

**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 2022/2**

Sciensano/Sérologie non infectieuse/48-FR

Risques biologiques pour la santé
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytzman, 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 : 03/08/2022.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts du : 02/09/2022.

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 : 06/10/2022

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, 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
DISCUSSION DES RESULTATS ET CONCLUSION	12

DETECTION, TYPAGE ET IDENTIFICATION DES ANCA

INFORMATION SPECIFIQUE A L'EEQ

L'échantillon pour l'EEQ 2022/2 a été envoyé aux laboratoires le 13 juin 2022. L'EEQ a été clôturée le 27 juin 2022. Le rapport préliminaire a été publié sur notre site web le 5 juillet 2022.

Les résultats EEQ ont été discutés et validés lors de la réunion du comité d'experts le 2 septembre 2022. Le rapport global définitif a été publié sur notre site web le 6 octobre 2022.

Echantillon

Tous les participants de l'EEQ 2022/2 ont reçu un échantillon liquide de plasma **SN/19094**. Nous remercions le Prof J.-P. Tomasi (ex-expert, UCLouvain, Bruxelles) 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: pANCA positif, MPO positif, PR3 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.

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

RESULTATS

Au total, 74 laboratoires (88.1%) 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.

71 laboratoires (84.5%) 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	71
IFI	3
Immunodosage	10

Détection et typage des ANCA : Immunofluorescence Indirecte

74 laboratoires (88.1%) ont utilisé l'IFI. Des 10 laboratoires qui n'ont pas effectué d'IFI, deux laboratoires ont mentionné qu'ils envoient leurs échantillons à un laboratoire externe.

Le résultat attendu est:

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

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

Tous les laboratoires, sauf trois, (96.0%) ont rapporté un aspect **pANCA 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	37	pANCA	cANCA	pANCA	25
		pANCA	cANCA	/	1
		pANCA	/	pANCA	1
		pANCA faible positif	Négatif	Atypique	1
		pANCA	Faible positif ^a	pANCA	1
		pANCA	pANCA ^b	pANCA	6
		cANCA ^c	pANCA ^c	pANCA	1
		Positif ^a	Positif ^a	pANCA	1
Inova Diagnostics	21	pANCA	cANCA	pANCA	10
		pANCA	cANCA	/	1
		pANCA	/	pANCA	6
		pANCA	/	/	3
		Atypique	/	Fluo noyau sur éthanol	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	Atypique	/	/	1
BIO-RAD	1	pANCA	/	/	1

* Un laboratoire a observé l'aspect sur les neutrophiles fixés à la formaline utilisant une méthode EUROIMMUN Mosaic. ^a Il est demandé sur le formulaire de réponse de rapporter l'aspect observé, la mention 'positif' n'est pas suffisante ; ^b L'aspect attendu sur des neutrophiles fixés à la formaline est cANCA ; ^c Soupçon d'entrée erronée, étant donné qu'une conclusion correcte a été rendue. /: pas rapporté. Résultats indiqués en bleu sont considérés comme (rapporté) erronés.

Des 71 laboratoires, qui ont observé un aspect pANCA correct, 61 laboratoires ont rapporté un titre sur granulocytes neutrophiles fixés à l'éthanol. Celui-ci variait de >1/10 à 1/1000.

Tableau 3: Aperçu des titres obtenus, seuil utilisé et médiane calculée pour les participants qui ont signalé un aspect pANCA correct (N = 71)

Méthode	N	Titre (ethanol) (# résultats >1)	Valeur seuil (# résultats >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 Quatre participants n'ont pas signalé de titre, cinq pas de valeur seuil; ^b Trois participants n'ont pas signalé de titre ni de valeur seuil; ^c Un participant n'a pas signalé de titre ni de valeur seuil; -: pas d'application

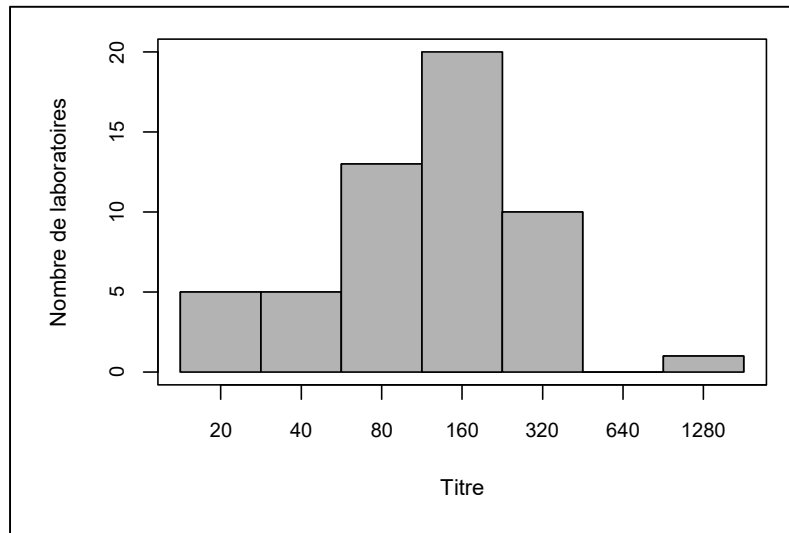
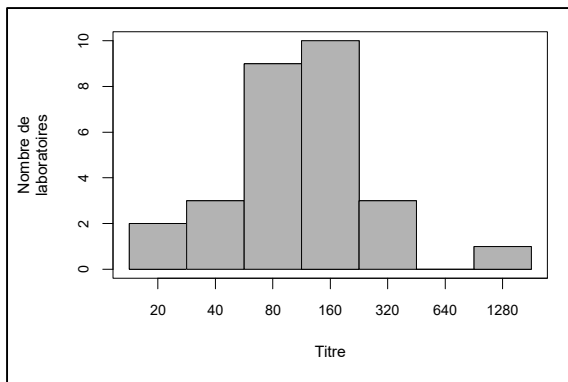
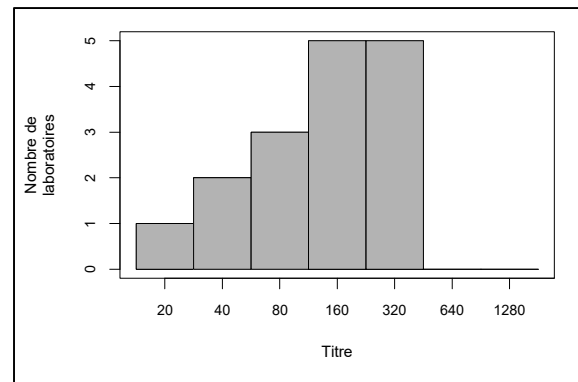


Figure 1: Distribution globale des titres pour les aspects pANCA rapportés correctement (N=61; excl. valeurs censurées)

EUROIMMUN mosaïc (N=28)



Inova Diagnostics (N=16)



Menarini Diagnostics (N=8)

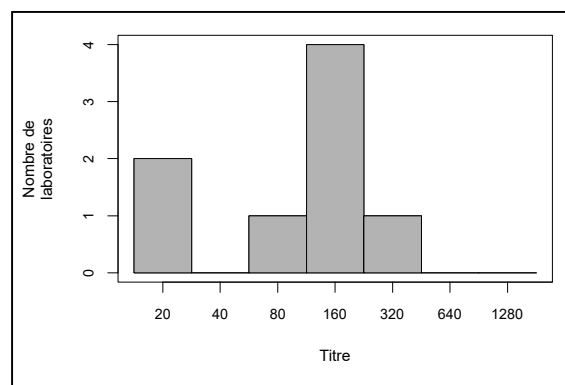


Figure 2: Distribution des titres pour les méthodes IFI pour lesquelles ≥ 6 participants, mentionnant un aspect pANCA correct, ont rapporté un titre (excl. valeurs censurées).

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 MPO**. 74 de ces laboratoires (94.9%) ont aussi mentionné un résultat pour PR3, tous ont rapporté un résultat négatif.

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. Un laboratoire a effectué un screening (EUROIMMUN Mosaic) en combinaison d'un microdot array (Menarini Diagnostics). Un laboratoire a utilisé une méthode FEIA (Thermo Scientific/Phadia) pour les analyses 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	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		
ImmunoDiagnosticSystems ^b			1			
Svar Life Science/Wieslab	1					
TOTAL	6	47	12	10	3	1

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

Pour la méthode FEIA de Thermo Scientific/Phadia (N = 47) et la méthode CLIA d'Inova Diagnostics (rapporté en IU/ml, N = 8), utilisée par ≥ 6 participants, une moyenne et une déviation standard ont été calculées

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

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 74 laboratoires qui ont réalisé une IFI, ont tous rapporté un résultat ANCA positif correct. Sur ces 74 participants, 71 ont signalé un aspect pANCA correct.

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

Globalement, 68 laboratoires ont trouvé la bonne combinaison pANCA et MPO.

Trois laboratoires n'ont pas effectué d'immunodosage, tous ont rapporté un aspect pANCA. Sept des 10 laboratoires qui n'ont pas réalisé d'IFI, ont considéré l'échantillon comme MPO 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	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
	Atypique	/	/	+	/	1
	Atypique	/	Fluo noyau sur éthanol	+	-	1
	pANCA	Très faible	pANCA	+	-	1
	Positif	Positif	pANCA	+	-	1
cANCA	pANCA	pANCA	+	-	1	
Zwak positif	pANCA faible positif	Négatif	Atypique	+	-	1

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

^a Deux laboratoires envoient l'échantillon en externe pour IFI; ^b Les trois laboratoires envoient l'échantillon en externe pour l'immunodosage; /: pas rapporté; na: pas effectué. Les résultats en bleu sont considérés comme (rapporté) erronés.

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).

Pour le diagnostic des vascularites, il est recommandé d'effectuer un immunodosage, comme également indiqué par les directives de 2017 (1). 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 et de faire également attention aux données contradictoires (par exemple, mention d'un aspect avec notification d'un caractère '-') afin que l'évaluation puisse être fait 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

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.