

Antikörper der ANA-Gruppe bei Kollagenosen*

WOLF D. KUHLMANN

Radioonkologie, Klinische Kooperationseinheit Strahlentherapie DKFZ Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg

Laboratory Diagnostics & Cell Science, 56112 Lahnstein

Kollagenosen, systemische Autoimmunerkrankungen

Rheumatische Erkrankungen lassen sich in *entzündliche, degenerative, extraartikuläre* und *pararheumatische* Erkrankungen eingeteilt. Die Kollagenosen gehören zu den entzündlichen Erkrankungsformen. Der Begriff Kollagenose geht auf Arbeiten von P. KLEMPERER et al. zurück, die schon in den 40er-Jahren des letzten Jahrhunderts eine Beteiligung des gesamten Bindegewebes beim disseminierten Lupus erythematoses (SLE) beschrieben haben (Arch Path 1941, 32:569-631; JAMA 1942, 119:331-332). Die pathophysiologische Entwicklung des SLE führt über eine chronische und diffuse Bindegewebserkrankung zur Destruktion des Kollagengerüsts, fibrinoider Nekrose und Verquellung der Grundsubstanz. Aus diesen Beobachtungen resultiert die Bezeichnung „Kollagenose“. Das pathomorphologische Korrelat im entzündeten Gewebe ist allen autoimmunen Systemerkrankungen gemeinsam. Neben dem SLE werden noch andere, klinisch definierte Autoimmunerkrankungen zu den Kollagenosen gezählt.

Kollagenosen zeichnen sich durch zahlreiche Autoimmunphänomene mit klinischen und serologischen Überlappungen aus. Typisch sind variabler Krankheitsverlauf und Multiorganbefall; Gelenkbeteiligungen treten eher in den Hintergrund. Kollagenosen werden auch als systemische nicht-organbezogene Autoimmunerkrankungen und als Multisystemerkrankungen bezeichnet. In der erweiterten Nomenklatur werden sie unter dem Begriff *systemische Autoimmunerkrankungen* geführt.

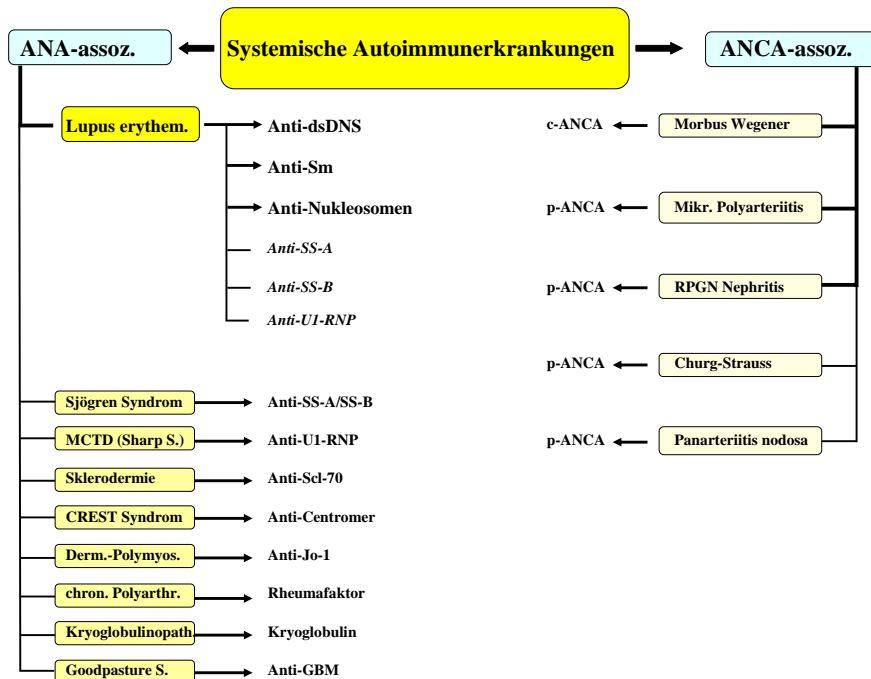
Kollagenosen: Beispiele für klinische Entitäten

- **Lupus erythematoses (LE)**
 - subakuter kutaner LE
 - neonatale Lupus-Syndrome (NLE, CHB)
 - Medikamenten-induzierter LE
 - sekundäres Sjögren-Syndrom
 - sekundäres Anti-Phospholipid-Syndrom
- **Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom)**
- **Sjögren-Syndrom (primäres)**
- **Systemische Sklerose (diffuse Form), Sklerodermie**
 - Sklerodermie (limitierte Form, CREST-Syndrom)
 - systemische Sklerose sine scleroderma
- **Polymyositis, Dermatomyositis**
 - idiopathische Formen
 - sekundäre Formen
 - zirkumskripte Sklerodermie
- **Polymyositis/Sklerodermie Überlappungs-Syndrom**

* Aus der Vorlesungsreihe Immunologie und Immunhistochemie (Universität Heidelberg, DKFZ Heidelberg), auszugsweise auch vorgetragen im Qualitätszirkel des MVZ für Laboratoriumsmedizin (Labor Koblenz).

In der Nomenklatur der systemischen Autoimmunerkrankungen werden viele Bezeichnungen verwendet, von denen die Einteilung nach bestimmten Autoantikörpergruppen geläufig ist. In der klinischen Immunologie werden z.B. die systemischen Autoimmunerkrankungen häufig den ANA assoziierten und den ANCA assoziierten Erkrankungen zugeordnet.

Einteilung nach den Auto-Antikörpern



Zur Gruppe der ANA assoziierten Systemerkrankungen gehören Entitäten wie der Lupus erythematoses, das Sjögren-Syndrom, die Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom) die Sklerodermie u.a. Autoimmunerkrankungen. Zur Gruppe der ANCA assoziierten Erkrankungen gehören vornehmlich die verschiedenen vaskulitischen Krankheitsbilder wie der Morbus Wegener, die mikroskopische Polyarteriitis, die RPGN Nephritis, die Panarteriitis nodosa u.a. Vaskulitiden.

Wann an eine Kollagenose denken ?

- **Differentialdiagnostisch immer an Kollagenose denken**
 - Beachtung der ACR Kriterien (für eine Frühdiagnose oft nicht geeignet)
 - bei allen Allgemeinsymptomen wie Leistungsminderung, Erschöpfung, Fieber, Gewichtsverlust, Anorexie oder Hautmanifestationen
- **Bei unklaren und länger dauernden Erkrankungen**
 - in Begleitung von Vaskulitiden,
 - bei Phospholipidsyndromen
 - bei Arthralgien, Arthritis, Myalgien
- **Bei bestimmten Laborbefunden im Rahmen der Routine**
 - pathologische Gerinnungstests (sekundäres APS)
 - Zytopenien, polyklonale Gammopathie, Kryoglobulinämie
 - falsch positiver VDRL-Test (mind. 6 Monate)

Das klinische Bild wird von der Art der Organbeteiligung bestimmt, die frühzeitige Diagnosestellung ist aber oft ein aktuelles Problem

Der Lupus erythematodes ist nur eine unter den vielen Autoimmunerkrankungen, aber er gilt als Paradebeispiel für eine Multisystemerkrankung. Für die Diagnose „SLE“ wurden international gültige Kriterien erarbeitet, die hier skizziert werden.

Klassifikationskriterien des <i>American College of Rheumatology</i> (ACR) für den Lupus erythematodes. Bei Vorliegen von 4 der 11 Kriterien liegt ein SLE vor		
1.	Schmetterlings-Erythem:	Flach oder erhaben im Gesicht über Nase und Wangen, aber auch an anderen Hautarealen (insbes. nach Sonnenexposition).
2.	Discoides Exanthem:	Erythematös, erhaben mit keratotischen Anteilen und Follikelbildung; atrophische Narben in älteren Läsionen. <u>Sonderformen:</u> Subakuter kutaner Lupus erythematodes. <u>Andere kutane Manifestationen:</u> Panniculitis; Alopecia areata oder diffusa; Purpura (vaskulitisch, thrombozytopenisch).
3.	Photosensibilität:	Hautrötungen als ungewöhnliche Reaktion auf Sonnenexposition.
4.	Orale Ulcera:	Orale und nasopharyngeale Ulcera, gewöhnlich schmerzlos.
5.	Arthritis:	Nicht erosive Arthritis an zwei oder mehr Gelenken (Schmerzen, Schwellungen, Ergüsse).
6.	Serositis:	<u>Pleuritis:</u> Pleurareiben, Pleuraerguß <i>oder</i> <u>Perikarditis:</u> Perikardreiben, Perikarderguß, EKG-Veränderung.
7.	Nephritis:	<u>Persistierende Proteinurie:</u> >0,5 g/d <i>oder</i> <u>Zylindurie:</u> zelluläre Zylinder <i>oder</i> <u>Erythrozyturie</u> (nephritisches Urinsediment). <i>Cave:</i> Nephritis subklinisch bis aggressiv (Lupus-Nephritis), Glomerulonephritis assoziiert mit Anti-dsDNA Antikörpern.
8.	ZNS-Beteiligung:	Störungen des ZNS, die nicht durch Medikamente oder metabolisch bedingt sind, i.e. <u>Anfallsleiden</u> <i>oder</i> <u>Psychosen.</u> Differentialdiagnostische Abklärung: Infektionen; zerebrale Insulte; Enzephalopathien; medikamentöse Ursachen.
9.	Hämatologische Symptome:	<u>Hämolytische Anämie</u> <i>oder</i> <u>Leukozytopenie:</u> <4 x 10 ⁹ /l, zwei- oder mehrmalig <i>oder</i> <u>Lymphozytopenie:</u> <1,5 x 10 ⁹ /l, zwei- oder mehrmalig <i>oder</i> <u>Thrombozytopenie:</u> <100 x 10 ⁹ /l. Differentialdiagnostische Abklärung: Medikamenten bedingte Ursachen.
10.	Immunologische Befunde:	<u>Anti-ds DNA Antikörper</u> <i>oder</i> <u>Anti-Sm Antikörper</u> <i>oder</i> <u>Falsch positive Lues-Reaktionen</u> (durch Anti-Phospholipid oder Anti-Cardiolipin Antikörper), mind. 6 Monate persistierend. Hinweis: Nachweis von Anti-Phospholipid Antikörpern (einschließlich Anti-Cardiolipin Antikörpern und positivem Lupus Antikoagulans) häufig bei Autoimmunerkrankungen als sog. sekundäres Anti-Phospholipid-Syndrom (APS), auch bei negativen Lues-Reaktionen (Cardiolipin-, VDRL-Test).
11.	Antinukleäre Antikörper:	Antinukleäre Antikörper (ANA): pathologisch erhöhte ANA-Titer werden bei über 95% der Patienten, auch schon im präklinischen Stadium, gefunden. Differentialdiagnostische Abklärung: Medikamenten bedingte Ursachen eines erhöhten ANA-Titers. Bei positivem ANA-Test gibt die serologische Differenzierung der Antikörperspezifität wertvolle Hinweise auf krankheitsassoziierte Marker.

Die systemischen Autoimmunerkrankungen werden in der Regel über serologische Untersuchungsverfahren eingegrenzt, für die eine Reihe von definierten Antigen-Antikörper-Systemen zur Verfügung steht. So ist beispielsweise für den systemischen Lupus erythematodes die Bestimmung von Antikörpern gegen **dsDNA** ein besonders wichtiger Marker. Auch für andere Kollagenosen gibt es geeignete Biomarker.

Antigene der ANA-Gruppe sind *Polynukleotide, Proteine, Histone* und *Enzyme*. Zahlreiche Entitäten konnten biochemisch und immunologisch definiert werden, obwohl noch längst nicht alle potentiellen Antigen-Antikörper-Systeme oder deren diagnostische Bedeutung bekannt sind. Die wichtigsten ANA-Marker werden im Kapitel *Autoimmune Systemerkrankungen* beschrieben (http://www.immunologie-labor.com/service_files/fach_autoimmun.pdf).

Diagnostik antinukleärer Antikörper mit dem ANA-IFT

Die Ära des ANA-Immunfluoreszenztests (ANA-IFT) begann 1957 mit der ersten Beschreibung eines indirekten Immunfluoreszenztests für den Nachweis von antinukleären Antikörpern im Patientenserum (FRIOU G.J. 1957). Für Jahrzehnte kamen als Antigensubstrate histologische Gefrierschnitte tierischer Organe zur Anwendung, die später dann durch Zellkulturpräparate ersetzt wurden. Monolayer-Zellkulturpräparate von HEp-2 Zellen, basierend auf einer kultivierbaren Tumor-Zelllinie (MOORE A.E. et al. 1955), zeichnen sich im Vergleich zu den histologischen Tierpräparaten durch wesentlich einfachere Handhabung, konstante Qualität (antigene Zusammensetzung) und deutlich bessere Reproduzierbarkeit des ANA-Nachweises aus. HEp-2 Zellkulturpräparate sind noch immer Standard in der ANA-Diagnostik. Nach wie vor ist der ANA-IFT das gebräuchlichste Verfahren für die Eingangsdiagnostik bei Verdacht auf eine Erkrankung des rheumatischen Formenkreises. Diese traditionelle Methode wird vom *American College of Rheumatology* als Goldstandard für das ANA-Screening empfohlen.

Expertengruppen haben in den letzten Jahren Vorschläge zur Nomenklatur erarbeitet, die darüber hinaus auch Empfehlungen zu diagnostischen Methoden enthalten. 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 zu diesen Themen umfangreiche Vorschläge 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 (auf HEp-2-Zellen) erarbeitet. Der zusammenfassende Bericht zum *International Consensus on ANA staining Patterns* (ICAP) ist auf einer eigenen Webseite (www.ANAPatterns.org) abrufbar.

Die neue Nomenklatur der ICAP segregiert die HEp-2-IFT-Muster in drei Hauptgruppen. Definiert und kodiert wurden folgende Muster:

- 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 wird als farbige Boxen mit **amberfarbigem** und **oliv-grünem** Hintergrund dargestellt (www.ANAPatterns.org). Weitere Einzelheiten sind der

Arbeitsanweisung ANA-Immunfluoreszenz – Zellkern-Antikörper, andere HEp-2-Zell-Antikörper beschrieben (http://www.immunologie-labor.com/service_files/fach_QM_SOP_ANA_IFT.pdf).

In den letzten Jahren wurden zahlreiche neue Methoden für die Detektion von antinukleären Antikörpern entwickelt. Es handelt sich dabei um sog. Festphasen-Immunoassays, bei denen unterschiedliche nukleäre Targets an Festphasen gekoppelt wurden (Mikrotiterplatten, Latexpartikel, Membranen etc.) und mit Patientenserum inkubiert werden. Die Bindung der entsprechend reagierenden Antikörper wird mit speziell markierten Detektionsantikörpern sicht- bzw. messbar gemacht. Solche Immunassays werden z.B. als ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay) oder Fluoreszenz-Assays in unterschiedlichen Formaten gehandelt; sog. Multiplex-Verfahren für die gleichzeitige Detektion einer Vielzahl von Liganden sind attraktiv für den Hochdurchsatz von Patientenproben in kurzer Zeit.

In vielen Laboratorien werden aufgrund hoher Probenzahlen vermehrt Multiplex-Verfahren favorisiert, die mit dem aufwendigen und mit hoher Expertise verbundenen mikroskopischen ANA-IFT konkurrieren. Die Vorteile der mechanisierten Hochdurchsatzverfahren liegen sicherlich in der schnellen Abarbeitung grosser Probenmengen. Sie haben aber den Nachteil einer allgemein fehlenden Transparenz der gemessenen Zahlenwerte. Was bedeutet beispielsweise ein „negatives“ Ergebnis bei nach wie vor bestehendem Verdacht auf eine Kollagenose? Ist das Messergebnis wirklich „richtig negativ“ oder doch „falsch negativ“, weil im Testansatz nicht das richtige Antigen angeboten wurde? Ausserdem fehlen bei den ermittelten Zahlenwerten Hinweise auf evtl. wichtige Zusatzbefunde, die z.B. bei der Mikroskopie eines HEp-2 Zellpräparates erhoben werden können. Im mikroskopischen HEp-2 Zellpräparat liegt eine Vielzahl von potentiell wichtigen Antigenen vor, die technisch in den Festphasen-Assays in der gesamten Komplexität nicht abgebildet werden, aber bei der Mikroskopie und bei entsprechender Expertise bewertet werden können.

Bei einem negativen ANA-IFT erübrigen sich in der Regel weitere Untersuchungen. Dennoch hängt das weitere Vorgehen wesentlich von der klinischen Symptomatik ab. Ein positives Testergebnis kann jedenfalls den Verdacht auf eine Kollagenose stützen. Die mikroskopische Auswertung von positiven ANA-IFTs und deren Befundung ist an Erfahrung gebunden. Die Erkennung von typischen IFT-Mustern ist bei der Vielfalt der sich ergebenden Fluoreszenzbilder zuweilen auch für geübte Personen eine Herausforderung. Es reicht aber nicht aus, den Blick nur auf ein positives IFT Ergebnis zu richten, weil ein negativer ANA-IFT eine Kollagenose nicht mit Sicherheit ausschliesst. Es wird berichtet, dass bis zu 5% der SLE-Patienten trotz erfüllter ACR-Kriterien ANA-negativ sein können.

Der ANA-IFT ist ein semiquantitativer Test. Der Test wird als **negativ** oder **positiv** beurteilt. Es gibt keine exakte Grenze für einen ANA-Normalwert; der Normbereich bewegt sich zwischen 1:40 und 1:160 (Schwellenwert), je nach Probenkollektiv. ANA-Titer in der Grössenordnung von 1:160 und 1:320 sind wenig aussagekräftig und sollten in einem zeitversetzten Ansatz kontrolliert werden. Es ist zu beachten, dass auch klinisch unauffällige Personengruppen (vor allem altersabhängig) kritische ANA-Titer aufweisen können. Hochtitrige ANA-Werte (ab 1:320) sind sicherlich als verdächtig zu werten. Sie bedürfen jedenfalls der Kontrolle und ggf. auch der weiteren Abklärung durch gezielte Bestätigungstests.

Bei einer positiven ANA-Reaktion muss immer die Patientenprobe titriert werden (serielle Verdünnungsanalyse), um einen groben Hinweis auf die Höhe der Antikörperkonzentration zu erhalten. Das Ergebnis der Titerendstufe (Titerhöhe) wird protokolliert und zusammen mit der Art des Fluoreszenzmusters als Ergebnis berichtet. Unterschiedliche IFT-Muster reflektieren das Reaktionsverhalten unterschiedlicher Antikörper-Entitäten mit dem Gewebe und geben differentialdiagnostische Hinweise auf mögliche Antigenspezifitäten. Dies ist für

den anfordernden Arzt wichtig zu wissen. Aus diesem Grund muss das Untersuchungslabor darüber informieren, welches Zellantigen dem IFT-Muster zugrunde liegen kann und Vorschläge zur weiteren Differenzierung empfehlen.

Die diagnostische Vorgehensweise bei Verdacht auf eine Kollagenose ist aus rationellen Gründen vorgezeichnet. Zuerst wird ein ANA-Suchtest, in der Regel der ANA-IFT, durchgeführt. Bei einem positiven Ergebnis schliessen sich dann zur weiteren Abklärung Bestätigungsverfahren an. In allen Stadien der Diagnostik ist das Untersuchungslabor angehalten, den Dialog mit der Klinik zu führen. Der Dialog dient nicht nur dem Wissen um die Situation des Patienten, sondern vor allem der Feststellung der Umstände, die Anlass zur Untersuchung geben. Hintergrundwissen ist besonders hilfreich für die Entscheidung, wie man im Labor am zweckmässigsten vorgehen soll:

- Eingangsdagnostik und Verlaufskontrollen unterliegen in der Regel verschiedenen Vorgehensweisen und beeinflussen somit die Auswahl der Testverfahren,
- Festlegung der geeigneten Testauswahl für Bestätigungsanalysen nach Rücksprache mit dem behandelnden Arzt,
- Vermeidung von Fehleinschätzungen bei der Laborbefundung durch frühzeitige Kombination von Testverfahren mit unterschiedlicher Messmethodik, die sich ggf. auf Sensitivität und Spezifität auswirken (wichtig z.B. für die Messung von Antikörpern gegen dsDNS),
- Zeitgewinn für den Patienten durch rechtzeitige, zweckmässige Testwahl,
- ggf. Veranlassung einer weiterführenden Analytik nach einem Dialog mit dem behandelnden Arzt, u.a. für die Suche nach anderen Autoantikörpern bei insgesamt unklarer Klinik oder bei Überlappungssyndromen,
- Beratung des behandelnden Arztes bei der Planung von Verlaufskontrollen und bei der Wahl von zusätzlichen Labortests. Diese können einerseits das Immunsystem des Patienten betreffen und andererseits der Abklärung von verschiedenen Organfunktionen dienen.

Vorgehensweise bei LE Verdacht

- 1. ANA-Suchtest**
- ANA-IFT Titer >1:160 und Muster homogen (cave ! nicht spezifisch für LE)
- ↓
- [Klinisches Bild und ggf. Nachweis spezifischer AK](#)
- 2. Anti-dsDNS**
- ELISA: hohe Sensitivität (sorgfältige Testauswahl)
 - CLIFT: hohe Spezifität (erfordert Erfahrung)
- ↓
- [Positiv: Bestätigung durch Farr Test](#)
[Negativ: Dialog mit der Klinik](#)
- 3. Sonstiges**
- Andere Autoantikörper, z.B. Nukleosome, Sm
 - Komplement CH-50, Komplementfaktoren
 - Hautbiopsie (DIF) para/läsional, normal

IFT homogen auch z.B. durch Histone, Ku, andere Chromatin-ass. Antigene und bei dicht fein gesprenkelt (Scl-70, PM-Scl)

ANA bei verschiedenen Krankheitsbildern	Vorkommen (%)
Lupus erythematoses (LE)	95-100 *
Medikamenten induzierter LE	95-100 *
Subakuter kutaner LE	95-100
Mischkollagenose	95-100 *
Systemische Sklerose	95-100
CREST-Syndrom	95-100 *
Sjögren Syndrom	50-80 *
Chronisch aktive Hepatitis	30-40
Primär biliäre Zirrhose	30-40
Rheumatoide Arthritis	10-50
Felty Syndrom	60-100
Polymyositis/Dermatomyositis	50-80
Myasthenia gravis	30-50
Autoimmunthyreoiditis	20-40
Perniziöse Anämie	20-30
Colitis ulcerosa	10-25
Mononukleose	30-70
Schwangerschaft	1-50
Gesunde Verwandte von LE-Patienten	bis 40
Gesunde (<60 Jahre)	bis 10
Gesunde (>60 Jahre)	bis 45
* in der Regel hochtitrig, Titer >1:160	

Unter Berücksichtigung der Antikörpermuster im ANA-IFT dienen Bestätigungsanalysen dem Nachweis von Autoantikörpern durch Zuordnung zu definierten Antigenen. Hierfür kommen antigenspezifische ELISAs, Multiplex-Analysen oder Immunoblots zur Anwendung. Im Vordergrund steht die Suche nach den sog. „führenden“ Autoantikörpern. In der erweiterten Serodiagnostik wird zusätzlich auf „sonstige“ Autoantikörper untersucht.

Bei Verdacht auf Vorliegen eines Lupus erythematoses hat die Messung von Antikörpern gegen dsDNA und Nukleosomen eine hohe Priorität. Die Methoden müssen im Laborbericht angegeben werden. Für den Anti-dsDNA-Nachweis bieten der Farr-RIA und der Crithidien-IFT eine hohe klinische Spezifität. Alternative Assay (z.B. ELISA) weisen in der Regel eine niedrigere Spezifität auf, so dass positive Ergebnisse entweder mit einem Farr-RIA oder dem Crithidien-IFT bestätigt werden sollten. Beim Monitoring der Krankheitsaktivität mittels quantitativer Verfahren sollte immer auf die Verwendung der gleichen Methode geachtet werden. Im Prinzip gilt immer, dass zur Vermeidung von Fehlurteilen eine kritische Bewertung der im Labor eingesetzten Testverfahren erfolgen muss. Im Vordergrund der Bewertung stehen Standardisierung, Sensitivität und Spezifität der jeweiligen Verfahren.

Lupus: „führende“ Antikörper

Zellkern-Antigene	Assoziierte Klinik
ANA	SLE/SLE-Nephritis
dsDNS	SLE, aber nicht-spezifisch
ssDNS	MCTD, SLE, Overlap-Syndr.
U1-RNP	SLE
Sm	Medikamenten-induz. LE
Histone	Sjögren-S., SLE u. Varianten
SS-A, SS-B	SLE
PCNA	

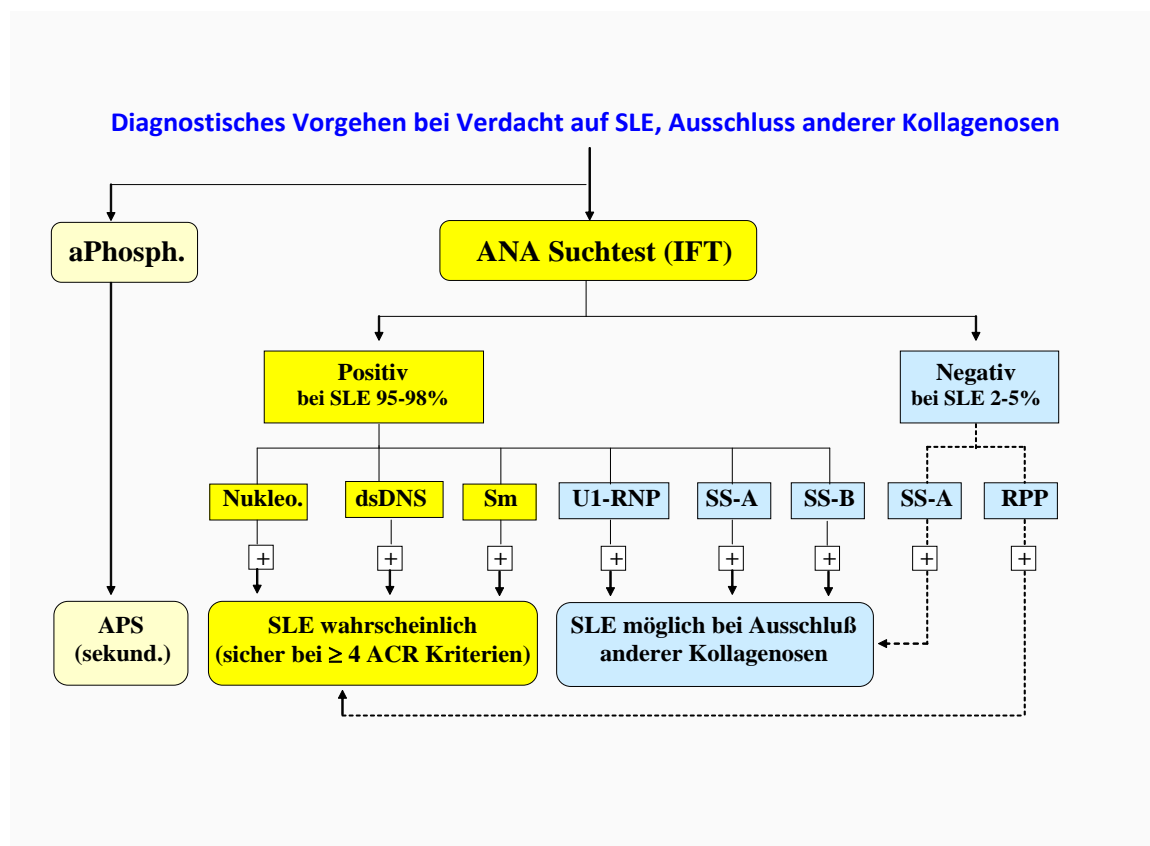
Lupus: „sonstige“ Antikörper

Sonstige Antigene	Assoziierte Klinik
Zytoplasma	SLE (oft mit neurolog. Komponente)
Rib. P-Prot.	
Membran	Hämolytische Anämie
RBC	Lymphozytopenie
WBC	Thrombozytopenie
Thrombos	Thrombose, Abort
Phospholipid	
Serum u.a.	Raynaud-Phänomen
z.B. Ig Glob.	Thrombose, Abort
Phospholipid	

Lupus-Subsets: besondere Antikörpermuster

Klinische Diagnose	Labordiagnostik
Subakuter kutaner LE	ANA gelegentlich negativ SS-A/Ro 60 positiv (60-100%) SS-B/La positiv (25-80%)
Neonatale Lupus-Syndrome • Neonataler LE (NLE) • Kongenitaler Herzblock (CHB)	ANA positiv (90-100%) SS-A/Ro 52 positiv (90%) SS-B positiv (70%) RF (50-60%)
Medikamenten-induzierter LE	Anti-Histon Antikörper
Sek. Sjögren-Syndrom	SS-A und SS-B Antikörper
Sek. Anti-Phosph.-Syndrom	div. Anti-Phospholipide, Lupus Antikoagulans

Es ergibt sich die Frage, ob der ANA-IFT für die heutige Labordiagnostik noch zeitgemäss ist. Aufgrund seiner Eigenschaften (hohe Sensitivität) ist der ANA-IFT im Vergleich zu alternativen Testverfahren noch immer von unerreichter Bedeutung als Screening-Test für den Ausschluss einer systemischen Autoimmunerkrankung. Andererseits muss darauf hingewiesen werden, dass dieses Verfahren bezüglich der reagierenden Antigene und Antikörper keine hohe Spezifität aufweist. Das Ergebnis eines ANA-IFT ist kein Diagnosekriterium, weil die hohe Sensitivität zu Lasten der Spezifität geht; ca. 30% der ANA-positiven Testergebnisse weisen keine klinisch relevanten Antikörper nach. Der ANA-Test fällt bei zahlreichen chronischen und entzündlichen Erkrankungen sowie bei höherem Lebensalter „positiv“ aus, ohne ursächlichen Bezug zu einer Kollagenose. Daraus ergibt sich, dass der ANA-IFT gezielt eingesetzt werden sollte (also nur bei Vorliegen eines Verdachts auf Kollagenose). Eine unkritische ANA Anforderung sollte vermieden werden, weil ein alleiniges ANA-Ergebnis *ohne klinischen Hinweis auf eine Kollagenose* nicht zielführend ist. Andererseits gilt festzuhalten, dass bei klinischem Verdacht auf Kollagenose und positivem ANA-Ergebnis immer eine weitere Abklärung durch zusätzliche Tests erfolgen soll, die der Bestätigung und der weiteren Charakterisierung von zugrundeliegenden Antigenspezifitäten dienen.



Für die Bestätigung von ANA-positiven Ergebnissen gibt es heute zahlreiche marktgängige ELISAs, Immunoblot- und Multiplex-Verfahren. Im Falle des Nachweises von spezifischen Autoantikörpern gegen dsDNS sind auch RIAs (vornehmlich als Farr RIA für die Erfassung von hochaviden Antikörpern) und der Crithidien-IFT (hochspezifischer IFT mit *Crithidia luciliae* als Antigen substrat) sehr gut geeignet. In der Regel entscheidet das Labor, welche Kombination von Testverfahren geeignet ist. Es ist bekannt, dass die mit verschiedenen Testsystemen erzielten Ergebnisse widersprüchlich sein können. Dies betrifft insbesondere den Nachweis von Autoantikörpern gegen dsDNS. Hier wird besonders empfohlen, sich ergänzende Testverfahren zu kombinieren.

Fluoreszenzmuster, Zielantigene und Krankheitsbilder

Bei entsprechender mikroskopischer Erfahrung geben Fluoreszenzmuster erste und wichtige Hinweise auf die zugrundeliegenden Antigen-Antikörperreaktionen, die durch spezifische Tests zu bestätigen sind. Im Interesse einer patientenspezifischen Diagnostik kann auch in Absprache mit dem behandelnden Arzt nach weiteren Autoantikörpern gesucht werden. Die folgenden Tabellen geben eine Zusammenfassung des Vorkommens von ANA und ihrer Zielstrukturen bei verschiedenen Erkrankungsformen.

IFT-Muster (HEp-2 Zellen)	Zielstruktur	Krankheitsbilder
Nukleoplasma - homogen und Chromosomen im Mitosestadium - periph./submembr.	Polynukleotide Histone	SLE, Medikamenten induzierter Lupus
Nukleoplasma - diffus/grobgran. überlagert - feingranulär - feingranulär - pleo-/polymorph - diskret gesprenkelt und Kinetochor in mitotischen Zellen - granulär - nukleäre Tupfen <i>nuclear dots</i>	Sm U1-snRNP SS-A, SS-B Mi-2 PCNA Zentromer RNAP-I und III Sp100	SLE MCTD (Sharp-Syndrom) Sjögren-Syndrom, neonataler LE Dermatomyositis, Polymyositis SLE CREST-Syndrom Sklerodermie PBC
Nukleolus - homogen - granulär - granulär	PM-Scl, Scl-70 Fibrillarin RNAP-I	Systemische Sklerose Dermatomyositis, Polymyositis Sklerodermie
Nukleoplasma, Nukleolus und Chromosomen - dicht/feingranulär Nukleoli homogen - granulär - feingran./homogen Nukleoli schwach und Chromatin in Metaphase	Ku RNAP Scl-70	Polymyositis/systemische Sklerose Overlap, SLE Sklerodermie Systemische Sklerose
Kernmembran - linear und granulär-punktiert	Lamine LBR, gp 210	Relevanz für Lamine nicht gesichert sonst PBC/Autoimmunhepatitis
Zytoplasma - dicht-feingranulär - diffus-feingranulär - grob-granulär - Filamente	RPP Jo-1 Mitochondrien Aktin und Zytoskelett Filamente	SLE Myositis, Polymyos./Dermatomyos. PBC Verschiedene chronische Entzündungen

Antigen	Krankheitsbild	Vorkommen (%)
dsDNS	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	60-95
Nukleosomen	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	60-90
ssDNS	Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Medikamenten-induzierter Lupus Mischkollagenose (Sharp Syndrom) Dermatomyositis, Polymyositis Systemische Sklerose, Sjögren Syndrom	70-95 60 20-50 40-50 10-15
Histone	Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Medikamenten-induzierter Lupus Rheumatoide Arthritis	30-80 60-100 10-50
Sm	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	10-30
PCNA	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	< 1
U1-nRNP	Mischkollagenose (Sharp Syndrom) Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Rheumatoide Arthritis (Overlap)	95-100 30-40 < 5
SS-A (Ro)	Sjögren Syndrom Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Neonatales Lupus Syndrom	60-100 30-60 90-100
SS-B (La)	Sjögren Syndrom Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	40-80 10-20
Ku	Systemischer Lupus erythematoses (SLE) Polymyositis/systemische Sklerose Overlap Sjögren-Syndrom	5-10 5-25 5-20
Fibrillarin	Systemische Sklerose	5-10
RNS-Polymerase I-III	Systemische Sklerose	5-20
Zentromer	CREST-Syndrom (systemische Sklerose, limitierte Form)	80-95
Scl-70	Systemische Sklerose	20-60
PM-Scl (PM-1)	Polymyositis Systemische Sklerose Polymyositis/systemische Sklerose Overlap	5-10 5-10 20-30
To/Th	Systemische Sklerose (limitierte Form, CREST)	4-10
Jo-1	Myositis, Polymyositis/Dermatomyositis	30-50
Aminoacyl-tRNA-Synthetasen	Anti-Synthetasen-Syndrome, idiopathische Myositiden	< 3
Mi-1, Mi-2	Dermatomyositis, Polymyositis	5-20
SRP	Polymyositis	< 5
MAP-2	Systemischer Lupus erythematoses (neuropsychiatrische Form)	60-80
Phospholipide z.B. Cardiolipin, Lupus-Antikoag.	Systemischer Lupus erythematoses (sekundäres Anti-Phospholipid-Syndrom)	20-50
Ribos. P Proteine P0, P1, P2	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	10-30

Überlappungssyndrome

Patienten zeigen oft die klinischen Erscheinungen von mehr als einer definierten Kollagenose, d.h. im Krankheitsverlauf kommt es zu Änderungen des klinischen Bildes, die dann auch von Änderungen des Labors begleitet werden. Als anerkannte Überlappungssyndrome gelten:

- MCTD,
- „Rhusus“,
- Polymyositis-Sklerodermie Überlappung,
- SLE-Myositis Überlappung,
- SLE-Sjögren Überlappung.

Überlappungs-Syndrome von Kollagenosen	
<ul style="list-style-type: none">• MCTD wird vielfach nicht als wirklich eigenständige klinische Entität betrachtet; MCTD kann sich zum SLE und jede andere typische Kollagenose entwickeln.• <i>Rhusus</i>, eine Form des LE mit aggressiver Arthritis, i.e. dem eigentlich typischen Zeichen der rheumatoïden Arthritis, aber mit anderen typischen Lupus Zeichen; ungeklärt, ob echtes Overlap-Syndrom vorliegt.• Polymyositis-Sklerodermie Überlappung: Bilder einer Polymyositis und Sklerodermie bei milder Myositis.• SLE-Myositis Überlappung: klinisch wie SLE mit deutlicher Myositis.• SLE-Sjögren Überlappung: SLE typische Zeichen (Klinik und Labor), zusätzlich Antikörper gegen SS-A und SS-B und sekundärem Sicca-Syndrom; neonataler LE mit kongenitalem Herzblock.	
Labor (Screening) s. jeweilige Kollagenose	Labor (ergänzend) ANA, Anti-nDNS, Anti-Sm, Anti-U1-nRNP, Anti-SS-A/SS-B, Rheumafaktor, Anti-Scl-70/PM-Scl/Ku, Kryoglobuline

Raynaud Phänomen

Eine Reihe von Erkrankungen unterschiedlicher Genese führt zu einem Bild, das als *Raynaud Phänomen* beschrieben wird. Etwa jeder fünfte Patient mit einer Raynaud Symptomatik hat eine Grunderkrankung, vornehmlich eine Kollagenose oder eine andere Autoimmunerkrankung. Das Raynaud Phänomen ist gekennzeichnet durch lang anhaltende Vasospasmen der Finger (meist ausgelöst durch Kälte, Stress oder Tragen von Gegenständen). Dabei werden drei Farb-Phasen unterschieden: zuerst werden die Finger *weiß* und kalt, dann *zyanotisch* (kann in leichten Fällen fehlen), und schließlich färben sich die Finger während der Reperfusion *rot*. Meist sind ein bis drei Finger betroffen, der Daumen bleibt allgemein ausgespart. Selten können auch andere Akren wie Zehen, Nase oder Ohren betroffen sein.

Man unterscheidet eine primäre Form des Raynaud-Syndroms (**idiopathischer Raynaud**), bei der sich keine Grundkrankheiten finden lassen, von einem **sekundären Raynaud**. Der primäre Raynaud verläuft milder als die sekundären Formen. Der primäre Raynaud manifestiert sich oft in der zweiten und dritten Lebensdekade, der sekundäre Raynaud meist erst im höheren Alter. Frauen sind insgesamt häufiger betroffen als Männer. Der sekundäre Raynaud kann mit verschiedenen Kollagenosen, endokrinologischen Erkrankungen, Malignomen, Infektionen, Traumen oder mit medikamentöser Therapie assoziiert sein.

Sekundäres Raynaud-Syndrom

- **Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises:** SLE, systemische Sklerose, Dermatomyositis, rheumatoide Arthritis, PBC, Vaskulitiden.
- **Mechanische Verletzungen:** Vibration, Frostbeulen.
- **Arterielle Erkrankungen:** Brachiozephale Arteriosklerose.
- **Vasospastische Störungen:** Migräne, Prinzmetal-Angina.
- **Endokrinologische Erkrankungen:** Karzinoid, Phäochromozytom, Hypothyreose.
- **Malignome:** Ovarialkarzinom, Angiozentrisches Lymphom.
- **Hämatologische Erkrankungen:** Kryoglobuline, Paraproteinämie, Polyzythämie.
- **Infektionen:** Parvovirus B 19, Helicobacter pylori.
- **Medikamente:** Bleomycin, Vinblastin, Betablocker, Ergotamine, Methysergid, IFN- α und IFN- β

Raynaud-Phänomen (RP), Assoziation mit Immunopathien

Art der Erkrankung	Patienten mit RP (%)	Erstmanifestation (%)	Labortests
Lupus erythematoses (SLE)	20-40	10	Anti-dsDNS
Mischkollagenose (MCTD)	80-90	70-90	Anti-RNP
Sjögren-Syndrom	20	selten	Anti-SS-A/SS-B Anti-Parotis
Systemische Sklerose	70	60	Anti-Scl-70
CREST-Syndrom	90-100	80	Anti-Centromer
Poly-/Dermatomyositis	20-30	20	Anti-Jo-1
Rheumatoide Arthritis	5-10	selten	RF, CCP, CRP
Überlappungssyndrome	variabel	variabel	s. Kollagenose
Kryoglobulin-assoziierte Vaskulitis	50	variabel	Kryoglobuline

Literatur

- Agmon-Levin, N., Damoiseaux, J., Kallenberg C. et al. 2014. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 73:17-23.
- Alarcón-Segovia, D., and Villareal, M. 1987. Classification and diagnostic criteria for MCTD. In *Mixed connective tissue disease and anti-nuclear antibodies*. R. Kasukawa, and G.C. Sharp, editors. Amsterdam: Elsevier. 33-40.
- Alderuccio, F., Chan, E.K., and Tan, E.M. 1991. Molecular characterization of an autoantigen of PM-Scl in the polymyositis/scleroderma overlap syndrome: a unique and complete human cDNA encoding an apparent 75-kD acidic protein of the nucleolar complex. *J Exp Med* 173:941-952.
- Alexander, E.L., McNicholl, J., Watson, R.M., Bias, W., Reichlin, M., and Provost, T.T. 1989. The immunogenetic relationship between anti-Ro(SS-A)/La(SS-B) antibody positive Sjogren's/lupus erythematosus overlap syndrome and the neonatal lupus syndrome. *J Invest Dermatol* 93:751-756.

- Alspaugh, M., and Maddison, P. 1979. Resolution of the identity of certain antigen-antibody systems in systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome: an interlaboratory collaboration. *Arthritis Rheum* 22:796-798.
- Alspaugh, M.A., and Tan, E.M. 1975. Antibodies to cellular antigens in Sjogren's syndrome. *J Clin Invest* 55:1067-1073.
- American College of Rheumatology 2009. Position statement. Methodology of testing for antinuclear antibodies. Internet: http://www.rheumatology.org/practice/clinical/position/ana_position_stmt.pdf
- Amoura, Z., Piette, J.C., Bach, J.F., and Koutouzov, S. 1999. The key role of nucleosomes in lupus. *Arthritis Rheum* 42:833-843.
- Andrade, L.E., Chan, E.K., Peebles, C.L., and Tan, E.M. 1996. Two major autoantigen-antibody systems of the mitotic spindle apparatus. *Arthritis Rheum* 39:1643-1653.
- Andrade, L.E., Chan, E.K., Raska, I., Peebles, C.L., Roos, G., and Tan, E.M. 1991. Human autoantibody to a novel protein of the nuclear coiled body: immunological characterization and cDNA cloning of p80-coilin. *J Exp Med* 173:1407-1419.
- Antico, A., Platzgummer, S., Bassetti, D., Bizzaro, N., Tozzoli, R., Villalta, D., and Study Group on Autoimmune Diseases of the Italian Society of Laboratory Medicine. 2010. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. *Lupus* 19:906-912.
- Arnett, F.C., Hamilton, R.G., Reveille, J.D., Bias, W.B., Harley, J.B., and Reichlin, M. 1989. Genetic studies of Ro (SS-A) and La (SS-B) autoantibodies in families with systemic lupus erythematosus and primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 32:413-419.
- Arnett, F.C., Hamilton, R.G., Roebber, M.G., Harley, J.B., and Reichlin, M. 1988. Increased frequencies of Sm and nRNP autoantibodies in American blacks compared to whites with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 15:1773-1776.
- Arnett, F.C., Reveille, J.D., and Valdez, B.C. 1997. Autoantibodies to a nucleolar RNA helicase protein in patients with connective tissue diseases. *Arthritis Rheum* 40:1487-1492.
- Auer-Grumbach, P., and Achleitner, B. 1994. Epidemiology and clinical associations of NuMA (nuclear mitotic apparatus protein) autoantibodies. *J Rheumatol* 21:1779-1781.
- Avaniss-Aghajani, E., Berzon, S., and Sarkissian, A. 2007. Clinical value of multiplexed bead-based immunoassays for detection of autoantibodies to nuclear antigens. *Clin Vaccine Immunol* 14:505-509.
- Bachmann, M., Mayet, W.J., Schroder, H.C., Pfeifer, K., Meyer zum Buschenfelde, K.H., and Muller, W.E. 1986. Association of La and Ro antigens with intracellular structures in HEP-2 carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:7770-7774.
- Bachmann, M., Pfeifer, K., Schroder, H.C., and Muller, W.E. 1990. Characterization of the autoantigen La as a nucleic acid-dependent ATPase/dATPase with melting properties. *Cell* 60:85-93.
- Bauer, R., and Schutz, R. 1979. [The LE cell phenomenon. New aspects in molecular biology and immunocytology]. *Arch Dermatol Res* 266:197-204.
- Beck, J.S. 1961. Variations in the morphological patterns of "autoimmune" nuclear fluorescence. *Lancet* 1:1203-1205.
- Ben-Chetrit, E. 1993. The molecular basis of the SSA/Ro antigens and the clinical significance of their autoantibodies. *Br J Rheumatol* 32:396-402.
- Bernstein, R.M., Hobbs, R.N., Lea, D.J., Ward, D.J., and Hughes, G.R. 1985. Patterns of antihistone antibody specificity in systemic rheumatic disease. I Systemic lupus erythematosus, mixed connective tissue disease, primary sicca syndrome, and rheumatoid arthritis with vasculitis. *Arthritis Rheum* 28:285-293.
- Bernstein, R.M., Steigerwald, J.C., and Tan, E.M. 1982. Association of antinuclear and antinucleolar antibodies in progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 48:43-51.
- Bizzaro, N., Tozzoli, R., Tonutti, E., Piazza, A., Manoni, F., Ghirardello, A., Bassetti, D., Villalta, D., Pradella, M., and Rizzotti, P. 1998. Variability between methods to determine ANA, anti-dsDNA and Anti-ENA autoantibodies: a collaborative study with the biomedical industry. *J Immunol Methods* 219:99-107.
- Bohan, A., and Peter, J.B. 1975. Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N Engl J Med* 292:403-407.

- Bohan, A., and Peter, J.B. 1975. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med* 292:344-347.
- Bonilla, E., Francis, L., Allam, F., Ogrinc, M., Neupane, H., Phillips, P.E., and Perl, A. 2007. Immunofluorescence microscopy is superior to fluorescent beads for detection of antinuclear antibody reactivity in systemic lupus erythematosus patients. *Clin Immunol* 124:18-21.
- Bradley, J., and McCluskey, J. 1997. *Clinical Immunology*. New York: Oxford Press.
- Brouwer, R., Vree Egberts, W.T., Hengstman, G.J., Raijmakers, R., van Engelen, B.G., Seelig, H.P., Renz, M., Mierau, R., Genth, E., Pruijn, G.J., et al. 2002. Autoantibodies directed to novel components of the PM/ScI complex, the human exosome. *Arthritis Res* 4:134-138.
- Buyon, J.P. 1992. Neonatal lupus syndromes. *Am J Reprod Immunol* 28:259-263.
- Bylund, D.J., and Nakamura, R.M. 1991. Importance of detection of SS-A/Ro autoantibody in screening immunofluorescence tests for autoantibodies to nuclear antigens. *J Clin Lab Anal* 5:212-218.
- Cabral, A.R., and Alarcon-Segovia, D. 1998. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 10:409-416.
- Casiano, C.A., Humbel, R.L., Peebles, C., Covini, G., and Tan, E.M. 1995. Autoimmunity to the cell cycle-dependent centromere protein p330d/CENP-F in disorders associated with cell proliferation. *J Autoimmun* 8:575-586.
- Casiano, C.A., and Tan, E.M. 1996. Recent developments in the understanding of antinuclear autoantibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 111:308-313.
- Cepellini, R., Polli, E., and Celada, F. 1957. A DNA-reacting factor in serum of a patient with lupus erythematosus diffusus. *Proc Soc Exp Biol Med* 96:572-574.
- Chan, E.K., Imai, H., Hamel, J.C., and Tan, E.M. 1991. Human autoantibody to RNA polymerase I transcription factor hUBF. Molecular identity of nucleolus organizer region autoantigen NOR-90 and ribosomal RNA transcription upstream binding factor. *J Exp Med* 174:1239-1244.
- Chan, E.K., Tan, E.M., Ward, D.C., and Matera, A.G. 1994. Human 60-kDa SS-A/Ro ribonucleoprotein autoantigen gene (SSA2) localized to 1q31 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 23:298-300.
- Chan, E.K., Damoiseaux, J., Carballo, O.G., et al. 2015. 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.
- Chan E.K., Damoiseaux, J., de Melo Cruvinel, W., Carballo, O.G., et al. 2016. Report on the second international consensus on ANA pattern (ICAP) workshop in Dresden 2015. *Lupus* 25:797-804.
- Charles, P.J., van Venrooij, W.J., and Maini, R.N. 1992. The Consensus Workshops for the Detection of Autoantibodies to Intracellular Antigens in Rheumatic Diseases: 1989-1992. *Clin Exp Rheumatol* 10:507-511.
- Clark, G., Reichlin, M., and Tomasi, T.B., Jr. 1969. Characterization of a soluble cytoplasmic antigen reactive with sera from patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 102:117-122.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS) 2006. Quality assurance of laboratory tests for autoantibodies to nuclear antigens: (1) Indirect fluorescence assay for microscopy and (2) Microtiter enzyme immunoassay methods. Approved guidelines, 2nd ed. CLSI I/LA-2-A2. 26 (13).
- Conrad, K., Humbel, R.L., Meurer, M., Shoenfeld, Y., and Tan, E.M. 2000. *Autoantigens and autoantibodies: diagnostic tools and clues to understanding autoimmunity*. Lengerich: Pabst Science Publishers.
- Conrad, K., Roggenbuck, D., Lehmann, W., Schedler, U., and Peine, G. 2011. *Multiparameteranalytik in Forschung und Praxis*. Lengerich: Pabst Science Publishers.
- Conrad, K., Schöbner, W., and Hiepe, F. 2012. *Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankungen. Ein diagnostischer Leitfaden*. Lengerich: Pabst Science Publishers.
- Conrad, K., Tan, E.M., Humbel, R.L., and Shoenfeld, Y. 1997. Autoantibodies - diagnostic, pathogenic and prognostic relevance. *Clin Exp Rheumatol* 15:457-465.
- Cook, L. 1998. New methods for detection of anti-nuclear antibodies. *Clin Immunol Immunopathol* 88:211-220.
- Cooper, G.S., and Stroehla, B.C. 2003. The epidemiology of autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 2:119-125.

- Copple, S.S., Giles, S.R., Jaskowski, T.D., Gardiner, A.E., Wilson, A.M., and Hill, H.R. 2012. Screening for IgG antinuclear autoantibodies by HEp-2 indirect fluorescent antibody assays and the need for standardization. *Am J Clin Pathol* 137:825-830.
- Copple, S.S., Martins, T.B., Masterson, C., Joly, E., and Hill, H.R. 2007. Comparison of three multiplex immunoassays for detection of antibodies to extractable nuclear antibodies using clinically defined sera. *Ann N Y Acad Sci* 1109:464-472.
- Copple, S.S., Sawitzke, A.D., Wilson, A.M., Tebo, A.E., and Hill, H.R. 2011. Enzyme-linked immunosorbent assay screening then indirect immunofluorescence confirmation of antinuclear antibodies. A statistical analysis. *Am J Clin Pathol* 135:678-684.
- Craft, J., Mimori, T., Olsen, T.L., and Hardin, J.A. 1988. The U2 small nuclear ribonucleoprotein particle as an autoantigen. Analysis with sera from patients with overlap syndromes. *J Clin Invest* 81:1716-1724.
- Czaja, A.J., Cassani, F., Cataleta, M., Valentini, P., and Bianchi, F.B. 1996. Frequency and significance of antibodies to actin in type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 24:1068-1073.
- Dagenais, A., Bibor-Hardy, V., and Senecal, J.L. 1988. A novel autoantibody causing a peripheral fluorescent antinuclear antibody pattern is specific for nuclear pore complexes. *Arthritis Rheum* 31:1322-1327.
- Damoiseaux, J., Boesten, K., Giesen, J., Austen, J., and Tervaert, J.W.C. 2005. Evaluation of a novel line-blot immunoassay for the detection of antibodies to extractable nuclear antigens. *Ann NY Acad Sci* 1050:340-347.
- Damoiseaux, J., Csernok, E., Rasmussen, N., Moosig, F. et al. 2016. Detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): a multicentre European Vasculitis Study Group (EUVAS) evaluation of the value of indirect immunofluorescence (IIF) versus antigen-specific immunoassays. *Ann Rheum Dis* 76:647-653.
- Damoiseaux, J.G., and Tervaert, J.W. 2006. From ANA to ENA: how to proceed? *Autoimmun Rev* 5:10-17.
- Damoiseaux, J., Agmon-Levin, N., Van Blerk, M. et al. 2014. From ANA-Screening to antigen-specificity: an EASI-survey on the daily practice in European countries. *Clin Exp Rheumatol* 32:539-546.
- Damoiseaux, J., von Mühlen, C.A., Garcia-De La Torre, I., et al. 2016. International consensus on ANA patterns (ICAP): the bumpy road towards a consensus on reporting ANA results. *Autoimmun Highlights* 7:1-8.
- Dang, C.V., Tan, E.M., and Traugh, J.A. 1988. Myositis autoantibody reactivity and catalytic function of threonyl-tRNA synthetase. *Faseb J* 2:2376-2379.
- Dellavance, A., Junior A.G., Nuccitelli, B., Taliberti, B.H., von Mühlen, C.A., et al. Third Brazilian consensus for autoantibodies screening in HEp-2 cells (ANA). Recommendations for standardization of autoantibodies screening trial in HEp-2 cells, quality control and clinical associations. *Rev Bras Reumatol* 49:89-109.
- de Vlam, K., De Keyser, F., Verbruggen, G., Vandebosche, M., Vanneuville, B., D'Haese, D., and Veys, E.M. 1993. Detection and identification of antinuclear autoantibodies in the serum of normal blood donors. *Clin Exp Rheumatol* 11:393-397.
- Dorner, T., Feist, E., Pruss, A., Chaoui, R., Goldner, B., and Hiepe, F. 2000. Significance of autoantibodies in neonatal lupus erythematosus. *Int Arch Allergy Immunol* 123:58-66.
- Douvas, A.S., Achten, M., and Tan, E.M. 1979. Identification of a nuclear protein (Scl-70) as a unique target of human antinuclear antibodies in scleroderma. *J Biol Chem* 254:10514-10522.
- Earnshaw, W.C., and Rattner, J.B. 1991. The use of autoantibodies in the study of nuclear and chromosomal organization. *Methods Cell Biol* 35:135-175.
- Earnshaw, W.C., Sullivan, K.F., Machlin, P.S., Cooke, C.A., Kaiser, D.A., Pollard, T.D., Rothfield, N.F., and Cleveland, D.W. 1987. Molecular cloning of cDNA for CENP-B, the major human centromere autoantigen. *J Cell Biol* 104:817-829.
- Egner, W. 2000. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol* 53:424-432.
- Emlen, W., and O'Neill, L. 1997. Clinical significance of antinuclear antibodies: comparison of detection with immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays. *Arthritis Rheum* 40:1612-1618.
- Feltkamp, T.E., Klein, F., and Janssens, M.B. 1988. Standardisation of the quantitative determination of antinuclear antibodies (ANAs) with a homogeneous pattern. *Ann Rheum Dis* 47:906-909.
- Forman, M.S., Nakamura, M., Mimori, T., Gelpi, C., and Hardin, J.A. 1985. Detection of antibodies to small nuclear ribonucleoproteins and small cytoplasmic ribonucleoproteins using unlabeled cell extracts. *Arthritis Rheum* 28:1356-1361.

- Forslid, J., Heigl, Z., Jonsson, J., and Scheynius, A. 1994. The prevalence of antinuclear antibodies in healthy young persons and adults, comparing rat liver tissue sections with HEP-2 cells as antigen substrate. *Clin Exp Rheumatol* 12:137-141.
- Francoeur, A.M., Peebles, C.L., Heckman, K.J., Lee, J.C., and Tan, E.M. 1985. Identification of ribosomal protein autoantigens. *J Immunol* 135:2378-2384.
- Frank, M.B., McCubbin, V., Trieu, E., Wu, Y., Isenberg, D.A., and Targoff, I.N. 1999. The association of anti-Ro52 autoantibodies with myositis and scleroderma autoantibodies. *J Autoimmun* 12:137-142.
- French, P.W., Penny, R., and Yang, J.L. 1994. A confocal microscopy study of anticytoskeletal antibody activity in patients with connective tissue disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 1:71-77.
- Friou, G.J. 1957. Clinical application of lupus serum - Nucleoprotein reaction using the fluorescent antibody technique. *J Clin Invest* 36:890.
- Friou, G.J. 1958. Identification of the nuclear component of the interaction of lupus erythematosus globulin and nuclei. *J Immunol* 80:476.
- Fritzler, M.J. 1985. Antinuclear antibodies in the investigation of rheumatic diseases. *Bull Rheum Dis* 35:1-10.
- Fritzler, M.J., Ayer, L.M., Gohill, J., O'Connor, C., Laxer, R.M., and Humbel, R.L. 1987. An antigen in metaphase chromatin and the midbody of mammalian cells binds to scleroderma sera. *J Rheumatol* 14:291-294.
- Fritzler, M.J., and Fritzler, M.L. 2006. The emergence of multiplexed technologies as diagnostic platforms in systemic autoimmune diseases. *Curr Med Chem* 13:2503-2512.
- Fritzler, M.J., Pauls, J.D., Kinsella, T.D., and Bowen, T.J. 1985. Antinuclear, anticytoplasmic, and anti-Sjogren's syndrome antigen A (SS-A/Ro) antibodies in female blood donors. *Clin Immunol Immunopathol* 36:120-128.
- Fritzler, M.J., Wiik, A., Tan, E.M., Smolen, J.S., McDougal, J.S., Chan, E.K., Gordon, T.P., Hardin, J.A., Kalden, J.R., Lahita, R.G., et al. 2003. A critical evaluation of enzyme immunoassay kits for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. III. Comparative performance characteristics of academic and manufacturers' laboratories. *J Rheumatol* 30:2374-2381.
- Fujimoto, M., Kikuchi, K., Tamaki, T., Yazawa, N., Kubo, M., Ihn, H., Sato, S., Soma, Y., and Tamaki, K. 1997. Distribution of anti-p80-coilin autoantibody in collagen diseases and various skin diseases. *Br J Dermatol* 137:916-920.
- Gal, I., Lakos, G., and Zeher, M. 2000. Comparison of the anti-Ro/SSA autoantibody profile between patients with primary and secondary Sjogren's syndrome. *Autoimmunity* 32:89-92.
- Galeazzi, M., Gasbarrini, G., Ghirardello, A., Grandemange, S., Hoffman, H.M., Manna, R., Podswiadek, M., Punzi, L., Sebastiani, G.D., Touito, I., and Doria, A. 2006. Autoinflammatory syndromes. *Clin Exp Rheumatol* 24:S79-85.
- Garberg, H., Jonsson, R., and Brokstad, K.A. 2005. The serological pattern of autoantibodies to the Ro52, Ro60, and La48 autoantigens in primary Sjogren's syndrome patients and healthy controls. *Scand J Rheumatol* 34:49-55.
- Garcia Lerma, J.G., Mendoza, A.Z., Ramos, M.J., and Sequi, L. 1995. Evaluation of recombinant Ro/SSA, La/SSB, Sm, and U1 RNP autoantigens in clinical diagnosis. *J Clin Lab Anal* 9:52-58.
- Gniewek, R.A., Stites, D.P., McHugh, T.M., Hilton, J.F., and Nakagawa, M. 1997. Comparison of antinuclear antibody testing methods: immunofluorescence assay versus enzyme immunoassay. *Clin Diagn Lab Immunol* 4:185-188.
- Goldstein, R., Duvic, M., Targoff, I.N., Reichlin, M., McMenemy, A.M., Reveille, J.D., Warner, N.B., Pollack, M.S., and Arnett, F.C. 1990. HLA-D region genes associated with autoantibody responses to histidyl-transfer RNA synthetase (Jo-1) and other translation-related factors in myositis. *Arthritis Rheum* 33:1240-1248.
- Gonzalez, C., Guevara, P., Alarcon, I., Hernando, M., Navajo, J.A., and Gonzalez-Buitrago, J.M. 2002. Antinuclear antibodies (ANA) screening by enzyme immunoassay with nuclear HEP-2 cell extract and recombinant antigens: analytical and clinical evaluation. *Clin Biochem* 35:463-469.
- Guldner, H.H. 1992. Mapping of epitopes recognized by anti-(U1) RNP autoantibodies. *Mol Biol Rep* 16:155-164.

- Gussin, H.A., Ignat, G.P., Varga, J., and Teodorescu, M. 2001. Anti-topoisomerase I (anti-Scl-70) antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 44:376-383.
- Hardin, J.A. 1986. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 29:457-460.
- Hardin, J.A., and Mimori, T. 1985. Autoantibodies to ribonucleoproteins. *Clin Rheum Dis* 11:485-505.
- Hargraves, M.M., Richmond, H., and Morton, R. 1948. Presentation of two bone marrow elements, "tart" cell and "LE" cell. *Proc Mayo Clin* 23:25-28.
- Harley, J.B. 1989. Autoantibodies in Sjogren's syndrome. *J Autoimmun* 2:383-394.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R. 1985. Anti-phospholipid antibodies. *Clin Rheum Dis* 11:591-609.
- Harris, E.N., Hughes, G.R., and Gharavi, A.E. 1986. Anti-cardiolipin antibodies and the lupus anticoagulant. *Clin Exp Rheumatol* 4:187-190.
- Harris, E.N., Loizou, S., Englert, H., Derue, G., Chan, J.K., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R. 1984. Anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant. *Lancet* 2:1099.
- Harris, E.N., Pierangeli, S.S., and Gharavi, A.E. 1998. Diagnosis of the antiphospholipid syndrome: a proposal for use of laboratory tests. *Lupus* 7 Suppl 2:S144-148.
- Hartung, K., Ehrfeld, H., Lakomek, H.J., Coldewey, R., Lang, B., Krapf, F., Muller, R., Schendel, D., Deicher, H., and Seelig, H.P. 1992. The genetic basis of Ro and La antibody formation in systemic lupus erythematosus. Results of a multicenter study. The SLE Study Group. *Rheumatol Int* 11:243-249.
- Hartung, K. und Seelig, H.P. 2006. Labordiagnostik der systemischen Autoimmunerkrankungen. Teil I: Kollagenosen. *Z Rheumatol* 65:709-724.
- Hassfeld, W., Chan, E.K., Mathison, D.A., Portman, D., Dreyfuss, G., Steiner, G., and Tan, E.M. 1998. Molecular definition of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R (hnRNP R) using autoimmune antibody: immunological relationship with hnRNP P. *Nucleic Acids Res* 26:439-445.
- Hemmerich, P., and von Mikecz, A. 2000. Antinuclear autoantibodies: fluorescent highlights on structure and function in the nucleus. *Int Arch Allergy Immunol* 123:16-27.
- Hernando, M., Gonzalez, C., Sanchez, A., Guevara, P., Navajo, J.A., Papisch, W., and Gonzalez-Buitrago, J.M. 2002. Clinical evaluation of a new automated anti-dsDNA fluorescent immunoassay. *Clin Chem Lab Med* 40:1056-1060.
- Herold, M., Klotz, W., Demel, U., Endler, G., Forster, E., Griesmacher, A. et al. 2015. International consensus on ANA determination - what changes in the German-speaking area? *LaboratoriumsMedizin* 39:145-152.
- Hochberg, M.C. 1997. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 40:1725.
- Holborow, E.J., Weir, D.M., and Johnson, G.D. 1957. A serum factor in lupus erythematosus with affinity for tissue nuclei. *Br Med J* 13:732-734.
- Holman, H.R., Deicher, H.R., and Kunkel, H.G. 1959. The L. E. cell and the L. E. serum factors. *Bull N Y Acad Med* 35:409-418.
- Holman, H.R., and Kunkel, H.G. 1957. Affinity between the lupus erythematosus serum factor and cell nuclei and nucleoprotein. *Science* 126:162.
- Hughes, G.R. 1984. Autoantibodies in lupus and its variants: experience in 1000 patients. *Br Med J (Clin Res Ed)* 289:339-342.
- Hughes, G.R., Harris, N.N., and Gharavi, A.E. 1986. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 13:486-489.
- Hunder, G. 1990. Immunogenetics and polymyalgia rheumatica. *Br J Rheumatol* 29:321-322.
- Imai, H., Fritzler, M.J., Neri, R., Bombardieri, S., Tan, E.M., and Chan, E.K. 1994. Immunocytochemical characterization of human NOR-90 (upstream binding factor) and associated antigens reactive with autoimmune sera. Two MR forms of NOR-90/hUBF autoantigens. *Mol Biol Rep* 19:115-124.
- Isshi, K., and Hirohata, S. 1996. Association of anti-ribosomal P protein antibodies with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 39:1483-1490.
- Jury, E.C., D'Cruz, D., and Morrow, W.J.W. 2001. Autoantibodies and overlap syndromes in autoimmune rheumatic disease. *J Clin Pathol* 54, 340-347.

- Kallenberg, C.G., Wouda, A.A., Hoet, M.H., and van Venrooij, W.J. 1988. Development of connective tissue disease in patients presenting with Raynaud's phenomenon: a six year follow up with emphasis on the predictive value of antinuclear antibodies as detected by immunoblotting. *Ann Rheum Dis* 47:634-641.
- Kartalov, E.P., Zhong, J.F., Scherer, A., Quake, S.R., Taylor, C.R., and Anderson, W.F. 2006. High-throughput multi-antigen microfluidic fluorescence immunoassays. *Biotechniques* 40:85-90.
- Kasukawa, R., Tojo, T., and Miyawaki, S. 1987. Preliminary diagnostic criteria for classification of mixed connective tissue disease. In *Mixed connective tissue disease and anti-nuclear antibodies*. R. Kasukawa, and G.C. Sharp, editors. Amsterdam: Elsevier. 41-47.
- Kavanaugh, A., Tomar, R., Reveille, J., Solomon, D.H., and Homburger, H.A. 2000. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. *Arch Pathol Lab Med* 124:71-78.
- Klemperer, P., Pollack, A.D., and Baehr, G. 1941. Pathology of disseminated Lupus erythematosus. *Arch Path* 32:569-631.
- Klemperer, P., Pollack, A.D., and Baehr, G. 1942. Diffuse collagen disease. Acute disseminated lupus erythematosus and diffuse scleroderma. *JAMA* 119:331-332.
- Konstantinov, K., Foisner, R., Byrd, D., Liu, F.T., Tsai, W.M., Wiik, A., and Gerace, L. 1995. Integral membrane proteins associated with the nuclear lamina are novel autoimmune antigens of the nuclear envelope. *Clin Immunol Immunopathol* 74:89-99.
- Korbet, S.M., Lewis, E.J., Schwartz, M.M., Reichlin, M., Evans, J., and Rohde, R.D. 2000. Factors predictive of outcome in severe lupus nephritis. Lupus Nephritis Collaborative Study Group. *Am J Kidney Dis* 35:904-914.
- Kremer, L., Alvaro-Gracia, J.M., Ossorio, C., and Avila, J. 1988. Proteins responsible for anticentromere activity found in the sera of patients with CREST-associated Raynaud's phenomenon. *Clin Exp Immunol* 72:465-469.
- Kumar, Y., Bhatia, A., and Minz, R.W. 2009. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagnostic Pathology* doi:10.1186/1746-1596-4-1
- Kurien, B.T., and Scofield, R.H. 2006. Autoantibody determination in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 64:227-235.
- Kuwana, M., Okano, Y., Kaburaki, J., Medsger, T.A., Jr., and Wright, T.M. 1999. Autoantibodies to RNA polymerases recognize multiple subunits and demonstrate cross-reactivity with RNA polymerase complexes. *Arthritis Rheum* 42:275-284.
- Landberg, G., Erlanson, M., Roos, G., Tan, E.M., and Casiano, C.A. 1996. Nuclear autoantigen p330d/CENP-F: a marker for cell proliferation in human malignancies. *Cytometry* 25:90-98.
- Lehmeier, T., Raker, V., Hermann, H., and Luhrmann, R. 1994. cDNA cloning of the Sm proteins D2 and D3 from human small nuclear ribonucleoproteins: evidence for a direct D1-D2 interaction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:12317-12321.
- Lerner, M.R., and Steitz, J.A. 1979. Antibodies to small nuclear RNAs complexed with proteins are produced by patients with systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:5495-5499.
- Liu, L.F., and Miller, K.G. 1981. Eukaryotic DNA topoisomerases: two forms of type I DNA topoisomerases from HeLa cell nuclei. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:3487-3491.
- Lorber, M., Gershwin, M.E., and Shoenfeld, Y. 1994. The coexistence of systemic lupus erythematosus with other autoimmune diseases: the kaleidoscope of autoimmunity. *Semin Arthritis Rheum* 24:105-113.
- Mack, G.J., Rees, J., Sandblom, O., Balczon, R., Fritzler, M.J., and Rattner, J.B. 1998. Autoantibodies to a group of centrosomal proteins in human autoimmune sera reactive with the centrosome. *Arthritis Rheum* 41:551-558.
- Maerker-Alzer, G. 1990. [Autoimmune reactions in rheumatic diseases]. *Internist (Berl)* 31:19-25.
- Mahler, M. 2011. Sm peptides in differentiation of autoimmune disease. *Adv Clin Chem* 54:109-128.
- Mahler, M., and Fritzler, M.J. 2012. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on HEp-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol* 2012:494356. doi: 10.1155/2012/494356.

- Mahler, M., Fritzler, M., and Blüthner, M. 2005. Identification of a SmD3 epitope with a single symmetrical dimethylation of an arginine residue as a specific target of a subpopulation of anti-Sm antibodies. *Arthritis Res Ther* 7:R19-R29.
- Mahler, M., Hanly, J.G., and Fritzler, M.J. 2012. Importance of the dense fine speckled pattern on HEp-2 cells and anti-DFS70 antibodies for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 11:642-645.
- Mahler, M., Meroni, P.L., Bossuyt, X., and Fritzler, M.J. 2014. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *J Immunol Res*, vol.2014, Article ID 315179, 18pages, 2014. doi:10.1155/2014/315179
- Mahler, M., Stinton, L.M., and Fritzler, M.J. 2005. Improved serological differentiation between systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease by use of a SmD3 peptide-based immunoassay. *Clin Diagn Lab Immunol* 12:107-113.
- Mannik, M., and Wener, M.H. 1997. Deposition of antibodies to the collagen-like region of C1q in renal glomeruli of patients with proliferative lupus glomerulonephritis. *Arthritis Rheum* 40:1504-1511.
- Mariz, H.A., Sato, E.I., Barbosa, S.H., Rodrigues, S.H., Dellavance, A., and Andrade, L.E.C. 2011. Pattern on the antinuclear antibody-HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 63:191-200.
- Martins, T.B., Burlingame, R., von Mühlen, C.A., Jaskowski, T.D., Litwin, C.M., and Hill, H.R. 2004. Evaluation of multiplexed fluorescent microsphere immunoassay for detection of autoantibodies to nuclear antigens. *Clin Diagn Lab Immunol* 11:1054-1059.
- Masi, A.T., Rodnan, G.P., Medsger, T.A., Jr., Altman, R.D., D'Angelo, W.A., Fries, J.F., LeRoy, E.C., Kirsner, A.B., MacKenzie, A.H., McShane, D.J., et al. 1980. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 23:581-590.
- Mathews, M.B., and Bernstein, R.M. 1983. Myositis autoantibody inhibits histidyl-tRNA synthetase: a model for autoimmunity. *Nature* 304:177-179.
- Maul, G.G., French, B.T., van Venrooij, W.J., and Jimenez, S.A. 1986. Topoisomerase I identified by scleroderma 70 antisera: enrichment of topoisomerase I at the centromere in mouse mitotic cells before anaphase. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:5145-5149.
- Mavragani, C.P., Tzioufas, A.G., and Moutsopoulos, H.M. 2000. Sjogren's syndrome: autoantibodies to cellular antigens. Clinical and molecular aspects. *Int Arch Allergy Immunol* 123:46-57.
- Melegari, A., Bonaguri, C., Russo, A., Luisita, B., Trenti, T., and Lippi, G. 2012. A comparative study on the reliability of an automated system for the evaluation of cell-based indirect immunofluorescence. *Autoimmun Rev* 11:713-716.
- Meroni, P.L., Biggioggero, M., Pierangeli, S.S., Sheldon, J., Zegers, I., and Borghi, M.O. 2014. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 10:35-43.
- Meroni, P.L., Bizzaro, N., Cavazzana, I., Borghi, M.O., and Tincani, A. 2014. Automated tests of ANA immunofluorescence as throughput autoantibody detection technology: strengths and limitations. *BMC Med* 12:38
- Meroni, P.L., and Schur, P.H. 2010. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis* 69:1420-1422.
- Mierau, R., and Genth, E. 2002. [New aspects in autoantibody diagnosis in collagen diseases]. *Z Rheumatol* 61:355-366.
- Miescher, P., and Strassle, R. 1957. New serological methods for the detection of the L.E. factor. *Vox Sang* 2:283-287.
- Miller, F.W., Waite, K.A., Biswas, T., and Plotz, P.H. 1990. The role of an autoantigen, histidyl-tRNA synthetase, in the induction and maintenance of autoimmunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:9933-9937.
- Miyachi, K., Fritzler, M.J., and Tan, E.M. 1978. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* 121:2228-2234.
- Molden, D.P., Nakamura, R.M., and Tan, E.M. 1984. Standardization of the immunofluorescence test for autoantibody to nuclear antigens (ANA): use of reference sera of defined antibody specificity. *Am J Clin Pathol* 82:57-66.
- Monier, J.C. 1990. Antinuclear antibodies: detection and diagnostic value. *Int J Rad Appl Instrum B* 17:713-718.

- Moore, A.E., Sabachewsky, L., and Toolan, H.W. 1955. Culture characteristics of four permanent lines of human cancer cells. *Cancer Res* 15:598-602.
- Moroi, Y., Peebles, C., Fritzler, M.J., Steigerwald, J., and Tan, E.M. 1980. Autoantibody to centromere (kinetochore) in scleroderma sera. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:1627-1631.
- Morrow, J., Nelson, J.L., Watts, R., and Isenberg D. 1999. *Autoimmune rheumatic disease*. Oxford: Oxford University Press.
- Nakamura, R.M., and Tan, E.M. 1992. Update on autoantibodies to intracellular antigens in systemic rheumatic diseases. *Clin Lab Med* 12:1-23.
- Neogi, T., Gladman, D.D., Ibanez, D., and Urowitz, M. 2006. Anti-dsDNA antibody testing by Farr and ELISA techniques is not equivalent. *J Rheumatol* 33:1785-1788.
- Nesher, G., Margalit, R., and Ashkenazi, Y.J. 2001. Anti-nuclear envelope antibodies: Clinical associations. *Semin Arthritis Rheum* 30:313-320.
- Nishikai, M., and Reichlin, M. 1980. Heterogeneity of precipitating antibodies in polymyositis and dermatomyositis. Characterization of the Jo-1 antibody system. *Arthritis Rheum* 23:881-888.
- Nossent, H., and Rekvig, O.P. 2001. Antinuclear antibody screening in this new millennium: farewell to the microscope? *Scand J Rheumatol* 30:123-126; discussion 127-128.
- Ochs, R.L., Lischwe, M.A., Spohn, W.H., and Busch, H. 1985. Fibrillarin: a new protein of the nucleolus identified by autoimmune sera. *Biol Cell* 54:123-133.
- Ochs, R.L., and Press, R.I. 1992. Centromere autoantigens are associated with the nucleolus. *Exp Cell Res* 200:339-350.
- Okada, N., Mimori, T., Mukai, R., Kashiwagi, H., and Hardin, J.A. 1987. Characterization of human autoantibodies that selectively precipitate the 7SL RNA component of the signal recognition particle. *J Immunol* 138:3219-3223.
- Olaussen, E, and Rekvig, O.P. 1999. Screening tests for antinuclear antibodies (ANA): selective use of central nuclear antigens as a rational basis for screening by ELISA. *J Autoimmun* 13:95-102.
- Peene, I., Meheus, L., Veys, E.M., and de Keyser, F. 2001. Detection and identification of antinuclear antibodies (ANA) in a large and consecutive cohort of serum samples referred for ANA testing. *Ann Rheum Dis* 60:1131-1136.
- Peter H.H, Pichler, W.J., and Müller-Ladner, U. 2012. *Klinische Immunologie*. München: Urban & Schwarzenberg.
- Pettersson, I., Wang, G., Smith, E.I., Wigzell, H., Hedfors, E., Horn, J., and Sharp, G.C. 1986. The use of immunoblotting and immunoprecipitation of (U) small nuclear ribonucleoproteins in the analysis of sera of patients with mixed connective tissue disease and systemic lupus erythematosus. A cross-sectional, longitudinal study. *Arthritis Rheum* 29:986-996.
- Pfeifle, J., Anderer, F.A., and Franke, M. 1986. Characterisation of nucleolar proteins as autoantigens using human autoimmune sera. *Ann Rheum Dis* 45:978-986.
- Pincus, T., Schur, P.H., Rose, J.A., Decker, J.L., and Talal, N. 1969. Measurement of serum DNA-binding activity in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 281:701-705.
- Pisetsky, D.S. 2011. Antinuclear antibodies in healthy people: the tip of autoimmunity's iceberg? *Arthritis Res Ther* 13:109-110.
- Price, C.M., McCarty, G.A., and Pettijohn, D.E. 1984. NuMA protein is a human autoantigen. *Arthritis Rheum* 27:774-779.
- Rattner, J.B. 1991. The structure of the mammalian centromere. *Bioessays* 13:51-56.
- Rattner, J.B., Mack, G.J., and Fritzler, M.J. 1998. Autoantibodies to components of the mitotic apparatus. *Mol Biol Rep* 25:143-155.
- Rattner, J.B., Martin, L., Waisman, D.M., Johnstone, S.A., and Fritzler, M.J. 1991. Autoantibodies to the centrosome (centriole) react with determinants present in the glycolytic enzyme enolase. *J Immunol* 146:2341-2344.
- Rattner, J.B., Rees, J., Whitehead, C.M., Casiano, C.A., Tan, E.M., Humbel, R.L., Conrad, K., and Fritzler, M.J. 1997. High frequency of neoplasia in patients with autoantibodies to centromere protein CENP-F. *Clin Invest Med* 20:308-319.

- Reeves, W.H., Nigam, S.K., and Blobel, G. 1986. Human autoantibodies reactive with the signal-recognition particle. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:9507-9511.
- Reichlin, M. 2000. ANA negative systemic lupus erythematosus sera revisited serologically. *Lupus* 9:116-119.
- Reichlin, M., Maddison, P.J., Targoff, I., Bunch, T., Arnett, F., Sharp, G., Treadwell, E., and Tan, E.M. 1984. Antibodies to a nuclear/nucleolar antigen in patients with polymyositis overlap syndromes. *J Clin Immunol* 4:40-44.
- Reichlin, M., and Reichlin, M.W. 1989. Autoantibodies to the Ro/SS-A particle react preferentially with the human antigen. *J Autoimmun* 2:359-365.
- Reimer, G. 1990. Autoantibodies against nuclear, nucleolar, and mitochondrial antigens in systemic sclerosis (scleroderma). *Rheum Dis Clin North Am* 16:169-183.
- Reimer, G., Rose, K.M., Scheer, U., and Tan, E.M. 1987. Autoantibody to RNA polymerase I in scleroderma sera. *J Clin Invest* 79:65-72.
- Riemekasten, G., and Hahn, B.H. 2005. Key autoantigens in SLE. *Rheumatology* 44:975-982.
- Riemekasten, G., Marell, J., Trebeljahr, G., Klein, R., Hausdorf, G., Häupl, Z., Schneider-Mergener, J., Burmester, G.R., and Hiepe, F. 1998. A novel epitope on the C-terminus of SmD1 is recognized by the majority of sera from patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 102:754-763.
- Rodriguez-Sanchez, J.L., Gelpi, C., Juarez, C., and Hardin, J.A. 1987. Anti-NOR 90. A new autoantibody in scleroderma that recognizes a 90-kDa component of the nucleolus-organizing region of chromatin. *J Immunol* 139:2579-2584.
- Rose N.R., and Mackay, I.R. 2006. *The autoimmune disease*. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Rubin, R.L., Bell, S.A., and Burlingame, R.W. 1992. Autoantibodies associated with lupus induced by diverse drugs target a similar epitope in the (H2A-H2B)-DNA complex. *J Clin Invest* 90:165-173.
- Rutjes, S.A., Vree Egberts, W.T., Jongen, P., Van Den Hoogen, F., Pruijn, G.J., and Van Venrooij, W.J. 1997. Anti-Ro52 antibodies frequently co-occur with anti-Jo-1 antibodies in sera from patients with idiopathic inflammatory myopathy. *Clin Exp Immunol* 109:32-40.
- Sack, U., Conrad, K., Csernok, E., Frank, I., Hiepe, F., Krieger, T., Kromminga, A., von Landenberg, P., Messer, G., Witte, T., Mierau, R., and German EASI (European Autoimmunity Standardization Initiative). 2009. Autoantibody detection using indirect immunofluorescence on HEp-2 cells. *Ann N Y Acad Sci* 1173:166-173.
- Salden, M.H., Van Eekelen, C.A., Habets, W.J., Vierwinden, G., Van de Putte, L.B., and Van Venrooy, W.J. 1982. Anti-nuclear matrix antibodies in mixed connective tissue disease. *Eur J Immunol* 12:783-786.
- Schwartz, R.S., and Datta, S.K. 1989. Autoimmunity and autoimmune disease. In *Fundamental Immunology*. W.E. Paul, editor. New York: Raven Press.
- Seelig, H.P., Moosbrugger, I., Ehrfeld, H., Fink, T., Renz, M., and Genth, E. 1995. The major dermatomyositis-specific Mi-2 autoantigen is a presumed helicase involved in transcriptional activation. *Arthritis Rheum* 38:1389-1399.
- Sequi, J., Leigh, I., and Isenberg, D.A. 1991. Relation between antinuclear antibodies and the autoimmune rheumatic diseases and disease type and activity in systemic lupus erythematosus using a variety of cultured cell lines. *Ann Rheum Dis* 50:167-172.
- Shanmugan, V.K., Swistowski, D.R., Saddic, N., Wang, H., and Steen, V.D. 2011. Comparison of indirect immunofluorescence and multiplex antinuclear antibody screening in systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 30:1363-1368.
- Sharp, G.C. 1987. Diagnostic criteria for classification of MCTD. In *Mixed connective tissue disease and anti-nuclear antibodies*. R. Kasukawa, and G.C. Sharp, editors. Amsterdam: Elsevier. 33-40.
- Sharp, G.C., Irvin, W.S., LaRoque, R.L., Velez, C., Daly, V., Kaiser, A.D., and Holman, H.R. 1971. Association of autoantibodies to different nuclear antigens with clinical patterns of rheumatic disease and responsiveness to therapy. *J Clin Invest* 50:350-359.
- Sharp, G.C., Irvin, W.S., May, C.M., Holman, H.R., McDuffie, F.C., Hess, E.V., and Schmid, F.R. 1976. Association of antibodies to ribonucleoprotein and Sm antigens with mixed connective-tissue disease, systematic lupus erythematosus and other rheumatic diseases. *N Engl J Med* 295:1149-1154.

- Sharp, G.C., Irvin, W.S., Tan, E.M., Gould, R.G., and Holman, H.R. 1972. Mixed connective tissue disease: an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am J Med* 52:148-159.
- Sherer, Y., Gorstein, A., Fritzler, M.J., and Shoenfeld, Y. 2004. Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus: more than 100 different antibodies found in SLE patients. *Semin Arthritis Rheum* 34:501-537.
- Shero, J.H., Bordwell, B., Rothfield, N.F., and Earnshaw, W.C. 1986. High titers of autoantibodies to topoisomerase I (Scl-70) in sera from scleroderma patients. *Science* 231:737-740.
- Shi, M.H., Tsui, F.W., and Rubin, L.A. 1991. Cellular localization of the target structures recognized by the anti-Jo-1 antibody: immunofluorescence studies on cultured human myoblasts. *J Rheumatol* 18:252-258.
- Shoenfeld, Y., Cervera, R., Haass, M., Kallenberg, C., Khamashata, M., Merone, P., Piette, J.C., Schmidt, R., and Wiik, A. 2007. EASI - The European Autoimmunity Standardisation Initiative: a new initiative that can contribute to agreed diagnostic models of diagnosing autoimmune disorders throughout Europe. *Ann N Y Acad Sci* 1109:138-144.
- Shovman, O., Gilburd, B., Zandman-Goddard, G., Yehiely, A., Langevitz, P., and Shoenfeld, Y. 2005. Multiplexed AtheNA multi-lyte immunoassay for ANA screening in autoimmune diseases. *Autoimmunity* 38:105-109.
- Sinclair, D., Saas, M., Williams, D., Hart, M., and Goswami, R. 2007. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies? - The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. *Clin Lab* 53:183-191.
- Smith, J., Onley, D., Garey, C., Crowther, S., Cahir, N., Johanson, A., Painter, S., Harradence, G., Davis, R., and Swarbrick, P. 2005. Determination of ANA specificity using the UltraPlex platform. *Ann N Y Acad Sci* 1050:286-294.
- Smolen, J.S., Butcher, B., Fritzler, M.J., Gordon, T., Hardin, J., Kalden, J.R., Lahita, R., Maini, R.N., Reeves, W., Reichlin, M., et al. 1997. Reference sera for antinuclear antibodies. II. Further definition of antibody specificities in international antinuclear antibody reference sera by immunofluorescence and western blotting. *Arthritis Rheum* 40:413-418.
- Smolen, J.S., Steiner, G., and Tan, E.M. 1997. Standards of care: the value and importance of standardization. *Arthritis Rheum* 40:410-412.
- Solomon, D.H., Kavanaugh, A.J., Schur, P.H., and the American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. 2002. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum* 47, 434-444.
- Stanek, D., Vencovsky, J., Kafkova, J., and Raska, I. 1997. Heterogenous nuclear RNP C1 and C2 core proteins are targets for an autoantibody found in the serum of a patient with systemic sclerosis and psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 40:2172-2177.
- Sullivan, K.F., and Glass, C.A. 1991. CENP-B is a highly conserved mammalian centromere protein with homology to the helix-loop-helix family of proteins. *Chromosoma* 100:360-370.
- Swaak, T., and Smeenk, R. 1985. Detection of anti-dsDNA as a diagnostic tool: a prospective study in 441 non-systemic lupus erythematosus patients with anti-dsDNA antibody (anti-dsDNA). *Ann Rheum Dis* 44:245-251.
- Szosteki, C., Krippner, H., Penner, E., and Bautz, F.A. 1987. Autoimmune sera recognize a 100 kD nuclear protein antigen (sp-100). *Clin Exp Immunol* 68:108-116.
- Szosteki, C., Will, H., Netter, H.J., and Guldner, H.H. 1992. Autoantibodies to the nuclear Sp100 protein in primary biliary cirrhosis and associated diseases: epitope specificity and immunoglobulin class distribution. *Scand J Immunol* 36:555-564.
- Tan, E.M. 1982. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): their immunobiology and medicine. *Adv Immunol* 33:167-240.
- Tan, E.M. 1982. Special antibodies for the study of systemic lupus erythematosus: an analysis. *Arthritis Rheum* 25:753-756.
- Tan, E.M. 1989. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol* 44:93-151.
- Tan, E.M. 1998. The L.E. cell and its legacy. 1948. *Clin Exp Rheumatol* 16:652-658.

- Tan, E.M., Cohen, A.S., Fries, J.F., Masi, A.T., McShane, D.J., Rothfield, N.F., Schaller, J.G., Talal, N., and Winchester, R.J. 1982. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25:1271-1277.
- Tan, E.M., Feltkamp, T.E., Smolen, J.S., Butcher, B., Dawkins, R., Fritzler, M.J., Gordon, T., Hardin, J.A., Kalden, J.R., Lahita, R.G., et al. 1997. Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis Rheum* 40:1601-1611.
- Tan, E.M., Fritzler, M.J., McDougal, J.S., McDuffie, F.C., Nakamura, R.M., Reichlin, M., Reimer, C.B., Sharp, G.C., Schur, P.H., Wilson, M.R., et al. 1982. Reference sera for antinuclear antibodies. I. Antibodies to native DNA, Sm, nuclear RNP, and SS-B/La. *Arthritis Rheum* 25:1003-1005.
- Tan, E.M., Schur, P.H., Carr, R.I., and Kunkel, H.G. 1966. Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 45:1732-1740.
- Tan, E.M., Smolen, J.S., McDougal, J.S., Butcher, B.T., Conn, D., Dawkins, R., Fritzler, M.J., Gordon, T., Hardin, J.A., Kalden, J.R., et al. 1999. A critical evaluation of enzyme immunoassays for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. I. Precision, sensitivity, and specificity. *Arthritis Rheum* 42:455-464.
- Tan, E.M., Smolen, J.S., McDougal, J.S., Fritzler, M.J., Gordon, T., Hardin, J.A., Kalden, J.R., Lahita, R.G., Maini, R.N., Reeves, W.H., et al. 2002. A critical evaluation of enzyme immunoassay kits for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. II. Potential for quantitation of antibody content. *J Rheumatol* 29:68-74.
- Targoff, I.N., Johnson, A.E., and Miller, F.W. 1990. Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum* 33:1361-1370.
- Theissen, H., Etzerodt, M., Reuter, R., Schneider, C., Lottspeich, F., Argos, P., Luhrmann, R., and Philipson, L. 1986. Cloning of the human cDNA for the U1 RNA-associated 70K protein. *Embo J* 5:3209-3217.
- Tomer, Y., Buskila, D., and Shoenfeld, Y. 1993. Pathogenic significance and diagnostic value of lupus autoantibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 100:293-306.
- Tonuttia, E., Bassetti, D., Piazza, A., Visentini, D., Poletto, M., Bassetto, F., Caciagli, P., Villalta, D., Tozzoli, R., and Bizzaro, N. 2004. Diagnostic accuracy of ELISA methods as an alternative screening test to indirect immunofluorescence for the detection of antinuclear antibodies. Evaluation of five commercial kits. *Autoimmunity* 37:171-176.
- Tozzoli, R., Bizzaro, N., Tonutti, E., Villalta, D., Bassetti, D., Manoni, F., Piazza, A., Pradella, M., and Rizzotti, P. 2002. Guidelines for the laboratory use of autoantibodies tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol* 117, 316-324.
- Tozzoli, R., Bonaguri, C., Melegari, A., Antico, A., Bassetti, D., and Bizzaro, N. 2013. Current state of diagnostic technologies in the autoimmunology laboratory. *Clin Chem Lab Med* 51:129-138.
- van Eenennaam, H., Vogelzangs, J.H., Bisschops, L., Te Boome, L.C., Seelig, H.P., Renz, M., De Rooij, D.J., Brouwer, R., Pluk, H., Pruijn, G.J., et al. 2002. Autoantibodies against small nucleolar ribonucleoprotein complexes and their clinical associations. *Clin Exp Immunol* 130:532-540.
- van Venrooij, W.J., Charles, P., and Maini, R.N. 1991. The consensus workshops for the detection of autoantibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases. *J Immunol Methods* 140:181-189.
- van Venrooij, W.J., and Maini, R.N., editors. 1994. *Manual of biological markers of disease*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Venables, P.J. 1997. Antibodies to Jo-1 and Ro-52: why do they go together? *Clin Exp Immunol* 109:403-405.
- Vitali, C., and Bombardieri, S. 1996. Sjogren's syndrome, mixed cryoglobulinaemia and the monoclonal gammopathies. *Clin Exp Rheumatol* 14 Suppl 14:S59-63.
- Vitali, C., Bombardieri, S., Moutsopoulos, H.M., Balestrieri, G., Bencivelli, W., Bernstein, R.M., Bjerrum, K.B., Braga, S., Coll, J., de Vita, S., et al. 1993. Preliminary criteria for the classification of Sjogren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum* 36:340-347.
- Vitali, C., Bombardieri, S., Moutsopoulos, H.M., Coll, J., Gerli, R., Hatron, P.Y., Kater, L., Kontinen, Y.T., Manthorpe, R., Meyer, O., et al. 1996. Assessment of the European classification criteria for Sjogren's syndrome in a series of clinically defined cases: results of a prospective multicentre study. The European Study Group on Diagnostic Criteria for Sjogren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 55:116-121.

- Voigt, J., Krause, C., Rohwäder, E., Saschenbrecker, S., Hahn, M., Danckwardt, M., Feirer, C., Ens, K., Fechner, K., Barth, E., Martinetz, T., and Stöcker, W. 2012. Automated indirect immunofluorescence evaluation of antinuclear autoantibodies on HEp-2 cells. *Clinical Developmental Immunology*, Article ID 651058, doi:10.1155/2012/651058.
- von Muhlen, C.A., and Tan, E.M. 1995. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 24:323-358.
- Watanabe, A., Koderä, M., Sugiura, K., Usuda, T., Tan, E.M., Takasaki, Y., Tomita, Y., and Muro, Y. 2004. Anti-DFS70 antibodies in 597 healthy hospital workers. *Arthritis Rheum* 50:892-900.
- Werle, E., Blazek, M., and Fiehn, W. 1992. The clinical significance of measuring different anti-dsDNA antibodies by using the Farr assay, an enzyme immunoassay and a Crithidia luciliae immunofluorescence test. *Lupus* 1:369-377.
- Whitehead, C.M., Fritzler, M.J., and Rattner, J.B. 1998. The relationship of ASE-1 and NOR-90 in autoimmune sera. *J Rheumatol* 25:2126-2130.
- Whitehead, C.M., and Rattner, J.B. 1998. Expanding the role of HsEg5 within the mitotic and post-mitotic phases of the cell cycle. *J Cell Sci* 111 (Pt 17):2551-2561.
- Wigand, R., Gottschalk, R., Falkenbach, A., Matthias, T., Kaltwasser, J.P., and Hoelzer, D. 1997. [Detection of dsDNA antibodies in diagnosis of systemic lupus erythematosus--comparative studies of diagnostic effectiveness of 3 ELISA methods with different antigens and a Crithidia luciliae immunofluorescence test]. *Z Rheumatol* 56:53-62.
- Wiik, A., Cervera, R., Haass, M., Kallenberg, C., Khamashta, M., Meroni, P.L., Piette, J.C., Schmitt, R., and Shoenfeld, Y. 2006. European attempts to set guidelines for improving diagnostics of autoimmune rheumatic disorders. *Lupus* 15:391-396.
- Wiik, A.S., Gordon, T.P., Kavanaugh, A.F., Lahita, R.G., Reeves, W., von Venroij, W., Wilson, M. R., Fritzler, M., and The IUIS/WHO/AF/CDC Committee for the Standardization of autoantibodies in rheumatic and related diseases. 2004. Cutting edge diagnostics in rheumatology: the role of patients, clinicians, and laboratory scientists in optimizing the use of autoimmune serology. *Arthritis Reum* 51:291-298.
- Wiik, A.S., Hoier-Madsen, M., Forslid, J., Charles, P. and Meyrowitsch, J. 2010. Antinuclear antibodies: a contemporary nomenclature using HEp-2 cells. *J Autoimmun* 35:276-290.
- Willitzki, A., Hiemann, R., Peters, V., Sack, U., Schierak, P., Rödiger, S., Anderer, U., Conrad, K., Bogdanos, D.P., Reinhold, D., and Roggenbuck, D. 2012. New platform technology for comprehensive serological diagnostics of autoimmune diseases. *Clinical Developmental Immunology*, Article ID 284740, doi:10.1155/2012/284740.
- Witte, T., Hartung, K., Matthias, T., Sachse, C., Fricke, M., Deicher, H., Kalden, J.R., Lakomek, H.J., Peter, H.H., and Schmidt, R.E. 1998. Association of IgA anti-dsDNA antibodies with vasculitis and disease activity in systemic lupus erythematosus. *SLE Study Group. Rheumatol Int* 18:63-69.
- Yasuma, M., Takasaki, Y., Matsumoto, K., Kodama, A., Hashimoto, H., and Hirose, S. 1990. Clinical significance of IgG anti-Sm antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 17:469-475.
- Zandman-Goddard, G., Gilburd, B., Shovman, O., Blank, M., Berdichevski, S., Langevitz, P., Shoenfeld, Y. 2005. The homogeneous multiplexed system - a new method for autoantibody profile in systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol* 12:107-111.