

Automatisatie van indirecte immuunfluorescentie voor de bepaling van ANCA: is het de moeite waard?

Critically Appraised Topic



Simon Degandt – Dr. Helena Devos

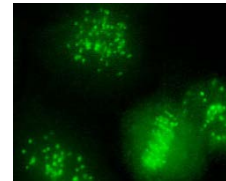
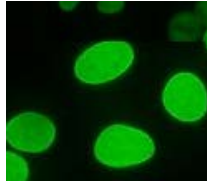
16.02.2016

Clinical/Diagnostic scenario

- Automatisatie indirecte immunofluorescentie (IIF) voor bepaling van **ANA**
- Uit een eerste korte validatie bleek dat huidige systeem niet voldeed
→ vraag 1: Zijn de geautomatiseerde alternatieven voor IIF bij **ANCA** voldoende performant om de huidige, manuele methode te vervangen?
- Tijdens validatie werd ook manier van ANCA-bepaling in vraag gesteld
→ vraag 2 : Wat zijn de huidige richtlijnen rond de bepaling van ANCA?

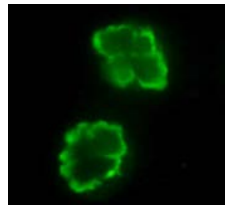
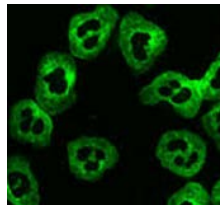
ANA of ANF (antinucleaire antistoffen)

- Antistoffen gericht tegen onderdelen van de eigen celkern
- Bij patiënten met bepaalde auto-immuunziektes (lupus, Sjögren...)
- Veel verschillende patronen (homogeen, gespikkeld, centromeer...)



ANCA (antineutrofiele cytoplasmatische antistoffen)

- Antistoffen gericht tegen neutrofielen
- Bij patiënten met vasculitis
- 2 patronen: cytoplasmatisch en perinucleair
- 2 antigenen: MPO en PR3



Vraagstelling

1) Wat zijn de huidige richtlijnen rond de bepaling van ANCA?

→ Luik 1: literatuurstudie

2) Zijn de geautomatiseerde alternatieven voor IIF bij ANCA voldoende performant om de huidige, manuele methode te vervangen?

→ Luik 2: methodevergelijking

Luik 1: literatuurstudie

- A. Antineutrofiele cytoplasmatische antistoffen (ANCA)
- B. ANCA geassocieerde ziektebeelden
 - Vasculitis
 - Inflammatoire darmziekten
 - Andere
- C. ANCA bepaling
 - Indirecte immunofluorescentie (IIF)
 - ELISA/FEIA/immunodot
- D. Richtlijnen
 - Screening/confirmatie
 - Rapportering
 - Follow-up
- E. Terugbetaling

ANCA

1982

Davies et al.

Toevallige vondst bij bestuderen van ANA bij glomerulonefritis

1^{ste} beschrijving

1985

van der Woude et al.

**Associatie
cANCA/Wegener**

1988

Falk & Jennette

- **Perinucleair patroon**
- **Associatie met vasculitis**
- **Associatie met MPO**

1990

Falk & Jennette
Jenne et al.

**Associatie
cANCA/PR3**

Antineutrofiele cytoplasmatische antistoffen (ANCA)

ANCA

- Voornamelijk IgG antistoffen
- Gericht tegen bestanddelen van de primaire granules in lysosomen van neutrofielen

Associatie met vasculitis

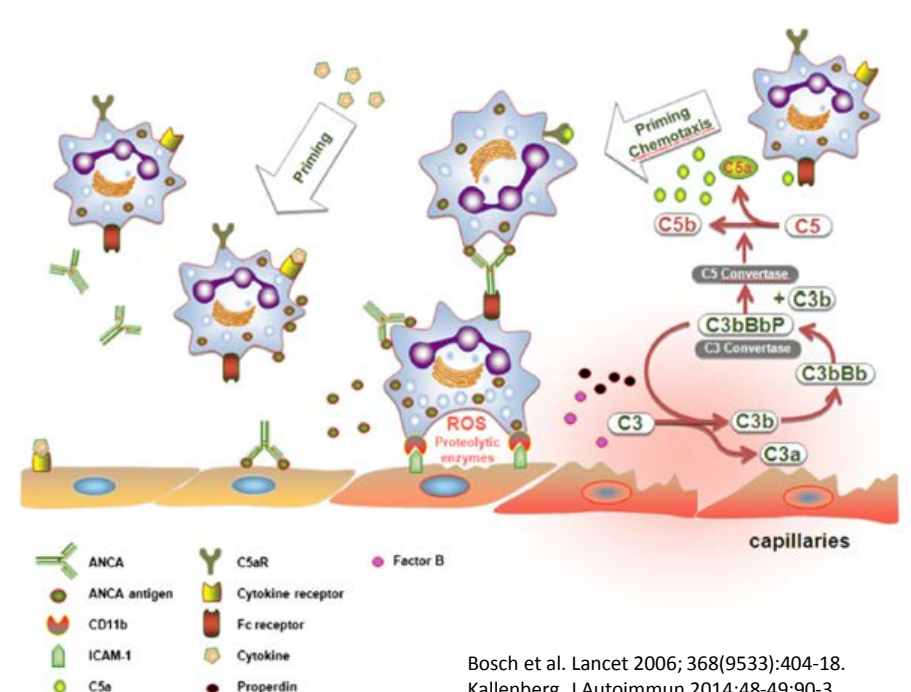
- Ook causaal verband aangetoond (via muizenexperimenten)

Ontstaan ANCA's: 2 hypothesen

- "Autoantigen complementariteit"
- Dysfunctionele apoptose

Voorbeschikkende factoren

- Genen
 - PR3: HLA-DP, SERPINA1 en PRTN3
 - MPO: HLA-DQ
- Silica
- Medicatie (propylthiouracil en hydralazine)



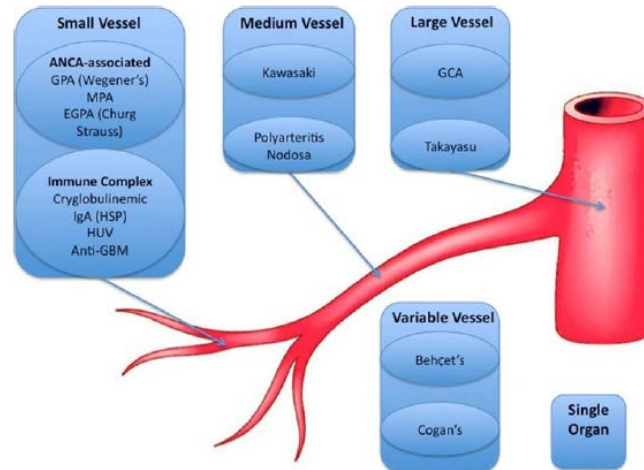
Vasculitis

Vasculitis

= heterogene groep van systeemziekten die gekenmerkt wordt door inflammatie van bloedvaten resulterend in eindorgaanschade.

Classificatie

- 1990 American College of Rheumatology (ACR)
- 1994 Chapel Hill Consensus Conference (CHCC)
- 2007 European Medicines Agency (EMA)
- 2012 CHCC update: ANCA-geassocieerde vasculitis (AAV)



Granulomatose met polyangiitis (GPA)

- Granulomatose van Wegener (oude naam)
- Granulomateuze en necrotiserende inflammatoire letsels
- Eindorganen: luchtwegen, NKO, nieren, ogen, hart, darmen...
- Voornamelijk ANCA gericht tegen PR3

Microscopische polyangiitis (MPA)

- Pauci-immune necrotiserende vasculitis, zonder granuloma
- Nier-aantasting (90%)
- 60% MPO positief; 30% PR3 positief

Eosinofiele granulomatose met polyangiitis (EGPA)

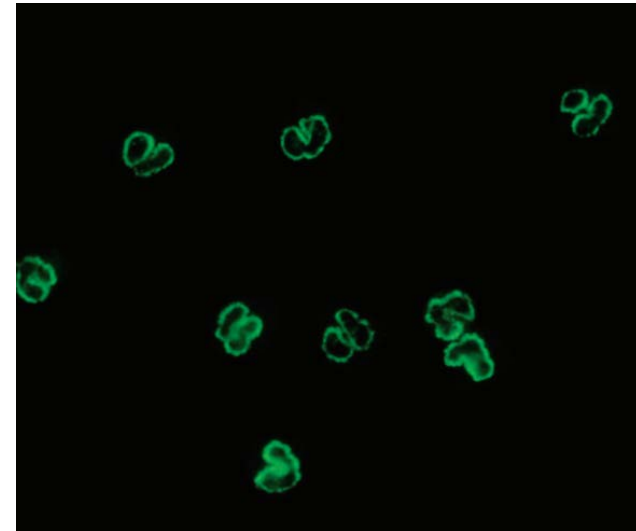
- Churg-Strauss syndroom (oude naam)
- Astma, hypereosinofilie (>1500/ μ L of >10%) en transiënte pulmonaire infiltraties
- Typische histologische kenmerken: extravasculaire granuloma's en eosinofiel-rijke infiltraten in de luchtwegen, samen met necrotiserende vasculitis
- 60% ANCA positief, waarvan 30% MPO en 30% PR3

🏥 Inflammatoire darmziekten (IBD)

- M. Crohn: 5-25% ANCA positief
- Colitis ulcerosa: 60-80% ANCA positief
- IIF: meestal perinucleair patroon (zonder nucleaire extensie)
- Altijd MPO/PR3 negatief! (doelwitantigen niet gekend)
- ANCA geen nut bij diagnostiek van IBD
- Eventueel voor “indeterminate colitis”, samen met ASCA

🏥 Andere

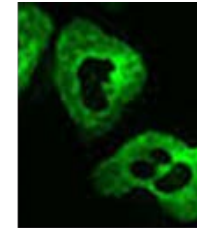
- primaire scleroserende cholangitis: 87% ANCA positief
- auto-immune hepatitis type I: 90% ANCA positief
- Felty syndroom: 90% ANCA positief
- Altijd MPO/PR3 negatief!



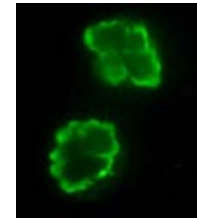
Indirecte immunofluorescentie (IIF)

- Ethanol-gefixeerde neutrofielen
- Formaline-gefixeerde neutrofielen
- (Methanol-gefixeerde neutrofielen)

- Cytoplasmatisch patroon (cANCA)
 - Granulaire fluorescentie van cytoplasma, vaak met interlobulaire accentuatie
 - Meestal PR3+
 - Formaline: identiek als ethanol(grovere fluorescentie)
 - Methanol: identiek als ethanol
- Perinucleair patroon (pANCA)
 - Fluorescentie rond de kernlobben, waarbij centrum van de kern meestal gespaard blijft
 - Meestal MPO+
 - Formaline: c-patroon
 - Methanol: negatief
- Atypisch patroon (aANCA)
 - Zowel pANCA en cANCA kenmerken, vooral een sterke perinucleaire fluorescentie
 - MPO/PR3-
 - Formaline: negatief
 - Methanol: identiek als ethanol
- Atypisch cytoplasmatisch patroon
 - Cytoplasmatische fluorescentie, maar eerder diffuus en homogeen
 - MPO/PR3-
 - BPI+ (chronische infecties)



cANCA



pANCA



aANCA

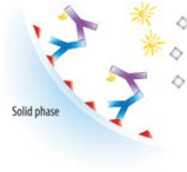


Atypische
cANCA

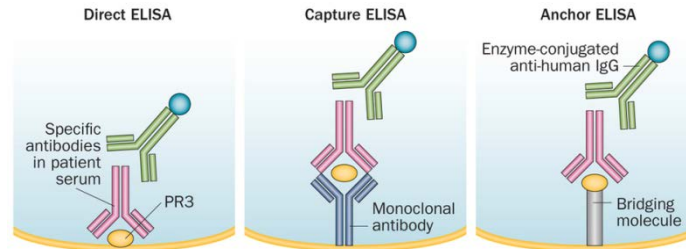
ANCA bepaling

Vaste fase assays voor MPO en PR3

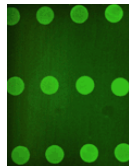
- FEIA (fluorescence enzyme immunoassay)



- ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)



- Immunodots



International Consensus Statement (ICS) 1999 en 2003

[Am J Clin Pathol](#). 1999 Apr;111(4):507-13.

International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA)

Savage J¹, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, Hagen EC, Jayne D, Jennette JC, Paspaliaris B, Pollock W, Pusey C, Savage CO, Silvestrini R, van der Woude F, Wieslander J, Wiik A.

Immunopathology / ADDENDUM TO CONSENSUS STATEMENT ON TESTING AND REPORTING OF ANCA

Addendum to the International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies

Quality Control Guidelines, Comments, and Recommendations
for Testing in Other Autoimmune Diseases

*Judy Savage, FRACP, FRCPA, PhD, Wayne Dimech, FAIMS, Marvin Fritzler, MD,
James Goeken, MD, E. Chris Hagen, MD, J. Charles Jennette, MD, Rob McEvoy, PhD,
Charles Pusey, MD, Wendy Pollock, Michelle Trevisin, Allan Wiik, MD, and Richard Wong,
FRACP, FRCPA, for the International Group for Consensus Statement on Testing and Reporting
of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA)*



Screening/confirmatie

- Screening: IIF op ethanol-gefixeerde neutrofielen
- Confirmatie: PR3/MPO

- Geen screening met ELISA: te weinig evidentie
- IIF **niet** op formaline-gefixeerde neutrofielen
 - Soms vals-negatief bij MPO-ANCA

Rapportering

- Standaardantwoorden
- Geen IIF-titers, wel MPO/PR3 concentratie (semi-kwantitatief!)
- Atypisch cytoplasmatisch patroon apart vermelden
- Alle perinucleaire patronen (met of zonder nucleaire extensie) samen
- Bij ANA-interferentie mag er geen specifiek patroon gerapporteerd worden



Follow-up

- ICS: opvolging met MPO/PR3, niet met titer
- Verstockt et al (2015):
 - in follow-up GPA, PR3 enkel bepalen indien klinisch suggestief voor herval (niet bv jaarlijks)
- meta-analyse van Schmidt en van der Woude (2004):
 - Geen herval bij 42% van de patiënten met ANCA-stijging op IIF
 - Geen herval bij 25% van de patiënten met MPO/PR3-stijging

- Een groot deel hervalt niet
- Geen statistisch krachtige benefit-risk trials
- Toxiciteit bij immunosuppressieve therapie



enkel behandelen bij ANCA-stijging als klinisch suggestief is

Terugbetaling België

556371	556382	Opzoeken van anti-neutrofielen-cytoplasma antilichamen	B 300	(Maximum 1)	
556393	556404	Titreren van anti-neutrofielen - cytoplasma antilichamen	B 400	(Maximum 1)	(Diagnoseregul 64)
556570	556581	Opsporen van anti-PR3 of anti-MPO antilichamen	B 350	(Maximum 2)	(Diagnoseregul 64)

(Diagnoseregul 64: Mag slechts aan het RIZIV aangerekend worden als het opzoeken van anti-neutrofiele cytoplasma antistoffen (ANCA) positief is)

Luik 2: methodevergelijking

A. Opzet

B. Resultaat

- Overeenkomst/agreement
- Sensitiviteit, specificiteit en LR
- Patroonherkenning
- Titraties
- Precisie
- Varia

Huidige situatie:

- 1) Screening: IIF op ethanol- en formaline-gefixeerde neutrofielen (1/20)
- 2) Indien positief:
 - Titratie: IIF op ethanol-gefixeerde neutrofielen (tot 1/1280)
 - Confirmatie: PR3/MPO
- IIF: pipetteerautomaat (Beeline 220s, HTZ), slides (Accusay ANCA, Launch Diagnostics) en LED fluorescentiemicroscop (Lab A.1 Axio, Zeiss), 2 aflezers
- MPO/PR3: ELIA (ImmunoCAP, Phadia)

4 geautomatiseerde IIF-systemen voor ANCA:

- Aesku: Helios
- Euroimmun: EUROPattern en IF Sprinter
- Inova Diagnostics/Werfen: NOVA View, QUANTA-Lyser en QUANTA Link
- Menarini: Zenit G-Sight en Zenit Up



Aesku (BMD)



Helios

Euroimmun (Biognost)



EUROPattern



IF Sprinter

Inova Diagnostics / Werfen



NOVA View



QUANTA-Lyser



QUANTA Link



Menarini



Zenit G-Sight



Zenit Up

Staalverzameling (n = 86):

- 27 stalen waren van patiënten met een bewezen AAV (15x GPA, 9x MPA, 3x EGPA)
- 17 stalen van patiënten met een andere aandoening zoals IBD, auto-immune hepatitis, niet-ANCA geassocieerde vasculitis, andere reumatologische aandoeningen en fibromyalgie/CVS (diseased controls)
- 15 stalen van gezonde vrijwilligers (healthy volunteers)
- 27 opeenvolgende stalen uit de routine

Aflezing:

- Toestel: interpretatie door toestel-software met eventuele patroonherkenning
- Digitaal: interpretatie door 2 aflezers op het scherm van digitale microscoop
- Manueel: interpretatie door 2 aflezers onder standaard LED fluorescentiemicroscoop

Patronen:

- "cANCA": cytoplasmatisch patroon op ethanol en positief op formaline
- "pANCA": perinucleair patroon op ethanol en positief op formaline
- "Atypische ANCA/ANA interferentie": positief op ethanol en negatief op formaline
- "Negatief": negatief op ethanol

Overeenkomst/agreement

Helios

COHEN KAPPA	Huidige methode	Helios Toestel	Helios Digitaal	Helios Manueel
Huidige methode	/	0,63	0,83	0,69
Helios Toestel	0,63	/	0,59	0,81
Helios Digitaal	0,83	0,59	0,76	0,72
Helios Manueel	0,69	0,81	0,72	/

Value of K	Strength of agreement
< 0.20	Poor
0.21 - 0.40	Fair
0.41 - 0.60	Moderate
0.61 - 0.80	Good
0.81 - 1.00	Very good

Overeenkomst/agreement

EUROPattern

COHEN KAPPA	Huidige methode	EUROPattern Toestel	EUROPattern Digitaal	EUROPattern Manueel
Huidige methode	/	0,76	0,69	0,71
EUROPattern Toestel	0,76	/	0,74	0,75
EUROPattern Digitaal	0,69	0,74	0,86	0,71
EUROPattern Manueel	0,71	0,75	0,71	/

Value of K	Strength of agreement
< 0.20	Poor
0.21 - 0.40	Fair
0.41 - 0.60	Moderate
0.61 - 0.80	Good
0.81 - 1.00	Very good

Overeenkomst/agreement

NOVA View

COHEN KAPPA	Huidige methode	NovaView toestel	NovaView digitaal	NovaView manueel
Huidige methode	/	0,76	0,78	0,82
NovaView toestel	0,76	/	0,94	0,81
NovaView digitaal	0,78	0,94	0,87	0,81
NovaView manueel	0,82	0,81	0,81	/

Value of K	Strength of agreement
< 0.20	Poor
0.21 - 0.40	Fair
0.41 - 0.60	Moderate
0.61 - 0.80	Good
0.81 - 1.00	Very good

Overeenkomst/agreement

Zenit G-Sight

COHEN KAPPA	Huidige methode	G-Sight Toestel	G-Sight Digitaal	G-Sight Manueel
Huidige methode	/	0,57	0,75	0,67
G-Sight Toestel	0,57	/	0,75	0,52
G-Sight Digitaal	0,75	0,75	0,87	0,65
G-Sight Manueel	0,67	0,52	0,65	/

Value of K	Strength of agreement
< 0.20	Poor
0.21 - 0.40	Fair
0.41 - 0.60	Moderate
0.61 - 0.80	Good
0.81 - 1.00	Very good

Overeenkomst/agreement

Inter-observer agreement

COHEN KAPPA	Helios (Aesku)	EUROPattern (EuroImmun)	NovaView (Inova/Werfen)	G-Sight (Menarini)
Inter-observer (digitale aflezing)	0,76	0,86	0,87	0,87

Value of K	Strength of agreement
< 0.20	Poor
0.21 - 0.40	Fair
0.41 - 0.60	Moderate
0.61 - 0.80	Good
0.81 - 1.00	Very good

Sensitiviteit, specificiteit en LR

		Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	+LR	-LR
Huidige methode		88,9	87,5	7,11	0,13
Helios	Toestel	55,6	96,9	17,78	0,46
	Digitaal	88,9	93,8	14,22	0,12
	Manueel	59,3	93,8	9,48	0,43
EUROPattern	Toestel	88,0	100	$+\infty$	0,12
	Digitaal	70,4	100	$+\infty$	0,30
	Manueel	77,8	96,9	24,89	0,23
NOVA View	Toestel	75,0	93,1	10,88	0,27
	Digitaal	74,1	93,3	11,11	0,28
	Manueel	81,5	96,7	24,44	0,19
Zenit G-Sight	Toestel	63,0	96,9	20,15	0,38
	Digitaal	77,8	100	$+\infty$	0,22
	Manueel	81,5	93,8	13,04	0,20

Sensitiviteit, specificiteit en LR

		Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	+LR	-LR
Huidige methode		88,9	87,5	7,11	0,13
Helios	Toestel	55,6	96,9	17,78	0,46
	Digitaal	88,9	93,8	14,22	0,12
	Manueel	59,3	93,8	9,48	0,43
EUROPattern	Toestel	88,0	100	$+\infty$	0,12
	Digitaal	70,4	100	$+\infty$	0,30
	Manueel	77,8	96,9	24,89	0,23
NOVA View	Toestel	75,0	93,1	10,88	0,27
	Digitaal	74,1	93,3	11,11	0,28
	Manueel	81,5	96,7	24,44	0,19
Zenit G-Sight	Toestel	63,0	96,9	20,15	0,38
	Digitaal	77,8	100	$+\infty$	0,22
	Manueel	81,5	93,8	13,04	0,20

Sensitiviteit, specificiteit en LR

toestel-interpretatie	Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	+LR	-LR
Helios	55,6	96,9	17,78	0,46
EUROPattern	88,0	100	N/A	0,12
NOVA View	75,0	93,1	10,88	0,27
Zenit G-Sight	63,0	96,9	20,15	0,38

Sensitiviteit, specificiteit en LR

		Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	+LR	-LR
Huidige methode		88,9	87,5	7,11	0,13
Helios	Toestel	55,6	96,9	17,78	0,46
	Digitaal	88,9	93,8	14,22	0,12
	Manueel	59,3	93,8	9,48	0,43
EUROPattern	Toestel	88,0	100	$+\infty$	0,12
	Digitaal	70,4	100	$+\infty$	0,30
	Manueel	77,8	96,9	24,89	0,23
NOVA View	Toestel	75,0	93,1	10,88	0,27
	Digitaal	74,1	93,3	11,11	0,28
	Manueel	81,5	96,7	24,44	0,19
Zenit G-Sight	Toestel	63,0	96,9	20,15	0,38
	Digitaal	77,8	100	$+\infty$	0,22
	Manueel	81,5	93,8	13,04	0,20

Sensitiviteit, specificiteit en LR

		Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	+LR	-LR
Huidige methode		88,9	87,5	7,11	0,13
Helios	Toestel	55,6	96,9	17,78	0,46
	Digitaal	88,9	93,8	14,22	0,12
	Manueel	59,3	93,8	9,48	0,43
EUROPattern	Toestel	88,0	100	$+\infty$	0,12
	Digitaal	70,4	100	$+\infty$	0,30
	Manueel	77,8	96,9	24,89	0,23
NOVA View	Toestel	75,0	93,1	10,88	0,27
	Digitaal	74,1	93,3	11,11	0,28
	Manueel	81,5	96,7	24,44	0,19
Zenit G-Sight	Toestel	63,0	96,9	20,15	0,38
	Digitaal	77,8	100	$+\infty$	0,22
	Manueel	81,5	93,8	13,04	0,20

Sensitiviteit, specificiteit en LR

Opmerkingen:

- Fluorescentie-patronen degraderen snel op slides van Menarini
- EUROPattern: extra informatie met MPO- en PR3-dots

		EUROPattern Digitaal		
		Pos	Neg	TOTAAL
Ziektebeeld	Mét dots			
	Pos	23	4	27
	Neg	0	32	32
TOTAAL		23	36	59

		EUROPattern Digitaal		
		Pos	Neg	TOTAAL
Ziektebeeld	Zónder dots			
	Pos	19	8	27
	Neg	0	32	32
TOTAAL		19	40	59

Sensitiviteit (%)	85,2
Specificiteit (%)	100,0

+LR	N/A
-LR	0,15

Sensitiviteit (%)	70,4
Specificiteit (%)	100,0

+LR	N/A
-LR	0,30

- De patiëntengroepen zijn klein in deze vergelijking
- AAV-stalen voornamelijk follow-up (3 diagnose-stalen)

Patroonherkenning

Helios	Correcte patroonherkenning (cANCA/pANCA)
Toestel	100,0
Digitaal	95,8
Manueel	100,0

EUROPattern	Correcte patroonherkenning (cANCA/pANCA)
Toestel	83,3
Digitaal	100,0
Manueel	90,5

NOVA View	Correcte patroonherkenning (cANCA/pANCA)
Toestel	100,0
Digitaal	100,0
Manueel	100,0

Zenit G-Sight	Correcte patroonherkenning (cANCA/pANCA)
Toestel	76,5
Digitaal	95,2
Manueel	86,4

Helios

Huidige methode	Digitale aflezing	Toestel interpretatie
Spearman rho coëfficiënt	0,71	0,82
>1 titer verschil	53%	27%
Titer hoger/lager	overwegend hoger	eerder hoger

EUROPattern

Huidige methode	Digitale aflezing
Spearman rho coëfficiënt	0,80
>1 titer verschil	0
Titer hoger/lager	/

AUTOTITER	Digitale aflezing	Huidige methode
Spearman rho coëfficiënt	0,12	0,4
>1 titer verschil	29%	46%
Titer hoger/lager	/	/

NOVA View

Huidige methode	Digitale aflezing	Toestel interpretatie
Spearman rho coëfficiënt	0,76	0,84
>1 titer verschil	36%	15%
Titer hoger/lager	/	/

AUTOTITER	Digitale aflezing	Toestel interpretatie	Huidige methode
Spearman rho coëfficiënt	0,88	0,90	0,75
>1 titer verschil	23%	8%	37%
Titer hoger/lager	hoger	hoger	hoger

INTENSITEIT (LIU)	Digitale aflezing	Toestel interpretatie	Huidige methode
Spearman rho coëfficiënt	0,90	0,89	0,86

Zenit G-Sight

Huidige methode	Digitale aflezing	Toestel interpretatie
Spearman rho coëfficiënt	0,86	0,84
>1 titer verschil	14%	42%
Titer hoger/lager	overwegend lager	overwegend lager

INTENSITEIT (%)	Digitale aflezing	Toestel interpretatie	Huidige methode
Spearman rho coëfficiënt	0,77	0,86	0,33

NOVA View

ETHANOL

	NC (firma)	PCp firma	PCc firma	PCp (patiënt)	PCc (patiënt)
aantal	5	5	5	5	6
gemiddelde	2,4	1035,2	1023,8	804	319,3
SD	0,55	133,84	284,83	145,52	73,92
CV(%)	22,8	12,9	27,8	18,1	23,1

FORMALINE

	NC (firma)	PCp firma	PCc firma	PCp (patiënt)	PCc (patiënt)
aantal	4	4	4	5	8
gemiddelde	1,75	1082,25	784	505,4	340,6
SD	0,50	424,96	412,99	190,58	97,77
CV(%)	28,6	39,3	52,7	37,7	28,7

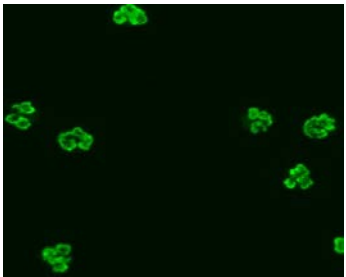
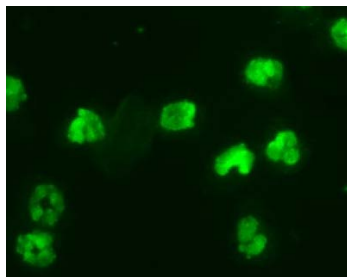
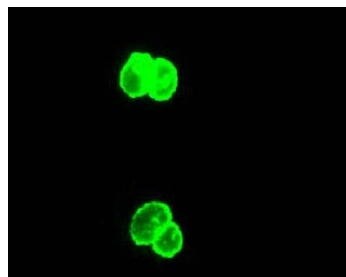
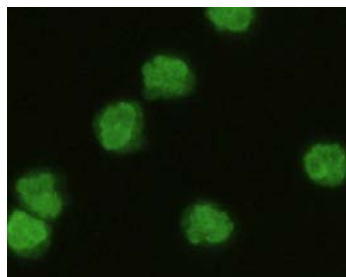
Zenit G-Sight

ETHANOL

	NC (firma)	PCp firma	PCc firma	PCp (patiënt)	PCc (patiënt)
aantal	7	7	7	4	4
gemiddelde	0	99,10571429	90,20428571	57,16	37,0
SD	0,00	2,37	13,29	11,13	9,40
CV(%)	/	2,4	14,7	19,5	25,4

FORMALINE

	NC (firma)	PCp firma	PCc firma	PCp (patiënt)	PCc (patiënt)
aantal	4	4	4	4	4
gemiddelde	1,84	72,61	77,32	50,09	30,5
SD	2,12	14,52	7,59	1,78	5,00
CV(%)	115,5	20,0	9,8	3,6	16,4

	Helios	EUROPattern	NOVA View	Zenit G-Sight
Inzetten stalen	<p>Alles in 1 Eenvoudig in te zetten (wizard)</p>	<p>Pipetteerautomaat: IF Sprinter Mogelijkheid om 50 slides te laden op microscoop</p>	<p>Pipetteerautomaat: QUANTA-Lyser Barcode slides Mogelijkheid om slechts 4 slides te laden op microscoop</p>	<p>Pipetteerautomaat: Zenit Up (groot en lawaai) Mogelijkheid om 8 slides te laden op microscoop Trage scanning door microscoop</p>
Software	<p>Duidelijk en eenvoudig Geen patroonherkenning, wel pos/neg Geen autotiter Geen intensiteit Geen patiëntendatabank</p>	<p>Complex Veel mogelijkheden Patroonherkenning Autotiter Geen intensiteit Patiëntendatabank</p>	<p>Middleware: QUANTA Link Duidelijk en eenvoudig Patroonherkenning Autotiter Intensiteit (LIU) Patiëntendatabank</p>	<p>Eenvoudig en duidelijk Patroonherkenning Geen autotiter Intensiteit (%) Patiëntendatabank</p>
Aflezen	<p>Vlotte patroonherkenning Soms moeilijke pos/neg discriminatie Soms wazige foto Soms specifieke spikkel</p>	<p>Biochips: alles in 1 beeld Goede patroonherkenning Soms twijfel bij zwak positieve</p>	<p>Zeer goede patroonherkenning (kwaliteitsvolle slides) Snel en vlot af te lezen, weinig twijfel</p>	<p>Soms moeilijke patroonherkenning (kwaliteit slides?)</p>
Kostprijs	<p>Toestel: €89.500 Per test: €8,9</p>	<p>Toestel: / Per test: €6,4 (mét dots)</p>	<p>Toestel: €102.775 Per test: €10,8</p>	<p>Toestel: €132.338 Per test: tussen €5,6 en €5,0</p>
				



Richtlijnen ICS 2003

- Screening: IIF op ethanol-gefixeerde neutrofielen (niet formaline)
- Confirmatie: PR3/MPO
- Follow-up: PR3/MPO; ideaal bij hoge pre-test probaliteit

Belgische RIZIV-nomenclatuur hieraan nog niet aangepast

Methodevergelijking:

- Digitale microscopie (toestel en digitaal) evenwaardig aan manuele aflezing
- Toestel-interpretaties:
 - 2/4 zeer hoge +LR en zeer lage –LR
 - Aanvullend/richtinggevend
- Digitale aflezing:
 - 4 systemen liggen zeer dicht bij elkaar
- Andere eigenschappen
 - Gebruiksgemak van inzetten
 - Gebruiksgemak van software
 - Patiëntendatabank
 - Autotiter-optie
 - Snelheid
 - Capaciteit
 - Kwaliteit van de beelden → vlotheid van aflezen
 - Service
 - kostprijs

→ Keuze is subjectief en kan variëren van labo tot labo

Bedankt voor de aandacht!



Degandt Simon



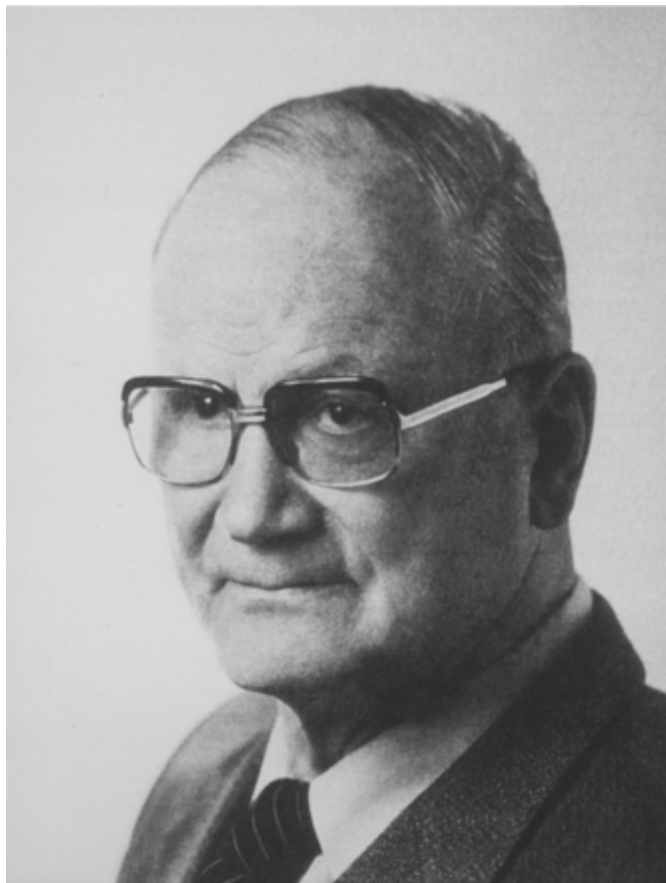
az sint-jan
brugge - oostende av

Degandt Simon

	M/V	Leeftijd (j)	Groep	Ziektebeeld	D / F-U
1	M	60	AAV	MFA	F-U (immuunsuppressie)
2	M	69	AAV	GPA	F-U (immuunsuppressie)
3	M	69	AAV	GPA	F-U (geen behandeling)
4	M	63	AAV	EGPA	F-U (geen behandeling)
5	V	77	AAV	GPA	F-U (immuunsuppressie)
6	V	84	AAV	MFA	F-U (geen behandeling)
7	M	80	AAV	MFA	F-U (geen behandeling)
8	V	88	AAV	GPA	F-U (geen behandeling)
9	M	60	AAV	MFA	F-U (immuunsuppressie)
10	V	58	AAV	GPA	F-U (geen behandeling)
11	M	62	AAV	GPA	F-U (immuunsuppressie)
12	V	61	AAV	GPA	F-U (immuunsuppressie)
13	V	53	AAV	GPA	F-U (immuunsuppressie)
14	V	75	AAV	MFA	F-U (immuunsuppressie)
15	M	42	AAV	MFA	F-U (geen behandeling)
16	M	74	AAV	EGPA	F-U (immuunsuppressie)
17	M	71	AAV	GPA	F-U (geen behandeling)
18	M	66	AAV	MFA	F-U (geen behandeling)
19	M	86	AAV	MFA	D
20	M	60	AAV	GPA	F-U (immuunsuppressie)
21	V	77	AAV	GPA	F-U (geen behandeling)
22	V	62	AAV	GPA	F-U (geen behandeling)
23	M	57	AAV	GPA	F-U (geen behandeling)
24	V	72	AAV	MFA	D
25	M	64	AAV	MFA	F-U (immuunsuppressie)
26	V	61	AAV	GPA	F-U (geen behandeling)
27	M	82	AAV	MFA	D

	M/V	Leeftijd (j)	Groep	Ziektebeeld
28	M	34	Zieke controles	Chronisch vermoeidheidsyndroom
29	V	64	Zieke controles	Systemische lupus erythematoses
30	V	59	Zieke controles	Ziekte van Crohn
31	V	63	Zieke controles	Systemische lupus erythematoses
32	M	53	Zieke controles	Colitis ulcerosa
33	M	32	Zieke controles	Chronisch vermoeidheidsyndroom
34	V	45	Zieke controles	Sjögren syndroom
35	V	44	Zieke controles	Fibromygalgie
36	M	64	Zieke controles	Takayasu arteritis
37	V	23	Zieke controles	Erythema nodosum
38	V	63	Zieke controles	Auto-immune hepatitis
39	V	77	Zieke controles	Fibromygalgie
40	V	48	Zieke controles	Ziekte van Crohn
41	V	62	Zieke controles	Auto-immune hepatitis
42	M	66	Zieke controles	Reumatoïde artritis
43	V	34	Zieke controles	Ziekte van Crohn
44	M	68	Zieke controles	Ziekte van Crohn
45	M	64	Gezonde controles	/
46	V	46	Gezonde controles	/
47	V	57	Gezonde controles	/
48	V	49	Gezonde controles	/
49	V	46	Gezonde controles	/
50	V	60	Gezonde controles	/
51	V	22	Gezonde controles	/
52	M	66	Gezonde controles	/
53	V	42	Gezonde controles	/
54	V	45	Gezonde controles	/
55	V	51	Gezonde controles	/
56	M	26	Gezonde controles	/
57	V	46	Gezonde controles	/
58	V	45	Gezonde controles	/
59	M	55	Gezonde controles	/

Friedrich Wegener



To Do

- Formaline achterwege laten?
- Rapportering herzien?



Screening/confirmatie

- Screening: IIF op ethanol-gefixeerde neutrofielen
- Confirmatie: PR3/MPO

- Geen screening met ELISA: te weinig evidentie
- IIF **niet** op formaline-gefixeerde neutrofielen
 - Soms vals-negatief bij MPO-ANCA

Rapportering

- Standaardantwoorden
- Geen IIF-titers, wel MPO/PR3 concentratie (semi-kwantitatief!)
- Atypisch cytoplasmatisch patroon apart vermelden
- Alle perinucleaire patronen (met of zonder nucleaire extentie)
- Bij ANA-interferentie mag er geen specifiek patroon gerapporteerd worden

Follow-up

- ICS: opvolging met MPO/PR3, niet met titer
- Verstockt et al (2015):
 - in follow-up GPA, PR3 enkel bepalen indien klinisch suggestief voor herval (niet bv jaarlijks)
- meta-analyse van Schmidt en van der Woude (2004):
 - Geen herval bij 42% van de patiënten met ANCA-stijging op IIF
 - Geen herval bij 25% van de patiënten met MPO/PR3-stijging

- Een groot deel hervalt niet
- Geen statistisch krachtige benefit-risk trials
- Toxiciteit bij immunosuppressieve therapie

enkel behandelen bij ANCA-stijging als
klinisch suggestief is

