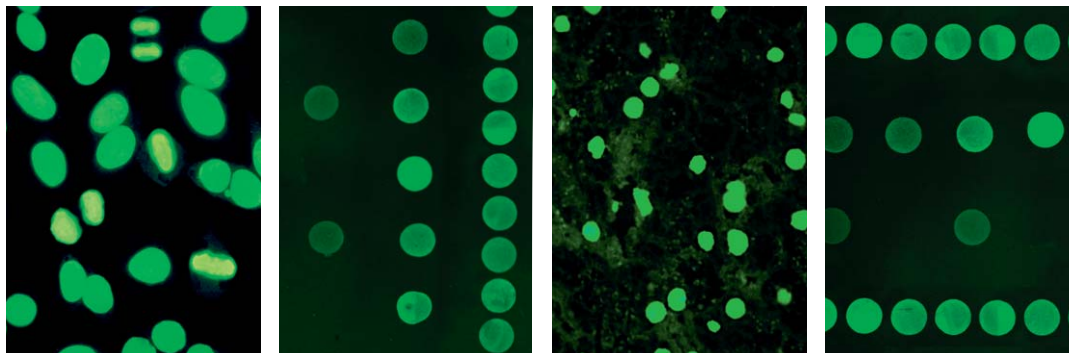




EUROPLUS® „ANA-Mosaik“



HEp-2-Zellen

Jo-1+Scl-70+SS-B

Primatenleber

nRNP/Sm+Sm+SS-A

Indikationen: Testsystem zur in-vitro-Bestimmung von Autoantikörpern gegen nukleäre Antigene (ANA) im menschlichen Serum oder Plasma zur Diagnostik rheumatischer Erkrankungen wie z.B. Systemischer Lupus erythematoses (SLE), Medikamenten-induzierter Lupus erythematoses, Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom), Rheumatoide Arthritis (RA), Progressive Systemsklerose (PSS), Dermato-/Polymyositis (DM/PM), Sjögren-Syndrom (SS), chronisch-aktive Autoimmunhepatitis (AIH).

Klinische Bedeutung: Der Nachweis von Autoantikörpern gegen Zellkernbestandteile (ANA) stellt für viele Autoimmunerkrankungen ein wesentliches Diagnostikum dar. ANA sind ein charakteristischer Befund bei verschiedenen Erkrankungen, vor allem bei solchen des rheumatischen Formenkreises (Prävalenz 20 bis 100%). Folglich ist die differenzierte ANA-Diagnostik zur Identifizierung der einzelnen rheumatischen Erkrankungen und zur Abgrenzung gegenüber anderen Autoimmunerkrankungen unabdingbar.

Autoimmunerkrankung	Autoantikörper gegen	Prävalenz ANA
SLE	dsDNS, Nukleosomen, Histone, Sm, rib. P-Proteine, Cardiophilin	95% - 100%
Medikamenten-induzierter LE	Histone	100%
MCTD	nRNP/Sm (U1-nRNP), ssDNS	100%
RA	Rheumafaktoren, citrullinierte Antigene, Histone, ssDNS	20% - 60%
PSS (diffuse Form)	Fibrillarin, PM-Scl, Scl-70, RNS-Polymerase I	85% - 95%
PSS (limitierte Form)	Zentromere	80% - 95%
PM/DM	PM-Scl, Jo-1, Mi-1, Mi-2, Ku, ssDNS	30% - 50%
SS	SS-A, SS-B, ssDNS, Speicheldrüsen-Ausführungsgänge	70% - 80%
AIH (Typ I)	ANA, ASMA, SLA/LP	20% - 40%

ANA sind ebenfalls bei anderen Autoimmunerkrankungen wie z.B. bei der Primär-biliären Leberzirrhose (PBC), bei Tumoren und bei der Virushepatitis nachweisbar. Auch bei subjektiv Gesunden finden sich Antikörper gegen Zellkerne, meistens mit niedrigen Titern (verschiedene Immunglobulinklassen, vorwiegend aber IgM).

Immunfluoreszenzmuster (HEp-2-Zellen) – vorwiegend assoziierte Antigene:

Zellkern				
homogen	peripher	granulär/feingranulär	gepunktet	nukleolär
dsDNS, ssDNS, Nukleosomen, Histone	Lamine, Gp210, p62	nRNP/Sm, SS-A/SS-B, Ku, PCNA, Mitosin	Nuclear Dots, Few Nucl. Dots, Zentromere	Scl-70, PM-Scl, Fibrillarin, RNS-Polymerase, NOR-90
Cytoplasma			Mitose	
granulär	feingranulär	filamentös	positiv	
AMA, Jo-1, Lysosomen, Golgi-Apparat	Rib. P-Proteine	Actin, Vimentin, Tropomyosin	Spindelapparat, Zentriolen, Trennzone, chrom.-assoz. Antigene	

Stellenwert der EUROPLUS® „ANA-Mosaik“: Antikörper gegen nukleäre Antigene werden standardmäßig bei entzündlichen rheumatischen Erkrankungen (insbesondere bei Kollagenosen) mittels indirekter Immunfluoreszenztechnik (IIFT) bestimmt. HEp-2-Zellen und Primatenleber bilden die Grundlage für das Screening in einer Stufendiagnostik: Es können zahlreiche diagnostisch relevante Autoantikörper anhand eines typischen Fluoreszenzmusters identifiziert werden. Mit Hilfe der Leber als Substrat im EUROPLUS® „ANA-Mosaik“ kann bereits anhand eines Vergleiches der Fluoreszenzmuster eine Vordifferenzierung der Autoantikörper sowie eine wechselseitige Absicherung der Muster stattfinden. Mittels EUROPLUS®-Technik kann eine monospezifische Analyse in nur einem Test-Ansatz erfolgen: Durch die Kombination herkömmlicher Substrate mit definierten Einzelantigenen können Ergebnisse des Screeningtests unmittelbar Antigen-spezifisch bestätigt werden. Wählbare Kombinationen der Einzelantigene aus einem großen Produktspektrum ermöglichen eine optimale, individuelle Diagnostik. Je nach Bedarf ist das EUROPLUS® „ANA-Mosaik“ auch als Substratkombination mit der Zelllinie HEp-20-10 verfügbar. Diese Zellen weisen eine erhöhte Anzahl mitotischer Zellen auf, wodurch Antikörper gegen Mitose-spezifische Strukturen leichter zu identifizieren sind. Zur Quantifizierung der Ergebnisse sollte nachfolgend ein entsprechender ELISA eingesetzt werden.



Test-Charakteristika EUROPLUS® „ANA-Mosaik“

Testprinzip: Das vorliegende Testsystem dient ausschließlich der in-vitro-Bestimmung humaner Antikörper in Patientenproben. Die Bestimmung kann qualitativ oder quantitativ erfolgen. Substrat-Kombinationen werden mit verdünnten Patientenproben inkubiert. Bei positiven Reaktionen binden sich spezifische Antikörper der Klassen IgA, IgG und IgM an die Antigene. Gebundene Antikörper werden in einem zweiten Inkubationsschritt mit Fluorescein-markierten Anti-Human-Antikörpern angefärbt und im Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht.

Testdurchführung: Objektträger mit EUROIMMUN-BIOCHIPS werden mit Hilfe der TITERPLANE®-Technik inkubiert. Dadurch können mehrere Proben gleichzeitig und direkt nebeneinander unter identischen Bedingungen inkubiert werden. Die Ergebnisse werden am Fluoreszenzmikroskop ausgewertet.

Inter-Chargen-Reproduzierbarkeit: Mindestens je ein positives und ein negatives Kontrollserum wurden je 2-fach zeitgleich mit mindestens 3 unterschiedlichen Chargen inkubiert. Die so für jede Probe ermittelte Schwankung in der Fluoreszenzintensität betrug maximal +/- 1 Intensitätsstufe.

Referenzbereich: Titer 1: < 100

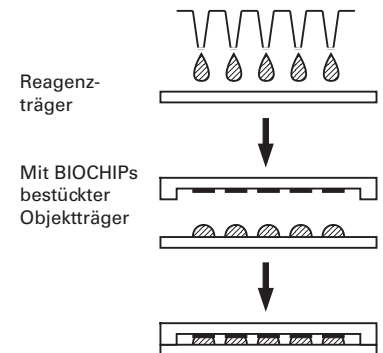
Spezifität und Sensitivität:

Substrat	Referenz (Probenanzahl, Probenherkunft)	Spezifität	Sensitivität
HEp-2-Zellen: ANA	ELISA + Blot: (n=128, Deutschland)	100 %	100 %
HEp-20-10-Zellen: ANA	IIFT: HEp-2 (n=413, Deutschland)	96 %	100 %
Primatenleber: ANA	IIFT: HEp-2 (n=263, Deutschland)	97 %	81 %
EUROPLUS®: SS-A	ELISA (n=1033, Deutschland)	98 %	90 %
EUROPLUS®: SS-B	ELISA (n=1044, Deutschland)	95 %	89 %
EUROPLUS®: nRNP/Sm	ELISA (n=1041, Deutschland)	99 %	78 %
EUROPLUS®: Sm	ELISA (n=1038, Deutschland)	99 %	77 %
EUROPLUS®: Jo-1	Blot (n=1044, Deutschland)	100 %	100 %
EUROPLUS®: Rib. P-Proteine	ELISA (n=450, Deutschland)	98 %	78 %
EUROPLUS®: Scl-70	ELISA (n=295, Deutschland)	100 %	75 %

Technische Daten:

Antigensubstrate	Humane Epithelzellen (HEp-2- bzw. HEp-20-10-Zellen), Primatenleber. <u>Nativ:</u> SS-A-Protein, SS-B-Protein, Jo-1-Protein, nRNP/Sm-Protein, Sm-Protein. <u>Rekombinant:</u> Scl-70-Protein, Ribosomale P-Proteine.
Probenverdünnung	Serum oder Plasma. Qualitativ: 1:100, quantitativ: 1:100/1000/10000 etc.
Konjugat	IgG
Testablauf	30 min (Probe) / 30 min (Konjugat), Raumtemperatur.
Mikroskopie	Objektiv: 40x Anregungsfilter: 488nm, Farbteiler: 510nm, Sperrfilter: 520nm Lichtquelle: EUROIMMUN-LED oder Quecksilberdampf Lampe, 100W.

Inkubation mit der TITERPLANE®-Technik



Übersicht ausgewählter EUROPLUS® ANA-Mosaik					
Bestellnummer	Bezeichnung	BIOCHIPS je Feld			
		1	2	3	4
FA 1510-####-10	EUROPLUS® „ANA-Mosaik 10“	HEp-2-Zellen	SS-A+SS-B		
FA 1512-####-10	EUROPLUS® „ANA-Mosaik 10A“	HEp-20-10-Zellen	SS-A+SS-B		
FA 1512-####-20	EUROPLUS® „ANA-Mosaik 20A“	HEp-20-10-Zellen	rib. P-Prot.+Jo-1	Primatenleber	SS-A+SS-B
FA 1512-####-22	EUROPLUS® „ANA-Mosaik 22A“	HEp-20-10-Zellen	SS-B+Scl-70+Jo-1	Primatenleber	nRNP/Sm+Sm+SS-A