

**EXPERTISE ET PRESTATIONS DE SERVICE  
QUALITE DES LABORATOIRES**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE  
COMITE DES EXPERTS**

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE  
DES ANALYSES DE BIOLOGIE CLINIQUE**

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF  
SEROLOGIE NON-INFECTIEUSE – ANCA  
ENQUETE 2021/2**

**Sciensano/Sérologie non-infectieuse/45-FR**

Expertise et prestations de service  
Qualité des laboratoires  
Rue J. Wytsman, 14  
1050 Bruxelles | Belgique

[www.sciensano.be](http://www.sciensano.be)

## COMITE DES EXPERTS

Sciensano					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Dr. ir. S. Broeders	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.52.25		
		e-mail:	sylvia.broeders@sciensano.be		
Dr. K. Vernelen	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.55.29		
		e-mail:	kris.vernelen@sciensano.be		
Experts	Institution				
Dr. C. Bonroy	UZ Gent				
Dr. X. Bossuyt	UZ Leuven				
Apr. S. Goletti	IBC Bruxelles				
Apr. L. Lutteri	CHU Liège				
Apr. S. Schouwers	G.Z.A.				
Apr. L. Van Hoovels	OLVZ Aalst				
Dr. M. Vercammen	AZ Sint Jan Brugge				

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts le : 12/08/2021

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts du : 02/09/2021

### Responsabilités :

Lors de cette réunion, le comité d'experts *ad hoc* a été consulté pour avis au sujet du contenu du rapport global, de l'interprétation des résultats, des critères d'évaluation et de l'organisation des prochaines évaluations. La responsabilité du choix des échantillons utilisés et de la conception finale de l'enquête est portée par le service Qualité des laboratoires de Sciensano.

**Autorisation de diffusion de rapport:**

Par Broeders Sylvia, coordinateur d'enquête, le 18/10/2021.

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/rapports/fr/rapports\\_annee.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm)

## TABLE DES MATIERES

DETECTION, TYPAGE ET IDENTIFICATION DES ANCA.....	4
INFORMATION SPECIFIQUE A L'EEQ.....	4
INFORMATION ECHANTILLON ET PARTICIPATION.....	5
ECHANTILLON.....	5
PARTICIPATION.....	5
RESULTATS .....	6
DETECTION ET TYPAGE DES ANCA : IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE .....	7
IDENTIFICATION DES ANCA : IMMUNODOSAGE .....	10
DISCUSSION DES RESULTATS ET CONCLUSION .....	12

## DETECTION, TYPAGE ET IDENTIFICATION DES ANCA

### INFORMATION SPECIFIQUE A L'EEQ

L'échantillon pour l'EEQ 2021/2 a été envoyé aux laboratoires le 14 juin 2021. L'EEQ a été clôturée le 28 juin 2021. Le rapport préliminaire a été publié sur notre site web le 6 juillet 2021.

Les résultats ont été discutés et validés lors de la réunion du comité d'experts le 2 septembre 2021. Le rapport global définitif a été publié sur notre site web le 18 octobre 2021.

### **Echantillon**

Tous les participants de l'EEQ 2021/2 ont reçu un échantillon liquide de plasma. **SN/18126** provenant d'un patient atteint d'une granulomatose avec polyangéite. Nous remercions le Prof R.-L. Humbel (Luxembourg) de nous avoir procuré cet échantillon.

L'échantillon a préalablement été approuvé par les membres du comité d'experts qui ont considéré l'échantillon comme suit: ANCA positif, aspect cANCA (sur des neutrophiles fixés à l'éthanol), PR3 positif, MPO négatif. Ce résultat est considéré comme étant le résultat accepté.

Tous les experts ayant rendu le même avis, l'échantillon est considéré comme homogène.

### **Participation**

Au total, 84 laboratoires belges ont participé à l'EEQ.

Sept laboratoires ont soumis leurs résultats après la date de clôture. Compte tenu des circonstances (COVID), leurs résultats seront quand même inclus.

## RESULTATS

Au total, 72 laboratoires (85.7%) ont utilisé l'immunofluorescence indirecte (IFI) pour la détection et le typage des ANCA.

81 laboratoires (96.4%) ont réalisé une identification en utilisant un immunodosage.

69 laboratoires (82.1%) ont à la fois utilisé une méthode IFI et un immunodosage.

Tableau 1: Résumé du nombre de laboratoires qui ont effectué l'IFI ou un immunodosage, ou une combinaison

	<b>N</b>
IFI + Immunodosage	69
IFI	3
Immunodosage	12

## Détection et typage des ANCA : Immunofluorescence Indirecte

72 laboratoires (85.7%) ont utilisé l'IFI. Des 12 laboratoires qui n'ont pas effectué d'IFI, deux laboratoires ont mentionné qu'ils envoient leurs échantillons à un laboratoire externe.

Tous les participants ont rapporté une fluorescence **positive correcte**.

71 de ces laboratoires (98.6%) ont rapporté un aspect **cANCA positif correct** sur des neutrophiles fixés à l'éthanol. Un laboratoire a observé un aspect pANCA.

57 laboratoires ont rapporté un résultat sur des neutrophiles fixés à la formaline. Tous ont rapporté un aspect cANCA.

Tableau 2: Récapitulatif des aspects obtenus via IFI

Méthode	N	Ethanol	Formaline	N
EUROIMMUN Mosaic	36	cANCA	cANCA	33
		cANCA	/	1
		/	/	1*
		pANCA	cANCA	1
Inova Diagnostics	20	cANCA	cANCA	10
		cANCA	/	10
Menarini Diagnostics	9	cANCA	cANCA	8
		cANCA	/	1
EUROIMMUN	2	cANCA	cANCA	2
AESKU Diagnostics (bmd)	3	cANCA	cANCA	2
		cANCA	/	1
Alphadia	1	cANCA	/	1
BIO-RAD	1	cANCA	/	1

Résultats indiqués en bleu sont considérés comme erronés. /: pas rapporté ; \*n'a pas rapporté d'aspects séparés mais seulement un résultat final (cANCA)

Des 71 laboratoires, qui ont rapporté un aspect cANCA correct, 61 laboratoires ont rapporté un titre. Celui-ci variait de 1/10 à 1/1000.

Tableau 3: Aperçu des titres obtenus (sur granulocytes neutrophiles fixés à l'éthanol), seuil utilisé et médiane calculée pour les participants qui ont signalé un aspect cANCA correct (N = 71)

<b>Methode</b>	<b>N</b>	<b>Titre (ethanol) (# résultats &gt;1)</b>	<b>Valeur seuil (# résultats &gt;1)</b>	<b>M</b>
EUROIMMUN Mosaic <sup>a</sup>	35	10, >10, ≥20, >20, 40(6), 50, 80(7), 160(8), 320(3), 1000	10(7), 20(12), <40(2), 40(7)	80
Inova Diagnostics <sup>b</sup>	20	>20, 20(2), 40(2), 80(7), 160(3), 640	20(13), 40(2)	80
Menarini Diagnostics <sup>c</sup>	9	20, 40(3), 80, 160(3)	10, <20, 20(4), 40(2)	40-80
EUROIMMUN <sup>d</sup>	2	≥40, 40	40	-
AESKU Diagnostics (bmd)	3	40(2), 80	20(3)	-
Alphadia	1	160	40	-
BIO-RAD	1	>80	80	-

<sup>a</sup>Cinq participants n'ont pas signalé de titre, deux participants avec un titre n'ont pas signalé de valeur seuil;

<sup>b</sup>Quatre participants n'ont pas signalé de titre, un participant avec un titre n'a pas signalé de valeur seuil;

<sup>c</sup>Un participant n'a pas signalé de titre ; <sup>d</sup> Un participant avec un titre n'a pas signalé de valeur seuil

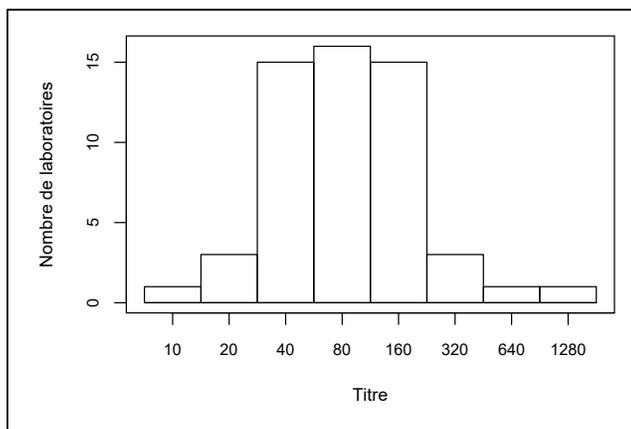


Figure 1: Distribution globale des titres pour les aspects cANCA rapportés correctement (N=71; excl. valeurs censurées)

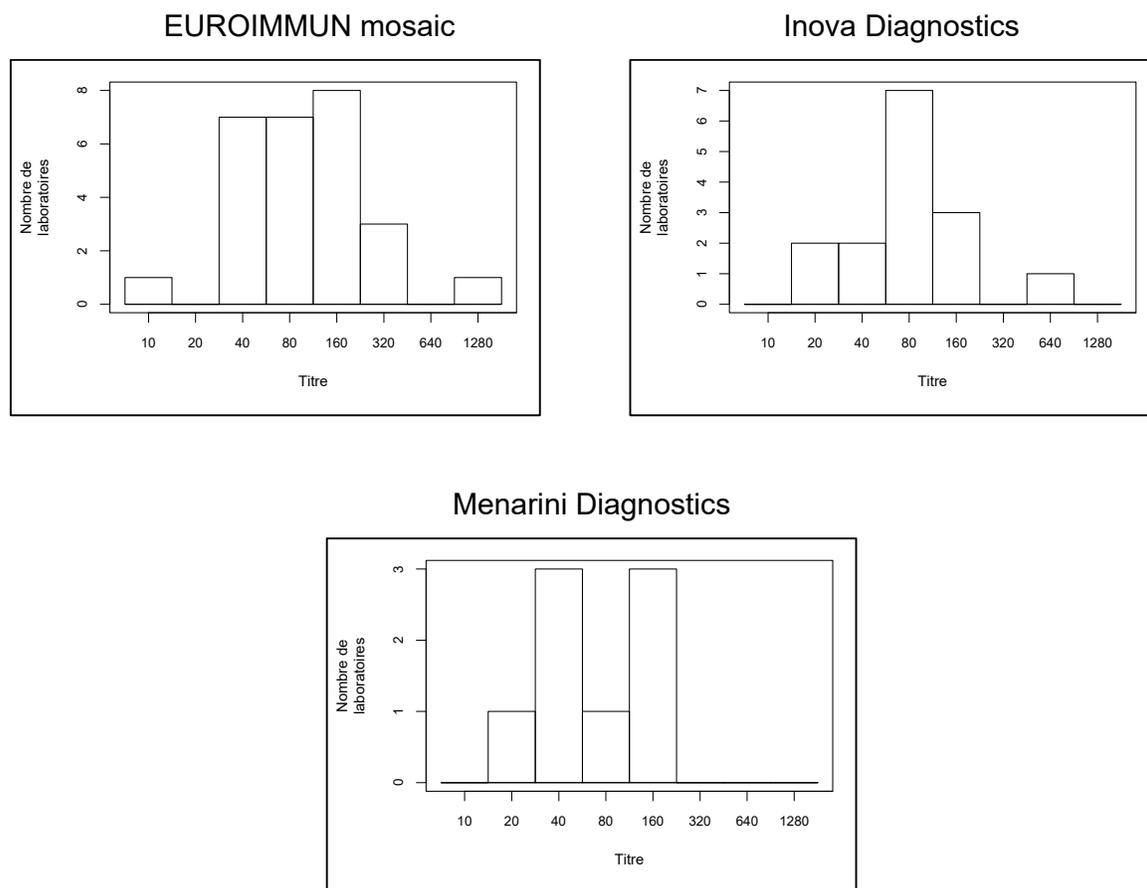


Figure 2: Distribution des titres pour les méthodes IFI pour lesquelles  $\geq 6$  participants, mentionnant un aspect cANCA correct, ont rapporté un titre (excl. valeurs censurées).

## Identification des ANCA : Immunodosage

81 laboratoires (96.4%) ont effectué un immunodosage. Les trois laboratoires qui n'ont pas effectué un immunodosage, ont tous mentionné qu'ils envoient ces analyses à un laboratoire externe.

Tous les participants ont rapporté un résultat **positif correct**.

78 participants (96.3%) ont rapporté un résultat **correct positif pour PR3**. 75 de ces laboratoires (96.2%) ont aussi mentionné un résultat négatif pour MPO.

Trois laboratoires n'ont effectué qu'un screening (Orgentec Diagnostika - ELISA) et ont obtenu un résultat positif. Ils ont indiqué qu'ils envoient ces échantillons en routine à un laboratoire externe.

Deux laboratoires ont effectué un screening (EUROIMMUN Mosaic) en combinaison d'une méthode CLIA (IDS) ou un Immunodot (Menarini Diagnostics). Un laboratoire a utilisé une méthode FEIA (Thermo Scientific/Phadia) pour l'analyse MPO et PR3 et a confirmé le résultat PR3 avec un ELISA (Svar Life Science/Wieslab).

Tableau 4: Récapitulatif des immunodosages utilisés

Méthode	Type d'essai				
	ELISA	FEIA	CLIA	DOT/LINE	BIOCHIP
ThermoScientific/Phadia		47			
Inova Diagnostics			9 <sup>a</sup>		
EUROIMMUN (Euroline)				8	
EUROIMMUN (Mosaic)					5
EUROIMMUN	4				
Orgentec Diagnostika (Launch Diagnostics)	3				
Diesse (bmd)	2				
AESKU Diagnostics (bmd)				1	
Menarini Diagnostics <sup>b</sup>			1	1	
ImmunoDiagnosticSystems <sup>b</sup>			1		
Svar Life Science/Wieslab	2				
<b>TOTAL</b>	<b>11</b>	<b>47</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>5</b>

<sup>a</sup> Six participants ont rapporté le résultat en IU/ml et trois en CU; <sup>b</sup> Même méthode CLIA distribuée par deux firmes

Pour la méthode FEIA de Thermo Scientific/Phadia et la méthode CLIA d'Inova Diagnostics, utilisée par  $\geq 6$  participants, une moyenne et une déviation standard ont été calculées

<b>Méthode</b>	<b>Moyenne (IU/ml)</b>	<b>SD (IU/ml)</b>
Thermo Scientific/Phadia (FEIA)	50.31	7.84
Inova Diagnostics (CLIA)	79.82	4.76

## DISCUSSION DES RESULTATS ET CONCLUSION

L'évaluation des résultats a été effectuée à quatre niveaux: résultat de l'IFI, aspect ANCA, résultat de l'immunodosage, résultat global.

Les 72 laboratoires qui ont réalisé une IFI, ont tous rapporté un résultat ANCA positif correct.

Sur ces 72 participants, 71 ont signalé un aspect cANCA correct et un laboratoire un aspect pANCA sur des neutrophiles fixés à l'éthanol. Les 57 participants qui ont rapporté un résultat positif sur les neutrophiles fixés à la formaline, ont rapporté un aspect cANCA.

Les 81 laboratoires effectuant un immunodosage ont tous rapporté un résultat correct positif. De ces 81 participants, 78 ont rapporté un résultat PR3 positif correct. Trois laboratoires n'ont effectué qu'un screening, avec un résultat positif.

Globalement, 68 laboratoires ont trouvé la bonne combinaison cANCA (sur des neutrophiles fixés à l'éthanol) et PR3. Un participant n'a pas rapporté des aspects séparé sur éthanol et formaline mais a donné au final un résultat correct.

Trois laboratoires n'ont pas effectué d'immunodosage. Deux ont observé (sur des neutrophiles fixés à l'éthanol) un aspect cANCA et un laboratoire un aspect pANCA. Ce dernier est un résultat erroné. Neuf des 12 laboratoires qui n'ont pas réalisé d'IFI, ont considéré l'échantillon comme PR3 positif, les trois autres participants n'ont effectué qu'un screening sans identification consécutive.

Tableau 6: Aperçu des résultats obtenus

Résultat IFI	Aspect ANCA			Résultat immunodosage		N
	Ethanol	Formaline	Conclusion	MPO	PR3	
Positif	cANCA	cANCA	cANCA	-	+	47
			/	-	+	3
			cANCA	/	+	2
			cANCA	na	na	2*
			/	/	+	1
	cANCA	na	cANCA	-	+	12
			/	-	+	3
	/	/	cANCA	-	+	1
pANCA	cANCA	/	na	na	1	
na	na	na	na	-	+	9
				Screening +		3*

Les résultats en bleu sont considérés comme erronés; /: pas rapporté, na: pas effectué; \* envoyé à un laboratoire externe

Les résultats d'EUROIMMUN IFI Mosaic (immunodosage par Biochip) et de certains immunodots ne permettent que l'identification. Il est recommandé de rapporter les résultats des immunodosages ANCA quantitativement (les exceptions sont par exemple un test rapide dans un contexte d'urgence).

Avec la méthode CLIA d'Inova Diagnostics (QUANTA Flash®), les résultats des analyses MPO et PR3 sont rapportés en CU. Cependant, l'utilisation d'un facteur de conversion permet de le convertir en IU/ml. Rapporter dans différentes unités ne permet pas de comparer les résultats. Il en va de même pour la comparaison des résultats de différentes méthodes. Une étude (2) démontre que cela n'est même pas possible pour toutes les méthodes lors de l'utilisation d'un standard. Il est donc important d'en tenir compte lors du suivi des patients et de toujours effectuer les analyses avec la même méthode, dans le même laboratoire et de rapporter les résultats de la même manière (unités).

Pour le diagnostic des vascularites, il est recommandé d'effectuer un immunodosage, comme également indiqué par les directives de 2017 (3). Cependant, il faut noter que ces lignes directrices ont été élaborées dans un contexte de diagnostic et non pour le suivi de patients ou de patients sous traitement. Pour ces derniers, une IFI négatif et un immunodosage positif sont possibles.

En Belgique, conformément à la nomenclature actuelle de l'INAMI (article 24), la "détection des anticorps anti-PR3 ou anti-MPO" ne peut être facturée que si la "Recherche des anticorps anti-neutrophiles" est positive (règle de diagnostic 64). Une proposition de modification a été soumise au groupe de travail immunologie de la commission de biologie clinique et est en évaluation.

Nous conseillons aussi aux laboratoires de toujours établir une corrélation entre l'aspect IFI obtenu et les résultats de l'immunodosage. En cas de discordance, il est important de faire la corrélation avec l'aspect clinique, l'éventuelle thérapie, et d'ajouter un commentaire supplémentaire sur le rapport.

Les participants sont également invités à faire attention à remplir correctement et complètement les feuilles de réponses c'est-à-dire à rapporter quel aspect est observé sur l'éthanol et la formaline (si effectué) ainsi qu'une conclusion sur l'aspect lié à l'échantillon afin que l'évaluation puisse être faite correctement. Ceci s'applique également aux résultats de l'immunodosage.

Les exemples ci-dessous montrent des formulaires incomplètement remplis qui rendent l'évaluation correcte difficile et incomplète.

	Résultat qualitatif: remplissez l'aspect observé*	Résultat quantitatif		Conclusion +, -, +/-
		Titre	Cut-off	
Ethanol		80	10	+
Formaline		80	10	+
Remarques				
Conclusion aspect **	cANCA			

Les aspects observés séparément n'ont pas été signalés

	Résultat qualitatif: remplissez l'aspect observé*	Résultat quantitatif		Conclusion +, -, +/-
		Titre	Cut-off	
Ethanol	pANCA	80	20	+
Formaline	cANCA	80	20	+
Remarques				
Conclusion aspect **				

Aucune conclusion finale n'a été faite concernant l'aspect

	Résultat qualitatif: remplissez l'aspect observé*	Résultat quantitatif		Conclusion +, -, +/-
		Titre	Cut-off	
Ethanol	pANCA	10		négatif ou faiblement +
Formaline	cANCA	20		faiblement +
Remarques				
Conclusion aspect **	cANCA			

Qu'est-ce qu'il faut accepter comme correct ?

## Références

- 1) Bossuyt *et al.*, 2020 Harmonization of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) testing by reporting test result-specific likelihood ratios: position paper. Clin Chem Lab Med. 59(2): e35-e39 DOI: 10.1515/cclm-2020-1178
- 2) Bossuyt *et al.*, 2020 Standardisation of PR3-ANCA and MPO-ANCA : evaluation of certified reference materials. Ann Rheum Dis 0: 1–3 DOI:10.1136/annrheumdis-2020-217416
- 3) Bossuyt *et al.*, 2017 Revised 2017 international consensus on testing of ANCA in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis. Nature Reviews Rheumatology 13: 683–692 DOI:10.1038/nrrheum.2017.140

---

**FIN**

---

© Sciensano, Bruxelles 2021.

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de Sciensano. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par Sciensano ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités des experts ou du groupe de travail EEQ.

Sérologie non-infectieuse, rapport global définitif 2021/2. Date de publication: 18/10/2021.

FORM 43/124/F V13

14/14