

**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 2023/3

Sciensano/Niet-infectieuze serologie/52-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 experts op 07/12/2023.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het (ad hoc) expertencomité op 22/01/2024.

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 : 25/03/2024

Alle rapporten zijn te raadplegen op onze website:

<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-niet-infectieuze-serologie>

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
NOMENCLATUUR	12
BESPREKING VAN DE RESULTATEN & CONCLUSIE	13

OPSPOREN, IDENTIFICATIE EN TYPERING VAN ANCA

EKE-SPECIFIEKE INFORMATIE

Het staal voor de EKE 2023/3 werd op 16 oktober 2023 verstuurd naar de laboratoria. De afsluitingsdatum voor het inzenden van de resultaten was 30 oktober 2023. Het voorlopige rapport was beschikbaar op onze website op 8 november 2023.

De EKE resultaten werden besproken en gevalideerd tijdens de vergadering van het expertencomité op 22 januari 2024. Het definitieve globale rapport was beschikbaar op onze website op 25 maart 2024.

STAALINFORMATIE EN DEELNAME

Staalinformatie

Alle deelnemers aan de EKE 2023/3 ontvingen een vloeibaar plasmastaal **SN/19999** afkomstig van een patiënt met granulomatose met polyangiitis (GPA). Wij danken Dr. L. Van Hoovels (OLVZ, Aalst) voor het bezorgen van dit staal.

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

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

Deelname

In totaal hebben 84 Belgische laboratoria deelgenomen aan de EKE.

83 laboratoria voerden analyses uit, 80 deelnemers beantwoordden de vragen ivm de ANCA teststrategie in het kader van de vernieuwde nomenclatuur.

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

RESULTATEN

In totaal hebben 59 laboratoria (70.2%) 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.

57 laboratoria (67.9%) 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	57
IIF	2
Immunoassay	24

Opsporen van ANCA en patroontypering: Indirecte Immunofluorescentie

59 laboratoria (70.2%) hebben een IIF analyse uitgevoerd. Van de 25 deelnemers die geen IIF analyse hebben uitgevoerd, waren er tien die dit ook niet deden in 2022 (waarvan één aangaf deze analyse uit te sturen naar een extern laboratorium).

Het verwachte resultaat is:

- cANCA op ethanol gefixeerde neutrofiele granulocyten
- cANCA op formaline gefixeerde neutrofiele granulocyten
- besluit: cANCA

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

Alle laboratoria rapporteerden een correct **positief cANCA patroon** als besluit en/of op ethanol gefixeerde neutrofiele granulocyten.

Tabel 2: Overzicht van de bekomen IIF resultaten

Method	N	Ethanol	Formaline	Besluit	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(granulair)	c(granulair)	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 Eén laboratorium gaf aan een zwak patroon te observeren op ethanol gefixeerde neutrofiele granulocyten.

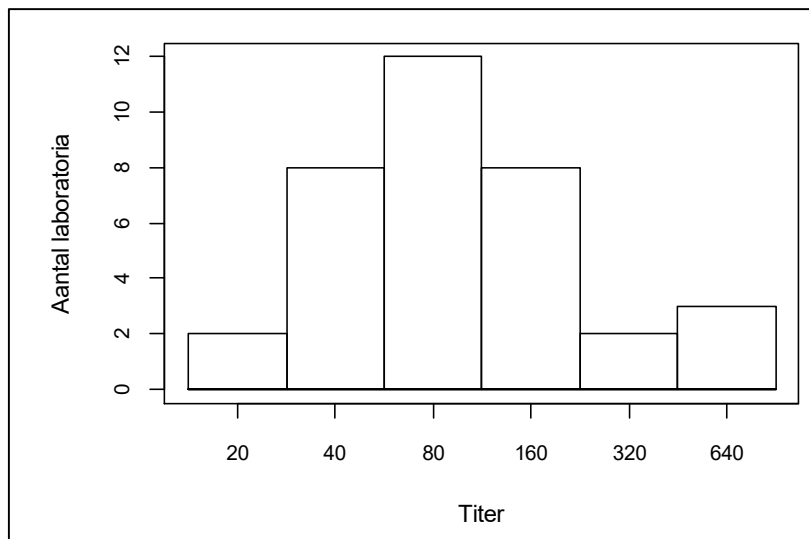
^b Eén laboratorium observeerde het patroon op formaline gefixeerde neutrofiele granulocyten gebruik makend van een Immco Diagnostics methode. ^c Eén laboratorium observeerde het patroon op formaline gefixeerde neutrofiele granulocyten gebruik makend van een EUROIMMUN Mosaic methode. ^d Er wordt gevraagd op het antwoordformulier om het waargenomen patroon te rapporteren alsook een conclusie ivm dit patroon, de vermelding 'positief' is niet voldoende. /: niet gerapporteerd.

Van de 59 deelnemers die een correct cANCA patroon observeerden, rapporteerden 42 een titer op ethanol gefixeerde neutrofiële granulocyten. Deze varieerde van >1/10 tot 1/640.

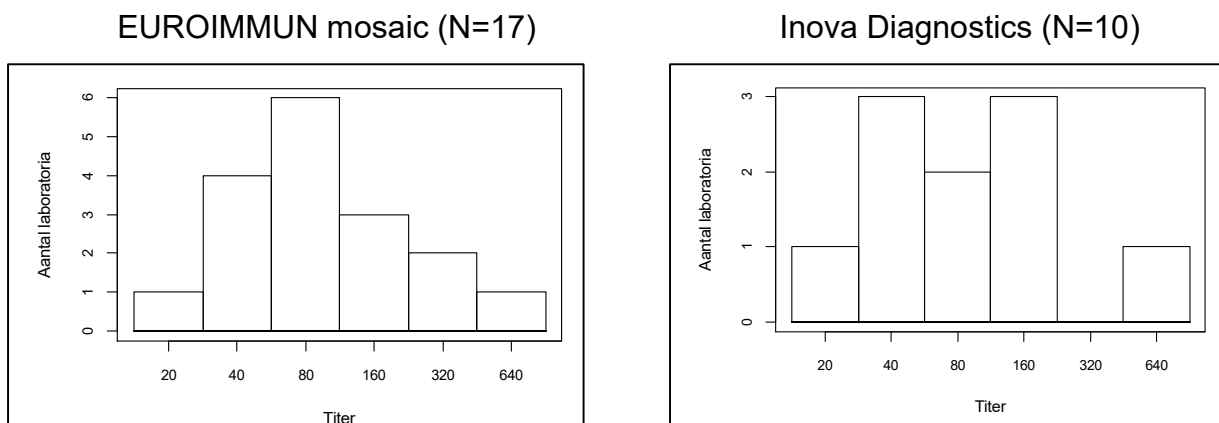
Tabel 3: Overzicht van de bekomen titers, gebruikte cut-off en berekende mediaan (M; enkel berekend voor methoden met ≥ 6 deelnemers) voor de deelnemers die een correct cANCA patroon (N = 59) rapporteerden

Methodie	N	Titer (ethanol) (# resultaten >1)	Cut-off waarde (# resultaten >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 Tien deelnemers rapporteerden geen titer. ^b Drie deelnemers rapporteerden geen titer. ^c Twee deelnemers rapporteerden geen titer. ^d Eén deelnemer rapporteerde geen titer. -: niet van toepassing.



Figuur 1: Globale titerverdeling voor de correct gerapporteerde cANCA patronen (excl. gecensureerde waarden; N = 35)



Figuur 2: Verdeling van de titers voor de IIF methoden waarvoor ≥ 6 deelnemers, met een correct cANCA patroon, een titer hebben vermeld (excl. 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 analyse doorsturen naar een extern laboratorium.

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

78 laboratoria (96.3%) rapporteerden een **correct positief resultaat voor PR3**. Allen rapporteerden tevens een resultaat voor MPO. 76 onder hen gaven een negatief resultaat, één een zwak positief (EUROIMMUN-ELISA) resultaat en één een positief (AESKU Diagnostics-Immunoblot) resultaat.

Drie laboratoria voerden enkel een screening uit (Orgentec Diagnostika - ELISA) en bekwamen een positief resultaat. Twee van hen 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). Twee laboratoria gebruikten een FEIA methode (Thermo Scientific/Phadia) in combinatie met een CLIA methode (Inova Diagnostics), één laboratorium combineerde een FEIA methode voor MPO/PR3 (Thermo Scientific/Phadia) met een Immunodot methode voor PR3 (D-Tek/Alphadia).

Tabel 4: Overzicht van de gebruikte immunoassays

Methode	Type assay					
	ELISA	FEIA	CLIA	DOT/LINE/ BLOT	BIOCHIP	μ-array
Thermo Scientific/Phadia		45				
Inova Diagnostics ^a			13			
EUROIMMUN (Euroline)				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					
TOTAAL	8	45	16	8	3	1

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

Voor de FEIA methode van Thermo Scientific/Phadia (N = 45) en de CLIA methode van Inova Diagnostics (gerapporteerd in IU/ml, N = 10), die door ≥ 6 deelnemers gebruikt werden, werd een gemiddelde waarde en standaard deviatie berekend.

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

NOMENCLATUUR

Gezien de nomenclatuur werd aangepast in 2023, werden 2 vragen gesteld nl

- Hebt u, naar aanleiding van de nieuwe nomenclatuur, uw teststrategie voor ANCA-vasculitiden aangepast?
- Indien neen, voorziet u om uw teststrategie aan te passen?

80 deelnemers beantwoordden de vragen.

43 van deze laboratoria (53.8%) pasten de teststrategie reeds aan. 25 deelnemers (31.3%) gaven aan de strategie nog te zullen aanpassen. In totaal zal de nomenclatuurwijziging in 68 van deze laboratoria (85.0%) aanleiding geven tot een gewijzigd algoritme.

Aangezien we niet in detail bevraagd hebben wat de strategie initieel was, valt het niet uit te sluiten dat er van de 12 laboratoria (15.0%), die hun strategie niet aanpasten, zijn die reeds werkten volgens het nieuwe algoritme.

De percentages uit deze bevraging komen niet overeen met de methode verdeling van deze EKE. Verschillende laboratoria gaven aan dat ze in routine voor een follow-up staal een MPO of PR3 analyse zouden uitvoeren maar hier beiden uitvoerden daar de historiek van de patiënt niet meegegeven was.

Tabel 5: Overzicht van de antwoorden

Strategie aangepast?	Strategie zal aangepast worden?	N	%
+	na	43	53.8
+/-	+	2	2.5
-	+	23	28.8
-	-	11	13.8
-	/	1	1.3

+: ja, -: neen, +/-: deels, na: niet van toepassing, /: geen info.

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. 83 deelnemers voerden analyses uit.

De 59 laboratoria die een IIF uitvoerden, rapporteerden allen een correct ANCA positief resultaat, waaronder één een zwak positief resultaat. Alle 59 deelnemers rapporteerden finaal een correct cANCA patroon.

De 81 laboratoria die een immunoassay uitvoerden rapporteerden allen een correct positief resultaat. Van deze 81 deelnemers, rapporteerden 78 een correct positief PR3 resultaat met één of meerdere methoden. Drie laboratoria voerden enkel een screening uit met positief resultaat. Van de 78 deelnemers die ook een MPO resultaat rapporteerden, gaven 76 een correct negatief resultaat.

Globaal gezien vonden 56 laboratoria de juiste combinatie cANCA en PR3 terug. 54 onder hen rapporteerden tevens een negatief resultaat voor MPO, twee een (zwak) positief resultaat.

24 laboratoria voerden geen IIF analyse uit, 21 onder hen rapporteerden een PR3 positief resultaat en drie voerden enkel een screening uit zonder verdere identificatie.

Twee laboratoria voerden geen immunoassay uit, allen rapporteerden een cANCA patroon.

Tabel 6: Overzicht van de bekomen resultaten (N=83)

IIF resultaat	ANCA patroon			Immunoassay resultaat		N
	Ethanol	Formaline	Besluit	MPO	PR3	
Positief	cANCA	cANCA	cANCA	-	+	37
	cANCA	na	cANCA	-	+	11
	cANCA	cANCA	/	-	+	2
	cANCA	na	/	-	+	2
	c(granulair)	c(granulair)	cANCA	-	+	1
	cANCA	cANCA	cANCA	na	na	2
	cANCA	cANCA	cANCA	Screening +		1
				-	+	
	cANCA	cANCA	cANCA	+/-	+	1
cANCA	na	+	+	+	1	
Zwak positief	cANCA	cANCA	/	-	+	1
na	na	na	na	-	+	21
				Screening +		3

/: niet gerapporteerd; na: niet uitgevoerd. Resultaten aangeduid in blauw worden als niet correct (gerapporteerd) beschouwd.

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) en deze resultaten kwantitatief te rapporteren (uitzonderingen hierop zijn bvb sneltest in urgente context).

Sinds maart 2023 voorziet de RIZIV-nomenclatuur (artikel 24) ook terugbetaling voor deze strategie. Het klassieke algoritme van eerst IIF en dan confirmatie met een immunoassay blijft ook nog terugbetaald. Titratie van ANCA IIF is niet langer terugbetaald en zal dus niet langer bevestigd worden in de EKE.

Toepassen van deze nieuwe nomenclatuur vereist een 'gating strategie' waarbij een onderscheid wordt gemaakt tussen ANCA aanvragen in het kader van de diagnose van een mogelijke vasculitis, follow-up van gekende vasculitis en ANCA voor andere indicaties dan vasculitis. Bij andere indicaties dan vermoeden van vasculitis blijft eerst IIF en dan confirmatie met een immunoassay aangewezen (2).

Uit de bevraging blijkt dat minstens 85% van de deelnemende laboratoria de nieuwe strategie zal aannemen. Voor vasculitis follow-up stalen in het kader van een EKE is het niet wenselijk om reeds de specificiteit mee te geven bij de klinische gegevens. Het uitvoeren van beide immunoassays (MPO en PR3) is dan aangewezen. Indien u in routine geen IIF zou uitvoeren in de opgegeven context, is dat ook niet nodig voor de EKE.

Indien echter in routine een IIF analyse en een immunoassay worden uitgevoerd, wordt geadviseerd om 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 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
- (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.

EINDE

© Sciensano, Brussel 2024.

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.