Dermatomyositis. Sie sind insbesondere spezifisch für die Carcinoma-assoziierten (paraneoplastischen) (Dermato-)Myositiden (CAM).



Autoantikörper gegen Nukleoplasma, grobgranulär (AC-5)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

HEp-2-Zellen zeigen in der Regel eine grobgranuläre, manchmal auch eine mittel- bis feingranuläre Fluoreszenz, die über den gesamten Zellkern verteilt ist, aber die Nukleoli frei lässt. In Mitose-Zellen sind die kondensierten Chromosomen dunkel, perichromosomal zeigt sich eine fast homogene, glatte Fluoreszenz.

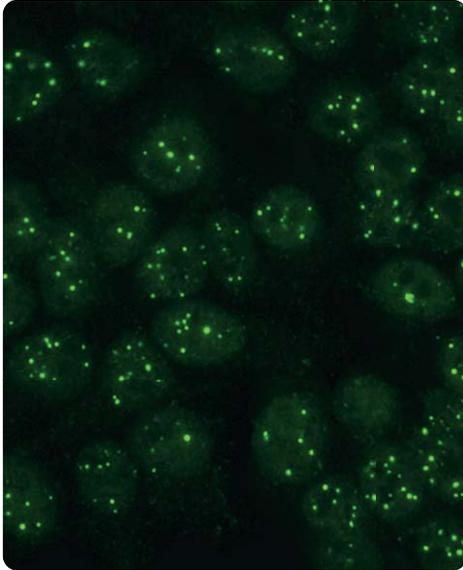
Gewebeschnitte der **Primatenleber** weisen ebenfalls eine granuläre Fluoreszenz auf, die Nukleoli sind ausgespart. Die Antikörper reagieren mit der Primatenleber ebenso stark wie mit HEp-2-Zellen.

Bekannte Zielantigene: hnRNP, U1RNP, Sm und RNS-Polymerase III.

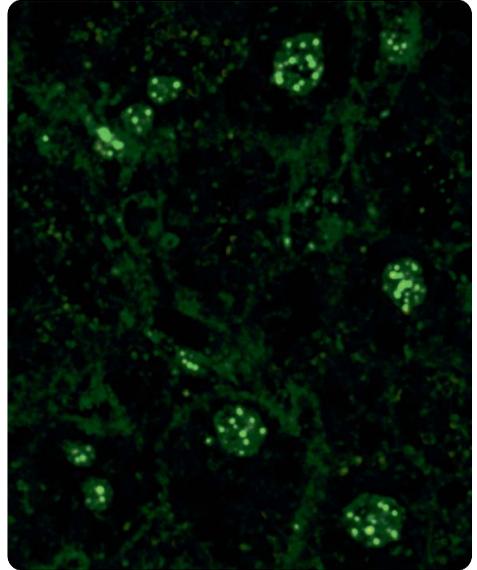
Klinische Assoziation: SLE und Mischkollagenosen.



Autoantikörper gegen Nuclear Dots (AC-6)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

In der Immunfluoreszenz stellen sich mit **HEp-2-Zellen** in den Kernen der Interphase 6–20 unterschiedlich große Granula dar, die über den Zellkern verteilt sind (Nuclear Dots). Das Cytoplasma ist dunkel, wenn nicht gleichzeitig die ebenfalls mit Primär-biliärer Cholangitis assoziierten Antikörper gegen Mitochondrien vorliegen. Bei den Mitosen sind die Nuclear Dots aufgelöst, außerhalb der (nicht angefärbten) Chromosomen fluoreszieren nur vereinzelte Granula.

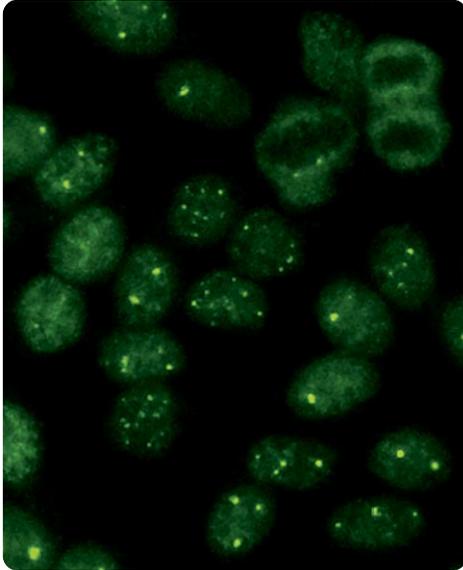
Antikörper gegen Nuclear Dots reagieren mit **Primatenleber** mindestens ebenso stark wie mit HEp-2-Zellen. Man kann sie bei paralleler Verwendung beider Substrate auch dann identifizieren, wenn gleichzeitig Antikörper gegen Zentromere vorliegen, was gelegentlich bei Primär-biliärer Cholangitis vorkommt.

Bekannte Zielantigene: Sp100, Sp140, PML, SUMO und MJ/NXP-2.

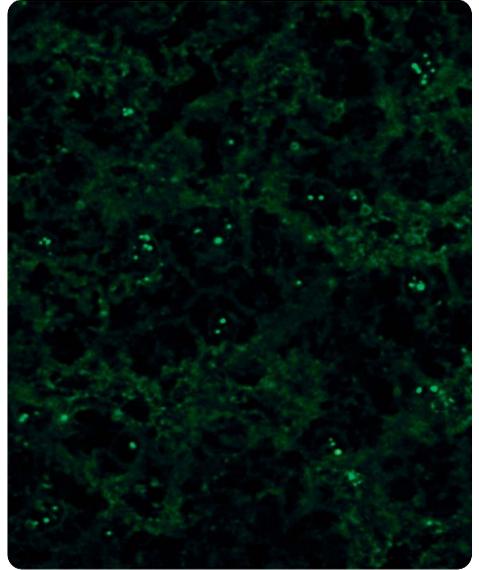
Klinische Assoziation: Autoantikörper gegen Nuclear Dots werden bei 25–40% der Patienten mit Primär-biliärer Cholangitis gefunden. Das Muster ist zudem ein Erkennungsmerkmal für rheumatische Erkrankungen.



Autoantikörper gegen Few Nuclear Dots (AC-7)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

In der Immunfluoreszenz mit **HEp-2-Zellen** zeigen sich bei dem Muster Few Nuclear Dots lediglich 1–6 Punkte (dots) pro Zellkern – oft in der Nähe der Nukleoli. In der späten S/G2-Phase des Zellzyklus weisen die Zellen relativ viele Punkte (4–6) auf. Dabei ist das Metaphase-Chromatin für gewöhnlich negativ. Diese nukleolären Punkte werden als Cajal-Körper (früher auch: coiled bodies) bezeichnet.

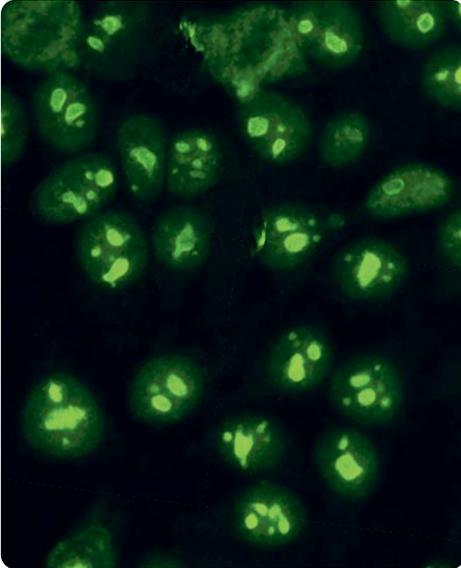
Im Gewebeschnitt der **Primatenleber** stellen sich die Punkte verglichen mit den HEp-2-Zellen leicht vergrößert dar, wobei die Leber jedoch auch negativ reagieren kann.

Bekannte Zielantigene: p80-coilin und SMN (survival of motor neuron).

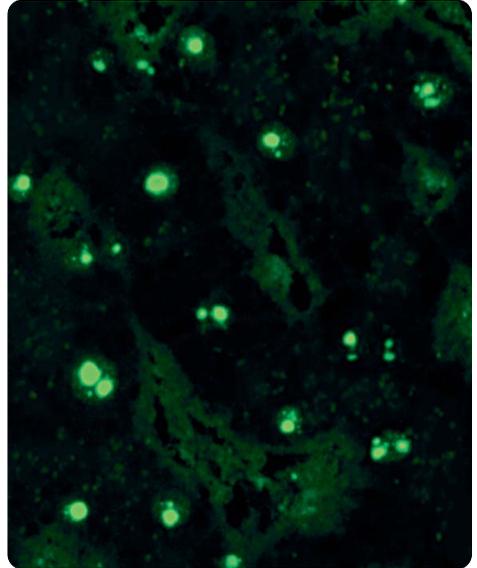
Klinische Assoziation: Sjögren-Syndrom und SLE.



Autoantikörper gegen PM-Scl (AC-8)



Hep-2-Zellen



Primatenleber

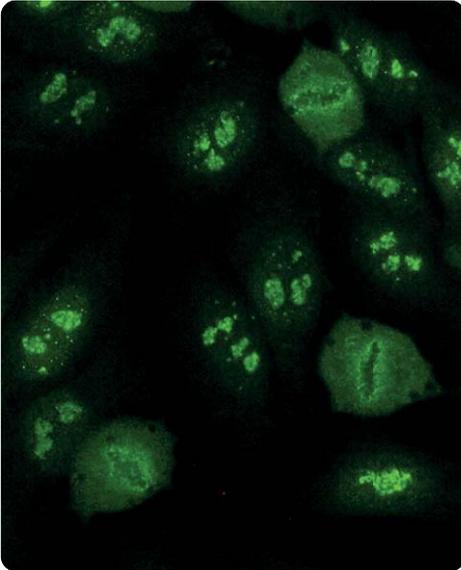
Autoantikörper gegen PM-Scl zeigen in der Immunfluoreszenz bei **Hep-2-Zellen** eine homogene Fluoreszenz der Nukleoli mit gleichzeitig schwächerer, feingranulärer Reaktion des Nukleoplasma. Die kondensierten Chromosomen der mitotischen Zellen sind ausgespart, perichromosomal zeigt sich eine feine, granuläre Fluoreszenz.

Bei Gefrierschnitten der **Primatenleber** ergibt sich eine homogene Fluoreszenz der Nukleoli, sowie eine sehr schwache, feingranuläre bis retikuläre Anfärbung des Zellkerns.

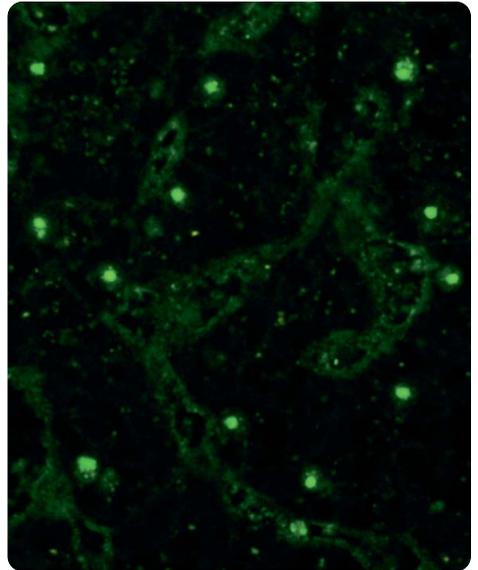
Klinische Assoziation: PM-Scl-Antikörper werden bei 24–55% der Patienten mit Polymyositis/Systemsklerose-Überlappungs-Syndrom nachgewiesen. Hier sind die Autoantikörper in der Regel gegen beide Hauptantigene gerichtet: PM-Scl75 und PM-Scl100. Liegt ausschließlich eine Progressive Systemsklerose vor, zeigen Antikörper gegen PM-Scl75 eine Prävalenz von 10% und gegen PM-Scl100 eine Prävalenz von 7%. Bei Testsystemen, die ausschließlich Anti-PM-Scl100 nachweisen, bleibt ein Anteil an Patienten mit Progressiver Systemsklerose unentdeckt.



Autoantikörper gegen U3-nRNP/Fibrillarin (AC-9)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

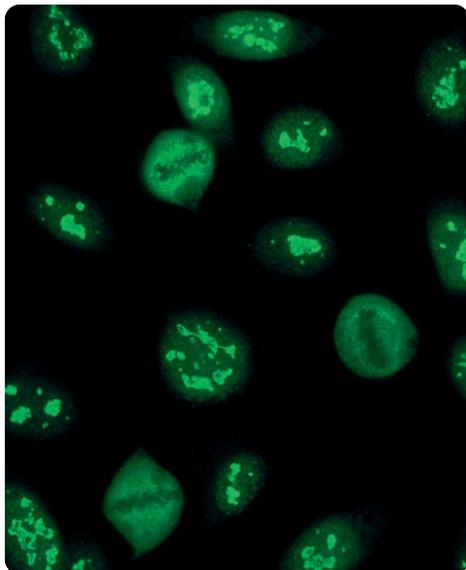
Bei **HEp-2-Zellen** zeigt sich bei Interphase-Zellen eine granuläre Fluoreszenz der Nukleoli. Mitotische Zellen weisen eine kranzartige perichromosomale Fluoreszenz auf.

Auf der **Primatenleber** zeigt sich eine homogene Fluoreszenz der Nukleoli.

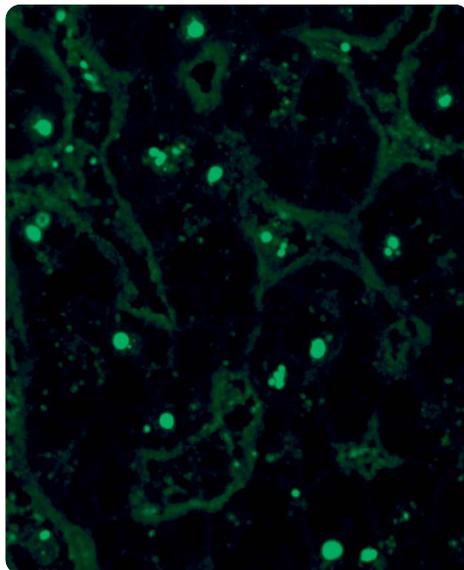
Klinische Assoziation: Antikörper gegen Fibrillarin wurden bisher nur bei der Progressiven Systemsklerose (diffuse Form) beobachtet. Die Prävalenz beträgt 5–10%.



Autoantikörper gegen RNS-Polymerase I (AC-10)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

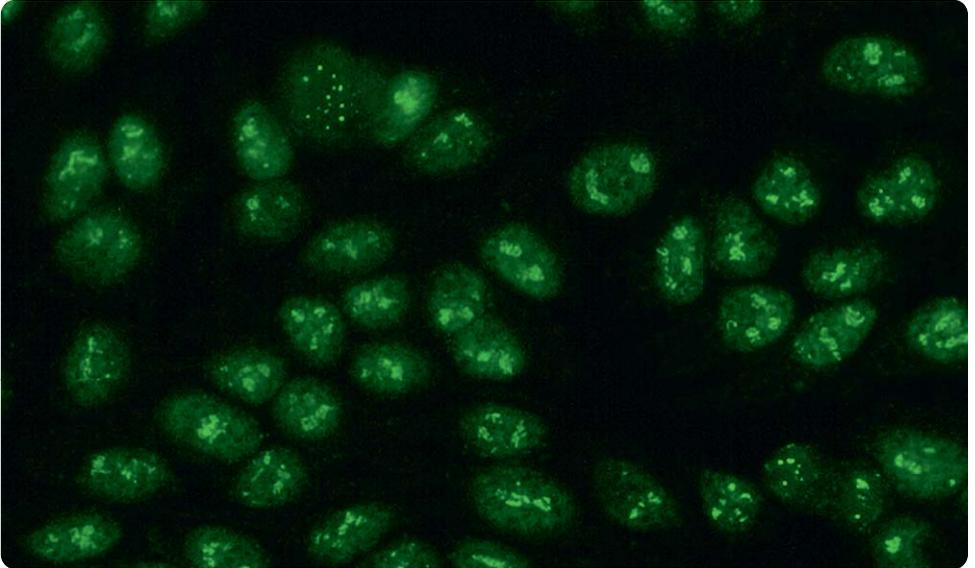
HEp-2-Zellen zeigen eine granuläre Fluoreszenz der Nukleoli, das Nukleoplasma ist fast dunkel. In der Mitose bleibt die Region der kondensierten Chromosomen ungefärbt, perichromosomal zeigt sich eine feingranuläre bis glatte Fluoreszenz. Bei gleichzeitigem Auftreten von Autoantikörpern gegen NOR-90 fluoreszieren bei mitotischen Zellen ein bis mehrere Pünktchen.

Auf Gewebeschnitten der **Primatenleber** reagieren die Nukleoli positiv.

Klinische Assoziation: Antikörper gegen RNS-Polymerase I wurden bisher nur bei Progressiver Systemisklerose (diffuse Form) nachgewiesen. Die Prävalenz beträgt 4%.



Autoantikörper gegen NOR-90 (AC-10)



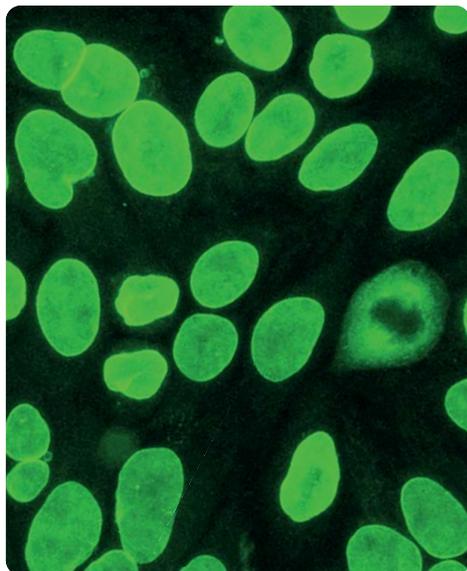
HEp-2-Zellen

Bei **HEp-2-Zellen** in der Metaphase fluoreszieren innerhalb des kondensierten Chromosomenmaterials ein bis mehrere Pünktchen, die dem Nukleolus-Organisator (NOR) entsprechen. Das Cytoplasma mitotischer Zellen kann leicht positiv sein. Interphase-Zellen zeigen eine granuläre Fluoreszenz der Nukleoli.

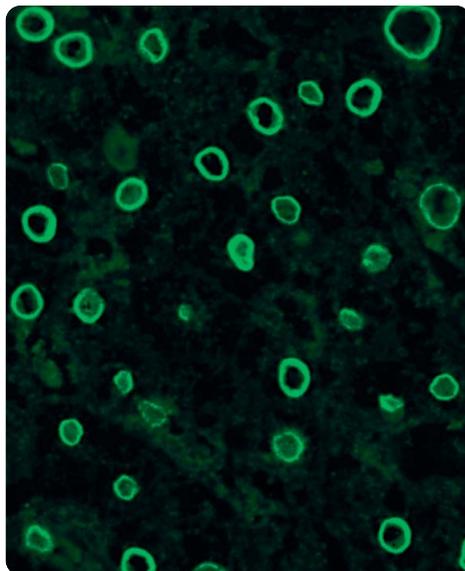
Klinische Assoziation: Progressive Systemsklerose (diffuse Form).



Autoantikörper gegen Kernmembran (AC-11/AC-12)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

Bei **HEp-2-Zellen** zeigen die Interphase-Zellen eine homogene Fluoreszenz der Zellkerne, die Ränder der Zellkerne sind betont. Die Chromosomen der mitotischen Zellen sind dunkel.

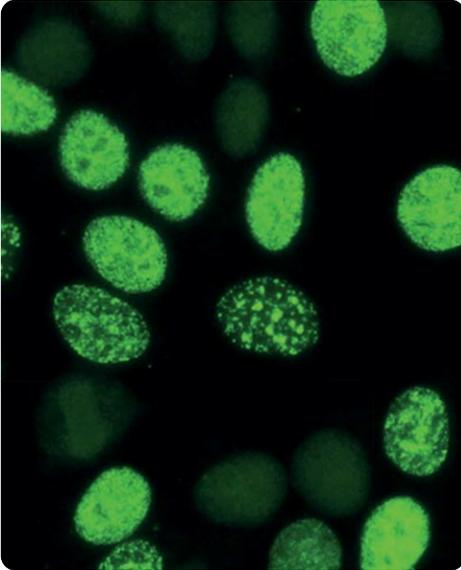
Auf Gewebeschnitten der **Primatenleber** stellt sich die charakteristische lineare Fluoreszenz der Kernmembran dar.

Bekannte Zielantigene: gp210, Lamin A, B und C sowie der Lamin-B-Rezeptor.

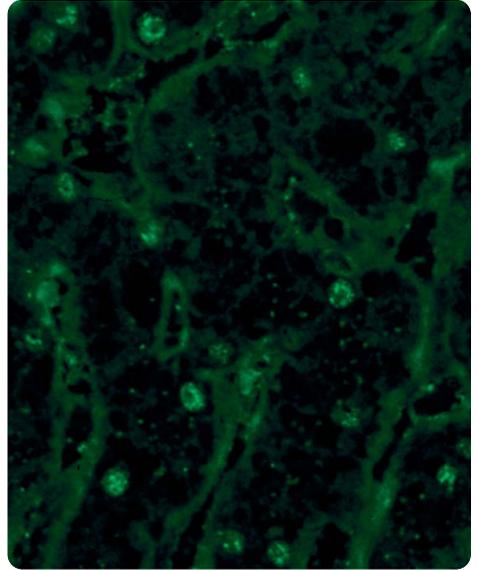
Klinische Assoziation: Antikörper gegen Kernmembran treten bei Primär-biliärer Cholangitis (PBC) auf.



Autoantikörper gegen PCNA (AC-13)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

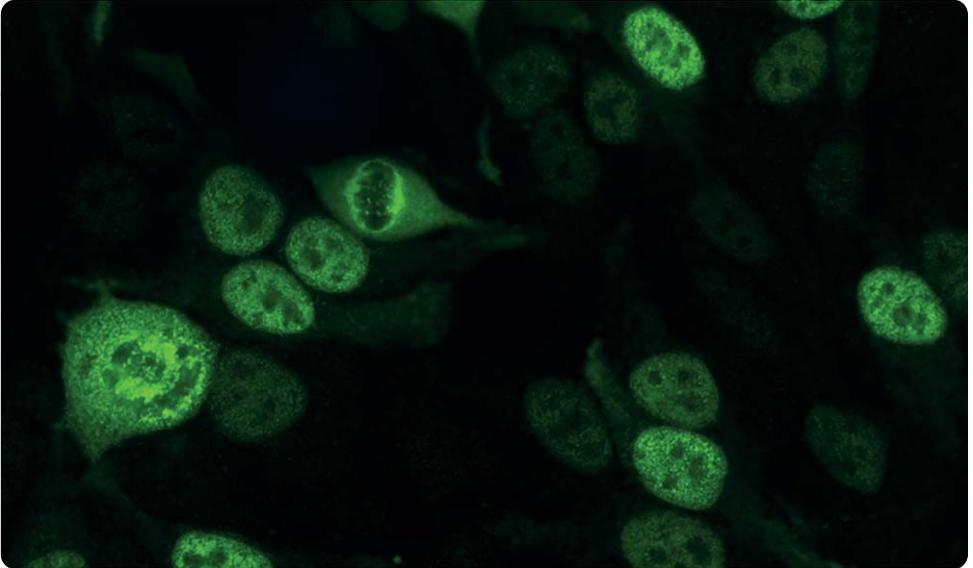
Antikörper gegen PCNA zeigen mit **HEp-2-Zellen** ein Zellzyklus-abhängiges Fluoreszenzmuster. Die Hälfte der Zellkerne aller Interphase-Zellen weist eine helle, feingranuläre Grundfluoreszenz auf, unter Aussparung der Nukleoli. Bei der anderen Hälfte findet man das gleiche Fluoreszenzmuster, die Intensität ist aber um den Faktor 10 geringer. In der Mitose ist der Bereich der kondensierten Chromosomen nicht mit angefärbt, perichromosomal zeigt sich eine nur schwache feingranuläre Fluoreszenz, in Muster und Intensität den dunkleren Kernen der Interphase-Zellen entsprechend.

Die **Primatenleber** reagiert weitestgehend negativ.

Klinische Assoziation: PCNA-Antikörper sind spezifisch für SLE. Die Prävalenz beträgt aber nur 3%.



Autoantikörper gegen CENP-F (Cyclin II – Mitosin) (AC-14)



HEp-2-Zellen

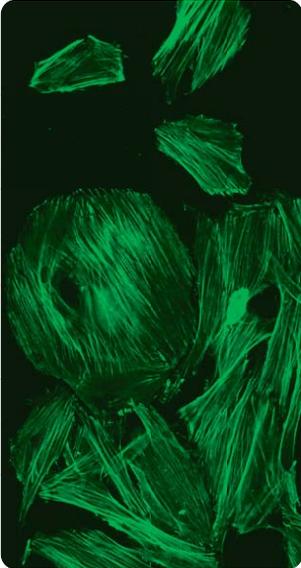
Bei **HEp-2-Zellen** zeigt sich eine fein- bis grobgranuläre Fluoreszenz der Zellkerne. Dabei unterliegt die Intensität der Färbung starken Schwankungen. G2-Phase-Nuklei weisen die stärkste Fluoreszenz auf, G1-Phase-Nuklei reagieren wesentlich schwächer bis gar nicht. Darüber hinaus fluoreszieren die mitotischen Zellen unter Aussparung der Chromosomenregion besonders stark, glatt bis feingranulär. Die Zentromere sind ausschließlich in der Prometa- und Metaphase positiv und zeigen dann viele aneinandergereihte kleine und matte Punkte. In Prometaphase-Zellen ist häufig die Zellkernmembran leicht gefärbt. Während der Ana- und Telophase kommt es zum Teil zu einer intensiven Fluoreszenz in der Trennzone (Midbody). Das Cytoplasma mitotischer Zellen ist diffus gefärbt.

Die **Primatenleber** zeigt keine spezifische Reaktion.

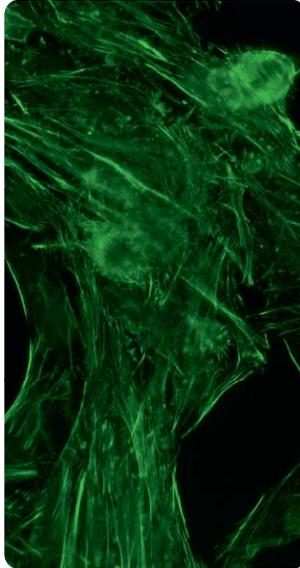
Klinische Assoziation: Bei 50% der Patienten mit Antikörpern gegen CENP-F liegt eine maligne Grunderkrankung vor, wobei viele Tumore in Frage kommen können.



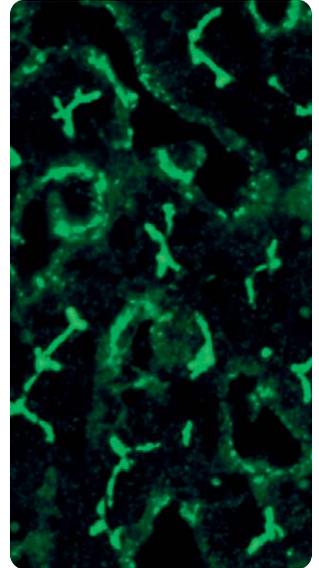
Autoantikörper gegen F-Actin (AC-15)



VSM47



HEp-2-Zellen



Primatenleber

Bei Autoantikörpern gegen F-Actin wird mit der **Zell-Linie VSM47** (vascular smooth muscle) ein mikrofilamentöses Fluoreszenzmuster sichtbar.

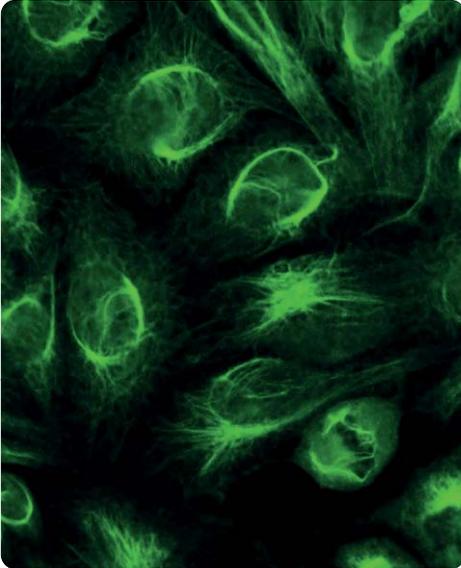
Bei **HEp-2-Zellen** zeigen sich einzelne bis zahlreiche gebündelte Faserstrukturen, die vorwiegend im Cytoplasma verlaufen, sich aber auch über den Zellkern ziehen.

Auf Gewebeschnitten der **Primatenleber** kann man eine deutliche Reaktion der Gallenkanalikuli beobachten.

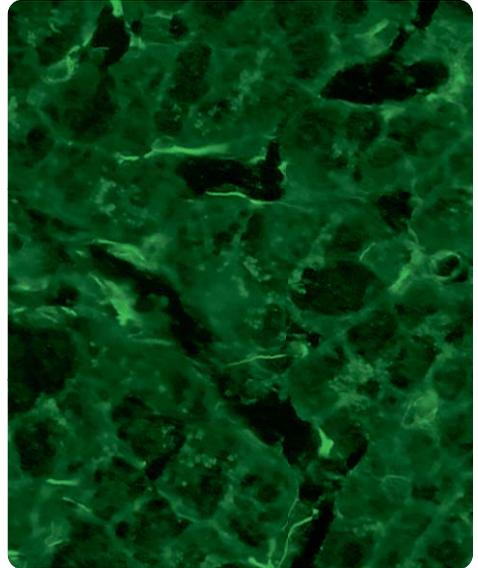
Klinische Assoziation: Die Bestimmung der Antikörper gegen F-Actin ist von besonderer Bedeutung bei der Diagnose der Autoimmun-Hepatitis (AIH, Prävalenz 40–90%), dem Ausschluss einer kombinierten Lebererkrankung (Overlap-Syndrom) und der Abgrenzung der AIH gegenüber einer Alkohol- oder Medikamenten-induzierten Zirrhose und anderen chronischen Entzündungen der Leber, wie Virus-induzierte Hepatitis, Primär-biliäre Cholangitis (PBC) und Primär-sklerosierende Cholangitis (PSC).



Autoantikörper gegen Tropomyosin (AC-16)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

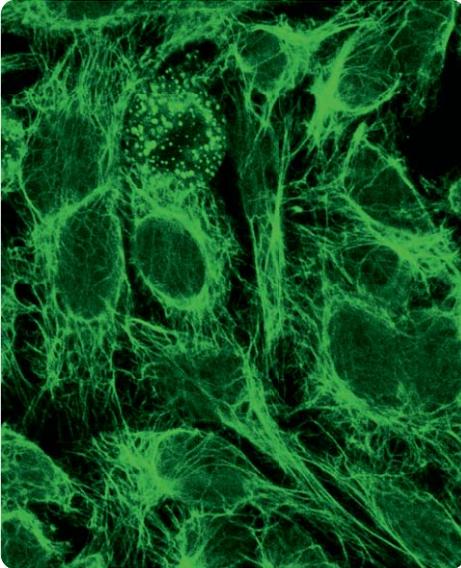
In der Immunfluoreszenz mit **HEp-2-Zellen** entsteht das Bild der Faserschlingen.

Die **Primatenleber** weist ein faseriges Muster im Parenchym auf.

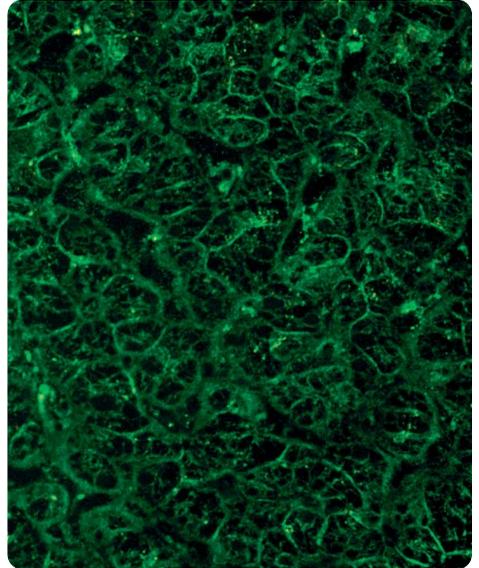
Klinische Assoziation: Über die diagnostische Bedeutung der Autoantikörper gegen Tropomyosin ist ebenso wenig bekannt wie über die der selteneren Autoantikörper gegen Cytokeratin, Vimentin und anderer. Sie sollen im Zusammenhang mit verschiedenen Entzündungsreaktionen und Infektionen stehen.



Autoantikörper gegen Vimentin (AC-16)



Hep-2-Zellen



Primatenleber

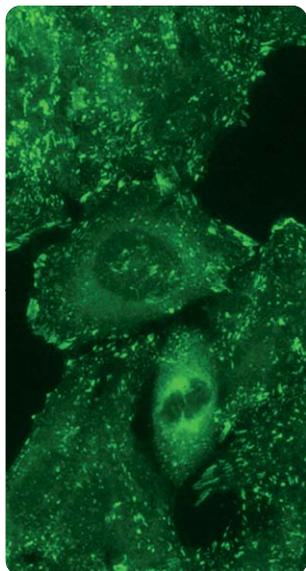
Antikörper gegen Vimentin färben im Cytoplasma der **Hep-2-Zellen** ein feines Fasergeflecht an, das in der Umgebung der Zellkerne besonders dicht ist. Bei Mitosen sieht man außerhalb der dunklen Chromosomen zahlreiche runde Fluoreszenz-Tröpfchen. Möglicherweise handelt es sich dabei um kondensiertes Vimentin.

Auf dem Gefrierschnitt der **Primatenleber** stellt sich eine unspezifische Fluoreszenz dar.

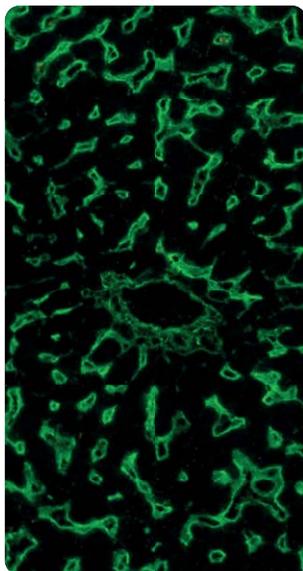
Klinische Assoziation: Über die diagnostische Bedeutung der Autoantikörper gegen Vimentin ist ebenso wenig bekannt wie über die der selteneren Autoantikörper gegen Cytokeratin, Tropomyosin und anderer. Sie sollen im Zusammenhang mit verschiedenen Entzündungsreaktionen und Infektionen stehen.



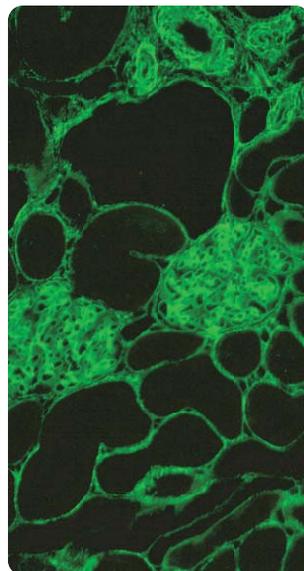
Autoantikörper gegen Vinculin (AC-17)



HEp-2-Zellen



Primatenleber



Rattenniere

Durch Antikörper gegen Vinculin zeigt sich im Cytoplasma von **HEp-2-Zellen** eine verstärkte Anfärbung von regelmäßig verteilten, kurzen Abschnitten entlang der Stressfasern des Cytoskeletts.

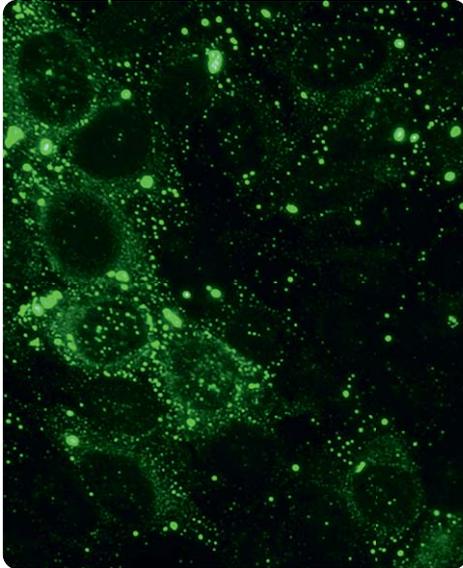
Die **Primatenleber** weist eine Fluoreszenz der basalen Grenzfläche von Endothel und Stroma in den Sinusoiden auf.

Die Glomeruli und Tubuli der **Rattenniere** zeigen eine filamentöse Fluoreszenz.

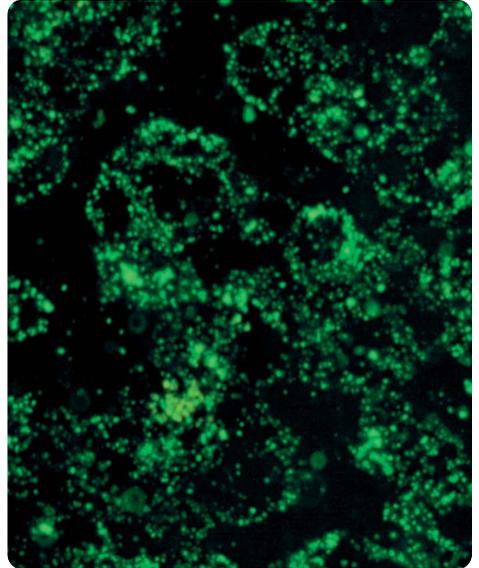
Klinische Assoziation: Autoantikörper gegen Vinculin kommen sehr selten vor und sind mit Myasthenia gravis, Colitis ulcerosa und Morbus Crohn assoziiert.



Autoantikörper gegen Lysosomen (AC-18)



Hep-2-Zellen



Primatenleber

Auf **Hep-2-Zellen** stellen sich Antikörper gegen Lysosomen als fein- bis mittel- und grobtropfige Fluoreszenz im Cytoplasma dar.

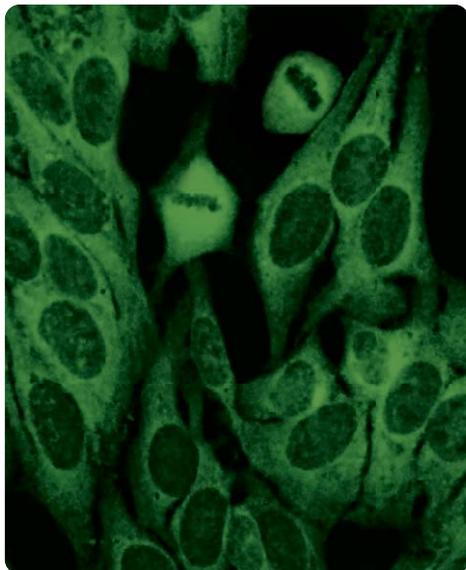
Auf dem Gefrierschnitt der **Primatenleber** stellt sich eine unspezifische Fluoreszenz dar.

Bekannte Zielantigene: GWB-Proteine (z. B. GW182, Su/Ago2).

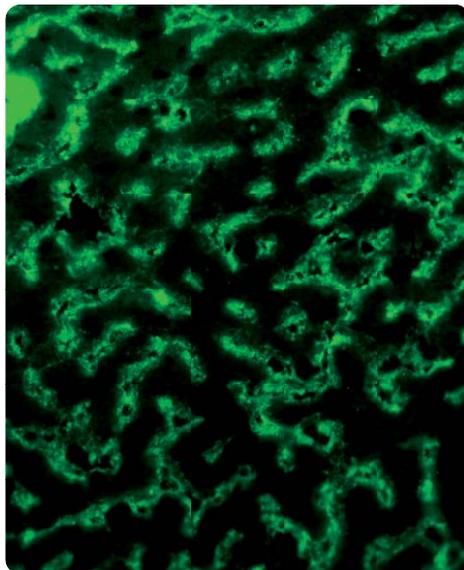
Klinische Assoziation: PBC und neurologische Erkrankungen. Autoantikörper gegen Lysosomen sind gelegentlich auch bei Gesunden zu sehen.



Autoantikörper gegen PL-7 und PL-12 (AC-19)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

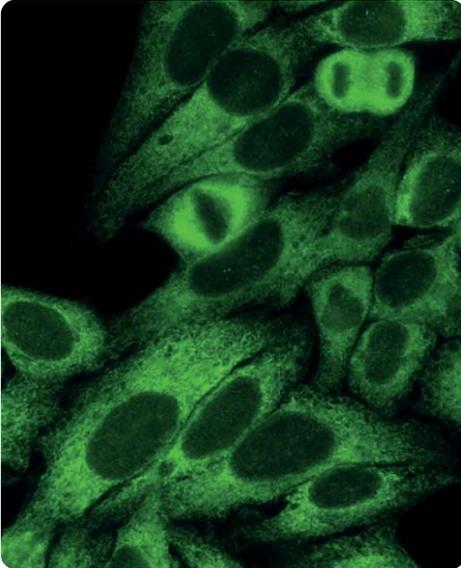
Autoantikörper gegen PL-7 und PL-12 zeigen mit **HEp-2-Zellen** eine feingranuläre bis homogene cytoplasmatische Fluoreszenz. Auch die Zellkerne weisen in vielen Fällen eine distinkte scharfe Punktierung auf: Nach neuen Erkenntnissen sind die Enzyme PL-7 und PL-12 nicht ausschließlich im Cytoplasma lokalisiert, sondern bei einigen Spezies auch im Zellkern zu finden.

Auf dem Gefrierschnitt der **Primatenleber** stellt sich eine unspezifische Fluoreszenz dar.

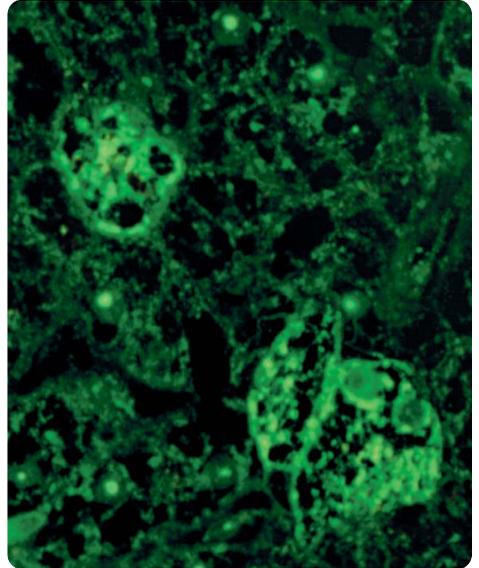
Klinische Assoziation: Antikörper gegen PL-7 und PL-12 werden mit einer Prävalenz von bis zu 4% bei Myositis nachgewiesen.



Autoantikörper gegen ribosomale P-Proteine (AC-19)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

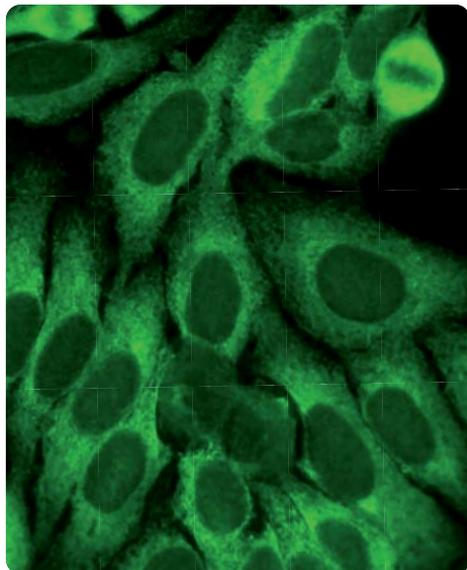
Autoantikörper gegen ribosomale P-Proteine ergeben mit dem Substrat **HEp-2-Zellen** eine glatte bis feingranuläre Färbung des Cytoplasmas.

Hepatocyten der **Primatenleber** zeigen eine vollflächige cytoplasmatische Fluoreszenz mit fleckförmiger Betonung. Bei niedrigen Titern zeigt das Gewebe keine Reaktion.

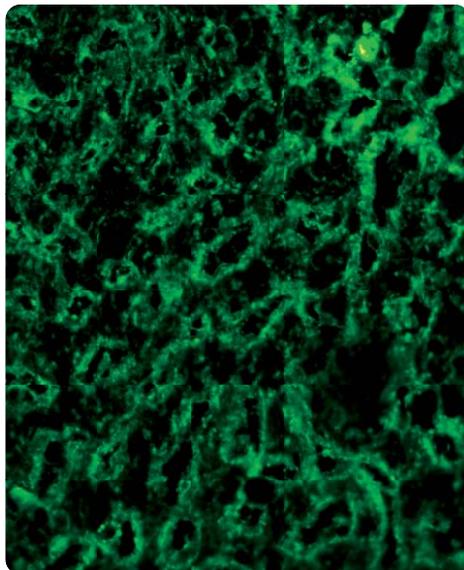
Klinische Assoziation: Autoantikörper gegen ribosomale P-Proteine sind ein Erkennungsmerkmal des SLE. Die Prävalenz beträgt etwa 10%.



Autoantikörper gegen SRP (AC-19)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

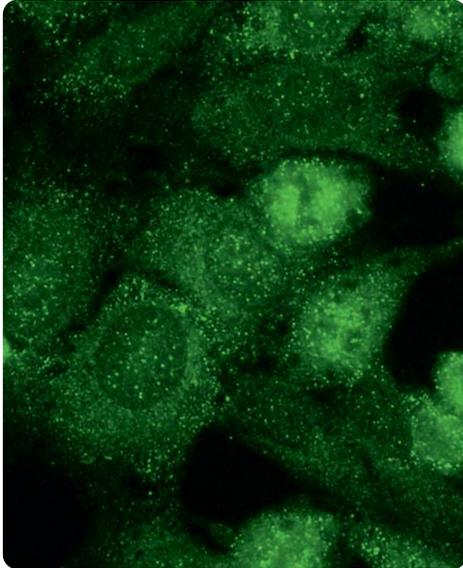
Autoantikörper gegen SRP führen zu einer vorwiegend cytoplasmatischen, glatten bis feingranulären Fluoreszenz bei **HEp-2-Zellen**. Bei den mitotischen Zellen zeigt sich die Fluoreszenz perichromosomal intensiviert, die Chromosomen bleiben ausgespart.

Hepatocyten der **Primatenleber** zeigen in der Regel eine feingranuläre, über das ganze Organ verteilte Fluoreszenz.

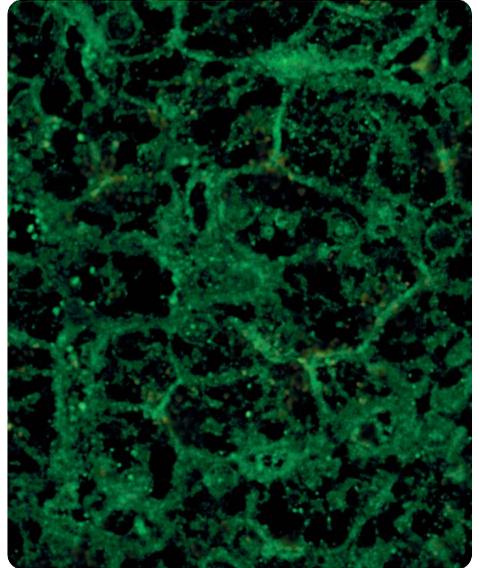
Klinische Assoziation: Antikörper gegen SRP präsentieren sich bei Polymyositis und Dermatomyositis in ca. 5% der Fälle. Sie sind zudem Marker für die nekrotisierende Myopathie, eine Autoimmunmyopathie, die sich von der Polymyositis unterscheidet, aber typische Hautveränderungen wie die der Dermatomyositis aufweisen kann.



Autoantikörper gegen Jo-1 (AC-20)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

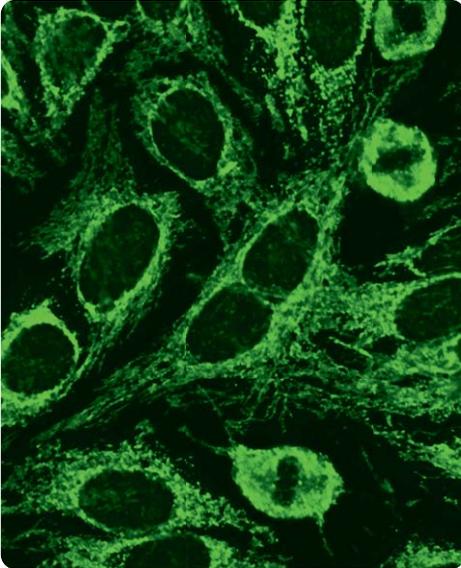
Antikörper gegen Jo-1 zeigen mit **HEp-2-Zellen** eine feingranuläre bis homogene cytoplasmatische Fluoreszenz. Auch die Zellkerne weisen in vielen Fällen eine distinkte scharfe Punktierung auf: Nach neuen Erkenntnissen sind die Jo-1-Zielantigene nicht ausschließlich im Cytoplasma lokalisiert, sondern bei einigen Spezies auch im Zellkern zu finden.

Bei Gewebeschnitten der **Primatenleber** ist das Cytoplasma nur schwach aufgeleuchtet, die Fluoreszenz ist diagnostisch nicht verwertbar.

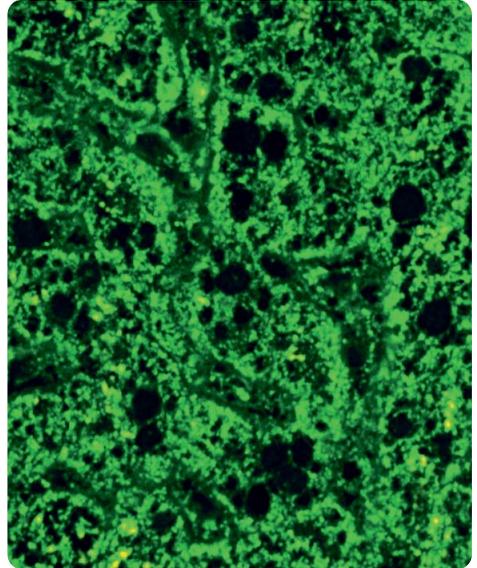
Klinische Assoziation: Antikörper gegen Jo-1 werden bei Polymyositis mit einer Prävalenz von 25–35% angetroffen. Sie sind häufig mit gleichzeitig bestehenden anderen Autoimmunerkrankungen assoziiert wie SLE, Systemsklerose, Interstitieller Lungenfibrose, Raynaud-Syndrom, Polysynovitis.



Autoantikörper gegen Mitochondrien (AC-21)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

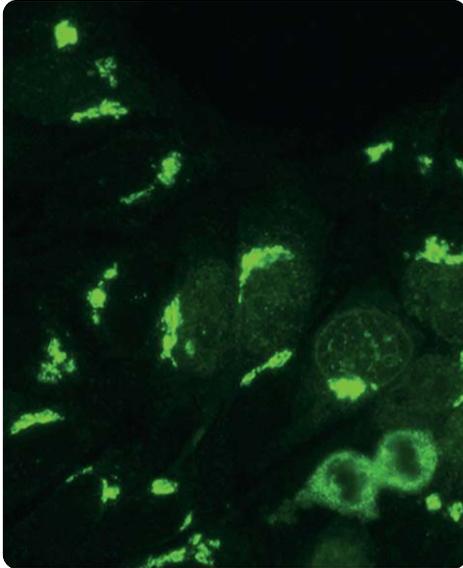
HEp-2-Zellen enthalten die Antigene M2, M3, M5 und M9; hier erzeugen die Antikörper eine grobgranuläre Fluoreszenz des Cytoplasmas, die den Kern nicht miterfasst (früher standen die ebenfalls PBC-relevanten mitreagierenden Nuclear Dots zu Unrecht im Verdacht, es seien verirrte Mitochondrien).

Die **Primatenleber** zeigt eine granuläre Fluoreszenz des Cytoplasmas. Die Zellkerne sind dunkel. Insgesamt reagiert das Gewebe schwächer als die HEp-2-Zellen.

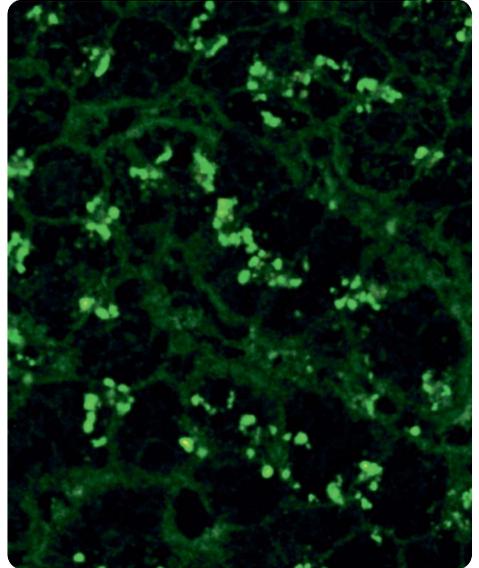
Klinische Assoziation: Autoantikörper gegen Mitochondrien können bei verschiedenen Erkrankungen nachgewiesen werden. Häufig treten sie zusammen mit anderen Autoantikörpern auf, z. B. mit Autoantikörpern gegen Zellkerne. Von besonderer Bedeutung sind Antikörper gegen Mitochondrien für die Diagnose der Primär-biliären Cholangitis (PBC). Die Prävalenz beträgt bis zu 95%.



Autoantikörper gegen Golgi-Apparat (AC-22)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

Autoantikörper gegen den Golgi-Apparat stellen sich in der indirekten Immunfluoreszenz auf **HEp-2-Zellen** als netzig-granuläre Strukturen dar, die dem Zellkern einseitig anliegen. Bei Zellen, die sich in Mitose befinden, ist der Golgi-Apparat weitestgehend aufgelöst. Die Antikörper zeigen dort keine Reaktion.

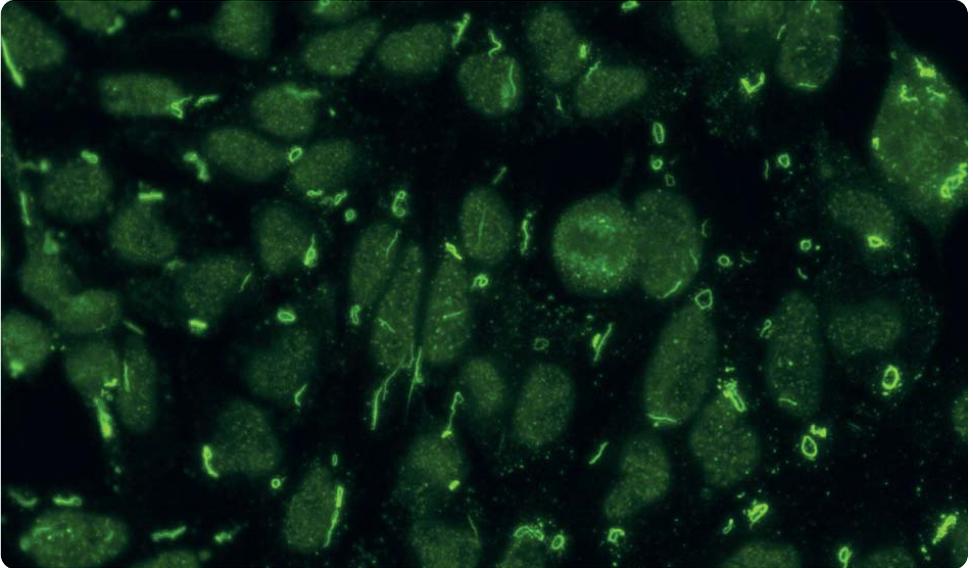
Bei der **Primatenleber** ist das Cytoplasma der Hepatocyten ebenfalls angefärbt.

Bekannte Zielantigene: Giantin/Macrogolgin, Golgin-95/GM130, Golgin-160, Golgin-97 und Golgin-245.

Klinische Assoziation: Autoantikörper gegen den Golgi-Apparat treten bei verschiedenen Autoimmunerkrankungen auf, insbesondere bei SLE, dem Sjögren-Syndrom und der Rheumatoiden Arthritis. Wegen der geringen Krankheitspezifität hat der Nachweis keine große diagnostische Bedeutung.



Cytoplasmatische „Rods and Rings“ (AC-23)



HEp-2-Zellen

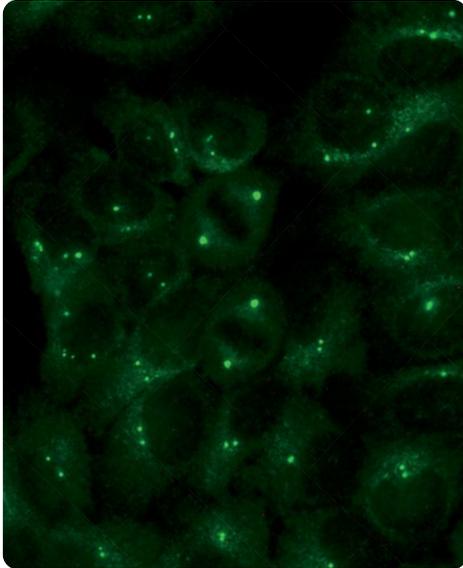
„Rods and Rings“ („Haken und Ösen“) bezeichnen ein erst kürzlich beschriebenes cytoplasmatisches Muster auf **HEp-2-Zellen**. Diese unabhängig vom Zellzyklus auftretenden, filamentartigen Strukturen stellen sich in Form von Häkchen, Ösen oder Schleifen dar.

Bekannte Zielantigene: Es wird vermutet, dass sich die Reaktion gegen das Autoantigen Inosinmonophosphatdehydrogenase 2 (IMPDH2) richtet.

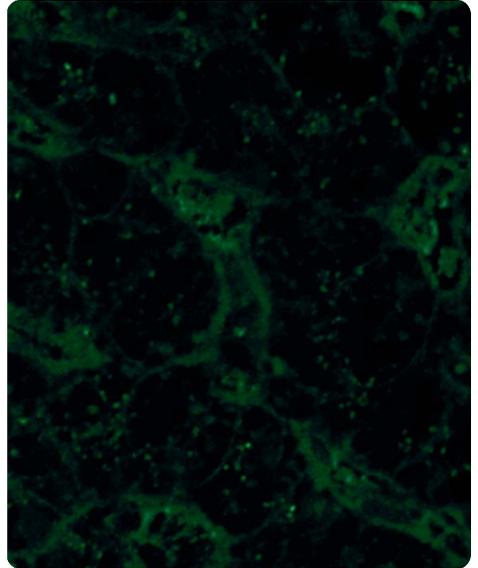
Klinische Assoziation: Das abgebildete Muster wurde vor allem bei Patienten mit einer Hepatitis-C-Infektion beobachtet, insbesondere nach Interferon-Alpha- oder Ribavirin-Therapie (Prävalenz 35%).



Autoantikörper gegen Zentrosomen (AC-24)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

Bei einem typischen positiven Befund sieht man die Zentrosomen im Cytoplasma der **HEp-2-Zellen**, und zwar entweder ein oder zwei Zentrosomen je Zelle. Bei den mitotischen Zellen sind die Zentrosomen an zwei sich gegenüberliegenden Polen positioniert.

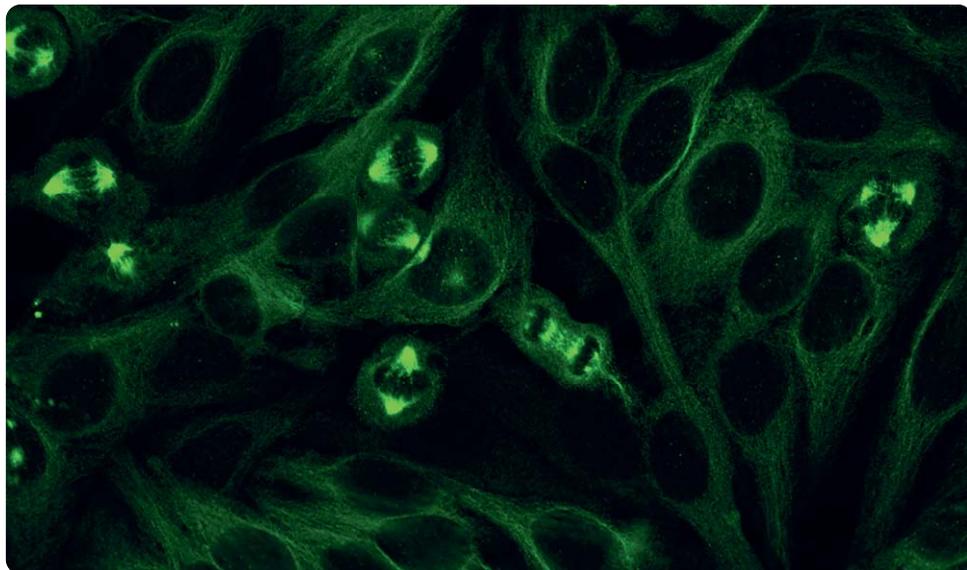
Bei hohen Titern lassen sich auch auf der **Primatenleber** kleine Pünktchen im Cytoplasma der Hepatocyten ausmachen.

Bekannte Zielantigene: Pericentrin, Ninein, Cep250 und Cep110.

Klinische Assoziation: Hohe Titer (höher 1:1.000) deuten auf eine Progressive Systemsklerose oder ein Raynaud-Syndrom hin. Die Prävalenz beträgt allerdings nur wenige Prozent. Das Muster wurde auch in Zusammenhang mit Infektionen beobachtet.



Autoantikörper gegen Spindelfasern (AC-25)



Hep-2-Zellen

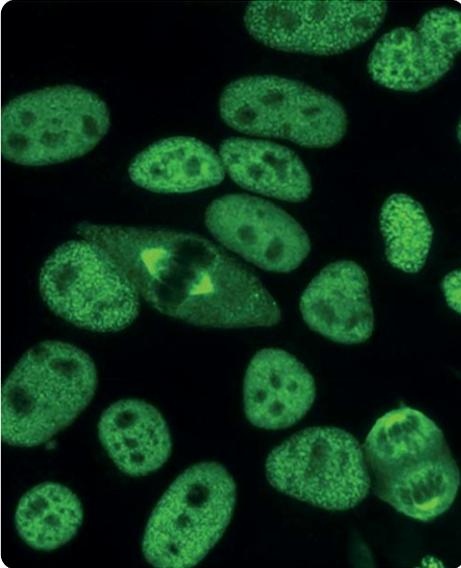
Auf HEp-2-Zellen können Antikörper gegen das Spindelfaser-Antigen MSA-2 (HsEg5) auftreten. Dabei sind nur die Spindelfasern der mitotischen Zellen, jedoch nicht die Zellkerne der Interphasezellen angefärbt.

Bekanntes Zielantigen: HsEg5.

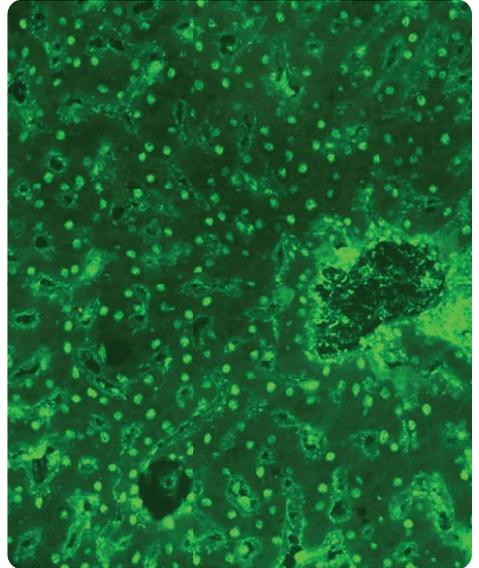
Klinische Assoziation: Autoantikörper gegen Spindelfasern (MSA-2) treten selten beim Sjögren-Syndrom, bei Systemischem Lupus erythematoses (SLE) oder anderen Kollagenosen auf.



Autoantikörper gegen NuMA (AC-26)



HEp-2-Zellen



Primatenleber

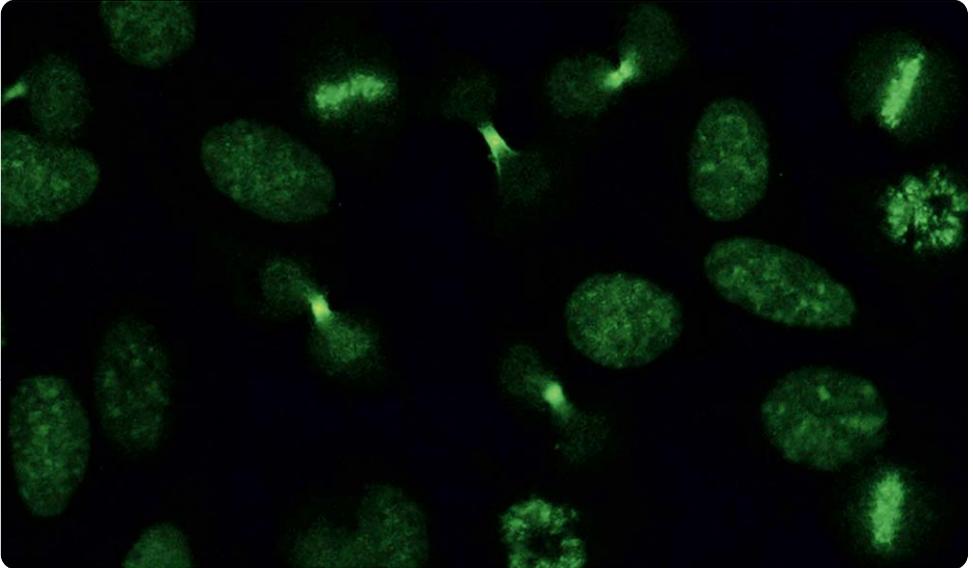
Im indirekten Immunfluoreszenztest zeigen **HEp-2-Zellen** mit Antikörpern gegen NuMA (MSA-1) in der Interphase unter Aussparung der Nukleoli eine feingranuläre bis retikuläre Fluoreszenz der Kernmatrix. Bei mitotischen Zellen der Metaphase stellen sich die Spindelfasern als zwei sich gegenüberliegende Fächer dar. Dabei liegt der Schwerpunkt der Anfärbung in Richtung der Zentriolen.

Auf der **Primatenleber** zeigt sich eine granuläre Fluoreszenz.

Klinische Assoziation: Antikörper gegen NuMA (MSA-1) können unter anderem beim Sjögren-Syndrom und verschiedenen Formen von Arthritis vorkommen, gelegentlich auch bei Anti-Phospholipid-Syndrom (APS) und bei Systemischem Lupus erythematoses (SLE).



Autoantikörper gegen Trennzone (Midbody) (AC-27)



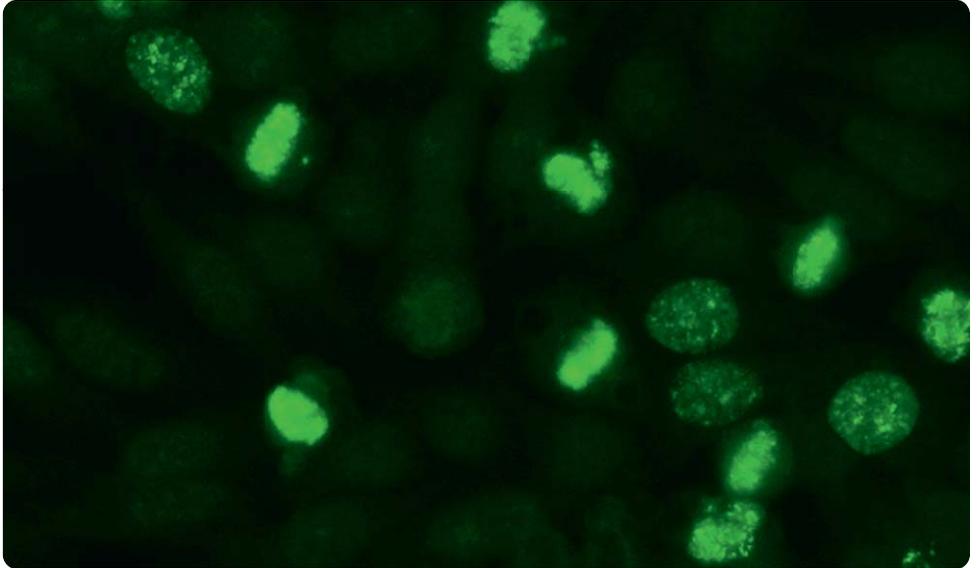
HEp-2-Zellen

Im indirekten Immunfluoreszenztest zeigen **HEp-2-Zellen** bei Midbody-Antikörpern in der Metaphase der Mitose eine feinkörnige Fluoreszenz der Äquatorialebene. Im Unterschied zum Bild bei Antikörpern gegen Zentromere bleibt diese fluoreszierende Linie bis zum Ende der Mitose in der Mitte stehen. Ihre Länge entspricht der gesamten Zellbreite in der Trennzone, und die Linie verkürzt sich zunehmend, bis in der Telophase nur noch ein fluoreszierendes Pünktchen zu sehen ist, das die Tochterzellen miteinander verbindet („Abschiedskuss“).

Klinische Assoziation: Raynaud-Syndrom, Malignome und Progressive System-sklerose.



Autoantikörper gegen MCA (AC-28)



Hep-2-Zellen

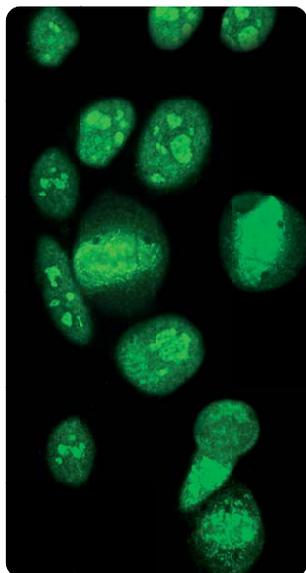
Bei **Hep-2-Zellen** zeigen die Chromosomen in der Pro- und Metaphase eine gepunktete Fluoreszenz. Interphasekerne weisen keine Färbung auf.

Bekannte Zielantigene: Modifiziertes Histon H3, MCA-1.

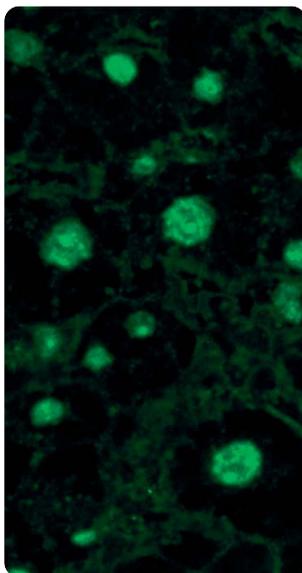
Klinische Assoziation: Polymyalgia rheumatica, Diskoider Lupus erythematosus, Sjögren-Syndrom und Chronische Lymphatische Leukämie.



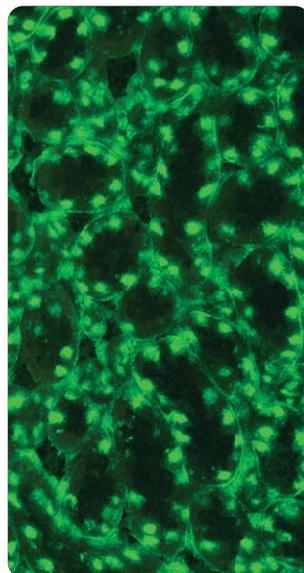
Autoantikörper gegen Topoisomerase I (Scl-70) (AC-29)



HEp-2-Zellen



Primatenleber



Rattenniere

HEp-2-Zellen zeigen eine feingranuläre Kernfluoreszenz der Interphase-Zellen. Die Nukleoli sind positiv und fluoreszieren homogen. Das Cytoplasma ist dunkel. Bei mitotischen Zellen fluoresziert der Randbereich der kondensierten Chromosomen, teilweise ist die gesamte Chromosomenregion positiv.

Die **Leber** zeigt eine vorwiegend homogene Fluoreszenz der Zellkerne.

Auf Gewebeschnitten der **Rattenniere** fluoreszieren die Zellkerne des tubulären Epithels.

Klinische Assoziation: Topoisomerase-I-Autoantikörper wurden je nach Untersuchungsmethode und Aktivität der Erkrankung bei 25–75% der Patienten mit Progressiver Systemisklerose (diffuse Form) nachgewiesen.



Verdünnungsschema für die Immunfluoreszenz

Bei allen Immunfluoreszenz-Testsystemen von EUROIMMUN wird eine **Titration der Serumproben** empfohlen, die eine sinnvolle Grundlage für die Beurteilung der Proben schafft.

Bisher hat man mit Verdünnungsstufen um den Faktor 2 die Genauigkeit übertrieben, mit Schritten um den Faktor 4 erhält man dagegen ein zu grobes Raster. Deshalb wird ein Verdünnungsschema empfohlen, das mithilfe der Quadratwurzel aus 10 Verdünnungsstufen von 1:10, 1:32, 1:100, 1:320, 1:1.000 usw. ergibt.

Für jeden Testparameter gibt es eine **geeignete Ausgangsverdünnung**. Zur Vereinfachung des Testablaufs und der Befundung unterscheidet man bei EUROIMMUN **zwei Antikörper-Kategorien**: Antikörper der Gruppe I sind bereits bei einem Titer von 1:10 diagnostisch relevant, Antikörper der Gruppe II dagegen erst bei 1:100.

Einer Verdünnungsstufe mit spezifischer Fluoreszenz wird eines der **Symbole von + bis ++++** zugeordnet, wobei der für beide Gruppen unterschiedlichen klinischen Bedeutung der Antikörpertiter Rechnung getragen wird:

Serumverdünnung	1:10	1:32	1:100	1:320	1:1.000	1:3.200	1:10.000
Bewertung Gruppe I	+	++	++	+++	+++	++++	++++
Bewertung Gruppe II			+	++	+++	++++	++++

= geeignete Ausgangsverdünnungen

+ = schwach positiv, ++ = positiv, +++ = stark positiv, ++++ = sehr stark positiv

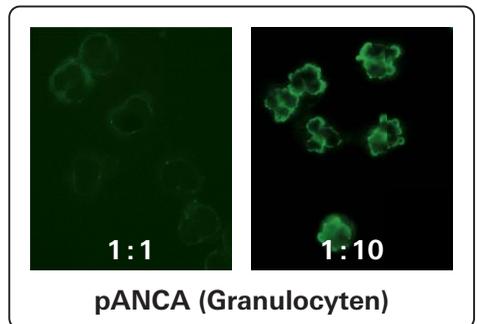
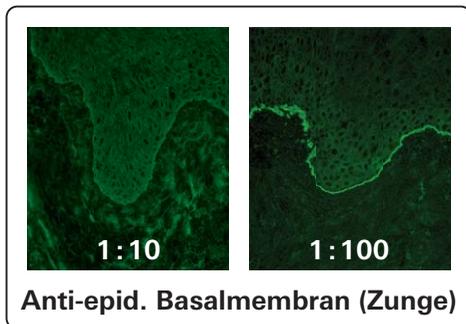
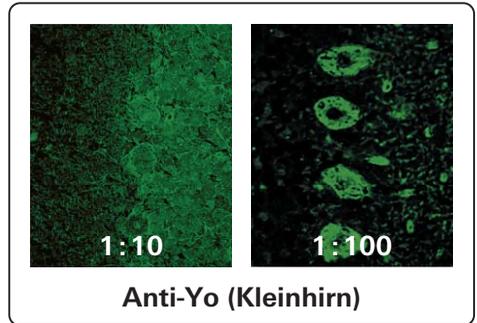
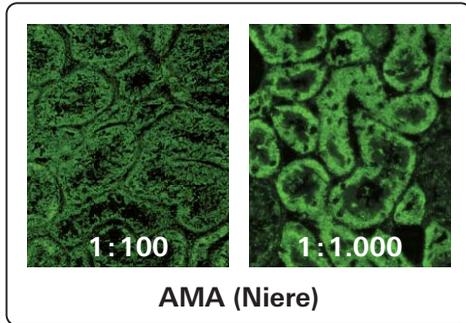
Gruppe I: meiste organspezifische Autoantikörper (AAk), ANCA, AAK gegen dsDNA

Gruppe II: ANA, AMA, ASMA, AAK gegen Skelettmuskel

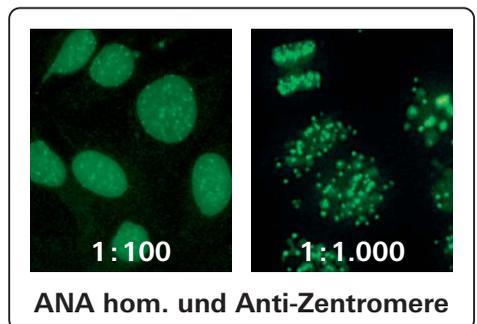
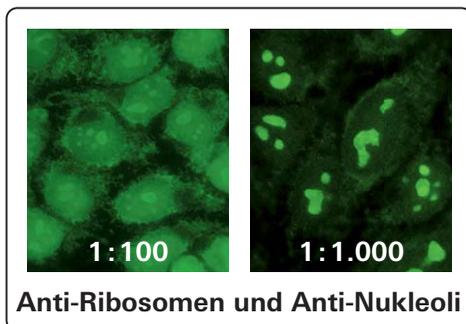
Um das große Potential der indirekten Immunfluoreszenz optimal zu nutzen, werden Experten der Immunfluoreszenz die meisten **Autoantikörper immer in zwei parallelen Verdünnungen untersuchen**, aus folgenden Gründen:



Blockierungseffekt: Bei zwei von 100 hochtitrigen Seren ergibt sich in der Ausgangsverdünnung ein untypisches Bild. Manche hochpositiven Seren reagieren sogar falsch-negativ, wenn sie nicht ausreichend verdünnt wurden.



Überdeckung eines Autoantikörpers: Bei einer zu hohen Konzentration können unspezifische Antikörper oder zusätzlich vorliegende optisch dominierende Autoantikörper einen relevanten Autoantikörper überdecken.

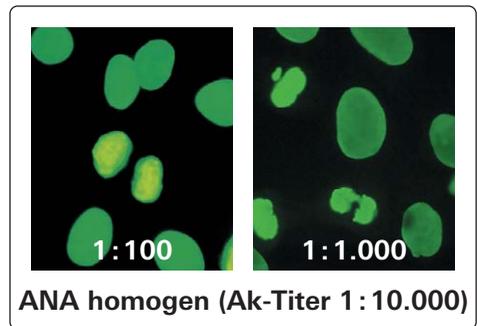
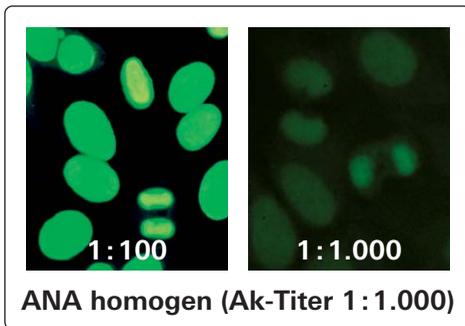




Titer-Abschätzung: Mit zwei um den Faktor 10 unterschiedlichen Verdünnungen kann man für die meisten positiven Befunde sofort ohne weitere Inkubationen einen Titer angeben (siehe Tabelle). Der Befund ist einen Tag früher fertiggestellt als bei realer Titration.

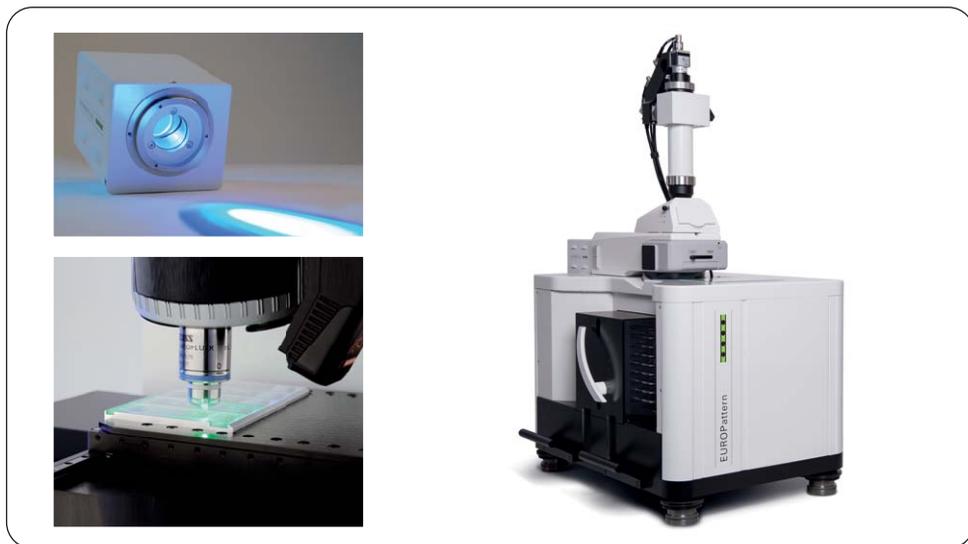
Fluoreszenz bei		AAk-Titer
1 : 100	1 : 1.000	
schwach	negativ	1 : 100
stark	negativ	1 : 320
stark	schwach	1 : 1.000
stark	mittel	1 : 3.200
stark	stark	1 : 10.000

Dagegen ist es unmöglich, das positive Ergebnis aus einer einzigen Verdünnung zu quantifizieren: AAk zeigen je nach Avidität ein völlig unterschiedliches Abklingverhalten, was man durch den Parallelansatz erfasst. Photometrische Systeme sowohl auf Cytochemie-ELISA-, als auch auf Fluoreszenzbasis sind daher obsolet.





EUROPattern: Automatische IIFT-Auswertung



EUROPattern-Mikroskop

Um Diagnostiklaboren bei der ANA-Diagnostik größtmögliche Unterstützung zu bieten, hat EUROIMMUN EUROPattern entwickelt, ein System zur automatischen Aufnahme von Immunfluoreszenzbildern und zur computergestützten Auswertung bei einer stetig wachsenden Anzahl von Substraten.

Das EUROPattern-Mikroskop kann bis zu 500 Inkubationsfelder in weniger als 2 Stunden automatisch abarbeiten. Dazu fährt der Mikroskoptisch in das Magazin und entnimmt eine Trägerplatte mit Objektträgern, die durch einen DataMatrix-Code sicher identifiziert werden. Alle Felder der Objektträger werden nacheinander präzise angefahren, die Substrate ohne Ausbleichen der Fluoreszenz fokussiert und hochqualitative Fluoreszenzbilder aufgenommen. Für die automatische Bildaufnahme stellt EUROIMMUN nicht nur Zellsubstrate, sondern auch Gewebe und aufgereinigte Antigene (EUROPLUS) zur Verfügung. Die Fluoreszenzbilder werden automatisch archiviert und können dann für die Befundung der aktuellen und nachfolgenden Untersuchungen genutzt werden.

Anhand der aufgenommenen Immunfluoreszenzbilder generiert EUROPattern vollautomatisch einen Befundvorschlag bei unterschiedlichsten Substraten. Zurzeit gehören dazu HEP-2/HEp-20-10-Zellen, Granulocyten (verschiedene Fixie-

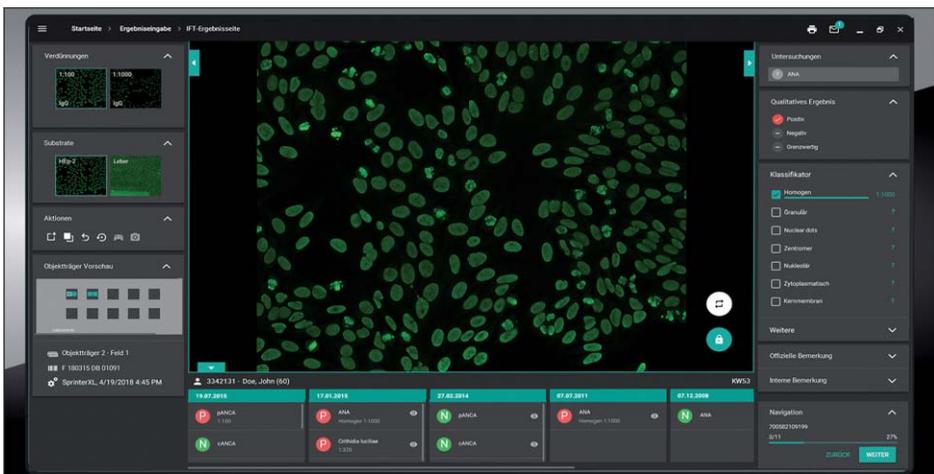


ungen), *Crithidia luciliae*, EUROPLUS und rekombinante Zellen (z. B. Aquaporin-4, PLA2R, DPPX). EUROPattern klassifiziert die Aufnahmen mithilfe moderner mathematischer Verfahren als positiv, negativ oder grenzwertig und identifiziert ggf. die Muster.

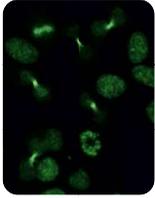
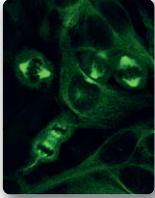
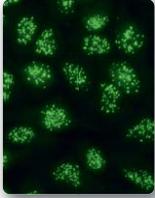
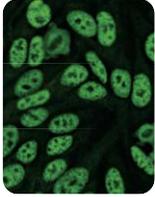
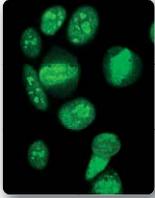
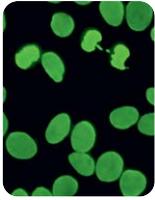
Aus den Fluoreszenzintensitäten der inkubierten Verdünnungen wird für jedes Muster automatisch ein Titer berechnet, der eine reproduzierbare Quantifizierung sicherstellt.

Der automatisch generierte Befundvorschlag pro Patient inklusive Titerangaben und einem Konfidenzwert wird zusammen mit den Fluoreszenzbildern am Bildschirm angezeigt. Der Diagnostiker kann unter Einsicht der detaillierten Patientenhistorie das Endergebnis mit einem Mausklick verifizieren. Auch die Abarbeitung von negativen Proben stapelweise wird unterstützt. EUROPattern garantiert auf diese Weise die schnelle und sichere Bearbeitung der IIFT in der Labordiagnostik.

EUROPattern ist ein Erweiterungsmodul der Labormanagement-Software EUROLabOffice. Es kann leicht in bestehende Arbeitsprozesse und Automatisierungslösungen integriert werden.



Ergebnisdarstellung im EUROPattern-Programm



SYSTEMISCHE AUTOANTIKÖRPER UND ASSOZIIERTE AUTOIMMUNKRANKHEITEN		Domänen der Immunfluoreszenz													
		Anti-Phospholipid-Syndrom	Habituelle Aborte	Medik.-induz. Lupus erythematoses	Neonataler Lupus erythematoses	Poly-/Dermatomyositis	Einschlusskörper-Myositis	Progressive Systemisklerose	Rheumatoide Arthritis	Sharp-Syndrom (MCTD)	Sjögren-Syndrom	Systemischer Lupus erythematoses	Autoimmun-Hepatitis	Primär-biliäre Cholangitis (Leberzir.)	Paraneoplastische Autoimmunität
		Diagnostisch ■ wegweisend □ relevant													
		Stand Juli 2017													
Zellkerne (ANA)		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CENP-F (Cyclin II – Mitosin)															■
dsDNS												■			
Nukleosomen												■			
Sm												■			
U1-RNP						■					■	■			
SS-A (Ro, 60 kDa)						■					■	■			■
SS-B (La)						■					■	■			
Histone						■					■	■			
PCNA (Cyclin I)											■	■			
RNS-Helikase A											■	■			
MSA-1 (NuMA)											■	■			
MSA-2 (HsEg5)							■			■	■				
Topoisomerase I (Scl-70)											■	■			
Fibrillarin (U3-RNP)							■				■	■			
RNS-Polymerasen I, II, III											■	■			
NOR-90, PDGFR											■	■			
Zentromere (CENP-A, CENP-B)											■	■			■
PM-Scl (1, 75, 100)							■				■	■			
Ku											■	■			
Mi-2							■				■	■			
SRP							■				■	■			
cN-1A (Mup44)							■				■	■			
Jo-1							■				■	■			
TIF1-gamma							■				■	■			
MDA5, NXP2, SAE1							■				■	■			
PL-7, PL-12, OJ, EJ, SC, KS							■				■	■			
Nuclear Dots											■	■			
Sp100, Sp140, SUMO, PML											■	■			
Kernmembran, Lamin-B-Rezeptoren											■	■			
gp210, NUP62											■	■			
Cardiolipin		■	■								■	■			
Beta-2-Glykoprotein		■	■								■	■			
Phosphatidylserin		■	■								■	■			
Ger. faktor (Lupus Antikoagulans)		■	■								■	■			
Prothrombin, Annexin A5		■	■								■	■			
C1q											■	■			
Mitochondrien (AMA)											■	■			
Mitochondrien (AMA M2-3E/BPO)											■	■			
Ribosomale P-Proteine											■	■			
ASMA											■	■			
F-Actin											■	■			
IgG (Rheumafaktoren)											■	■			
Citrullinierte Peptide (CCP)											■	■			
Sa											■	■			
Filaggrin, RA-Keratin											■	■			
Citrulliniert. Enolase-Peptid (CEP-1)											■	■			

