

## IN DIT NUMMER:

- STOLLING** 1  
Gewijzigde nomenclatuur
- AUTOIMMUNITEIT** 2  
Optimalisatie van de laboratoriumdetectie van ANA

## TIP:

De richtlijnen van de Hoge Gezondheidsraad van januari 2010 over "Goede Transfusiepraktijken in ziekenhuizen" zijn te vinden op het intranet (onder Medisch - Labo Klinische Biologie - Procedures - Hemovigilantie - Richtlijnen).

## INTERESSANTE INFORMATIE:

Wekelijks organiseert het labo op dinsdagnamiddag om 15h kranzen in het auditorium.

Programma:

- **Dinsdag 20 april:**  
Transfusie en zwangerschap  
Spreker: apr. Annelies Fraeyman
- **Dinsdag 27 april**  
Vrije lichte ketens  
Spreker: apr. Davy Kieffer
- **Dinsdag 5 mei**  
Microbiologie: onderwerp volgt  
Spreker: dr. Ellen Van Even
- **Dinsdag 18 mei**  
QC vergadering  
Spreker: mr. Staf Van der Biest

## STOLLING: GEWIJZIGDE NOMENCLATUUR VAN ENKELE TROMBOFILIEPARAMETERS

Sedert 1 november 2009 is de terugbetaling van bepaalde testen voor trombofilie screening gewijzigd. Deze terugbetaling wordt aan bepaalde diagnoseregels onderworpen. In deze editie van de Labflap willen we dan ook graag deze diagnoseregels verduidelijken.

In een klassieke trombofilie screening voeren wij volgende testen uit: FVIII, lupus anticoagulans, proteïne C, vrij proteïne S, antitrombine, APC-resistentie, FV Leiden, FII mutatie (G20210A), homocysteïne nuchter en anticardiolipine antistoffen.

De terugbetaling van **proteïne C, vrij proteïne S, antitrombine en APC-resistentie** gebeurt enkel voor patiënten jonger dan 55 jaar met een trombotisch proces, bij patiënten met een familiale anamnese van recidiverende trombosen, of in geval van diffuse intravasale stolling. Bovendien wordt **antitrombine immunologisch** enkel terugbetaald indien de activiteit minder dan 70% bedraagt.

De bepaling van **homocysteïne** mag enkel aangerekend worden aan het RIZIV bij een patiënt jonger dan 55 jaar met klinische evidentie voor een vasculaire aandoening.

De terugbetaling van de genetische testen FV Leiden en FII mutatie (G20210A) is voortaan ook verbonden aan een diagnoseregels, zoals bepaald in Art. 33 bis 'Moleculaire biologische testen op menselijk genetisch materiaal bij verworven aandoeningen'. **FV Leiden** is enkel terugbetaald indien het opzoeken van geactiveerde proteïne C resistentie positief is met de specifieke gemodificeerde APC-R test.

**FII mutatie** (G20210A) is enkel terugbetaald bij patiënten < 55 jaar met een trombotisch proces, bij patiënten met een familiale anamnese van recidiverende trombosen of in geval van diffuse intra-

## Tabel 1. Noodzakelijke informatie voor de terugbetaling van enkele trombofilieparameters.

Om de terugbetaling van bepaalde trombofilieparameters te verzekeren, moet rekening gehouden worden met volgende factoren:

- leeftijd van de patiënt (< 55 jaar)?
- voorgeschiedenis van trombosen?
- familiale voorgeschiedenis van recidiverende trombosen?
- diffuse intravasale stolling (DIC)?

Het is aangewezen deze informatie te vermelden op het aanvraagformulier van de laboratoriumtesten.

vasale stolling.

Voor **lupus anticoagulans, FVIII en anticardiolipine antistoffen** gelden deze diagnoseregels niet, wat eigenlijk in het totaalconcept van een trombofilie screening niet geheel logisch is. De diagnoseregels zijn zeker niet uit de lucht gegrepen. Bij een trombofilievraagstuk dient men zich dan ook altijd de vraag te stellen of de resultaten van deze screening uiteindelijk het beleid van de patiënt zullen veranderen.

Wij zouden u dus ook willen verzoeken bij het aanvragen van trombofilieparameters steeds het volgende na te kijken:

- hoe oud is de patiënt? (< 55 jaar)
- is er een voorgeschiedenis van trombosen?
- is er een familiale voorgeschiedenis van recidiverende trombosen?
- is er sprake van DIC?

Kanttekening bij de diagnose van DIC is uiteraard dat de meeste trombofilieparameters geen plaats hebben in de diagnose of opvolging van een patiënt met DIC. Naast de klassieke stollingstesten (PT, aPTT, fibrinogeen en D-dimeren), lijkt ons antitrombine de enige nuttige te bepalen parameter bij diagnostiek van DIC.

## AUTOIMMUNITEIT: OPTIMALISATIE LABORATORIUMDETECTIE ANA

De detectie en semikwantificatie van autoantilichamen (auto-As) vormt een belangrijk onderdeel in de diagnosestelling en opvolging van autoimmuunziekten. Als multispecifieke screeningstest naar antinucleaire en cytoplasmatische As (ANA) blijft tot op vandaag de indirecte immunofluorescentie (IIF) op Hep-2 cellen de gouden standaard. Bij een positief IIF resultaat, schrijven de richtlijnen voor de aanwezige As te identificeren m.b.v. een monospecifieke test. Het resultaat wordt vervolgens teruggekoppeld met het IIF-patroon.

Voor de ANA identificatie maken we in het laboratorium gebruik van een line immunodot analyse (ANA profile 3 Euroline, Euroimmun), hetgeen een zeer performante, doch ook relatief dure test

identificatie gegeven (bv. nuclear dots, kernmembraan, ...). Het IIF patroon is in deze gevallen reeds voldoende specifiek. - Vandaag de dag zijn nog niet alle targetantigenen (Ag) ontdekt waartegen, al dan niet klinisch relevante, As bestaan, of zijn ze niet in opgezuiverde vorm beschikbaar om te gebruiken voor de laboratoriumdetectie van de As.

Daarenboven legt een dergelijk lage prevalentie van positieve resultaten een zware druk op de specificiteit van de confirmatietest. Dit benadrukt het belang van de terugkoppeling van de geïdentificeerde As met het IIF-patroon.

De performantie van de laboratoriumdetectie van ANA kan verbeterd worden, indien we de confirmatietesten laten starten met een multispecifieke ANA- en

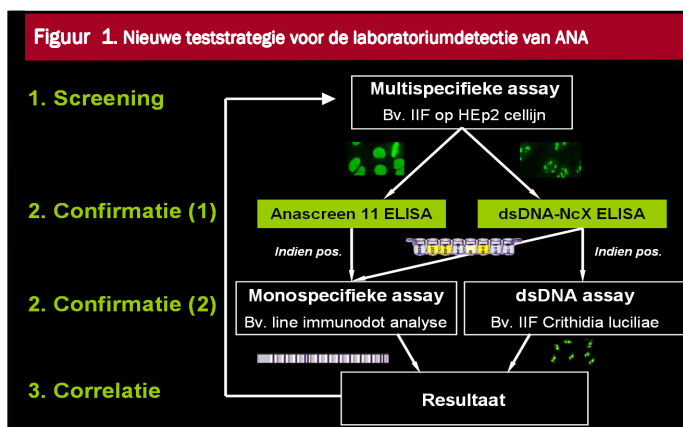
dsDNA-screen ELISA te gebruiken na een positieve IIF-analyse (zie figuur 1). Een dergelijke screeningstest bevat alle specifieke Ag in één enkele testcup. Enkel indien deze positief is, wordt overgegaan tot de identificatie van de As d.m.v. de line immunodot analyse.

gen (n=17) en controlegroep zonder autoimmuun aandoeningen (n=25)) werden geanalyseerd met de verschillende dsDNA-ELISA's en de resultaten werden vergeleken met de dsDNA reactiviteit op de line immunodot, IIF Crithidia luciliae en Farr-assay. Voor de evaluatie van de ANA-screen ELISA's werd vertrokken van een retrospectieve selectie van stalen uitgaande van de reactiviteiten op line immunodot (monoreactiviteit (n=24), multireactiviteit (n=21), borderline reactiviteit (n=6) en geen reactiviteit (n=12)). De resultaten werden vergeleken met deze bekomen met de line immunodot en discordante resultaten werden getoetst met de klinische gegevens van de patiënt. Uit de eerste analysefase konden de dsDNA-NcX (Euroimmun) en ANAscreen 11 ELISA weerhouden worden als meest performante screeningstesten.

In een tweede testfase werd de toepassing van de dsDNA-NcX en ANAscreen 11 ELISA prospectief uitgetest in parallel met de routinebepaling. In de periode van mei t.e.m. augustus 2009 werden 330 positieve IIF stalen aan de evaluatie onderworpen. 88 van deze stalen vertoonden minstens 1 reactiviteit op line immunodot. De toepassing van beide screen ELISA's miste geen enkele relevante reumatologische diagnose en verminderde het aantal line immunodots met maar liefst 83%, hetgeen een belangrijke kostenreductie van de laboratoriumanalyse met zich meebrengt. **In overleg met de reumatologen werd er sinds januari 2010 overgeschakeld naar de nieuwe teststrategie voor de laboratoriumdetectie van ANA.**

Een meer uitgebreide bespreking van de resultaten van de evaluatie wordt o.v.v. 3 posters gepresenteerd op het 7th International Congress on Autoimmunity in Ljubljana in mei 2010.

apr. Lieve Van Hoovels  
Labo Biochemie  
053/72.47.91



is. Een retrospectieve analyse van alle ANA-resultaten van oktober 2006 t.e.m. oktober 2009 toont dat slechts in 23% van de positieve IIF stalen een specifieke As kan worden geïdentificeerd. Er zijn verschillende redenen voor dit laag percentage aan positieve identificaties:

- Vals positieve IIF resultaten komen voor bij  $\pm 1/5$  gezonde personen. De prevalentie is hoger bij vrouwen en ouderen. Deze reacties kunnen te wijten zijn aan een algemene immuunstimulatie door een (virale) infectie, medicatie, ...
- Niet voor alle IIF-patronen wordt door de line immunodot analyse een positieve

Hierdoor kan het aantal line immunodots sterk worden verminderd, hetgeen een meer kosteneffectieve ANA-analyse bewerkstelligt, op voorwaarde natuurlijk dat er niet getorst wordt aan de performantie van de bestaande laboratoriumanalyse. Hiertoe werd de vooropgestelde strategie terdege uitgetest en dit in 2 fasen.

Een eerste fase bestond uit de retrospectieve evaluatie van de performantie van verschillende screen ELISA's. Serumstalen afkomstig uit 3 verschillende patiëntengroepen (patiënten met systeem lupus (n=18), controlegroep met andere autoimmunologische aandoenin-

### BELANGRIJKE OPMERKING:

Gelieve op de aanvragen steeds de correcte stempel te gebruiken: met naam van de arts en correcte, huidige doktersnummer en RIZIVnummer. Dit vergemakkelijkt de administratie van het labo.

### 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/>