

Klinisch Labo OLV Ziekenhuis

Klinisch Labo Campus Aalst

Moorselbaan 164
9300 Aalst
T. +32 (0)53 72 40 64
F. +32 (0)53 72 45 88

Klinisch Labo Campus Asse

Bloklaan 5
1730 Asse
T. +32 (0)2 300 60 42
F. +32 (0)2 300 65 00

Klinisch Labo Campus Ninove

Biezenstraat 2
9400 Ninove
T. +32 (0)54 31 20 65

www.olvz.be

In dit nummer

- | | |
|--|---|
| Nieuwe detectiemethode voor gonokokken | 1 |
| Introductie van een kwantitatieve anti-MPO en -PR3 antistof bepaling | 2 |

Interessante info

Op dinsdagnamiddag om 15h organiseert het laboratorium regelmatig wetenschappelijke kansen:

Dinsdag 28/02/2012

Uitwerkingscriteria van niet-steriele stalen

Spreker: apr. Christine Van Laer

Dinsdag 27/03/2012

MALDI-TOF

Spreker: apr. Deborah Steensels

Dinsdag 17/04/2012

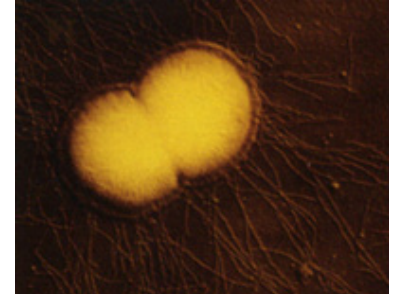
Overzicht van de nieuwe anticoagulantia

Spreker: dr. Marieke Criel

Nieuwe detectiemethode voor gonokokken

Neisseria gonorrhoeae, de veroorzaker van gonorrhoe, is een moeilijk beestje. Deze bacterie is heel gevoelig aan temperatuurschommelingen, de zuurtegraad van zijn omgeving en aan droogte. Daarom zijn de transportcondities van het staal heel belangrijk wanneer diagnostiek berust op bacteriologische kweek. Staaltransport is echter veel minder kritisch wanneer de detectie van *Neisseria gonorrhoeae* gebeurt op DNA-niveau. Ondermeer daarom werd in ons labo Moleculaire Biologie in november 2011 gestart met de moleculaire detectie van gonokokken. Daarnaast blijft de bacteriologische kweek noodzakelijk, enerzijds voor het bepalen van de gevoeligheid, anderzijds vanuit epidemiologisch standpunt. Het aantal gevallen van gonorrhoe in Vlaanderen stijgt immers jaarlijks en daarenboven wordt ook een toenemende antibiotica-resistentie waargenomen.

Bij de DNA-detectie van *Neisseria gonorrhoeae* gaan we 2 genen opzoeken, namelijk het "outer membrane protein" gen en het "PorA" pseudogen. Deze detectie gebeurt door middel van real time PCR, waarbij een exponentiële vermenigvuldiging van een specifiek stukje DNA van de targetgenen plaatsvindt. Deze techniek is heel gevoelig en heel specifiek maar is wel onderhevig aan mutaties in het doelwit DNA. Bij elke celdeling in de natuur worden er fouten gemaakt bij het overschrijven van het DNA en ontstaan er mutaties. Indien deze mutaties ontstaan in het stukje DNA dat we opsporen, zou dit kunnen leiden tot vals-negatieve resultaten. Bij de ontwikkeling van de real time PCR hebben we er dan ook voor geopteerd om 2 genen op te sporen.



Figuur 1. *Neisseria gonorrhoeae*

Hierdoor daalt de kans op vals-negatieve resultaten en stijgt de performantie van de test.

De moleculaire detectie van *Neisseria gonorrhoeae* wordt steeds samen met de detectie van *Chlamydia trachomatis* uitgevoerd. Beide verwekkers van SOA's komen geregeld samen voor en behandeling van beiden is dan ook noodzakelijk. Enkel de aangevraagde analyse zal echter aangerekend worden (volgens nomenclatuur). De analyse kan uitgevoerd worden op een genitale wisser bij de vrouw en op een urethrale wisser of een eerste portie urine bij de man. De real time PCR wordt minimaal 2 maal per week uitgevoerd (onder ISO15189 voorwaarde). Hopelijk kunnen we hiermee een positieve bijdrage leveren in de diagnostiek van SOA's.

dr. sci. Anne Vankeerberghen
labo Moleculaire Biologie
T. 053 72 40 59

Nieuwsberichten



Aanvraag van laboratoriumtests door huisartsen

Via de website van het klinisch laboratorium vindt u onder de rubriek interessante links recent ook de link terug naar 'Aanvraag van laboratoriumtests door huisartsen'. Met deze aanbeveling wil Domus Medica de huisarts begeleiden bij het rationeel aanvragen van laboratoriumtests. De aanbeveling dient als leidraad om op een onafhankelijke en wetenschappelijk onderbouwde manier laboratoriumtests aan te vragen bij screening, diagnostiek, behandeling en follow-up (zowel van de ziekte als van de behandeling) van een aandoening.

Verdere vragen en informatie:

Laboratorium OLV Ziekenhuis Aalst, 1ste verdieping
Editor: Lieve.Van.Hoovels@olvz-aalst.be
T. 053 72 47 91
<http://www.olvz.be/>

Introductie van een kwantitatieve anti-MPO en -PR3 antistof bepaling

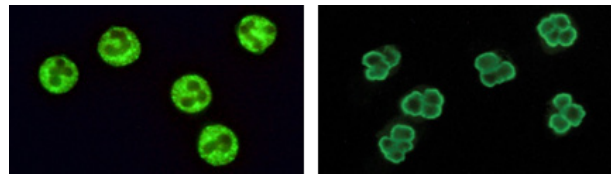
ANCA of anti-neutrofiële cytoplasmatische antistoffen zijn per definitie auto-antistoffen die gericht zijn tegen het cytoplasma van neutrofiële granulocyten. De belangrijkste ANCA behoren tot IgG klasse en hebben als voornaamste target myeloperoxidase (MPO) en proteïnase 3 (PR3). Beide enzymen zijn gelokaliseerd in de azurofiële granulen van granulocyten.

De bepaling van ANCA is nuttig bij een acute nierinsufficiëntie met of zonder longinfiltratie of longbloeding, voor de diagnose van systeemvasculitis van de kleine vaten (cf. tabel 1) en voor de differentieel diagnose van inflammatoire darmziekten.

Als screeningstest voor de ANCA-bepaling blijft de indirecte immunofluorescentietest (IIF) op ethanol gefixeerde humane granulocyten behouden. De positief predictieve waarde (PPV) van deze test op een niet-geselecteerde populatie is <5 %, maar indien uitgevoerd in de juiste klinische setting bedraagt deze maar liefst >90 %.

Van elke positieve ANCA IIF worden in een tweede stap de antistoffen geïdentificeerd met een MPO- en PR3 specifieke test.

Een cytoplasmatisch of cANCA IIF patroon (zie figuur 2) met PR3 antistoffen is sterk geassocieerd met Wegener's granulomatosis (nieuwe benaming: 'granulomatosis met polyangiitis'). Een nucleair of pANCA IIF patroon (zie figuur 2) met MPO antistoffen is sterk geassocieerd met primaire necrotiserende glomerulonefritis, microscopische polyangiitis en Churg-Strauss syndroom.



Figuur 2. Cytoplasmatisch of cANCA IIF patroon (links) en nucleair of pANCA patroon (rechts)

De identificatie van MPO en PR3 antistoffen gebeurt in het laboratorium OLV Ziekenhuis Aalst d.m.v. een linedot met semi-kwantitatieve resultaatrapportering. Vanaf half februari schakelt het laboratorium voor de ANCA-identificatie over naar een zeer performante 'capture' ELISA (Zenit Capture MPO/PR3 ELISA, A. Menarini Diagnostics). Bij dit soort ELISA's wordt het antigen niet, zoals in de standaard ELISA's, direct gebonden aan de vaste fase, maar via een monoclonaal antigenspecifieke antistof (zie figuur 3). Hierdoor blijven klinisch relevante epitopen op het antigen beschikbaar om te binden met de eventueel aanwezige antistoffen in het patiëntstaal. Deze specifieke epitoooppresentatie zorgt voor een significante verbetering in specificiteit van de test, zonder hierbij in te boeten aan sensitiviteit, zoals een uitgebreide in-house validatie in 2011 heeft bevestigd.

	cANCA Anti-PR3	pANCA Anti-MPO
Granulomatosis met polyangiitis	66 %	24 %
Microscopische polyangiitis	26 %	58 %
Primaire necrotiserende glomerulonefritis	30 %	64 %
Churg-Strauss syndroom	<5 %	50 %

Tabel 1. Prevalentie van anti-MPO en anti-PR3 antistoffen bij systeemvasculitiden van de kleine vaten.

Zoals tabel 1 reeds toont is er evenwel geen absolute associatie tussen een antistofspecificiteit en een aandoening. Sommige patiënten met de ziekte van Wegener hebben MPO antistoffen, terwijl sommige patiënten met primaire necrotiserende glomerulonefritis PR3 antistoffen hebben. Daarom wordt de bepaling van MPO en PR3 antistoffen steeds samen uitgevoerd.

Ondanks de specificiteit van ANCA voor necrotiserende vasculitiden, moet aangehaald dat deze antistoffen ook kunnen voorkomen bij geneesmiddel geïnduceerde systeemlupus, bij verschillende bindweefselziekten, cryoglobulinemie en in enkele gevallen van infectieziekten zoals tuberculosis, subacute bacteriële endocarditis, ...



Figuur 3. Onderscheid in antigen presentatie in de verschillende soorten testen: IIF (links), directe of traditionele ELISA (midden) en capture ELISA (rechts).

Een bijkomend voordeel van de capture ELISA is dat de resultaten gestandaardiseerd zijn t.o.v. AF-CDC internationale standaarden en aldus kwantitatief worden gerapporteerd (in IU/ml). Er zijn immers talrijke studies die een correlatie aantonen tussen de ANCA-titer en ziekteactiviteit, en dit zowel voor PR3 als voor MPO. Desalniettemin blijft deze stelling controversieel, zoals recent nog beschreven in een meta-analyse van Tomasson et al. (Rheumatology 2012; 51: 100-109). Een stijgende ANCA titer of het opnieuw optreden van een ANCA, moet de behandelende arts wel alarmeren en aanzetten tot een striktere patiëntopvolging, maar mag nooit op zich gebruikt worden om de behandeling aan te passen.

apr. Lieve Van Hoovels
labo Biochemie
T. 053 72 47 91