

# Lab'propos

**AZ**  
**Sint-Jan**  
**Brugge**

Volume 31

September 2024

**Dienst Laboratoriumgeneeskunde AZ Sint-Jan**

Campus Sint-Jan

## In dit nummer:


Intro & kort nieuws	p.1
Panfungale sequencing	p.2
MPOX circulatie	p.3
dsDNA antistoffen	p.3
Stollingstesten op troebele stalen	p.4
Uitbreiding analyses auto-immuniteit	p.4
Moleculaire hematologie	p.5
Overzicht wijzigingen	p.6-7

## Intro

In deze editie brengen we u op de hoogte van onze nieuwe in-huis methode voor panfungale sequencing, een nieuwe manier om stollingsresultaten te bekomen bij troebele stalen en geven we een update over de diagnostiek bij MPOX. Geheel zoals u van ons gewoon bent bieden we ook nu een overzicht van alle recente wijzigingen.

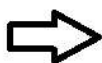
## Kort nieuws

- Sinds begin augustus wordt de "Extended Martin/Hopkins formule" gebruikt voor de berekening van LDL-cholesterol in het laboratorium. Deze "extended" formule, ontwikkeld door Dr. Martin van de Johns Hopkins Universiteit (VS), kan onbepaald het LDL-cholesterol berekenen bij patiënten met hypertriglyceridemie tot 800 mg/dL, daar waar de originele Martin/Hopkins formule (hier ingevoerd in 2022) en ook de oude Friedewald formule beperkt waren tot triglyceriden <400 mg/dL. De extended Martin/Hopkins formule werd in de literatuur gevalideerd t.o.v. de LDL-referentiemethode (ultracentrifugatie) in grote populatiestudies, en toonde t.o.v. de Friedewald formule een herklassificatie van ongeveer 40% van de patiënten naar een correcte LDL-risicoklasse. De berekening wordt kosteloos uitgevoerd op basis van de bepalingen van totaal cholesterol, HDL-cholesterol en triglyceriden, en dit kan zowel in nuchtere als in postprandiale toestand tot triglyceriden 800 mg/dL .
- Vanaf 1 november 2024 wordt de analyse foliumzuur in rode bloedcellen niet meer aangeboden wegens obsoleet en doordat er geen terugbetaling voor deze analyse meer bestaat.

Om de patiënt correct te kunnen informeren over niet-terugbetaalde analyses worden deze sinds jaar en dag zowel op onze papieren aanvraagbrieven als in de digitale orders in cyberlab gemarkeerd met een (€) teken. Sinds kort kan men via het paperclip icoontje  in cyberlab meteen doorklikken naar de juiste pagina van de betrokken analyse in onze labogids. Dit bespaart de aanvrager ettelijke kliks om naar de labogids te surfen en te doorzoeken. Men komt op die manier een stukje vlotter bij de rubriek 'Tarificatie' terecht.

### AZ Microbiologie

- Dermatofyten kweek 
- Pityrosporum (Malassezia furfur) 
- Scabiës PCR (€)  



### Tarificatie buiten nomenclatuur

Buiten nomenclatuur:	Test uitgevoerd buiten nomenclatuur, rekening patiënt
Prijs in euro:	32.00

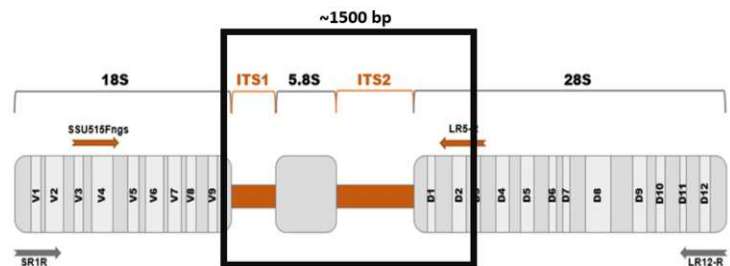
Dienst laboratoriumgeneeskunde, AZ Sint-Jan Brugge  
campus Sint Jan T: 050/45 99 00

## Panfungale sequencing

Sinds begin augustus 2024 worden de resultaten van de panfungale sequencing routinematig gerapporteerd, na maandenlange analytische en klinische validatie aan de hand van gekende schimmels (DNA-materiaal of opgekweekte stammen), QC-materiaal en invasieve monsters van vnl. hematologiepatiënten.

Voor de zoektocht naar causale pathogene schimmels in diepe stalen werd er gekozen voor targeted nanopore sequencing. Dit testprincipe werd eerder reeds gevalideerd en is in gebruik voor panbacteriële sequencing, HBV en HCV genotypering.

Als sequencing target werd gekozen voor een ~1500 bp regio in het fungale ribosomale operon dat zich uitstrekt over de volledige ITS-1, 5.8S en ITS-2 regio, tot en met de D1 en D2 regio van het 28S operon.



Voor de data-analyse wordt de bekomen DNA sequentie vergeleken met moleculaire databanken voor schimmels via de identificatietool van het "Westerdijk Fungal Biodiversity Institute". Het taxonomisch niveau van identificatie is afhankelijk van de variabiliteit van de ITS regio binnen het desbetreffend taxon. Soms is dus onderscheid mogelijk op species-niveau, in andere gevallen maar tot genus-niveau.

Voor diagnostiek van gisten en schimmels in het algemeen is het van groot belang om **adequat patiëntmateriaal** te ontvangen van de infectiehaard, weefsels/biopsen en diepe punctaten zijn ideaal. Wissers zullen niet aanvaard worden oww te weinig opbrengst. Staal pre-analytisch steriel houden om contaminatie met bacterieel/fungaal DNA uit de omgeving te vermijden.

Deze analyse bevindt zich als een nieuwe aanvullende tool in de fungale diagnostiek naast RO (rechtstreeks onderzoek), Antigentesten voor *Cryptococcus neoformans* en *Aspergillus spp*, Gist- en schimmelkweek, PCR *Aspergillus fumigatus*, PCR *Cryptococcus neoformans* en PCR *Pneumocystis jirovecii*, Aspergenius en Mucorgenius-testen, en BDG (bèta-D-glucan) bepaling.

Juistheid op genusniveau werd aangetoond voor 35 verschillende species binnen 24 verschillende fungale genera: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Candida*, *Cladosporium*, *Cryptococcus*, *Cunninghamella*, *Cutaneotrichosporon*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Geotrichum Lichtheimiae*, *Lomentospora*, *Malassezia*, *Microsporium*, *Nanizzia*, *Penicillium*, *Pichia*, *Pneumocystis*, *Rhizopus*, *Scedosporium*, *Scopularia*, *Trichophyton*.

De gevoeligheid van de panfungale sequencing kan niet exact worden bepaald, maar is minder dan bij de specifieke enkelvoudige PCR- en antigenetsten. Panfungale sequencing dient met andere woorden altijd als complementair te worden beschouwd, naast deze andere methoden, als diagnostische screening voor een breed gamma aan schimmelinfecties.

De kostprijs van deze sequencing bedraagt actueel 64 euro ten laste van de patiënt. De werkgroep Microbiologie is intensief bezig aan een terugbetalingsdossier voor NGS-toepassingen in de klinische infectieuze diagnostiek, dus mogelijk volgt specifieke nomenclatuur op korte termijn.

**Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. M. Reynders**

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

## MPOX circulatie nieuwe clade Ib 2024

De monkeypox (mpox) epidemie met **clade IIb** (in 2022 in België verantwoordelijk voor 790 gevallen) heeft wereldwijd intussen >100000 gevallen veroorzaakt in 122 landen. De verspreiding van deze virusstam zet zich gestaag verder. In 2024 werden een 14-tal gevallen bevestigd in België (periode januari-augustus 2024).

Mpox kent clade I en clade II. Klinisch kan men het onderscheid niet maken. Elke virale clade heeft subclades: clade Ia en Ib; clade IIb. Outbreaks van deze verschillende clades hebben verschillende karakteristieken, verschillende verspreidingswijzen, of zelfs hoeveel overlappend ze veroorzaken.

Actueel zijn er outbreaks van mpox **clade Ib** in delen van Centraal en Westelijk Afrika, verspreidend vanuit de Democratische Republiek van Congo (Gabon, Kenia, Congo, Kameroen, Uganda, Centraal Afrikaanse Republiek).

Mpox wordt meestal doorgegeven via huid-op-huid contact. Zulke contacten gebeuren waar mensen dicht op elkaar wonen, of via seksueel contact met een besmette persoon met mpox. Het virus kan ook verspreid worden door direct contact met besmette oppervlakten of materialen. In gebieden waar het virus regelmatig circuleert, zijn gevallen beschreven waarbij mensen mpox opliepen na contact met geïnfecteerde dieren.

Besmette personen ontwikkelen vaak een rash die pijnlijk of jeukend kan zijn en gelokaliseerd is op handen, voeten, borstkas, aangezicht of mond, of in de genitale zone. De incubatieperiode bedraagt 3 tot 17 dagen. Typisch starten de klinische tekenen met griepachtige symptomen binnen de 20 dagen na blootstelling aan het virus. Een persoon wordt als besmettelijk beschouwd vanaf 1 tot 4 dagen voor de start van huidletsels, tot het moment dat de rash is opgeklaard en de huidletsels volledig hersteld zijn.

De mpox PCR bepaling gebeurt sinds juli 2022 in campus SJ, is op verschillende staaltypes gevalideerd en wordt standaard twee keer per week ingezet, of frequenter bij dringende aanvragen. De PCR zal de Ib variant die sinds 2024 aan een snelle verspreiding bezig is, zeker oppikken.

**Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. M. Reynders**

---

## dsDNA antistoffen

Anti-dsDNA antistoffen zijn belangrijk voor de diagnose en follow-up van patiënten met systemische lupus erythematosus. De detectie van deze antistoffen is tot op heden niet gestandaardiseerd. Laboresultaten verschillen naargelang de herkomst en de aard van het dsDNA antigen, de manier van antigenpresentatie in de test, de techniek en de detectiemethode. In het verleden werden in ons laboratorium meerdere technieken al dan niet in combinatie toegepast: de CLIFT (Crithidia Lucillae immunofluorescentie test), een CLIA (chemiluminescentie immunoassay) en een FEIA (fluoroenzym immunoassay).

In de loop van september zullen wij een flow opstarten waarbij ANA- (anti-nuclear antibody) kernpositieve sera zullen worden getest met een sensitieve maar minder specifieke dsDNA antistof screeningstest, die wordt gevolgd door de specifiekere CLIFT ingeval van een twijfelachtige of positieve screeningstest. In een tijdelijke evaluatiefase zullen zowel een CLIA (onze huidige dsDNA antistof methode) als een FEIA worden uitgevoerd als screening. Dit betekent dat de CLIFT volgt indien een van beide of beide screeningstesten twijfelachtig of positief scoren. In functie van de resultaten zullen wij zo snel mogelijk overgaan tot één enkele dsDNA antistof screeningsmethode. Uitzonderingen op deze flow zijn mogelijk na contact met de klinisch biologen.

**Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. M. Vercammen**

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

**3 van 7**

## Alternatieve methode voor routine stollingstesten op troebele stalen

De routine stollingsparameters PT%, INR, aPTT en fibrinogeen worden standaard gemeten op een automatische stollingsanalyzer (ACL Top, Werfen) met optische detectie van het stolpunt. Wanneer het plasma van de stalen echter te troebel is door hemolyse, icterie of lipemie is de optische meting niet betrouwbaar en wordt geen resultaat gerapporteerd.

In deze gevallen wordt voortaan spontaan overgeschakeld op een nieuwe alternatieve manuele meetmethode (Start Max, Stago) met mechanische detectie van het stolpunt, waardoor er geen interferentie meer optreedt door hemolyse, icterie of lipemie en alsnog een resultaat kan gegenereerd worden. Aangezien de analyse manueel wordt uitgevoerd is een grotere variabiliteit op het testresultaat mogelijk t.o.v. de standaard geautomatiseerde meting; dit wordt ook telkens zo gerapporteerd. In tegenstelling tot het vorige alternatieve toestel biedt het nieuwe alternatieve toestel niet enkel de mogelijkheid om INR te meten, maar ook PT%, aPTT en fibrinogeen. De alternatieve methode voor fibrinogeen zal echter enkel uitgevoerd worden igv afwijkende PT en/of aPTT.

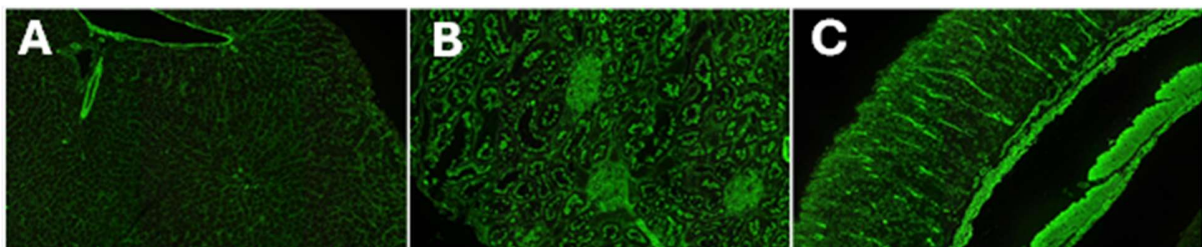
Opgelet: de referentiewaarden voor de alternatieve methode voor aPTT (28-40 sec) verschillen van de referentiewaarden van de standaard methode (25-37sec)!



Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. J. Emmerechts

## Uitbreiding analyses auto-immuniteit

Sinds 07/2024 wordt het opsporen van anti-gladde spier antistoffen (ASMA), anti-mitochondriën antistoffen (AMA), anti-lever/nier/microsoom antistoffen (anti-LKM) en anti-pariëtaalcyantistoffen (APCA) in huis uitgevoerd. Deze analyses werden voorheen uitgevoerd in UZ Leuven, de in huis uitgevoerde assay is identiek, nl. d.m.v. indirecte immunofluorescentie met knaagdier (muis) lever/nier/maag-coupes (figuur 1). Bij een simultane aanvraag van ASMA, AMA en anti-LKM (uitwerking auto-immuun leverlijden) kunnen deze patronen in één analyse opgespoord worden. Indien een patroon herkend wordt (bv. APCA) doch niet werd aangevraagd, zal dit als commentaar op het rapport vermeld worden. De screeningstiters (kinderen vs. volwassenen) en de referentiewaarden werden o.b.v. de meeste recente richtlijnen geüpdatet (cfr. labogids).



Positieve anti-gladde spier antistoffen (ASMA) d.m.v. indirecte immunofluorescentie op lever (A) / nier (B) / maag (C) – coupe (muis-LKS coupe, Werfen).

Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. M. Vercammen & apr. klin. biol. L. Nevejan

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

## Wijziging moleculaire hematologie

### Nieuwe NGS overeenkomst, nieuwe T cel receptor klonaliteitsanalyse en WT1 overexpressie

Sinds 1 september wordt bij het aanvragen van de T-cel receptor genherschikking, naast de huidige T-cel receptor gamma klonaliteitsanalyse (in-house methode -TRG-LDT- gebaseerd op Delabesse et al. 2000), een bijkomende analyse ingezet voor detectie van T cel receptor beta en gamma herschikkingen (TRB+TRG) met een CE-IVD kit van de firma Invivoscribe (IVS).

Door het simultaan uitvoeren van TRB en TRG zal de theoretische gevoeligheid van de TCR test met  $\pm 5\%$  toenemen tot 98% (Liu et al en Bruggeman et al. 2007). Bovendien kan deze bijkomende informatie nuttig zijn bij onduidelijke casussen en twijfelachtige profielen.

Een uitgebreide validatie van 78 routine stalen toont dat de gevoeligheid van de huidige methode (TRG-LDT) optimaal is, echter de nieuwe IVS analyses zijn specifiek en zullen het aantal vals positieve resultaten verminderen.

De vastgestelde sensitiviteit en specificiteit van de verschillende TCR klonaliteitsanalyses is als volgt:

TCR-LDT (in huis) : sensitiviteit 100% en specificiteit 67%

TRB-IVS : sensitiviteit 79% en specificiteit 75%

TRG-IVS : sensitiviteit 83% en specificiteit 93%

TRB-IVS + TRG-IVS: sensitiviteit 92% en specificiteit 74%

De verschillende TCR analyses zullen wekelijks uitgevoerd worden met een maximale antwoordtijd van 2 weken. De conclusie van de 3 verschillende analyses zal in een gezamenlijk besluit opgenomen worden.

Er zijn geen bijkomende kosten verbonden aan deze verandering.

Op 30 juni werd de bestaande NGS conventie voor **terugbetaling van NGS in de hematologie** en oncologie (gestart in 2019) stopgezet. De financiering van NGS in oncologie en hemato-oncologie werd opgenomen in een nieuwe overeenkomst in toepassing van art.22 6°bis dd. 1 juli 2024. Tevens zal het NGS MYELOID XL panel van 144 genen niet meer uitgevoerd worden. Ook de facturatie van de andere moleculaire testen uit art.33 bis en art.33-ter is betrokken in de wijzigingen onder vermelding van diagnoseregels. Meer informatie over de wijzigingen kan in het laboratorium opgevraagd worden.

Vanaf oktober zullen we de **WT1 overexpressie analyse** uitvoeren bij acute myeloïde leukemie. WT1 overexpressie is een niet specifieke merker die aanwezig is bij ongeveer 80% van de AML patiënten. De hoeveelheid WT1 transcript wordt bepaald door een in huis ontwikkelde real-time kwantitatieve PCR. Om rekening te houden met variatie van de RNA kwaliteit/kwantiteit en bepaling van de efficiëntie van de cDNA synthese, gebeurt normalisatie met het huishoudgen ABL1.

De bekomen waarde stelt een verhouding voor van het aantal mRNA molecules WT1 op 10.000 molecules van het huishoudgen ABL1. Bij gezonde personen is een normale WT1 achtergrondexpressie aanwezig, wat de gevoeligheid van de analyse als MRD merker vermindert.

Normale waarden zijn:  $<250$  WT1/10.000 ABL1 voor beenmerg en  $<50$  WT1/10.000 ABL1 voor perifeer bloed. De gevoeligheid van WT1 expressieanalyse voor MRD opvolging is beperkt, en afhankelijk van de sterkte van overexpressie die werd vastgesteld bij het diagnosestaal. Enkel bij sterke overexpressie ( $>1000$  WT1/10.000 ABL1 in beenmerg bij diagnose) kan een gevoeligheid van 1 op 100 à 1000 worden bereikt. Daarom zal deze analyse enkel worden uitgevoerd indien er geen andere MRD merker beschikbaar is.

**Voor bijkomende inlichtingen kan u terecht bij dr. H. Devos**

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

5 van 7


## Wijziging in Cyberlab resultatenviewer

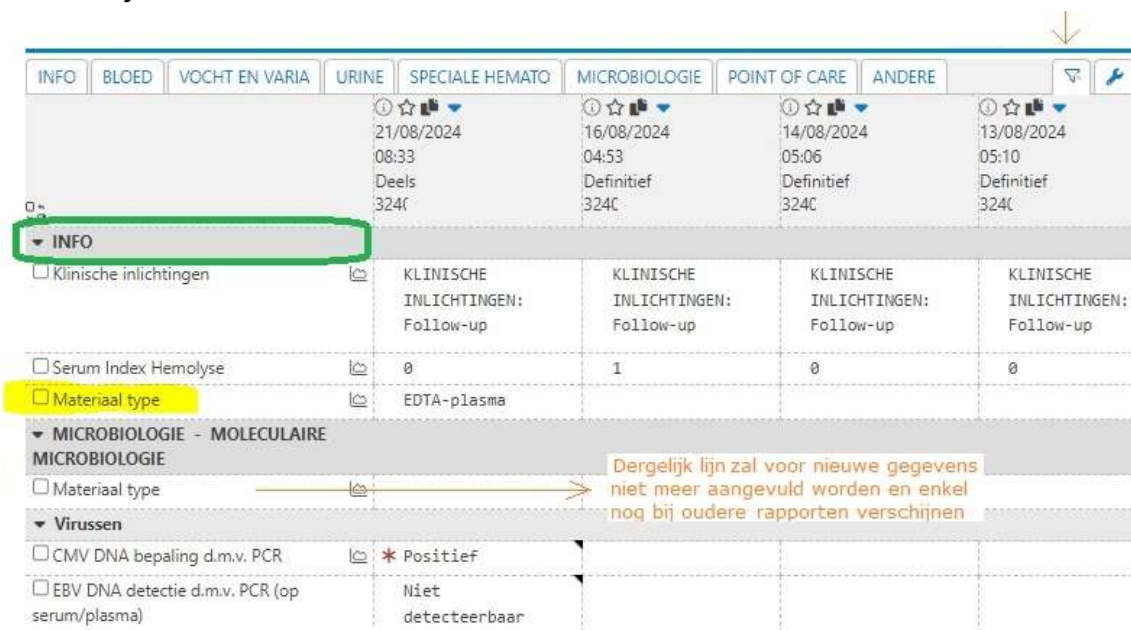
Eind augustus werd een wijziging aangebracht in de labo resultatenviewer (cyberlab) bij de rapportering van het "materiaal type". Voorheen kwam de info over het materiaal type vaak op verschillende plaatsen in het rapport terug. Afhankelijk van de gewenste onderzoeken verscheen de vermelding bijvoorbeeld zowel onder immuunfenotypering als bij de moleculaire bepalingen.

De achterliggende structuur werd herwerkt naar een éénduidige vermelding die consequent bij de algemene info bovenaan het rapport verschijnt.

De wijziging heeft geen terugwerkende kracht, bij een cumulatief overzicht zullen voor oudere rapporten dus nog steeds de oorspronkelijke vermeldingen staan en kan het lijken alsof er lege vakjes zijn bij materiaaltype terwijl dit weldegelijk doorstroomt, zij het op één plaats, bij de rubriek "info".

Voornameijk wanneer u in de resultviewer gebruik maakt van de tabbladen kan de info balk gemaskeerd zijn.

Via het knopje  kan u de info balk, en dus de verduidelijking over het materiaal type, op elk moment terug laten verschijnen.



INFO	BLOED	VOCHT EN VARIA	URINE	SPECIALE HEMATO	MICROBIOLOGIE	POINT OF CARE	ANDERE
21/08/2024 08:33 Deels 324C					16/08/2024 04:53 Definitief 324C	14/08/2024 05:06 Definitief 324C	13/08/2024 05:10 Definitief 324C
<input checked="" type="checkbox"/> <b>INFO</b> <input type="checkbox"/> Klinische inlichtingen <input type="checkbox"/> Serum Index Hemolyse <input checked="" type="checkbox"/> <b>Materiaal type</b> <input type="checkbox"/> <b>MICROBIOLOGIE - MOLEculaire</b> <input type="checkbox"/> <b>MICROBIOLOGIE</b> <input type="checkbox"/> Materiaal type <input type="checkbox"/> <b>Virussen</b> <input type="checkbox"/> CMV DNA bepaling d.m.v. PCR <input type="checkbox"/> EBV DNA detectie d.m.v. PCR (op serum/plasma)				KLINISCHE INLICHTINGEN: Follow-up	KLINISCHE INLICHTINGEN: Follow-up	KLINISCHE INLICHTINGEN: Follow-up	KLINISCHE INLICHTINGEN: Follow-up
				0	1	0	0
				EDTA-plasma			
				* Positief			
				Niet detecteerbaar			

Dergelijk lijn zal voor nieuwe gegevens niet meer aangevuld worden en enkel nog bij oudere rapporten verschijnen

Overzicht actuele papieren aanvraagformulieren:

Algemene aanvraagbrief voor laboratoriumtesten	STJALG-34	2024-juni
Aanvraagbrief voor urines, vochten en varia	STJURI-21	2024-juni
Aanvraagbrief voor inf.serologie en moleculaire microbiologie	STJSER-32	2024-juli
Aanvraagbrief voor speciale hematologie	STJMOB-20	2024-juli

## Overzicht wijzigingen

Test	Rubriek	
Anti-mitochondriën antistoffen	Toestel & Methode <i>Juli 2024</i>	indirecte immunofluorescentie (IIF)
Anti-gladde spier antistoffen	Toestel & Methode <i>Juli 2024</i>	indirecte immunofluorescentie (IIF)
Anti-LKM antistoffen	Toestel & Methode <i>Juli 2024</i>	indirecte immunofluorescentie (IIF)
Panfungale sequencing	Toestel & Methode <i>Augustus 2024</i>	Targeted nanopore sequencing
Tryptase	Toestel & Methode <i>Augustus 2024</i>	FEIA methode op IC250
Bot alkalische fosfatase	Toestel & Methode <i>Vanaf 1 oktober 2024</i>	Chemiluminescentie immunoassay op iSys
Moleculaire hematologie	Riziv nomenclatuur <i>Vanaf 1 juli 2024</i>	→ <i>Zie artikel blz 5</i>
HHV8 PCR	Prijs <i>Augustus 2024</i>	Geen tussenkomst RIZIV, aanrekening € 77 aan de patiënt
Folaat in RBC	(wordt) Geschrapt <i>Vanaf 1 november 2024</i>	Stopzetting folaatbepaling in RBC, folaatbepaling in serum blijft beschikbaar