

ANA indirekten Fluoreszenz-Antikörpertest

Bezeichnung

Nachweis von antinukleären Antikörpern (ANA) in humanem Serum mittels indirektem Fluoreszenz-Antikörpertest

Synonym

Kein

Handelsname

Keiner

Pathophysiologie

Der Begriff Antinukleäre-Antikörper (ANA) bezeichnet alle Autoantikörper, welche konservierte, d.h. in allen Zellen vorkommende, nukleäre Antigene erkennen. Im engeren Sinn sind ANA solche Autoantikörper, die in der indirekten Immunfluoreszenz an Gewebeschnitten oder humanen Tumorzellmonolayern, z.B. HEp-2 Zellen, eine nukleäre Anfärbung verursachen. Die entsprechenden Autoantigene können im Chromatin, im Nukleolus, im Nukleoplasma, in der nukleären Matrix oder der Kernmembran lokalisiert sein. Die Epitope der entsprechenden Autoantigene liegen auf DNA assoziierten Proteinen und Enzymen sowie auf doppelsträngiger DNA. Die indirekte Immunfluoreszenz an den humanen HEp-2 Zellen ermöglicht die Identifizierung der häufigsten, diagnostisch relevanten ANA-Spezifitäten anhand des entsprechenden Anfärbungsmusters:

- **U1-snRNP (U1-snRNP spezifische Proteine A, C, 68kD):** mittel- bis grobgranuläres nukleäres Muster
- **Sm (Core-Proteine von snRNPs):** mittel- bis grobgranuläres nukleäres Muster
- **Ro/SS-A (hY-RNP-Komplexe):** feingranuläres nukleäres Muster oft mit einzelnen prominenten Granula
- **La/SS-B (hY-RNP-Komplexe):** feingranuläres nukleäres Muster oft mit einzelnen prominenten Granula
- **Scl-70 (DNA-Topoisomerase I):** feingranuläres bis homogenes nukleoplasmatisches und nukleoläres Muster
- **Centromer:** nukleäre Dots entsprechend der Chromosomenzahl, speziell in der Äquatorialebene mitotischer Zellen
- **dsDNA:** Interphasekerne und Chromatin mitotischer Zellen homogen gefärbt
- **Mi-2 (Komponente des Nukleosomen-remodellierenden und deacetylierenden Komplexes (NuRD)):** feingranuläres nukleäres Muster mit z.T. ausgesparten Nukleoli

Indikation

Die indirekte ANA-Immunfluoreszenz (IIFT) dient zum semiquantitativen Nachweis von antinukleären Antikörpern in humanem Serum. Das Testsystem arbeitet mit transfizierten HEp-2 Larynx-Karzinomzellen, als semiquantitatives Ergebnis wird eine Titerstufe ausgegeben.

Die ANA-IIFT wird bei Verdacht auf eine entzündliche rheumatische Erkrankung, speziell auf systemischen Lupus erythematodes (SLE), Sjögren-Syndrom, mixed connective tissue-disease MCTD und Sklerodermie, als Screeningmethode durchgeführt. ANA können aber in unterschiedlicher Häufigkeit auch bei fast allen anderen Autoimmunerkrankungen sowie in seltenen Fällen bei Tumoren gefunden werden. Bei negativem Befund der ANA-IIFT kann ein SLE praktisch ausgeschlossen werden. Bei chronischen Lebererkrankungen weisen ANA auf eine autoimmune Hepatitis hin.

Bei Gesunden sind ANA selten und dann in der Regel niedrig titrig, wobei die Nachweishäufigkeit mit dem Alter ansteigt.

Bei positiver ANA-IIFT ist i.d.R. eine quantitative Bestimmung von ENA-Screen oder Einzelparametern aus dem ENA-Screen bzw. dsDNA erforderlich.

Präanalytik

Probentransport und Abnahme:

Siehe hierzu die [Informationen](#) auf der Homepage der Zentralen Einrichtung Klinische Chemie. Stark hämolytische, lipämische und ikterische Seren können zu falschen Ergebnissen führen.

Einheit

Titerstufen, d.H. die Verdünnung des Probenmaterials bei der noch eine Fluoreszenz über der Fluoreszenz der Negativkontrolle festgestellt wird.

Probenmaterial

Im Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen:



Referenzbereiche

Erwartete Ergebnisse: Fluoreszenz-ANA-Titer $\leq 1:80$

Circa 10% der Bevölkerung weisen einen Titer von 1:80 auf.

Nur bei positiver Immunfluoreszenz ist eine weitere Differenzierung der nucleolären Antikörper (ENA etc.) sinnvoll.

Methode/Meßverfahren/Gerät

Antinukleäre Antikörper (ANA) Tests werden als allgemeine Screening-Methode zum Nachweis von Bindegewebskrankheiten eingesetzt. Das Testsystem arbeitet mit transfizierten, mitotischen HEp-2 Zellen, welche spezifische Identifikation von Autoantikörpern (Autoimmunerkrankungen) anhand von speziellen Verfärbungsmustern im Fluoreszenzmikroskop ermöglichen.

Das Immuno Concepts Fluoreszenz-ANA Testsystem arbeitet mit der Methode der indirekten Fluoreszenz-Antikörper, wie sie von Weller und Coons zuerst beschrieben wurde. Dabei werden Patientenproben mit Antigensubstrat inkubiert, um spezifische Bindungen von Autoantikörpern an Zellkerne zu ermöglichen. Wenn ANA vorhanden sind, bildet sich ein stabiler Antigen-Antikörperkomplex. Nach dem Waschen, bei dem nicht-spezifisch gebundene Antikörper entfernt werden, wird das Substrat mit einem anti-humanen Antikörperreagenz, das an Fluoreszin konjugiert ist, inkubiert. Bei positivem Ergebnis bildet sich ein stabiler dreiteiliger Komplex, bestehend aus an human-antinukleäre Antikörper gebundenen Fluoreszenz-Antikörper, welche ihrerseits an Zellkern-Antigen gebunden sind. Dieser Komplex kann mit Hilfe eines Fluoreszenz-Mikroskops sichtbar gemacht werden. In positiven Proben weisen die Zellkerne eine apfelgrüne Fluoreszenz mit einer für diese Zellkern-Antigenverteilung charakteristische Färbung innerhalb der Zellen auf. Wenn eine Probe für ANA negativ ist, zeigt der Zellkern keine deutliche Fluoreszenz.

Analysenfrequenz

Messung: mehrmals wöchentlich.

Literatur/Quelle der Referenzbereiche

Packungsbeilage Immuno Concepts

Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankungen, 3. Auflage, 2006