

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

In dit nummer

Wat u moet weten over ... zika virus	1
Uitbreiding ANA algoritme met DFS70 IgG	1
Dosage vrije lichte ketens kappa en lambda	2

Interessante info

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

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

Wat u moet weten over ...



Momenteel kampt Zuid-Amerika met een epidemie van het zikavirus. Overdracht van dit virus gebeurt hoofdzakelijk via een beet van een besmette Aedes-mug. De verantwoordelijke vector is in België nog niet waargenomen. Overdracht van mens tot mens is zeer uitzonderlijk: transplacentaire overdracht (van moeder op ongeboren kind), transmissie via seksueel contact of via bloed zijn gerapporteerd.

Het zikavirus behoort tot dezelfde familie als het denguevirus en het chikungunya virus (Flaviviridae). Op klinische basis zijn infecties met deze virussen moeilijk te onderscheiden. Besmetting met het zikavirus verloopt meestal asymptomatisch. Slechts één

op vijf infecties gaat gepaard met milde, aspecifieke symptomen van koorts, huiduitslag, jeuk en eventueel bijkomend gewrichts-, spier- en/of hoofdpijn. De incubatieperiode varieert van 3 tot maximaal 12 dagen. Twee complicaties worden in verband gebracht met een infectie met het zikavirus: enerzijds het syndroom van Guillain-Barré, anderzijds congenitale microcefalie (te kleine schedelomvang) na transplacentaire overdracht.

Diagnostiek is mogelijk via het Instituut voor Tropische Geneeskunde (PCR op serum / lumbaal vocht en serologie). Therapie is louter symptomatisch. In België wordt afgeraden om bij zwangerschapswens naar landen te reizen waar het zikavirus voorkomt. Zwangerschap wordt afgeraden tot 4 weken na terugkomst van de reis, ook zelfs na verblijf van de partner in deze endemische en epidemische gebieden.

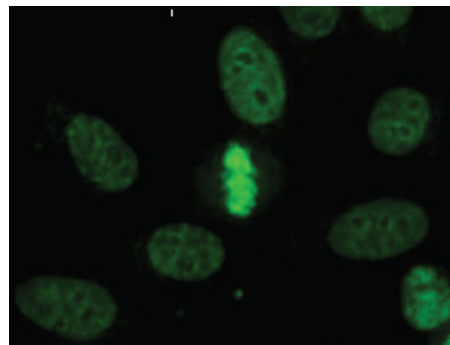
Recente informatie rond het zikavirus kan u terugvinden op het intranet: <http://olvconnect/diensten/ziekenhuishygiene/Paginas/Epiflash.aspx>.

*Dr. Kristien Van Vaerenbergh
labo Microbiologie en Ziekenhuishygiëne
T. 053 72 41 69*

Uitbreiding ANA algoritme met DFS70 IgG

Bij systemische auto-immune reumatologische ziekten (SARD) keert het immuunsysteem van de patiënt zich tegen het eigen lichaamsweefsel, met klinische manifestaties ter hoogte van verschillende organen (bijvoorbeeld gewrichten, nieren, lever, longen, huid, ...). De detectie van anti-nucleaire antistoffen (ANA) in het patiëntserum speelt dan ook een centrale rol in de diagnose van SARD. Vandaag de dag blijft de microscopische, indirecte immunofluorescentie (IIF) analyse op HEp-2 cellen de gouden standaard methode voor de screening naar ANA. Echter, tot 20 % van de gezonde populatie vertoont een positieve ANA IIF test en ANA komen ook aspecifiek voor bij andere pathologieën zoals infectie en neoplasie. Daarom is het noodzakelijk om op IIF positieve stalen, in tweede lijn, confirmatietesten uit te voeren die specifiek de aanwezige ANA gaat identificeren (bijvoorbeeld dubbelstrengig DNA antistoffen, SSA/Ro60 antistoffen, ...).

Recente studies suggereren dat, indien aanwezig als enige ANA, anti-dense fine speckled (DFS70) antistoffen (Ab) SARD kunnen uitsluiten. Deze antistoffen vertonen een karakteristiek beeld op IIF (zie figuur 1) en zijn vaak in hoge ANA IIF titers aanwezig. DFS70 identificatie geeft aldus een verklaring voor de



Figuur 1. Typisch ANA IIF patroon van DFS70 Ab op HEp-2 cellen: dens gespikkelde interfase kern, met karakteristieke heterogeniteit in de grootte, helderheid en verdeling van de spikkels; de metafase plaat vertoont een sterk gespikkelde patroon.

hoge ANA IF titers, kan patiënt en arts geruststellen, verkeerde diagnosestelling en onnodige behandelingen vermijden. De aanwezigheid van DFS70 IgG sluit het ontwikkelen van andere SARD gerelateerde antistoffen niet volledig uit. Bij wijzigingen in het klinische klachtenpatroon van de patiënt is het essentieel om het ANA onderzoek te herhalen.

Lees verder op pagina 2

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/>

Binnen het OLV Ziekenhuis werd, in nauwe samenwerking met de dienst reumatologie, een retrospectieve studie uitgevoerd naar de prevalentie van DFS70 Ab bij ANA IIF positieve stalen. De studie toonde een lage algemene (1,5 %) prevalentie van DFS70 Ab. Specifiek voor stalen met hoge ANA IIF titers ($\geq 1/320$) en een microscopisch IIF patroon, verdacht voor DFS70, kon een hoge prevalentie van 17,5 % worden weerhouden. Belangrijker nog: geen enkele patiënt met geïsoleerde DFS70 antistoffen had SARD. DFS70 Ab kwamen voornamelijk voor bij vrouwen, ambulante en significant jongere patiënten in vergelijking met de algemene ANA positieve populatie (mediaan resp. 44 versus 56 jaar; $p=0,035$).

Deze hoge prevalentie ondersteunt de implementatie van de DFS70 Ab identificatie in het diagnostisch ANA algoritme, echter enkel voor serum-stalen met:

- een hoge ANA IIF titer ($\geq 1/320$);
- een DFS70 ANA IIF patroon;
- negatieve tweedelijns confirmatietesten.

De klinische meerwaarde van dit uitgebreid ANA algoritme, wordt in samenwerking met de dienst reumatologie, opgevolgd en geëvalueerd.

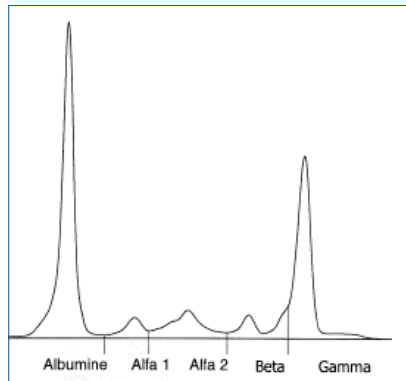
dr. Jelle Smet
dr. Muriel Stubbe
dienst Reumatologie
T. 053 72 42 65

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

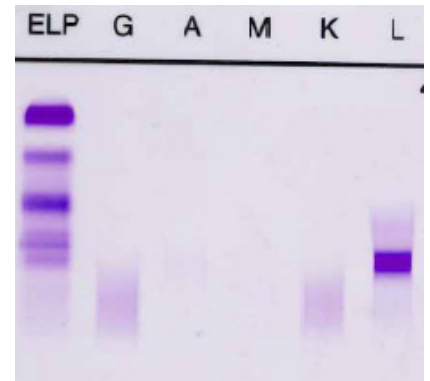
Dosage vrije lichte ketens kappa en lambda

Screeningsonderzoek naar een monoklonale gammopathie impliceert het zoeken naar een monokonaal-proteïne (M-proteïne). Screening dient enkel plaats te vinden bij een gerichte klinische vraagstelling, zoals bijvoorbeeld bij verdenking op een multipel myeloom, de meest voorkomende maligne plasmaceldyscrasie.

Het M-proteïne bestaat meestal uit de combinatie van twee identieke zware (meestal IgG, IgA of IgM) met twee identieke lichte ketens (kappa of lambda), maar kan ook uitsluitend uit lichte ketens of in uiterst zeldzame gevallen enkel uit zware ketens bestaan. Het M-proteïne kan in serum en/of in urine opgespoord worden met verschillende laboratoriumtechnieken. Een eerste screeningsmethode is een eiwit-elektroforese, waarbij al de aanwezige eiwitten in het patiëntserum worden gescheiden op basis van lading en massa (figuur 1). Indien hierbij een 'M-piek' wordt gezien, gebeurt de verdere typering van de betrokken zware en lichte keten met immunofixatie (figuur 2). Ter volledigheid wordt het laboratoriumonderzoek aangevuld met immunofixatie van urine ter detectie van bence jones proteïnurie. Serumeiwitelektroforese is echter vrij ongevoelig voor de detectie van vrije lichte ketens. De dosage van vrije lichte ketens op serum (sFLC) biedt hier een oplossing. Zeker bij AL amyloïdose, Light Chain Multiple Myeloma (LCMM) en Non-Secreting Multiple Myeloma (NSMM) zal deze bepaling een grote meerwaarde bieden. Deze zeer gevoelige test heeft de meer belastende 24-uurs urinecollectie bij de screening naar een multipel myeloom dan ook vervangen. Immunofixatie op een 24-uurs urinecollectie blijft wel nog nodig bij de screening naar AL amyloïdose, omdat bij



Figuur 1. Elektroferogram bekomen na capillaire serum-eiwit-elektroforese met M-piek in de gammafractie.



Figuur 2. Serumimmunofixatie m.b.v. antiserum gericht tegen de zware (IgG, IgA en IgM) en lichte kappa en lambda keten met monoclonale lambda lichte ketens.

een klein deel van de patiënten enkel hier een afwijking zal worden gevonden.

Ook in de International Myeloma Working Group (IMWG) criteria voor de diagnose van multipel myeloom van 2014 werd sFLC opgenomen. De diagnose van multipel myeloom kan volgens deze internationale criteria gesteld worden bij meer dan 10 % plasmacellen in het beenmerg en bij aanwezigheid van een 'myeloma defining event'. Aangezien de ratio van de betrokken FLC (iFLC) versus de niet-betrokken FLC (uFLC) >100 (bij een minimale concentratie van 100 mg/L) een 'myeloma defining event' is, wordt het belang van sFLC hier onderstreept.

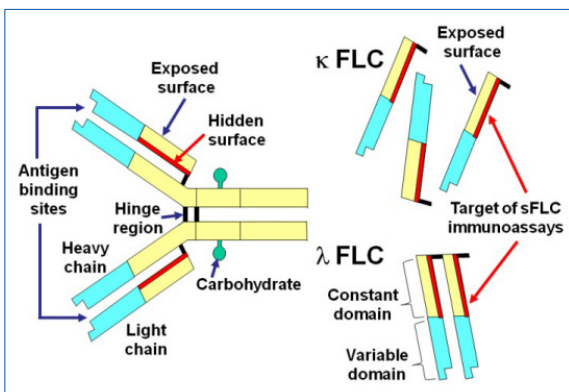
Niet alleen diagnostisch, maar ook prognostisch en voor follow-up is sFLC nuttig. Hoe meer afwijkend de ratio van vrije lichte ketens kappa/vrije lichte ketens lambda (κ/λ ratio), hoe slechter de prognose zal zijn. Voor follow-up kan sFLC worden gebruikt indien geen M-proteïne (meer) meetbaar is in het bloed. Bij

AL amyloïdose zal follow-up steeds met sFLC gebeuren. Het verschil tussen het vorige met het huidige resultaat van de betrokken vrije lichte keten (dFLC) kan dan worden berekend en geïnterpreteerd volgens de IMWG response criteria.

Tot nu toe werd de sFLC naar een extern laboratorium verstuurd. Vanaf juli 2016 voeren we de sFLC zelf uit in het OLVZ laboratorium. Dit zal resulteren in een snellere en vollediger interpretatie van resultaten bij monoklonale gammopathieën. De bepaling gebeurt via een turbidimetrische immuno-assay (Cobas®, Roche) op basis van polyclonaal antiserum (Freelite®, The binding site) welke wekelijks (woensdag) zal worden uitgevoerd. Het antiserum is gericht tegen specifieke antigenen op de lichte ketens, welke enkel beschikbaar zijn in niet-gebonden of 'vrije' toestand (figuur 3). De referentiewaarden blijven behouden.

dr. Julie Jacobs
labo Biochemie
T. 053 72 42 81

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



Figuur 3. Het antiserum gebruikt bij de dosage van vrije lichte ketens is gericht tegen de antigenen op de lichte ketens welke in gebonden toestand niet beschikbaar zijn, waardoor het enkel zal binden met de vrije lichte ketens.

OPGELET!

De bepaling van FLC wordt enkel terugbetaald indien aan diagnoseregul 86 wordt voldaan. Deze regel stelt dat de test enkel aan het RIZIV mag worden aangerekend voor de opvolging van patiënten met primaire amyloïdose, lichte keten myeloom en niet-secreterend myeloom. Indien de test buiten het RIZIV wordt aangevraagd zal deze aan de patiënt worden aangerekend. Dankzij het feit dat we deze analyse zelf uitvoeren vermindert deze kost wel van 65€ naar 36€. Op het aanvraagformulier zal vanaf nu een aankruismogelijkheid zijn met riziv/niet-riziv. Indien niets wordt aangekruist, wordt de test aan de patiënt aangerekend.