

**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
ANCA
ENQUETE 2023/3**

Sciensano/Sérologie non-infectieuse/52-FR

Risques biologiques pour la santé
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytsman, 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.				
Dr. 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 07/12/2023.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts du 22/01/2024.

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 : 25/03/2024

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-serologie-non-infectieuse>

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
Détection et typage des ANCA : Immunofluorescence Indirecte.....	7
Identification des ANCA : Immunodosage.....	10
NOMENCLATURE	12
DISCUSSION DES RESULTATS ET CONCLUSION	13

DETECTION, TYPAGE ET IDENTIFICATION DES ANCA

INFORMATION SPECIFIQUE A L'EEQ

L'échantillon pour l'EEQ 2023/3 a été envoyé aux laboratoires le 16 octobre 2023. L'EEQ a été clôturée le 30 octobre 2023. Le rapport préliminaire a été publié sur notre site web le 8 novembre 2023.

Les résultats EEQ ont été discutés et validés lors de la réunion du comité d'experts le 22 janvier 2024. Le rapport global définitif a été publié sur notre site web le 25 mars 2024.

Echantillon

Tous les participants de l'EEQ 2023/3 ont reçu un échantillon liquide de plasma **SN/19999** venant d'un patient atteint d'une granulomatose avec polyangéite (GPA). Nous remercions le Dr. L. Van Hoovels (OLVZ, Aalst) 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: cANCA positif, MPO négatif, PR3 positif. 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.

83 laboratoires ont effectué des analyses, 80 participants ont répondu aux questions concernant la stratégie de dépistage ANCA dans le cadre de la nomenclature actualisée.

Trois laboratoires n'ont pas rendu les résultats avant la date de clôture, leurs résultats ont été pris en compte.

RESULTATS

Au total, 59 laboratoires (70.2%) 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.

57 laboratoires (67.9%) 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

	N
IFI + Immunodosage	57
IFI	2
Immunodosage	24

Détection et typage des ANCA : Immunofluorescence Indirecte

59 laboratoires (70.2%) ont réalisé un analyse IFI. Des 25 laboratoires qui n'ont pas effectué d'IFI, dix ne l'ont pas fait en 2022 (dont un qui a mentionné qu'ils envoient leurs échantillons à un laboratoire externe).

Le résultat attendu est:

- cANCA sur des neutrophiles fixés à l'éthanol
- cANCA sur des neutrophiles fixés à la formaline
- conclusion: cANCA

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

Tous les laboratoires, ont rapporté un aspect **cANCA positif correct** en conclusion et/ou sur des neutrophiles fixés à l'éthanol.

Tableau 2: Récapitulatif des aspects obtenus via IFI

Méthode	N	Ethanol	Formaline	Conclusion	N
EUROIMMUN Mosaic	31	cANCA	cANCA	cANCA	28
		cANCA	/	cANCA	1
		cANCA	cANCA	/	2 ^a
Inova Diagnostics	15	cANCA	cANCA	cANCA	3
		cANCA	cANCA	/	1
		cANCA	/	cANCA	8
		cANCA	/	/	2
		c(granulaire)	c(granulaire)	cANCA	1
Menarini Diagnostics	6	cANCA	cANCA	cANCA	6 ^b
EUROIMMUN	3	cANCA	cANCA	cANCA	2 ^c
		cANCA	/	cANCA	1
AESKU Diagnostics (bmd)	1	cANCA	cANCA	cANCA	1
BIO-RAD	1	cANCA	/	cANCA	1
Immco Diagnostics	1	cANCA	cANCA	cANCA	1
Immuno Concepts	1	cANCA	/	+	1 ^d

^a Un laboratoire a mentionné avoir observé un aspect faible sur des neutrophiles fixés à l'éthanol. ^b Un laboratoire a observé l'aspect sur les neutrophiles fixés à la formaline utilisant une méthode Immco Diagnostics. ^c Un laboratoire a observé l'aspect sur les neutrophiles fixés à la formaline utilisant une méthode EUROIMMUN Mosaic. ^d Il est demandé sur le formulaire de réponse de rapporter l'aspect observé ainsi qu'une conclusion concernant l'aspect, la mention 'positif' n'est pas suffisante. /: pas rapporté.

Des 59 laboratoires, qui ont observé un aspect cANCA correct, 42 ont rapporté un titre sur des granulocytes neutrophiles fixés à l'éthanol. Celui-ci variait de >1/10 à 1/640.

Tableau 3: Aperçu des titres obtenus, seuil utilisé et médiane calculée (M; seulement calculé pour les méthodes avec ≥ 6 participants) pour les participants qui ont signalé un aspect cANCA correct (N = 59)

Méthode	N	Titre (ethanol) (# résultats >1)	Valeur seuil (# résultats >1)	M
EUROIMMUN Mosaic ^a	31	>10(2), ≥ 20 , 20, 40(3), 50, 80(6), >100, 160(3), 320(2), 640	10(6), 20(11), 40(4)	80
Inova Diagnostics ^b	15	20, >20, 40(3), >40, 80(2), 160(3), 640	10, 20(8), 40(3)	80
Menarini Diagnostics ^c	6	40, 80(2), 640	20(3), 40	-
EUROIMMUN ^d	3	80, ≥ 40	20, 40	-
AESKU Diagnostics (bmd)	1	80	20	-
BIO-RAD	1	/	/	-
Immco Diagnostics	1	160	10	-
Immuno Concepts	1	160	20	-

^a Dix participants n'ont pas signalé de titre. ^b Trois participants n'ont pas signalé de titre. ^c Deux participants n'ont pas signalé de titre. ^d Un participant n'a pas signalé de titre. -: pas d'application

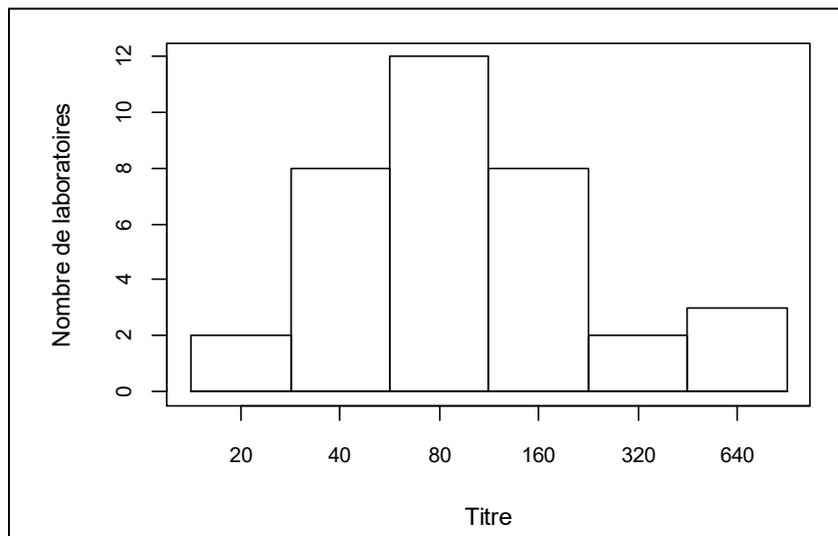


Figure 1: Distribution globale des titres pour les aspects cANCA rapportés correctement (excl. valeurs censurées; N = 35)

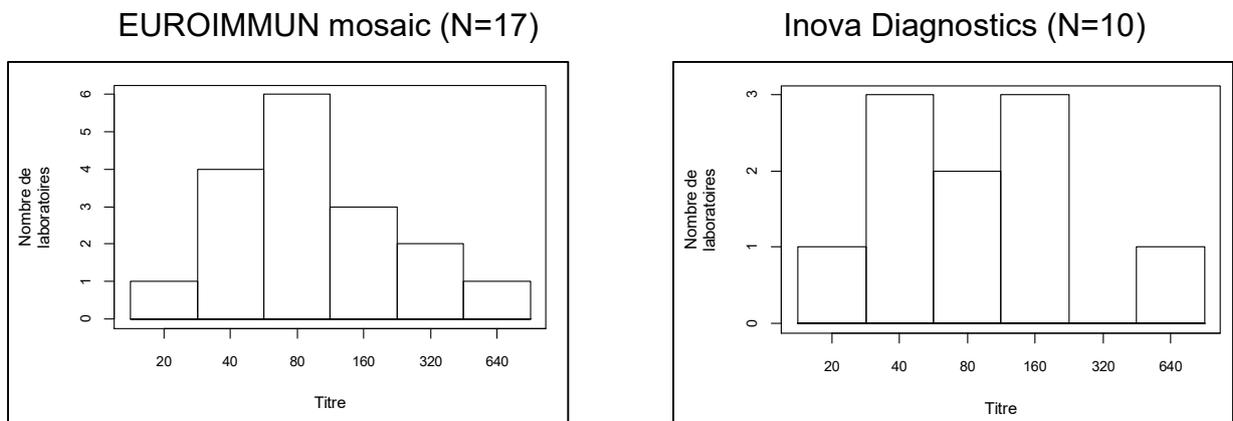


Figure 2: Distribution des titres pour les méthodes IFI pour lesquelles ≥ 6 participants, mentionnant un aspect cANCA correct, ont rapporté un titre (excl. valeurs censurées)

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 laboratoires (96.3%) ont rapporté un résultat **correct positif pour PR3**. Tous ont aussi rapporté un résultat pour MPO. 76 d'entre eux ont rapporté un résultat négatif, 1 un résultat faiblement positif (EUROIMMUN-ELISA) et 1 un résultat positif (AESKU Diagnostics-Immunoblot).

Trois laboratoires n'ont effectué qu'un screening (Orgentec Diagnostika - ELISA) et ont obtenu un résultat positif. Deux d'entre eux ont indiqué qu'ils envoient ces échantillons en routine à un laboratoire externe. Un laboratoire a effectué un screening (EUROIMMUN Mosaic) en combinaison avec un microdot array (Menarini Diagnostics). Deux laboratoires ont utilisé une méthode FEIA (Thermo Scientific/Phadia) en combinaison avec une méthode CLIA (Inova Diagnostics), un laboratoire a combiné une méthode FEIA pour MPO/PR3 (Thermo Scientific/Phadia) avec une méthode Immunodot pour PR3 (D-Tek/Alphadia).

Tableau 4: Récapitulatif des immunodosages utilisés

Méthode	Type d'essais					
	ELISA	FEIA	CLIA	DOT/LINE/ BLOT	BIOCHIP	μ-array
Thermo Scientific/Phadia		45				
Inova Diagnostics ^a			13			
EUROIMMUN (Euoline)				6		
EUROIMMUN	5					
EUROIMMUN (Mosaic)					3	
Diesse (bmd)	2					
ImmunoDiagnostic Systems ^b			2			
AESKU Diagnostics (bmd)				1		
D-Tek (Alphadia)				1		
Menarini Diagnostics ^b			1			1
Orgentec Diagnostika	1					
TOTAL	8	45	16	8	3	1

^a Dix participants ont rapporté le résultat en IU/ml et trois en CU. ^b Même méthode CLIA distribuée par deux firmes

Pour la méthode FEIA de Thermo Scientific/Phadia (N = 45) et la méthode CLIA d'Inova Diagnostics (rapporté en IU/ml, N = 10), utilisée par ≥ 6 participants, une moyenne et une déviation standard ont été calculées

Méthode	Moyenne (IU/ml)	SD (IU/ml)
ThermoScientific/Phadia (FEIA)	47.1	8.8
Inova Diagnostics (CLIA)	113.4	12.5

NOMENCLATURE

Vu que la nomenclature a changé en 2023; deux questions ont été posées càd

- Avez-vous, en réponse à la nouvelle nomenclature, adapté votre stratégie de dépistage des vascularites ANCA ?
- Si non, prévoyez-vous d'adapter votre stratégie de dépistage ?

80 participants ont répondu aux questions.

43 de ces laboratoires (53.8 %) ont déjà adapté leur stratégie de dépistage. 25 participants (31.3 %) ont indiqué qu'ils ajusteraient encore la stratégie. Au total, le changement de nomenclature entraînera un changement d'algorithme dans 68 de ces laboratoires (85.0 %).

Comme nous n'avons pas demandé en détail quelle était la stratégie initiale, il n'est pas possible d'exclure que parmi les 12 laboratoires (15.0%) qui n'ont pas ajusté leur stratégie, certains travaillaient déjà selon le nouvel algorithme.

Les pourcentages de cette enquête ne correspondent pas à la répartition des méthodes de cet EEQ. Plusieurs laboratoires ont indiqué qu'ils effectueraient systématiquement une analyse MPO ou PR3 pour un échantillon de suivi, mais qu'ici ils ont effectué les deux car l'historique du patient n'était pas fourni.

Tableau 5: Résumé des réponses

Stratégie adaptée?	Stratégie sera adaptée?	N	%
+	na	43	53.8
+/-	+	2	2.5
-	+	23	28.8
-	-	11	13.8
-	/	1	1.3

+: oui, -: non, +/-: partiellement, n/a: pas d'application, /: pas d'info.

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. 83 participants ont effectués des analyses.

Les 59 laboratoires qui ont réalisé une IFI, ont tous rapporté un résultat ANCA positif correct, dont 1 un résultat faiblement positif. Les 59 participants ont tous signalé un aspect cANCA final correct.

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 avec une ou plusieurs méthodes. Trois laboratoires n'ont effectué qu'un screening, avec un résultat positif. Des 78 participants qui ont aussi rapporté un résultat pour MPO, 76 ont rapporté un résultat négatif correct.

Globalement, 56 laboratoires ont trouvé la bonne combinaison cANCA et PR3. 54 d'entre eux ont aussi rapporté un résultat négatif pour MPO, deux un résultat (faiblement) positif. 24 laboratoires n'ont pas réalisé d'IFI, 21 ont rapporté un résultat PR3 positif et trois n'ont effectué qu'un screening sans identification consécutive.

Deux laboratoires n'ont pas effectué d'immunodosage, tous ont rapporté un aspect cANCA.

Tableau 6: Aperçu des résultats obtenus (N=83)

Résultat IFI	Aspect ANCA			Résultat immunodosage		N
	Ethanol	Formaline	Conclusion	MPO	PR3	
Positif	cANCA	cANCA	cANCA	-	+	37
	cANCA	na	cANCA	-	+	11
	cANCA	cANCA	/	-	+	2
	cANCA	na	/	-	+	2
	cANCA	cANCA	cANCA	na	na	2
	c(granulaire)	c(granulaire)	cANCA	-	+	1
	cANCA	cANCA	cANCA	Screening +		1
				-	+	
	cANCA	cANCA	cANCA	+/-	+	1
cANCA	na	+	+	+	1	
Faiblement positif	cANCA	cANCA	/	-	+	1
na	na	na	na	-	+	21
				Screening +		3

/: pas rapporté; na: pas effectué. Les résultats en bleu sont considérés comme (rapporté) erronés.

Pour le diagnostic des vascularites, il est recommandé de toujours effectuer un immunodosage, comme également indiqué par les directives de 2017 (1) et de rapporter ces résultats de manière quantitative (les exceptions sont par exemple un test rapide dans un contexte d'urgence).

Depuis mars 2023, la nomenclature INAMI (article 24) prévoit également le remboursement de cette stratégie. L'algorithme classique, d'abord IFI puis confirmation par immunodosage, reste également remboursé. Le titrage d'ANCA IFI n'est plus remboursable et ne sera donc plus demandé dans l'EEQ.

L'application de cette nouvelle nomenclature nécessite une 'gating stratégie' dans laquelle on distingue les demandes d'ANCA dans le cadre du diagnostic d'une éventuelle vascularite, du suivi d'une vascularite connue et des ANCA pour des indications autres que la vascularite. Pour les indications autres qu'une suspicion de vascularite, l'analyse IFI suivie d'une confirmation par un immunodosage reste indiquée (2).

L'enquête montre qu'au moins 85 % des laboratoires participants adopteront la nouvelle stratégie. Pour les échantillons de suivi de vascularite dans le cadre d'une EEQ, il n'est pas souhaitable d'inclure une spécificité dans les données cliniques. La réalisation des deux immunodosages (MPO et PR3) est alors recommandée. Si vous n'effectuez pas d'analyse IFI en routine dans le contexte spécifié, cela n'est pas nécessaire pour l'EEQ. Cependant, si une analyse IFI et un immunodosage sont effectués en routine, il est recommandé 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, le traitement possible et d'ajouter un commentaire supplémentaire au rapport.

Les participants sont également invités à faire attention à remplir correctement et complètement les formulaires de réponses c'est-à-dire de 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.

Références

- (1) 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
- (2) Moiseev *et al.*, 2020 2020 international consensus on ANCA testing beyond systemic vasculitis. *Autoimmun Rev.* 2020 Sep;19(9):102618. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102618. Epub 2020 Jul 12.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2024.

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.