

Lab'propos



Volume 30

Juni 2024

Dienst Laboratoriumgeneeskunde AZ Sint-Jan

Campus Sint-Jan

In dit nummer:

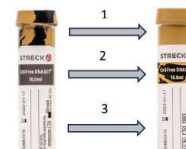
Intro	p.1
Kort nieuws	p.1
Gewijzigde RIZIV nomenclatuur	p.2
Mycobacterie diagnostiek	p.3-4
TDM antimicrobiële middelen	p.5
Overzicht wijzigingen	p.6

Intro

In dit nummer brengen we u op de hoogte van de impact die enkele gewijzigde riziv nomenclatuurnummers en regels hebben. Er is ook een boeiende bijdrage over de diagnostiek van niet-tuberculeuze mycobacteriën. Traditiegetrouw bieden we tot slot een overzicht van alle recente wijzigingen.

Kort nieuws

- Binnenkort wijzigingen de Streck cfDNA tubes, de kleur van de dop (1) alsook de kleur van de band (2) wijzigt. Het label zal nu mat aanvoelen in plaats van glanzend, zodat het gemakkelijker wordt om daarop te schrijven (3).
- Op 1 mei 2024 wijzigden de terugbetalingsregels voor transaminasen. Het nomenclatuurnummer voor de gecumuleerde aanvraag van AST én ALT werd geschrapt en er mag nog slechts één van de twee parameters aangerekend worden aan het RIZIV. We roepen op om de voorkeur naar ALT te laten gaan en AST enkel zeer gericht aan te vragen. Indien ze toch beide aangevraagd worden, dan zal één transaminase aangerekend worden aan de patiënt (€ 3,12).
- De NAT testen (HCV-HBV-HIV) in het kader van donorscreening worden in huis uitgevoerd, met een erg lage detectielimiet, sinds 6/5/2024 op onze Cobas6800. Voorheen werden deze testen uitbesteed. Voordeel van deze wijziging is een aanzienlijk snellere doorlooptijd, meer flexibiliteit, en minder administratieve rompslomp.
- Digitale aanvragen via Cyberlab zijn vanaf 10/6/2024 ook mogelijk binnen campus SFX.



Voor elke ambulante bloedafname op onze bloedafnamedienst dient de patiënt steeds een patiëntenvignet mee te brengen, zowel bij papieren aanvragen als elektronische aanvragen via cyberlab.

Indien de patiënt na een consultatie naar de bloedafname doorverwezen worden, moet er bijgevolg over gewaakt worden dat patiënten de vignetten (terug) mee krijgen.

Dienst laboratoriumgeneeskunde, AZ Sint-Jan Brugge
campus Sint Jan T: 050/45 99 00

Gewijzigde RIZIV nomenclatuur voor Serum Elektroforese

De RIZIV nomenclatuur (artikel 24) voor serum elektroforese is gewijzigd vanaf 1 mei 2024.

- Nieuwe diagnoseregels 171: maximum 1 per kalenderjaar bij het nomenclatuurnummer 540455-540466.
- Nieuw nomenclatuurnummer 542990-543001 voor patiënt met gekende monoclonale gammopathie.

Dit heeft implicaties voor de aanvragen van elektroforese en immunofixatie in serum.

1. Elektroforese

Bij aanvraag "elektroforese(+ immunofixatie bij M-piek)" moet men voortaan de diagnosecode aanduiden:

- Gekende monoclonale gammopathie
- Niet gekend: max. 1 per kalenderjaar

Bij een tweede, of meerdere aanvragen binnen hetzelfde kalenderjaar zal de elektroforese automatisch stopgezet worden bij niet-gekende casus. Indien het voor opvolging van een gekende casus is, dan heeft de aanvrager de optie om 'Gekende monoclonale gammopathie' te kiezen. Voor beide indicaties blijft het verboden om de elektroforese te cumuleren met de kwantificering van serum albumine (RIZIV cumulregel 11).

2. Immunofixatie

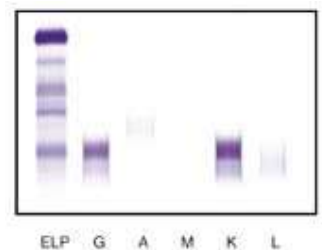
De RIZIV nomenclatuur (diagnoseregels 8) voorziet terugbetaling van immunofixatie enkel indien een abnormale fractie (M-piek) wordt waargenomen bij de elektroforese, OF bij een patiënt onder behandeling wegens monoclonale gammopathie.

Bij geen enkele aanvraag voor elektroforese dient men zelf specifiek de immunofixatie aan te vragen. Ongeacht de diagnosecode, wordt steeds proactief een immunofixatie door het laboratorium uitgevoerd indien:

- Extra fractie of gestoord profiel in de beta- of gammazones: eerste waarneming
- Gekende monoclonale gammopathie: steeds na 1 jaar follow-up

De aanvrager kan de immunofixatie wel afzonderlijk aanvragen zonder elektroforese, maar enkel in het kader van een opvolging therapierespons (RIZIV voorwaarde), dus niet voor screening of diagnose.

Aanvragen voor elektroforese en immunofixatie kunnen bijgevolg niet onderling gecumuleerd worden in cyberlab. Indien u elektroforese kiest bij elke indicatie (screening, diagnose of opvolging), dan volgt steeds de immunofixatie enkel wanneer dit relevant is. Wanneer u direct de immunofixatie kiest voor follow-up bij een gekende patiënt, dan wordt geen elektroforese uitgevoerd.



Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. M. Langlois.

Optimalisatie van de mycobacterie diagnostiek

Het bacteriegeslacht *Mycobacterium* wordt opgedeeld in drie groepen, de obligate pathogenen van het *M.tuberculosis*-complex, *M.leprae* en de restgroep die als geheel de niet-tuberculeuze mycobacteriën (NTM) wordt genoemd. NTM-infecties manifesteren zich doorgaans als longinfecties en minder frequent als cervicale lymfadenitis bij kinderen, inoculatie-infecties van huid- en weke delen of gedissemineerde ziekte bij immuun-gecompromitteerden in brede zin [1]. Van oudsher worden de NTM's ingedeeld in snelle en langzame groeiers, gedefinieerd door zichtbare groei in respectievelijk minder of meer dan zeven dagen. Verwekkers van NTM-longinfecties behoren voornamelijk tot de laatste groep [2]. De NTM omvatten circa 200 species met uiteenlopende klinische relevantie. Mede doordat vele species in ons leefmilieu voorkomen, is het onderscheid tussen contaminatie na blootstelling uit het milieu en echte infectie cruciaal voor de diagnostiek. Om de diagnose NTM-longinfectie te stellen, moet worden voldaan aan een set criteria [3]:

Kliniek:

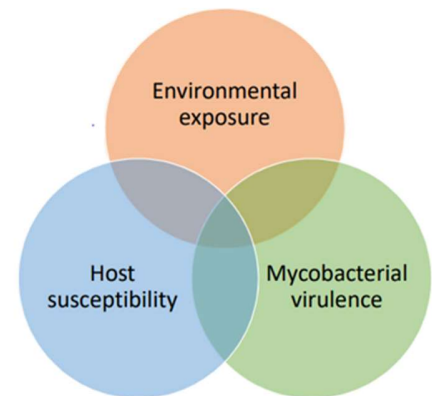
- Passende symptomen; en
- Exclusie van andere diagnoses

Radiologie:

- Nodulair-bronchiëctatische of holtevormende afwijkingen

Microbiologie:

- Twee of meer separate sputum-monsters zijn positief voor dezelfde NTM species; of
- Indien sputumproductie niet lukt: 1 kweekpositief BAL; of
- Longbiopsie met passende histopathologische kenmerken (granulomateuze ontsteking of zichtbare zuurvaste staven) én NTM positieve weefselkweek of kweekpositieve sputa of BAL.



Behandeling bestaat altijd uit ondersteunende, vaak uit antibiotische en soms uit adjuvante chirurgische therapie. Antibiotische therapie omvat langdurige behandeling met drie of meer middelen, variërend per species, en gaat vaak gepaard met bijwerkingen en interacties. Behandeluitkomsten variëren ook sterk per species, van slecht tot suboptimaal.

Microbiologische diagnostiek

Microbiologische diagnostiek is essentieel voor het bepalen van de klinische relevantie en therapiekeuze van NTM-infecties. De betrouwbaarheid is echter sterk afhankelijk van de kwaliteit van het verkregen materiaal, waarbij weefselbiopten van aangetaste zones, BAL of geïnduceerd sputum ideaal kunnen zijn. De laatste 18 maanden werd er intensief gevalideerd voor zowel kweek als gevoeligheidsbepaling van zowel *M. tuberculosis* complex als van de non-tuberculosis *Mycobacteria*, en optimale moleculaire identificatie van NTM.

M.tuberculosis complex

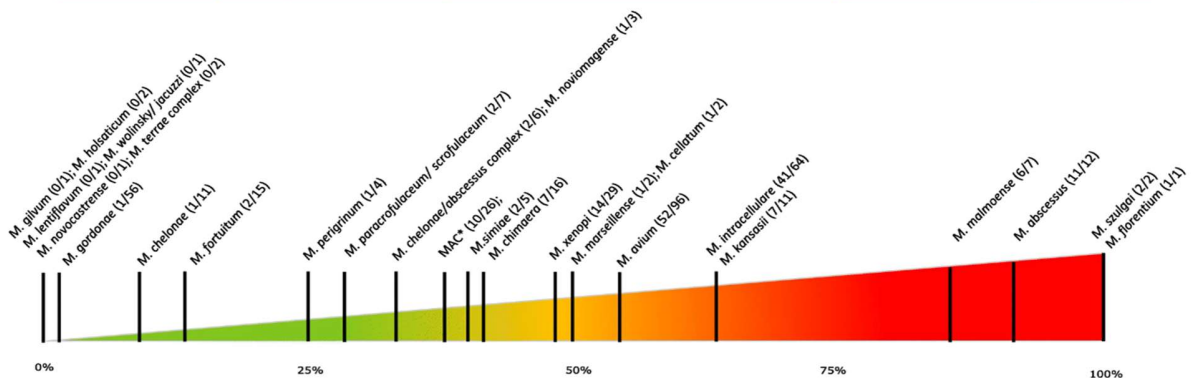
Sinds vele jaren gebeurt er basisdiagnostiek voor *M.tuberculosis* complex infecties in ons labo, namelijk microbiologische technieken (microscopie met zuurvaste kleuring, *Mycobacterium tuberculosis* kweek op MGIT, specifieke PCR voor detectie van *M.tuberculosis* complex op staal rechtstreeks, inclusief moleculair nazicht van rifampicine-gevoeligheid) naast immunologische technieken (de T-SPOT als IGRA, interferon gamma release assay). Recent werd hier de kweek op Löwenstein-Jensen medium aan toegevoegd, evenals het uitvoeren van een gevoeligheidsbepaling met behulp van fluorescentiemeting.

Optimalisatie van de mycobacterie diagnostiek (vervolg)

NGS voor identificatie van NTM

Identificatie van het NTM-(sub)species is essentieel voor de bepaling van de klinische relevantie en therapiekeuze. Identificatie vindt voornamelijk plaats gebeurt via moleculaire technieken, waaronder zogeheten line probe assays, partiële en multiële gensequentieanalyse en meer recentelijk whole-genome sequencing (WGS). Sequentieanalyse van onder meer de 16S-rRNA, 16S-23S ITS, hsp65 en rpoB-genen maakt identificatie op speciesniveau mogelijk. Identificatie tot subspeciesniveau is vooral relevant voor *M. abscessus*, waarbij behandeluitkomsten slechter zijn bij *M. abscessus subsp. abscessus* dan bij *M. abscessus subsp. massiliense* door verschillen in inducerbare macrolideresistentie [4]. Wij hebben gekozen voor de NGS (next-generation sequencing) dmv Nanopore obv 16S-rRNA en hsp65-genen, waarmee we een erg hoge gevoeligheid en tegelijk optimale specificiteit bekomen, zowel op klinische monsters zelf als op positieve kweken [5,6,7].

From: [Clinical relevance of pulmonary non-tuberculous mycobacterial isolates in three reference centres in Belgium: a multicentre retrospective analysis](#)



Ratio of clinical significance. Clinical significance per species; presented as a percentage based on the number of cases meeting ATS/IDSA criteria for NTM-PD and the total number of isolates per species. MAC and *M. chelonae/abscessus* complex, not further specified, were regarded separately. On the left, species of low virulence are found and on the right the most pathogenic species. Figure concept van Ingen et al., Thorax 2009, with permission

Gevoeligheidsbepaling van NTM

De gouden standaard voor gevoeligheidsbepalingen van NTM is de microdilutiemethode, met de door het Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) voorgestelde breekpunten (een EUCAST-methode is nog in ontwikkeling). Op basis van correlaties tussen in-vitrogevoeligheid en behandeluitkomsten wordt aanbevolen om de gevoeligheid te testen van macroliden (met claritromycine als vertegenwoordiger uit deze klasse) en amikacine bij MAC en *M. abscessus* en rifampicine bij *M. kansasii*; voor andere middelen en andere NTM-species is voorzichtigheid bij de interpretatie van in-vitrogevoeligheden geboden. Hoewel duidelijke correlaties tussen in vitro en in vivo ontbreken, zijn recent ook voorlopige breekpunten beschreven voor linezolid en moxifloxacin in de derde editie van de betreffende CLSI-richtlijn [8].

Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. K. Floré en dr. M. Reynders

[1] Honda JR, Knight V, Chan ED. "Pathogenesis and risk factors for nontuberculous mycobacterial lung disease." Clin Chest Med. 2015;36:1-11.

[2] Tortoli E. "Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections." Clin Microbiol Infect. 2009;15:906-10.

[3] Daley CL, Iaccarino JM, Lange C, et al. "Treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an official ATS/ERS/ESCMID/IDSA clinical practice guideline." Eur Respir J. 2020;56:2000535.

[4] Park J, Cho J, Lee C-H, Han SK, Yim J-J. "Progression and Treatment Outcomes of Lung Disease Caused by Mycobacterium abscessus and Mycobacterium massiliense." Clin Infect Dis. 2016;64:301-8.

[5] Vanhee M, Floré K, Vanthourenhout S, Hellemans J, Muyldermans A, Reynders M. "Implementation of full-length 16S nanopore sequencing for bacterial identification in a clinical diagnostic setting." Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 108.2 (2024): 116156.

[6] T. Chin, M. Vanhee, J. Van Praet, A. Muyldermans, K. Floré, M. Reynders. "NTM detection in a culture negative skin biopsy using bacterial sequencing: a case report." ESM-abstract, Brugge, 23-26/6/2024

[7] T. Chin, S. Vandecasteele, M. Reynders, A. Muyldermans, K. Floré. "A *M. abscessus* tenosynovitis case: a diagnostic odyssey." ESM-abstract, Brugge, 23-26/6/2024

[8] Woods GL, Brown-Elliott BA, Conville PS, et al. "CLSI Standards: Guidelines for Health Care Excellence. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes." Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.

Dienst laboratoriumgeneeskunde, AZ Sint-Jan Brugge
campus Sint Jan T: 050/45 99 00

TDM Antimicrobiële middelen – praktisch overzicht

Sinds begin mei 2024, worden de azoles (posaconazol, voriconazol en isavuconazol) in campus SJ bepaald en dit twee keer per week op dinsdag en vrijdag.
Onderstaand overzicht vat samen op welke momenten staalnames bij voorkeur gebeuren en wanneer resultaten verwacht kunnen worden.

	MAANDAG	DINSDAG	WOENSDAG	DONDERDAG	VRIJDAG	WEEKEND
Voriconazole	Afname op ijs DAL spiegel <i>SN > 3 dagen na opladen/wijzigen dosis</i>	staal vóór 8u in labo) Resultaat		Afname op ijs DAL spiegel <i>SN > 3 dagen na opladen/wijzigen dosis</i>	(staal vóór 8u in labo) Resultaat	
Posaconazol	DAL spiegel <i>SN > 1 week na opladen</i>	staal vóór 8u in labo) Resultaat		DAL spiegel <i>SN > 1 week na opladen</i>	staal vóór 8u in labo) Resultaat	
Isavuconazol	DAL spiegel <i>SN > 1 week na opladen</i>	staal vóór 8u in labo) Resultaat		DAL spiegel <i>SN > 1 week na opladen</i>	staal vóór 8u in labo) Resultaat	
Bèta-lactam antibiotica <i>(ceftazidime – ceftriaxone – flucloxacilline – meropenem – piperacilline)</i>			Afname op ijs Css -spiegel <i>SN ≥ 24u na start/wijzigen dosis</i>	(staal vóór 8u in labo)	Resultaat	
Amikacine <i>Enkel indien therapie > 3 dagen</i>	DAL spiegel PIEK spiegel Resultaat	DAL spiegel PIEK spiegel Resultaat	DAL spiegel PIEK spiegel Resultaat	DAL spiegel PIEK spiegel Resultaat	DAL spiegel PIEK spiegel Resultaat	DAL spiegel PIEK spiegel Resultaat
Vancomycine	Css spiegel <i>SN ≥ 24u na start/wijzigen dosis</i> Resultaat	Css spiegel <i>SN ≥ 24u na start/wijzigen dosis</i> Resultaat	Css spiegel <i>SN ≥ 24u na start/wijzigen dosis</i> Resultaat	Css spiegel <i>SN ≥ 24u na start/wijzigen dosis</i> Resultaat	Css spiegel <i>SN ≥ 24u na start/wijzigen dosis</i> Resultaat	Css spiegel <i>SN ≥ 24u na start/wijzigen dosis</i> Resultaat
Antivirale middelen <i>(aciclovir – ganciclovir)</i>			(DAL spiegel) (PIEK spiegel)			

* **SN** = staalname // **DAL**spiegel = vlak voor toediening // **PIEK**spiegel = 60 min na start infuus // **Css** = concentraties op "steady state"; moment van staalname minder belangrijk want infuus loopt continu, steeds infuus stoppen en IV-lijn spoelen voor SN.

Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. K. Floré

Overzicht actuele papieren aanvraagformulieren:

Aanvraagbrief voor HLA/HPA	STJHLA-20	2024-juni
Algemene aanvraagbrief voor laboratoriumtesten	STJALG-33	2024-mei
Aanvraagbrief voor microbiologische diagnostiek	STJMIC-26	2024-mei
Aanvraagbrief voor inf.serologie en moleculaire microbiologie	STJSER-31	2024-mei
Aanvraagbrief voor toxicologie en TDM	STJTOX-18	2024-maart
Aanvraagbrief voor immunologie	STJRAS-21	2024-maart

Dienst laboratoriumgeneeskunde, AZ Sint-Jan Brugge
campus Sint Jan T: 050/45 99 00

Overzicht wijzigingen

Test	Rubriek	
Haptoglobine	Methode <i>Mei 2024</i>	Nieuwe generatie reagentia (Hapt_2 rev.3)
Lactaat	Methode <i>Mei 2024</i>	Nieuwe generatie reagentia (Lac_3 rev.4)
Posaconazol Voriconazol Isavuconazol	Toestel & Methode <i>Mei 2024</i>	HPLC met fluorescentie-detectie CE-IVD kit Chromsystems
NAT testen ikv donorscreening of weefselbanken	Toestel & Methode <i>Mei 2024</i>	Cobas 6800 PCR methode
PFA-200	Toestel <i>Juli 2024</i>	Voorheen PFA-100
Serum eiwit- elektroforese & immunofixatie	Riziv nomenclatuur <i>01/05/2024</i>	→ <i>Zie artikel blz 2</i>
AST & ALT	Riziv nomenclatuur <i>01/05/2024</i>	Combinatie van beide zorgt voor aanrekening van één aan het RIZIV en één ten laste van de patiënt (€ 3,12)
Proteïne 14-3-3	Informed consent & aanrekening <i>14/06/2024</i>	Mits volledig ingevuld aanvraagformulier, inclusief informed consent ondertekend door de patiënt(e) worden de kosten gedragen door het NRC-ddCJD consortium en niet langer rechtstreeks aan de patiënt aangerekend.
Histamine	Geschrapt <i>Maart 2024</i>	De bepaling van Histamine is niet langer beschikbaar