

PANORAMA DA PESQUISA DE ANTICORPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTRÓFILO (ANCA) NO MUNDO

**Giancarlo Castro Dourado Pinezi^[1], Arthur Luiz de Oliveira^[1],
Wilson de Melo Cruvinel^[1].**

^[1] Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), Goiânia-Goiás, Brasil.

Abstract

The identification of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in the late 20th century revolutionized vasculitis diagnostics, with indirect immunofluorescence (IIF) protocols standardized since the 1988 workshop and the advent of ELISA assays for PR3-ANCA and MPO-ANCA. This study aimed to assess, following the 2017 Bossuyt et al. consensus, the current performance and remaining gaps of ANCA detection methods. An integrative review was conducted in PubMed (January 2017–search date), including clinical trials, systematic reviews, meta-analyses, and guidelines in English or Portuguese, yielding 27 records and 10 final inclusions. Antigen-specific immunoassays demonstrated sensitivity and specificity equivalent or superior to IIF for granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis, yet lacked objective criteria for “high-quality” assay designation. Pre-analytical variability in neutrophil fixation protocols and inter-platform discrepancies were also noted. Emerging technologies — automated IIF reading, multiplex ELISAs, NET-based flow cytometry, and certified reference materials — show promise to reduce subjectivity and harmonize results but require large-scale prospective validation. We conclude that reliable ANCA testing demands rigorous local validation, protocol standardization, use of certified calibrators, and ongoing international consensus updates to maintain clinical efficacy.

Keywords: ANCA, immunofluorescence, ELISA, autoimmune vasculitis,

Resumo

A descoberta dos anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) nas décadas finais do século XX transformou o diagnóstico das vasculites, com protocolos de imunofluorescência indireta (IFI) padronizados desde o primeiro workshop de 1988 e o surgimento de ensaios imunoenzimáticos (ELISA) para PR3-ANCA e MPO-ANCA. Este estudo objetivou avaliar, após o consenso de Bossuyt et al. (2017), o desempenho dos métodos de detecção de ANCA e as lacunas ainda existentes. Realizou-se revisão integrativa na base PubMed (janeiro/2017–data da busca), com inclusão de artigos clínicos, revisões sistemáticas, metanálises e diretrizes em inglês ou português, resultando em 27 artigos identificados e 10 selecionados. Os ensaios imunoenzimáticos específicos mostraram sensibilidade e especificidade equivalentes ou superiores à IFI para granulomatose com poliangiite e poliangiite microscópica, mas sem critérios objetivos para definir “testes de alta qualidade”. Identificaram-se ainda variabilidade nos protocolos pré-analíticos de fixação de neutrófilos e discrepâncias entre plataformas comerciais. Tecnologias emergentes — automação de IFI, ELISAs multiplexados, codificação por NETs e materiais de referência certificados — apresentam potencial para reduzir subjetividade e harmonizar resultados, mas carecem de validação prospectiva multicêntrica. Conclui-se que a consolidação do diagnóstico de ANCA depende de validação local rigorosa, padronização de protocolos, uso de calibradores certificados e atualização contínua dos consensos internacionais para garantir confiabilidade clínica.

Palavras-chave: ANCA, imunofluorescência, ELISA, vasculites autoimunes.

Abreviações

ANCA: Anticorpos Anticitoplasma de Neutrófilos

IFI: Imunofluorescência Indireta

IIFA: Indirect Immunofluorescence Assay,

FAN: Fator Antinúcleo

ANA: Antinuclear Antibody

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

PR3: Proteinase 3

MPO: Mieloperoxidase

C-ANCA: ANCA Citoplasmático

P-ANCA: ANCA Perinuclear

X-ANCA: ANCA Atípico

AAV: Vasculites Associadas ao ANCA

CLIA: Chemiluminescent Immunoassay

ALBIA: Addressable Laser Bead Immunoassay

DII: Doenças Inflamatórias Intestinais

Introdução

A descoberta dos anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) na década de 1980 representou um avanço significativo no diagnóstico das vasculites. A identificação desses autoanticorpos, primeiramente apenas como um fator ligado a marcação de neutrófilos em imunofluorescência indireta (IFI) e possivelmente autoanticorpos similares em oito pacientes com glomerulonefrite segmentar necrosante pauci-imune (DAVIES et al., 1982), o que proporcionou uma ferramenta diagnóstica crucial para doenças como a granulomatose de Wegener, onde, pela primeira vez em 1985, os autoanticorpos anticitoplasmáticos foram associados a uma patologia específica, associando sua presença sobretudo na fase ativa da doença (VAN DER WOUDE et al., 1985).

Este avanço foi seguido pelo primeiro workshop internacional sobre ANCA em Copenhague em 1988, quando se estabelece a nomenclatura de padrões citoplasmáticos e perinucleares, o que levou ao reconhecimento dos padrões C-ANCA e P-ANCA, respectivamente (RASMUSSEN; WIJK; JAYNE, 2015), consolidando a importância dos ANCA no diagnóstico das vasculites associadas ao ANCA. Além disso, foi quando se estabelece o protocolo padrão com leucócitos humanos lavados com diluição sérica de 1:20 e fixados com etanol 96-99% à 4° por cinco minutos para detecção de ANCA por IFI, pois ele seria o único que diferenciaria os dois padrões acima citados (WIJK, 1989).

Não menos importante, a mieloperoxidase (MPO) foi o primeiro antígeno ANCA identificado, o qual foi identificado em neutrófilos fixados com etanol. Neles, os grânulos primários liberam MPO, que se deposita no núcleo e forma padrão P-ANCA (FALK; JENNETTE, 1988). Os mesmos pesquisadores diferenciaram o uso da formalina e do etanol como fixadores para o estudo em IFI dos ANCA, já que eles geravam padrões diferentes de marcação fluorescente para um mesmo autoanticorpo. Rasmussen e seus colaboradores (2015) descrevem como as várias técnicas de IFI diferem-se quanto a origem dos neutrófilos, sua purificação, sua aplicação em lâminas e por fim, o mais proeminente nas diferenças entre os laboratórios, a técnica de fixação. Posteriormente, foram descritos dois outros antígenos dos autoanticorpos anticitoplasma de neutrófilo: elastase humana de neutrófilo (que se relaciona com o

padrão P-ANCA) e a proteinase sérica 3 (PR3) (ligada ao C-ANCA) (JENNE et al., 1990; TERVAERT et al., 1990).

Além disso, outros avanços importantes para a investigação laboratorial do ANCA foram o uso do primeiro teste imunoenzimático ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), no caso de fase sólida, usando o primeiro antígeno purificado por afinidade para detecção do C-ANCA (LÜDEMANN; UTECHT; GROSS, 1988).

Os dois primeiros workshops foram a base para os consensos internacionais que se seguiram, como o “International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies” em 1999 e o “Revised 2017 international consensus on testing of ANCAs in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis”, que foram fundamentais para a padronização dos testes de ANCA e aprimoramento do diagnóstico clínico das vasculites associadas a ANCA (BOSSUYT et al., 2017; SAVIGE et al., 1999).

Os anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) são imunoglobulinas direcionadas contra componentes específicos encontradas nos grânulos de neutrófilos. Eles são diferenciados em dois padrões principais: o C-ANCA, comumente associado à proteinase 3 (PR3), e P-ANCA, geralmente relacionado à mieloperoxidase (MPO). O que podemos observar uma imagem de imunofluorescência indireta do padrão C-ANCA é pontilhados fluorescentes por todo citoplasma com acentuação no centro da célula em fundo escuro em todo citoplasma do neutrófilo, deixando livre o núcleo multilobulado. Já em P-ANCA uma fluorescência que circunda e delimita o núcleo neutrófilo. Esses padrões são identificados através da técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI) e são essenciais no diagnóstico de vasculites associadas ao ANCA, como a granulomatose com poliangeite, poliangiite microscópica e glomerulonefrite pauci-imune (SAVIGE; DAVIES; GATENBY, 1994). Contudo, a positividade do teste laboratorial de ANCA deve estar associada a uma indicação clínico-laboratorial adequada para ser adequadamente considerada, pois se trata se um teste pouco específico que não corrobora para pesquisa e interpretação se não atrelado a uma história clínica precisa (MOISEEV et al., 2020).

Para as vasculites autoimunes associadas ao ANCA (AAV), são considerados a Granulomatose com poliangeite, poliangiite microscópica e a poliangiite granulomatosa eosinofílica (BOSSUYT et al., 2017; TRIVIOLI; TERRIER; VAGLIO,

2020) As duas primeiras podem ser investigadas através do protocolo de Savige, J., *et al* (1999), ou do protocolo de Bossuyt X., *et al* (2017), divergindo quanto a necessidade ou não da imunofluorescência indireta como primeiro método laboratorial de triagem. Para aqueles que seguem com o protocolo de 1999, a partir das indicações clínicas, é feito primeiro uma imunofluorescência Indireta de neutrófilos e depois a dosagem pelo método imunoenzimático (SAVIGE *et al.*, 1999).

Hutu e colabores, em 2016, observaram uma evolução tecnológica nos testes de no período entre os consensos, foi demonstrado que havia uma superioridade dos imunoenaios antígeno-específicos, em relação à imunofluorescência indireta, com seu alto grau de variabilidade, na performance diagnóstica para o ANCA (HUTU *et al.*, 2016). Portanto, com o protocolo de 2017, a partir das indicações clínicas, recomenda-se primeiramente a pesquisa por enzimaensaio de alta qualidade para os anticorpos PR3-ANCA e MPO-ANCA, que com novas técnicas além da fase sólida, maior pureza e especificidade, tornou-se o mais recomendado como triagem inicial. Caso haja um resultado positivo, recomenda-se manejo clínico como vasculite associada ao ANCA. Caso haja um resultado negativo, tem-se duas possibilidades a depender do nível de suspeita clínica. Com alta suspeita clínica e resultado negativo, deve-se seguir com um teste de imunofluorescência indireta, método imunoenzimático de outro laboratório ou pesquisa por ensaio enzimático para outro anticorpo. Só em casos de baixa suspeita clínica e resultado negativo que se encerra a pesquisa por vasculites associadas ao ANCA relacionadas ou a poliangite granulomatosa ou poliangite microscópica (BOSSUYT *et al.*, 2017).

No caso de suspeita clínica de granulomatose eosinofílica com poliangite, usa-se tanto a imunofluorescência indireta em neutrófilos (com positividade para ANCA em 30-35% dos pacientes), quanto o enzimaensaio com positividade de 90-100% para MPO-ANCA em pacientes com Imunofluorescência positiva (TRIVIOLI; TERRIER; VAGLIO, 2020) No consenso internacional de testes de ANCA para além das vasculites sistêmicas, especialistas do mundo inteiro reuniram-se para estabelecer um consenso do valor clínico e diagnóstico dos testes de ANCA para outras doenças (MOISEEV *et al.*, 2020), resultados estes que foram enumerados por nós e podem ser vistos na **TABELA 1**.

Tabela 1: Prevalência dos padrões de ANCA em IFI e da positividade dos testes de imunoenensaio para doenças associadas

Doenças associadas	Testes e seus resultados esperados
Granulomatose com poliangite	P-ANCA: 11–15% C-ANCA: 65–77%
Poliangite granulomatosa eosinofílica	ANCA: 14.6- 73.0% Elisa: 14.6%-60.6%
Poliangite Microscópica	P-ANCA: 85–89% C-ANCA: 5–6%
Artrite Reumatoide	P-ANCA: 16-50% MPO-ANCA:0-4%
Lúpus Eritematoso Sistêmico	P-ANCA: 14-31,4% MPO-ANCA: 9,3% PR3-ANCA: 1,3%
Esclerose Sistêmica	ANCA: 0-9,1% PR3 ou MPO-ANCA:2,4%
Síndrome de Sjögren	ANCA: 9% (P-ANCA) MPO-ANCA: 3%
Doença Intestinal Inflamatória	Doença de Crohn e P-ANCA: 6-38% Retocolite e P-ANCA: 41-73%
Doença Hepática Autoimune	P-ANCA atípico no tipo 1: 65-89%
Infecções	Hepatites Virais: MPO-ANCA 2% and 7%, PR3-ANCA 8%. Bartonella endocarditis: 78% ANCA+ e 67% PR3+
Doença Intersticial Pulmonar	MPO-ANCA:4–36% PR3-ANCA:2-4%
Vasculite associada ao ANCA Induzida por Drogas	ANCA: 21%
Doença Anti-membrana Basal glomerular	ANCA: 13-45%

Fonte: (BOSSUYT et al., 2017; MOISEEV et al., 2020; TRIVIOLI; TERRIER; VAGLIO, 2020).

Métodos

Trata-se de um estudo no formato de revisão integrativa. Para este trabalho empregou-se uma busca única na base PubMed/MEDLINE, abrangendo o período de 1º de janeiro de 2017 até a data da pesquisa, contemplando artigos em inglês e português. Utilizaram-se descritores MeSH e termos livres relacionados a “antineutrophil cytoplasmic antibodies” (ANCA), “C-ANCA”, “P-ANCA”, “diagnostic accuracy”, “sensitivity and specificity”, “ELISA”, “immunofluorescence” e “vasculitis”, combinados por operadores booleanos, e aplicaram-se filtros de espécie humana e tipos de publicação (ensaios clínicos, revisões sistemáticas, metanálises e diretrizes). Foram incluídos estudos originais prospectivos ou retrospectivos, revisões sistemáticas, metanálises e guidelines que investigaram pacientes com suspeita ou diagnóstico de vasculites associadas a ANCA (granulomatose com poliangiite, poliangiite microscópica ou eosinofílica), avaliando testes por imunofluorescência indireta (IFI) e/ou ensaios imunoenzimáticos para PR3-ANCA e MPO-ANCA, desde que apresentassem métricas diagnósticas como sensibilidade, especificidade, valores preditivos ou razões de chances. Excluíram-se estudos publicados antes de 2017, relatos ou séries de caso sem comparadores diagnósticos, cartas, editoriais, resumos de congresso, pesquisas em modelos animais ou in vitro, trabalhos sem acesso ao texto completo e publicações em idiomas diferentes de inglês ou português. Chegamos a 27 artigos dos quais 10 foram escolhidos.

Discussão

A discussão dos achados revela que, embora o consenso internacional de 2017 tenha representado um marco importante ao recomendar o uso preferencial de ensaios imunoenzimáticos específicos (IMA) para PR3-ANCA e MPO-ANCA na triagem inicial de granulomatose com poliangiite (GPA) e poliangiite microscópica (MPA), suas recomendações ainda apresentam lacunas que precisam ser enfrentadas na prática clínica. Primeiramente, o escopo dos dados analisados no consenso abrangeu apenas dois métodos de imunofluorescência indireta (IIF) comparados a oito IMA, excluindo a granulomatose eosinofílica com poliangiite (GPAE), fato que restringe a aplicabilidade das conclusões aos subtipos GPA e MPA (Bossuyt et al., 2017). Além disso, embora o documento enfatize “testes de alta qualidade”, não define critérios objetivos para essa classificação, deixando ao livre arbítrio de fabricantes e laboratórios a decisão sobre quais plataformas atendem a esse requisito (Holding, 2019).

Holding (2019) alerta que, sem detalhamento dos parâmetros que caracterizam um ensaio de alta qualidade — como limites de detecção, coeficientes de variação interlote e estabilidade a longo prazo —, a adoção irrestrita das recomendações pode expor centros clínicos a riscos de performance variável. Nesse sentido, é crucial que cada laboratório realize validação clínica local, monitore a variabilidade entre lotes e implemente auditorias periódicas para garantir que a sensibilidade e especificidade observadas em estudos multicêntricos sejam efetivamente reproduzidas no seu contexto.

Paralelamente, as tecnologias emergentes para detecção de ANCA, como os sistemas automatizados de análise de imagem em IIF e os ensaios ELISA multiplexados para PR3 e MPO, mostram potencial para superar as limitações da IIF convencional, em especial sua subjetividade e demanda de mão de obra especializada (Csernok & Moosig, 2014). Contudo, até o momento, não há evidência clínica robusta suficiente para substituir completamente o fluxo atual de triagem por IIF seguido de confirmação por ELISA, e qualquer mudança de protocolo precisará ser respaldada por estudos prospectivos multicêntricos que comprovem equivalência ou superioridade na acurácia diagnóstica.

Inovações ainda mais disruptivas têm sido propostas com base nas armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs). A metodologia de citometria de fluxo usando microesferas recobertas por NETs, descrita por Roitsch et al. (2018), oferece uma alternativa objetiva à leitura ao microscópio, mas enfrenta desafios de agregação de partículas e sensibilidade reduzida em soros com títulos baixos. Além disso, permanece a necessidade de controles internos negativos para diferenciar sinais verdadeiros de fluorescência inespecífica, principalmente em pacientes com anticorpos antinucleares concomitantes.

A variabilidade pré-analítica também continua sendo um ponto crítico. Nishibata et al. (2021) demonstraram que diferentes protocolos de fixação — etanol versus formalina em suas diversas formas — têm impacto direto na antigenicidade de MPO e PR3, podendo reduzir em mais de 50 % a intensidade de fluorescência após armazenamento. Esses achados reforçam a importância de padronizar rigorosamente os procedimentos de preparo das lâminas, pois pequenas variações no protocolo podem levar a discrepâncias significativas na leitura dos títulos de ANCA.

Por fim, embora haja iniciativas promissoras de standardização, como o desenvolvimento de materiais de referência certificados para MPO-ANCA (Monogioudi et al., 2017) e a aplicação de fatores de correção matemática entre diferentes kits (Hutu et al., 2016), a comparabilidade entre ensaios comerciais ainda é limitada. Mesmo com calibradores comuns, persistem diferenças bioquímicas e metodológicas que impedem a total uniformização dos resultados.

Conclusão

Em síntese, a descoberta dos anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) na década de 1980 inaugurou uma era de avanços no diagnóstico das vasculites, culminando no consenso internacional de 2017, que recomendou o uso preferencial de ensaios imunoenzimáticos específicos para PR3-ANCA e MPO-ANCA na triagem inicial de granulomatose com poliangiite e poliangiite microscópica. A presente revisão sistemática — baseada em busca única no PubMed a partir de janeiro de 2017 — evidenciou que esses ensaios podem de fato igualar ou superar o desempenho da imunofluorescência indireta, mas ainda carecem de definições objetivas sobre o que caracteriza um “teste de alta qualidade”. Além disso, a variabilidade pré-analítica, sobretudo nos protocolos de fixação de neutrófilos, e as diferenças substanciais entre plataformas comerciais apontam para a necessidade urgente de padronização de procedimentos e de materiais de referência certificados.

Por outro lado, as tecnologias emergentes — como a automação da leitura de IIF, os ELISAs multiplexados de alta sensibilidade, a citometria de fluxo baseada em neutrophil extracellular traps (NETs) e os calibradores comuns para MPO-ANCA — prometem reduzir a subjetividade, aprimorar a acurácia e harmonizar resultados entre laboratórios. No entanto, essas inovações ainda demandam validação clínica prospectiva em larga escala e monitoramento contínuo de lotes e reagentes para assegurar que a eficácia observada em estudos multicêntricos seja mantida na prática diária. Somente a combinação de validação local de cada ensaio, padronização rigorosa dos protocolos pré-analíticos, condução de estudos multicêntricos robustos e atualização periódica dos consensos internacionais permitirá que os testes de ANCA conservem seu papel central e confiável no diagnóstico e monitoramento das vasculites associadas.

Referências

BOSSUYT, X. et al. Position paper: Revised 2017 international consensus on testing of ANCA in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 13, n. 11, p. 683–692, nov. 2017.

DAVIES, D. J. et al. Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? **BMJ**, v. 285, n. 6342, p. 606–606, 28 ago. 1982.

DEKA, S. et al. Interference of Antinuclear Antibody (ANA) in Indirect Immunofluorescence Assay (IIFA)-Based Perinuclear Antineutrophil Cytoplasmic Antibody (pANCA) Interpretation. **Autoimmune Diseases**, v. 2022, 2022.

FALK, R. J.; JENNETTE, J. C. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. **The New England journal of medicine**, v. 318, n. 25, p. 1651–7, 23 jun. 1988.

GÜR VURAL, D. et al. Effect of antinuclear antibody positivity on antineutrophil cytoplasmic antibody results by indirect immunofluorescence assay. **Medicine (United States)**, v. 103, n. 10, p. E37384, 8 mar. 2024.

HAGEN, E. C. et al. The value of indirect immunofluorescence and solid phase techniques for ANCA detection. A report on the first phase of an international cooperative study on the standardization of ANCA assays. EEC/BCR Group for ANCA Assay Standardization. **Journal of immunological methods**, v. 159, n. 1–2, p. 1–16, 26 fev. 1993.

HOLDING, S. **Challenges and opportunities from the revised international consensus on ANCA testing. Annals of Clinical Biochemistry** SAGE Publications Ltd, , 1 jan. 2019.

HUTU, D. P. et al. First steps in the standardization of immunoglobulin IgG myeloperoxidase-anti-neutrophil cytoplasmic antibody measurements. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 183, n. 2, p. 193–205, 1 fev. 2016.

JENNE, D. E. et al. Wegener's autoantigen decoded. **Nature**, v. 346, n. 6284, p. 520, 9 ago. 1990.

LOCHMAN, I. et al. ANCA in the diagnosis of neutrophil-mediated inflammation. **Autoimmunity reviews**, v. 10, n. 6, p. 295–8, abr. 2011.

LOCK, R. J.; UNSWORTH, D. J. Immunofluorescent patterns associated with ANCA. **Journal of clinical pathology**, v. 52, n. 3, p. 237, mar. 1999.

LÜDEMANN, J.; UTECHT, B.; GROSS, W. L. Detection and quantitation of anti-neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis by ELISA using affinity-purified antigen. **Journal of immunological methods**, v. 114, n. 1–2, p. 167–74, 10 nov. 1988.

MATHIAUX, F. et al. Evaluation of an automated system of immunofluorescence analysis in daily practice. **Annales de Biologie Clinique**, v. 76, n. 4, p. 407–415, 1 jul. 2018.

MENEZES, J. M. et al. Comparison between enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies. **Einstein (Sao Paulo, Brazil)**, v. 18, p. eAO5132, 2020.

MOISEEV, S. et al. 2020 international consensus on ANCA testing beyond systemic vasculitis. **Autoimmunity reviews**, v. 19, n. 9, p. 102618, set. 2020.

MONOGIOUDI, E. et al. Development of a Certified Reference Material for myeloperoxidase-anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (MPO-ANCA). **Clinica Chimica Acta**, v. 467, p. 48–50, 1 abr. 2017.

MONOGIOUDI, E. et al. Certified reference material against PR3 ANCA IgG autoantibodies. From development to certification. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 57, n. 8, p. 1197–1206, 1 ago. 2019.

NISHIBATA, Y. et al. Neutrophil fixation protocols suitable for substrates to detect anti-neutrophil cytoplasmic antibodies by indirect immunofluorescence. **Pathology Research and Practice**, v. 228, 1 dez. 2021.

PEREL, S. B. et al. Diagnostic value of distinguishing and reporting different perinuclear ANCA (P-ANCA) immunofluorescence patterns: a prospective study. **American journal of clinical pathology**, v. 140, n. 2, p. 184–92, ago. 2013.

RASMUSSEN N, WIIK A. **Indirect immunofluorescence examination for IgG-ANCA in sera submitted for the 1st international workshop on ANCA**, 1988. *APMIS Suppl.* ;6:16–20. 1989.

RASMUSSEN, N. et al. Individual values of antineutrophil cytoplasmic antibodies do not correspond between antigen-specific assays. **Clinical chemistry and laboratory medicine**, v. 56, n. 2, p. e39–e42, 26 jan. 2018.

ROITSCH, S. et al. Detection by flow cytometry of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in a novel approach based on neutrophil extracellular traps. **Autoimmunity**, v. 51, n. 6, p. 288–296, 18 ago. 2018.

SAVIGE, J. et al. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). **American journal of clinical pathology**, v. 111, n. 4, p. 507–13, abr. 1999.

SAVIGE, J. 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**, v. 120, n. 3, p. 312–8, set. 2003.

SAVIGE, J. A.; DAVIES, D. J.; GATENBY, P. A. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): their detection and significance: report from workshops. **Pathology**, v. 26, n. 2, p. 186–93, abr. 1994.

TERVAERT, J. W. et al. Autoantibodies against myeloid lysosomal enzymes in crescentic glomerulonephritis. **Kidney international**, v. 37, n. 2, p. 799–806, fev. 1990.

THOMPSON, G. E. et al. Clinical Utility of Serial Measurements of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies Targeting Proteinase 3 in ANCA-Associated Vasculitis. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 3 set. 2020.

TRIVIOLI, G.; TERRIER, B.; VAGLIO, A. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis: understanding the disease and its management. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 59, n. Suppl 3, p. iii84–iii94, 1 maio 2020.

VAN DER WOUDE, F. J. et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. **Lancet (London, England)**, v. 1, n. 8426, p. 425–9, 23 fev. 1985.

WIJK, A. Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. **APMIS. Supplementum**, v. 6, p. 12–3, 1989.