



TEST ANTICORPS ANTI-NEUTROPHILES CYTOPLASMIQUES (ANCA)

IVD

ENCART DU PRODUIT

REF 37819 ANCA Kit (éthanol) 48 Tests

REF 37818 ANCA Kit (formol) 48 Tests

REF 37803 ANCA Kit (éthanol+formol) 48 Tests

REF 37821 Lamelle ANCA (PMN Humaine Fixée Ethanol) 6 Puits

REF 37822 Lamelle ANCA (PMN Humaine Fixée Formaline) 6 Puits

REF 37820 Lamelle c+ANCA (PMN Humaine Fixée Ethanol/Formaline) 6+6 Puits

REF 39497 ANCA (PMN Humaines fixées à l'Éthanol) Lamelle 12 Puits

REF 39498 ANCA (PMN Humaines fixées à la Formaline) Lamelle 12 Puits

Test par immunofluorescence indirecte pour la recherche et la détermination semi- quantitative des anticorps des anti-neutrophiles cytoplasmiques (ANCA) dans le sérum humain. Les ANCA sont mis en évidence dans le sérum de patients atteints d'angéite nécrosante, et donc, associés aux signes cliniques et à d'autres examens biologiques, ils se révèlent d'une grande aide pour le diagnostic de ces maladies.

GENERALITES

Les ANCA sont présents dans le sérum de patients atteints de granulomatose de Wegener, de polyartérites microscopiques, de néphrite glomérulaire nécrosante ou en croissant, ainsi que d'autres angéites et troubles inflammatoires intestinaux (colite ulcéreuse primaire)¹⁻¹¹. L'image par immunofluorescence indirecte des neutrophiles fixés à l'éthanol peut se présenter sous différentes formes parmi lesquelles on retrouve :

1. Les anticorps dirigés contre les antigènes cytoplasmiques de neutrophiles donnant une coloration cytoplasmique diffuse (c-ANCA).
2. Les anticorps dirigés contre les antigènes des neutrophiles donnant une fluorescence périnucléaire (p-ANCA).
3. Les anticorps dirigés contre les antigènes nucléaires (ANA).

Ces deux types d'ANCA ont une signification différente¹². Les c-ANCA sont principalement retrouvés chez les patients atteints de granulomatose de Wegener et de polyartérite microscopique, tandis que les p-ANCA sont associés à divers troubles angéitiques comme la recto-colite hémorragique (CU), et l'angiocolite scléreuse (CPS). Chez 80% des patients où l'on retrouve les p-ANCA, sont présents des signes histologiques d'angéite, de CU ou de CPS. Les ANCA sont présents chez plus de 90% des patients atteints de maladie de Wegener active et généralisée, et chez 67% d'entre eux dans sa forme active et limitée. La fréquence des ANCA fluctue avec la rémission de la maladie. Les patients atteints de maladie de Wegener en phase active peuvent exceptionnellement avoir un test ANCA négatif.

Dans ce cas cependant, un contrôle ultérieur devrait montrer une réactivité positive¹. La méthode d'immunofluorescence indirecte avec microscope est considérée comme la technique de référence pour la détection des ANCA. La fixation des antigènes PMN est habituellement réalisée avec de l'éthanol. En se fixant sur l'éthanol, 2 types de fluorescence ANCA ont été identifiées: cytoplasmique (c-ANCA) et périnucléaire (p-ANCA). Les réactions de type p-ANCA sont confirmées en renouvelant le test sur des lames fixées au formol. Dans ce cas, les réactions p-ANCA deviennent c-ANCA là où les réactions ANA restent nucléaires ou deviennent négatives en se fixant sur le formol.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Avec la méthode d'immunofluorescence indirecte utilisée dans ce kit, les sérums des patients sont incubés sur des préparations optimisées de neutrophiles humains, ce qui permet la fixation des anticorps avec le substrat tissu. Un rinçage de la lame élimine tous les anticorps non fixés. Une incubation du substrat avec un conjugué anti-IgG humaines, marqué à la fluorescéine, permet la détection des anticorps de classe IgG fixés. Les réactions sont observées sous un microscope à fluorescence équipé des filtres appropriés. Une fluorescence vert pomme du cytoplasme montre la présence d'ANCA, coloration diffuse granulaire cytoplasmique (c-ANCA) ou coloration périnucléaire. Le titre du sérum (la dernière dilution donnant une réaction positive) est alors déterminé par dilutions successives¹³.


INFORMATION PRODUIT
Conservation et préparation des réactifs

Conserver tous les réactifs entre 2° et 8°C. Tous les réactifs sont prêts à l'emploi. Avant utilisation, attendre que les réactifs atteignent l'équilibre à la température ambiante du laboratoire.

Matériel fourni









[REF] 37819 ANCA Kit (éthanol) 48 Tests	
[REF] 37818 ANCA Kit (formol) 48 Tests	
[REF] 37803 ANCA Kit (éthanol+formol) 48 Tests	
8 x	SORB SLD 6 Lames 6 puits avec substrat de neutrophiles humains (fixés à l'éthanol) ([REF] 37819)
8 x	SORB SLD 6 Lames 6 puits de neutrophiles humains (fixés au formol) ([REF] 37818)
8 x	SORB SLD 6+6 Lames 12 puits de neutrophiles humains [6 éthanol/6 formol] ([REF] 37803)
1 x 0,5 ml	CONTROL + ANCA * Contrôle positif cANCA, contient du sérum humain avec BSA ([REF] 37819, 37803)
1 x 0,5 ml	CONTROL + pANCA * Contrôle positif pANCA, contient du sérum humain avec BSA ([REF] 37818, 37803)
1 x 0,5 ml	CONTROL - * Contrôle négatif, contient du sérum humain avec BSA ([REF] 37819, 37818, 37803)
1 x 5,0 ml	IgG-CONJ FITC EB * Conjugué FITC anti-IgG humaines avec Coloration d'Evans, contient du BSA. Maintenir à l'abri de la lumière ([REF] 37819, 37818, 37803)
1 x 60 ml	BUF * Diluant Sérum, contient du BSA ([REF] 37819, 37818, 37803)
2 flacons	BUF WASH Tampon Phosphate Salin (PBS), Dissoudre chaque flacon dans 1 litre ([REF] 37819, 37818, 37803)
1 x 5,0 ml	MOUNTING MEDIUM * Milieu de montage. Ne pas congeler ([REF] 37819, 37818, 37803)
1 x 12 ml	COVER SLD Lamelles couvre-lames ([REF] 37819, 37818, 37803)

* contient < 0.1 % NaN₃

Autres réactifs disponibles chez Menarini

	[REF]
Lame 6 puits de neutrophiles humains (fixés à l'éthanol)	37821
Lame 6 puits de neutrophiles humains (fixés au formol)	37822
Lame 6+6 puits de neutrophiles humains Ethanol + Formol	
Lame Substrat (fixé à l'éthanol et au formol)	37820
Lamelle 12 puits Substrat Neutrophiles Humains (fixés à l'éthanol)	39497
Lamelle 12 puits Substrat Neutrophiles Humains (fixés au formol)	39498
1 x 0.5 ml Contrôle Positif cANCA , contient du sérum humain avec BSA	38031
1 x 0.5 ml Contrôle Positif pANCA , contient du sérum humain avec BSA	37983
1 x 5 ml Conjugué FITC anti-IgG humaines	38009
1 x 1.0 ml Contre-coloration d'Evans	38014

**Symboles utilisés sur les étiquettes:**

-  Numéro de lot
-  Numéro de référence catalogue
-  A utiliser avant
-  Température de conservation
-  Lire les instructions d'utilisation
-  Pour usage diagnostique In vitro
-  Fabricant
-  Nombre de tests

Matériel nécessaire mais non fourni

- Microscope à fluorescence
- Micropipette ou pipette Pasteur
- Pipettes sérologiques
- Bac à coloration pour le lavage des lames (type Coplin)
- Petits tubes (ex : 13 X 75 mm) et porte tubes
- Eau distillée ou déionisée
- Eprouvette graduée 1l
- Flacon pour solution de lavage
- Serviettes en papier
- Chambre d'incubation

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

Utilisation comme test de diagnostic *in vitro*. Le matériel d'origine humaine utilisé dans la préparation des réactifs a été testé en respectant les recommandations de la FDA et résulte non réactif aux antigènes de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs), en anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C (anti-HCV) et en anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine (anti-VIH1, anti-VIH2 et HTLV-I). Du fait qu'aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage¹⁴.

ATTENTION - Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium (NaN_3). Ce composé peut former dans les canalisations en plomb ou en cuivre des azotures métalliques hautement explosifs. Afin d'éviter la formation et l'accumulation de tels azotures dans les canalisations, rincer l'évier à grande eau lors de l'élimination de ces réactifs. L'azide de sodium est toxique en cas d'ingestion. En cas d'ingestion, informer immédiatement le responsable du laboratoire et contacter le centre antipoison.

La qualité des résultats est dépendante du respect des instructions figurant dans la présente notice. Ne pas échanger des réactifs du kit par d'autres provenant d'autres fabricants. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Utiliser uniquement du sérum pour réaliser ces tests. Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums fortement hémolysés, lipémiques ou sujets à une contamination bactérienne car cela peut provoquer des interférences et modifier les performances du test. Conserver les sérums entre 2 et 8°C pendant maximum une semaine. Pour une conservation plus longue, congeler les sérums à -20°C. Éviter les congélations/décongélations successives des sérums.

**MODE OPÉRATOIRE****A. Dépistage**

1. Diluer chaque sérum de patient au 1:20 dans le diluant échantillon fourni (50µl de sérum + 1 .0ml de diluant). Ne pas diluer les contrôles positifs ou négatifs. Conserver le sérum non dilué pour déterminer le titre des anticorps dans le cas où le dépistage serait positif.
2. Laisser les lames prendre la température du laboratoire pendant 10-15 minutes dans le sachet scellé. Sortir les lames avec précaution sans toucher le substrat.
3. Numérotter les lames et les placer dans la chambre humidifiée avec des serviettes en papier mouillées pour éviter le dessèchement.
4. Retourner le flacon doseur et appuyer doucement pour déposer 1 goutte (environ 50µl) de Contrôle Négatif sur le puits n°1. De la même façon déposer 1 goutte de Contrôle Positif sur le puits n°2. Eviter de déborder des puits.
5. A l'aide d'une micropipette ou d'une pipette Pasteur, déposer 1 goutte (environ 50µl) de sérum dilué dans les puits restants. Eviter de déborder des puits.
6. Replacer le couvercle sur la chambre et incuber les lames 30 minutes à température ambiante.
7. Sortir une lame de la chambre d'incubation. En la tenant par un bord, rincer doucement avec une pipette contenant environ 10 ml de PBS ou rincer la lame dans un becher rempli de PBS. Ne pas utiliser de pissette. Transférer immédiatement la lame dans un bac à coloration et laver pendant 10 minutes. Répéter les opérations avec toutes les lames.
8. Retirer une (les) lame(s) du bac de coloration. Eliminer l'excès de PBS avec une serviette en papier. Déposer la lame dans la chambre d'incubation. Retourner les flacons doseurs de conjugué et déposer immédiatement 1 goutte (environ 50µl) dans chaque puits.
9. Répéter les étapes **7** et **8** avec chaque lame.
10. Replacer le couvercle sur la chambre d'incubation et incuber 30 minutes à température ambiante.
11. Sortir une lame de la chambre d'incubation. En la tenant par un bord, plonger la lame dans un becher rempli de PBS pour éliminer l'excès de conjugué. Transférer dans un bac à coloration rempli de PBS pendant 10 minutes. Si un supplément de conjugué sans contre-coloration est utilisé (voir composé en option dans la Section Matériel Fourni), 2-3 gouttes de contre-coloration bleue d'Evans peuvent être ajoutée au lavage final. Répéter les opérations avec toutes les lames. REMARQUE: Un lavage incorrect peut altérer la morphologie des neutrophiles et augmenter le bruit de fond de fluorescence.
12. Retirer une lame du bac. Eliminer l'excès de PBS avec une serviette en papier. **Pour éviter de mettre à sec les puits, réaliser immédiatement l'étape 13 pendant que la lame est encore humide.**
13. Déposer doucement **1 goutte** de milieu de montage dans chaque puits et appliquer la lamelle couvre-lame. Ne pas appliquer de pression excessive et éviter les mouvements latéraux de la lamelle.
14. Répéter les étapes **12** et **13** avec chaque lame.
15. Observer la fluorescence spécifique à l'aide d'un microscope au grossissement X200 ou plus.

Les lames peuvent être lues immédiatement. Cependant, grâce à la présence d'un agent anti-fading dans le milieu de montage, la lecture peut être retardée jusqu'à 48 heures sans perte significative de l'intensité de fluorescence. Dans ce cas, les lames doivent être conservées à l'obscurité et entre 2 et 8°C.

B. Détermination du titre par les dilutions en cascade

Un sérum trouvé positif au test de dépistage peut être retesté en suivant les étapes 5 à 13 afin de déterminer son titre. Inclure dans chaque nouvelle série un contrôle positif et négatif. Les dilutions en série de 2 en 2 sont réalisées à partir du 1:20. Le titre du sérum est défini par la dernière dilution donnant une fluorescence positive.



Préparation des dilutions en série.

Numéroter quatre tubes de 1 à 4. Ajouter 1.0 ml de diluant échantillon dans le tube 1 et 0.2 ml dans les tubes 2 à 4. Pipeter 50 µl de sérum pur dans le tube 1 et agiter soigneusement. Transférer 0.2 ml du tube 1 dans le tube suivant et agiter soigneusement. Continuer à transférer 0.2 ml d'un tube à l'autre en mélangeant bien chaque tube pour arriver aux dilutions suivantes :

Tubes	1	2	3	4
Sérum	0,05 ml +			
Diluant Echantillon	1,0 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Transfert		↗ 0,2 ml	↗ 0,2 ml	↗ 0,2 ml
Dilution finale	1:20	1:40	1:80	1:160 etc.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Un contrôle positif et un contrôle négatif doivent être inclus dans chaque série. Le contrôle négatif ne doit pas donner d'image fluorescente sur les neutrophiles, tandis qu'avec le contrôle positif on obtient, sur les lames fixées à l'éthanol, une fluorescence 2+ ou supérieure du cytoplasme des neutrophiles, dans le cas d'un contrôle c-ANCA et périnucléaire dans le cas d'un contrôle p-ANCA. Sur lames fixées au formol, le contrôle positif c-ANCA reste cytoplasmique tandis que celui du p-ANCA deviendra cytoplasmique.

Dans le cas où les contrôles ne donnent pas les résultats attendus, il est recommandé de refaire le test. Si le problème persiste, cela peut être lié à :

- La turbidité. Eliminer le contrôle et en utiliser un nouveau.
- Au système optique du microscope. Par exemple: mauvais alignement, lampe ayant dépassé sa durée de vie, etc.
- A un assèchement des lames pendant la manipulation.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats des tests ANCA sont à considérer négatifs (<20), ou positifs (> ou = 160), ou de préférence, positifs avec le titre et le type de fluorescence. Préciser s'il s'agit d'une fluorescence spécifique, cytoplasmique (c-ANCA) ou périnucléaire (p-ANCA). Certains autres anticorps, comme les anticorps antinucléaires (ANA), donnent parfois des réactions similaires aux p-ANCA. Différentes images d'ANCA sur lames éthanol et formol sont présentées à la fin du document.

LIMITES D'UTILISATION

Parfois un sérum ANCA positif peut donner un résultat faiblement positif ou négatif à la dilution de dépistage (effet de zone).

Dans ces cas douteux, les sérums devront être testés à des dilutions supérieures et, si le résultat est positif, déterminer le titre des anticorps.

Parfois la présence de deux ou plus anticorps différents dans le sérum ayant une réactivité vis à vis du même substrat peut créer des interférences pour la détection en immunofluorescence. Cela peut masquer la détection de l'ANCA ou cacher le titre si l'anticorps qui interfère a un titre plus élevé que celui des ANCA. Le cas le plus fréquemment rencontré dans le test des ANCA est une interférence avec les ANA.

Chez certains patients atteints de maladie de Wegener, le test des ANCA pourra être négatif. Un contrôle réalisé ultérieurement peut montrer une positivité du sérum. Les sérums de patients atteints de la maladie de Wegener qui suivent un traitement sont toujours négatifs sur le test ANCA. Certaines réactions d'ANA peuvent parfois gêner ou mimer une image p-ANCA. Pour confirmer la réactivité p-ANCA, les sérums doivent être retestés sur lames fixées au formol ou sur lames HEp2 pour les ANA. Les échantillons p-ANCA sur lames fixées au formol donnent

une image c-ANCA, tandis que les réactions des ANA sur ces mêmes lames donnent une image négative ou nucléaire. Les anticorps anti-cytokératine peuvent résulter en fausse réaction positive c-ANCA¹⁵.

Le test sur cellules HEp2 permet alors de distinguer les réactions «pseudo-ANCA» des vraies réactions c-ANCA.

Le titre de l'anticorps n'est pas toujours corrélé à l'activité de la maladie. Les résultats ANCA doivent être interprétés avec les signes cliniques et la présence ou l'absence d'ANCA ne peut pas directement indiquer la présence d'une angéite.

Les résultats ANCA positifs en immunofluorescence doivent être confirmés par une technique ELISA. Certaines spécificités antigéniques sont préférentiellement associées à un type d'angéite. Par ailleurs des ANCA sont retrouvés dans le sérum de patients atteints de désordres immunologiques autres que les angéites, comme la rectocolite hémorragique^{7,8}.

VALEURS ATTENDUES

Soixante quatre (64) échantillons extraits d'une population normale ont été testés en ANCA. Tous les échantillons ont donné un résultat négatif à la dilution 1:20.

Un résultat ANCA positif est utile pour le diagnostic des angéites et maladies inflammatoires intestinales^{7,11}. La conformation c-ANCA est fréquemment associée à la maladie de Wegener et la conformation p-ANCA à la micropolyangéite, à la néphrite glomérulaire idiopathique à croissant et à la rectocolite hémorragique^{7,11}. Dans d'autres angéites (périartérite noueuse, maladie de Takayasu, maladie de Behcet) les ANCA sont rares ou absents. La prévalence des ANCA dans la maladie de Wegener et autres vascularites, extraite des données de la littérature est présentée dans le tableau 1, à la fin du document. Dans le projet européen d'étude de standardisation des ANCA, Hagan et ses collaborateurs¹⁶ ont montré l'importance de l'immunofluorescence indirecte pour le diagnostic des vascularites systémiques idiopathiques. Dans cette étude, les ANCA sont présents dans 85% des sérums de patients atteints de maladie de Wegener, et parmi ceux-ci, 64% sont positifs c-ANCA et 21% positifs p-ANCA. Les p-ANCA sont plus fréquents que les c-ANCA dans la polyangéite microscopique (58% contre 23%) avec une sensibilité de 81% dans la polyangéite microscopique et de 82% dans la néphrite glomérulaire idiopathique à croissant.

Lors de bilan de santé ou de maladie, l'ANCA était présente dans respectivement 19% et 6 % des cas, présentant donc une spécificité de 76% dans le groupe contrôle de malades et de 94% dans la population normale (Tableau 2 à la fin du document).

Cependant la valeur prédictive positive des ANCA est bien meilleure et plus significative lorsque le résultat est interprété avec dossier clinique. Dans leur éditorial, Jennette Wilmant et Falk¹⁷, ont montré que la valeur prédictive positive est de 92% chez les patients ayant un dosage de créatinine >3mg/dl. De même, chez les patients ayant une valeur prédictive positive initiale faible, un résultat ANCA positif augmente la probabilité de déclencher la maladie. Les auteurs concluent que la recherche d'ANCA chez les patients ayant des signes cliniques évidents de glomérulonéphrite extra-capillaire est utile pour confirmer le diagnostic, alors que chez les patients ayant des signes cliniques diffus, cette même recherche permet d'éliminer le diagnostic d'angéites.

PERFORMANCES

Le test ANCA, Anticorps Anti-Neutrophiles Cytoplasmiques, de Menarini™ a été utilisé en parallèle avec un autre test ANCA d'immunofluorescence indirecte. 129 sérums provenant d'un laboratoire spécialisé dans la détection des anticorps ont été inclus dans l'étude comparative. Ces échantillons ont été testés en respectant le mode opératoire recommandé par chaque fabricant. Les résultats sont les suivants:

		Menarini™		
		Positifs	Négatifs	Total
Autre	Positifs	49	0	49
	Négatifs	7	73	80
	Total	56	73	129

Spécificité Relative: 91%

Sensibilité Relative: 100%

Concordance: 95%



Les sept sérums discordants entre les deux tests d'immunofluorescence ont été retestés en ELISA pour la recherche des anticorps dirigés contre les deux principales cibles antigéniques, la myéloperoxydase (MPO) et la protéinase 3 (PR3).

Sur les sept sérums positifs avec ELISA et négatifs avec l'autre test, tous sauf un ont été trouvés positifs en ELISA, ce qui montre que ces échantillons sont plus vraisemblablement de vrais positifs.

Réactivité croisée:

Les anticorps antinucléaires (ANA) peuvent donner une réaction positive sur les neutrophiles. Pour définir la réactivité des ANA sur les neutrophiles, que l'on peut confondre avec la réactivité des ANCA, 25 sérums ANA positifs de spécificités différentes ont été testés sur des lames fixées à l'éthanol, au formol et des lames COMVI. Avec tous les sérums, à l'exception des spécificités SS-A (Ro) et SS-B (La), on observe une image de conformation nucléaire. Cette image est conservée ou disparaît sur les lames fixées au formol.

Reproductibilité:

Des études ont été réalisées pour définir la répétitivité intra-essai et la reproductibilité inter-essai. Quatre sérums ANCA positifs (deux c-ANCA et deux p-ANCA) et un sérum ANCA négatif ont été testés à partir de la dilution 1:20 jusqu'à la dilution du titre. 3 lots différents ont été utilisés pour chaque type de lames, éthanol, formol et COMVI pendant quatre jours pour déterminer l'intra et l'inter-reproductibilité. Dans tous les cas, le sérum négatif et les sérums positifs ont donné les résultats attendus.

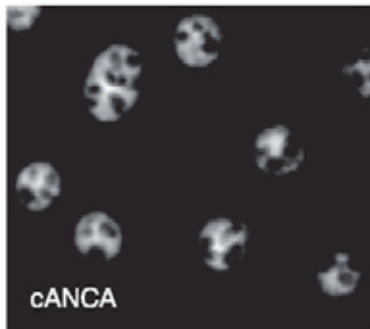


REFERENCES • BIBΛIOΓPAΦIA • LITERATUR • BIBLIOGRAPHIE • BIBLIOGRAFIA

1. Nölle B, Specks U, Lüderman J, Rohrbach M, DeRemee RA and Gross WL. Anticytoplasmic antibodies: Their immunodiagnostic value in Wegener's granulomatosis. *Ann Int Med* 111: 28-40, 1989.
2. Venning MC, Quinn A, Broomhead V and Bird AG. Antibodies directed against neutrophils (cANCA and pANCA) are of distinct diagnostic value in systemic vasculitis. *Quart J Med* 77: 1287-1 296, 1990.
3. Van der Woude FJ, Daha MR and Van Es LA. The current status of neutrophil cytoplasmic antibodies. *Clin Exp Immunol* 78: 143-1 48, 1989.
4. Specks U, Wheatley CL, McDonald TJ, Rohrbach MS and DeRemee RA. Anticytoplasmic autoantibodies in the diagnosis and follow up of Wegener's granulomatosis. *Mayo Clin Proc* 64: 28-36, 1989.
5. Tervert JWC, van der Woude FJ, Fauci AS and Ambrus JL. Association between active Wegener's granulomatosis and anticytoplasmic antibodies. *Arch Int Med* 149: 2461-2465, 1989.
6. Cross CE and Lillington GA. Serodiagnosis of Wegener's granulomatosis: Pathobiologic and clinical implications. *Mayo Clin Proc* 64: 119-1 22, 1989.
7. Seibold F, Slametschka D, Gregor X and Weber P. Neutrophil Autoantibodies: A genetic marker in primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. *Gastroenterol* 107:532-536, 1994.
8. Claise C, Johanet C, Bouhnik Y et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in autoimmune liver and inflammatory bowel diseases. *Liver* 16:28-34, 1996.
9. Gigase P, DeClerck LS, Van Cotthem KA et al. Anti-Neutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease with special attention for IgA-class antibodies. *Dig Dis and Sci* 42:2171 -2174, 1997.
10. Shanahan F. Neutrophil autoantibodies in inflammatory bowel disease: Are they important? *Gastroenterol* 107:586-589, 1994.
11. Shanahan F and Bernstein CN. ANCAs weigh in colitis. *Gastroenterol* 105:946-947, 1993.
12. Lüdemann J, Utecht B and Gross WL. Laboratory methods for detection of antineutrophil cytoplasm antibodies. *Clin Immunol Newsletter* 10:159-166, 1990.
13. Beutner EH, Kumar V, Krasny SA and Chorzelski TP. Defined immunofluorescence in immunodermatology. In "Immunopathology of the Skin", Beutner EH, Chorzelski TP and Kumar V, Eds, John Wiley and Sons, New York, 3rd Ed, 3-40, 1987.
14. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Center for Disease Control, National Institute for Health, HHS Pub. No {CDC} 93-8395) 1993.
15. Streicher J, Fabian B, Herkner K et al. Anti-cytokeratins are a potential source of false positive indirect immunofluorescence assays for cANCA. *J Clin Lab Analysis*. 12:54-59, 1998.
16. Hagen CF, Daha MR, Hermand J et al. Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. *Kidney Int* 53:743-753, 1998.
17. Jennette JC, Wilkman AS, Falk RJ. Diagnostic predictive value of ANCA serology. *Kidney Int* 53:796-798, 1998.



ANCA Reactions on Ethanol Fixed Slides



ANCA Reactions on Formalin Fixed Slides

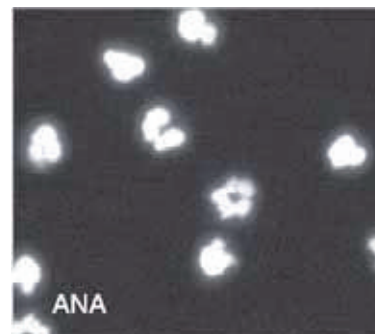
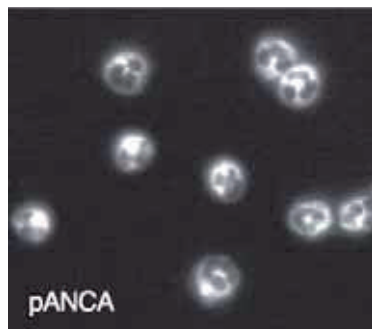


Table 1: Prevalence of ANCA¹

Clinical Condition	% Positive
Wegener's granulomatosis	
Generalized	
Active	96
Partial remission	71
Full remission	41
Local recurrence	80
Localized	
Active	67
Partial remission	54
Full remission	32
Inflammatory Bowel Disorders	
Ulcerative colitis	70
Primary sclerosing cholangitis	82
Crohn's disease*	27
Disease Controls	
Blood Donors	0
Connective tissue autoimmune disorders**	5
Misc. medical conditions	0
Granulomatosis disease	0
Primary renal disease	1

* ANCA titers are usually low ** ANCA Reactivity is pANCA



Table 2: Sensivity and Specificity of the IF Test in Patients with Systemic Vasculitides (Adapted from reference 16)

	N	cANCA	Sensitivity %	
			pANCA	c or pANCA
Patients				
Wegener's granulomatosis	97	64	21	85
Microscopic polyangitis	44	23	58	81
Idiopathic RPGN	12	36	45	81
Classical polyarteritis nodosa	10	10	30	40
Churg-Strauss syndrome	6	33	33	66
			Specificity %	
Controls				
Disease Controls	184	95	81	76
Healthy controls	740	98	96	94



A. Menarini Diagnostics S.r.l.
via Sette Santi 3
50131 Firenze
Italia

UK

UNITED KINGDOM

Distributed by

A. Menarini Diagnostics Ltd
405 Wharfedale Road
Winnersh - Wokingham
Berkshire RG41 5RA

EL

Διανέμεται στην
ΕΛΛΑΔΑ από την

A. Menarini Diagnostics S.A.
575, Vouliagmenis Ave.
16451 Argypoulos
Attiki

ES

ESPAÑA

Distribuido por

A. Menarini Diagnostics
S.A.
Avenida del Maresme, 120
08918 Badalona
Barcelona

DE

DEUTSCHLAND

Vertrieb durch

A. Menarini Diagnostics
Eine Division der Berlin-
Chemie AG
Glienicke Weg 125
12489 Berlin

AT

ÖSTERREICH

Vertrieb durch

A. Menarini Ges.m.b.H
Pottendorfer Straße, 25/27
A - 1120 Wien

FR

FRANCE

Distribué par

A. Menarini Diagnostics
France S.A.R.L.
3-5, Rue du Jura
BP 70511
94633 Rungis Cedex

BE

BELGIQUE

Distribué par

A. Menarini Diagnostics
Benelux S.A./N.V.
Belgicastraat, 4
1930 Zaventem

IT

ITALIA

Distribuito da

A. Menarini Diagnostics
Via lungo l'Enza, 7
50012 Bagno a Ripoli
Firenze

PT

PORTUGAL

Distribuido por

A. Menarini Diagnósticos, Lda
Quinta da Fonte
Edifício D.Manuel I, 2ºB
2770-203 Paço de Arcos

NL

NEDERLAND

Distributed by

A. Menarini Diagnostics
Benelux N.V.
De Haak, 8
5555 XK Valkenswaard

EN > Revision date: April 2008

EL > Ημερομηνία αναθεώρησης: Απρίλιος 2008

ES > Fecha de revisión: Abril de 2008

DE > Datum der Überarbeitung: April 2008

FR > Date de révision: Avril 2008

IT > Data di revisione: Aprile 2008

PT > Data de revisão: Abril de 2008

Document No. PI4116 CE M

