

## Klinisch Labo OLV Ziekenhuis

### Klinisch Labo Campus Aalst

Moorselbaan 164  
9300 Aalst  
T. +32 (0)53 72 42 91  
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](http://www.olvz.be)

### In dit nummer

CINtec PLUS	1
Nieuwe detectiemethode voor HCV RNA in plasma	1
<i>M. chimaera</i> na cardiovasculaire ingreep	2
CVID: common variable immunodeficiëntie	2

### Interessante info

Op donderdagmiddag om 13h organiseert het laboratorium regelmatig wetenschappelijke kranzen:

#### Donderdag 22/06/2017

Optimalisatie van de ANA diagnostiek

**Spreker:** apr. Mathieu Cauchie

#### Donderdag 29/06/2017

Kwaliteitszorgvergadering

**Spreker:** mr. Staf Van Der Biest en apr. Lieve Van Hoovels

*Tijdens de zomervakantie zijn er geen labokranzen gepland. Vanaf september zullen deze hervat worden.*

## CINtec PLUS

### Immuunhistochemie bij baarmoederhalsuitstrijkjes

Baarmoederhalskanker is de tweede meest frequente maligniteit bij vrouwen wereldwijd. Dankzij screeningsprogramma's in o.a. Europa en de Verenigde Staten is de incidentie van invasief carcinoom sterk afgenomen.

Een persisterende infectie door hoog risico Humaan Papillomavirus (HR-HPV) is de oorzaak van cervicale dysplasie en carcinoom.

Soms worden abnormale cellen gezien waarop niet met zekerheid de diagnose van dysplasie of carcinoom kan gesteld worden (ASCUS of AGUS). Op deze stalen wordt moleculair onderzoek naar HR-HPV uitgevoerd. Bij aanwezigheid van HPV subtypes 16 of 18 volgt meestal onmiddellijk een colposcopie. Indien andere hoogrisico subtypes aanwezig zijn, biedt de CINtec PLUS een meerwaarde. Dit is een immuunhistochemische dubbelkleuring die in de afwijkende cellen enerzijds het oncogen p16, en anderzijds de proliferatiemerker Ki67 in een zich delende cel opspoort. Als ook maar één cel aankleurt voor beide markers betekent dit dat het virale DNA is ingebouwd in het DNA van de cel, en dat de patiënte een groter risico loopt dat het letsel verder evolueert naar een invasief



carcinoma. Ook deze patiënten worden dan verwezen voor een colposcopie. Indien de test negatief is, kan een meer afwachterende houding worden aangenomen en kan de patiënte met een uitstrijkje verder opgevolgd worden.

*dr. Vanessa Meert  
labo Pathologische Ontleedkunde  
T. 053 72 42 84*

## Nieuwe detectiemethode voor HCV RNA in plasma

De diagnose van Hepatitis C (HCV) gebeurt in eerste instantie door de opsporing van HCV antistoffen in serum. Louter op basis van antistoffen kan men echter niet concluderen of het om een actieve of een doorgeemaakte infectie gaat. Om dit onderscheid te kunnen maken, of om de behandeling van de patiënt te kunnen opvolgen, wordt het HCV RNA moleculair opgespoord.

De klassieke behandeling van hepatitis C gebeurt met peg-interferon en ribavirine. De laatste jaren zijn er echter nieuwe antivirale middelen voor de behandeling van HCV op de markt gekomen zoals proteasa- en polymeraseremmers. De opvolging van de hieraan gekoppelde behandelingsschema's vergt een HCV

detectiemethode met een detectielimiet van 25 IU/mL. Daar onze in house test hier niet meer aan voldoet werd de analyse overgezet naar een commerciële test (GeneXpert). Deze HCV analyse heeft een detectielimiet van 10 IU/mL, een kwantificatiebereik van 25 tot 10<sup>8</sup> IU/mL en kan dagelijks uitgevoerd worden. Voor de analyse is minimaal 3 mL EDTA-bloed nodig (of voor externe stalen 1.5 mL EDTA-plasma). Het plasma moet binnen de 6 uur na staalname geïsoleerd worden. Gelieve hiermee rekening te houden bij staalname.

*dr. sci. Anne Vankeerberghen  
labo Moleculaire Biologie  
053 72 89 53*

Teneinde te voldoen aan de ISO15189 norm zal vanaf 1 juli 2017 de kwantificatie van CMV DNA in bloed uitgedrukt worden in IU/mL in plaats van in kopieën/mL. Het effect op de kwantificatie is echter miniem: de CMV titer zal een factor 2.66 lager liggen.



### Verdere vragen en informatie:

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

# M. chimaera na cardiovasculaire ingreep

*M. chimaera* behoort tot de groep van de atypische mycobacteriën en is genetisch sterk verwant aan *M. intracellulare* en *M. avium*. Het is een opportunistische pathogeen die pulmonale of gedissemineerde infecties kan veroorzaken bij immuungecompromiteerde patiënten. Sinds 2011 werd *M. chimaera* internationaal ook beschreven als een oorzaak van bacteriële endocarditis na cardiale chirurgie vooral bij gebruik van prothesemateriaal. Ook andere diepe infecties (vb. spondylodiscitis, cerebraal abces, ...) en sepsis zijn beschreven bij deze patiëntenpopulatie. Besmetting van het water van heater-cooler units (HCU's), die gebruikt worden tijdens hartchirurgie met extracorporele circulatie, is de oorzaak van deze post-operatieve infecties. De transmissie van *M. chimaera* van deze HCU's naar de patiënt verloopt vermoedelijk aerogeen via aerosols die vrijkomen uit het water van de HCU tijdens gebruik.

Wees bedacht op infectie met *M. chimaera* bij patiënten die in het verleden een cardiovasculaire ingreep ondergingen

Ook in het OLVA Aalst zijn er een aantal HCU's (vermoedelijk tijdens productie) besmet met *M. chimaera*. In dit kader worden deze toestellen systematisch gedecontamineerd en

gescreend op aanwezigheid van *M. chimaera*. Alle maatregelen worden getroffen om de aerogene overdracht te voorkomen. In het labo wordt momenteel een diagnostisch protocol uitgewerkt voor zowel waterstalen afkomstig van HCU's, als patiëntstalen. Om een snelle detectie van *M. chimaera* te garanderen wordt naast klassieke cultuur ook een real-time PCR gevalideerd.

Om zeker geen infectie met *M. chimaera* te miskennen, is het belangrijk dat de clinicus deze pathogeen in het achterhoofd houdt. De Hoge Gezondheidsraad publiceerde in juli 2016 een advies betreffende *M. chimaera*. Hier staat beschreven dat patiënten die aan volgende 2 criteria voldoen, als verdacht moeten beschouwd worden:

- De patiënt heeft in het verleden (tot 4 jaar geleden) een cardiovasculaire ingreep ondergaan waarbij gebruik werd gemaakt van een HCU.
- De patiënt heeft klinische, biologische of radiologische symptomen die overeenstemmen met een diepe infectie, meer bepaald een:
  - endocarditis van de hartklepprothese
  - infectie van de vasculaire prothese
  - infectie van de plaats van sternotomie
  - mediastinitis
  - gedissemineerde infectie (vb. spondylodiscitis)

Bij een verdacht geval wordt er aangeraden om naast een conventioneel bacteriologisch onderzoek ook 3 bloedkweken op mycobacteriën uit te voeren. Hiervoor kan men gebruik maken van speciaal ontwikkelde flessen (BD Myco/Lytic) die in overleg met de dienst microbiologie verkregen kunnen worden. Bij een gerichte afname (vb. geïnfecteerde prothese) wordt het conventioneel bacteriologisch onderzoek aangevuld met een specifieke opsporing van mycobacteriën (met behulp van cultuur en PCR).

dr. Jense Wils  
labo Microbiologie  
T. 053 72 42 74

dr. Kristien Van Vaerenbergh  
labo Microbiologie  
T. 053 72 41 69



**Bridging**

De bridging widget is beschikbaar op de desktop van elke PC in het ziekenhuis, alsook via Citrix!

# CVID: common variable immunodeficiëntie

Voortaan biedt het laboratorium een flowcytometrische test aan om de uitrijping van B- en T-cellen te screenen bij patiënten met een vermoeden van primaire immunodeficiënties (PID). Dit zijn aangeboren afwijkingen in de werking van het afweer- of immuunsysteem. Afhankelijk van het klinisch beeld kunnen verschillende routine screeningstesten gebruikt worden.

In deze test onderscheiden we binnen B- en T-cellen verschillende subpopulaties om aldus defecten in B- en T-cel uitrijping op te sporen. De onderverdeling in verschillende subpopulaties is o.a. gebaseerd op de aan- of afwezigheid van verschillende markeringen en receptoren op de celmembranen (clusters of differentiation, CD).

T-cellen maken ongeveer 60 tot 85 % van de lymfocyten in het perifere bloed uit. Hun belangrijkste rol is de coördinatie van de immuunrespons en het uitvoeren van de cytotoxische functie. De T-cellen (dragen het CD3 antigeen) kunnen onderverdeeld worden in 2 grote subsets, afhankelijk of ze CD4 of CD8 tot expressie brengen (CD8+ cytotoxische T-cellen of CD4+ T-helpercellen). Na vorming in het beenmerg ondergaan T-cellen nog een extra rijpingsstap in de thymus. Hierna komen ze in de perifere (bloedstroom) terecht als naïeve T-cellen. Deze circuleren constant doorheen de lymfeknopen en ondergaan, na contact met specifieke antigenen via het MHC complex, verdere differentiatie in memory T-cellen. CD45RA is aanwezig op naïeve T-cellen, maar afwezig op memory T-cellen. Een frequent

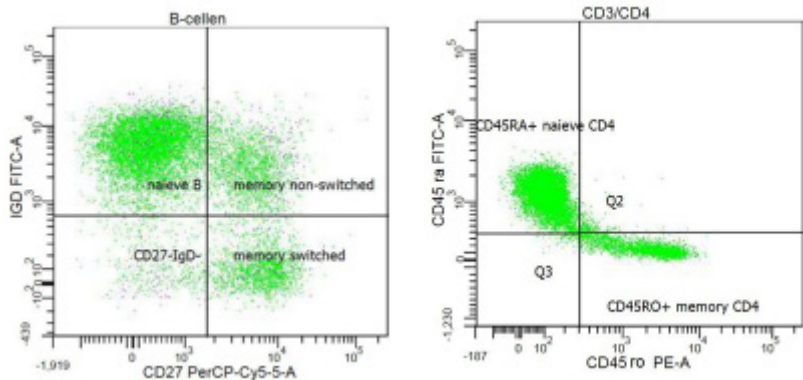


Foto 1. Voorbeeld van de normale B- en T-cel subpopulaties bij een gezonde vrijwilliger.

beschreven defect bij PID patiënten is een reductie in aantal totale of naïeve CD4+ T-cellen.

B-cellen maken ongeveer 5 tot 25 % van de lymfocyten in het perifere bloed uit. De B-cel ontwikkeling bestaat uit een aantal sequentiële differentiatie stappen. We onderscheiden de pre- en post-germinaal centrum (GC) B-cellen. De pre-GC naïeve cellen (CD19+/CD27-) ontstaan uit stamcellen in het beenmerg en zijn antigen onafhankelijk. Vervolgens migreren deze naar secundaire lymfoïde organen (o.a. milt) voor de volgende stappen in de maturatie en contact met specifieke antigenen. Het post-GC compartiment bestaat uit memory B cellen (switched en non-switched) en uit plasmacellen. Doorgaans bestaan circulerende B-cellen voor 60-70 % uit naïeve B-cellen, ongeveer 20-30 % uit memory B-cellen en maximum 1-3 % plasmacellen. Op te merken valt dat bij ongeveer 90 % van

CVID (common variable immunodeficiëntie) de patiënten quasi normale absolute aantallen B-lymfocyten kunnen vertonen, maar een defecte uitrijping.

U ontvangt een rapport van een lymfocyten-panel (procentueel en absoluut aantal CD4 en CD8 T-cellen, CD19 B-cellen en CD56 NK cellen) wordt weergegeven. Bovendien ontvangt u een beschrijving van de verschillende subpopulaties van de B- en T-lymfocyten. Voor meer informatie omtrent flowcytometrische fenotypering van CVID en de bijhorende EUROClass classificatie verwijzen wij u naar het artikel Warnatz K., Schlesier M. Cytometry Part B 2008; 74B: 261-271.

apr. Anne-Sophie De Koninck  
labo Hematologie  
T. 053 72 87 92

dr. Peter Meeus  
labo Hematologie  
T. 053 72 46 06