

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
EXPERTENCOMITE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE
VOOR ANALYSES KLINISCHE BIOLOGIE**

DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT

NIET-INFECTIEUZE SEROLOGIE

ANCA

ENQUETE 2022/2

Sciensano/Niet-infectieuze serologie/48-NL

Biologische gezondheidsrisico's
Kwaliteit van laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.sciensano.be

EXPERTENCOMITE

Sciensano					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
		e-mail	ql_secretariat@sciensano.be		
Dr. ir. S. Broeders	Enquêtecoördinator	TEL:	02/642.52.25		
		e-mail:	sylvia.broeders@sciensano.be		
Dr. K. Vernelen	Vervanger enquêtecoördinator	TEL:	02/642.55.29		
		e-mail:	kris.vernelen@sciensano.be		
Experten	Instelling				
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				

Een draft versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experten op: 03/08/2022.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het expertencomité van: 02/09/2022.

Verantwoordelijkheden:

Tijdens deze vergadering werd het *ad hoc* expertencomité voor advies geraadpleegd over de inhoud van het globaal rapport, de interpretatie van de resultaten, de evaluatiecriteria en de organisatie van de volgende evaluaties. De verantwoordelijkheid voor de selectie van de gebruikte stalen en het definitieve ontwerp van de studie wordt door de dienst Kwaliteit van laboratoria van Sciensano genomen.

Autorisatie van het rapport : door Broeders Sylvia, enquêtecoördinator

Publicatiedatum : 06/10/2022

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

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

INHOUDSTAFEL

OPSPOREN, IDENTIFICATIE EN TYPERING VAN ANCA	4
EKE-SPECIFIEKE INFORMATIE	4
STAALINFORMATIE EN DEELNAME	5
Staalinformatie	5
Deelname	5
RESULTATEN.....	6
Opsporen van ANCA en patroontypering: Indirecte Immunofluorescentie	7
Identificatie van ANCA: Immunoassay	10
BESPREKING VAN DE RESULTATEN & CONCLUSIE	12

OPSPOREN, IDENTIFICATIE EN TYPERING VAN ANCA

EKE-SPECIFIEKE INFORMATIE

Het staal voor de EKE 2022/2 werd op 13 juni 2022 verstuurd naar de laboratoria. De afsluitingsdatum voor het inzenden van de resultaten was 27 juni 2022. Het voorlopige rapport was beschikbaar op onze website op 5 juli 2022.

De EKE resultaten werden besproken en gevalideerd tijdens de vergadering van het expertencomité op 2 september 2022. Het definitieve globale rapport was beschikbaar op onze website op 6 oktober 2022.

STAALINFORMATIE EN DEELNAME

Staalinformatie

Alle deelnemers aan de EKE 2022/2 ontvingen een vloeibaar plasmastaal **SN/19094**. Wij danken Prof J.-P. Tomasi (ex-expert, UCLouvain, Brussel) voor het bezorgen van dit staal.

Het staal werd vooraf goedgekeurd door de leden van het expertencomité en als volgt beoordeeld: pANCA positief, MPO positief, PR3 negatief. Dit resultaat wordt beschouwd als het correct aanvaarde resultaat.

Aangezien alle experten hetzelfde advies gaven, wordt het staal als homogeen verdeeld beschouwd.

Deelname

In totaal hebben 84 Belgische laboratoria deelgenomen aan de EKE.

Twee laboratoria dienden hun resultaten in na de afsluitingsdatum, hun resultaten werden mee opgenomen in het rapport.

RESULTATEN

In totaal hebben 74 laboratoria (88.1%) gebruik gemaakt van indirecte immunofluorescentie (IIF) voor het opsporen en de patroontypering van de ANCA.

81 laboratoria (96.4%) hebben een identificatie uitgevoerd dmv een immunoassay.

71 laboratoria (84.5%) voerden zowel een IIF als een immunoassay uit.

Tabel 1: Overzicht van het aantal laboratoria dat een IIF of immunoassay, of een combinatie hiervan, heeft uitgevoerd

	N
IIF + Immunoassay	71
IIF	3
Immunoassay	10

Opsporen van ANCA en patroontypering: Indirecte Immunofluorescentie

74 laboratoria (88.1%) hebben gebruik gemaakt van IIF. Van de 10 laboratoria die geen IIF uitvoerden, gaven twee laboratoria aan dat zij hun stalen naar een extern laboratorium sturen.

Het verwachte resultaat is:

- pANCA op ethanol gefixeerde neutrofiële granulocyten
- cANCA op formaline gefixeerde neutrofiële granulocyten
- besluit: pANCA

Alle deelnemers rapporteerden een **correcte positieve** fluorescentie.

Alle laboratoria, behalve drie, (96.0%) rapporteerden een correct **positief pANCA patroon** als besluit en/of op ethanol gefixeerde neutrofiële granulocyten.

Tabel 2: Overzicht van de bekomen IIF resultaten

Method	N	Ethanol	Formaline	Besluit	N
EUROIMMUN Mosaic	37	pANCA	cANCA	pANCA	25
		pANCA	cANCA	/	1
		pANCA	/	pANCA	1
		pANCA zwak positief	Negatief	Atypisch	1
		pANCA	Zwak positief ^a	pANCA	1
		pANCA	pANCA ^b	pANCA	6
		cANCA ^c	pANCA ^c	pANCA	1
		Positief ^a	Positief ^a	pANCA	1
Inova Diagnostics	21	pANCA	cANCA	pANCA	10
		pANCA	cANCA	/	1
		pANCA	/	pANCA	6
		pANCA	/	/	3
		Atypisch	/	Kernfluo op ethanol	1
Menarini Diagnostics	10	pANCA	cANCA	pANCA	9
		pANCA	cANCA	/	1
EUROIMMUN	2	pANCA	cANCA	pANCA	1*
		pANCA	pANCA ^b	pANCA	1*
AESKU Diagnostics (bmd)	2	pANCA	cANCA	pANCA	1
		pANCA	/	/	1

Immuno Concepts	1	Atypisch	/	/	1
BIO-RAD	1	pANCA	/	/	1

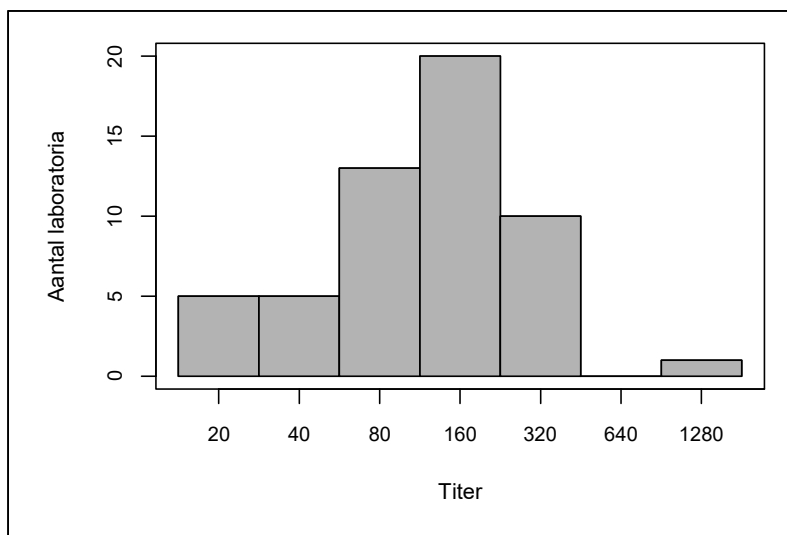
* Eén laboratorium observeerde het patroon op formaline gefixeerde neutrofiële granulocyten gebruik makend van een EUROIMMUN Mosaic methode. ^a Er wordt gevraagd op het antwoordformulier om het waargenomen patroon te rapporteren, de vermelding 'positief' is niet voldoende; ^b Het verwachte patroon op formaline gefixeerde neutrofiële granulocyten is cANCA. ^c Vermoeden van verkeerde ingave, gezien een correct besluit werd gegeven. /: niet gerapporteerd. Resultaten aangeduid in het blauw worden als niet correct (gerapporteerd) beschouwd.

Van de 71 deelnemers die een correct pANCA patroon observeerden, rapporteerden 61 een titer op ethanol gefixeerde neutrofiële granulocyten. Deze varieerde van >1/10 tot 1/1000.

Tabel 3: Overzicht van de bekomen titers, gebruikte cut-off en berekende mediaan voor de deelnemers die een correct pANCA patroon (N = 71) rapporteerden

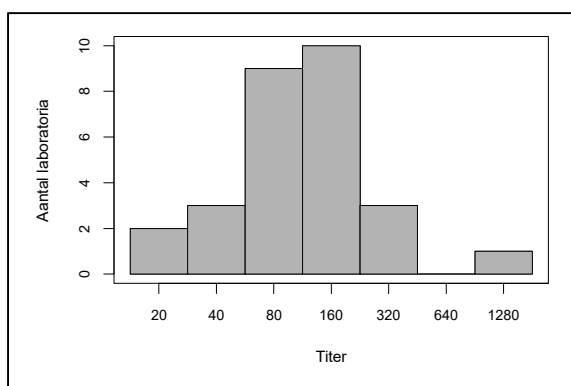
Methodie	N	Titer (ethanol) (# resultaten >1)	Cut-off waarde (# resultaten >1)	M
EUROIMMUN Mosaic ^a	36	>10(2), 20(2), ≥20, 40(3), 80(8), 100, 160(10), ≥160, 320(3), 1000	10(8), 20(11), 40(12)	100-160
Inova Diagnostics ^b	20	20, >20, 40(2), 80(3), 160(5), 320(5)	20(14), 40(3)	160
Menarini Diagnostics ^c	10	20(2), ≥20, 80, 160(4), 320	10, 20(7), 40	160
EUROIMMUN ^c	2	>40	40	-
AESKU Diagnostics (bmd)	2	160, 320	20(2)	-
BIO-RAD ^c	1	/	/	-

^a Vier deelnemers rapporteerden geen titer, vijf geen cut-off; ^b Drie deelnemers rapporteerden geen titer en cut-off; ^c Eén deelnemer rapporteerde geen titer en cut-off; -: niet van toepassing.

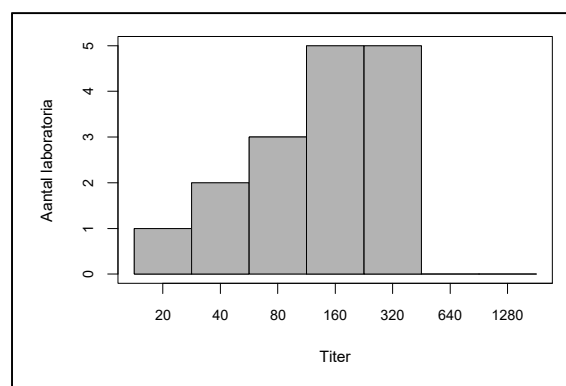


Figuur 1: Globale titerverdeling voor de correct gerapporteerde pANCA patronen (N = 61; excl. gecensureerde waarden)

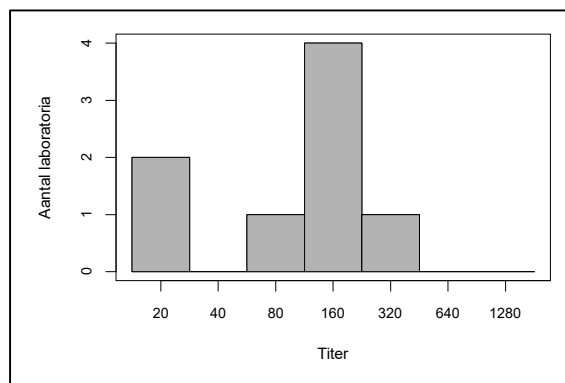
EUROIMMUN mosaïc (N=28)



Inova Diagnostics (N=16)



Menarini Diagnostics (N=8)



Figuur 2: Verdeling van de titers voor de IIF methoden waarvoor ≥ 6 deelnemers, met een correct pANCA patroon, een titer hebben vermeld, exclusief de gecensureerde waarden.

Identificatie van ANCA: Immunoassay

81 laboratoria (96.4%) hebben een immunoassay uitgevoerd. De drie laboratoria die geen immunoassay uitvoerden, gaven allen aan dat zij deze analyses doorsturen naar een extern laboratorium.

Alle deelnemers rapporteerden een **correct positief** resultaat.

78 deelnemers (96.3%) rapporteerden een **correct positief resultaat voor MPO**. 74 onder hen (94.9%) rapporteerden tevens een resultaat voor PR3, allen vonden een negatief resultaat.

Drie laboratoria voerden enkel een screening uit (Orgentec Diagnostika - ELISA) en bekwamen een positief resultaat. Zij gaven aan deze stalen in routine naar een extern laboratorium door te sturen voor identificatie. Eén laboratorium voerde een screening uit (EUROIMMUN Mosaic) in combinatie met een microdot array (Menarini Diagnostics). Eén laboratorium gebruikte een FEIA methode (Thermo Scientific/Phadia) voor de MPO en PR3 analyse en bevestigde het PR3 resultaat met een ELISA (Svar Life Science/Wieslab).

Tabel 4: Overzicht van de gebruikte immunoassays

Methode	Type assay					
	ELISA	FEIA	CLIA	DOT/LINE	BIOCHIP	μ-array
Thermo Scientific/Phadia		47				
Inova Diagnostics ^a			10			
EUROIMMUN (Euroline)				9		
EUROIMMUN	3					
EUROIMMUN (Mosaic)					3	
Diesse (bmd)	2					
Menarini Diagnostics ^b			1			1
AESKU Diagnostics (bmd)				1		
ImmunoDiagnostic Systems ^b			1			
Svar Life Science/Wieslab	1					
TOTAAL	6	47	12	10	3	1

^a Acht deelnemers rapporteerden in IU/ml en twee in CU; ^b Zelfde CLIA methode verdeeld door twee firma's

Voor de FEIA methode van Thermo Scientific/Phadia (N = 47) en de CLIA methode van Inova Diagnostics (gerapporteerd in IU/ml, N = 8,), die door ≥ 6 deelnemers gebruikt werden, werd een gemiddelde waarde en standaard deviatie berekend.

Methode	Gemiddelde (IU/ml)	SD (IU/ml)
ThermoScientific/Phadia (FEIA)	89.34	15.4
Inova Diagnostics (CLIA)	109.5	12.1

BESPREKING VAN DE RESULTATEN & CONCLUSIE

De evaluatie van de resultaten gebeurde op vier niveaus: resultaat van de IIF, ANCA patroon, resultaat van de immunoassay, globaal resultaat.

De 74 laboratoria die een IIF uitvoerden, rapporteerden allen een correct ANCA positief resultaat. Van deze 74 deelnemers, rapporteerden 71 een correct pANCA patroon.

De 81 laboratoria die een immunoassay uitvoerden rapporteerden allen een correct positief resultaat. Van deze 81 deelnemers, rapporteerden 78 een correct positief MPO resultaat. Drie laboratoria voerden enkel een screening uit met positief resultaat.

Globaal gezien vonden 68 laboratoria de juiste combinatie pANCA en MPO terug. Drie laboratoria voerden geen immunoassay uit, allen rapporteerden een pANCA patroon. Zeven van de 10 deelnemers die geen IIF hebben uitgevoerd, beschouwden het staal als MPO positief, de drie andere deelnemers voerden enkel een screening uit zonder verdere identificatie.

Tabel 6: Overzicht van de bekomen resultaten

IIF resultaat	ANCA patroon			Immunoassay resultaat		N
	Ethanol	Formaline	Besluit	MPO	PR3	
Positief	pANCA	cANCA	pANCA	+	-	41
	pANCA	cANCA	/	+	-	2
	pANCA	na	pANCA	+	-	7
	pANCA	na	/	+	-	5
	pANCA	cANCA	pANCA	Screening +		1
				+	-	
	pANCA	cANCA	/	+	/	1
	pANCA	cANCA	pANCA	na	na	3
	pANCA	cANCA	pANCA	+	/	1
	pANCA	pANCA	pANCA	+	-	6
				+	/	1
	Atypisch	/	/	+	/	1
	Atypisch	/	Kernfluo op ethanol	+	-	1
	pANCA	Zeer zwak	pANCA	+	-	1
	Positief	Positief	pANCA	+	-	1
cANCA	pANCA	pANCA	+	-	1	
Zwak positief	pANCA zwak positief	Negatief	Atypisch	+	-	1

na ^a	na	na	na	+	-	7
Screening + ^b						3

^a Twee laboratoria sturen het staal door naar een extern laboratorium voor IIF; ^b De drie laboratoria sturen het staal naar een extern laboratorium voor immunoassay; /: niet gerapporteerd; na: niet uitgevoerd. Resultaten aangeduid in blauw worden als niet correct (gerapporteerd) beschouwd.

De EUROIMMUN IIF mosaic (immunoassay op basis van Biochip) en sommige immunodot resultaten laten enkel een identificatie toe. Er wordt echter aangeraden om de ANCA immunoassay resultaten kwantitatief te rapporteren (uitzonderingen hierop zijn bvb sneltest in urgente context).

Voor een diagnostische vraagstelling in de context van vasculitis wordt geadviseerd steeds een immunoassay uit te voeren, zoals ook wordt aangegeven in de guidelines van 2017 (1). Er moet hierbij genoteerd worden dat deze richtlijnen zijn opgesteld in het kader van een diagnostische vraagstelling en niet voor de opvolging van patiënten of patiënten onder behandeling. Bij deze laatste is een negatieve IIF en positieve immunoassay mogelijk.

Thans kan in België volgens de huidige RIZIV-nomenclatuur (artikel 24) het “Opsporen van anti-PR3 of anti-MPO antilichamen” enkel aangerekend worden indien de verstrekking “Opzoeken van anti-neutrofielen antilichamen” positief is (diagnoseregule 64). Een voorstel tot wijziging werd ingediend in de werkgroep immunologie van de commissie klinische biologie en wordt momenteel geëvalueerd.

Verder wordt ook geadviseerd om in routine steeds een correlatie te maken tussen het bekomen IIF patroon en de resultaten van de immunoassay. In geval van discordantie is het belangrijk te correleren met het klinisch beeld, eventuele therapie, en een aanvullende commentaar toe te voegen aan het rapport.

Er wordt de deelnemers ook gevraagd om aandacht te besteden aan het correct en volledig invullen van de antwoordformulieren dwz te rapporteren welk patroon men waarneemt op ethanol en formaline (indien uitgevoerd) alsook een conclusie ivm het patroon gelinkt aan het staal en tevens op te passen voor tegenstrijdige gegevens (e.g. vermelding van een patroon met ingave van een ‘-’ teken) zodat de evaluatie correct kan gebeuren. Dit geldt ook voor de resultaten van de immunoassay.

Referenties

- 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

EINDE

© Sciensano, Brussel 2022.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door Sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de expertencomités of de werkgroep EKE.

Niet-infectieuze serologie, definitief globaal rapport 2022/2.

FORM 43/124/N V14

13/13