

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S  
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE  
EXPERTENCOMITE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE  
VOOR ANALYSES KLINISCHE BIOLOGIE**

**DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT  
NIET-INFECTIEUZE SEROLOGIE**

**ANA**

**ENQUETE 2022/3**

**Sciensano/Niet-infectieuze serologie/49-NL**

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

[www.sciensano.be](http://www.sciensano.be)

<b>EXPERTENCOMITE</b>
-----------------------

<b>Sciensano</b>					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
		e-mail	<a href="mailto:ql_secretariat@sciensano.be">ql_secretariat@sciensano.be</a>		
Dr. ir. S. Broeders	Enquêtecöördinator	TEL:	02/642.52.25		
		e-mail:	<a href="mailto:sylvia.broeders@sciensano.be">sylvia.broeders@sciensano.be</a>		
Dr. K. Vernelen	Vervanger enquêtecöördinator	TEL:	02/642.55.29		
		e-mail:	<a href="mailto:kris.vernelen@sciensano.be">kris.vernelen@sciensano.be</a>		
<b>Experten</b>	<b>Instelling</b>				
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: 23/12/2022

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het expertencomité van: 20/01/2023

**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, enquêtecöördinator

**Publicatiedatum** : 30/03/2023

Alle rapporten zijn te raadplegen op onze website:

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

## INHOUDSTAFEL

OPSPOREN EN IDENTIFICATIE VAN ANA .....	4
EKE-SPECIFIEKE INFORMATIE .....	4
STAALINFORMATIE EN DEELNAME .....	5
Staalinformatie.....	5
Deelname .....	5
RESULTATEN: SN/19448.....	6
Opsporen van ANA met IIF .....	7
Opsporen van anti-dsDNA antistoffen .....	10
Opsporen en identificatie van anti-ENA antistoffen .....	12
RESULTATEN: SN/19350.....	15
BESPREKING VAN DE RESULTATEN & CONCLUSIE .....	19

## OPSPOREN EN IDENTIFICATIE VAN ANA

### EKE-SPECIFIEKE INFORMATIE

De stalen voor de EKE 2022/3 werden op 17 oktober 2022 verstuurd naar de laboratoria. De afsluitingsdatum voor het inzenden van de resultaten was 3 november 2022. De resultaten werden besproken en gevalideerd tijdens de vergadering van het expertencomité op 20 januari 2023.

Het voorlopige rapport was beschikbaar op onze website op 8 november 2022. Het definitieve globale rapport was beschikbaar op onze website op 30 maart 2023.

## **Staalinformatie**

Alle deelnemers aan de EKE 2022/3 ontvingen twee serumstalen: **SN/19448** afkomstig van een patiënt met systemische sclerose en **SN/19350** afkomstig van een patiënt met erosieve handartrose. Wij danken Prof. J-P Tomasi (ex-expert, UCLouvain, Bruxelles) en Dr. L. Van Hoovels (OLVZ, Aalst) voor het bezorgen van het respectievelijke staalmateriaal.

De stalen werden vooraf goedgekeurd door de leden van het expertencomité en als volgt beoordeeld:

- SN/19448: positieve kernfluorescentie (centromeer, AC-3) en negatieve cytoplasmatische/mitotische fluorescentie, anti-dsDNA negatief, anti-ENA positief (CENP-B).
- SN/19350: positieve cytoplasmatische fluorescentie (Golgi-achtig, AC-22) en negatieve kern/mitotische fluorescentie (enkel IIF gevraagd).

Dit zijn tevens de als consensus vastgelegde resultaten.

Aangezien alle experts hetzelfde advies gaven, worden de stalen als homogeen verdeeld beschouwd.

## **Deelname**

In totaal hebben 92 Belgische laboratoria deelgenomen aan de EKE.

## **Nota**

Het anti-ENA Immunodot resultaat gerapporteerd onder Inova Diagnostics werd verwerkt onder de fabrikant D-Tek, Inova Diagnostics is enkel een verdeler.

## RESULTATEN: SN/19448

Voor staal SN/19448 werd een volledige analyse gevraagd: IIF, anti-dsDNA, anti-ENA.

90 laboratoria (97.8%) spoorden de aanwezigheid van antinucleaire antistoffen (ANA) op met indirecte immunofluorescentie (IIF).

86 laboratoria (93.5%) voerden een anti-dsDNA bepaling uit met één of meerdere methoden.

89 deelnemers (96.7%) spoorden de aanwezigheid van anti-ENA antilichamen op met één of meerdere methoden.

Tabel 1: Overzicht van het aantal laboratoria dat een IIF, anti-dsDNA of anti-ENA bepaling, of een combinatie hiervan, heeft uitgevoerd

	<b>N</b>
IIF + anti-dsDNA + anti-ENA	84
IIF + anti-ENA	4
IIF	2
Anti-dsDNA + anti-ENA	1
Anti-dsDNA	1

## Opsporen van ANA met IIF

90 laboratoria (97.8%) spoorden de aanwezigheid van ANA op met IIF. De twee laboratoria die geen IIF hebben uitgevoerd, gaven aan deze analyse uit te sturen naar een extern laboratorium.

Alle deelnemers (100.0%) interpreteerden de **kernfluorescentie correct** als **positief**.

88 deelnemers (97.8%) rapporteerden een **correct nucleair centromeer (AC-3) patroon**. Twee laboratoria rapporteerden naast het centromeer (AC-3) patroon, een additioneel patroon: homogeen (AC-1) of kernmembraan (AC-11,12).

Geen enkele deelnemer rapporteerde een cytoplasmatisch of mitotisch patroon.

Tabel 2: Overzicht van de gerapporteerde nucleaire immunofluorescentie patronen

Nucleair patroon	N
Centromeer (AC-3)	88
Centromeer (AC-3) + Homogeen (AC-1)	1
Centromeer (AC-3) + Kernmembraan (AC-11,12)	1

Resultaten aangeduid in het blauw werden als analytisch niet correct beschouwd.

Tabel 3: Overzicht van de bekomen patronen per gebruikte methode

Methode	N	Patroon	N
EUROIMMUN - HEp-2010	30	Centromeer (AC-3)	28
		Centromeer (AC-3) + Homogeen (AC-1)	1
		Centromeer (AC-3) + Kernmembraan (AC-11,12)	1
Immuno Concepts - HEp-2000	22	Centromeer (AC-3)	22
Inova Diagnostics - HEp-2	22	Centromeer (AC-3)	22
Menarini Diagnostics - HEp-2	9	Centromeer (AC-3)	9
Kallestad - HEp-2	5	Centromeer (AC-3)	5
SCIMEDX - HEp-2	1	Centromeer (AC-3)	1
EUROIMMUN - HEp-2	1	Centromeer (AC-3)	1

Resultaten aangeduid in het blauw werden als analytisch niet correct beschouwd.

In de groep van laboratoria die een correct nucleair centromeer (AC-3) patroon rapporteerden (N = 88), hebben allen, op één na (Immuno Concepts), een titer vermeld. Voor de methoden, waar  $\geq 6$  deelnemers een titer vermeld hebben, werd ook de mediaan berekend (excl. gecensureerde waarden).

Tabel 4: Overzicht van de gerapporteerde titer en berekende mediaan voor de deelnemers die een correct nucleair centromeer (AC-3) patroon rapporteerden

Substraat	N	Manuele aflezing			Automatisch aflezing <sup>b</sup>		
		N	Resultaat (aantal resultaten >1)	M	N	Resultaat (aantal resultaten >1)	M
SCIMEDX	1	1	80	-	-	-	-
Kallestad (BIO-RAD)	5	5	640, >1000, 1280, 2560(2)	-	-	-	-
Menarini Diagnostics	9	1	3200	-	8	320, 640, 640, 1280(3), 2560, >2560	1280
Immuno Concepts	22	17	320, 640(4), 1280(6), >1280, 2560(4), >2560	1280	5 <sup>a</sup>	640, 640, 1280(2)	-
Inova Diagnostics	22	4	320, 1280, $\geq 1280$ , 2560	-	18	160, 320, 320, 640(4), 1280(3), >1280(2), 2560, 2560(3), >2560, 5120	1280
EUROIMMUN	29	19	1280(3), >1280, 2560(7), 3200, 5120(5), >5120, 10000	2560	10	>1000, >1280, 2560(5), <2560(2), 5120	2560

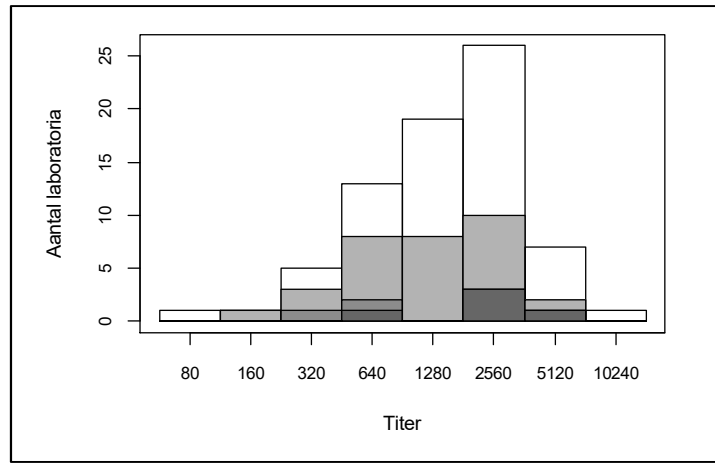
<sup>a</sup> Eén laboratorium rapporteerde geen titer; <sup>b</sup> Bij de automatische aflezing zijn de geschatte titers aangeduid in het groen, de eindpunttiters in het oranje; in het zwart zijn deelnemers die deze informatie niet aanduiden; -: niet van toepassing

42 deelnemers (46.7%) gebruikten een automatische microscoop voor het aflezen van de fluorescentie. 41 (97.6%) rapporteerden een correct nucleair centromeer patroon en hebben allen, op één na, een titer vermeld. 32 deelnemers rapporteerden een eindpunttiter, zes een geschatte titer en twee vermeldden deze informatie niet.

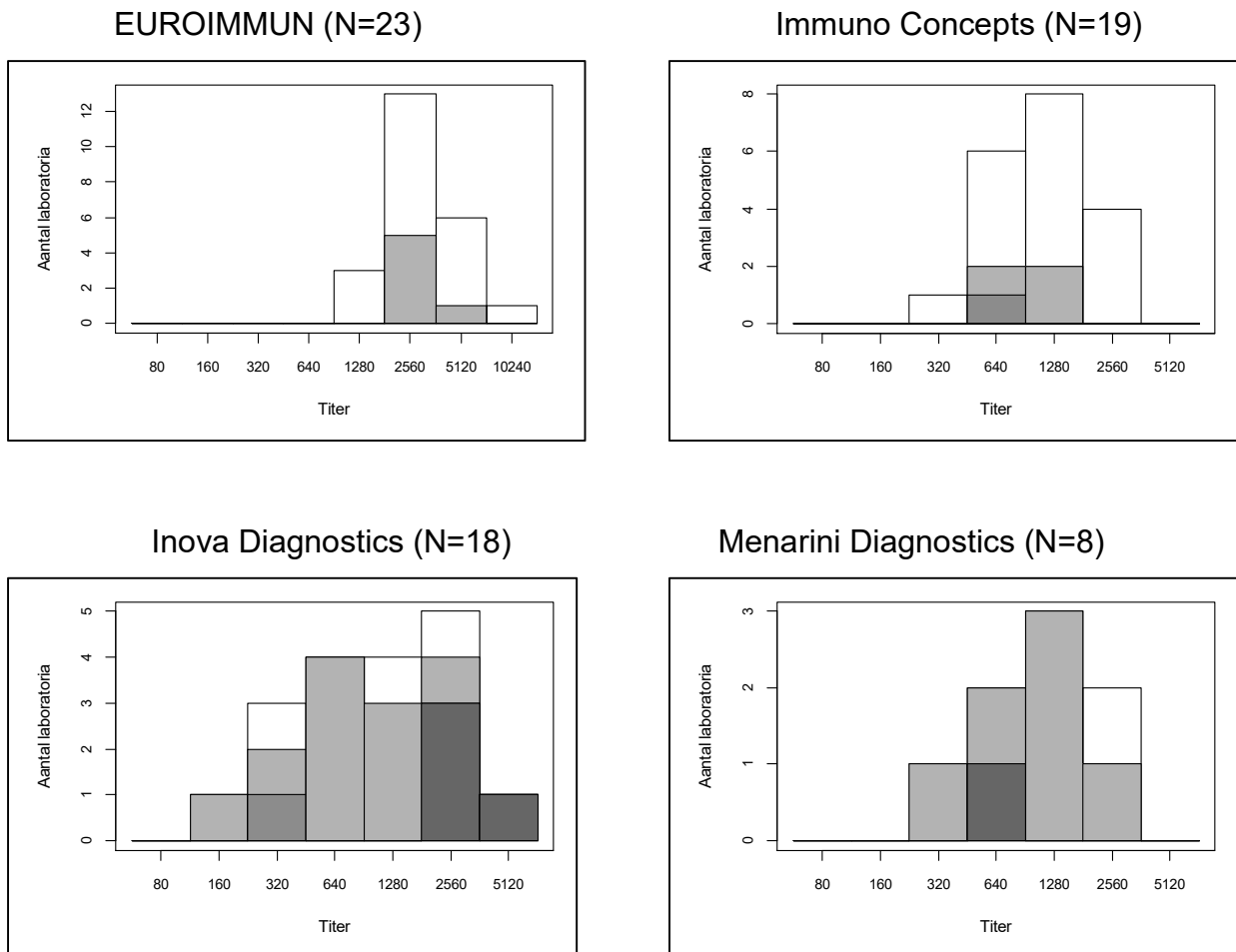
48 laboratoria (53.3%) gebruikten een manuele microscoop voor het aflezen van de fluorescentie. 47 (97.7%) rapporteerden een correct nucleair centromeer patroon en hebben allen een titer vermeld.

Een tabel met de details ivm de staalvoorbereiding, het aflezen van de fluorescentie, het gebruikte systeem alsook de bekomen resultaten is beschikbaar in de bijlage (<https://www.sciensano.be/nl/biblio/eke-niet-infectieuze-serologie-globaal-rapport-bijlage-2022-3>).





Figuur 1: Globale titerverdeling voor de laboratoria die een correct nucleair patroon rapporteerden (excl. gecensureerde waarden). Resultaten bekomen met een automatische microscoop zijn aangeduid in het grijs: de donkerste grijstint stelt de aantallen geschatte titers voor, de lichtste grijstint die van de eindpunttiter, en de middelste grijstint zijn de deelnemers die deze informatie niet hebben ingevuld.



Figuur 2: Verdeling van de titers voor de IIF methoden waarvoor  $\geq 6$  deelnemers, met een correct nucleair patroon, een titer hebben vermeld (excl. gecensureerde waarden). Resultaten bekomen met een automatische microscoop zijn aangeduid in het grijs: de donkerste grijstint stelt de aantallen geschatte titers voor, de lichtste grijstint die van de eindpunttiter, en de middelste grijstint zijn de deelnemers die deze informatie niet hebben ingevuld.

## Opsporen van anti-dsDNA antistoffen

In totaal spoorden 86 laboratoria (93.5%) de aanwezigheid van anti-dsDNA antistoffen op. Dertien laboratoria (15.1%) gebruikten twee technieken.

Van de zes laboratoria die geen anti-dsDNA analyse hebben uitgevoerd, gaven vier laboratoria aan dat zij deze analyse naar een extern laboratorium sturen.

Alle laboratoria (100%) rapporteerden een **correct negatief resultaat**.

Tabel 5: Overzicht van de technieken gebruikt voor het opsporen van anti-dsDNA antistoffen

<b>Techniek</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
ELISA/EIA/FEIA/CLIA	59	68.6
Dot	7	8.1
Crithidia luciliae	6	7.0
RIA	1	1.2
ELISA/EIA/FEIA/CLIA + Crithidia luciliae	6	7.0
ELISA/EIA/FEIA/CLIA + Dot	6	7.0
Crithidia luciliae + RIA	1	1.2

Tabel 6: Overzicht van de gebruikte methoden

<b>Methode</b>	<b>N</b>
<b><i>ELISA/EIA/FEIA/CLIA (N = 71)</i></b>	
Thermo Scientific/Phadia	40
Inova Diagnostics	13
EUROIMMUN	10
Diesse (bmd)	2
Immunodiagnosticssystem (IDS)	2
AESKU Diagnostics	1
DRG Diagnostics	1
Menarini Diagnostics	1
ORGENTEC	1
<b><i>Dot (N = 13)</i></b>	
EUROIMMUN	10
D-Tek (Alphadia)	2
Mikrogen Diagnostik	1
<b><i>Crithidia luciliae (N = 13)</i></b>	
Immuno Concepts	4
Inova Diagnostics	4
Menarini Diagnostics	3
EUROIMMUN	2
<b><i>RIA (N = 2)</i></b>	
EUROIMMUN	2

## Opsporen en identificatie van anti-ENA antistoffen

89 laboratoria (96.7%) spoorden de aanwezigheid van anti-ENA antistoffen op. De drie laboratoria die geen anti-ENA analyse uitvoerden gaven aan deze uit te besteden. 53 laboratoria (59.6%) gebruikten twee technieken, drie laboratoria (3.4%) gebruikten drie technieken.

Tabel 7: Overzicht van de technieken gebruikt voor het opsporen en identificeren van anti-ENA antistoffen

Techniek	N	%
Screening (SPA)	5	5.6
Immuno dot/line	27 <sup>a</sup>	30.3
Microarray	1	1.1
Screening (SPA) + Immuno dot/line	33 <sup>a</sup>	37.1
Screening (SPA) + ELISA/EIA/FEIA/CLIA	19	21.3
Immuno dot/line + ELISA/EIA/FEIA/CLIA	1	1.1
Screening (SPA)+ Immuno dot/line + ELISA/EIA/FEIA/CLIA	3	3.4

<sup>a</sup> Drie laboratoria gebruikten twee Immuno dot/line methoden; SPA: solid phase assay

60 laboratoria (67.4%) gebruikten een solid phase **screeningsmethode** en 57 rapporteerden een positief resultaat. De drie deelnemers die een negatief resultaat rapporteerden, gebruikten een methode die geen CENP antigenen bevat. Vijf van de 60 laboratoria gebruikten enkel een screeningstechniek, één van hen gaf aan de anti-ENA identificatie uit te besteden. Alle anderen combineerden de screeningstechniek met een bevestigingstechniek (Immuno dot/line en/of ELISA/EIA/FEIA/CLIA).

Tabel 8: Overzicht van de gebruikte solid phase screeningsmethoden

Screeningsmethode	N	Positief	Negatief
ThermoScientific/Phadia	39	39	
Inova Diagnostics	9	9	
EUROIMMUN	5	4	1*
AESKU Diagnostics	2	2	
Immunodiagnosticssystem	2	2	
Diesse (bmd)	1	1	
Menarini Diagnostics	1		1*
ORGENTEC	1		1*

\* De gebruikte methode bevat geen CENP antigenen.

64 laboratoria (71.9%) voerden een **Immuno dot/line** uit:

- 27 van deze deelnemers voerden enkel een Immuno dot/line uit, drie van de 27 gebruikten twee Immuno dot/line methoden
- 33 laboratoria voerden een Immuno dot/line uit in combinatie met een screeningsmethode, drie van de 33 gebruikten twee Immuno dot/line methoden
- één laboratorium combineerde een Immuno dot/line met een ELISA/EIA/FEIA/CLIA
- drie deelnemers combineerden een Immuno dot/line met een screeningsmethode en een ELISA/EIA/FEIA/CLIA

54 deelnemers rapporteerden reactiviteit tegen ten minste CENP-B antistoffen. 24 onder hen rapporteerden ook reactiviteit tegen CENP-A antistoffen. Negen rapporteerden een positief resultaat voor CENP-A/B antistoffen. Eén laboratorium rapporteerde geen resultaat voor CENP antistoffen, ze gebruikten een kit (D-Tek) die geen CENP antigenen bevat.

Een aantal laboratoria rapporteerden tevens een (zwakke) reactiviteit tegen:

- gp210 antistoffen (3 laboratoria)
- Th/To antistoffen (6 laboratoria)
- SSB antistoffen (7 laboratoria)
- Ro52 antistoffen (1 laboratorium)
- AMA-M2 antistoffen (1 laboratorium)

23 deelnemers (25.8%) voerden een **ELISA/EIA/FEIA/CLIA** uit:

- 19 van deze deelnemers voerden een ELISA/EIA/FEIA/CLIA uit in combinatie met een screeningsmethode
- één laboratorium combineerde een ELISA/EIA/FEIA/CLIA met een Immuno dot/line
- drie deelnemers combineerden een ELISA/EIA/FEIA/CLIA met een screeningsmethode en een Immuno dot/line

22 deelnemers rapporteerden reactiviteit tegen CENP-B antistoffen. Eén laboratorium testte niet voor CENP antistoffen.

Eén laboratorium gebruikte een **microarray** methode (Menarini Diagnostics) en rapporteerde een positief resultaat voor CENP-B antistoffen.

Tabel 9: Overzicht van de resultaten van de identificatie van anti-ENA antistoffen per gebruikte methode

Immuno dot/line methode (N = 65)	N	CENP-B	CENP-A/B	CENP-A	Other	N	
EUROIMMUN	43	+				23 <sup>a</sup>	
		+		+		7	
		+					2 <sup>c</sup>
		+		+			
		+					1 <sup>c</sup>
					+		
		+				SSB ±	2
		+				SSB +	3
		+			+	gp210 +	3
		+				SSB ±, AMA-M2 ±	1
		+			+	SSB ±, Ro52 +	1
D-Tek	20 <sup>b</sup>	+		+		3	
			+			9 <sup>a</sup>	
		+		+	Th/To +	2	
		+		+	Th/To ±	3	
			+			1 <sup>c</sup>	
		+		+	Th/To ±		
		+		+		1 <sup>c</sup>	
			+				
AESKU Diagnostics	1	+				1	
Mikrogen Diagnostik	1	+				1	
<b>ELISA/EIA/FEIA/CLIA methode (N = 23)</b>	<b>N</b>	<b>CENP-B</b>	<b>N</b>				
Thermo Scientific/Phadia	21 <sup>b</sup>	+	20				
Immunodiagnostic systems	1	+	1				
Inova Diagnostics	1	+	1				
<b>Microarray (N = 1)</b>	<b>N</b>	<b>CENP-B</b>	<b>N</b>				
Menarini Diagnostics	1	+	1				

<sup>a</sup> Eén deelnemer combineerde twee verschillende Immunodot methoden (EUROIMMUN, D-Tek); <sup>b</sup> Eén labo gebruikte een D-Tek methode maar rapporteerde een negatief resultaat (geen CENP antigen aanwezig in methode); <sup>c</sup> Laboratoria die twee methoden van dezelfde fabrikant gebruikten.

## RESULTATEN: SN/19350

Voor staal SN/19350 werd enkel een IIF analyse gevraagd (didactisch staal).

90 laboratoria (97.8%) spoorden de aanwezigheid van ANA op met IIF. De twee laboratoria die geen IIF hebben uitgevoerd, gaven aan deze analyse uit te sturen naar een extern laboratorium.

84 deelnemers (93.3%) rapporteerden de **fluorescentie correct** als **positief**. Zes laboratoria rapporteerden een negatieve fluorescentie.

70 van deze 84 deelnemers (83.3%) rapporteerden een **correct cytoplasmatisch Golgi-achtig (AC-22) patroon**. Dertien deelnemers (15.5%) rapporteerden een cytoplasmatisch Golgi-achtig (AC-22) patroon samen met een nucleair gespikkeld (AC-4,5)/fijn gespikkeld (AC-4) patroon.

Eén laboratorium rapporteerde een cytoplasmatisch gespikkeld (AC-19,20) patroon.

Geen enkele deelnemer rapporteerde een mitotisch patroon.

Tabel 10: Overzicht van de gerapporteerde immunofluorescentie patronen

<b>Cytoplasmatisch patroon</b>	<b>Nucleair patroon</b>	<b>N</b>
Golgi-achtig (AC-22)	/	70
Golgi-achtig (AC-22)	Gespikkeld (AC-4,5)	8
Golgi-achtig (AC-22)	Fijn gespikkeld (AC-4)	5
Gespikkeld (AC-19,20)	/	1
Negatief	/	6

Resultaten aangeduid in het blauw werden als analytisch niet correct beschouwd.

Tabel 11: Overzicht van de bekomen patronen per gebruikte methode

Methodie	N	Patroon	N
EUROIMMUN - HEP-2010	30	Golgi-achtig (AC-22)	29
		Gespikkeld (AC-19,20)	1
Immuno Concepts - HEP-2000	22	Golgi-achtig (AC-22)	18
		Golgi-achtig (AC-22) + Nucleair gespikkeld (AC-4,5)	1
		Golgi-achtig (AC-22) + Nucleair fijn gespikkeld (AC-4)	1
		Negatief	2
Inova Diagnostics - HEP-2	22	Golgi-achtig (AC-22)	8
		Golgi-achtig (AC-22) + Nucleair gespikkeld (AC-4,5)	7
		Golgi-achtig (AC-22) + Nucleair fijn gespikkeld (AC-4)	4
		Negatief	3
Menarini Diagnostics - HEP-2	9	Golgi-achtig (AC-22)	9
Kallestad - HEP-2	5	Golgi-achtig (AC-22)	5
EUROIMMUN - HEP-2	1	Golgi-achtig (AC-22)	1
SCIMEDX - HEP-2	1	Negatief	1

Resultaten aangeduid in het blauw werden als analytisch niet correct beschouwd.



In de groep van laboratoria die minstens een correct cytoplasmatisch Golgi-achtig (AC-22) patroon rapporteerden (N = 83), hebben 59 laboratoria een titer vermeld. Twintig deelnemers voerden geen titratie uit en vier rapporteerden geen titer. Voor de methoden, waar  $\geq 6$  deelnemers een titer vermeld hebben, werd ook de mediaan berekend.

Tabel 12: Overzicht van de gerapporteerde titer en berekende mediaan voor de deelnemers die ten minste een correct AC-22 patroon rapporteerden

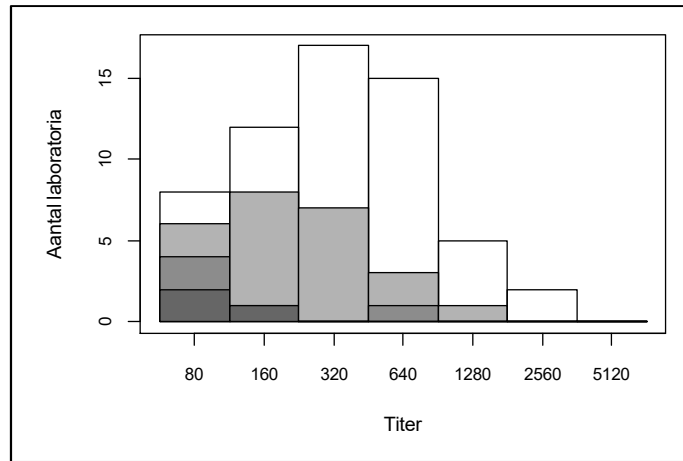
Substraat	N	Manuele aflezing			Automatisch aflezing <sup>g</sup>		
		N	Resultaat (aantal resultaten >1)	M	N	Resultaat (aantal resultaten >1)	M
Kallestad (BIO-RAD)	5	5 <sup>a</sup>	80, 100, 160, 320	-	-	-	-
Menarini Diagnostics	9	1	640	-	8 <sup>a</sup>	80, 160(5), 640	160
Immuno Concepts	20	16 <sup>bc</sup>	160(2), 320(5), 640(2), 1280, 2560	320	4 <sup>b</sup>	80, 80, 320	-
Inova Diagnostics	19	2 <sup>a</sup>	320	-	17 <sup>de</sup>	80, 80, 80, 160(2), 160, 320(2)	160
EUROIMMUN	30	19 <sup>f</sup>	160, 320(3), 640(8), 800, 1000, 1280(2), 2560	640	11 <sup>c</sup>	320(4), 640, 640, 1280	320

<sup>a</sup> Eén laboratorium voerde geen titratie uit; <sup>b</sup> Eén laboratorium rapporteerde geen titer; <sup>c</sup> Vier laboratoria voerden geen titratie uit; <sup>d</sup> Zeven deelnemers voerden geen titratie uit; <sup>e</sup> Twee laboratoria rapporteerden geen titer; <sup>f</sup> Twee laboratoria voerden geen titratie uit; <sup>g</sup> Bij de automatische aflezing zijn de geschatte titers aangeduid in het groen, de eindpunttiters in het oranje; in het zwart zijn deelnemers die deze informatie niet aanduiden; -: niet van toepassing

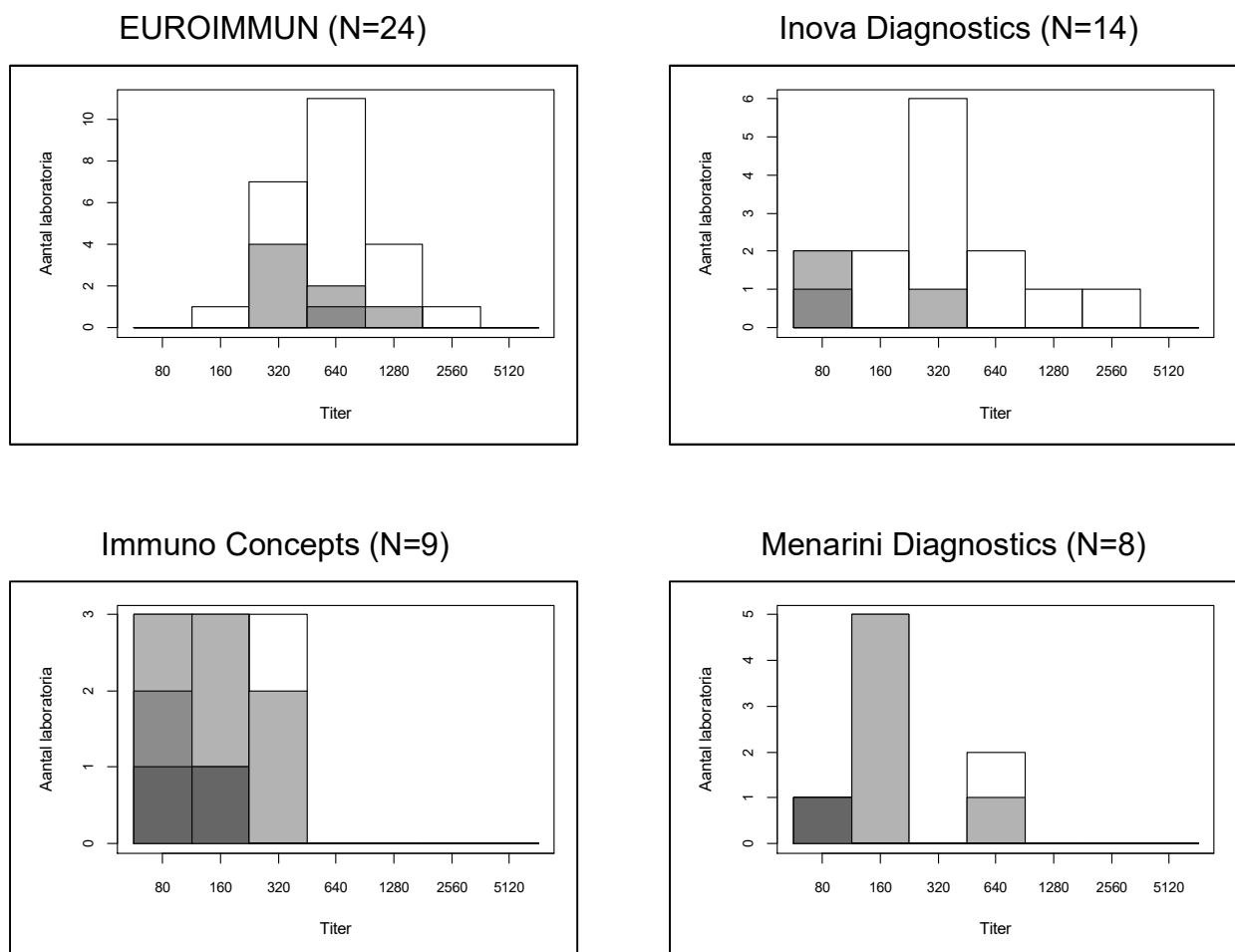
42 deelnemers (46.7%) gebruikten een automatische microscoop voor het aflezen van de fluorescentie. 40 (95.2%) rapporteerden minstens een correct Golgi-achtig patroon. 25 onder hen hebben een titer vermeld waarvan 19 een eindpunttiter en drie een geschatte titer. Twaalf gaven aan geen titratie uit te voeren.

48 laboratoria (53.3%) gebruikten een manuele microscoop voor het aflezen van de fluorescentie. 43 (89.6%) rapporteerden minstens een correct Golgi-achtig patroon, 34 onder hen hebben een titer vermeld en acht gaven aan geen titratie uit te voeren. Het valt op te merken dat 50% van de Inova Diagnostics gebruikers het bijkomend nucleair patroon (fijn) gespikkeld hebben geobserveerd.

Een tabel met de details ivm de staalvoorbereiding, het aflezen van de fluorescentie, het gebruikte systeem alsook de bekomen resultaten is beschikbaar in de bijlage (<https://www.sciensano.be/nl/biblio/eke-niet-infectieuze-serologie-globaal-rapport-bijlage-2022-3>).



Figuur 3: Globale titerverdeling voor de laboratoria die minstens een correct Golgi-achtig patroon rapporteerden. Resultaten bekomen met een automatische microscoop zijn aangeduid in het grijs: de donkerste grijs tint stelt de aantallen geschatte titers voor, de lichtste grijs tint die van de eindpunttiter, en de middelste grijs tint zijn de deelnemers die deze informatie niet hebben ingevuld.



Figuur 4: Verdeling van de titers voor de IIF methoden waarvoor  $\geq 6$  deelnemers, met minstens een correct Golgi-achtig patroon, een titer hebben vermeld. Resultaten bekomen met een automatische microscoop zijn aangeduid in het grijs: de donkerste grijs tint stelt de aantallen geschatte titers voor, de lichtste grijs tint die van de eindpunttiter, en de middelste grijs tint zijn de deelnemers die deze informatie niet hebben ingevuld.

### **Staal SN/19448**

Alle 90 deelnemers rapporteerden correct een positieve fluorescentie.

88 onder hen, 41 met een automatische microscoop en 47 met een manuele microscoop, rapporteerden een correct nucleair centromeer (AC-3) patroon.

Twee laboratoria rapporteerden, naast het centromeer (AC-3) patroon, een additioneel patroon: homogeen (AC-1) of kernmembraan (AC-11,12). Deze additionele patronen beantwoorden niet aan de vooropgestelde consensus en werden niet geobserveerd door de andere deelnemers in hun respectievelijke peergroep. Ook rapporteerden deze deelnemers geen overeenkomstige antistoffen in de anti-ENA analyse (cf Tabel 13 en verdere bespreking).

Geen enkele deelnemer observeerde een cytoplasmatisch of mitotisch patroon.

Alle 88 deelnemers die een anti-dsDNA analyse uitvoerden hebben een correct negatief resultaat gerapporteerd.

Van de 60 deelnemers die een anti-ENA screening met solid phase assay uitvoerden hebben 57 een positief resultaat gerapporteerd. De andere drie gebruikten een methode die geen CENP antigenen bevat.

Van de 64 deelnemers die een Immuno dot/line uitvoerden, rapporteerden 54 een reactiviteit tegen ten minste CENP-B en negen tegen CENP-A/B antistoffen. Het laboratorium dat een negatief resultaat rapporteerde gebruikte een kit die geen CENP antigenen bevat.

22 van de 23 laboratoria die een ELISA/EIA/FEIA/CLIA methode gebruikten, rapporteerden een positief resultaat voor CENP-B antistoffen. Eén laboratorium testte niet voor CENP antistoffen.

Eén laboratorium voerde een microarray uit en rapporteerde een reactiviteit tegen CENP-B antistoffen.

In totaal hebben alle deelnemers die een anti-ENA identificatie uitvoerden, behalve twee, reactiviteit tegen CENP-B of CENP-A/B antistoffen gerapporteerd met minstens één methode. De laboratoria die een methode gebruikten die geen CENP antigenen bevat zijn niet foutief, ze moeten zich echter wel bewust zijn van deze informatie en in routine moet dit ook gerapporteerd worden.

Globaal gezien rapporteerden alle deelnemers ten minste een correcte centromeer IIF patroon en/of CENP-B/CENP-A/B antistoffen.

In dit specifieke geval is het observeren van het IIF centromeer patroon of CENP-B/CENP-A/B antistoffen zonder IIF patroon voldoende om de juiste richting uit te gaan in de diagnosestelling. Het is echter nodig om het IIF resultaat te correleren met de klinische context en het prozone effect uit te sluiten.

De additionele antistoffen (Th/To, gp210, SSB, Ro52, AMA-M2) werden meestal met een borderline/zwak positieve reactiviteit aangetoond door enkele laboratoria. Voor de Th/To antistoffen bijvoorbeeld werd enkel een zwakke reactiviteit aangetoond bij gebruik van de D-Tek methode. Deze zwak positieve resultaten, al dan niet in lijn met het ANA IIF resultaat, dienen steeds met zekere voorzichtigheid en in het kader van de kliniek van de patiënt te worden geïnterpreteerd, gezien de lage specificiteit van deze testresultaten voor bepaalde dot en multiplex testen (1)

Tabel 13: Overzicht van de gerapporteerde IIF en anti-ENA resultaten (N=91\*)

<b>IIF Patroon</b>	<b>Resultaat anti-ENA</b>	<b>N</b>
Centromeer	CENP-B	42
Centromeer	CENP-A/B	8
Centromeer	CENP-A, CENP-B	9
Centromeer	Screening positief	5
Centromeer	/	2
Centromeer	CENP-A, CENP-B + CENP-A/B	1
Centromeer	CENP-A, CENP-B + CENP-B	4
Centromeer	CENP-B, SSB	5
Centromeer	CENP-A, CENP-B, Th/To	4
Centromeer	CENP-A, CENP-B, Th/To + CENP-A/B	1
Centromeer	CENP-A, CENP-B, Th/To + CENP-B	1
Centromeer	CENP-A, CENP-B, SSB, Ro52	1
Centromeer	CENP-A, CENP-B, gp210	3
Centromeer + Homogeen	CENP-B	1
Centromeer + kernmembraan	CENP-B, SSB, AMA-M2	1
Centromeer	Negatief (niet in kit)	1
Centromeer	Niet getest	1
/	CENP-B	1

\*1 labo geen IIF en anti-ENA uitgevoerd

In het algemeen, is het bij het uitvoeren van een IIF analyse gevolgd door bevestigingsproeven zoals een anti-ENA en anti-dsDNA analyse echter steeds noodzakelijk om het geheel van resultaten te bekijken, de IIF beelden zelf te beoordelen (en zich niet te berusten op de resultaten van de automatische microscoop) en de anti-ENA resultaten terug te koppelen naar het bekomen patroon. Dit impliceert echter niet dat het ANA IIF patroon mag worden aangepast louter op basis van de gedetecteerde antistoffen. Bij discordantie in routine is het belangrijk, zeker bij lage titers en speciale antistoffen, te correleren met het klinisch beeld, eventuele therapie, en een aanvullende commentaar toe te voegen aan het rapport.

### **Staal SN/19350**

84 van de 90 deelnemers rapporteerden correct een positieve fluorescentie. De zes laboratoria die een negatieve fluorescentie rapporteerden zijn, bij vergelijking met de andere laboratoria in hun respectievelijke peergroep, in de minderheid.

70 van de 84 rapporteerden een correct cytoplasmatisch Golgi-achtig patroon. Dertien laboratoria observeerden naast een Golgi-achtig patroon ook een nucleair (fijn) gespikkeld patroon. Een studie over 10 jaar (2) toont aan dat anti-Golgi antilichamen klinisch niet geassocieerd zijn met de diagnose van een systemische auto-immune ziekte. Dit didactisch staal werd verstuurd ter evaluatie van de detectie en rapportering van het competent level patroon AC-22 (3).

40 en 43 van de deelnemers rapporteerden minstens een correct Golgi-achtig patroon gebruik makend van respectievelijk een automatische of manuele microscoop.

Eén deelnemer rapporteerde een cytoplasmatisch gespikkeld patroon. Dit is niet correct.

Geen enkele deelnemer observeerde een mitotisch patroon.

### **Referenties**

- (1) Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020 Dec;16(12):715-726. doi: 10.1038/s41584-020-00522-w. Epub 2020 Nov 5. PMID: 33154583.
- (2) Vermeersch P, Van den Bergh K, Blockmans D, Westhovens R, Bossuyt X. Anti-Golgi autoantibodies are not clinically associated with systemic autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis.* 2011 Jan;70(1):234-5. doi: 10.1136/ard.2009.126391. Epub 2010 Jun 4. PMID: 20525841.
- (3) <https://www.anapatterns.org/trees-2021.php>

Er wordt de deelnemers ook gevraagd om aandacht te besteden aan het correct en volledig invullen van de antwoordformulieren opdat alle informatie voor een volledige evaluatie en rapportering aanwezig zou zijn.

Op pagina 4 van het antwoordformulier wordt, voor elke groep van patronen (nucleair, cytoplasmatisch, mitotisch) de bekomen titer en cut-off gevraagd voor het geobserveerde patroon. Men kan ook aanduiden indien men niet titreert.

CUT-OFF : 1/.....	TITER : 1/.....	<input type="checkbox"/> Niet uitgevoerd
-------------------	-----------------	--

De tabel op pagina 3 heeft hierop betrekking. Er wordt nl gevraagd welk type titer hier werd gerapporteerd door de gebruikers van een automatische microscoop.

Gebruikers van een manuele microscoop hoeven dus enkel het bovenste deel van de tabel in te vullen:

<b>Staal applicatie en incubatie</b> <input type="checkbox"/> Manueel <input checked="" type="checkbox"/> Geautomatiseerd Screeningsdilutie : 1/40. Naam apparaat: ..BEELINE..... Naam firma: ..bmd.....	<b>Aflezings van de fluorescentie</b> <input checked="" type="checkbox"/> Manueel <input type="checkbox"/> Geautomatiseerd (CAD-systeem) → gelieve gedetailleerde info hieronder in te vullen Naam microscoop: ..Olympus CX43..... Firma microscoop : ..Olympus.....
<del>           Gerapporteerde titer (zie p. 4 &amp; 5/9) is :            - geschatte titer<sup>a</sup> <input type="checkbox"/> o.b.v. screeningsdilutie : 1/.....            - eindpunt titer<sup>b</sup> <input type="checkbox"/>  <sup>a</sup> Gebaseerd op de screeningsdilutie en berekend door het CAD-systeem  <sup>b</sup> Gebaseerd op seriële dilutie en afgelezen o.b.v. het CAD-systeem         </del>	

Gebruikers van een automatische microscoop vullen beide delen in:

<b>Staal applicatie en incubatie</b> <input type="checkbox"/> Manueel <input checked="" type="checkbox"/> Geautomatiseerd Screeningsdilutie : 1/80. Naam apparaat: ..QUANTALyser..... Naam firma: ..Inova Diagnostics.....	<b>Aflezings van de fluorescentie</b> <input type="checkbox"/> Manueel <input checked="" type="checkbox"/> Geautomatiseerd (CAD-systeem) → gelieve gedetailleerde info hieronder in te vullen Naam microscoop: ..NOVAview..... Firma microscoop : ..Inova Diagnostics.....
Gerapporteerde titer (zie p. 4 & 5/9) is : - geschatte titer <sup>a</sup> <input type="checkbox"/> o.b.v. screeningsdilutie : 1/..... - eindpunt titer <sup>b</sup> <input checked="" type="checkbox"/> <sup>a</sup> Gebaseerd op de screeningsdilutie en berekend door het CAD-systeem <sup>b</sup> Gebaseerd op seriële dilutie en afgelezen o.b.v. het CAD-systeem	

<b>Staal applicatie en incubatie</b> <input type="checkbox"/> Manueel <input checked="" type="checkbox"/> Geautomatiseerd Screeningsdilutie : 1/80. Naam apparaat: ..Zenit.PRO..... Naam firma: ..Menarini Diagnostics.....	<b>Aflezings van de fluorescentie</b> <input type="checkbox"/> Manueel <input checked="" type="checkbox"/> Geautomatiseerd (CAD-systeem) → gelieve gedetailleerde info hieronder in te vullen Naam microscoop: ..Zenit.PRO..... Firma microscoop : ..Menarini Diagnostics.....
Gerapporteerde titer (zie p. 4 & 5/9) is : - geschatte titer <sup>a</sup> <input checked="" type="checkbox"/> o.b.v. screeningsdilutie : 1/80..... - eindpunt titer <sup>b</sup> <input type="checkbox"/> <sup>a</sup> Gebaseerd op de screeningsdilutie en berekend door het CAD-systeem <sup>b</sup> Gebaseerd op seriële dilutie en afgelezen o.b.v. het CAD-systeem	

---

**EINDE**

---

© Sciensano, Brussel 2023.

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.