

LVZ Indirekte Immunfluoreszenz

1. Zweck der Untersuchung

Die indirekte Immunfluoreszenzuntersuchung ermöglicht in Patientenserum den Nachweis von Anti-körpern gegen Antigene, die in als Substrat verwendeten Gewebeschnitten vorliegen.

IgG-, und IgA-Autoantikörper werden durch Zugabe fluoreszenzmarkierter anti-Immunglobulinantikörper nachgewiesen. Die Ergebnisse der serologischen Untersuchung in der Indirekten Immunfluoreszenz stellen hierbei einen wichtigen Baustein in der Diagnose der autoimmun-medierten bullösen Dermatosen dar.

Bei der indirekten Immunfluoreszenzuntersuchung werden im Serum des Patienten zirkulierende Autoantikörper auf Organschnitten nachgewiesen, wobei je nach Fragestellung verschiedene Substrate verwendet werden. Sensitivstes Substrat für subepidermal blasenbildende Erkrankungen ist humane Haut, die durch Vorinkubation in einmolarer NaCl-Lösung im Bereich der Lamina lucida gespalten wurde (split skin).

Sensitivstes Substrat für Pemphiguserkrankungen ist Affenösophagus.

Ein positiver Antikörpernachweis ist bei subepidermal blasenbildenden Erkrankungen nicht nur aus dem Serum sondern auch aus Blasenflüssigkeit möglich. Die Schnitte werden nacheinander mit Patientenserum bzw. Blaseninhalt in verschiedenen Verdünnungen, danach mit konjugiertem Anti-human-IgG inkubiert und in einem Durchlichtfluoreszenzmikroskop mit geeignetem Filtersystem betrachtet.

2. Indikation der Bestimmung:

Qualitativer oder semiquantitativer Nachweis von zirkulierenden intra-epidermalen Autoantikörpern oder von Autoantikörper gegen die subepidermale Basalmembran zur Unterstützung der Diagnose von bullösen Autoimmundermatosen (Pemphigus vulgaris Pemphigus foliaceus, IgA-Pemphigus, paraneoplastischer Pemphigus; bullöses Pemphigoid, Epidermolysis bullosa acquisita, vernarbendes Schleimhautpemphigoid und seltenere autoimmun blasenbildende Dermatosen).

3. Präanalytik

3.1. Probenmaterial

Serum in Standard Probenentnahmeröhrchen

Plasma kann nicht verwendet werden.

3.2. Probentransport

Die Proben werden vom Klinikpersonal direkt am Labor angeliefert oder vom Laborpersonal in der Ambulanz abgeholt. Die Proben werden in einer bruchsicheren Schale oder einen Becher transportiert. Die Außen-Einsender kommen aus dem Universitätsklinikum. Ihre Proben werden durch geschulte Mitarbeiter der DUU direkt ins Labor gebracht.

4. Besonderheiten bei der Probengewinnung

Die Blutproben werden durch die Standardverfahren gewonnen.

5. Referenzbereiche

Es erfolgt eine mikroskopische Beurteilung.

Sollwerte:

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite	
Schmidt, Elke	PD Dr. Peters, Thorsten	05.07.2022	88240	000/05.07.2022	1 von 3

Negativ

Bei Erkrankung:

Positiv mit Muster:

- lineare IgG- und/oder IgA-Fluoreszenz
- interzelluläre IgG- oder IgA-Fluoreszenz

Split-Skin-Präparat:

Nachweis der Lokalisation des erkannten Antigens in Bezug zur Junktionszone:

- Blasendach: Hemidesmosomen, typisch für z.B. bullöses Pemphigoid
- Blasenboden: unterhalb der Lamina lucida, z.B. bei Epidermolysis bullosa aquisita

Die Ergebnisse werden als negativ bzw. bei positivem Ergebnis als Titerstufe angegeben, die Skala beginnt bei 1:20 und ist nach oben offen.

6. Gerät/Methode/Meißverfahren

Mikroskop

7. Erforderliche Angaben durch den Einsender

Diagnose, Fragestellung

8. Stabilität und Lagerung der Probe bis zur Bearbeitung

Das Serum kann bei 2 – 8°C bis zu 48 Stunden vor der Testdurchführung gelagert werden.

Für eine längere Lagerung das Serum bei mindestens -20°C einfrieren. Bei -20°C ist das Serum mehrere Monate haltbar. Serum nur einmal einfrieren und auftauen.

9. Einflußfaktoren

keine

10. Störfaktoren

-.Serum wurde nicht fachgerecht gelagert.

-.Blutgruppenantikörper:

Bei Patienten, die Blutprodukte übertragen erhielten oder schwanger waren, können im Serum Antikörper gegen Blutgruppenantigene vorliegen. Da Makakenblutgruppenantigene mit menschlichen Blutgruppenantigenen kreuzreagieren, bindet das Serum dieser Patienten die entsprechenden Antigene auf der Oberfläche der Keratinozyten im Substrat. Das resultierende Muster ist nicht sicher vom pemphigustypischen Muster zu differenzieren. Die Patientenserum sind also falsch positiv. Durch entsprechende Neudurchführung des Testes mit vorhergehender Inkubation des Serums mit einem blutgruppenantigenreichen Reagenz („Blutgruppenstripping“) können diese Antikörper gegen Blutgruppenantigene entfernt werden, sodass dieser Einflussfaktor kontrolliert werden kann.

11. Fehler im Probenmaterial

Statt Serum wurde Plasma geschickt

12. Maßnahmen bei ungeeignetem Probenmaterial

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite	
Schmidt, Elke	PD Dr. Peters, Thorsten	05.07.2022	88240	000/05.07.2022	2 von 3

Leistungsverzeichnis Ind. Immunfluoreszenz FB-LV 9

Erneute Blutentnahme veranlassen.

13. Bearbeitungszeitraum:

Routineanforderungen werden einmal wöchentlich bearbeitet.

Eilanforderung innerhalb von 2 Stunden nach Probeneingang im Labor.

Nachforderungen können bis 4 Wochen nach Probeneingang berücksichtigt werden.

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Schmidt, Elke	PD Dr. Peters, Thorsten	88240	000/05.07.2022	3 von 3