

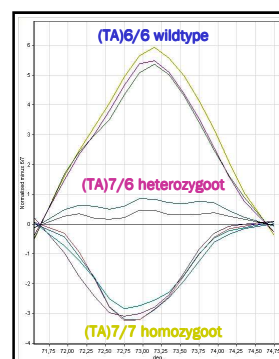


## IN DIT NUMMER:

**MOLECULAIRE BIOLOGIE:** 1**Syndroom van Gilbert****HEMATOLOGIE:** 2**PT en Thrombotest****ALGEMEEN:** 2**Aspergillus antigen bepaling****MOLECULAIRE DIAGNOSE VAN GILBERT'S SYNDROOM**

Gilbert's syndroom (GS) is een frequent voorkomende erfelijke leverafwijking, gekarakteriseerd door een milde en intermitterende vorm van ongeconjugeerde hyperbilirubinemie. Het syndroom ontstaat door een genetische afwijking in het gen coderend voor het UGT1A1 enzyme, dat verantwoordelijk is voor de glucuronidatie van bilirubine. De transcriptie van dit gen wordt geactiveerd in een promotorregio. Het is net hier dat zich de erfelijke afwijking bij GS bevindt, nl. een TA-insertie in de TATAA box van deze promotor. De promotorregio van het wildtype gen bevat een TATAA box met 6 TA herhalingen. De aanwezigheid van een 7<sup>de</sup> TA resulteert in een verminderde expressie van het UGT1A1 enzyme. Van de individuen met GS is 95% homozygoot voor deze langere promotor, waardoor de bilirubine-glucuronidatie gereduceerd is tot 30% van de wildtype-activiteit. Dit resulteert in een accumulatie van ongeconjugerd bilirubine in het bloed. Individuen met GS vertonen normale bloedtesten en totale bilirubineniveaus die fluctueren van normaal (0,3 -1,0 mg/dL) tot mild verhoogd (1,0 - 3,0 mg/dL). In bepaalde omstandigheden, b.v. vasten, kan de waarde oplopen tot 6,0 mg/dL. Deze fluctuatie in bilirubineniveaus is te wijten aan bepaalde triggers die het GS-genotype fenotypisch tot uiting brengen met ongeconjugeerde hyperbilirubinemie en bijhorende geelzucht als symptomen. Onder deze triggers vallen geestelijke en lichamelijke stress maar ook de inname van bepaalde medicijnen zoals nicotinezuur, tolbutamide en HIV protease inhibitoren kan verantwoordelijk zijn voor de expressie van het GS-genotype. De trigger-afhankelijke expressie van GS, maakt het stellen van een GS-diagnose bij een patiënt pas mogelijk indien herhaaldelijk mild verhoogde bilirubineconcentraties gemeten worden gedurende een periode van 2 jaar.

Omdat GS-geassocieerde geelzucht relatief onschuldig is, is behandeling ook overbodig, maar toch is het stellen van de diagnose aangewezen. Een solide diagnose van GS vermijdt immers een meer uitgebreid hepatologisch onderzoek naar



**Figuur 1. Genotypering van Gilbert's syndroom op basis van High Resolution Melting techniek .**

- (TA)6/6 = wild type
- (TA)7/6 = heterozygoot
- (TA)7/7 = homozygoot

andere oorzaken van hyperbilirubinemie en kan daarenboven de patiënt geruststellen. Naast de lichte en onschuldige vorm van geelzucht, vertonen GS-patiënten bij de behandeling van gemetastaseerd colonkanker met irinotecan ook een ernstige vorm van diarree en neutropenie (irinotecan-toxiciteit). Deze toxiciteit is te wijten aan de verstoorde glucuronidatie van de actieve metaboliet van irinotecan. Screenen naar GS identificeert patiënten met een verhoogd risico op irinotecan-toxiciteit, zodat een geïndividualiseerde dosage kan toegepast worden.

Het belang van een GS-diagnose benadrukt de nood aan een solide en snelle diagnosemethode, niet gebaseerd op fluctuerende bilirubineniveaus maar op de oorzakelijke genetische afwijking.

Recent werd in het labo Moleculaire Biologie een diagnostische test op punt gesteld ter bepaling van het genotype van de TATAA box van het UGT1A1 gen. Deze test omvat een extractie van genomisch DNA uit EDTA-bloed en wordt gevolgd door een PCR-amplificatie van de specifieke TATAA box regio van de UGT1A1 promotor. De eigenlijke genotypering gebeurt op basis van de High Resolution Melting techniek waarbij het thermisch denaturatiegedrag van het amplicon cruciale informatie vrijgeeft over het betreffende genotype. Genotypering van GS kan belastende diagnostiek overbodig maken en aanleiding geven tot geïndividualiseerde irinotecan-therapie.

**INTERESSANTE INFORMATIE:**

Wekelijks organiseert het labo op dinsdagmiddag om 15h30 kranen in het auditorium, met uitzondering tijdens de krokus- en paasvakantie.

**Programma:**

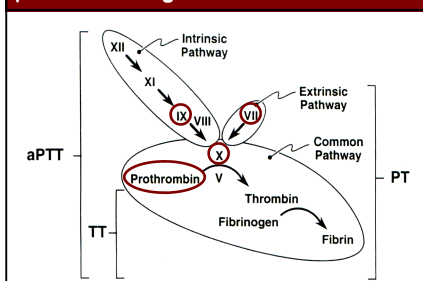
- **Dinsdag 17 februari:**  
Casuïstiek Hematologie  
Spreker: dr. Els Baillleul
- **Dinsdag 10 maart:**  
Zwakke rhesus D  
Spreker: dr. Isabel Verstreken
- **Dinsdag 17 maart:**  
Parvovirus B19-infectie  
Spreker:  
dr. Annemie Vandermeersch
- **Dinsdag 24 maart:**  
Moleculaire diagnostiek  
Spreker:  
Anne Vankeerberghen
- **Dinsdag 31 maart:**  
Kinkhoest  
Spreker: apr. Eline Verhoye

## HEMATOLOGIE : PT EN THROMBOTEST: DE VERSCHILLEN ONTSLUIERD...

Coumarinetherapie (Marcoumar®, Sintrom®, Marevan®) wordt doorgaans gemonitord aan de hand van de protrombintijd (PT). PT wordt voor deze indicatie uitgedrukt in INR (= international normalised ratio), een gestandaardiseerde waarde die aangepast is aan het gebruikte reagens en toestel. De PT test is de klassieke stollingstest die gebruikt wordt om de volledige extrinsieke pathway (incl. common pathway) van de stolling te evalueren (zie fig. 2).

Vroeger was dit echter anders. Voor het monitoren van coumarinetherapie maakte men gebruik van een reagens, uitsluitend gevoelig aan de vitamine K-afhankelijke factoren, namelijk Thrombotest® (TrT). Dit reagens bestaat uit een tromboplastine (zoals het klassieke PT reagens) met toevoeging van een kalfsserum waaruit de vitamine K-afhankelijke factoren zijn verwijderd. Indien men een test doet met dit reagens, wordt het resultaat uitsluitend bepaald door de vitamine K-afhankelijke factoren van de patiënt (met

**Figuur 2. Vitamine K-afhankelijke factoren en hun positie in de stollingscascade.**



uitzondering van FIX die uiteraard een intrinsieke factor is). De test is dus niet gevoelig voor tekorten aan fibrinogeen en/of FV omdat deze in overmaat aanwezig zijn in het kalfsserum.

Een belangrijk nadeel van de TrT was dat ze moeilijk te automatiseren was, waardoor deze in onbruik is geraakt. Vandaag de dag is dit euvel echter van de baan en is het TrT-reagens bovendien rechtstreeks gekalibreerd t.o.v. de WHO standaard.

In ons labo gebruiken we deze test als controle op de PT test. Bij de vergelijking van PT INR en TrT INR dient men er wel

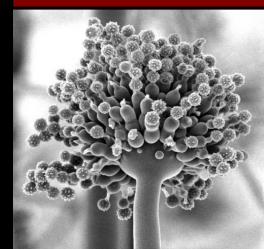
rekening mee te houden dat beide testen vanaf een INR van 3-3.5 niet zo goed meer correleren. Dit geldt echter ook bij de vergelijking van andere PT reagentia.

Verder wordt TrT gebruikt in de eerste evaluatie en diagnostiek van een stollingsprobleem. Zo kunnen we bij een onverwacht gestoord resultaat in de PT direct al een idee hebben waar we het probleem moeten zoeken zonder direct dure factorentesten blind te moeten gaan uitvoeren. Bv. indien TrT normaal is en de PT verlengd, dan weten we dat het een probleem is van FV (lever?) of fibrinogeen of lupus anticoagulans (waar TrT niet gevoelig aan is). In combinatie met de andere routinestollingstesten (aPTT, fibrinogeen) kunnen we zo veel gerichtere factorenonderzoek gaan doen. Er is dus zeker nog steeds plaats voor TrT. Maar zoals voor alle labotesten is het steeds belangrijk te weten wat je ermee aan het meten bent!

dr. Els Bailleul  
Labo Hematologie  
053/72.48.91

## ASPERGILLUS: DENK ERAAN, OOK BIJ DE NIET-NEUTROPENE PATIENT!

**Figuur 3. Invasieve aspergillose, een schimmel als hoofdrolspeler van invasieve infectie.**



Invasieve aspergillose (IA) is klassiek gekend als een belangrijke opportunistische infectie met hoge mortaliteit bij patiënten met hematologische maligniteiten. Maar ook bij intensieve zorgen patiënten zonder de klassieke risicofactoren kan IA een belangrijke maar vaak miskende rol spelen.

De diagnostiek blijft moeilijk en komt dikwijls (te) laat: zowel klinische, radiologische als cultuur gebaseerde diagnose is dikwijls moeilijk door een gebrek aan sensitiviteit en specificiteit.

Galactomannan (*Aspergillus* antigeen) bepaling kan hier een hulpmiddel zijn!

Het *Aspergillus* antigeen is een hittestabiel polysaccharide dat aanwezig is in de

celwand van de meeste *Aspergillus* en *Penicillium* species en bij weefselinvasie vrijkomt.

Het nut van galactomannan bepaling was tot voor kort vooral bekend bij neutropene patiënten, waarbij tijdens de neutropene fase de serumwaarden opgevolgd worden. Twee consecutieve waarden  $\geq 0.5$  (O.D. index) geeft in deze patiëntengroep een sensitiviteit en specificiteit van ruim 96 en 98% voor de diagnose van IA. Bij niet-neutropene patiënten zakken beide waarden drastisch, vermoedelijk omdat het antigeen door de neutrofielen geklaard wordt. Bepaling van galactomannan in BALvocht zou bij deze patiënten een betere optie zijn.

Naast bepaling bij neutropene patiënten kan een galactomannanbepaling overwogen worden bij patiënten met langdurig corticoïdengebruik, COPD of levercirrhose bij wie antibiotica het infectieus probleem niet oplossen, of wanneer *Aspergillus* uit

een respiratoir staal gekweekt wordt en het niet duidelijk is of het om infectie of kolonisatie gaat.

In het labo wordt de galactomannanbepaling uitgevoerd indien 2 serumstalen voorhanden zijn of op BAL vocht. We vragen om de klinische indicatie steeds mee te geven.

Waar men bij de interpretatie moet op bedacht zijn, is dat vals positieve resultaten kunnen veroorzaakt worden door het gebruik van piperacilline-tazobactam (Tazocin®) of amoxicilline-clavulaanzuur (Augmentin®) en dit tot maximum 1 week na het beëindigen van deze antibioticatherapie. Ook infecties met andere schimmels (zoals *Penicillium*) kunnen positieve resultaten geven.

apr. An Boel  
Labo Microbiologie  
053/72.47.85

### Verdere info of vragen:

Laboratorium OLVZ Aalst, 1<sup>ste</sup> verdieping  
Editor: Lieve.Van.Hoovels@olvz-aalst.be  
053/72.47.91  
<http://www.olvz.be/>

### BELANGRIJKE INFO :

Neem vanaf nu een patiëntenklever mee naar het labo, als je bloed voor je patiënt afhaalt.