

EVALUATION DES PERFORMANCES DU KIT "EUROPLUS GRANULOCYTE MOSAIC 25" POUR LA DÉTECTION ET L'IDENTIFICATION DES ANTICORPS ANTI- CYTOPLASME DES POLYNUCLÉAIRES NEUTROPHILES (ANCA)

TAHIAT Azzeddine¹, CHEMALI Samia², KETFI Adelbasset³, DJENOUHAT Kamel¹

¹Laboratoire de Biologie Médicale, EPH de Rouïba, Alger

²Service de Médecine Interne, EPH de Rouïba, Alger

³Service de Pneumologie, EPH de Rouïba, Alger

Granulocyte Mosaic 25" pour la détection et l'identification des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA), en comparant les résultats obtenus avec ceux des techniques conventionnelles.

Méthodes : Il s'agit d'une étude comparative menée sur 21 patients ANCA/anti-MBG positifs et 21 sujets témoins sains. La recherche des ANCA a été réalisée par immunofluorescence indirecte (IFI) (Granulocyte Mosaic 25 ; Euroimmun) et par Immuno-Dot (Euroimmun) chez les patients, et uniquement par IFI (Granulocyte Mosaic 25 ; Euroimmun) chez les témoins. Les performances du coffret Granulocyte Mosaic 25 pour l'identification des cibles antigéniques MPO et PR3 ont été évaluées en comparant ses résultats à ceux du kit Immuno-Dot.

Résultats : L'identification des cibles antigéniques des ANCA par le kit "Granulocyte Mosaic 25" a donné des résultats positifs chez 8 des 20 patients ANCA positifs. Les cibles identifiées correspondaient à la protéine MPO chez 4 patients et à la protéine PR3 chez 3 autres. Des anticorps anti-MBG ont été détectés chez un patient ANCA négatif. L'identification des ANCA par Immuno-Dot a mis en évidence des anti-MPO chez 6 patients, des

anti-PR3 chez 2 patients, et des anti-MBG chez un autre patient. Les résultats d'identification obtenus par les deux techniques (IFI et Immuno-Dot) étaient concordants chez 18 des 21 patients inclus, soit un taux de concordance de 85,7 %. Chez les patients présentant un profil cANCA, le taux de concordance était de 90 % (9/10), contre 78 % (7/9) chez ceux présentant un profil pANCA.

Conclusion : La trousse "Granulocyte Mosaic 25" présente une bonne concordance avec la technique Immuno-Dot pour l'identification des cibles antigéniques MPO et PR3. Elle offre l'avantage de permettre, au sein d'un même test, le dépistage et l'identification des ANCA, ce qui constitue un gain de temps et améliore la sensibilité diagnostique

Mots clés : EUROPLUS Granulocyte Mosaic 25, ANCA, Identification, Concordance.

Abstract

Objective: The aim of our study was to evaluate the diagnostic performance of the EUROPLUS Granulocyte Mosaic 25 kit for the detection and identification of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA), by comparing its results with those

obtained using conventional techniques.

Methods: This was a comparative study involving 21 ANCA/anti-MBG-positive patients and 21 healthy controls. ANCA detection was performed using indirect immunofluorescence (IIF) (Granulocyte Mosaic 25; Euroimmun) and Immuno-Dot (Euroimmun) in patients, and by IIF alone in controls. The performance of the Granulocyte Mosaic 25 kit in identifying MPO and PR3 targets was assessed by comparing its results with those obtained using the Immuno-Dot assay.

Results: ANCA target identification using the Granulocyte Mosaic 25 kit was positive in 8 of the 20 ANCA-positive patients. Anti-MPO antibodies were detected in 4 patients, and anti-PR3 antibodies in 3 others. Anti-MBG antibodies were found in one patient with negative ANCA. Immuno-Dot results revealed anti-MPO antibodies in 6 patients, anti-PR3 in 2 patients, and anti-MBG in one patient. The two methods (IIF and Immuno-Dot) were concordant in 18 out of 21 patients, yielding a concordance rate of 85.7%. Among patients with cANCA, the concordance was 90% (9/10), while it was 78% (7/9) in those with pANCA.

Conclusion: Our findings highlight

the good concordance between the EUROPLUS Granulocyte Mosaic 25 kit and the Immuno-Dot assay for the identification of MPO and PR3 targets. Furthermore, the Granulocyte Mosaic 25 kit offers the advantage of simultaneous detection and identification of ANCA within a single test, providing time efficiency and enhanced diagnostic sensitivity.

Keywords: EUROPLUS Granulocyte Mosaic 25, ANCA, Identification, Concordance.

INTRODUCTION

Les vascularites associées aux anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) constituent un groupe de vascularites des petits vaisseaux caractérisées par des auto-anticorps reconnaissant les antigènes cytoplasmiques des polynucléaires neutrophiles dont la protéinase 3 (PR3) et la myéloperoxydase (MPO) ⁽¹⁾. L’VAA représente un groupe de vascularites systémiques les plus courantes à l’âge adulte et, sur la base des manifestations cliniques, cette pathologie comprend 3 phénotypes : la granulomatose avec polyangéite (anciennement granulomatose de Wegener) décrite par Wegener en 1936 ⁽²⁾, la granulomatose éosinophile avec polyangéite (anciennement syndrome de Churg-Strauss), individualisée en 1951 par J. Churg et L. Strauss ⁽³⁾ et la polyangéite microscopique décrite en 1923 par Wohlwill, puis par Davson en 1948 ⁽⁴⁾. L’VAA se développe chez des patients ayant un background génétique prédisposant qui ont été exposés à des facteurs environnementaux causaux, tels que des infections ⁽⁵⁾.

Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ou ANCA en anglais pour «Anti-Neutrophil Cytoplasmiques Antibody»)

sont des auto-anticorps dirigés contre des constituants antigéniques situés principalement dans les granules primaires (azurophiles) des polynucléaires neutrophiles (PNN) et dans les lysosomes des monocytes. Ils constituent des marqueurs sérologiques importants : les anti-PR3 sont caractéristiques de la granulomatose avec polyangéite ⁽⁶⁾, tandis que les anti-MPO sont associés à la polyangéite microscopique ⁽⁷⁾. En pratique médicale, la recher-

	Ethanol	Formol	Méthanol
c-ANCA	Cytoplasmique	cytoplasmique	Cytoplasmique
p-ANCA	Périnucleaire	cytoplasmique	Négatif
a-ANCA	Atypique	négatif	Atypique

che des ANCA s’effectue en deux étapes : un dépistage initial par immunofluorescence indirecte (IFI), suivi de l’identification des cibles antigéniques PR3 et MPO par des techniques immunoenzymatiques telles que l’ELISA ou l’Immuno-Dot. Le substrat utilisé pour l’IFI est constitué de PNN de donneurs sains de groupe O, fixés à l’éthanol (5 minutes à +4 °C avec de l’éthanol à 96–99 %). D’autres fixateurs peuvent également être employés, tels que le formol ou le méthanol. Selon les recommandations du consensus international de 1999 ⁽⁸⁾, le sérum doit être dilué à 1/40 dans un tampon phosphate salin (PBS) contenant 1 % de sérum-albumine bovine (BSA), afin de limiter le bruit de fond. Néanmoins, une dilution à 1/20 est aussi couramment utilisée, comme l’a confirmé le congrès de Copenhague en 2009 ⁽⁹⁾. L’antisérum est marqué par un fluorochrome et dirigé spécifiquement contre les IgG. La lecture se fait au microscope à fluorescence, à un grossissement de ×40. Trois types de fluorescence sont décrits selon la localisation des cibles antigéniques ⁽¹⁰⁾, (**Tableau 1**). En cas de positivité, une seconde étape est indispensable : la caractérisation des cibles reconnues

par des tests en phase solide, le plus souvent de type ELISA ou Immuno-Dot.

Tableau 1. Aspect de fluorescence des ANCA selon le type de fixateur utilisé ⁽⁷⁾.

Outre les techniques conventionnelles, la firme EUROIMMUN (LÜ-BECK, GERMANY), qui est spécialisée dans la production des réactifs d’auto-immunité, a introduit une technologie innovante utilisant des

« BIOCHIPS » (ou des « Biopuces ») et qui permet la détection et l’identification simultanées des ANCA par IFI. La trousse “EUROPLUS Granulocyte Mosaic 25” d’EUROIMMUN offre la possibilité d’analyser par IFI dans un seul puits : (i) la présence des ANCA sur frottis des PNN fixés à l’éthanol et au formol et (ii) la nature de la cible antigénique en fixant les protéines MPO et PR3 sur des BIOCHIPS séparées. Ce coffret permet aussi la détection des anticorps anti-nucléaires (AAN) et des anticorps anti-MBG (membrane basale glomérulaire). L’objectif de notre étude est d’évaluer les performances diagnostiques du coffret “EUROPLUS Granulocyte Mosaic 25” en comparant les résultats obtenus par ce dernier à ceux obtenus par les techniques conventionnelles.

MATERIELS ET METHODES

1. Type d’étude :

Il s’agit d’une étude à visée comparative qui a porté sur une série de 21 patients ayant des ANCA positifs (avec ou sans cibles antigéniques PR3 et MPO identifiées) et recrutés sur une période de 30 mois (de Janvier 2020 à Juin 2022), ainsi que sur

une population témoin comportant 21 sujets sains. Notre étude a été réalisée au sein de l'EPH Rouiba au niveau du Laboratoire de Biologie Médicale.

2. Populations d'étude :

Patients :

Notre étude a porté sur 20 patients ANCA positifs et un patient MBG positif, admis principalement aux services cliniques de Pneumologie et Médecine Interne de l'EPH Rouiba pour suspicion d'une vascularite à ANCA.

Témoins :

Une population de 21 témoins, appariée pour l'âge et le sexe, a été incluse dans la présente étude. Les sujets sains ont été recrutés à partir du centre de transfusion sanguine du laboratoire de biologie médicale de l'EPH Rouiba (adultes) et du service de chirurgie infantile de l'EPH Bir Traria (enfants).

3. Méthodes

Méthodologie de travail :

La méthodologie de travail est expliquée dans la Figure 1 ci-après. La recherche des ANCA a été faite par IFI (Granulocyte Mosaic 25 ; Euroimmun) et Immuno-Dot (Euroimmun) pour les patients et par IFI (Granulocyte Mosaic 25 ; Euroimmun) pour les témoins. Les performances du Kit Granulocyte Mosaic 25 pour l'identification des cibles antigéniques MPO et PR3 ont été évaluées en comparant les résultats obtenus par ce dernier à ceux du kit Immuno-Dot.

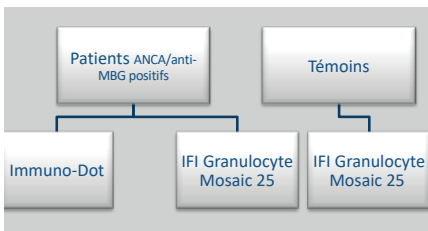


Figure1. Méthodologie de travail

Recueil des données des patients :

Les données cliniques et paracliniques des patients ont été recueillies à l'aide d'une fiche de renseignement dûment remplie par le médecin traitant.

Recherche et identification des ANCA par le kit « GRANULOCYT Mosaic 25 » (EUROIMMUN)

La trousse Granulocyte Mosaic 25 offre la possibilité de dépister et d'identifier les ANCA en seul test basé sur l'IFI. Chaque lame comporte 10 puits, contenant chacun 6 BIOCHIPS séparés :^[1] PNN fixés à l'éthanol ;^[2] PNN fixés au formol ;^[3] PNN fixés à l'éthanol + cellules HEp2 ;^[4] MPO ;^[5] PR3 ;^[6] MBG. Les étapes sont celles d'une technique IFI classique avec des incubations de 30 minutes séparées par des étapes de lavage. La lecture se fait au microscope à fluorescence, grossissement 40x. La positivité des cibles antigéniques MPO/PR3 est objectivée par de grands spots fluorescents au nombre de 6.

Identification des ANCA par immuno-Dot :

Afin de comparer notre résultat, l'identification antigénique par immuno-Dot se fait par des bandelettes sous forme de spots pour former des dots. Le dépôt des antigènes peuvent se faire sous forme d'une petite tache ronde (dot-spot) ou en ligne fine (dot-line). La fixation est rapide, ce qui réduit le risque de dénaturation des antigènes. Une fois séchée, la membrane est saturée par des agents bloquants et stabilisants puis conservée à l'abri de l'humidité. Ces antigènes situés à la surface de la membrane peuvent se complexer avec leurs anticorps spécifiques après incubation

avec le sérum.

Les anticorps capturés sont localisés par immuno-détection, à l'aide d'un antisérum marqué par une enzyme, et révélés par le substrat correspondant.

La lecture des résultats se fait à l'œil nu, selon l'intensité de la coloration on obtient des résultats qualitatifs, semi-quantitatifs ⁽¹¹⁾.

Analyse statistique des données :

Les données ont été saisies et analysées sur un tableau Excel.

La considération éthique :

Le recueil des données a été fait en prenant en considération les règles globales d'éthique relatives au respect de la confidentialité et la protection des données propres aux patients.

RESULTATS

1. Caractéristiques épidémiologiques et cliniques des patients :

Age :

La moyenne d'âge de nos patients était de 35 ans, avec des extrêmes allant de 13 mois à 75 ans. Nos patients se répartissent en 15 adultes, dont 5 ayant moins de 40 ans, et 6 enfants (Tableau 2).

Tableau 2 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.

Tranche d'âge	Effectif
<18 ans	6
19-40 ans	5
40<	10

Sexe :

Dans notre étude, 52.38% (n=11) des patients étaient de sexe féminin et 47.62% (n=10) étaient de sexe masculin. Le sexe ratio H/F était de 0.9. (Tableau 3)

Tableau 3 : Répartition des patients selon le sexe.

Sexe	Effectif	%
Masculin	10	47.62%
Féminin	11	52.38%

Manifestations cliniques :

Les manifestations cliniques chez nos patients sont représentées dans la Figure 2. On note une fréquence élevée (71.4%) de des manifestations respiratoires.

2. Caractéristiques épidémiologiques des sujets contrôles :

Age et sexe :

Nous avons introduit dans notre étude une population témoin appariée pour l'âge et le sexe avec les patients. La moyenne d'âge de nos témoins est de 35 ans, avec des extrêmes allant de 15 mois à 57 ans. Ils se répartissent en 15 adultes dont 5 ayant moins de 40 ans et 6 enfants. La répartition selon le sexe a révélé une fréquence de 52,38% (n=11) des témoins étaient de sexe féminin et 47,62% (n= 10) étaient de sexe masculin. Le sexe ratio H/F était de 0,9.

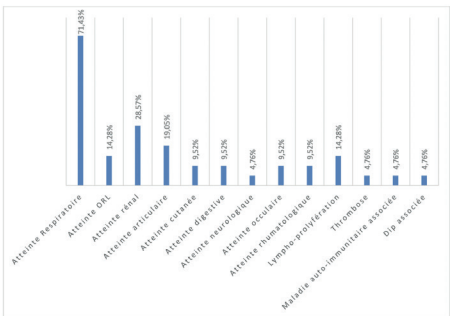


Figure 2. Fréquence des différentes manifestations cliniques chez nos patients.

3. Résultat du dépistage des ANCA par IFI (Granulocyte Mosaic 25) :

Patients :

La recherche des ANCA par le kit Granulocyte Mosaic 25 a révélé un aspect cANCA chez 10 patients

(47.62%), un aspect pANCA chez 9 patients (42.86%) et un aspect atypique (aANCA) chez un seul patient (4.76%). Les ANCA étaient négatifs (avec positivité des anti-MBG) chez un autre patient (**Figure 3**).

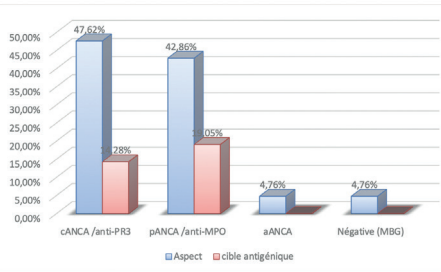


Figure 3 . Aspects d'ANCA et leur cible antigénique par l'IFI Granulocyte Mosaic 25 chez nos patients.

Témoins :

La recherche des ANCA et des cibles antigéniques MPO, PR3 et MBG par le kit Granulocyte Mosaic 25 a donné un résultat négatif pour tous les sujets contrôles inclus dans notre étude.

4. Résultat d'identification des ANCA

IFI (Granulocyte Mosaic 25 ; Euroimmun) :

L'identification des cibles antigéniques des ANCA par le kit "Granulocyte Mosaic 25" a donné un résultat positif chez 8 des 20 patients ANCA positif soit dans 40% des cas. Les cibles retrouvées correspondent à la protéine MPO chez 4 patients (20%) et à la protéine PR3 chez trois autres (15%). Des anticorps anti-MBG ont été identifiés chez un patient avec ANCA négatifs. (**Figure 4**). Sur les 10 patients avec des cANCA des anti-PR3 ont été identifiées chez 3 patients (30%) alors que pour les 9 patient avec des pANCA, les anti-MPO ont été identifiée chez 4 patients (44%).

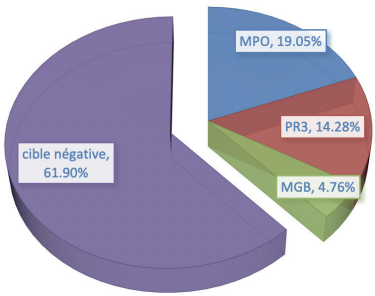


Figure 4. Cibles antigéniques des ANCA identifiées par IFI Granulocyte Mosaic 25.

Immuno-Dot (Euroimmun) :

L'identification des ANCA par Immuno-dots est révélée positive dans 42.29% qui correspondant à des ANCA a cible MPO dans 28.57% des cas (n=6), ANCA PR3 dans 9.52% des cas (2 cas) et 4.76% (1 cas) s'est révélée MGB (**Figure 5**).

Sur les 10 patients avec des cANCA des anti-PR3 ont été identifiées chez 2 patients (20%) alors que pour les 9 patients avec des pANCA, les anti-MPO ont été identifiée chez 6 patients (66%).

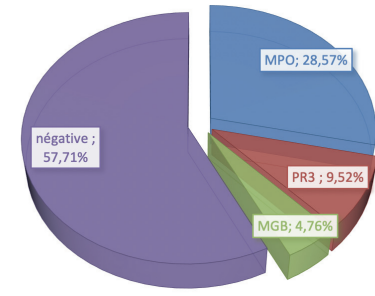


Figure 5. Cibles antigéniques des ANCA identifiées par la technique d'Immuno-dot.

5. Comparaisons des résultats d'identification des ANCA par IFI Vs Immuno-Dot

Les résultats d'identification des deux techniques (IFI et Immuno-Dots) étaient concordants chez 18 des 21 patients inclus dans l'étude, soit un taux de concordance de 85,7% (**Figure 6**).

Pour les patients avec cANCA le taux de concordance des deux techniques était de 90% (9/10) alors qu'il était de 78% (7/9) pour les pa-

tients avec pANCA. Un résultat positif pour les anti-MBG a été retrouvé par les deux techniques (concordance =100%)

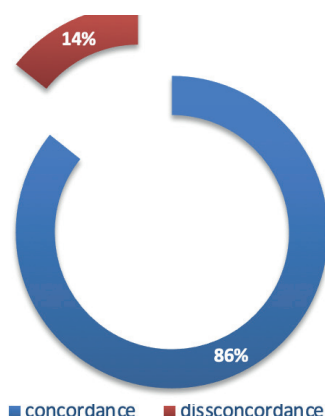


Figure 6. La comparaison des résultats d'identification IFI Granulocyte Mosaic 25 et immuno-dot.

DISCUSSION

Selon les recommandations internationales, le diagnostic sérologique des vascularites associées aux ANCA repose sur une approche en deux étapes : un dépistage initial par immunofluorescence indirecte (IFI), suivi de l'identification des cibles antigéniques PR3 et MPO, généralement réalisée par des techniques immunoenzymatiques (8). Dans ce contexte, la technologie BIOCHIP développée par EUROIMMUN permet, au sein d'un même test d'IFI, d'assurer à la fois le dépistage des ANCA et l'identification de leurs cibles antigéniques. Tout au long de notre étude, l'utilisation du coffret « Granulocyte Mosaic 25 » nous a permis d'apprécier la simplicité d'exécution du test et la facilité d'interprétation des profils de fluorescence observés sur les frottis de granulocytes fixés à l'éthanol et au formol. Cette technologie offre en outre une visualisation claire de la positivité ou de la négativité des anticorps anti-MPO et anti-PR3, mise en évidence par la présence ou l'absence de spots de fluorescence verte.

Afin d'évaluer les performances diagnostiques de la trousse « Granulocyte Mosaic 25 », les sérums de 21 patients ANCA/MBG positifs et 21 sujets sains ont été analysés. Pour les patients, les résultats d'identification des ANCA obtenus avec le kit « Granulocyte Mosaic 25 » ont été comparés à ceux issus de la méthode conventionnelle Immuno-Dot. Une concordance globale de 85,7 % (18/21 cas) a été observée entre les deux méthodes. Notamment, la sensibilité du test pour la détection des anti-PR3 s'est révélée supérieure à celle de l'Immuno-Dot : parmi les 10 sérums cANCA positifs, trois (30%) étaient positifs pour les anti-PR3 en IFI contre seulement deux (20%) en Immuno-Dot. Le sérum discordant appartenait à un enfant de 8 ans, hospitalisé pour un tableau clinique évocateur de vascularite à ANCA, associant une atteinte ORL (éthmoïdite, conjonctivite, sinusite), une pneumopathie interstitielle, une broncho-pneumopathie extensive, un aspect de poumon blanc à la radiographie, une pseudo-folliculite, des adénopathies cervicales et inguinales, ainsi que des lésions cutanées eczématiformes (données non montrées dans la partie « Résultats »).

L'identification des anti-PR3 a contribué à la confirmation du diagnostic et à l'instauration rapide d'un traitement immunosuppresseur. En revanche, la sensibilité du test pour la détection des anti-MPO s'est avérée légèrement inférieure à celle de l'Immuno-Dot. En effet, parmi neuf sérums pANCA positifs, six (66,7 %) étaient positifs pour les anti-MPO en Immuno-Dot, contre seulement quatre (44,4 %) en IFI. Ces patients présentaient tous des formes systémiques de vascularite à ANCA, avec atteintes ORL, pulmonaires et rénales. Le titre des ANCA variait de faible (1/40) à élevé (1/100). Concernant le seul patient présentant des anticorps anti-MBG,

les deux techniques ont permis une identification concordante. La spécificité du test « Granulocyte Mosaic 25 » s'est révélée excellente : aucun des 21 sérums témoins n'a présenté de réactivité, ni au dépistage ni à l'identification.

Nos résultats rejoignent ceux d'une étude indépendante ayant évalué les performances diagnostiques du coffret « Granulocyte Mosaic 25 » sur une cohorte plus large, incluant 249 patients atteints de VAA, 30 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde, 55 patients porteurs d'autres vascularites (non VAA) et 27 sujets sains ⁽¹²⁾. Les résultats ont été comparés à un algorithme diagnostique de référence basé sur l'IFI avec des granulocytes fixés à l'éthanol, associé à des ELISA indirects et de capture pour les ANCA anti-MPO et anti-PR3. Les auteurs ont rapporté une concordance remarquable, atteignant 98 %, entre le test EUROPLUS™ « Granulocyte Mosaic 25 » et l'algorithme multi-tests de référence, et ce malgré l'utilisation de techniques particulièrement sensibles comme l'ELISA de capture pour l'identification des ANCA ⁽¹²⁾. La sensibilité du test pour la détection des cibles MPO/PR3 était comparable à celle des ELISA (77,1 % vs. 76,7 %), avec une excellente spécificité (98 % pour le « Granulocyte Mosaic 25 » contre 99 % pour les ELISA).

De manière très intéressante, cette étude a mis en évidence une meilleure sensibilité du test « Granulocyte Mosaic 25 » pour la détection des anti-PR3 : sept sérums positifs pour PR3-ANCA par IFI étaient négatifs en ELISA de capture. Parmi eux, six ont été confirmés positifs par d'autres systèmes analytiques. Cette discordance pourrait s'expliquer par un effet d'encombrement stérique dans les ELISA de capture, où l'anticorps de capture pourrait masquer certains épitopes recon-

nus par les auto-anticorps anti-PR3⁽¹³⁾, remettant ainsi en question la supériorité diagnostique supposée de l'ELISA de capture pour la détection des ANCA⁽¹⁴⁾.

Au-delà de ses performances analytiques, le test « Granulocyte Mosaic 25 » offre des avantages logistiques non négligeables : un coût réduit, un gain de temps considérable et une compatibilité avec les situations d'urgence clinique, telles que les atteintes rénales rapidement progressives ou les hémorragies pulmonaires, où un diagnostic rapide est essentiel. Les résultats peuvent être obtenus en moins de 90 minutes. Contrairement aux tests rapides tels que l'Immuno-Dot ou les ELISA, le test « Granulocyte Mosaic 25 » respecte parfaitement les recommandations internationales en combinant dans un même dispositif l'IFI et la détection spécifique des antigènes cibles⁽⁸⁾. Par ailleurs, ce système permet également la détection des anticorps anti-membrane basale glomérulaire (anti-MBG), un marqueur spécifique de la maladie de Goodpasture, conférant ainsi au test une polyvalence diagnostique précieuse^(15, 16).

Par ailleurs, il convient de souligner certaines limites de notre étude, notamment la taille réduite de l'échantillon analysé ainsi que les contraintes méthodologiques inhérentes à notre protocole. Les performances du test EUROPLUS™ « Granulocyte Mosaic 25 » gagneraient à être évaluées dans des cohortes plus larges, mieux représentatives de la diversité clinique des vascularites associées aux ANCA. Par ailleurs, les cas de discordance observés entre l'IFI et la technique Immuno-Dot mettent en évidence l'intérêt d'un recours complémentaire à d'autres méthodes immunoenzymatiques, telles que l'ELISA de capture, afin de renforcer la robustesse diagnos-

tique et d'affiner la caractérisation des auto-anticorps impliqués.

CONCLUSION

Au total, le test « Granulocyte Mosaic 25 » présente globalement une excellente concordance avec les techniques conventionnelles (Immuno-Dot). Il présente l'avantage certain de dépister et d'identifier les ANCA au sein d'un même test, ce qui permet un gain de temps et de sensibilité incontestable. Bien que les performances de ce kit pour l'identification des anti-PR3 semblent être, au moins équivalentes, sinon meilleures à celle de la technique Immuno-Dot, son manque de spécificité pour les anti-MPO mérite d'être analysé davantage sur un échantillon plus grand. Le gain de temps et le coût réduit sont ses atouts majeurs. Ils justifient son utilisation en pratique médicale courante en remplacement des techniques classiques. Une étape supplémentaire d'identification par une technique immunoenzymatique serait recommandée chez les patients ayant des tableaux évocateurs avec des pANCA positifs et des anti-MPO négatifs.

REFERENCES

1. Damoiseaux J, Cohen Tervaert JW. The ANCA-associated vasculitides: immunopathogenesis and treatment. *Curr Rheumatol Rep*. 2017 Apr;19(4):15. doi:10.1007/s11926-017-0641-0.
2. Guillevin L, Pagnoux C. Classification des vascularites systémiques. *Rev Prat*. 2008;58:480-6.
3. Churg J, Strauss L. Allergic granulomatosis, allergic angiitis, and periarteritis nodosa. *Am J Pathol*. 1951;27:277-301.
4. Jayne D. Challenges in the management of microscopic polyangiitis: past, present and future. *Curr Opin Rheumatol*. 2008;20:3-9.
5. Sedláček J, Hrubá M. Microscopic polyangiitis and its relationship to other small-vessel vasculitides. *Cesk Patol*. 2020 Spring;56(2):65-7.
6. van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, et al. Antibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet*. 1985;1:425-9.
7. Beauvillain C, Delneste Y, Renier G, Jeannin P, Subra JF, Chevailler A. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: how should the biologist manage them? *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008;35(1-2):47-58.
8. Savage 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). *Am J Clin Pathol*. 1999;111:507-13.
9. Cohen Tervaert JW, Damoiseaux J. Fifty years of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) testing: do we need to revise the international consensus statement on testing and reporting on ANCA? *APMIS Suppl*. 2009;127:55-9.
10. Savage JA, Paspaliaris B, Silvestrini R, Davies D, Nikoloutsopoulos T, Sturgess A, et al. A review of immunofluorescent patterns associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and their differentiation from other antibodies. *J Clin Pathol*. 1998;51:568-75.
11. Humbel RL. Autoanticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA). *Laboratoire Luxembourgeois d'Immunopathologie, L-4149 Esch-sur-Alzette, Luxembourg*.
12. Damoiseaux J, Steller U, Buschtez M, Vaessen M, Rosemann A, van Paassen P, et al. Evaluation of a novel immunoassay for the simultaneous detection of PR3- and MPO-ANCA. *J Immunol Methods*. 2009;348(1-2):67-73. doi:10.1016/j.jim.2009.07.001.
13. Csernok E, Holle J, Hellmich B, Cohen Tervaert JW, Kallenberg CG, Limburg PC, et al. Evaluation of capture ELISA for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against proteinase 3 in Wegener's granulomatosis: first results from a multicentre study. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43:174-80.
14. Hellmich B, Csernok E, Fredenhausen G, Gross WL. A novel high sensitivity ELISA for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies against proteinase-3. *Clin Exp Rheumatol*. 2007;25 Suppl 44:S1-5.
15. Rutgers A, Heeringa P, Damoiseaux JG, Cohen Tervaert JW. ANCA and anti-GBM antibodies in diagnosis and follow-up of vasculitic disease. *Eur J Intern Med*. 2003;14:287-95.
16. Westman KW, Bygren PG, Eilert I, Wiik A, Wieslander J. Rapid screening assay for anti-GBM antibody and ANCA: an important tool for the differential diagnosis of pulmonary renal syndromes. *Nephrol Dial Transplant*. 1997;12:1863-9.