

Titel: Antineutrofilocyt cytoplasmatiske antistoffer (ANCA)

Indeksering/søgeord: ANCA, ANCA-associeret vaskulitis, eosinofil granulomatosis med polyangiitis (EGPA), granulomatosis med polyangiitis (GPA), mikroskopisk polyangiitis (MPA), myeloperoxidase (MPO)-antistof, MPO-ANCA, proteinase 3 (PR3)-antistof, PR3-ANCA, småkarsvaskulitis.

Forfattergruppe: Trine Korsholm (TK), Frank Hinnerfeldt (FH), Anna Christine Nilsson (ACN), Karen Buch Lauridsen (KL), Hans Jakob Hartling (HJH), Ole Pedersen (OP), Søren T. Lillevang (STL).

Godkendt af: Trine Korsholm (TK), Frank Hinnerfeldt (FH), Anna Christine Nilsson (ACN), Karen Buch Lauridsen (KL), Hans Jakob Hartling (HJH), Ole Pedersen (OP), Søren T. Lillevang (STL).

Godkendt dato: 21.6.2021

Revisions dato: 21.6.2023

Standarden har været i høring ved følgende selskaber: Dansk Nefrologisk Selskab, Dansk Reumatologisk Selskab, Dansk Lungemedicinsk Selskab og Dansk Selskab for Gastroenterologi og Hepatologi.

Målgruppe

Standarden henvender sig til laboratorier, der udfører analyse for antineutrofilocyt cytoplasmatiske antistoffer (ANCA) samt klinikere, der rekvirerer analyser for ANCA.

Baggrund

Antineutrofilocyt cytoplasmatiske antistoffer (ANCA) har en betydelig rolle ved diagnostik og klassificering af småkarsvaskulitis. Ved disse tilstande er specificiteten primært rettet mod proteinase 3 (PR3) eller myeloperoxidase (MPO). ANCA rekvireres også hyppigt i udredningen af visse autoimmune lever- og gastrointestinale sygdomme, hvor ANCA med forskellige specificiteter ofte påvises, men er af mindre eller tvivlsom betydning i diagnostikken af disse tilstande. ANCA ses også hos patienter med anti-glomerulær basalmembran antistof (anti-GBM) sygdom, lægemiddel-/stof-induceret vaskulitis, ved non-vaskulitis reumatisk sygdom, bakteriel endocarditis og øvrige bakterielle infektioner samt malignitet.

ANCA er rettet mod antigener tilstede i granula i neutrofilocytters og monocytters cytoplasma. ANCA detekteres med henholdsvis immunfluorescens med fikserede granulocytter som substrat og specificiteter med kendt klinisk relevans tillige med specifikke immunoassays.

Kendskab til metoder til detektion af ANCA, herunder deres respektive performance i forhold til indikation samt teknikernes faldgruber, vil optimere den serologiske udredning ved ANCA-associerede sygdomme.

Definition af patientgruppe

ANCA-associeret vaskulitis: Anbefalingen er målrettet serologisk udredning ved ANCA-associeret vaskulitis, og anvendende Chapel Hill Consensus Conference nomenklatur begrænser anbefalingen i denne standard sig til Granulomatosis med polyangiitis (GPA), mikroskopisk polyangiitis (MPA), og renal limited ANCA-associeret vaskulitis (RLV). Eosinofil granulomatosis with polyangiitis (EGPA) er ikke dækket af den generelle anbefaling vedr. førstevalg af metode til detektion af ANCA .

I forlængelse heraf gives anbefaling vedrørende serologisk udredning ved interstitiel lungesygdom (ILD), som ikke sjældent ses hos patienter med ANCA-associeret småkarsvaskulitis.

Lever- og gastrointestinale sygdomme: Anbefalingen er målrettet og begrænser sig til de sygdomme, ANCA er associeret til: Primær skleroserende cholangitis og kronisk inflammatorisk tarmsygdom.

Forkortelser og definitioner

AAV: ANCA-associeret vaskulitis. Eosinofil granulomatosis with polyangiitis (EGPA), granulomatosis med polyangiitis (GPA), mikroskopisk polyangiitis (MPA) og renal limited ANCA-associeret vaskulitis (RLV).

AIH: Autoimmun hepatitis

ANA: Anti-nukleære antistoffer. Vævs- og artsuspecifikke antistoffer rettet mod kerne- og cytoplasmatiske antigener. Diagnostisk værdi ved immuninflammatoriske sygdomme, herunder ANA-associerede bindevævssygdomme og autoimmun leversygdom.

ANCA: Anti-neutrofilocyt cytoplasmatiske antistoffer

BPI: Bactericidal permeability increasing protein

EGPA Eosinofil granulomatosis med polyangiitis

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

FITC: Fluorescein isothiocyanat

GBM: Glomerulær basalmembran

GPA: Granulomatosis med polyangiitis

IBD: Inflammatorisk tarmsygdom

IIF: Indirekte immunfluorescens

IIP: Idiopatisk interstitiel pneumoni

ILD: Interstitiel lungesygdom

MPA: Mikroskopisk polyangiitis

MPO: Myeloperoxidase

PR3: Proteinase 3

PSC: Primær skleroserende cholangitis

RA: Rheumatoid arthritis

Formål

Formålet med retningslinjen er at medvirke til en evidensbaseret testning af ensartet, høj kvalitet på tværs af landet, medvirke til hensigtsmæssige patientforløb og vidensdeling på tværs af sektorer og faggrupper samt prioritering i sundhedsvæsenet.

Anbefaling:

Metodevalg ved analyse for antineutrofilocyt cytoplasmatiske antistoffer afhænger af tilgrundliggende indikation:

ANCA-associeret småkarsvaskulitis (AAV):

Antigenspecifikke immunoassays kan anvendes isoleret i den primære screening uden supplerende IIF-diagnostik. Antigenspecifikke immunoassays bør være indeholdt i den primære screening for ANCA, da de udover at være mere specifikke tillige er vist at være mere sensitive

end IIF. Det er vores yderligere anbefaling, at der til dette formål udelukkende anvendes højsensitivitets-assays med dokumenteret høj performance. Anti-GBM sygdom skal altid udelukkes, hvorfor det i tillæg til ANCA er indiceret at undersøge for antistoffer rettet mod den glomerulære basalmembran (GBM). Bemærk at ANCA (oftest MPO-ANCA) ikke sjældent ses ved anti-GBM sygdom.

Ved klinisk mistanke om EGPA eller ved klinisk mistanke om AAV uden påvisning af antistoffer rettet mod PR3 eller MPO i specifikke immunoassays, kan der suppleres med analyse for ANCA ved indirekte immunfluorescens (IIF) på fikserede neutrofilocyter.

Interstitiel lungesygdom (ILD): På foreliggende viden kan ANCA indgå i den serologiske udredning af ILD, og det anbefales på denne indikation, at analyse for antistoffer rettet mod MPO og PR3 udføres med antigenspecifikke immunoassays.

Monitorering af antistofniveau i forhold til sygdomsaktivitet/relaps og behandlingsrespons: ANCA IIF kan ikke anvendes til monitorering af sygdomsaktivitet eller behandlingsrespons. Det er kontroversielt, om PR3-ANCA og MPO-ANCA reaktivitet kan/bør anvendes til dette formål. Vores anbefaling er, at stigninger i antistofniveau hos alle patienter medfører øget opmærksomhed i forhold til muligt relaps, og at man for den enkelte patient afklarer, om stigninger korrelerer til sygdomsaktivitet/relaps. Isoleret stigning i antistofniveau uden klinisk relaps bør med nuværende viden ikke føre til terapeutisk intervention.

Lever- og gastrointestinale sygdomme:

Analyse for ANCA bør udføres ved indirekte immunfluorescens (IIF) på fikserede neutrofilocyter. Det skal tilføjes, at den diagnostiske værdi af ANCA ved immuninflammatoriske lever- og gastrointestinale sygdomme, herunder autoimmun hepatitis, primær skleroserende cholangitis og kroniske, inflammatoriske tarmsygdomme, på det foreliggende vurderes at være tvivlsom.

Analysetekniske anbefalinger målrettet laboratorier, der udfører analyse for ANCA:

Antigenspecifikke immunoassays:

Der bør udelukkende anvendes højsensitivitets-assays med dokumenteret høj performance.

Indirekte immunfluorescens (IIF) på fikserede neutrofilocyter:

Det anbefales at foretage den primære screening på ethanolfikserede neutrofilocyter. Ved påvisning af perinukleær og / eller cytoplasmatisk fluorescens, bør prøvematerialet tillige analyseres på formalinfikserede neutrofilocyter for at bekræfte P-ANCA eller C-ANCA mønster. Hvis der udelukkende anvendes ethanolfikserede neutrofilocyter, og der påvises perinukleær fluorescens, bør tilstedeværelse af ANA udelukkes ved IIF analyse på andre celler, eksempelvis HEp-2 celler.

Rådgivning:

Det er væsentligt, at der er adgang til rådgivning vedrørende svartolkning samt vurdering af indikation for eventuel yderligere udredning ved det udførende laboratorium.

Litteratur:

Herunder præsenteres kort litteratur, der danner baggrund for anbefalingerne i standarden.

ANCA-associeret småkarsvaskulitis

ANCA er værdifulde serologiske parametre til at understøtte diagnostik af ANCA-associeret småkarsvaskulitis (AAV), herunder granulomatosis med polyangiitis (GPA) og mikroskopisk polyangiitis (MPA) og i mindre grad også eosinofil granulomatosis med polyangiitis (EGPA) (1-3). Ved disse tilstande er specificiteten primært rettet mod proteinase 3 (PR3) eller myeloperoxidase (MPO). Diagnosen AAV er baseret på det kliniske billede og understøttes af billeddiagnostiske undersøgelser, laboratorieundersøgelser og vævsbiopsi. Det er vigtigt at bemærke, at påvisning af ANCA ikke i sig selv er diagnostisk for småkarsvaskulitis, og at et negativt resultat ikke udelukker diagnosen småkarsvaskulitis.

Et multicenter-studie (4) banede vejen for de tidligere internationale konsensus rekommandationer, først publiceret i 1999 og siden opdateret i 2003, om bestemmelse af ANCA hos patienter mistænkt for at have AAV, der anbefalede screening for ANCA ved indirekte immunfluorescens (IIF) på ethanolfikserede neutrofilocytter. Positive resultater skulle efterfølgende bekræftes med en for PR3- og MPO-antistof specifik immunoassay (5, 6). En efterfølgende metaanalyse viste, at kombinationen af enten IIF cytoplasmatisk mønster (C-ANCA) med specifikt PR3-antistof eller IIF perinukleære mønster (P-ANCA) med specifikt MPO-antistof havde en højere sensitivitet og specificitet for disse relativt sjældne sygdomme (7).

Med udviklingen af henholdsvis capture-baseret (2. generation) og anker-baseret (3. generation) binding af antigen til carrier er den diagnostiske performance af antigenspecifikke immunoassays øget betydeligt (2). ANCA-detektion omfattende flere forskellige metoder (kombination af IIF med et antigen-specifikt assay), gør den serologiske udredning tidskrævende og ressourcetung. I modsætning til positivt fund af PR3- / MPO-ANCA i specifikke immunoassays er et positivt ANCA-fund alene ved immunfluorescens i lavere grad forbundet med en diagnose af småkarsvaskulitis. IIF-resultat er desuden i nogle laboratorier ikke tilgængelig på daglig basis, hvilket kan føre til forsinkelse af diagnose og dermed forsinke en potentielt organ- og/eller livreddende behandling. Et multicenter-studie publiceret i 2017 af European Vasculitis Study Group (EUVAS) fandt ensartet høj diagnostisk performance af 2. og 3. generations (højsensitivitets) antigenspecifikke immunoassays, således både højere sensitivitet og specificitet af specifikke immunoassays i forhold til IIF (8). IIF performance udviste endvidere stor variation mellem metoderne (ethanolfikserede celler versus ethanol og formalinfikserede celler) (8, 9). Studiet dannede basis for en ny international konsensus med følgende rekommandationer (10):

1. Antigenspecifikke immunoassays af høj kvalitet for PR3- og MPO-ANCA bør anvendes som den primære screeningsmetode for ANCA.
2. Hvis PR3- eller MPO-ANCA ikke påvises, og der klinisk er stærk mistanke om småkarsvaskulitis, anbefales det, at analyse udføres med anden høj kvalitets immunoassay eller

med IIF. Udførelse med en anden immunoassay eller IIF kan også marginalt øge specificiteten i tilfælde af svagt positive testresultater (10, 11).

Et belgisk eksternt kvalitetssikringsprogram med 90 deltagende laboratorier underbygger denne konsensus med fund af højere sensitivitet af specifikke immunoassays sammenlignet med IIF og stor variation i resultater fra IIF (12).

Anbefalingen for ANCA-diagnostik ved indikationen AAV hviler overvejende på det ovenfor omtalte multicenter-studie (8) og den efterfølgende internationale konsensus publikation (10).

Monitorering af antistofniveau i forhold til sygdomsaktivitet/relaps og behandlingsrespons: Flere studier har fundet, at genkomst af C-ANCA mønster ved IIF / stigning i PR3-ANCA antistof niveau er en følsom, men uspecifik markør for relaps af GPA (13, 14). WGET-studiet med 3 måneder mellem prøvetagning fandt i modsætning hertil ingen korrelation mellem stigning i PR3-ANCA og relaps (15). 3 måneder mellem prøvetagning er et klinisk realistisk scenarie, men som foreslået af Rasmussen et al. måske for langt et interval mellem prøvetagninger til at kunne udelukke en korrelation(16). For MPO-ANCA er der ikke tidligere fundet sikker korrelation mellem MPO-ANCA og sygdomsaktivitet eller relaps, men et nyligt case-control studie finder, at genkomst af MPO-ANCA i en kohorte af japanske patienter med MPO-associeret småkarsvaskulitis er prædiktør for relaps (OR 26 [95% CI 8.2-101]) (17).

Nyere data demonstrerer endvidere betydelig epitop diversitet for både PR3- (18) og særligt for MPO-ANCA (19), hvoraf kun udvalgte korrelerede til sygdomsaktivitet (19).

Det er således kontroversielt, om ændringer i PR3- og MPO-ANCA niveau kan/bør anvendes til monitorering af sygdomsaktivitet og behandlingsrespons. Vores anbefaling er, at man for den enkelte patient afklarer, om niveaustigninger korrelerer til sygdomsaktivitet/relaps, og at stigninger hos alle patienter medfører øget opmærksomhed i forhold til muligt relaps. Isoleret stigning uden klinisk relaps bør med nuværende viden ikke føre til terapeutisk intervention.

Interstitiel lungesygdom (ILD) / Idiopatisk interstitiel pneumoni (IIP):

ILD/IIP forekommer ikke sjældent hos patienter med AAV. Studier har fundet en forekomst af ILD på 7-16% af MPA-patienter(20, 21) og op til 21% af MPO-ANCA positive AAV-patienter(22, 23). Ikke sjældent ses ILD at forudgå de kliniske manifestationer af AAV. Forekomsten af MPO- eller PR3-ANCA hos patienter, der initialt præsenterer sig med ILD, rapporteres i studier at være fundet hos hhv. 4-36% og 2-4%(24). I et studie, der fandt 8,5% MPO-ANCA positive blandt 305 ILD-patienter, var den kumulative 5-års-incidens af MPA knapt 25% blandt MPO-ANCA positive patienter og 0% blandt MPO-ANCA negative patienter(25). Disse resultater har i en international konsensus publikation fra 2020 ført til anbefaling om, at MPO- og PR3-ANCA indgår i den serologiske udredning ved ILD(26).

Lever- og gastrointestinale sygdomme

ANCA påvises hos en betydelig del af patienter med inflammatorisk tarmsygdom (IBD) og/eller primær skleroserende cholangitis (PSC) (27). ANCA ses desuden ved øvrige inflammatoriske leversygdomme som autoimmun hepatitis (AIH) og primær biliær cholangitis (PBC) samt ved viral hepatitis (10, 28-30). P-ANCA og atypisk P-ANCA er de hyppigst forekommende mønstre, og de bagvedliggende ANCA-specificiteter er i disse patientgrupper ikke veldefinerede, og multiple specificiteter, herunder beta-tubulin isotype 5, high mobility group non-histone chromosome al

proteins (HMG1 og HMG2), lactoferrin, elastase, catalase, α -enolase, bactericidal/permeability increasing protein (BPI) og sjældnere MPO og PR3 er beskrevet (31-33). Kun ANCA ved IBD, PSC og AIH behandles i denne standard.

IBD

ANCA påvist med IIF ses hos en betydelig del af patienter med IBD, med en rapporteret prævalens på op til 70% hos patienter med colitis ulcerosa (UC) og op til 15% hos patienter med Crohns sygdom (CD) (27, 34). Traditionelt har ANCA på denne baggrund i nogen udstrækning været anvendt som en serologisk markør til at skelne UC og CD (35). Undersøgelse for ANCA IIF i kombination med anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) har i nogle studier vist at prediktere IBD-type (27, 36-38), men den isolerede værdi af ANCA IIF i denne sammenhæng er tvivlsom, og undersøgelse for ANCA er ikke fundet klinisk begrundet i en europæisk evidensbaseret konsensus guideline vedrørende diagnostik og behandling af UC og CD (39, 40).

PSC

ANCA påvises hos en betydelig del af patienter med PSC, og det er ved IIF overvejende perinukleær ANCA (P-ANCA) og atypisk P-ANCA, der ses hos patienter med PSC. ANCA har traditionelt været anvendt i klinisk praksis som serologisk markør og prædiktør for udvikling af PSC (35), men ANCA generelt har lav specificitet for PSC, og på denne baggrund er den diagnostiske værdi tvivlsom. Eksisterende europæiske og amerikanske guidelines anbefaler ikke analyse for ANCA som en del af den diagnostiske udredning (41, 42).

Serologiske diagnostiske og prognostiske markører for PSC er ønskelige, og forfattere til enkelte studier argumenterer for PR3-ANCA som lovende serologisk markør for PSC (43, 44). Fundene er dog ikke entydige og kræver bekræftelse i yderligere studier.

AIH

Den rapporterede frekvens af ANCA hos AIH-patienter er betydelig (33). I lighed med IBD og PSC har ANCA lav specificitet, hvorfor den diagnostiske værdi er tvivlsom, men eksisterende guidelines anbefaler ikke desto mindre, at ANCA IIF udføres på patienter med klinisk mistanke om AIH, hos hvem der ikke påvises øvrige AIH-associerede antistoffer, herunder antistoffer rettet mod glat muskel, LKM-1, SLA/LP, LC1 og anti-nukleære antistoffer (45).

Hvis ANCA anvendes som supplerende diagnostisk værktøj til IBD / PSC / AIH, er vores aktuelle anbefaling, at ANCA, grundet multiple og ringe definerede specificiteter ved disse indikationer, udføres med IIF.

Metodetekniske overvejelser ved analyse for ANCA:

ANCA IIF:

I henhold til den internationale konsensus rekommandation publiceret i 1999 (6) udføres dette primært på ethanolfikserede neutrofilocyter, som oprindeligt beskrevet af Rasmussen og Wiik i 1989 (46). På disse kan 4 mønstre identificeres: Perinukleær fluorescens (P-ANCA), cytoplasmatisk fluorescens (C-ANCA) samt atypisk C- og P-ANCA (47). Når neutrofile granulocyter fikseres med ethanol, opløses hovedparten af lipidmembranen omkring granula, og neutrale / svagt kationiske proteiner (eks. PR3) forbliver i cytoplasmaet, mens positivt ladede proteiner (eks. MPO) redistribuerer omkring den negativt ladede kerne. Perinukleær fluorescens

forårsaget af antistoffer rettet mod MPO eller andre positivt ladede antigener i granula er således et artefakt af ethanolfiksering. I formalinfikserede granulocytter forbliver granula intakte, og antistof rettet mod MPO vil i formalinfikserede neutrofilocytter ses som diffus cytoplasmatisk fluorescens. Anvendelse af begge fiksativer tillader distinktionen af en ægte p-ANCA fra eksempelvis perinukleær fluorescens pga tilstedeværelse af ANA (48). EUVAS-studiet viste stor forskel i performance mellem enkelt-fiksativ (ethanol) og dual-fiksativ (ethanol- og formalin) med langt bedre performance af dual-fiksativ (8).

Vær opmærksom på, at tilstedeværelse af ANA kan interferere med detektion/identifikation af ANCA ved IIF, idet ANA kan fejltolkes som P-ANCA eller maskere et regulært P-ANCA mønster i ethanolfikserede neutrofilocytter. Hvis man kun anvender ethanolfikserede neutrofilocytter, bør man ved fund af perinukleær fluorescens udelukke tilstedeværelse af ANA, eksempelvis ved analyse på HEp-2 celler.

Specifikke immunoassays til detektion af antistoffer rettet mod PR3 og MPO:

Proteinkonformation har vist sig at være vigtig for detektion af relevante ANCA-specificiteter(32). I første generation af direkte antigenspecifikke ELISA-assays coates epitoper direkte på den faste overflade, og disse assays udviser begrænset følsomhed, sandsynligt pga. nedsat epitoptilgængelighed og ændring i epitopkonformation som følge af direkte coating. Anden generations assays anvender monoklonale antistoffer som linker mellem epitop og den faste overflade. De monoklonale antistoffer, der anvendes, er rettet mod ANCA-epitoper, der sjældent genkendes af humane antistoffer. Proteinene 'løftes' således op fra den faste overflade, og herved øges tilgængeligheden af relevante epitoper, og epitopkonformation bevares. Tredje generations assays udnytter samme princip, og i stedet for monoklonale antistoffer anvendes såkaldte 'ankerproteiner' (eks. biotin) til at løfte epitopen fra den faste overflade. Ved anvendelse af ELISA-baserede assays til detektion af antistoffer rettet mod PR3 og MPO bør der udelukkende anvendes disse senere generationer af højsensitivitets assays. I tillæg til ELISA-baseret detektion antistoffer rettet mod PR3 og MPO er der udviklet øvrige assays, herunder chemiluminiscens immunoassays, line-/dot-blot immunoassays og bead-baserede immunoassays. Uanset assay format skal høj performance dokumenteres inden implementering.

Gennemgang af evidens:

En kort, sammenfattet gennemgang af de fundne resultater. Kort beskrivelse af de inkluderede studier.

Anbefalingen for ANCA-diagnostik ved indikationen AAV hviler overvejende på det ovenfor omtalte multicenter-studie(8, 9). Heri indgik diagnostiske sera fra 251 nydiagnosticerede patienter med AAV (GPA (n=186), i henhold til American College of Rheumatology klassifikationskriterier og Chapel Hill Consensus definitioner og MPA (n=65), i henhold til Chapel Hill Consensus definitioner) og sera fra 924 syge kontroller. Med begrundelsen om, at patienter med EGPA udgør en meget heterogen gruppe, inkluderedes disse ikke i studiet. I studiet sammenlignedes 8 antigenspecifikke immunoassays og 4 varianter af IIF (udført udelukkende på ethanolfikserede neutrofilocytter og udført med kombination af ethanol- og formalinfikserede neutrofilocytter samt HEp-2 celler for bedre diskrimination af P-ANCA, atypisk P-ANCA og ANA). Den diagnostiske

performance fandtes at være mindst lige så god eller bedre for antigenspecifikke immunoassays i forhold til IIF ved diagnoserne GPA og MPA.

Arbejdsgruppens overvejelser:

Balancen mellem fordele og ulemper	Gruppen har taget udgangspunkt i eksisterende litteratur, herunder internationale anbefalinger vedr. diagnostik af ANCA med brug af forskellige metoder til detektion, samt egne erfaringer fra laboratoriet og klinikken. Specificiteten er højere for PR3-ANCA og MPO-ANCA ved diagnostik af AAV og analyseteknisk mindre arbejdstung og derfor et godt valg. Dobbelt diagnostik med IIF og antigenspecifikke immunoassays kan øge specificiteten en smule, men er samtidig tidskrævende og ressourcetung og er derfor vurderet som et supplement, man kan vælge, hvor det er relevant.
Kvaliteten af evidensen	EUVAS-studiet (8, 9) vurderes at være af høj kvalitet. Den internationale anbefaling hviler på en konsensusbeslutning. Den repræsenterer ikke en evidensbaseret guideline eller metanalyse. Anbefalingen for ANCA til lever- og gastrointestinale sygdomme er ikke stærk, da der ikke aktuelt er evidens for diagnostisk og/eller prognostisk værdi ved disse sygdomme.

Referencer

1. Cohen Tervaert J, Damoiseaux J. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies: How Are They Detected and What Is Their Use for Diagnosis, Classification and Follow-up? *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2012;43(3):211-9.
2. Csernok E, Moosig F. Current and emerging techniques for ANCA detection in vasculitis. *Nature Reviews Rheumatology*. 2014;10(8).
3. Radice A, Bianchi L, Sinico RA. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies: methodological aspects and clinical significance in systemic vasculitis. *Autoimmun Rev*. 2013;12(4):487-95.
4. E CH, Mohamed RD, Hermans J, Andrassy K, Csernok E, Gaskin G, et al. Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. *Kidney international*. 1998;53(3):743.
5. Savige J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jennette JC, et al. Addendum to the International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *American Journal of Clinical Pathology*. 2003;120(3):312-8.
6. Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, et al. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). *American Journal of Clinical Pathology*. 1999;111(4):507.

7. Choi HK, Liu S, Merkel PA, Colditz GA, Niles JL, Choi HK. Diagnostic performance of antineutrophil cytoplasmic antibody tests for idiopathic vasculitides: metaanalysis with a focus on antimyeloperoxidase antibodies. *The Journal of rheumatology*. 2001;28(7):1584-90.
8. Damoiseaux J, Csernok E, Rasmussen N, Moosig F, van Paassen P, Baslund B, et al. 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*. 2017;76(4):647-53.
9. Csernok E, Damoiseaux J, Rasmussen N, Hellmich B, van Paassen P, Vermeersch P, et al. Evaluation of automated multi-parametric indirect immunofluorescence assays to detect anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in granulomatosis with polyangiitis (GPA) and microscopic polyangiitis (MPA). *Autoimmun Rev*. 2016;15(7):736-41.
10. Bossuyt X, Jan-Willem CT, Arimura Y, Blockmans D, Luis Felipe F-S, Loïc G, et al. Position paper: Revised 2017 international consensus on testing of ANCAs in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis. *Nature Reviews Rheumatology*. 2017;13(11).
11. Damoiseaux J, Csernok E, Rasmussen N, Cohen Tervaert JW, Bossuyt X. Antineutrophil cytoplasmic antibodies: reporting and diagnostic strategies. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(10):e39.
12. Broeders S, Goletti S, Tomasi J-P, Bonroy C, Humbel R-L, Lutteri L, et al. Revised 2017 international consensus on ANCA testing in small vessel vasculitis: support from an external quality assessment. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2019;78(10):e113.
13. Van Der Woude FJ, Lobatto S, Permin H, Van Der Giessen M, Rasmussen N, Wiik A, et al. AUTOANTIBODIES AGAINST NEUTROPHILS AND MONOCYTES: TOOL FOR DIAGNOSIS AND MARKER OF DISEASE ACTIVITY IN WEGENER'S GRANULOMATOSIS. *The Lancet*. 1985;325(8426):425-9.
14. Rasmussen N, Salmela A, Ekstrand A, de Groot K, Gregorini G, Tervaert JWC, et al. Changes in proteinase 3 anti-neutrophil cytoplasm autoantibody levels in early systemic granulomatosis with polyangiitis (Wegener's) may reflect treatment rather than disease activity. *Clinical and Experimental Rheumatology*. 2013;31(1):S38-S44.
15. Finkielman JD, Merkel PA, Schroeder D, Hoffman GS, Spiera R, St Clair EW, et al. Antiproteinase 3 antineutrophil cytoplasmic antibodies and disease activity in Wegener granulomatosis. *Annals of internal medicine*. 2007;147(9):611-9.
16. Rasmussen N, Wiik A, Jayne DR. A historical essay on detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2015;30(suppl1):i8-i13.
17. Watanabe H, Sada KE, Matsumoto Y, Harigai M, Amano K, Dobashi H, et al. Association Between Reappearance of Myeloperoxidase–Antineutrophil Cytoplasmic Antibody and Relapse in Antineutrophil Cytoplasmic Antibody–Associated Vasculitis. *Arthritis & Rheumatology*. 2018;70(10):1626-33.
18. Silva F, Hummel AM, Jenne DE, Specks U. Discrimination and variable impact of ANCA binding to different surface epitopes on proteinase 3, the Wegener's autoantigen. *Journal of Autoimmunity*. 2010;35(4):299-308.
19. Roth AJ, Ooi JD, Hess JJ, van Timmeren MM, Berg EA, Poulton CE, et al. Epitope specificity determines pathogenicity and detectability in ANCA-associated vasculitis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2013;123(4):1773-83.
20. Yamagata M, Ikeda K, Tsushima K, Iesato K, Abe M, Ito T, et al. Prevalence and Responsiveness to Treatment of Lung Abnormalities on Chest Computed Tomography in Patients With Microscopic Polyangiitis: A Multicenter, Longitudinal, Retrospective Study of One Hundred Fifty Consecutive Hospital-Based Japanese Patients. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(3):713-23.
21. Arulkumaran N, Periselneris N, Gaskin G, Strickland N, Ind PW, Pusey CD, et al. Interstitial lung disease and ANCA-associated vasculitis: a retrospective observational cohort study. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(11):2035-43.
22. Schirmer JH, Wright MN, Herrmann K, Laudien M, Nölle B, Reinhold-Keller E, et al. Myeloperoxidase-Antineutrophil Cytoplasmic Antibody (ANCA)-Positive Granulomatosis With Polyangiitis

(Wegener's) Is a Clinically Distinct Subset of ANCA-Associated Vasculitis: A Retrospective Analysis of 315 Patients From a German Vasculitis Referral Center. *Arthritis Rheumatol.* 2016;68(12):2953-63.

23. Mohammad AJ, Mortensen KH, Babar J, Smith R, Jones RB, Nakagomi D, et al. Pulmonary Involvement in Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA)-associated Vasculitis: The Influence of ANCA Subtype. *J Rheumatol.* 2017;44(10):1458-67.
24. Alba MA, Flores-Suárez LF, Henderson AG, Xiao H, Hu P, Nachman PH, et al. Interstitial lung disease in ANCA vasculitis. *Autoimmun Rev.* 2017;16(7):722-9.
25. Hozumi H, Enomoto N, Oyama Y, Kono M, Fujisawa T, Inui N, et al. Clinical Implication of Proteinase-3-antineutrophil Cytoplasmic Antibody in Patients with Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Lung.* 2016;194(2):235-42.
26. Moiseev S, Cohen Tervaert JW, Arimura Y, Bogdanos DP, Csernok E, Damoiseaux J, et al. 2020 international consensus on ANCA testing beyond systemic vasculitis. *Autoimmun Rev.* 2020;19(9):102618.
27. Bossuyt X. Serologic Markers in Inflammatory Bowel Disease. *Clinical chemistry.* 2006;52(2):171-81.
28. Deniziaut G, Ballot E, Johanet C. Antineutrophil cytoplasmic auto-antibodies (ANCA) in autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology.* 2013;37(1):105-7.
29. Roozendaal C, de Jong MA, van den Berg AP, van Wijk RT, Limburg PC, Kallenberg CG. Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in autoimmune liver diseases. *J Hepatol.* 2000;32(5):734-41.
30. Sebode M, Weiler-Normann C, Liwinski T, Schramm C, Sebode M. Autoantibodies in Autoimmune Liver Disease-Clinical and Diagnostic Relevance. *Frontiers in immunology.* 2018;9:609-.
31. Savige J, Trevisin M, Pollock W. Testing and reporting antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in treated vasculitis and non-vasculitic disease. *Journal of immunological methods.* 2018;458:1-7.
32. Vanderlocht J, van Beers J, Limburg PC, Damoiseaux J, Roozendaal C. Antigen-Specific Detection of Autoantibodies Against Myeloperoxidase (MPO) and Proteinase 3 (PR3). *Methods Mol Biol.* 2019;1901:153-76.
33. Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D. The clinical usage and definition of autoantibodies in immune-mediated liver disease: A comprehensive overview. *Journal of Autoimmunity.* 2018;95:144-58.
34. Riis L, Vind I, Vermeire S, Wolters F, Katsanos K, Politi P, et al. The prevalence of genetic and serologic markers in an unselected European population-based cohort of IBD patients. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13(1):24-32.
35. Lee W-I, Subramaniam K, Hawkins CA, Randall KL. The significance of ANCA positivity in patients with inflammatory bowel disease. *Pathology.* 2019;51(6):634-9.
36. Smids C, Horjus Talabur Horje CS, Groenen MJM, van Koolwijk EHM, Wahab PJ, van Lochem EG. The value of serum antibodies in differentiating inflammatory bowel disease, predicting disease activity and disease course in the newly diagnosed patient. *Scand J Gastroenterol.* 2017;52(10):1104-12.
37. Joossens S, Daperno M, Shums Z, Van Steen K, Goeken JA, Trapani C, et al. Interassay and interobserver variability in the detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with ulcerative colitis. *Clin Chem.* 2004;50(8):1422-5.
38. Joossens S, Reinisch W, Vermeire S, Sendid B, Poulain D, Peeters M, et al. The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology.* 2002;122(5):1242-7.
39. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. *J Crohns Colitis.* 2017;11(6):649-70.

40. Gomollon F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay JO, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management. *J Crohns Colitis*. 2017;11(1):3-25.
41. European Association for the Study of the L. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of cholestatic liver diseases. *Journal of Hepatology*. 2009;51(2):237-67.
42. Chapman R, Fevery J, Kalloo A, Nagorney DM, Boberg KM, Shneider B, et al. Diagnosis and management of primary sclerosing cholangitis. *Hepatology*. 2010;51(2):660-78.
43. Stinton LM, Bentow C, Mahler M, Norman GL, Eksteen B, Mason AL, et al. PR3-ANCA: A Promising Biomarker in Primary Sclerosing Cholangitis (PSC). *PLoS ONE*. 2014;9(11).
44. Wunsch E, Norman GL, Milkiewicz M, Krawczyk M, Bentow C, Shums Z, et al. Anti-glycoprotein 2 (anti-GP2) IgA and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies to serine proteinase 3 (PR3-ANCA): antibodies to predict severe disease, poor survival and cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2021;53(2):302-13.
45. EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis. *J Hepatol*. 2015;63(4):971-1004.
46. Rasmussen NW, A. Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *APMIS Supplementum*. 1989;97:12-3.
47. Damoiseaux J, Heijnen I, Van Campenhout C, Eriksson C, Fabien N, Herold M, et al. An international survey on anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) testing in daily clinical practice. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(10):1759-70.
48. Hoffman GS, Specks U. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Arthritis Rheum*. 1998;41(9):1521-37.

Redaktionel uafhængighed

Retningslinjen/standarden er udviklet uden ekstern støtte.

Interessekonflikt

TK har modtaget økonomisk godtgørelse som foredragsholder samt økonomisk støtte til kongresdeltagelse fra Thermo Fisher Phadia. Ingen af gruppens øvrige medlemmer har interessekonflikter i forhold til den udarbejdede retningslinje/standard.