



In dit nummer:

Intro	p.1
Mini NGS panel bij MPN	p.1
Triglyceridenbepalingen	p.2
Variant-analyses Covid	p.3
Transport medische genetica stalen	p.3
Overzicht wijzigingen	p.4-5

Intro

In dit nummer brengen we u graag op de hoogte van een aanpassing in de methode bij de triglyceridenbepalingen, bezorgen we een update over de gehanteerde technieken voor variant-analyses in de covid pandemie en hebben we het over de introductie van een nieuw mini NGS panel bij de diagnostiek van myeloproliferatieve aandoeningen. Traditiegetrouw voorzien we ook een overzichtelijke tabel met alle recente wijzigingen.

Nieuw NGS mini MPN panel voor uitwerking van myeloproliferatieve aandoeningen

Vanaf midden augustus 2021 zullen de analyses CALR, MPL en JAK2 exon 12 mutatie niet meer afzonderlijk uitgevoerd worden, maar wel gecombineerd in een **nieuw mini NGS panel** voor diagnostische uitwerking van myeloproliferatieve aandoeningen zoals polycythemia vera (PV), essentiële thrombocytose (ET) en primaire myelofibrose (PMF). De analyse kan zowel op **bloed** als op **beenmerg** aangevraagd worden. Enkel solitaire aanvragen voor JAK2V617F zullen nog apart met de klassieke qPCR methode geanalyseerd worden.

Met het MPN mini panel worden via targeted resequencing volgende exonen onderzocht: JAK2 exon 12 en 14, CALR exon 9 en MPL exon 10. Varianten tot een waargenomen allel frequentie van 2% worden gerapporteerd, voor de JAK2 V617F mutatie bedraagt dit 0.5%. De gevoeligheid van de analyse is minstens 5% allel frequentie voor substitutievarianten en kleine indels (<25 bp, bv. CALR type II mutatie: 5 bp insertie) en de CALR type I mutatie (52bp deletie). Grote indels (vanaf 25bp, m.u.v. de CALR type I mutatie), vertonen een verminderde gevoeligheid.

De analyse wordt wekelijks uitgevoerd met een maximale TAT van 2 weken. Facturatie gebeurt op basis van RIZIV nomenclatuur uit artikel 33bis (2 x 588512-588523;B3500). De wijze van aanvragen is momenteel nog ongewijzigd via de aanvraagbrief voor Cytologie - Immunofenotypering - Moleculaire biologie - FISH - Cytogenetica.

De nieuwe werkwijze heeft meerdere voordelen:

- Het panel kan een kortere TAT opleveren voor stalen waarop JAK2+CALR+MPL (diagnose ET en PMF) of JAK2V617F+JAK2exon12 (diagnose PV) analyse wordt aangevraagd en waarbij de analyse nu sequentieel gebeurt en de TAT kan oplopen tot meer dan één maand.
- Gevoeliger detectie van JAK2 exon 12 en MPL varianten (2à5%) t.o.v. Sanger sequencing (15%-20%).
- Analyse voor JAK2 exon 12 mutatie dient niet meer verzonden te worden (voorheen uitvoering UZ Leuven)
- Kostenefficiënte methode waardoor de kost van 35€ voor MPL analyse voor de patiënt wegvalt.

Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. Helena Devos

Lab'propos

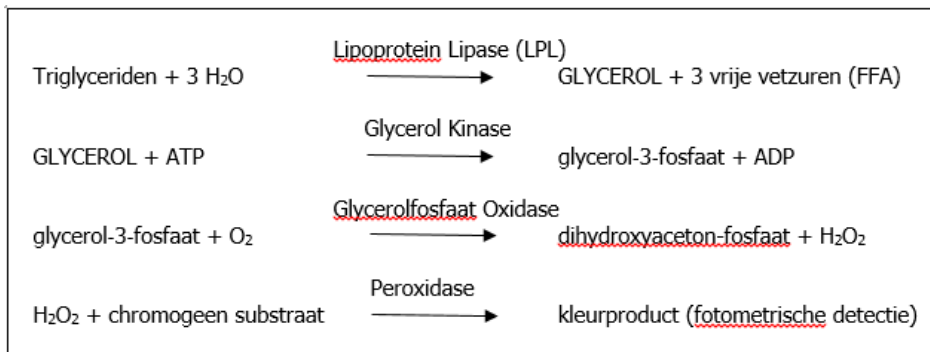


Gewijzigde methode voor triglyceridenbepaling

De dienst Laboratoriumgeneeskunde AZ St-Jan Brugge voerde als enige laboratorium in België de triglyceridenbepalingen met glycerolcorrectie uit, d.w.z. zonder interferentie van vrij glycerol. Jammer genoeg werd deze methode door de fabrikant (Roche Diagnostics) uit productie genomen. Voor lipidologen in geaccrediteerde laboratoria wereldwijd is dit een onaanvaardbare en betreunde beslissing, en wegens gebrek aan beschikbare methode bij andere fabrikanten zijn we genoodzaakt om over te schakelen naar triglyceriden zonder glycerolcorrectie, zoals die in de meeste routine laboratoria wordt aangeboden.

De glycerolfout bij niet-gecorrigeerde triglyceridentesten is niet te onderschatten. Deze testen zijn gebaseerd op enzymatische kwantificering van het glycerolgedeelte van de triglyceride molecule, waardoor zonder glycerolcorrectie dus ook het vrije glycerol aanwezig in serum wordt mee gemeten. De concentratie van endogeen vrij glycerol in serum is normaal ongeveer 1 mg/dL, equivalent met ongeveer 10 mg/dL triglyceriden, maar kan tot 5-10x hoger zijn bij ongecontroleerde diabetes, nierinsufficiëntie, exogene hyperglycerolemie (alcoholische dranken vb. Duvel) en tot 100x hoger in het zeer zeldzame geval van glycerolkinase deficiëntie. Bij interne validatie van de ongecorrigeerde triglyceridenmethode in het laboratorium werd een gemiddelde positieve bias van +19% waargenomen t.o.v. de gecorrigeerde methode.

Enzymatische reacties voor de fotometrische bepaling van triglyceriden:



In de eerste reactie door het enzym LPL wordt glycerol afgesplitst van de triglyceriden in de lipoproteïnen. In de tweede reactie wordt ook het vrije glycerol aanwezig in serum of plasma meegenomen en geeft dus aanleiding tot de glycerolfout.

Een echte hypertriglyceridemie berust op accumulatie van chylomicronen en/of grote VLDL partikels in de circulatie. Een ernstige hypertriglyceridemie >1000 mg/dL kan daarbij aanleiding geven tot troebel ("lipemisch") serum of plasma. Onverklaarde triglyceriden >1000 mg/dL in een helder, niet-lipemisch serum of plasma kunnen vanaf heden dus gezien worden bij "pseudohypertriglyceridemie" door endogene hyperglycerolemie. Zie bijgevoegde artikels.

De overschakeling gebeurde op 24/08/2021. De aanbevolen streefwaarde voor triglyceriden blijft ongewijzigd: <150 mg/dL (nuchtere bloedafname) of <175 mg/dL (niet-nuchtere bloedafname) volgens EAS-EFLM consensus guideline.

Referenties:

Speeckaert et al. NDT Plus 2010;3:570–572 doi: 10.1093/ndtplus/sfq148
Backes et al. Clinical Lipidology 2014;9:625-641 doi: 10.2217/clp.14.52

Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij prof. dr. Michel Langlois

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



Wijziging variant-analyse SARS-Cov-2

Vanaf 13 september worden variant-analyses van positieve SARS-CoV-2 stalen niet meer via real-time PCR uitgevoerd. Variantbepaling zal nog uitsluitend via Whole Genome Sequencing (WGS) gebeuren.

Sinds eind 2020 werd er gebruik gemaakt van de PCR-methode om een onderscheid te maken tussen verschillende SARS-CoV-2 varianten. Initieel betekende dit een onderscheid maken tussen het originele Wuhan-type en de Alpha (Brits/B.1.1.7) variant. Het virus evolueerde echter snel, met als gevolg dat onze test dat ook moest doen. Uiteindelijk werd een set-up vastgelegd die, op basis van analyse van vijf mutatieplaatsen in het S(pike)-gen, de meest abundante varianten kan typeren. Via unieke combinaties van aan- en afwezigheid van mutaties (deletie H69/V70-, N501Y, E484K, K417T, K417N, P681R) kunnen de Alpha (Brits/B.1.1.7), Beta (Zuid-Afrikaans/B.1.351), Gamma (Braziliaans/P.1), Delta of Kappa (Indiaas/B.1.617) en de B.1.525 variant getypeerd worden. Deze test liet ons toe om op een snelle, kosteneffectieve manier de overgrote meerderheid van positieve stalen (indien Ct-waarde < 30) te typeren en zo de actuele epidemiologische situatie op grote schaal van nabij te monitoren alsook op permanente manier te screenen op potentiële nieuwe of zeldzame varianten (niet-conclusieve resultaten).

De afgelopen maanden lijkt de test echter grotendeels zijn nut verloren te hebben. De zeer besmettelijke Delta-variant werd in een sneltempo dominant en concurreerde de overige varianten volledig weg. Ook in ons labo typeerden we al snel uitsluitend de Delta-variant. Hoewel de variant-PCR een uitstekende manier is om snel verschillende types te differentiëren, is de mogelijkheid om variatie binnen eenzelfde type op te sporen zeer beperkt. Hier biedt Whole Genome Sequencing een uitweg.

Door het volledige genoom in kaart te brengen kunnen alle mutaties van het staal gedetecteerd worden (om en bij de 40 t.o.v. het oorspronkelijke Wuhan-type) wat toelaat de evolutie van het virus zeer grondig op te volgen. Omdat deze methode veel complexer, tijdrovender en kostelijker is, is het onmogelijk om alle positieve stalen te analyseren. Een streefdoel om tien procent van alle positieve stalen (Ct-waarde < 25) te sequencen werd nationaal bepaald. Daarnaast worden ook doorbraakinfecties (besmetting ten vroegste zeven dagen na volledige vaccinatie) van kritisch-zieke gehospitaliseerde patiënten en bewoners van woonzorgcentra met actieve outbreaks geanalyseerd. Sequencing wordt wekelijks uitgevoerd met een TAT van zeven dagen vanaf de start van de analyse.

Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. Marijke Reynders



Wijziging transport voor prenatale genetische diagnostiek

Sinds begin juli verloopt het transport van stalen naar Centrum Menselijke Erfelijkheid (CME) UZ Leuven via een nieuwe koerier.

Indien stalen vóór 12u ontvangen in ons laboratorium, dan worden deze de volgende ochtend afgeleverd in UZ Leuven en worden ze meegenomen in de staalvoorbereidingen van die dag (start rond 12u). Hierbij is er met andere woorden geen impact op de antwoordtijd.

Indien stalen na 12u ontvangen in ons laboratorium, dan komen deze de volgende dag rond 15u in UZ Leuven aan en worden ze daar pas 's anderendaags ingezet. Hierdoor dient bijgevolg een vertraging van één extra dag in rekening gebracht te worden.

Dit geldt zowel voor prenatale screening (NIPT) als voor prenatale genetische diagnostiek (vlokkentesten, vruchtwaterpuncties).

Lab'propos



Overzicht wijzigingen

Wijzigingen activiteitscentrum Sint-Jan

Test	Rubriek	
Fluconazole	NIEUW <i>Vanaf 06/05/2021</i>	LCMS/MS (uitvoering UZ Gent)
Itraconazole	NIEUW <i>Vanaf 06/05/2021</i>	LCMS/MS (uitvoering UZ Gent)
Allergenen cannabis: Can s3	NIEUW <i>Vanaf 28/06/2021</i>	FEIA methode op ImmunoCap 250 (uitvoering UZ Antwerpen)
Breed spectrum allergietest (ISAC)	NIEUW <i>Vanaf 23/06/2021</i>	Immuno Solid-phase Allergen Chip, ISAC (uitvoering AZ Delta)
NGS mini MPN panel	NIEUW <i>Vanaf 13/08/2021</i>	Next Generation Sequencing (NGS) methode
Anti-GBM	Uitvoerend lab <i>Vanaf 09/07/2021</i>	FEIA methode op ImmunoCap 250 (voorheen door UZ Leuven)
Triglyceriden	Methode <i>Vanaf 24/08/2021</i>	Geen glycerolcorrectie meer, zie artikel blz. 2
SARS-Cov-2 variant-analyse	Methode <i>Vanaf 13/09/2021</i>	Whole Genome Sequencing (voorheen combinatie van meerdere rt-PCR analyses), zie ook artikel blz. 3
FIP1L1-PDGFR alfa kwalitatieve analyse	Methode & Accreditatiestatus	kwalitatieve rt-qPCR (voorheen nested rt-PCR) AZ Sint-Jan Brugge-Oostende av dienst Laboratorium- geneeskunde werd voor deze analyse recent geaccrediteerd door BELAC onder certificaatnummer 379-MED
Iso-focussing	Antwoordtijd	Maximale TAT 10 dagen (we streven naar TAT <7d)
Antitrombine, Proteïne S Proteïne C, Lupus	Antwoordtijd	Nieuwe TAT 3 weken (voorheen 4 weken)
Factor-V Leiden mutatieanalyse	Antwoordtijd	Nieuwe TAT 5 weken (voorheen 4 weken)
Protrombine (FII) mutatieanalyse	Antwoordtijd	Nieuwe TAT 5 weken (voorheen 4 weken)
NGS chimerisme	Afnamemateriaal	Wangslimvlies is eveneens toegestaan, echter bloed of beenmerg blijven de voorkeur

Lab'propos



Overzicht wijzigingen

Wijzigingen activiteitencentrum Sint-Jan (vervolg)

Test	Rubriek	
Vitamine B12 in serum	Prijs	B250 maar slechts 1x/kalenderjaar terugbetaald, bij extra aanvragen wordt een niet-ZIV prijs t.w.v. B250 aangerekend. Foliumzuur en vit. B12 mogen niet samen uitgevoerd worden.
Foliumzuur in serum	Prijs	B250 maar slechts 1x/kalenderjaar terugbetaald, bij extra aanvragen wordt een niet-ZIV prijs t.w.v. B250 aangerekend. Foliumzuur en vit. B12 mogen niet samen uitgevoerd worden.
Folaat in RBC	Prijs	niet-ZIV prijs t.w.v. B250
Anti-GFAP antilichamen	Prijs	niet-ZIV prijs € 39,16
Anti-GBM antilichamen	Prijs	RIZIV nomenclatuur: 553394/553405
Anti-GAD antilichamen	Prijs	RIZIV nomenclatuur: 542312/542323 of 25 euro ten laste van patiënt bij niet-diabetes indicaties

Wijzigingen activiteitencentrum H.Serruys:

Test	Rubriek	
N-terminaal procollageentype 1 propeptide (P1NP)	Uitvoerend lab <i>Vanaf 6/5/2021</i>	UZ Gent (nieuw)
Thermoactinom vulgaris IgG antistoffen	Uitvoerend lab <i>Vanaf 23/6/2021</i>	UZ Brussel (nieuw)

Wijzigingen papieren aanvraagformulieren activiteitencentrum Sint Jan:

AFAZFAB00001	Algemene aanvraagbrief	STJALG-24	2021-april
AFAZFAB00007	Aanvraagbrief infectieuze serologie en moleculaire microbiologie	STJSER-23	2021-april
AFAZFAB00004	Aanvraagbrief voor microbiologie	STJMIC-16	2021-mei
AFAZFAB00049	Aanvraagbrief voor COVID-19	STJCOVID-11	2021-juni
AFAZFAB00028	Aanvraagbrief voor urineonderzoeken	STJURI-15	2021-augustus
AFAZFAB00006	Aanvraagbrief voor immunologie	STJRAS-15	2021-augustus

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

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