

Lab'propos



Volume 14

April 2019

Dienst Laboratoriumgeneeskunde AZ Sint-Jan

Campus Sint-Jan, Campus H.Serruys en Zeepreventorium

In dit nummer:

Intro & kort nieuws	p.1
Kappa FLC	p.2
NGS panel	p.3
Overzicht wijzigingen	p.4-5

Intro

In deze editie vertellen we u graag over een nieuwe analyse: Kappa vrije lichte ketens in cerebrospinaal vocht als neuroinflammatoire merker. Daarnaast brengen we u op de hoogte over een wijziging in de NGS analyse voor myeloïde hematologische maligniteiten waarbij een uitbereiding van het NGS panel plaats vond. Zo worden sinds de aanpassing 21 ipv 19 genen onder de loep genomen met deze techniek en werd deze afgestemd op de ComPerMed guidelines. Tot slot bieden we een overzicht met recente wijzigingen.

Veel leesplezier namens Barbara Cauwelier, Helena Devos, Jan Emmerechts, Katelijne Floré, Martine Vercammen, Michel Langlois, Eric Nulens, Marijke Reynders, Sylvie Roggeman, Timothy Vanwynsberghe, Suzy Van Erum, Bieke Louwagie en Evelyne Vanderstraeten.

Kort nieuws

Voor de analyse van **ferritine** in campus SJ voerde de producent (Roche) een aanpassing door in de calibratorwaarden om een betere traceerbaarheid te garanderen ten opzichte van de internationale WHO standaard. Dit heeft voor gevolg dat de ferritinewaarden na hercalibratie ca. 15 tot 20 % hoger zullen liggen en beter vergelijkbaar zullen zijn met andere analysemethododes voor ferritine. Vanaf 14/3/19 kan u bijgevolg hogere waarden vaststellen binnen eenzelfde patiënt. Uit onze verificatie blijkt dat dit geen impact heeft op de gebruikte referentiewaarden.

Wijzigingen papieren aanvraagformulieren activiteitencentrum Sint Jan:

STJM RSA Aanvraagbrief MRSA	STJM RSA-04	2018-december
STJWFB Aanvraagbrief Weefselbank	STJWFB-12	2019-januari
STJTOX Aanvraagbrief toxicologie en TDM	STJTOX-09	2019-januari
STJKPR Aanvraagbrief bloedcomponenten	STJKPR-07	2019-januari
STJVEV Aanvraagbrief vochten en varia	STJVEV-13	2019 februari
STJSER Aanvraagbrief infectieuze serologie – moleculaire microbiologie – antivirale middelen	STJSER-17	2019-februari
STJMOB Aanvraagbrief moleculaire biologie – FISH – cytogenetica – cytologie – immuunfenotypering	STJMOB-10	2019-februari

Gelieve oude papieren versies op de afdelingen/consultaties weg te nemen en de recentste te voorzien.

Wenst u Lab'propos op een ander adres of niet langer te ontvangen, mail dan naar labokwaliteitszorg.brugge@azsintjan.be

Dienst laboratoriumgeneeskunde, AZ Sint-Jan Brugge-Oostende AV
campus Sint Jan T: 050/45 99 00 - campus H.Serruys T: 059/55 58 67

Lab'propos



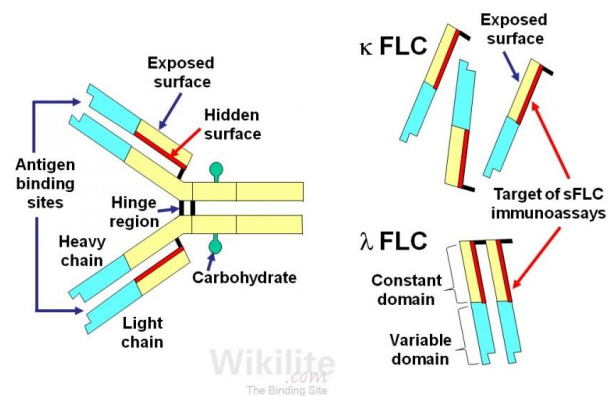
Kappa vrije lichte ketens in cerebrospinaal vocht als neuroinflammatoire merker

Een verhoging van de hoeveelheid kappa (κ) vrije immuunglobuline ketens (free light chains, FLC) in cerebrospinaal vocht wijst op inflammatie van het centraal zenuwstelsel. Om een correct beeld te krijgen van de werkelijke intrathecale κ FLC synthese, wordt de κ FLC concentratie in cerebrospinaal vocht gedeeld door de κ FLC concentratie in serum (κ FLC quotiënt). Deze ratio wordt gecorrigeerd met het albumine quotiënt (albumine in cerebrospinaal vocht/albumine in serum) om eventuele schade aan de bloed hersenbarrière op te vangen. Het resultaat van deze berekening is de κ FLC index. De mogelijke toepassing van de κ FLC index voor de diagnose en prognose van multiple scleroses (MS) en andere pathologieën van het centraal zenuwstelsel is momenteel een hot topic.

Over de referentiewaarden bestaat nog geen consensus. Het laboratorium van AZ Sint-Jan baseert zich hiervoor op de studie door Van Pesch die bevestigd werd met metingen op restmateriaal van patiëntenmonsters in campus Sint-Jan te Brugge.

De κ FLC index is significant hoger in MS patiënten dan in patiënten met andere inflammatoire pathologieën van het centraal zenuwstelsel (IND), ongeacht de aan- of afwezigheid van oligoclonale banden (OCB) op iso-electric focusing. Bij patiënten met OCB is er geen verschil in kappa index tussen MS en niet-MS patiënten. Dit is ook niet het geval wanneer OCB negatieve patiënten worden vergeleken als MS versus niet-MS.

Een index > 6.29 wijst op centraal zenuwstelsel inflammatie, een index > 12.45 kan wijzen op MS.



MS patiënten (n=59) IND patiënten (n=103)	Sensitiviteit	Specificiteit	Positieve Predictieve Waarde	Negatieve Predictieve Waarde
OCB voor MS	78.0	79.5	73.0	83.5
κ FLC index voor MS	78.0	77.1	70.8	83.1
OCB voor IND inclusief MS	61.2	100.0	100.0	71.8
κ FLC voor IND inclusief MS	75.7	82.1	91.8	56.1

naar Bayart J.-L., Muls N, Van Pesch V. Free kappa Light Chains in Neuroinflammatory Disorders: Complement rather than Substitute? Acta Neurol Scand 2018. 138:352-358.

κ FLC index kan aangevraagd worden met de code KVLKI op de aanvraagbrief voor vochten en varia. Er is voorlopig geen RIZIV terugbetaling. De kost voor de patiënt bedraagt 60 euro.

Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij Prof. dr. M. Vercammen

Dienst laboratoriumgeneeskunde, AZ Sint-Jan Brugge-Oostende AV
campus Sint Jan T: 050/45 99 00 - campus H.Serruys T: 059/55 58 67

Lab'propos



NGS analyse voor myeloïde hematologische maligniteiten: nieuw panel conform ComPerMed guidelines

Sinds oktober 2018 wordt een vernieuwde NGS gebaseerde mutatieanalyse bij myeloïde maligniteiten uitgevoerd. Het genenpanel werd uitgebreid naar aanleiding van de aanbeveling van de ComPerMed (Commission for Personalized Medicine) experten-groep, waar we als dienst laboratoriumgeneeskunde AZ Sint-Jan ook deel van uitmaken. Tevens werd een nieuwe methode (anchored multiplex PCR gebaseerd) geïntroduceerd.

Het onderzoek met dit NGS panel is aanbevolen voor het opsporen van afwijkingen bij patiënten ≤ 75 jaar met een nieuwe diagnose van:

- Acute myeloïde leukemie (AML)*,
- Myelodysplastisch syndroom (MDS)*,
- Myeloproliferatieve neoplasmata (MPN): Primaire myelofibrose*, chronische neutrofiële leukemie*
- MDS/MPN overlap aandoeningen: atypische chronische myeloïde leukemie*, chronische myelomonocytaire leukemie*, chronische neutrofiële leukemie*, MDS/MPN met ringsideroblasten en thrombocytose*
- Onverklaarde persisterende cytopenie (ICUS)



De assay wordt bij een leeftijd >75 jaar uitgevoerd enkel na bijkomend overleg met de aanvrager.

De analyse wordt momenteel niet terugbetaald. Ontwerpteksten van de NGS conventie voorzien terugbetaling bij de indicaties hierboven met een * aangeduid, en bij leeftijd van de patiënt >70 jaar enkel indien een MOC overleg hiertoe beslist.

(Referentie: <https://www.riziv.fgov.be/nl/professionals/verzorgingsinstellingen/laboratoria/Paginas/oncologie-terugbetaling-moleculair-biologische-ngs.aspx>)

Onderzochte genen in het myeloïd panel

Het nieuw Qiaseq gebaseerd custom genen panel spoort mutaties op in 21 relevante genen voor de diagnose van myeloïde maligniteiten. Wijzigingen ten opzichte van het vorige (GeneRead) panel zijn: analyse van het volledig CEBPA gen, analyse van nagenoeg het volledige DNMT3A gen (i.p.v. enkel exon-23), en toevoeging van het EZH2 gen.

Enkel pathogene en mogelijks pathogene varianten vanaf 2% variant allel frequentie (VAF) worden gerapporteerd (m.u.v het CEBPA gen waarbij dit 10% bedraagt). Reproduceerbare gevoeligheid voor het opsporen van substitutiemutaties en kleine insertie/deletie mutaties (<25 baseparen: bv. NPM1 hotspot mutatie, CALR mutatie type 2) bedraagt 5%. Bij grotere insertie/deletie mutaties (bv: CALR mutatie type 1) is de gevoeligheid verminderd, alsook voor het opsporen FLT3-ITD varianten. Daarom wordt bij AML diagnose de FLT3 PCR-fragmentanalyse behouden.

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline mutatie, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden. Uitzonderlijk kunnen mutaties in TP53, RUNX1 en CEBPA germline zijn met implicaties voor zowel de patiënt als de familie. In deze gevallen bedraagt de allel frequentie van de mutatie om en bij de 50 of 100%. De leeftijd van de patiënt is meestal eerder jong (<40 j) bij ontdekking van een germline mutatie, al gebeurt dit ook bij oudere patiënten. Een genetisch consult is in deze gevallen aangewezen. Bij twijfel kan heranalyse van het betrokken gemuteerde gen op een beenmerg monster in remissie meer duidelijkheid geven.

Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. Helena Devos

Dienst laboratoriumgeneeskunde, AZ Sint-Jan Brugge-Oostende AV
campus Sint Jan T: 050/45 99 00 - campus H.Serruys T: 059/55 58 67

Lab'propos



Tabel: Genen, onderzochte exonen en klinische interpretatie bij NGS Custom Qiaseq 21-genen myeloïd panel

Gen	Exon(en)	Klinische interpretatie
ASXL1	13	ASXL1 mutaties komen voor bij CMML (45%), PMF (35%), secundaire AML (20%), MDS (15%), zeldzaam bij ET, PV en de novo AML alsook bij gezonde oudere personen (Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential - CHIP, 10% op de leeftijd van 80j). De prognostische betekenis van deze mutatie is ongunstig.
CALR	9	CALR mutaties komen voor bij ET (15-24%) en MF (25-35%). In vergelijking met JAK2 gemuteerde myeloproliferatieve aandoeningen kennen patiënten met een CALR mutatie een milder klinisch verloop.
CEBPA	1	CEBPA mutaties komen voor in <5% van de MDS patiënten en 7-15% van de AML patiënten. Bi-allelische CEBPA mutaties zijn minder frequent en geassocieerd met een goede prognose. In 10% van de gevallen is één van beide mutaties aangeboren.
CSF3R	14, 17	CSF3R mutaties komen voor bij 90% van de CNL en <10% van de aCML. Deze mutaties zijn gevoelig voor SRC en JAK2 inhibitoren.
DNMT3A	8-23	DNMT3A mutaties komen voornamelijk voor bij AML (20-30%) en MDS (10-15%) en in mindere mate bij CMML en andere myeloproliferatieve aandoeningen. Ook bij gezonde oudere personen worden mutaties van het DNMT3A gen waargenomen (Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential - CHIP, 10% op de leeftijd van 80j). Mutaties in dit gen zouden prognostisch ongunstig zijn.
EZH2	2-20	EZH2 mutaties komen voor bij 10-15% van de MDS/MPN overlap aandoeningen alsook minder frequent bij MDS. Deze mutaties zijn geassocieerd met een ongunstige prognose.
FLT3	13-15, 20	FLT3 ITD en tyrosine kinase domein (TKD) mutaties komen voor bij respectievelijk 20-30% en 5-10% van de AML patiënten. De aanwezigheid van FLT3 ITD/TKD mutaties zijn prognostisch ongunstig.
IDH1	4	IDH1/IDH2 mutaties komen voor bij AML (15-20%) en MDS (5-10%). De prognostische implicatie van deze mutaties zou eerder ongunstig zijn.
IDH2	4	
JAK2	12,14	JAK2 mutaties komen frequent voor bij PV (97%), ET (60%) en PMF (50%) en vormen hierbij een diagnostisch criterium (zie WHO 2016). In mindere mate komen JAK2 mutaties voor bij andere MPN, MDS/MPN overlap aandoeningen en zelden bij AML.
KIT	8-11, 13, 17	KIT mutaties komen voor bij 20-30% van de Core Binding Factor (CBF)-AML. De aanwezigheid van deze mutatie zou bij patiënten met t(8;21) een ongunstig effect hebben, terwijl er bij patiënten met inv(16) geen prognostisch effect werd aangetoond.
MPL	10	MPL mutaties komen voor bij 5-10% van de ET en PMF alsook zeldzaam bij andere MDS/MPN overlap aandoeningen. Het aantonen van een MPL mutatie is voornamelijk van diagnostisch belang.
NPM1	11	NPM1 mutaties komen voor bij AML (30%) en zijn geassocieerd met een normaal karyotype en een meer gunstige prognose (indien afwezigheid van FLT3-ITD of DNMT3A mutaties).
RUNX1	1-8	RUNX1 mutaties komen voor bij MDS (10-20%), AML (10-15%) en CMML (10-15%) en zouden geassocieerd zijn met een slechte prognose.
SETBP1	4	SETBP1 mutaties komen frequent (25%) voor bij aCML, MDS/MPN-U en CNL en minder frequent (2-5%) bij CMML, MDS en AML. Deze mutaties zouden geassocieerd zijn met een slechte prognose.
SF3B1	13-16	SETBP1 mutaties komen frequent (25%) voor bij aCML, MDS/MPN-U en CNL en minder frequent (2-5%) bij CMML, MDS en AML. Deze mutaties zouden geassocieerd zijn met een slechte prognose.
SRSF2(SF RS2)	1	SFRS2 (SRSF2) mutaties komen frequent voor bij CMML (ongeveer 50%) alsook bij MDS (15%) en AML uit MDS. Er werd geen duidelijk prognostisch belang van deze mutatie aangetoond.
TET2	3-11	TET2 mutaties komen voor bij MDS (30-35%), AML (10%), CMML (60%) alsook bij gezonde oudere personen. Meerdere mutaties kunnen simultaan aanwezig zijn. De prognostische betekenis van deze mutaties is nog onvoldoende gekend.
TP53	2-11	TP53 mutaties komen voor bij 5-15% van de MDS patiënten en ongeveer 10% van de AML patiënten (vnl. t-AML). Ze zijn geassocieerd met een complex karyotype en impliceren een slechte prognose.
U2AF1	2, 6	TP53 mutaties komen voor bij 5-15% van de MDS patiënten en ongeveer 10% van de AML patiënten (vnl. t-AML). Ze zijn geassocieerd met een complex karyotype en impliceren een slechte prognose.
WT1	6-9	WT1 mutaties komen voor bij AML (5-10%) en in mindere mate bij MDS (<5%) en zouden geassocieerd zijn met een slechte prognose.

Lab'propos

Overzicht wijzigingen

Wijzigingen activiteitencentrum Sint Jan:

Test	Rubriek	
κ FLC (Kappa vrije lichte ketens)	NIEUW	Turbidimetrie methode op Optilite
Oestradiol ultra-sensitieve LC-MSMS	NIEUW	ultra-sensitieve LC-MSMS bepaling voor de opvolging van oestradiol in het kader van een hormonale behandeling bij post-menopauzale vrouwen. Uitvoering door UZ Gent.
Memory B-cellen (IPID screening primaire immuundeficiëntie)	Methode <i>Vanaf maart 2019</i>	Flowcytometrie op FACS Canto II
Foetale rode bloedcellen	Methode <i>Vanaf eind april</i>	Flowcytometrie op FACS Canto II Enkel uitgevoerd na positieve screening adhv microscopie
ADAMTS-13 (von willebrand factor protease)	Uitvoerend lab <i>Vanaf 20/3/19</i>	UZ Gent (voorheen UZ Leuven) methode ELISA
Oestron (E1)	Uitvoerend lab <i>Vanaf 5/4/19</i>	UZ Gent (voorheen UZ Brussel) methode LC-MSMS
NGS myeloïd 21-genen panel	Interpretatie	Aanpassing NGS 21 ipv 19 genenpanel, de NPM1 fragmentanalyse werd hierbij geschrapt. Specifieke wijzigingen, zie labogids en artikel in deze nieuwsbrief
Anti-CCP	Referentiewaarde <i>Vanaf april 2019</i>	Negatief: <7 Twijfelachtig : 7-10 Zwak positief : >10 - ≤ 30 Sterk positief : > 30
Totaal bilirubine	Interferenties	Toevoeging interferentie immunoglobines > 28 g/L
IgM	Interferenties	Hemolyse wanneer > 600 mg/dL, Lipemie wanneer L index > 600
Lactaat in CSF	Interferenties	Negatieve interferentie met ditaurobilirubine > 6 mg/dL
Salivair Cortisol	Prijs	Nieuwe nomenclatuurnummers 545090-545101
ADAMTS-13 (von willebrand factor protease)	Prijs	Nieuwe nomenclatuurnummers 545230-545241

Wijzigingen activiteitencentrum Henri Serruys:

Test	Rubriek	
NT-proBNP	Methode & Toestel	ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay) methode op VIDAS

Geen recente wijzigingen in activiteitencentrum Zeepreventorium.