

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version	---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab:	---
		Seite:	1 von 15

X Informationsexemplar — Unterliegt nicht dem Änderungsdienst

Arbeitsanweisung ¹

Inhalt	Seite
1 Indikation	2
2 Methode / Prinzip	2
2.1 Immunfluoreszenztest (IFT)	2
3 Patientenbezogene Angaben	2
3.1 Untersuchungsmaterial / ggf. Probengewinnung und Transport	3
3.2 Mindestmenge	3
3.3 Störfaktoren	3
3.4 Stabilität	3
4 Reagenzien, Materialien, Geräte	3
4.1 Reagenzien	3
4.2 Hilfsmaterialien	3
4.3 Geräte	3
5 Qualitätskontrolle	3
5.1 Testverfahren	3
5.2 Kontrollmaterial	4
6 Durchführung des Tests	4
7 Ergebniseingabe und Freigabe	5
7.1 Ergebnisse	5
7.2 Befundfreigabe	5
8 Referenzbereich	5
9 Grenzen des Verfahrens / mögliche Ursachen von Abweichungen	6
10 Literatur	6
11 Mitgeltende Unterlagen	6
12 Anlagen	6

¹ Arbeitsanweisung auf Anfrage (e-mail w.d.kuhlmann@gmx.de)

	erstellt	geprüft	freigegeben
Name Abteilung Datum Unterschrift	Prof. Dr. W. D. Kuhlmann		

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version	---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab:	---
		Seite:	2 von 15

1 Indikation

- Der ANA-Immunfluoreszenztest (ANA-IFT) dient als Hilfestellung beim Nachweis von Autoantikörpern, die mit Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises (Bindegewebserkrankung, Kollagenose) assoziiert sind, z.B. bei Verdacht auf Lupus erythematodes, Sklerodermie, Sjögren-Syndrom, Sharp-Syndrom, Polymyositis/Dermatomyositis, „Overlap“ Syndrome
- Negative Testergebnisse müssen selten wiederholt werden, ausser bei starkem Verdacht auf eine sich entwickelnde Kollagenose oder bei einer Veränderung im Krankheitsverlauf, die eine Revision der Diagnose erfordert
- Bei Hepatitiden (nicht-virale Formen) zur weiteren Differentialdiagnostik und Ausschluss autoimmuner Hepatitsformen

2 Methode / Prinzip

Die Bezeichnung antinukleäre Antikörper (ANA) ist ein Oberbegriff für Autoantikörper gegen verschiedene Zellkernantigene, die mit einem indirekten Immunfluoreszenztest (IFT) an eukaryoten Zellen als Antigensubstrat nachgewiesen werden. Der ANA-IFT unter Verwendung von HEp-2-Zellen ist der zentrale Einstieg in die serologische Kollagenosediagnostik und gilt als „Gold“-Standardtechnik (American College of Rheumatology 2015; MERONI PL und SCHUR PH, 2010).

Der Vorteil besteht insbesondere darin, dass in einem einzigen Testansatz das gesamte Spektrum der antinukleären Antikörper erfasst werden kann. Je nach Antigenlokalisierung ergeben sich charakteristische IFT-Muster, die Hinweise auf die wichtigen, zugrundeliegenden Antikörper geben können.

Mit der Immunfluoreszenztechnik und dem proprietären Zellsubstrat (HEp-2-Zellen) lassen sich neben den nukleären auch andere Antikörper detektieren, z.B. Antikörper gegen Komponenten des Zytoplasmas, der Zellmembranen und des Mitose-Apparates. Einige Autoantikörper gelten als Marker-Antikörper für die Diagnose bestimmter Erkrankungen. Unter Experten besteht Konsens, dass solche Antikörper einen diagnostischen und prognostischen Wert bei verschiedenen Kollagenosen und allgemein bei Autoimmunerkrankungen haben. Diese zwar nicht zu den klassischen ANA zählenden Autoantikörper werden dennoch unter dem historischen Arbeitsbegriff „ANA“ subsumiert und sollten im Laborbefund berichtet werden.

2.1 Immunfluoreszenztest (IFT)

Die Technik des indirekten IFT entspricht dem ursprünglich von A. H. COONS und Mitarbeitern (1942, 1950) entwickelten Prinzip. Zur Anwendung kommen HEp-2-Zellen als Standardsubstrat und FITC markierte H-Ketten spezifische Anti-Human IgG Antikörper als Detektionsantikörper für den Nachweis der am Antigen substrat gebundenen humanen Autoantikörper. Die mikroskopische Bewertung des ANA-IFT folgt den neuesten internationalen Empfehlungen (AGMON-LEVIN N et al., 2014; CHAN EKL et al. 2015).

Das IFT-Muster ist, von wenigen Ausnahmen abgesehen, nicht für das Vorhandensein definierter Krankheitsmarker beweisend. Positive ANA-Befunde sollten aber, je nach klinischer Fragestellung und je nach Fluoreszenzmuster, durch gezielte Antikörperdifferenzierung (mittels antigenspezifische Immunoassays) spezifiziert werden; entsprechende Hinweise für eine Befunderweiterung werden dem einsendenden Arzt mitgeteilt.

Technischer Hinweis: Antinukleäre Antikörper, die sich gegen SS-A Proteine richten, können nicht immer mit dem IFT erfasst werden. Somit ist in besonderen diagnostischen Fällen (e.g. Sjögren-Syndrom, verschiedene Formen des Lupus erythematodes) die zusätzliche Bestimmung von SS-A Antikörpern mit einem Immunoassay erforderlich bzw. dem Einsender zu empfehlen.

3 Patientenbezogene Angaben

Die einsendenden Ärzte (Krankenhäuser, niedergelassene Arztpraxen) werden regelmässig beraten, dass der ANA-IFT kein allgemeiner Suchtest ist, sondern nur bei klinischem Verdacht auf eine systemische Autoimmunerkrankung eine sinnvolle Anforderung darstellt. In allen Verdachtsfällen sind differentialdiagnostische Angaben und Informationen zum Krankheitsverlauf für die Einschätzung der Analyseergebnisse von Bedeutung.

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version	---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab:	---
		Seite:	3 von 15

3.1 Untersuchungsmaterial / ggf. Probengewinnung und Transport

- Serum, Plasma (Untersuchungsmaterial in der Routine)
- Punktat (nur auf besondere Anforderung)

3.2 Mindestmenge

- 10 µL

3.3 Störfaktoren

- Hämolytische, lipämische, ikterische, mit sichtbaren Verunreinigungen oder durch Mikrobenwachstum kontaminierte Proben sollen nicht verwendet werden
- Eine Kreuzkontamination der Reagenzien oder Proben kann zu falschen Ergebnissen führen

3.4 Stabilität

- 8 Tage bei 2-8°C. Für eine längere Aufbewahrungszeit können Serumproben bei mindestens -20°C eingefroren werden. Wiederholtes Einfrieren/Auftauen ist zu vermeiden

4 Reagenzien, Materialien, Geräte

4.1 Reagenzien

- Objektträger, bestückt mit 5 x 2 BioCHIPS (HEp-2-Zellen und Primatenleber), Fa. XXX
- Fluoreszein-markiertes Anti-Human-IgG (Ziege), Fa. XXX
- Positive Kontrolle (Autoantikörper gegen Zellkerne, human) und negative Kontrolle (Autoantikörper-negativ, human), Fa. XXX
- Puffersalze für die Herstellung von PBS (1 Pck. für 1000 mL PBS), Tween 20 und Eindeckmedium (gebrauchsfertig), Fa. XXX
- Alle Reagenzien s. Artikel-Bestell-Liste XXX

4.2 Hilfsmaterialien

- Reagenzträger
- Waschküvetten
- Reagiergefäße (vom Typ Eppendorf)
- Kombitips
- Deckgläser (im Kit enthalten)

4.3 Geräte

- Kolbenhubpipetten
- Multipette
- Fluoreszenzmikroskop

5 Qualitätskontrolle

5.1 Testverfahren

- Genauigkeit der Verdünnungstechnik (korrekter Puffer, korrektes Volumen), Präzision der Ausrüstung und der Ausführung des Testverfahrens sind zu beachten (z.B. frische Verdünnungsansätze für Proben und Konjugat, korrektes Volumen und vollständige Benetzung der Auftragsstellen, keine Luftblasen, Einhaltung der Inkubationszeiten und Temperatur)
- Interne Qualitätskontrollen:
 - Autoantikörper-freies Kontrollserum für negativ Kontrolle
 - Positiv-Kontrolle (z.B. homogenes Muster) mit Titerangabe zur Überwachung der Reproduzierbarkeit in der Diagnostik. Bei jeder neuen Kontrollcharge wird mit einer

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr. ---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version ---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab: ---
		Seite: 4 von 15

Verdünnungsreihe der Endtiter ermittelt (siehe Packungsbeilage), titrierbare Kontrolle 1 x mal pro Monat prüfen

- Qualitätskontrolle mit Positiv-/Negativkontrollserum: Funktionskontrolle der Methode, Prüfung auf unspezifische Bindungen, Intensität der Positiv-Kontrolle, Überwachung von Schwankungen bei Chargenwechsel (IFT-Muster, Intensität der Reaktionen)
- Chargenkontrolle der HEp-2-Zellen bei jeder neuen Charge, z.B. ausreichend Zellen und Mitosen pro Gesichtsfeld
- Fluoreszenzmikroskop:
 - Verwendung eines modernen, geeigneten Mikroskops in einem abgedunkelten Raum
 - Verwendung korrekter Filter und Objektive
 - Korrekt gewartete Beleuchtungseinheit mit korrekter Ausrichtung des Lichtwegs im Mikroskop
- Mikroskopie der IFT-Präparate:
 - Objektiv mit 200-facher Vergrößerung zur Beurteilung, ob das Präparat als positiv oder negativ zu bewerten ist
 - Objektiv mit 400-facher Vergrößerung zur Beurteilung der IFT-Muster
 - Mikroskopisches Zellbild beurteilen, z.B. Zustand der kultivierten Zellen, ausreichend Zellen im Präparat und genügende Anzahl von Mitosen pro Gesichtsfeld vorhanden
- Qualifikation und Befähigung zur Fluoreszenzmikroskopie:
 - Grundausbildung in allgemeiner Mikroskopie und Fluoreszenzmikroskopie, angepasst an die Anforderungen des IFT-Arbeitsplatzes. Für die Tätigkeitsaufnahme am IFT-Arbeitsplatz ist die Familiarisierung mit den einzelnen Tätigkeiten erforderlich
 - Erweiterung der Kenntnisse durch Schulung in einem externen, spezialisierten Anwendungslabor (XXX)
 - Mitarbeitervergleich (jährlich durchzuführen) zur fortlaufenden Überprüfung der mikroskopischen Fähigkeiten am Arbeitsplatz anhand von Prüfpräparaten mit definierten IFT-Mustern; Vorgehensweise siehe Formblatt XXX. Referenzpräparate mit wechselnden Mustern werden von einem spezialisierten Labor bezogen (XXX)

5.2 Kontrollmaterial

- Die Negativ-Kontrolle ist gebrauchsfertig
- Die Positiv-Kontrolle wird bei Lieferung portioniert und bei -20°C aufbewahrt
- Arbeitstäglich wird ein Aliquot der Kontrolle aufgetaut, aus der eine frische Gebrauchsverdünnung mit PBS-Tween hergestellt wird

6 Durchführung des Tests

Vor der Testdurchführung müssen alle Reagenzien, Objektträger und Proben auf Raumtemperatur ($18-22^{\circ}\text{C}$) gebracht werden.

- Suchansatz: Serum 1:80 verdünnt
 - 10 μL Serum/Punktat plus 800 μL PBS-Tween (1 Päckchen Puffersalz auf 1000 mL Aqua dest. plus 2 mL Tween 20) werden in ein Reagiergefäß pipettiert
 - Bei positivem Suchansatz wird die Patientenprobe durch Verdünnungsansätze titriert
- Titration: Je nach Fluoreszenzstärke wird eine Anzahl (z.B. $n=5$) von Reagiergefäßen für die Titration vorbereitet
 - Zunächst jeweils 100 μL Puffer vorlegen, dann 100 μL aus dem Suchansatz in das erste Reagiergefäß überführen, mischen und weitere Verdünnungsstufen ansetzen

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr. ---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version ---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab: ---
		Seite: 5 von 15

7 Ergebniseingabe und Freigabe

7.1 Ergebnisse

Mikroskopische Ergebnisse werden patientenbezogen protokolliert (Datum, Signum), bei unklaren Befunden müssen die Präparate von einer 2. Person mikroskopiert/beurteilt werden. Anschliessend werden die protokollierten Ergebnisse patientenbezogen in die Labor-EDV eingegeben.

Die Beschreibung/Interpretation der mikroskopischen Ergebnisse erfolgt entweder mit Textbausteinen oder als „Freitext“ durch den Laborarzt. Alle vorgelegten Texte/Textbausteine sind variabel und können vom beurteilenden Laborarzt während der medizinischen Validation ergänzt/verändert werden, je nach Befundkonstellation und vorliegenden anamnestischen Angaben.

Protokollierung der mikroskopischen Ergebnisse und EDV-Eingabe:

- ANA negativ: In der Ergebnisspalte der Analyse „ANA-HEp-2-IFT“ wird „n“ (für **Zellkern negativ**) eingegeben. Die Ergebniseingabe „negativ“ erfolgt immer dann, wenn das Patientenserum keine spezifischen Zellkernreaktionen zeigt
- ANA positiv: In der ANA-Ergebnisspalte der Analyse „ANA-HEp-2-IFT“ wird „p“ (für **Zellkern positiv**) eingegeben. Bei dem Eintrag „positiv“ generiert die EDV automatisch weitere Kürzel für Analysen-/Ergebnis-eingaben
 - **ANAFM** (Nukleäres Muster) für die Eingabe des ANA-Zellkernmusters
 - **ANAT** (IFT-Titer) für die Eingabe des ANA-Zellkerntiters. Die letzte Reihenverdünnung, in der eine deutliche Reaktion sichtbar ist, wird als Ergebnis angegeben

Sollte ein zweites ANA-Zellkernmuster vorliegen, dann müssen die Ergebnisse von der bearbeitenden Person mittels weiterer Eingabekürzel erfasst werden, i.e.

 - **ANAFM2** (Nukleäres Muster 2) für die Eingabe eines zweiten ANA-Zellkernmusters
 - **ANAT2** (IFT-Titer 2) für die Eingabe des zweiten ANA-Zellkerntiters
- Zytoplasma- und Mitose-Muster: Unabhängig von den Zellkern-Mustern (i.e. positiv oder negativ) müssen positive Reaktionen im Zytoplasma und am Mitoseapparat protokolliert und in die EDV eingegeben werden (jeweils eigene EDV-Kürzel für Analyseingabe). Titerangaben sind optional.
- Beschreibung der IFT-Muster: Die Beschreibung der mikroskopischen IFT-Muster für den Laborbericht orientiert sich an einer international konsentierten Nomenklatur (s. Anlage 1)

Zur Beachtung: Die Ergebniseingaben in die Labor-EDV erfolgen *offline* und müssen zur Vermeidung von Übertragungsfehlern von einer 2. Person kontrolliert werden.

7.2 Befundfreigabe

Im Anschluss an die technische Validation werden die Befunde ärztlich geprüft und für den Befunddruck freigegeben (ärztliche Validation). Während des Validationsvorgangs können alle vorgelegten Texteingaben nach Rücksprache mit dem Arbeitsplatz ergänzt oder verändert werden.

- ANA-Hep-2-IFT: (a) Zellkern **positiv**, (b) Zytoplasma **positiv**, (c) Mitoseapparat **positiv**, mit jeweils ergebnisabhängigen Befundtexten
 - Kurzanleitung (Text-Ordner am IFT-Arbeitsplatz)
 - Ausführliche Anweisungen siehe Anlage 1
- Befundtexte: Die als Texte/Textbausteine in der Labor-EDV angelegten Texte/Kommentare sind ggf. an den jeweiligen Fall anzupassen, d.h. in Abhängigkeit von Vorbefunden, anamnestischen Angaben etc. (soweit verfügbar) werden die Texte überarbeitet

8 Referenzbereich

- Negativ (keine Reaktion bei Titer 1:80)
- Positiv, Titer 1:80 (Schwellenwert)
- Positiv, Titer \geq 1:80 (Bestimmung des Endtiters)

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version	---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab:	---
		Seite:	6 von 15

9 Grenzen des Verfahrens / mögliche Ursachen von Abweichungen

- Nicht belegt

10 Literatur

- Agmon-Levin N et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 73:17-23, 2014
- American College of Rheumatology. Position Statement. Methodology of testing for antinuclear antibodies. Approved by the Board of Directors: 08/2015
(www.rheumatology.org/Portals/0/Files/Methodology%20of%20Testing%20Antinuclear%20Antibodies%20Position%20Statement.pdf)
- Bradwell AR and Hughes RG. *Atlas of Hep2 patterns and laboratory techniques*, 3rd Edition. The Binding Site, Birmingham UK, 2007
- Chan EKL et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015. *Front Immunol* 6:412. doi 10.3389/fimmu. 2015.00412
- Coons AH et al. The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody. *J Immunol* 45:159-170, 1942
- Coons AH and Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J Exp Med* 91:1-13, 1950
- Friou GJ et al. Interaction of nuclei and globulin from lupus erythematosus serum demonstrated with fluorescent antibody. *J Immunol* 80:324-329, 1958
- Kuhlmann WD. Antikörper der ANA-Gruppe bei Kollagenosen (http://www.immunologie-labor.com/service_files/fach_kollagenose.pdf)
- Meroni PL and Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis* 69:1420-1422, 2010

11 Mitgeltende Unterlagen

- Kurzanleitung: Nachweis von Autoantikörpern gegen Zellbestandteile
- Kurzanleitung: ANA-Befundtexte von AC-1 bis AC-28
- A7 KA 079
- A7 KA 088

12 Anlagen

- Anlage 1: Nachweis von Autoantikörpern gegen Zellbestandteile
- Anlage 2: Beipackzettel ANA-IFT der Fa. XXX

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr. ---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version ---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab: ---
		Seite: 7 von 15

Anlage 1 zur Standardarbeitsanweisung ANA-Immunfluoreszenz

Nachweis von Autoantikörpern gegen Zellbestandteile

ANA und andere Antikörper mit der Immunfluoreszenz auf HEp-2-Zellen

Autoantikörper sind ein Kennzeichen für Autoimmunität, von denen die antinukleären Antikörper (ANA) seit Jahrzehnten eine zentrale Bedeutung für die Diagnostik autoimmuner Systemerkrankungen haben. Der historische Begriff ANA, basierend auf mikroskopischen Beobachtungen, ist zu eng gefasst. Mit Verfeinerung der Immunfluoreszenztechnik und dem proprietären Zellsubstrat (HEp-2-Zellen) wurden viele neue Antikörper detektiert, so dass mit dem Arbeitsbegriff „ANA“ sowohl Antikörper gegen Zellkernsubstanzen als auch Antikörper gegen weitere Zellstrukturen (z.B. zytoplasmatische Organellen, Zytosolsubstanzen, Membranstrukturen, Mitose-assoziierte Moleküle) beschrieben werden.

International besetzte Expertengruppen haben in den letzten beiden Jahren durch ihre initiative Tätigkeit Vorschläge zur Nomenklatur erarbeitet, die darüber hinaus auch Empfehlungen zu diagnostischen Methoden beinhalten. Die *European Autoimmunity Standardization Initiative* (EASI) und die *International Union of Immunological Societies/World Health Organization/Arthritis Foundation/Centers for Disease Control and Prevention* (IUS/WHO/AF/CDC) mit einem Komitee für die Standardisierung von Antikörpern in rheumatischen und verwandten Erkrankungen (<http://www.autoab.org>) haben dazu umfangreich publiziert. Zusätzlich haben Experten anlässlich der *12th International Workshops on Autoantibodies and Autoimmunity* (IWAA) in Sao Paulo (Brasilien) in einer speziellen Sitzung einen Konsens zur ANA-Musterbeurteilung mittels Immunfluoreszenz (unter Verwendung von HEp2-Zellen) verabschiedet. Der zusammenfassende Bericht zum *International Consensus on ANA staining Patterns* (ICAP) ist auf einer eigenen Webseite (www.ANAPatterns.org) abrufbar.

Die Konsensus-Empfehlungen gelten für die serologische Diagnostik als verbindlich:

- Internationale Empfehlungen für die Bestimmung von ANA (antinukleäre Antikörper) (AGMON-LEVIN N et al. 2014)
- Internationaler Konsens zur standardisierten Nomenklatur von antinukleären Antikörpermustern auf HEp-2-Zellen mit der indirekten Immunfluoreszenz (CHAN EKL et al. 2015)

Die Empfehlungen zur Methodik und Ergebnisbefundung werden nachfolgend zusammengefasst. Detaillierte Beschreibungen sind den jeweiligen Publikationen zu entnehmen ²

1. Empfehlungen zum Nachweis von Autoantikörpern (EASI)

Die EASI Forum hat in ihrer Stellungnahme insgesamt 25 Empfehlungen formuliert, die in vier Untergruppen eingeteilt wurden:

- 13 Empfehlungen für den ANA-Test (ANA-IFT)
- 5 Empfehlungen betreffen die Bestimmung von Anti-DNS Antikörpern

² AGMON-LEVIN N et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 73:17-23, 2014
 CHAN EKL et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015. *Front Immunol* 6:412. doi 10.3389/fimmu.2015.00412

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version	---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab:	---
		Seite:	8 von 15

- 5 Empfehlungen für die Bestimmung von spezifischen Antikörpern einschliesslich solchen gegen ENA
- 2 Empfehlungen bezüglich der Notwendigkeit, eigene Normwerte und Cut-Offs für den Nachweis von Anti-dsDNS und Anti-ENA Antikörpern zu ermitteln. Die EASI und IUIS Teammitglieder waren sich allerdings nicht einig über die Notwendigkeit dieser beiden zuletzt genannten Vorschläge.

Tabelle: Empfehlungen für den Nachweis von Autoantikörpern gegen Zellbestandteile (allgemein als ANA bezeichnet) im Überblick, EASI Empfehlungen für den ANA-IFT in **roter** Schriftfarbe

Nr.	Empfehlungen (EASI, IUIS)	Anmerkung
1	<u>Klinik</u> : Die Diagnostik SARD (systemische autoimmun-rheumatische Erkrankungen) erfordert ein Panel von Labortests	[Einsender]
2	<u>Klinik</u> : Die diagnostische Aufarbeitung einer SARD schliessen ANA-, Anti-ENA und Anti-dsDNS Untersuchungen ein	[Einsender]
3	<u>Klinik</u> : Der ANA-Nachweis ist die erste Stufe der labordiagnostischen Testung auf eine SARD	[Einsender]
4	<u>Klinik</u> : Der ANA-Nachweis ist primär für diagnostische Zwecke vorgesehen und nicht für das Krankheits-Monitoring	[Einsender]
5	Indirekter IFT: Referenzmethode für ANA-Screening, bei Verwendung von alternativen Assays ist zu bedenken, dass falsch negative und falsch positive Raten bei den Methoden in unterschiedlicher Weise auftreten können	Referenzmethode: ANA-IFT, HEp-2-Zelle
6	Methode des ANA-Nachweises: Im Ergebnisbericht sollen die Methoden für den ANA-Nachweis mitgeteilt werden	Methode auf dem Befund angeben
7	Testverfahren mit bestimmten Antigenmischungen: Testverfahren, bei denen nur eine (bestimmte) Mischung von definierten Antigenen verwendet wird, sollen nicht als ANA-Test oder ANA-Screen bezeichnet werden	Methoden wie ELISA etc. sollen nicht als ANA-Screen bezeichnet werden
8	In-house-Assays: Jeder <i>In-house Assay</i> muss nach internationalen Standards (WHO, CDC) standardisiert werden	<i>In-house-Assays</i> : Standardisierung erforderlich
9	ANA Screening mit IFT: Das Konjugat muss ein Fluorochrom markierter Anti-Human IgG spezifischer Sekundäntikörper sein	FITC-Konjugat: Anti-Human IgG spezifisch
10	ANA-Titer: Eine Screening-Verdünnung von 1:160 (auf HEp-2-Zellen) ist in der Regel für den ANA-Nachweis bei Erwachsenen mit Verdacht auf SARD geeignet	Referenzwert
11	Positives ANA-Ergebnis: Im Ergebnisbericht sollen das ANA-Muster und die höchste Verdünnungsstufe angegeben werden	IFT-Muster und Titer mitteilen
12	ANA-Muster: Standardisierte Terminologie verwenden	s.u.
13	HEp-2-Zellmuster: Abgesehen vom Zellkern-Muster sollten auch zytoplasmatische und mitotische Muster berichtet werden	s.u.
14	<u>Klinik</u> : Bei klinischem Verdacht auf SLE und dem Vorliegen eines positiven ANA-Ergebnisses wird der Nachweis von Anti-dsDNS empfohlen	Empfehlung an den Einsender (Befundtext)
15	Anti-dsDNS Antikörper: Farr Assay und Crithidien-IFT bieten eine hohe klinische Spezifität. Alternative Methoden weisen i.d.R. eine niedrigere Spezifität auf, so dass positive Ergebnisse immer mit dem Crithidien-IFT oder dem Farr Assay bestätigt werden sollten (separater Befundbericht). Im Rahmen der serologischen Diagnostik bieten CLIFT und Farr Assay die beste Spezifität	Bestätigung von positiven ELISA Ergebnissen z.B. mit Farr-RIA oder CLIFT

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version	---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab:	---
		Seite:	9 von 15

16	Anti-dsDNS Nachweis: Die Methode sollte im Ergebnisbericht angegeben werden	s. Punkt 6
17	Anti-dsDNS Nachweis: Die Ergebnisse sollten quantitativ berichtet werden (semiquantitativ für den Critihidien-IFT)	Ergebnisse quant. oder semiquant.
18	<u>Klinik</u> : Beim Monitoring der SLE Krankheitsaktivität durch quantitative Messung von Anti-dsDNS Antikörpern sollte immer die gleiche Methode verwendet werden (Methode des Ausgangsbefundes bzw. der vorausgegangenen Diagnostik beachten)	Klinik: Methoden beachten (ELISA, Farr etc.)
19	Konsequenz eines positiven ANA-Befundes: Im Falle eines positiven ANA-Ergebnisses sollten für die diagnostische Aufarbeitung (abhängig von Muster, Titer und/oder klinischer Gegebenheiten) antigen-spezifische Tests für den Nachweis von Anti-ENA Antikörpern zur Anwendung kommen	Empfehlung an den Einsender
20	Anti-ENA Antikörper: Nachweismethode sollte im Ergebnisbericht angegeben werden. Im Fall einer Diskrepanz zum ANA-IFT (oder dem klinischen Verdacht) sollte der Einsatz einer zusätzlichen/ergänzenden Methode erwogen/empfohlen werden	Empfehlung an Einsender
21	Spezifische ENA-Entitäten: Untersuchungsergebnisse sind einzeln zu berichten (auch negative Ergebnisse). Wenn das Ergebnis eines ENA-Screens als <u>negativ</u> berichtet wird, dann ist es ausreichend mitzuteilen, welche ENA-Antigene mit dem Assay erfasst werden	Mitteilung von Methoden
22	Anti-RNP: Bei klinischem Verdacht auf eine MCTD sind positive Antikörperbefunde quantitativ zu berichten	Pos. Ergebnisse quantitativ berichten
23	<u>Klinik</u>: Unabhängig vom Ergebnis des ANA-IFT sollte bei entsprechendem klinischen Verdacht die Bestimmung von Antikörpern gegen spezifische ENA-Antigene angefordert werden, z.B. Anti-Jo bei IM, Anti-rib. P bei SLA oder Anti-SS-A/Ro bei kongenitalem Herzblock/neonatalem Lupus, Sjögren-Syndrom, subakutem Lupus	Beachte: Antikörper gegen Jo-1, ribos. P oder SS-A/Ro können bei negativem ANA-IFT vorliegen
24	<u>Keine Einigung über die Notwendigkeit des Vorschlags</u> : Jedes Labor sollte die empfohlenen Cut-Offs der Hersteller für den ANA-Test verifizieren (unter Verwendung von Sera gesunder Personen, Klassifizierung nach Alter und Geschlecht, Cut-Offs definiert als 95. Perzentile)	Optional, nicht zwingend
25	<u>Keine Einigung über die Notwendigkeit des Vorschlags</u> : Jedes Labor sollte die empfohlenen Cut-Offs der Hersteller für den Nachweis von Anti-dsDNS und Anti-ENA Antikörpern verifizieren (unter Verwendung von Patientenproben mit entsprechenden Autoimmunerkrankungen und gesunden Probanden, Cut-Offs definiert durch ROC-Kurven Analysen)	Optional, nicht zwingend

2. HEp-2-Zellmuster und standardisierte ICAP Nomenklatur

Die neue Nomenklatur der ICAP (*International Consensus on Antinuclear Antibody Pattern*) segregiert HEp-2-IFT-Muster in drei Hauptgruppen. Die Immunfluoreszenzmuster (IFT-Muster) wurden definiert und kodiert:

- Nukleäre Muster (AC-1 bis AC-14)
- Zytoplasmatische Muster (AC-15 bis AC-23)
- Mitotische Muster (AC-24 bis AC-28)

Die Systematik umfasst insgesamt 28 IFT-Muster mit der Kodierung von **AC-1** bis **AC-28**. Der Nomenklatur- und Klassifikationsbaum ist nachfolgend abgebildet (Quelle: www.ANAPatterns.org) und als farbige Boxen dargestellt.

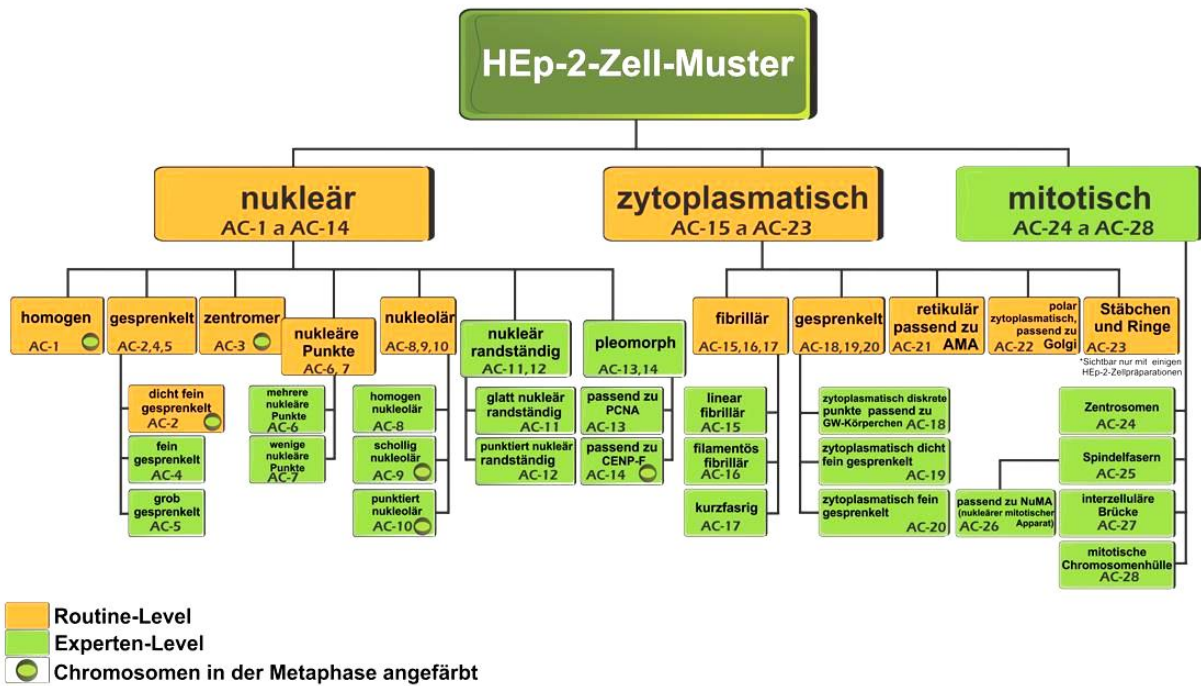
Die Boxen mit **amberfarbigem** Hintergrund müssen von **jedem Untersucher** beachtet werden, d.h. beim diagnostischen Procedere müssen die jeweiligen IFT-Muster erkannt, in geeigneter Form protokolliert und in den Untersuchungsbericht übertragen werden. Die Boxen mit **oliv-grünem** Hintergrund sind dagegen dem **Experten-**

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr. ---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version ---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab: ---
		Seite: 10 von 15

Level vorbehalten und für die Routine nicht verpflichtend (z.B. optionale Berichterstattung je nach Qualifikation des Labors).

Antikörpermuster auf HEp-2-Zellen

International Consensus on ANA Patterns (ICAP)




CHAN EKL et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear HEp-2 cell patterns 2014-2015, *Front Immunol* 6:412 doi 10.3389/fimmu.2015.00412

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	---
	ANA-Immunfluoreszenz	Version	---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper	Gültig ab:	---
		Seite:	11 von 15

3. Bearbeitungshinweise für den Immunfluoreszenz-Arbeitsplatz

Der Begriff „Code“ steht für die Zellmuster AC-1 bis AC-28, entsprechend der Nomenklatur der internationalen Konsensus-Konferenz ICAP (CHAN EKL et al. 2015). Beispiele für die Umsetzung der dieser Empfehlungen in eine Labor-EDV sind nachfolgend abgebildet.

Code	Muster	Synonym	Beschreibung	Labor-EDV ³ (Vorgaben und Befundbeispiele)		Bewertung Texte, TBS
AC-1 bis AC-14	Zellkern 	s.u.	s.u.	Untersuchung (= Analyse) ANA-IFT (HEp-2-Zellen)	Ergebnis (Messwerteingabe) Zellkern negativ / positiv	ANAHO ANA16 kein TBS bei Titer ≥1:320 ANANH <u>kein</u> TBS (alle Titer)
			Zellkern-Muster (1)	nukleär homogen		
			IFT-Titer (1)	1:80, 1:160 etc. immer Angabe des Endtiters		
			Zellkern-Muster (2)	nukleolär homogen		
			IFT-Titer (2)	1:80, 1:160 etc. immer Angabe des Endtiters		

4. Anforderungen an eine kompetente Befundung

Tabelle nukleärer und nukleolärer IFT-Muster (AC-1 bis AC-14)

Code	Muster	Synonym	Beschreibung	EDV-Eingabe der Ergebnisse ⁴ a) IFT-Zellkern und b) TBS	Assoz. Antigene ⁵	Bemerkung
AC-1	Nukleär homogen	Diffus	Nukleoplasma gleichmässig homogen abgefärbt. In mitotischen Zellen wird das Chromosomenmaterial intensiv hyalin angefärbt	a) nukleär homogen b) ANAHO ab Titer ≥ 1:160	dsDNS, ssDNS, Histone, Nukleosomen	SLE
AC-2	Nukleär dicht fein gesprenkelt	Dense fine speckled (DFS)	Granuläre Heterogenität des Nukleoplasmas (bzgl. Grösse, Helligkeit und Verteilung der Granula) im Interphasekern. Das kondensierte Chromosomen- material mitotischer Zellen wird in ähnlicher Weise	a) nukleär gesprenkelt (DFS) b) ANAFc ab Titer ≥ 1:160	DFS70 (LEDGF-P75)	i.d.R. keine system. Autoimmunerkrank.

³ Labor-EDV: Eingabe-Felder für
a) Zellkernmuster (1) **nukleär homogen** und Textbaustein (TBS **ANAHO**)
b) IFT-Titer (1) 1:80 und 1:160 mit Textbaustein (TBS **ANA16**)
c) Zellkernmuster (2) **nukleolär homogen** und Textbaustein (TBS **ANANH**)
d) AFT-Titer (2) 1:80, 1:160 und höher keine Textbausteine
e) Zytoplasma- und Mitose-Muster werden ähnlich befundet

⁴ Befunderfassung: a) IFT-Muster: Textfarbe **schwarz/gelb** und Ergänzung in **schwarz/cyan** (als wichtige Ergänzung)
b) Textbausteine (TBS) in **magenta** Schriftfarbe (Beschreibung, Interpretation)

⁵ Antigenassoziation: Beispiele, keine vollständige Aufzählung

Labor	Standard-Arbeitsanweisung		Dok.-Nr. ---
	ANA-Immunfluoreszenz		Version ---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper		Gültig ab: ---
			Seite: 12 von 15

			gefärbt wie das Nukleoplasma der Interphasekerne			
AC-3	Zentromer	Kinetochor	Diskrete grobe Granula (40-80) verteilt im Kern der Interphasezellen und ausgerichtet in der Region kondensierten Chromatins von mitotischen Zellen	a) Zentromer b) ANAZ ab Titer \geq 1:80	CENP-A, CENP-B, CENP-C CENP-D [CENP-C und F]	Sklerodermie, CREST-Syndrom (insbes. CENP-B)
AC-4	Nukleär fein gesprenkelt	Fein granulär	Feine kleine Granula verteilt im gesamten Nukleoplasma; Nukleolen können angefärbt sein oder nicht. Keine Anfärbung des kondensierten Chromosomenmaterials mitotischer Zellen. <u>Muster Anti-Ku</u> : Auf Primatenleber typische schollig-fleckige Fluoreszenz der Zellkerne	a) nukleär fein gesprenkelt b) ANAFG ab Titer \geq 1:320	SS-A/Ro, SS-B/La, Topo-1 / Scl-70 Mi-2, Ku, viele andere Ag	Sjögren-Syndrom, SLE, SCLE, Sklerodermie, syst. Sklerose, Poly-/Dermato- myositis
AC-5	Nukleär grob gesprenkelt	Spleißosom, nukleäre Matrix	Grobe Granula im gesamten Nukleoplasma; Nukleolen können angefärbt sein oder nicht. Keine Anfärbung des kondens. Chromosomenmaterials mitotischer Zellen (Meta-, Ana-, Telophase)	a) nukleär grob gesprenkelt b) ANAGG ab Titer \geq 1:320	U ₁ -snRNP, hnRNP, U _{2,6} -snRNP/Sm, nuclear matrix, RNA Polym. III	MCTD, SLE, Sklerodermie
AC-6	Mehrere nukleäre Punkte (6-20 Punkte)	Multiple nuclear dots (6-20 nuclear dots), PML bodies	Zählbare, deutlich angefärbte mittelgrosse Granula (6-20 nukleäre Punkte pro Interphase-Zelle)	a) multiple nukleäre dots b) ANAD ab Titer \geq 1:160	Sp100, PML Proteine	PBC, andere systemische Autoimmunkrank.
AC-7	Wenige nukleäre Punkte	Few nuclear dots (1-6 nuclear dots), coiled bodies	Zählbare, deutlich angefärbte nukleäre Granula (1-6 Punkte pro Zelle), bekannt als Cajal Körperchen	a) wenige nukleäre dots b) ANAFD ab Titer \geq 1:320	p80-Coilin	Asymptomatisch Gesunde, selten bei Sjögren-Syndrom, SLE, syst. Sklerose
AC-8	Homogen nukleolär	Homogenous nucleolar	Homogene, diffuse Fluoreszenz der Nukleolen mit etwas schwächerer, diffuser Färbung des Nukleoplasmas. Zytoplasma der Interphasezellen ist dunkel, Zytoplasma mitot. Zellen (Metaphase) zeigt Tendenz zu diffuser Anfärbung. Chromosomen der Meta-Phase sind negativ.	a) nukleolär homogen b) ANANH ab Titer \geq 1:320	PM-Scl-75 (68-80 kDa Prot.), PM-Scl-100 (100 kDa Prot.), Th/To	Poly-/Dermatomyo., Sklerodermie, Myositis, Myositis/ Sklerodermie Overlap, syst. Sklerose
AC-9	Schollig nukleolär	Clumpy nucleolar	Unregelmässige Anfärbung der Nukleolen und der Cajal Körperchen mit einer perichromosomalen Anfärbung in mitotischen Zellen	a) nukleolär schollig b) ANANG ab Titer \geq 1:320	U3-snoRNP (Fibrillarin)	Sklerodermie, syst. Sklerose
AC-10	Punktiert nukleolär	Gesprenkelt nukleolär, Nucleolar speckled	Dicht verteilte, körnig erkennbare Anfärbung der Nukleolen in Interphasezellen. In Metaphasezellen können bis zu 5 Paar helle Punkte der NOR Region innerhalb des kondensierten Chromosomenmaterials zu sehen sein. Das Zytoplasma mitotischer Zellen kann leicht positiv sein	a) nukleolär punktiert b) ANANGI ab Titer \geq 1:320	RNA Polymer. I, hUBF/NOR-90	Sklerodermie, auch SLE und Overlap
AC-11	Glatt nukleär randständig	Nuclear membrane	Homogene Anfärbung des Zellkerns mit grösserer Intensität nahe der Kernmembran. Keine Anfärbung des kondensierten Chromosomenmaterials in	a) nukleär randständig glatt b) ANAKERN ab Titer \geq 1:160	Lamine A, B, C, Lamin-ass. Prot.	Keine eindeutige klinische Relevanz

Labor	Standard-Arbeitsanweisung		Dok.-Nr. ---
	ANA-Immunfluoreszenz		Version ---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper		Gültig ab: ---
			Seite: 13 von 15

			Meta- und Anaphasezellen			
AC-12	Punktiert nukleär	Kernmembran, punktiert	Granuläre (punktierte) Anfärbung der Kernmembran in Interphasezellen. Keine Anfärbung des kondensierten Chromosomenmaterials in Meta- und Anaphasezellen	a) nukleär randständig punktiert b) ANAKERN.... ab Titer \geq 1:160	Nuclear pore complex Proteine (gp210)	PBC
AC-13	Pleomorph, passend zu PCNA	Zellzyklus-abhängig, PCNA-Muster	Pleomorph granuläre Anfärbung des Nukleoplasmas mit Variabilität in Grösse und Helligkeit der einzelnen Granula. In der Interphase sind einige Zellen negativ (G1-Phase), einige sind intensiv gefärbt (S-Phase) und einige zeigen wenige verstreute Granula mit gelegentlicher nukleolärer Anfärbung (späte S und frühe G2 Phasen). Mitotische Zellen werden nicht angefärbt (sehr seltenes Muster)	a) nukleär pleomorph PCNA b) ANACYC ab Titer \geq 1:160	PCNA (Elongationsfaktor der DNS-Polymerase delta)	SLE, Sjögren-Syndrom, lymphoprolif. Erkrankungen
AC-14	Pleomorph, passend zu CENP-F	CENP-F-Muster, MSA-3, NSp-II	Granuläres Muster mit auffallenden Intensitätsunterschieden innerhalb der Interphasekerne (stärkste Anfärbung in G2-Phase, schwächste bis negative Färbung in der G1-Phase). Die Zentromere sind nur in Pro- und Metaphase positiv mit aneinander gereihten kleinen und matten Punkten. Gelegentlich während der Ana- und Telophase eine intensive Anfärbung im Bereich der ringförmigen Trennzone. Das umgebende Zytoplasma mitotischer Zellen ist diffus gefärbt	a) nukleär pleomorph CENP-F b) ANAZI ab Titer \geq 1:320	CENP-F	<u>Achtung:</u> Bei hochtitrigen CENP-F-Antikörpern kann eine maligne Erkrankung vorliegen

Tabelle zytoplasmatischer IFT-Muster (AC-15 bis AC-23)

Code	Muster	Synonym	Beschreibung	EDV-Eingabe der Ergebnisse a) IFT-Zytoplasma und b) TBS	Assoz. Antigene	Bemerkung
AC-15	Zytoplasma, linear fibrillär	Actine-like	Aktinfasern (Zytoskelett), entlang der Längsachse der Zelle	a) zytoplasmatisch fibrillär linear b) ANB04	Aktin, non-muscle myosin	Chron. autoimmune Hepatitis, Dermatomyositis, entzündl. Erkrankungen
AC-16	Zytoplasma, filamentös, Mikrotubuli	Zytoplasmatisch, filamentöse Fibrillen	Mikrotubuli und Intermediär-filamente, ausgehend von der Kernmembran. Vimentin, Zytokeratine	a) zytoplasmatisch fibrillär filamentös b) ANB05	Vimentin, Zytokeratine	Chron. autoimmune Hepatitis, Dermatomyositis, entzündl. Erkrankungen
AC-17	Zytoplasma, kurzfaserig segmental	-	Vinculin, Tropomyosin	a) zytoplasmatisch fibrillär kurzfaserig b) ANB06	Vinculin, Tropomyosin, Alpha-Aktinin	Chron. autoimmune Hepatitis, Dermatomyositis, entzündl. Erkrankungen

Labor	Standard-Arbeitsanweisung		Dok.-Nr. ---
	ANA-Immunfluoreszenz		Version ---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper		Gültig ab: ---
			Seite: 14 von 15

AC-18	Zytoplasma, diskrete Punkte, GW Körperchen	Lysosomal, (GWB, P-body, processing body)	Punkte in auffallend unterschiedlicher Grösse in Interphasezellen mit hoher Anzahl in späten S/G2 Zellen	a) zytoplasmatisch gesprenkelt diskrete Punkte (passend zu GW) b) ANB07	Endosom, Lysosom, GW body/GW182	u.a. auch bei Autoimmunerkrankungen
AC-19	Zytoplasma, dicht fein gesprenkelt	Homogen (dense fine speckled)	Wolkig, fast homogen im gesamten Zytoplasma. Ribosomale P-Proteine, PL-7, PL-12	a) zytoplasmatisch gesprenkelt dicht und fein b) ANB01	PL-7, PL-12, andere tRNA-Synth., SRP, ribos. P-Proteine	SLE, entzündliche Myopathien
AC-20	Zytoplasma, fein gesprenkelt	Gesprenkelt (speckled)	Im Zytoplasma verteilte kleine Granula in leicht variabler Grösse (diffus, fein), meist mit homogenem oder dicht fein granulärem Hintergrund. Jo-1	a) zytoplasmatisch gesprenkelt fein b) ANB02	Jo-1 (Histidyl-tRNA-Synthetase), Ro-52	Idiopath./auto-immune Myositiden
AC-21	Zytoplasma, retikulär (AMA)	Grob granulär, mitochondrial	Grobgranuläre perlschnurartige Anfärbung im gesamten Zytoplasma. AMA-M2, andere mitochondriale Antigene/Enzyme	a) zytoplasmatisch retikulär (passend zu AMA) b) ANB03	AMA-M2, M2-3E (BPO, i.e. E2-Untereinheiten: BCOADH, PDH, OGDH)	PBC
AC-22	Zytoplasma, polar (Golgi-like)	Golgi-Muster	Gesprenkelte oder granuläre perinukleäre bandförmige Anfärbung mit polarer Verteilung im Zyoplasma. Makrogolgin, Golgin-Proteine	a) zytoplasmatisch polar (passend zu Golgi) b) ANB09	Makrogolgin, Golgin-95 u.a. Golgin-Proteine	u.a. auch bei Autoimmunerkrankungen
AC-23	Zytoplasma, Stäbchen und Ringe	RR-Muster (rods and rings)	Komma- und ringförmige Strukturen im Zytoplasma von Interphasezellen. Inosin-Monophosphat-Dehydrogenase	a) zytoplasmatisch Stäbchen (Stäbchen und Ringe) b) Freitext: Komma- und ringförmige Strukturen (rods and rings) im Zytoplasma von Interphasezellen. Kein eindeutiger Krankheitsbezug. Das IFT-Muster kann insbes. bei HCV-pos. Patienten unter Therapie mit α -Interferon und Ribavirin.	IMPDH2	Krankheitsbezug (?) <u>Hinweis:</u> positiv bei HCV-pos. Patienten unter Therapie mit α -Interferon und Ribavirin.

Tabelle mitotischer IFT-Muster (AC-24 bis AC-28)

Code	Muster	Synonym	Beschreibung	EDV-Eingabe der Ergebnisse a) IFT-Mitose und b) TBS	Assoz. Antigene	Bemerkung
AC-24	Zentrosome	Zentriolen	1-2 Zentriolen (Zytoplasma) und an den Polen des mitotischen Spindelapparates	a) Zentrosomen b) ANB11	Pericentrin, Cep250, Cep110, Enolase	Selten bei system. Autoimmunerkrank., entzdl. Erkrank., diagnostische Bedeutung fraglich
AC-25	Spindelfasern	MSA-2	Spindelfasern zwischen den Polen gemeinsam mit einer konus-förmigen Struktur der mitotischen Pole gefärbt.	a) Spindelfasern b) ANB10	HsEg5	Selten bei system. Autoimmunerkrank., keine diagnostische Bedeutung (Malig-

Labor	Standard-Arbeitsanweisung		Dok.-Nr. ---
	ANA-Immunfluoreszenz		Version ---
	Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper		Gültig ab: ---
			Seite: 15 von 15

			Spindelfasern werden auch bei NuMA Mustern angefärbt (AC-26)			nome frgl.)
AC-26	Nukleärer mitot. Apparat (NuMA-like)	MSA-1, Centrophilin	Fein granuläre Färbung des Nukleoplasmas der Interphase-Zellen mit Färbung der Spindelfasern in mitotischen Zellen	a) mitotischer Apparat passend zu NuMA b) <u>Freitext</u> : Kein gesicherter Krankheitsbezug, Vorkommen z.B. bei Infektionen, selten bei Autoimmunerkrank.	NuMA (Centrophilin)	Selten bei system. Autoimmunerkrank., andere Erkrankungen, diagnostische Bedeutung fraglich
AC-27	Midbody Interzelluläre Brücke	Midbody, stern body	Färbung der Interzellulärbrücke, die die Tochterzellen am Ende der Zellteilung (aber vor deren Trennung) verbindet	a) Midbody interzelluläre Brücke b) <u>Freitext</u> : Kein gesicherter Krankheitsbezug, Vorkommen z.B. bei Infektionen, selten bei Autoimmunerkrank.	MSA-2, Aurora Kinase B CENP-E	Selten bei system. Autoimmunerkrank., keine diagnostische Bedeutung
AC-28	Mitotische Chromosomenhülle	MCA (mitotic chromosome autoantigen)	Fein punktierte perichromosomale Anfärbung in der Pro- und Metaphase, ohne Färbung der Interphasekerne	a) mitotische Chromosomenhülle b) <u>Freitext</u> : Kein gesicherter Krankheitsbezug, Vorkommen z.B. bei Infektionen, selten bei Autoimmunerkrank.	MCA-1, modified histone H3	Selten bei system. Autoimmunerkrank., diagnostische Bedeutung fraglich