

**RISQUES BIOLOGIQUES POUR LA SANTE
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
AAN
ENQUETE 2021/3**

Sciensano/Sérologie non-infectieuse/46-FR

Risques biologiques pour la santé
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS

Sciensano					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
		e-mail:	ql_secretariat@sciensano.be		
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 (draft) de ce rapport a été transmise aux experts le : 07/01/2022.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts du : 27/01/2022.

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 du rapport : par Broeders Sylvia, coordinateur d'enquête

Date de publication : 12/05/2022

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm

TABLE DES MATIERES

DETECTION ET IDENTIFICATION DES AAN	4
INFORMATION SPECIFIQUE A L'EEQ	4
INFORMATION ECHANTILLON ET PARTICIPATION	5
Info échantillon.....	5
Participation	5
RESULTATS: SN/18676	6
Détection d'AAN par IFI	7
Détection des anticorps anti-dsDNA.....	12
Détection et identification des anticorps anti-ENA	14
RESULTATS: SN/18677	18
RESULTATS: SN/18647	22
DISCUSSION DES RESULTATS & CONCLUSION.....	25

DETECTION ET IDENTIFICATION DES AAN

INFORMATION SPECIFIQUE A L'EEQ

Les échantillons pour l'EEQ 2021/3 ont été envoyés aux laboratoires le 18 octobre 2021. L'EEQ a été clôturée le 3 novembre 2021. Les résultats ont été discutés et validés lors de la réunion du comité d'experts le 27 janvier 2022.

Le rapport préliminaire a été publié sur notre site web le 10 novembre 2021. Le rapport global définitif a été publié sur notre site web le 12 mai 2022.

Info échantillon

Cette EEQ faisait partie d'une étude plus vaste menée en collaboration avec UK NEQAS.

Tous les participants à l'EEQ 2021/3 ont reçu deux échantillons de sérum **SN/18676** et **SN/18677**. L'échantillon SN/18677 était une dilution 1/100 de l'échantillon SN/18676. Nous remercions Dina Patel (UK NEQAS) de nous avoir procuré ces échantillons.

Les 39 participants qui possèdent un microscope IFI automatique ont également reçu un troisième échantillon **SN/18647**. Nous remercions le "Autoantibody Standardization Committee" (ASC, subunit of the International Union of Immunological Societies) et Kathryn Kohl (PlasmaServiceGroup) pour nous avoir fourni ce matériel.

Les échantillons ont été préalablement approuvés par les membres du comité d'experts et évalués comme suit :

- SN/18676: fluorescence nucléaire positive (moucheté/moucheté gros grains, AC-5) et fluorescence cytoplasmique/mitotique négative, anti-dsDNA négatif, anti-ENA positif (RNP).
- SN/18677: fluorescence nucléaire positive (moucheté/moucheté gros grains, AC-5) et fluorescence cytoplasmique/mitotique négative (uniquement IFI demandé).
- SN/18647: fluorescence nucléaire positive (moucheté fin et dense, AC-2) et fluorescence cytoplasmique/mitotique négative (uniquement IFI demandé).

Ces résultats sont considérés comme étant les résultats acceptés.

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

Participation

Au total, 95 laboratoires belges ont participé à l'EEQ.

Un laboratoire a rendu ces résultats après la date de clôture. Compte tenu des circonstances exceptionnelles (Pandémie COVID-19), les résultats ont été acceptés.

Note

La firme Alphadia n'est pas un fabricant mais un distributeur de kits auto-immuns. Les résultats rapportés sous Alphadia ont été traités sous le bon fabricant:

- IFI: SCIMEDX
- Dot anti-dsDNA : D-Tek
- Immunodot Anti-ENA: D-Tek

Aussi deux résultats d'Immunodot anti-ENA rapportés sous Inova Diagnostics ont été traités sous le fabricant D-Tek, Inova Diagnostics étant le distributeur.

RESULTATS: SN/18676

Pour l'échantillon SN/18676, une analyse complète a été demandée: IFI, anti-dsDNA, anti-ENA

93 laboratoires (97.9%) ont réalisé un test de détection des anticorps antinucléaires (AAN) par l'immunofluorescence indirecte (IFI).

89 laboratoires (93.7%) ont effectué une analyse des anticorps anti-dsDNA avec une ou plusieurs méthodes.

90 participants (94.7%) ont déterminé la présence des anticorps anti-ENA avec une ou plusieurs méthodes.

Tableau 1: Résumé du nombre de laboratoires qui ont effectué un test IFI, anti-dsDNA ou anti-ENA, ou une combinaison

	N
IFI + anti-dsDNA + anti-ENA	86
IFI	3
IFI + anti-ENA	3
IFI + anti-dsDNA	1
Anti-dsDNA + anti-ENA	1
Anti-dsDNA	1

Détection d'AAN par IFI

93 laboratoires (97.9%) ont effectué un test de détection des AAN par IFI. Des deux laboratoires qui n'ont pas effectué de test IFI, un envoie les analyses à un laboratoire externe.

Tous les participants (100.0%) ont correctement interprété la **fluorescence nucléaire** comme étant **positive**.

78 participants (83.9%) ont signalé un **aspect nucléaire moucheté (AC-4,5)/moucheté gros grains (AC-5) correct**.

L'aspect moucheté (AC-2,4,5) est considéré comme acceptable ici. Cependant, il est recommandé de suivre la nouvelle nomenclature ICAP. L'aspect moucheté gros grains (AC-5) + finement moucheté (AC-4) est en partie acceptable. Cependant, s'il n'est pas possible de faire une distinction claire, il est recommandé de rapporter à un niveau supérieur, c'est-à-dire AC-4,5 dans ce cas.

Les aspects finement moucheté (AC-4), DFS (AC-2), moucheté gros grains + DFS (AC-5 + AC-2), moucheté gros grains + quelques dots nucléaires (AC-5 + AC-7) et DFS + enveloppe nucléaire lisse (AC-2 + AC-11) sont considérés comme erronés.

Sur les 78 participants qui ont observé un aspect nucléaire moucheté (AC-4,5)/moucheté gros grains (AC-5), 70 (89.7%) ont signalé une fluorescence cytoplasmique négative correcte. Huit ont signalé un aspect cytoplasmique finement moucheté (AC-20)/moucheté (AC-19,20) qui est considéré comme erroné. Cela peut être une fluorescence de fond.

Aucun participant n'a rapporté un aspect mitotique.

Tableau 2: Aperçu des aspects nucléaires et cytoplasmiques d'immunofluorescence obtenus

Aspect nucléaire	Aspect cytoplasmique	N
Moucheté gros grains (AC-5)	Négatif	39
Moucheté gros grains (AC-5)	Moucheté (AC-19,20)	2
Moucheté gros grains (AC-5)	Finement moucheté (AC-20)	2
Moucheté gros grains (AC-5) + finement moucheté (AC-4)	Négatif	2
Moucheté gros grains (AC-5) + DFS (AC-2)	Négatif	2
Moucheté gros grains (AC-5) + quelques dots nucléaires (AC-7)	Négatif	1
Moucheté (AC-4,5)	Négatif	28
Moucheté (AC-4,5)	Moucheté (AC-19,20)	3
Moucheté (AC-4,5)	Finement moucheté (AC-20)	1
Moucheté (AC-2,4,5)	Négatif	1
Finement moucheté (AC-4)	Négatif	9
Finement moucheté (AC-4)	Finement moucheté (AC-20)	1
DFS (AC-2)	Négatif	1
DFS (AC-2) + enveloppe nucléaire lisse (AC-11)	Négatif	1

Résultats indiqués en bleu sont considérés comme erronés.

Tableau 3: Sommaire des aspects obtenus en fonction de la méthode utilisée

Methode	N	Aspect	N
EUROIMMUN - HÉp-2010	28	Moucheté gros grains (AC-5)	6
		Moucheté gros grains (AC-5) cytopl: moucheté (AC-19,20)	2
		Moucheté gros grains (AC-5) + DFS (AC-2)	1
		Moucheté gros grains (AC-5) + finement moucheté (AC-4)	1
		Moucheté (AC-4,5)	10
		Moucheté (AC-2,4,5)	1
		Moucheté (AC-4,5) cytopl: moucheté (AC-19,20)	3
		Moucheté (AC-4,5) cytopl: finement moucheté (AC-20)	1
		Finement moucheté (AC-4)	2
		DFS (AC-2) + enveloppe nucléaire lisse (AC-11)	1

Immuno Concepts - HEp-2000	26	Moucheté gros grains (AC-5)	11
		Moucheté gros grains (AC-5) cytopl: finement moucheté (AC-20)	1
		Moucheté gros grains (AC-5) + quelques dots nucléaires (AC-7)	1
		Moucheté (AC-4,5)	7
		Finement moucheté (AC-4)	4
		Finement moucheté (AC-4) cytopl: finement moucheté (AC-20)	1
		Moucheté fin et dense (AC-2)	1
Inova Diagnostics - HEp-2	22	Moucheté gros grains (AC-5)	13
		Moucheté gros grains (AC-5) cytopl: finement moucheté (AC-20)	1
		Moucheté gros grains (AC-5) + finement moucheté (AC-4)	1
		Moucheté (AC-4,5)	6
		Finement moucheté (AC-4)	1
Menarini Diagnostics - HEp-2	9	Moucheté gros grains (AC-5)	6
		Moucheté gros grains (AC-5) + DFS (AC-2)	1
		Moucheté (AC-4,5)	2
Kallestad - HEp-2	5	Moucheté gros grains (AC-5)	2
		Moucheté (AC-4,5)	2
		Finement moucheté (AC-4)	1
SCIMEDX - HEp-2	1	Moucheté gros grains (AC-5)	1
DiaSorin - HEp-2	1	Finement moucheté (AC-4)	1
EUROIMMUN - HEp-2	1	Moucheté (AC-4,5)	1

Résultats indiqués en bleu sont considérés comme erronés.

Lors de la réalisation d'une analyse IFI suivie de tests de confirmation comme les analyses anti-ENA et anti-dsDNA, il est toujours nécessaire de visualiser l'ensemble des résultats, d'évaluer les images IFI soi-même (et de ne pas se fier aux résultats du microscope automatique) et de relier les résultats anti-ENA à l'aspect obtenu. Cela ne signifie toutefois pas que l'aspect AAN IFI peut être modifié uniquement sur base des anticorps détectés.

Dans le groupe des laboratoires qui ont observé un aspect nucléaire moucheté (AC-4,5)/moucheté gros grains (AC-5) correct (N = 78), tous ont mentionné un titre. Pour les méthodes où ≥ 6 participants ont mentionné un titre, la médiane a été calculée (excl. valeurs censurées).

Tableau 4: Résumé des titres obtenus et des médianes calculées pour les participants qui ont rapporté un aspect nucléaire correct

Substrat	N	Lecture manuelle			Lecture automatique		
		N	Résultat (nombre de résultats >1)	M	N	Résultat (nombre de résultats >1)	M
SCIMEDX	1	1	>80	-	-	-	-
Kallestad (BIO-RAD)	4	4	>2560, >5120, 5260, >10000	-	-	-	-
Menarini Diagnostics	8	1	3200	-	7	>640, >1280, 2560(2), >2560(2), 5120	-
Immuno Concepts	19	14	640, 1280(2), >1280(4), 2560(2), >2560(4), 5120	1280 - 2560	5	>640, >1280, 2560, >2560, >5120	-
Inova Diagnostics	21	4	>1280, ≥ 2560 , 5120, >5120	-	17	1280(6), >1280(4), ≥ 1280 , 2560, ≥ 2560 , 5120, >5120(2), ≥ 10240	1280
EUROIMMUN	25	15	>1280(2), 2560(3), >2560(2), >3200, 5120(3), >5120(3), >10240	2560 - 5120	10	>1280, >2560(3), ≥ 2560 , >5120(3), ≥ 5120 , 10240	-

-: pas d'application

43 participants (46.2%) ont utilisé un microscope automatique pour la lecture de l'immunofluorescence. 39 (90.7%) ont rapporté un aspect nucléaire correct et ont tous rapporté un titre.

50 laboratoires (53.8%) ont utilisé un microscope manuel pour la lecture de l'immunofluorescence. 39 (78.0%) ont rapporté un aspect nucléaire correct et ont tous rapporté un titre.

Il est incorrect de rapporter un titre $>1/80$ (SCIMEDX). Ce participant peut ne pas avoir effectué un titrage; cependant, l'option est donnée de l'indiquer sur le formulaire de réponse.

Un tableau reprenant les détails concernant la préparation de l'échantillon, la lecture de la fluorescence, le système utilisé ainsi que les résultats obtenus est disponible en annexe

([https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external quality/rapports/ down/serologie non infectieuse/2021/Rapport%20global EEQ 2021-3 AAN Annexe FINAL.pdf](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external%20quality/rapports/down/serologie%20non%20infectieuse/2021/Rapport%20global%20EEQ%202021-3%20AAN%20Annexe%20FINAL.pdf)).

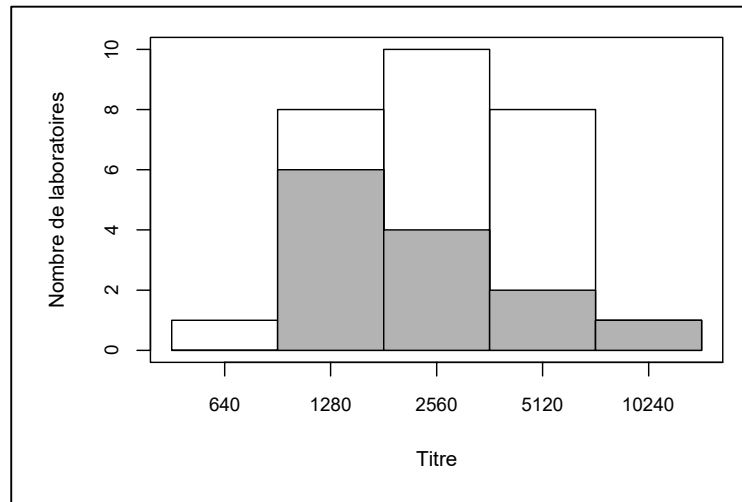


Figure 1: Titre global pour les laboratoires qui ont rapporté un aspect nucléaire correct (excl. valeurs censurées). Les résultats obtenus avec un microscope automatique sont indiqués en gris.

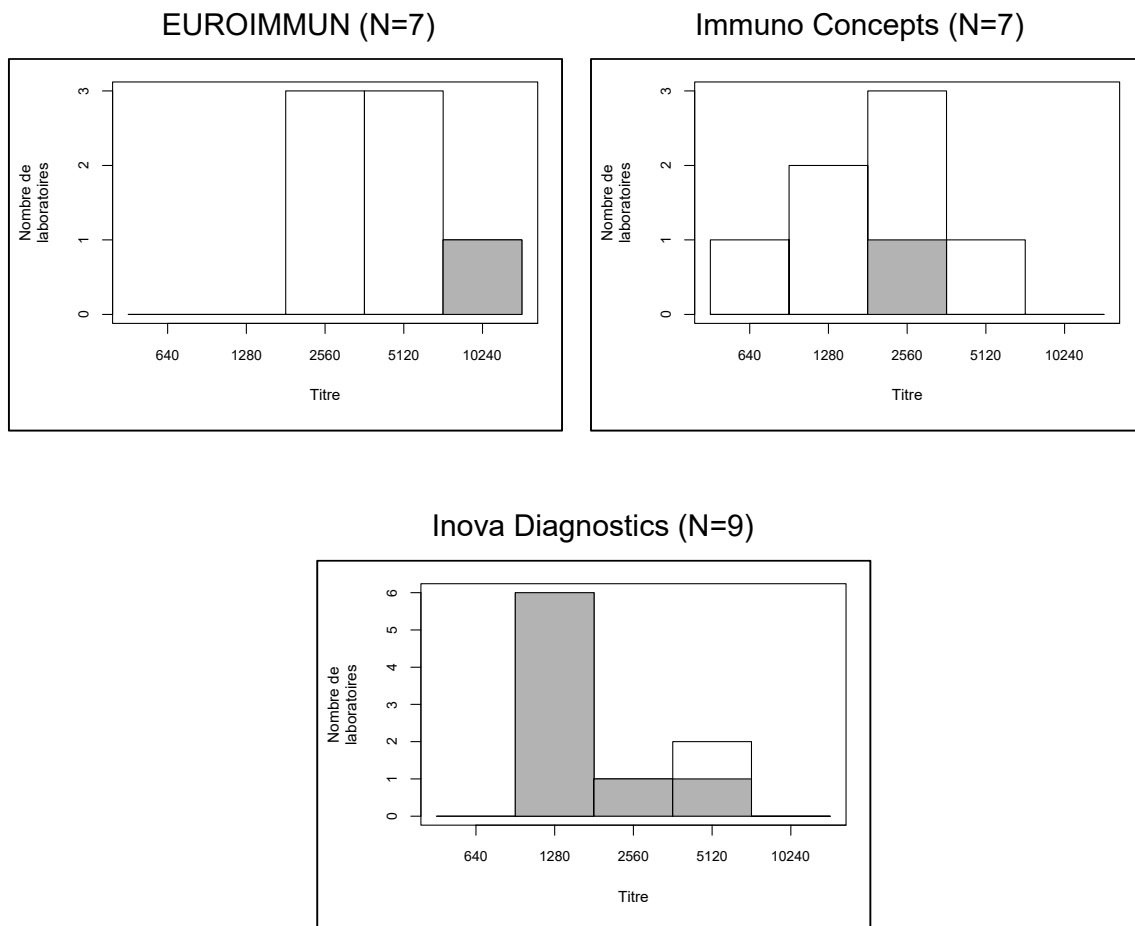


Figure 2: Distribution des titres pour les méthodes IFI pour lesquelles ≥ 6 participants, mentionnant un aspect nucléaire correct, ont rapporté un titre (excl. valeurs censurées). Les résultats obtenus avec un microscope automatique sont indiqués en gris.

Détection des anticorps anti-dsDNA

Au total, 89 laboratoires (93.7%) ont effectué un test de détection des anticorps anti-dsDNA. Douze laboratoires (13.5%) ont utilisé deux techniques et un laboratoire (1.1%) trois techniques. Un laboratoire a combiné deux méthodes ELISA/EIA/FEIA/CLIA (Thermo Scientific/Phadia + Inova Diagnostics) avec une méthode Crithidia luciliae (EUROIMMUN).

Des six laboratoires qui n'ont pas effectué d'analyse anti-dsDNA, un a mentionné qu'ils ne font pas l'analyse car l'aspect (moucheté) observé n'est pas indicatif pour la présence d'anti-dsDNA. Deux laboratoires envoient cette analyse à un laboratoire externe.

Tous les laboratoires (98.9%), sauf un (D-Tek dot), ont rapporté un **résultat négatif correct**.

Tableau 5: Résumé des techniques utilisées pour la détection des anticorps anti-dsDNA

Technique	N	%
ELISA/EIA/FEIA/CLIA	55	61.8
Dot	11	12.4
Crithidia luciliae	9	10.1
RIA	1	1.1
ELISA/EIA/FEIA/CLIA + Crithidia luciliae	8 ^a	9.0
ELISA/EIA/FEIA/CLIA + Dot	4	4.5
ELISA/EIA/FEIA/CLIA + Crithidia luciliae + Dot	1	1.1

^a Un laboratoire a utilisé deux méthodes ELISA/EIA/FEIA/CLIA.

Tableau 6: Aperçu des méthodes utilisées

Méthode	N
<i>ELISA/EIA/FEIA/CLIA (N = 69)</i>	
Thermo Scientific/Phadia	38
Inova Diagnostics	13
EUROIMMUN	10
AESKU Diagnostics	2
Menarini Diagnostics	2
Diesse	1
DRG Diagnostics	1
Immunodiagnosticssystem (IDS)	1
ORGENTEC	1
<i>Dot (N = 16)</i>	
EUROIMMUN	12
D-Tek	2
AESKU Diagnostics	1
Mikrogen Diagnostik	1
<i>Crithidia luciliae (N = 18)</i>	
Immuno Concepts	5
Inova Diagnostics	5
Menarini Diagnostics	4
EUROIMMUN	3
Biosystems	1
<i>RIA (N = 1)</i>	
EUROIMMUN	1

Détection et identification des anticorps anti-ENA

90 laboratoires (94.7%) ont déterminé la présence des anticorps anti-ENA. 53 laboratoires (58.9%) ont utilisé deux techniques, six laboratoires (6.7%) trois techniques.

Tableau 7: Résumé des techniques utilisées pour la détermination de la présence des anticorps anti-ENA

Technique	N	%
Screening	4	4.4
Immuno dot/line	26 ^a	28.9
Microarray	1	1.1
Screening + Immuno dot/line	30 ^a	33.3
Screening + ELISA/EIA/FEIA/CLIA	22	24.4
Immuno dot/line + ELISA/EIA/FEIA/CLIA	1	1.1
Screening + Immuno dot/line + ELISA/EIA/FEIA/CLIA	6	6.7

^a Un laboratoire a utilisé deux méthodes Immuno dot/line

62 laboratoires (68.9%) ont utilisé une **technique de screening**. Tous ont signalé un résultat positif. Quatre des 62 laboratoires ont seulement utilisé une technique de screening (3 Thermo Scientific/Phadia, 1 Diesse (bmd)), deux d'entre eux ont noté que l'analyse anti-ENA est faite par un tiers. Les autres ont combiné la technique de screening avec une technique de confirmation (Immuno dot/line et/ou ELISA/EIA/FEIA/CLIA).

Tableau 8: Aperçu des méthodes de screening utilisées

Méthode de screening	N
ThermoScientific/Phadia	38
Inova Diagnostics	10
EUROIMMUN	6
Menarini Diagnostics	3
ORGENTEC	2
AESKU Diagnostics	2
Diesse (bmd)	1

63 laboratoires (70.0%) ont réalisé un **Immuno dot/line**:

- 26 de ces participants ont uniquement réalisé un Immuno dot/line, un des 26 a utilisé deux méthodes Immuno dot/line (2x D-Tek)
- 30 laboratoires ont associé un Immuno dot/line à une méthode de screening, un des 30 a utilisé deux méthodes Immuno dot/line (EUROIMMUN + D-Tek)
- un laboratoire a combiné un Immuno dot/line avec un ELISA/EIA/FEIA/CLIA
- six participants ont combiné un Immuno dot/line avec une méthode de screening et un ELISA/EIA/FEIA/CLIA

Tous les participants ont signalé une réactivité contre les anticorps RNP et/ou Sm/RNP. Plusieurs participants (EUROIMMUN, D-Tek, AESKU Diagnostics) ont également rapporté une (faible) réactivité contre les anticorps Sm et/ou DFS70. Trois utilisateurs d'EUROIMMUN ont également signalé une faible réactivité contre les anticorps Ro52 (TRIM21).

29 participants (32.2%) ont réalisé un test **ELISA/EIA/FEIA/CLIA**:

- 22 de ces laboratoires ont effectué un ELISA/EIA/FEIA/CLIA en combinaison avec une méthode de screening,
- un laboratoire a combiné un ELISA/EIA/FEIA/CLIA avec un Immuno dot/line
- six participants ont combiné un ELISA/EIA/FEIA/CLIA avec une méthode de screening et un Immuno dot/line.

27 participants ont signalé une réactivité contre les anticorps RNP. Les deux autres participants ont uniquement testé pour les anticorps DFS70 en ELISA/EIA/FEIA/CLIA (combinaison avec Immunodot/line avec au moins une réactivité contre RNP et/ou Sm/RNP).

Trois participants (Inova Diagnostics, Menarini Diagnostics) ont également signalé une réactivité contre les anticorps Sm.

Un laboratoire a utilisé une méthode microarray (Menarini Diagnostics) et a rapporté un résultat positif pour des anticorps Sm et RNP et un résultat faiblement positif pour des anticorps PMScl100.

Tableau 9: Aperçu des résultats de l'identification d'anticorps anti-ENA par méthode utilisée

Méthode Immuno dot/line (N = 64)	N	Sm/RNP	RNP	Sm	DFS70	Ro52	N
EUROIMMUN	44	+	nd	-	+	-	25
		+	nd	-	nd	-	3
		+	nd	±	+	-	3
		+	nd	+	+	-	2 ^a
		+	nd	±	nd	-	2
		+	nd	±	+	±	1
		+	nd	-	-	-	1
		+	nd	-	+	-	1
		+	nd	+	+	±	1
		+	+	±	nd	-	1
		nd	+	-	nd	-	1 ^b
		nd	+	±	+	-	1 ^b
		+	±	-	±	-	1 ^b
		+	+	±	+	±	1 ^b
D-Tek	16	+	+	+	±	nd	2
		+	+	+	+	-	2
		+	nd	+	nd	nd	2
		+	+	+	-	-	1
		+	+	+	±	-	1
		+	+	+	+	nd	1
		+	+	+	-	nd	1
		+	nd	±	nd	-	1
		+	+	-	-	nd	1
		+	+	+	nd	nd	1
		+	nd	+	nd	-	1
		+	+	+	nd	SSA-	1 ^a
		+	+	+	+	nd	1 ^c
AESKU Diagnostics	2	nd	+	+	nd	-	2

Theradiag	1	+	nd	-	nd	nd	1
Mikrogen Diagnostik	1	nd	+	-	nd	-	1
Méthode ELISA/EIA/FEIA/ CLIA (N = 29)	N	Sm/RNP	RNP	Sm	Andere		N
Thermo Scientific/Phadia	25	/	+	/	/		24
		/	/	/	DFS70		1 ^d
Inova Diagnostics	3	/	+	+	/		2
		/	/	/	DFS70		1 ^d
Menarini Diagnostics	1	/	+	+	/		1
Microarray (N = 1)	N	Sm/RNP	RNP	Sm	Andere		N
Menarini Diagnostics	1	nd	+	+	PMScl ±		1

^a Un laboratoire a combiné deux méthodes Immuno dot/line (EUROIMMUN et D-Tek); ^b Quatre laboratoires ont indiqué une réactivité pour RNP bien que cet antigène n'est pas présent dans leur méthode (voir 'Discussion des résultats et conclusion'); ^c Un laboratoire a combiné deux méthodes Immuno dot/line D-Tek; ^d Deux laboratoires ont testé uniquement DFS70 dans la méthode ELISA (en combinaison avec un Immuno dot/line); /: analyse non effectuée; nd: non détecté (antigène non présent dans le kit).

RESULTATS: SN/18677

Pour l'échantillon SN/18677 seule une analyse IFI a été demandée.

93 laboratoires (97.9%) ont effectué un test de détection des AAN par IFI. Des deux laboratoires qui n'ont pas effectué de test IFI, un envoie les analyses à un laboratoire externe.

86 participants (92.5%) ont correctement interprété la **fluorescence nucléaire** comme étant **positive**.

Sept participants ont rapporté une fluorescence nucléaire négative. En comparaison avec les autres laboratoires dans leur peer-groupe respectif ils sont dans la minorité

62 de ces 86 participants (72.1%) ont signalé un **aspect nucléaire moucheté (AC-4,5)/moucheté gros grains (AC-5) correct**.

L'aspect moucheté (AC-2,4,5) est, tout comme pour l'échantillon SN/18676, acceptable. Les aspects finement moucheté (AC-4), moucheté gros grains + quelques dots nucléaires (AC-5 + AC-7), moucheté + dots nucléaires (AC-4,5 + AC-6,7), finement moucheté + quelques dots nucléaires (AC-4 + AC-7), moucheté fin et dense (AC-2) et dots nucléaires (AC-6,7) sont considérés comme erronés.

Aucun participant n'a rapporté un aspect cytoplasmique ou mitotique.

Tableau 10: Aperçu des aspects d'immunofluorescence obtenus

Aspect nucléaire	N
Moucheté gros grains (AC-5)	33
Moucheté gros grains (AC-5) + quelques dots nucléaires (AC-7)	3
Moucheté (AC-4,5)	28
Moucheté (AC-2,4,5)	1
Moucheté (AC-4,5) + dots nucléaires (AC-6,7)	2
Finement moucheté (AC-4)	14
Finement moucheté (AC-4) + quelques dots nucléaires (AC-7)	1
Moucheté fin et dense (AC-2)	3
Dots Nucléaires (AC-6,7)	1
Négatif (AC-0)	7

Résultats indiqués en bleu sont considérés comme erronés.

Tableau 11: Sommaire des aspects obtenus en fonction de la méthode utilisée

Méthode	N	Aspect	N
EUROIMMUN - HEP-2010	28	Moucheté gros grains (AC-5)	7
		Moucheté (AC-4,5)	13
		Moucheté (AC-2,4,5)	1
		Finement moucheté (AC-4)	4
		Moucheté fin et dense (AC-2)	2
		Négatif (AC-0)	1
Immuno Concepts - HEP-2000	26	Moucheté gros grains (AC-5)	7
		Moucheté (AC-4,5)	7
		Finement moucheté (AC-4)	7
		Moucheté fin et dense (AC-2)	1
		Négatif (AC-0)	4
Inova Diagnostics - HEP-2	22	Moucheté gros grains (AC-5)	11
		Moucheté gros grains (AC-5) + quelques dots nucléaires (AC-7)	2
		Moucheté (AC-4,5)	6
		Moucheté (AC-4,5) + dots nucléaires (AC-6,7)	1
		Finement moucheté (AC-4)	1
		Finement moucheté (AC-4) + quelques dots nucléaires (AC-7)	1
Menarini Diagnostics - HEP-2	9	Moucheté gros grains (AC-5)	6
		Moucheté gros grains (AC-5) + quelques dots nucléaires (AC-7)	1
		Moucheté (AC-4,5) + dots nucléaires (AC-6,7)	1
		Dots nucléaires (AC-6,7)	1
Kallestad - HEP-2	5	Moucheté gros grains (AC-5)	2
		Moucheté (AC-4,5)	1
		Finement moucheté (AC-4)	1
		Négatif (AC-0)	1
EUROIMMUN - HEP-2	1	Moucheté (AC-4,5)	1
SCIMEDX - HEP-2	1	Négatif (AC-0)	1
DiaSorin - HEP-2	1	Finement moucheté (AC-4)	1

Résultats indiqués en bleu sont considérés comme erronés.

Dans le groupe des laboratoires qui ont observé un aspect nucléaire moucheté (AC-4,5)/moucheté gros grains (AC-5) correct (N = 62), tous sauf un (Inova Diagnostics) ont mentionné un titre. Pour les méthodes où ≥ 6 participants ont mentionné un titre, la médiane a été calculée.

Tableau 12: Résumé des titres obtenus et des médianes calculées pour les participants qui ont rapporté un aspect nucléaire correct

Substrat	N	Lecture manuelle			Lecture automatique		
		N	Résultat (nombre de résultats >1)	M	N	Résultat (nombre de résultats >1)	M
Kallestad (BIO-RAD)	3	3	100, 320(2)	-	-	-	-
Menarini Diagnostics	6	1	320	-	5	80(3), 160(2)	-
Immuno Concepts	14	10	80(2), 160(4), 320(3), 640	160	4	80, 160(3)	-
Inova Diagnostics	17	4 ^a	80, 640, 2560	-	13	80, 160(7), 320(4), 640	160
EUROIMMUN	22	15	160(6), 320(7), 400, 640	320	7	80(2), 160(3), 320, 640	160

^a Un laboratoire n'a pas rapporté de titre; -: pas d'application

43 participants (46.2%) ont utilisé un microscope automatique pour la lecture de l'immunofluorescence. 29 (67.4%) ont rapporté un aspect nucléaire correct et ont tous rapporté un titre.

50 laboratoires (53.8%) ont utilisé un microscope manuel pour la lecture de l'immunofluorescence. 33 (66.0%) ont rapporté un aspect nucléaire correct et ont tous, sauf un, rapporté un titre.

Un tableau reprenant les détails concernant la préparation de l'échantillon, la lecture de la fluorescence, le système utilisé ainsi que les résultats obtenus est disponible en annexe ([https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external quality/rapports/ down/serologie non infectieuse/2021/Rapport%20global EEQ 2021-3 AAN Annexe FINAL.pdf](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external%20quality/rapports/down/serologie%20non%20infectieuse/2021/Rapport%20global%20EEQ%202021-3%20AAN%20Annexe%20FINAL.pdf)).

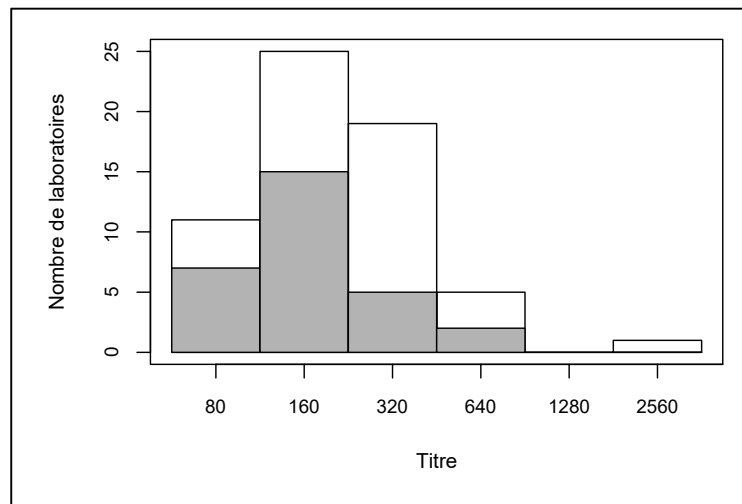


Figure 3: Titre global pour les laboratoires qui ont rapporté un aspect nucléaire correct. Les résultats obtenus avec un microscope automatique sont indiqués en gris.

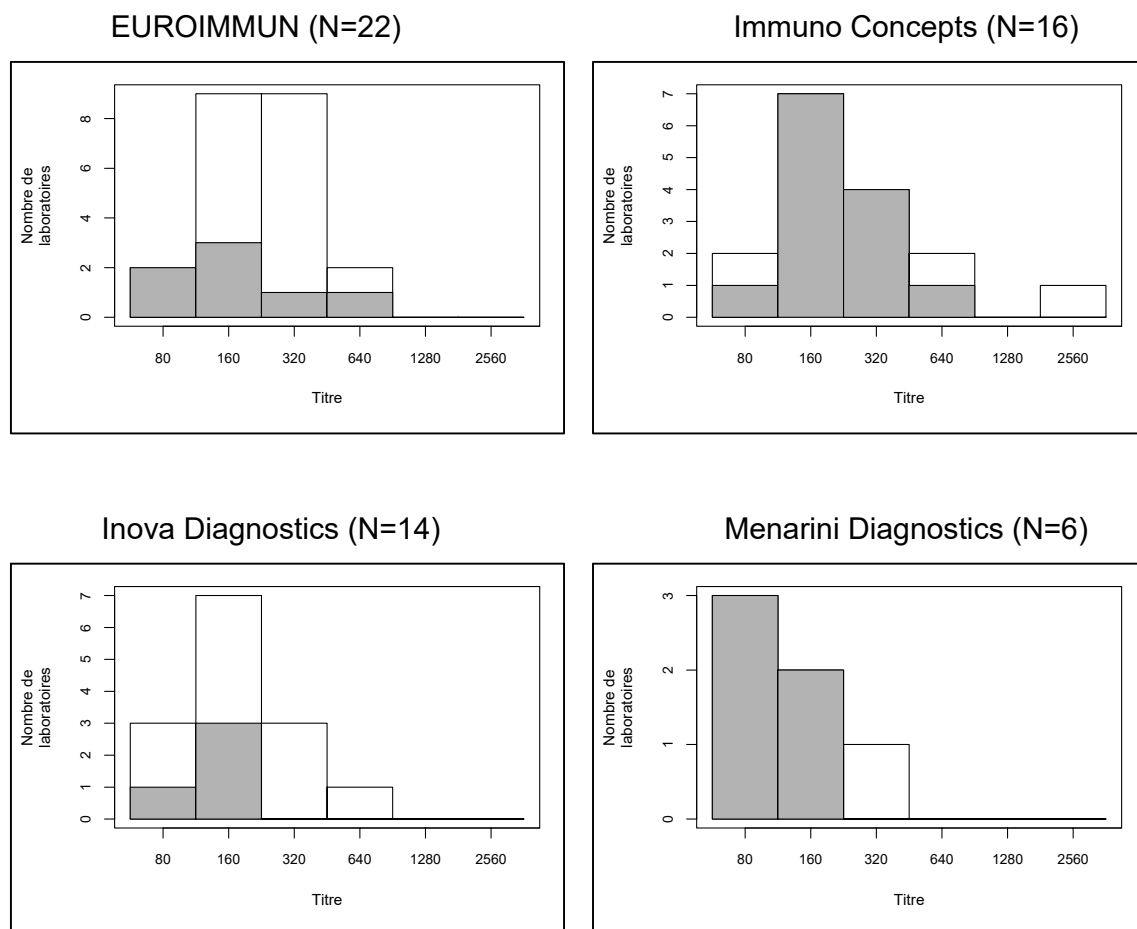


Figure 4: Distribution des titres pour les méthodes IFI pour lesquelles ≥ 6 participants, mentionnant un aspect nucléaire correct, ont rapporté un titre. Les résultats obtenus avec un microscope automatique sont indiqués en gris.

RESULTATS: SN/18647

Sur les 93 laboratoires qui réalisent une IFI, 39 (41.9%) disposent d'un microscope IFI automatique. Ils ont également reçu un troisième échantillon: SN/18647. Ceci concerne l'Anti-DFS70/LEDGF-p75 (anti-DFS70) "Reference Material for ICAP Pattern AC-2" (reference: [ANA24-DFS70.pdf \(ufl.edu\)](#)). Seule une analyse IFI en double (instruction: réaliser la dilution de screening en double, ne pas dupliquer à partir de la même dilution) a été demandée.

Tous les participants (97.4%), sauf un, ont correctement interprété la **fluorescence nucléaire** comme étant **positive**.

28 d'entre eux (73.7%) ont signalé un **aspect nucléaire moucheté fin et dense (AC-2) correct**.

Aucun participant n'a rapporté un aspect cytoplasmique. Deux participants ont rapporté un aspect mitotique positif. Ceci est un résultat erroné.

Tableau 13: Aperçu des aspects d'immunofluorescence obtenus

Aspect nucléaire	Aspect mitotique	N
DFS (AC-2)	Négatif	28
Homogène (AC-1)	Négatif	4
Moucheté (AC-5)	Négatif	3
Moucheté (AC-5)	Positif (AC-24/28)	1
Finement moucheté (AC-4)	Négatif	2
/	Positif (AC-24/28)	1

/: pas d'aspect nucléaire indiqué. Résultats indiqués en bleu sont considérés comme erronés.

Dans le groupe des laboratoires qui ont observé un aspect DFS correct (N = 28), tous ont mentionné un titre. Tous les laboratoires sauf un (160/320, Inova Diagnostics – inclus dans le groupe 320 dans les graphiques ci-dessous) ont signalé le même titre pour les deux analyses. Pour les méthodes où ≥ 6 participants ont mentionné un titre, la médiane a été calculée.

Tableau 14: Résumé des aspects obtenus et des titres rapportés par méthode utilisée

Méthode	N	Aspect	N	Titre rapporté (nombre de résultats > 1)	M
Inova Diagnostics - HEp-2	16	DFS (AC-2)	14	80/80(2), 160/160(3), 160/320, 320/320(8)	320/320
		Homogène (AC-1)	1	160/160	-
		Moucheté (AC-4,5)	1	320/320	-
EUROIMMUN - HEp-2010	11	DFS (AC-2)	7	160/160, 320/320(5), 640/640	320/320
		Moucheté (AC-4,5)	1	320/320	-
		Finement moucheté (AC-4)	1	320/320	-
		Moucheté + mitotique (AC-5 + AC-24/28)	1	1280/1280	-
		Mitotique (AC-24/28)	1	320/320	-
Immuno Concepts - HEp-2000	7	DFS (AC-2)	4	320/320(3), 640/640	-
		Homogène (AC-1)	1	640/- ^a	-
		moucheté (AC-4,5)	1	320/320	-
		Finement moucheté (AC-4)	1	160/160	-
Menarini Diagnostics - HEp-2	5	DFS (AC-2)	3	80/- ^a , 80/80, 320/320	-
		Homogène (AC-1)	2	80/80, 640/640	-

^a Le laboratoire n'a rendu qu'un résultat. Résultats indiqués en bleu sont considérés comme erronés.

Un tableau reprenant les détails concernant la préparation de l'échantillon, la lecture de la fluorescence, le système utilisé ainsi que les résultats obtenus est disponible en annexe (https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/down/serologie_non_infectieuse/2021/Rapport%20global_EEQ_2021-3_AAN_Annexe_FINAL.pdf).

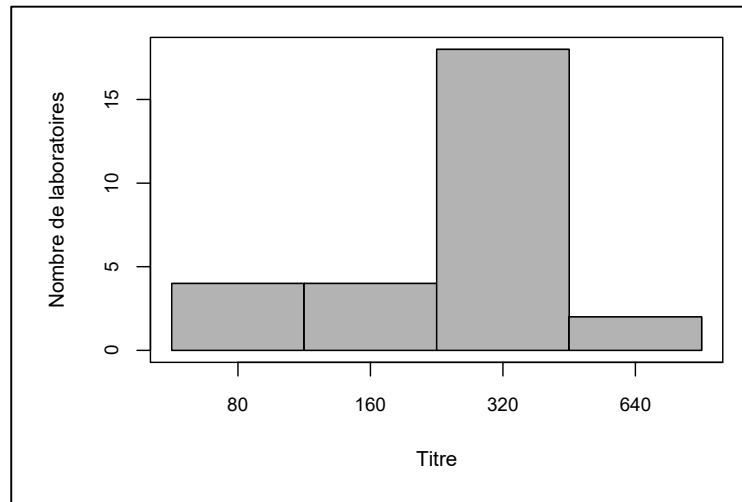


Figure 5: Distribution globale des titres pour les laboratoires qui ont rapporté un aspect DFS correct.

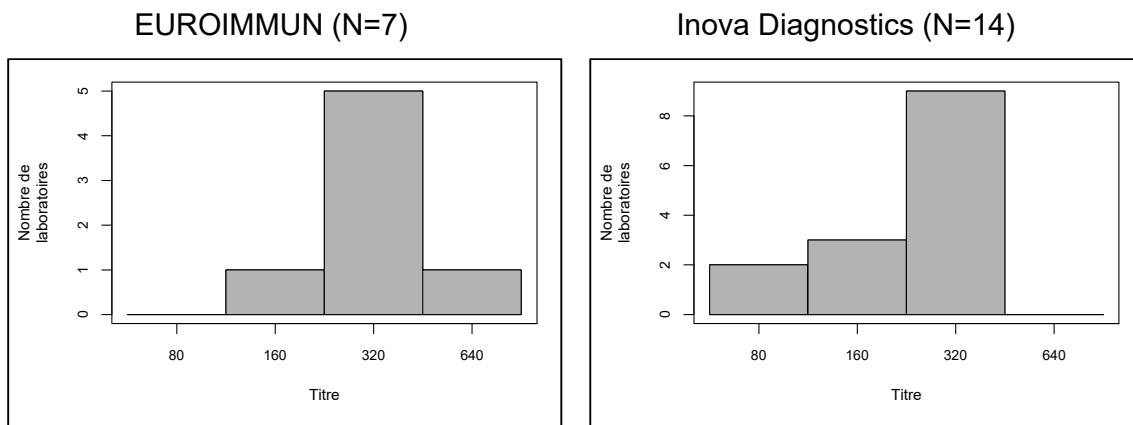


Figure 6: Distribution des titres pour les méthodes IFI pour lesquelles ≥ 6 participants, mentionnant un aspect DFS correct, ont rapporté un titre.

L'analyse a été effectuée en duplicat, les résultats rapportés comme 2 titres sont présentés ici comme 1 résultat car les laboratoires ont rapporté le même titre pour les deux analyses. Le résultat 160/320 (Inova Diagnostics) a été inclus dans le groupe 320.

Echantillon SN/18676

Les 93 participants ont correctement rapporté une fluorescence nucléaire positive. 78 d'entre eux ont signalé un aspect nucléaire moucheté (gros grains) correct (AC-5/AC-4,5). Un participant a signalé un aspect moucheté AC-2,4,5, ce qui est un résultat acceptable, mais il est recommandé d'utiliser la nomenclature ICAP modifiée (ou AC-2 a été séparé d'AC-4,5). L'aspect nucléaire moucheté gros grains + finement moucheté est encore considéré comme acceptable, mais il est recommandé de rapporter à un niveau plus élevé (AC-4,5) au cas où on ne peut pas faire la distinction. Tous les autres aspects sont considérés comme erronés.

Sur les 78 participants avec un aspect nucléaire correct, huit ont signalé une fluorescence cytoplasmique positive. Il peut s'agir d'une fluorescence de fond qui ne doit pas être signalée. Aucun participant n'a observé d'aspect mitotique.

90,7% et 78,0% des participants ont rapporté un aspect nucléaire correct à l'aide d'un microscope automatique ou manuel, respectivement.

Sur les 89 participants qui ont effectué une analyse anti-dsDNA, tous sauf un ont rapporté un résultat négatif correct.

Les 62 participants qui ont effectué un screening anti-ENA ont rapporté un résultat positif.

Les 63 participants qui ont effectué un Immuno dot/line ont signalé une réactivité contre les anticorps RNP et/ou Sm/RNP. Il faut ici noter qu'il convient de prêter attention aux antigènes présents dans le kit utilisé. Parmi les utilisateurs d'EUROIMMUN, cinq laboratoires ont indiqué une réactivité contre les anticorps RNP (voir Tableau 9 p 16). Cependant, un seul d'entre eux a utilisé le kit 'EUROLine Profile 5' contenant l'antigène RNP. Les quatre autres ont utilisé un kit sans antigène RNP isolé, ce qui rend théoriquement impossible l'évaluation/rapportage de cette réactivité.

Certains participants ont signalé une réactivité contre les anticorps Sm et ceci avec différentes méthodes. Bien que cela n'ait pas été inclus dans le consensus, il s'agit d'un résultat acceptable car ces anticorps peuvent être présents dans un aspect AC-5.

De plus, une faible réactivité contre les anticorps Ro52, signalée par trois utilisateurs d'EUROIMMUN, peut être considérée comme un résultat acceptable même si elle n'a pas été incluse dans le consensus. Cependant, des anticorps Ro52 peuvent être présents sous-jacents.

Par contre, la réactivité contre les anticorps DFS70 obtenus par différentes méthodes est considérée comme erronée car l'aspect correspondant n'est pas présent dans l'échantillon concerné. Cette incompatibilité entre l'IFI et l'anti-ENA a également été signalée par un certain nombre de laboratoires.

27 des 29 laboratoires utilisant une méthode ELISA/EIA/FEIA/CLIA ont rapporté un résultat positif pour les anticorps RNP. Les deux autres laboratoires ont utilisé une méthode ELISA/EIA/FEIA/CLIA pour la détection des anticorps DFS70.

La réactivité contre les anticorps Sm a également été rapportée ici.

Dans les laboratoires qui ont utilisé plus d'une méthode, des différences entre les méthodes peuvent également être notées au sein de ces réactivités supplémentaires observées :

Labo	Méthode 1		Méthode 2	
	Kit	Résultat	Kit	Résultat
1	EUROIMMUN Immuno dot/line	Sm -	Menarini Diagn ELISA	Sm +
2	D-Tek Immunodot/line	Sm +	Thermo Scientific ELIA	Sm -
3	D-Tek Immunodot/line	DFS70 -	Thermo Scientific ELIA	DFS70 +

Un laboratoire a réalisé un microarray avec une réactivité contre les anticorps RNP et Sm. La réactivité au PMscl100, cependant, est un résultat erroné.

Au total, tous les participants qui ont effectué une identification anti-ENA ont rapporté une réactivité contre RNP avec au moins une méthode.

Globalement, 73 participants ont signalé une combinaison correcte d'un aspect IFI moucheté (gros grains) et d'anticorps RNP et/ou Sm/RNP. Il est conseillé de toujours faire une corrélation entre l'aspect IFI obtenu et les résultats des tests de confirmation. En cas de discordance en routine, il est important de corréliser avec l'image clinique, la thérapie possible, et d'ajouter un commentaire supplémentaire au rapport.

Tableau 15 : Résumé des résultats IFI et anti-ENA rapportés (N=94^a)

Aspect IFI	Résultat analyse anti-ENA ^b	N
	RNP et/ou Sm/RNP	
Moucheté gros grains (AC-5)	+	38
Moucheté gros grains (AC-5)	/	1
Moucheté gros grains (AC-5) cytopl: moucheté (AC-19,20)	+	2
Moucheté gros grains (AC-5) cytopl: finement moucheté (AC-20)	+	2
Moucheté (AC-4,5)	+	27
Moucheté (AC-4,5)	/	1
Moucheté (AC-4,5)	Screening+	1

Moucheté (AC-4,5) cytopl: moucheté (AC-19,20)	+	3
Moucheté (AC-4,5) cytopl: finement moucheté (AC-20)	+	1
Moucheté gros grains (AC-5) + finement moucheté (AC-4)	+	2
Finement moucheté (AC-4)	+	7
Finement moucheté (AC-4)	Screening +	1
Finement moucheté (AC-4)	/	1
Finement moucheté (AC-4) cytopl: finement moucheté (AC-20)	Screening+	1
Moucheté gros grains (AC-5) + quelques dots nucléaires (AC-7)	+	1
Moucheté gros grains (AC-5) + DFS (AC-2)	+	1
Moucheté gros grains (AC-5) + DFS (AC-2)	/	1
DFS (AC-2)	+	1
DFS (AC-2) + enveloppe nucléaire lisse (AC-11)	Screen +	1
/	+	1

^a Un laboratoire n'a pas effectué les analyses IFI et anti-ENA ; ^b Seul le résultat pour le consensus RNP et/ou Sm/RNP a été inclus ici. /: non effectué

Echantillon SN/18677

86 des 93 participants ont correctement rapporté une fluorescence nucléaire positive. 62 d'entre eux ont signalé un aspect nucléaire moucheté (gros grains) correct. Aussi ici, un participant a signalé un aspect moucheté AC-2,4,5, ce qui est un résultat acceptable.

Aucun participant n'a observé d'aspect cytoplasmique ou mitotique.

46,2% et 67,4% des participants ont rapporté un aspect nucléaire correct à l'aide d'un microscope automatique ou manuel, respectivement.

Echantillon SN/18647

38 des 39 participants ont correctement rapporté une fluorescence nucléaire positive. 28 d'entre eux ont rapporté un aspect moucheté fin et dense (DFS) correct.

Aucun participant n'a observé d'aspect cytoplasmique. Deux participants ont signalé un aspect mitotique. Ce dernier est considéré comme erroné. Un aspect DFS est un aspect nucléaire qui montre une mitose positive..

Une élaboration plus détaillée de ces données EEQ dans le cadre de l'étude organisée avec UKNEQAS, y compris la possibilité de standardiser les résultats de l'IFI en utilisant, par exemple l'Anti-DFS70/LEDGF-p75 (anti-DFS70) "Reference Material for ICAP Pattern AC-2", sera inclus dans une publication peer-reviewed.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2022.

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.