

VAP VISIE Analyse

JUNI 2017

Gezamenlijke
uitgave
VAP NVML

Bloed en lymfe

Lymfoomtypering – nu en in de toekomst

Door merg en been

Liquid biopsy, DNA uit bloed

Kwaliteit en service voor in-vitro diagnostica

Compleet pakket Lyme diagnostiek volgens de CBO richtlijn

Screening ELISA

- ✓ Lysaat + Vlse recombinant geeft hoge sensitiviteit
- ✓ 4-PL methode: betrouwbare kwantificering en reproduceerbare resultaten
- ✓ Optimale specificiteit door pre-absorptie van kruis reagerende antistoffen
- ✓ Betrouwbare detectie van intrathecale antistoffen in liquor (Reiber methode)



Immunomat™
De betrouwbare 4 plaat automaat van Virion \ Serion voor optimale automatisering van uw ELISA's.



virion \ serion

Confirmatie line-blot

Zeer specifiek en sensitief op basis van immunodominante Borrelia recombinant-antigenen.

- ✓ Detecteert de klinisch belangrijkste genotypes: B. burgdorferi sensu stricto, B. garinii, B. spielmanii en B. bavariensis.
- ✓ VlsE van verschillende genotypes
- ✓ OspC van alle genotypes
- ✓ P18 (Decorin binding protein A = DbpA) van alle genotypes

Breed pakket line-blots beschikbaar:

- Borrelia
- HIV
- Treponema
- HCV
- EBV + aviditeit
- CMV + aviditeit
- Toxoplasma + aviditeit
- Chlamydia (3 species)
- Hanta
- Yersinia
- Herpes
- Hepatitis E
- Parvo B19



CarL

Volledig automatische strip processor met interpretatie software en volledige LIS-connectiviteit.

MIKROGEN
DIAGNOSTIK

Real-Time PCR

- ✓ **Aspergillus fumigatus**
+ resistentie mutaties TR34/L98H (in één test)
- ✓ **Pneumocystis jirovecii**
(quantitative): < 1 copy

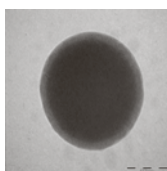


Innovatieve DNA/RNA extractie

- ✓ Hoge kwaliteit DNA/RNA
- ✓ Minder remming
- ✓ Speciaal voor moeilijke en uitdagende monsters



Kleinere gekalibreerde partikels



Glad oppervlak

ademtech

T-Track® CMV ELISpot kit

Bepalen van de functionaliteit van de CMV specifieke cellulaire immuniteit gebaseerd op de ELISpot methode in combinatie met T-activation® technologie.

- ✓ Hoge klinische sensitiviteit
- ✓ Gebruik i.c.m. met de CMV viral load bepaling
- ✓ Bepalen van de functionaliteit van een breed spectrum aan klinisch relevante CMV specifieke effectorcellen (CD4+ en CD8+ T cellen, NK en NKT-like cellen)



Distributie in Nederland:

MEDIPHOS
MEDICAL SUPPLIES

Mediphos Medical Supplies BV • Industrieweg 12B 6871 KA Renkum
• tel.: 0317-351838 • e-mail: info@mediphos.com

www.mediphos.com

Colofon VAPvisie

Redactie

Reddy Schreuder (voorzitter
mediagroep)
Erik Bleuel
Anke van Bruggen
Patrick Coolen
Liselore Moenis
Anke Tiggeleman
Fred Vlugt
redactie-vap@vapweb.nl

Hoofredacteur

Reddy Schreuder
rschreuder@diakhuis.nl

Webmaster www.vapweb.nl

Kevin van der Ven

Standbeheer VAPcongressen

Sjef van Gaalen
svgaalen@diakhuis.nl

Aanleveren kopij

Tekst in Word zonder illustraties
Foto's en illustraties apart in JPG
(groot formaat)

Advertentie sturen naar

Ita Verweij
advertenties@vapweb.nl

Correspondentieadres en

Adreswijziging

Ita Verweij
Postbus 387, 3830 AK Leusden
06-30795900
secretariaat-vap@vapweb.nl

IBAN nummer VAP

NL83 INGB 0004335784

Oplage

1600 ex.

Druk

BDU

Lidmaatschap 2017

Gewoon Lidmaatschap: € 33
Gezinslidmaatschap: € 33 per gezin
Lidmaatschap in Europa: € 44
Lidmaatschap buiten Europa: € 56
Lidmaatschap Studenten: gratis na
insturen van kopie studentenkaart
Lidmaatschap wordt betaald per
kalenderjaar.
[http://www.vapweb.nl/vereniging/
lidmaatschap](http://www.vapweb.nl/vereniging/lidmaatschap)

Geplande verschijningsdata 2017

VAPvisie 01	2 maart
VAPvisie 02	4 mei
VAPvisie 03*	15 juni
VAPvisie 04	24 augustus
VAPvisie 05	26 oktober
VAPvisie 06	23 december

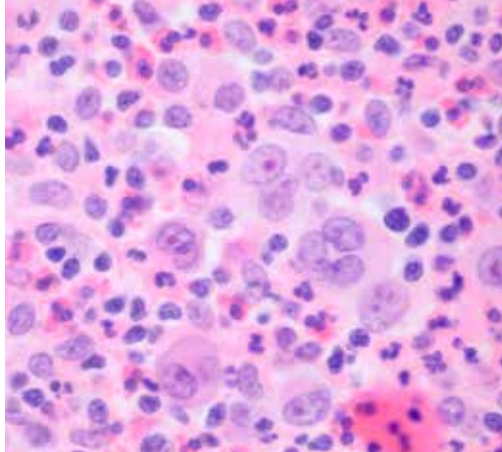
* Combinatie met de analyse

Zie deadline inzendingen pag. 62

INHOUD

17

Lymfoomtypering
– nu en in de
toekomst



27

Door merg
en been



51

Liquid biopsy,
DNA uit bloed



Een jaar later...	4
Bloedserieus	7
Bloed en de Nederlandse taal	9
Hoge bloeddruk: een overzicht	12
Lymfoomtypering – nu en in de toekomst	17
Immunofenotypering van kwaadaardige lymfatische afwijkingen	21
Door merg en been	27
Beenmerg, een bron van nieuwvorming	31
Diagnostiek van zeldzame erfelijke stoornissen van de rode bloedcel	35
Afname van bloedkweken: feiten en fabels	41
Casusbespreking beenmergspiraat en ovarium	45
De thymus (zwezerik) – Culinair verhaal, of de grondlegger van ons afweer?	46
Spring Event 2017	50
Liquid biopsy, DNA uit bloed	51
Casus: acute promyelocytenleukemie	56
Cursussen en opleidingen NVML	60
Agenda	62
Wat is het?	62

Op de voorpagina:

*Het bloed en de lymfe zijn de levensaders van het lichaam.
In deze uitgave is het de verbintenis van de analisten verenigingen,
de VAP en de NVML.
Foto: Shutterstock*

Een jaar later...

Marianne Egbers, voorzitter NVML (Nederlands Vereniging van bioMedisch Laboratorium-medewerkers) en Sjef van Gaalen, voorzitter VAP (Vereniging Analisten Pathologie) hebben ervoor gekozen om de leden mee te nemen in hun eigen ervaringen, valkuilen en verwachtingen die ze zien voor een samenwerking tussen de VAP en de NVML.

Marianne: Een jaar later en de tweede VAPvisie/Analyse ligt op uw deurmat. Mijn collega-voorzitter Sjef van Gaalen en ik mogen ook nu weer een woord tot u richten. De voortgang naar het onderzoeken van een mogelijk samenwerkingsverband verloopt tot nu toe zeer goed en de overleggen verlopen ontspannen. Wij houden de leden op de hoogte van de vorderingen via de eigen kanalen. Een collega-bestuurslid gaf aan dat hij het wel leuk zou vinden om te lezen wat onze persoonlijke ervaringen tot nu toe zijn m.b.t. een samenwerkingsverband tussen de verenigingen. Die persoonlijke ervaring en visie willen we graag met u delen.

Sjef: Ik ben persoonlijk een voorstander van alle vormen van samenwerking. Samen sta je sterker, kun je meer bieden en hoeft je geen dingen dubbel te doen. De NVML en de VAP kunnen elkaar ook als concurrenten zien en proberen om elkaars leden te 'stelen' of hen te verleiden om bij hun vereniging aan te sluiten. Dan wordt de ene vereniging misschien groter en succesvoller, maar er valt dan waarschijnlijk ook iets unieks weg. Door samen op te trekken kun je alle waardevolle zaken behouden en kun je elkaar op sommige gebieden zelfs versterken. Zo kun je uiteindelijk meer bieden aan je leden.

Marianne: Wat zou een samenwerking kunnen tegenhouden als we allemaal hetzelfde beroep uitoefenen? Een beroep waarin de

analist diagnostiek verricht om de aanvrager (specialist) van informatie te voorzien zodat hij/zij de juiste behandeling voor de patiënt kan starten. Of de diagnostiek nu uit het bepalen van chemische bloedwaarden bestaat, het aantonen van bacteriën en virussen of uit de bevestiging van kwaadaardige cellen, is toch niet relevant? Dit horen we vaak vanuit de buitenwereld, maar ook wel van collega's uit andere vakgebieden. Toch ligt het gecompliceerder dan men in eerste instantie zou denken. De vergaande specialisaties binnen de verschillende laboratoria zorgen voor verschillende culturen en karakters. Dat heeft vooral te maken met verschil in affiniteit van laboratoriummedewerkers met de achtergrond van de diagnostiek en de daarbij behorende technologie.

Sjef: Als je hoort of leest over fusies dan gaat dat vrijwel altijd gepaard met negatieve berichten over de direct betrokkenen. Bij bedrijven gaat het dan vaak om massaontslagen. Veel fusies leiden uiteindelijk ook bedrijfseconomisch niet tot de van tevoren verwachte resultaten. Desondanks zie je dat er nog steeds volop gefuseerd wordt. Volgens mij moet de samenwerking tussen de NVML en de VAP niet per definitie tot een fusie leiden. Het gaat uiteindelijk om die vorm van samenwerking die de meeste synergie geeft en voor onze leden het meeste voordeel biedt. Als een fusie de meest optimale vorm van samenwerking is dan zeg ook ik daar ja tegen. Grote organisaties zijn vanwege hun omvang vaak wat stabiel en bieden enerzijds meer zekerheid. De andere kant van de medaille is dat schaalvergroting ook vaak leidt tot meer bureaucratie en minder operationele slagkracht. Ook is de persoonlijke betrokkenheid in kleine organisaties vaak groter waardoor je met minder mensen meer voor elkaar krijgt. Groter is niet altijd beter.

Marianne: Vele organisaties en verenigingen zijn ons voorgedaan als het gaat om samenwerken. Dat zo'n proces ingewikkeld kan zijn, bewijst wel de grote hoeveelheid professionele bureaus en adviseurs die er zijn om organisaties daarin te ondersteunen. Buiten juridische en organisatorische stappen is het samenbrengen van een groep ogenschijnlijk dezelfde mensen een grote uitdaging. Het verliezen van de identiteit is één van de grootste bergen die overwonnen moet worden. Herken ik straks mijzelf nog wel als "de ander" ook zeggenschap krijgt? Zelf heb ik een fusie van twee ziekenhuizen meegemaakt. Als laboratorium werkten wij voor beide huizen met ieder hun eigen wensen. Voor ons had de fusie geen belangrijke consequenties. Sinds drie jaar zitten we allemaal in één groot ziekenhuis. Dit was een grote omschakeling omdat we ons niet meer "bijzonder" voelden, maar een piepklein onderdeel in een grote organisatie met al haar regels en bureaucratie. Inmiddels zijn we er aan gewend en hebben we onze eigen plaats weer verworven.

Sjef: Ik ben zelf nog (net) niet bij een fusie betrokken geweest. Wel heb ik naar mijn huidige functie gesolliciteerd in een periode dat mijn vorige werkgever in een fusietraject verwickeld was. Wat mij daarvan nog bijstaat is dat er lange tijd sprake was van een aanstaande fusie en integratie van twee Pathologieafdelingen zonder dat er op de werkvloer ook maar iets van te merken was. We werden op de hoogte gehouden van besprekingen en besluitvorming maar er was tot vlak voor de daadwerkelijke integratie geen duidelijkheid over bijvoorbeeld het plaatsingsplan. Op dit moment zit ik ook in mijn huidige functie in een integratietraject. De besluitvorming, welke natuurlijk heel zorgvuldig moet gebeuren, gaat voor velen te



Marianne Egbers en
Sjef van Gaalen

traag. De onzekerheid zorgt voor spanningen het verloop onder de medewerkers is nog nooit zo hoog geweest. Communicatie is in een dergelijk traject van onschatbaar belang naast het in een zo vroeg mogelijk stadium meenemen van alle betrokkenen. Verandering is voor de meesten een bedreiging, welke verminderd kan worden door de betrokkenen een keuze of een stem in het geheel te geven.

De samenwerking tussen de besturen van de NVML en de VAP in de stuurgroep verloopt goed. We bespreken kansen en uitdagingen, maar ook twijfels en bedreigingen. De communicatie is open en op basis van vertrouwen. Eén van de moeilijkste kanten van dit traject is volgens mij het goed en tijdig informeren van de leden. Ook hier geldt dat voor velen de op handen zijnde verandering als een bedreiging wordt gezien. Deze bedreigingen zien wij ook heel duidelijk en wij moeten die ook benoemen. Het gaat om de balans tussen de voordelen en de nadelen die de uiteindelijke beslissing stuurt. In tegenstelling tot vele bedrijven, waar de ondernemingsraden en de bonden de belangen van de betrokkenen moeten waarborgen of bevechten, zijn het hier de leden zelf die de uiteindelijke beslissing nemen.

Marianne: Mijn verwachting t.a.v. het voorgenomen plan om een samenwerkingsverband aan te gaan met de VAP is zeer positief. Ik denk wel dat het nog een uitdaging gaat worden om sommige hobbels te overbruggen. Denk daarbij bijvoorbeeld aan het verschil in contributiegelden die de leden nu betalen. Deze liggen een stuk hoger bij de NVML dan bij de VAP. Het is belangrijk dat we goed luisteren naar onze leden en dat we hun eventuele zorgen serieus nemen. Iedereen moet het gevoel hebben dat zijn tak van sport belangrijk is en dat dit gevoel erkend wordt door de stuurgroep en door de beide besturen. Als we dat kunnen bewerkstelligen dan zie ik de toekomst van één gezamenlijke vereniging rooskleurig tegemoet. Eventuele valkuilen hopen we te voorkomen door een professionele adviseur aan te stellen die ons daarin kan begeleiden.

Sjef: De uitkomst van dit project moet een breed gedragen vorm van samenwerking zijn tussen de NVML en de VAP. De wederzijdse leden moeten hier meer voordelen dan nadelen van ervaren en zij moeten zich (blijven) herkennen in de vereniging(en) en/of de samenwerking. Ik heb wel een ideaalbeeld van de uitkomst. Uiteindelijk zie ik graag één brede

vereniging met zeer actieve werkgroepen die hun eigen achterbanen bedienen. Het professionele bureau faciliteert, ondersteunt en coördineert alle activiteiten. Bij-, en nascholing, het delen en uitwisselen van beroepsgelateerde kennis en belangenbehartiging blijven de belangrijkste speerpunten. Als wij daarmee meer kwaliteit kunnen bieden aan onze leden mag daar wat mij betreft ook een hogere contributie tegenover staan.

Marianne: Ik hoop dat de stuurgroep van de NVML en de VAP eind dit jaar een besluit kan nemen over een ontwerp waarbij de best mogelijke vorm van samenwerking bewerkstelligd kan worden. Eén grote vereniging die de belangen voor alle biomedische laboratoriummedewerkers kan behartigen voor de diverse richtingen zoals klinische chemie, pathologie, medische microbiologie en fertiliteit. Het is voor mij een succes als leden niet voor verrassingen komen te staan en zij kunnen ervaren dat een "nieuwe" vereniging nog meer te bieden heeft dan de huidige NVML of VAP. Een goede communicatie tussen de besturen van de VAP, de NVML en haar leden is hierbij van levensbelang.

Marianne Egbers
Sjef van Gaalen



// ADVANCED SOLUTIONS FOR ADVANCED PATHOLOGY DIGITAL MICROSCOPE

// TAKE CONTROL, WHEREVER YOU ARE

- Guarantees remote slide viewing, in “live” mode
- Allows control over the digital microscope from remote workstations
- Assures remote data management protected by a password

// DIGITAL PATHOLOGY, IS YOUR INSPIRATION ...

- Share information, by granting access to telepathology services such as second opinions and on-line meetings
- View digitalised slides from a remote workstation using a WEB interface
- Undertake refresher training through on-line courses

// ...THE WORLD, IS YOUR LABORATORY

- Track and get instant, unlimited access to acquired images
- Enjoy password-protected access to individual files and working environments
- Retrieve workflows from remote workstations or computers

Bloedserieus

Simone: Een gezamenlijk blad van de NVML en de VAP. Vorig jaar was dit al een groot succes, maar voor mij wel spannend, aangezien ik pas tien maanden eindredacteur van Analyse ben. Gelukkig verloopt de samenwerking tussen beide redacties goed. De vergaderingen in aanloop naar het maken van deze editie waren elke keer echt vruchtbaar, met veel leuke ideeën en gezelligheid.

Het thema 'Bloed en Lymfe' is ook op zo'n vergadering ontstaan. Het bloed- en lymfesysteem werkt zoveel met elkaar samen dat we ze eigenlijk niet apart van elkaar kunnen behandelen. Elke expertise heeft toch te maken met dit onderwerp.

Reddy: Toch hebben we ons wel even achter de oren gekrabbeld welke onderwerpen we willen plaatsen over dit onderwerp, wie moet je vragen hierover iets te schrijven en komen echt alle expertises aan bod? We zijn daarom bloedserieus aan de slag gegaan en hebben uiteindelijk mooie artikelen verzameld. Erik is zich te buiten gegaan aan woordspelingen met bloed waardoor je ziet dat dit als een rode draad door onze taal loopt. Dit geeft aan dat men al eeuwen weet hoe belangrijk dit rode vocht is dat door ons lichaam stroomt. Als we de artikelen lezen dan realiseren we ons weer hoe vernuftig ons lichaam in elkaar zit, wat er



Simone Priester-Vink

allemaal gebeurt in ons lijf. Zoals we lezen in verschillende artikelen over de functie en verschillende types van lymfocyten. Knap dat wij dat nu allemaal weten.

Het is ons inziens goed gelukt om dit thema vanuit verschillende hoeken te benaderen, zoals de hematologie, de histologie, de pathologie, de anatomie, de immunologie, de cytologie en zelfs een beetje vanuit een culinair oogpunt. Hierdoor hebben we hopelijk laten zien waar de laboratoria zoal mee bezig zijn.

Simone: Verder hebben we natuurlijk ons best gedaan om de gewoonlijke rubrieken en nieuwsberichten in ons gezamenlijk blad terug te laten komen. Hierin leren de redacties iets van en over elkaar en doen we ideeën op voor ons eigen blad. Een kijkje in de keuken van een ander is wat dat



Reddy Schreuder

“Leuk en nuttig

betreft altijd leuk en nuttig. Hierin ontstaan ook verdere ideeën voor samenwerking van de beide redacties. We hopen dat onze lezers dit gezamenlijk blad met veel plezier lezen!

Simone Priester-Vink, eindredacteur Analyse
Reddy Schreuder, eindredacteur VAPvisie



Make every patient's stain a masterpiece with the VENTANA HE 600 system

H&E staining — pathology's most essential science — requires skill, passion and attention to every exquisite detail on a patient's slide. Our newest technology elevates H&E to an art form that can help you improve lab performance and touch lives.

- Produce consistent, high-quality stains with fresh reagents on every slide.
- Optimize laboratory workflow with a fully automated system that reduces touch points and wait points associated with the dip-and-dunk staining process.
- Create a safer lab environment by reducing technicians' exposure to harmful chemicals.
- Protect against tissue cross-contamination with individual slide staining.

Integrate with VANTAGE workflow solutions and CareGiver remote monitoring for more efficient, flexible operations.

Experience the new VENTANA HE 600 system — Roche Diagnostic's most highly evolved technology available for H&E staining — make every patient's slide a masterpiece.



Contact your local Roche representative or call: +31 (0) 36 539 4847

www.roche-diagnostics.nl
www.ventana.com

Roche Diagnostics Nederland BV
Transistorstraat 41
1322 CK Almere
Almere.info@roche.com

H&Evolve

Bloed en de Nederlandse taal

Bloed is een woord dat op veel manieren in onze taal wordt gebruikt. Wat is bloed? Wat betekent bloed? De vraag wat bloed is, is eenvoudig te beantwoorden. Het is de rode vloeistof die met behulp van het hart en het bloedvaatstelsel door de lichaam wordt rondgepompt. Bloed bevat onder andere:

- rode bloedcellen of erythrocyten, die zorgen voor het zuurstoftransport vanuit de longen naar de verschillende organen
- witte bloedcellen of leukocyten, die een rol spelen bij de verdediging tegen infecties en de opbouw van immuniteit
- bloedplaatjes, die zorgen voor de bloedstolling
- talrijke eiwitten, zouten, voedingstoffen en afvalstoffen.

Volgens de Bijbelse opvatting is het bloed de drager van het leven.

Wat betekent het woord bloed? Die vraag is lastig te beantwoorden. Bloed is een belangrijk orgaan dat te pas en te onpas wordt gebruikt in de Nederlandse taal. Soms heeft het nog iets met echt bloed te maken, maar vaak ook helemaal niets. Dat kunnen woorden zijn die met de gezondheid en lichaam te maken hebben. Denk aan bloedstolling, bloeddruk, bloedgroep, bloedstolsel, bloedcellen, bloedziekte, bloeddonor, bloedbank, (centrum waar donorbloed en donorplasma

wordt afgenomen) en bloedarmoede (als je lichaam te weinig of slecht werkende rode bloedcellen heeft, meestal door ijzer gebrek).

Er zijn ook woorden te vinden die niet veel (meer) met het lichaam te maken hebben maar wel betrekking hebben op echt bloed. Aan bloeddoping denk je misschien niet snel, het is het extra toedienen van rode bloedcellen aan het lichaam waardoor er meer zuurstof kan worden getransporteerd. Bloeddoping grenst nog aan



Bloedbloem

een medische term. Bij bloedzuiger en bloedworst (worst met als hoofdbestanddeel bloed) is de relatie met een medische term ver te zoeken. Dit is maar een kleine greep van woorden waarbij bloed letterlijk bloed betekent. Bloedluis is een grensgeval (bloedluis = een mijt, geen luis, die bloed zuigt bij vogels). En bloedwraak nog een term met bloed waarin bloed niet letterlijk wordt bedoeld. Maar de bloedlijn, de afstamming. Bloedwraak is wraak op de moordenaar van je bloedverwant (en dat is wel wat anders dan eerwraak). Bij bloedeigen heeft bloed al een soortgelijke betekenis; Met bloed-eigen wordt vaak bedoeld: kinderen van je eigen bloedlijn, dus je eigen bloedjes van kinderen.

Bij bloedrood wordt de rode kleur van bloed bedoeld. Welke bloedrode kleur wordt er eigenlijk mee bedoeld? Is het helder rood zoals slagaderlijk bloed of toch wat donkerder rood zoals aderlijk bloed of toch meer zwart rood van gestold bloed? Zelfs roodbruin zou nog kunnen, de kleur van oud bloed. Bij bloedkoraal heeft bloed betrekking op de bloedrode kleur van het koraal. En de bloedbloem (poederdons lelie) heeft ook een rode kleur. Ook zijn er woorden die je zowel letterlijk als figuurlijk kunt nemen. Bloedbad is zo'n

Bloedzuiger





Koudbloedpaard

woord. Al zullen weinig mensen dit letterlijk willen nemen.

In veel woord combinaties wordt met bloed helemaal niet de rode lichaamsvloeistof bedoeld, maar kan het woord bloed vervangen worden door erg, uiterst of zeer. Enkele voorbeelden hiervan zijn: bloedjong, bloedhekel, bloedheet, bloedmooi, bloedserieus, bloedvorm, bloedgeil, bloedwarm, bloedlink, bloednerveus, bloedsaai.

En dan zijn er nog woorden die eindigen op bloed. Mensenbloed, dierenbloed, doodbloeden (zowel letterlijk als in de betekenis geleidelijk aflopend), drakenbloed (een diep zwartrode harssoort, die uit verschillende boomsoorten gewonnen kan worden), zoenbloed (bloed dat vergoten wordt om verzoening van de zonde te bewerkstelligen).

De termen volbloed, warmbloed en koudbloed komen uit de hippische wereld. Volbloed is de samenvattende benaming voor drie paardenrassen, de Arabische volbloed, de Engelse volbloed en de kruising tussen deze beide, de Anglo-Arabier. Warmbloedige

paarden hebben zowel volbloeden als koudbloeden onder hun voorouders. Als zodanig staan warmbloedpaarden tussen volbloeden en koudbloeden. Koudbloedpaarden worden meestal gebruikt als trekpaarden, ze zijn veel zwaarder gebouwd dan volbloed en warmbloed paarden en hebben een geduldiger temperament. Een gezegde uit de paardensport dat hier betrekking op heeft is; Hoog in het bloed staan (paard met veel Arabisch of Engels volbloed in zijn afstamming).

En als je het over spreekwoorden en gezegdes hebt is bloed ook niet een onbekende. Hieronder staan een aantal voorbeelden (die je ook snel met Google kan vinden),

Een doekje voor het bloeden (een schrale troost)
 Doen alsof je neus bloedt (doen alsof je van niets weet)
 Er uitzien als melk en bloed (er gezond uitzien)
 Goed bloed kan niet liegen (een edele afkomst wordt altijd opgemerkt)
 Goed en bloed voor iets offeren (ergens alles voor over hebben, goed = bezittingen, bloed = het leven)
 Het bloed kruipt waar het niet gaan kan (de aard verloochent zich nooit)
 Het bloed spreekt (de familieband doet zich opmerken)
 Het gaat van sassenbloed (het gaat met grote opofferingen gepaard)
 Hij heeft aardappelbloed (Hij ziet er ongezond uit)
 Hij heeft vissebloed (hij is zo koud als een vis, hij is gevoelloos)
 Iemand het bloed onder de nagels vandaan halen (iemand vreselijk treiteren of irriteren)
 Iemand in den bloede bestaan (van iemand een bloedverwant zijn)
 Met bloed, zweet en tranen (een uiterste inspanning leveren)
 Het bloed stolt hem in de aderen (hij is heel erg geschrokken)
 In koelen bloede (kalm en beheerst)
 Iemand zijn hartenbloed aftappen (iemand ontnemen wat hij belangrijk vindt)
 Koud bier maakt warm bloed (door veel bier krijg je ruzie)
 Kwaad bloed zetten (Wraakgevoelens oproepen)
 Het bloed wordt karnemelk (woede opwekken)

Het woord bloed komt ook voor in het eerste couplet van het Wilhelmus, ons volkslied.



(Tegenwoordige tekst:
"Wilhelmus van Nassouwe
ben ik, van Duitsen bloed,
den vaderland getrouwe
blijf ik tot in den dood.
Een Prinse van Oranje
ben ik, vrij onverveerd,
den Koning van Hispanje
heb ik altijd geëerd.").

Als je het zo hoort lijkt het wel
alsof we van de Duitsers afstam-
men. echter Duytschen bloedt
(Duitsen bloed) heeft niets met
Duitsland te maken. Ons volkslied
is het oudste volkslied (1570) en
toen bestond het huidige Duits-
land nog niet. Het waren kleine
vorstendommen. Duyts, Duits
of Diets is Germaans en betekent
oorspronkelijk 'eigen volk'.

Als je aan het volkslied denkt dan
denk je aan het koninklijk huis.
Een familie met blauw bloed.
Waar komt de term blauw bloed
vandaan? Blauw bloed hebben
betekent van adel zijn. De term
blauw bloed werd in heel Noord-
Europa gebruikt om mensen uit
de hogere klassen mee aan te
duiden. Doordat zij niet buiten
werkten werd hun huid niet
gebruind door de zon en bleef
de blauwachtige kleur van hun
aderen duidelijk zichtbaar door de
huid heen. Al zijn er ook andere
verklaringen, dit lijkt mij de meest
waarschijnlijke. Als je denkt dat er
geen echt blauw bloed bestaat,
heb je het mis. Er zijn dieren die
wel echt blauw bloed hebben.
Kreeften, veel soorten slakken
en andere weekdieren hebben
hemocyanine in het bloed. Het
bloed bevat koper in plaats van
ijzer. Hemocyanine zorgt voor de
blauwe kleur en zorgt ook voor
het vervoeren van zuurstof. In een
koude zuurstofarme omgeving
werkt hemocyanine beter.

Bloed een woord dat te pas en te
onpas wordt gebruikt. Een woord
dat zowel positief als negatief
wordt gebruikt. Je zou maar
Nederlands moeten leren.

Door Erik Bleuel

VOORAANKONDIGING

Tweedaags congres van de WIHC

Thema:
Gynaecopathologie

Datum:
Woensdag 1 en donderdag 2 november 2017

Locatie:
Ernst Sillemhoeve, Den Dolder

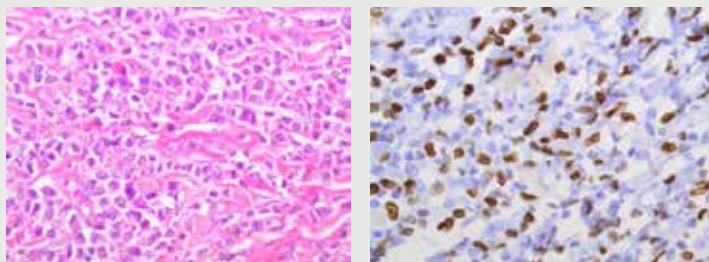
Het tweedaags congres nieuwe stijl

We gaan met stemkastjes werken en er worden vier blokken van één uur
ingepland voor casuïstiek. De deelnemers zullen in kleine groepjes casussen
digitaal bespreken op een tablet gedurende 30 minuten. Daarna worden de
casussen plenair besproken.

Het programma is nog niet helemaal definitief maar we kunnen u wel alvast een indruk
geven. De inleiding van de gynaecopathologie zal zoals gewoonlijk worden verzorgd
door Dr. Anke Tiggelman.

Verder komen de volgende onderwerpen aan de orde:

- WHO classificatie van ovarium tumoren
- Tumordiagnostiek van buikvocht met de toepassing van de immunohistochemie
- Rol van immunohistochemische en moleculaire markers bij ovariële tumoren
 - Dysplasieën en maligniteiten van de cervix en aanvullend onderzoek
 - Vulvacarcinomen met de pathways en de daarbij behorende IHC en HPV
 - Rol van de gynaecoloog/oncoloog voor de patholoog
- Endometriumcarcinomen: rol van de immunohistochemische en moleculaire markers



Zodra het programma definitief is zal dit op VAPweb.nl worden geplaatst

Landelijk Bestuur WIHC

Hoge bloeddruk: een overzicht

Dr. N. V. van der Hoeven, Arts in opleiding tot internist
Dr. B.J. van den Born, Internist-vasculair geneeskundige
Academisch Medisch Centrum, afdeling vasculaire geneeskunde

Hoge bloeddruk, ofwel hypertensie, is een veel voorkomende aandoening en één van de belangrijkste modificeerbare risicofactoren voor het krijgen van hart- en vaatziekten. Hoewel hypertensie op zichzelf meestal weinig klachten geeft, leidt langdurige hypertensie tot beschadiging van de bloedvaten en verschillende organen. Om dit te voorkomen is het belangrijk om hypertensie zo vroeg mogelijk te ontdekken en te behandelen. In dit artikel wordt in gegaan op wat hypertensie is, hoe de bloeddruk gemeten wordt en op enkele oorzaken van hypertensie. Ook wordt kort ingegaan op de behandeling.

Wat is bloeddruk en hoe wordt deze gemeten?

Met de bloeddruk wordt de druk bedoelt die het bloed op de bloedvaten uitoefent. Dit is een combinatie van de kracht waarmee het hart het bloed door het lichaam pompt en de weerstand van de bloedvaten zelf, vaak weergegeven met de formule: $\text{bloeddruk} = \text{cardiale output} \times \text{systemische vaatweerstand}$, waarbij de cardiale output het product is van het slagvolume (in milliliter) en de hartfrequentie (in slagen per minuut). De bloeddruk wordt uitgedrukt in millimeter kwik (mmHg) en wordt vrijwel altijd weergegeven in een bovendruk (ook wel systolische bloeddruk) en een onderdruk (diastolische bloeddruk). De bovendruk is de maximale bloeddruk op het moment dat het hart samenknijpt, de onderdruk is de laagste bloeddruk tijdens de periode dat het hart ontspant. Er is sprake van hypertensie indien bij meerdere spreekkamermetingen de systolische bloeddruk ≥ 140 mmHg en/of de diastolische bloeddruk ≥ 90 mmHg bedraagt. Met name door spanning en stress in de spreekkamer kan de bloeddruk daar flink hoger zijn dan normaal (het witte-jas-effect). Het is daarom betrouwbaarder om de bloeddruk buiten het ziekenhuis te meten. Dit kan op twee manieren. De eerste manier is het thuismeten van de bloeddruk. Hierbij krijgt de patiënt een bloeddrukmeter mee en meet de bloeddruk op een aantal vaste momenten. Volgens de huidige

richtlijnen is dat tweemaal in de ochtend en tweemaal in de avond voor zeven achtereenvolgende dagen (1). Voor het interpreteren van een thuisbloeddruk geldt dat alle bloedwaarden behalve die van de eerste dag worden meegenomen. Een tweede manier om de bloeddruk buiten het ziekenhuis te meten is een ambulante of 24-uurs bloeddrukmeting (2). Bij deze meting krijgt een patiënt een bloeddrukmeter om die de hele dag door de bloeddruk meet (meestal overdag om de 15 en 's nachts om de 30 minuten). Hierbij kan onderscheid worden gemaakt tussen de dag- en nachtbloeddruk en kan er gekeken worden naar de bloeddrukdaling 's nachts, die $>10\%$ hoort te zijn ten opzichte van de bloeddruk overdag. Een nadeel van de 24-uurs bloeddrukmeting is dat patiënten het meten soms als onprettig ervaren en door de nachtelijke metingen een gestoorde nachtrust hebben. Daarnaast zijn de bloeddrukmeters duur. De bloeddrukken gemeten bij thuis- en 24-uurs bloeddrukmeting zijn beter in het voorspellen van hart- en vaatziekten dan de spreekkamerbloeddrukmeting en verdienen daarom de voorkeur. Een relatief nieuwe ontwikkeling is de geautomatiseerde spreekkamerbloeddrukmeting. Hierbij wordt de bloeddruk in een rustige kamer een half uur lang met een bepaald interval (bijvoorbeeld 3 of 5 minuten) gemeten. Het gemiddelde hiervan komt goed overeen met dag-gemiddelde van een 24-uurs bloeddruk-

meting (3). Of dit echter ook een goede voorspeller is van hart- en vaatziekten wordt momenteel nog onderzocht. Voor de verschillende meetmethoden gelden verschillende normaalwaarden. Deze zijn weergegeven in Tabel 1.

Hoe ontstaat hypertensie?

In veruit de meeste gevallen (90-95%) is er geen duidelijk aanwijsbare oorzaak. Dit wordt ook wel primaire of essentiële hypertensie genoemd. Waarschijnlijk gaat het hier om een combinatie van factoren. Zo is er een duidelijke relatie tussen bloeddruk en leeftijd. Hierbij speelt het verlies van elasticiteit (verstijven) van de vaten een belangrijke rol. Ook hebben personen bij wie de ouders hypertensie hebben een verhoogde kans op hypertensie en is er een verband met andere cardiovasculaire risicofactoren zoals overgewicht of een verhoogd cholesterol. Daarnaast is bekend dat veel zoutinname de bloeddruk verhoogt. In een minderheid van de gevallen is er wel een duidelijk aanwijsbare oorzaak. Dit kan bijvoorbeeld komen door bijwerkingen van medicijnen, zoals de anticonceptiepil, niet-steroïde anti-inflammatoire geneesmiddelen (NSAIDs, zoals diclofenac of ibuprofen) of bepaalde middelen tegen kanker (met name *vascular endothelial growth factor* [VEGF] remmers zoals sunitinib of bevacizumab). Ook kunnen stimulerende middelen als amfetaminen de bloeddruk verhogen.

Modaliteit	Normaalwaarde bovendruk	Normaalwaarde onderdruk
Spreekkamerbloeddruk	<140 mmHg	<90 mmHg
Thuisbloeddrukmeting	<135 mmHg	<85 mmHg
24-uursbloeddrukmeting		
- Totaal	<130 mmHg	<80 mmHg
- Overdag	<135 mmHg	<85 mmHg
- 's Nachts	<120 mmHg	<70 mmHg
Geautomatiseerde spreekkamermeting	<135 mmHg	<85 mmHg

Tabel 1. Overzicht van de normaalwaarden van de bloeddruk van verschillende meetmethoden

Soms is hypertensie gerelateerd aan een nierziekte. Hierbij speelt overmatige activatie van het renine-angiotensine-aldosteron systeem (RAAS) een belangrijke rol. (Zie afbeelding 1). Renine is een hormoon dat wordt geproduceerd in de juxtaglomulaire cellen van de nier. Renine zet angiotensinogeen om in angiotensine I, wat op zijn beurt door het *angiotensin converting enzyme* (ACE) wordt omgezet in angiotensine II. Angiotensine II zorgt voor vasoconstrictie en leidt zo tot een hogere bloeddruk. Daarnaast zorgt het ervoor dat er in de proximale tubulus van de nier meer zout en water wordt geresorbeerd, waardoor de bloeddruk stijgt, en stimuleert het de aldosteronsecretie. Tevens leidt een beschadigde nier tot activatie van het sympathische zenuwstelsel wat bijdraagt aan hypertensie. Omgekeerd leidt hypertensie tot nierschade waardoor een vicieuze cirkel ontstaat. Naast aandoeningen van de nier zelf kunnen ook aandoeningen van de nierarterie leiden tot hypertensie. Dit betreft met name stenosen van de nierarterie en fibromusculaire dysplasie (FMD). Bij een nierarteriestenose is er vaak sprake van atherosclerose waardoor de nierarterie vernauwd is. Bij FMD is er sprake van een aandoening van de arteriële vaatwand waardoor stenosen, aneurysmata en dissecties van de nierarterie kunnen optreden. Beide aandoeningen leiden tot verminderde bloeddoodstrooming van (meestal) één van de nieren, waardoor er in de nier een lage bloeddruk ontstaat. Om hiervoor te compenseren ontstaat er RAAS-activatie via de aangedane nier waardoor de systemische bloeddruk stijgt.

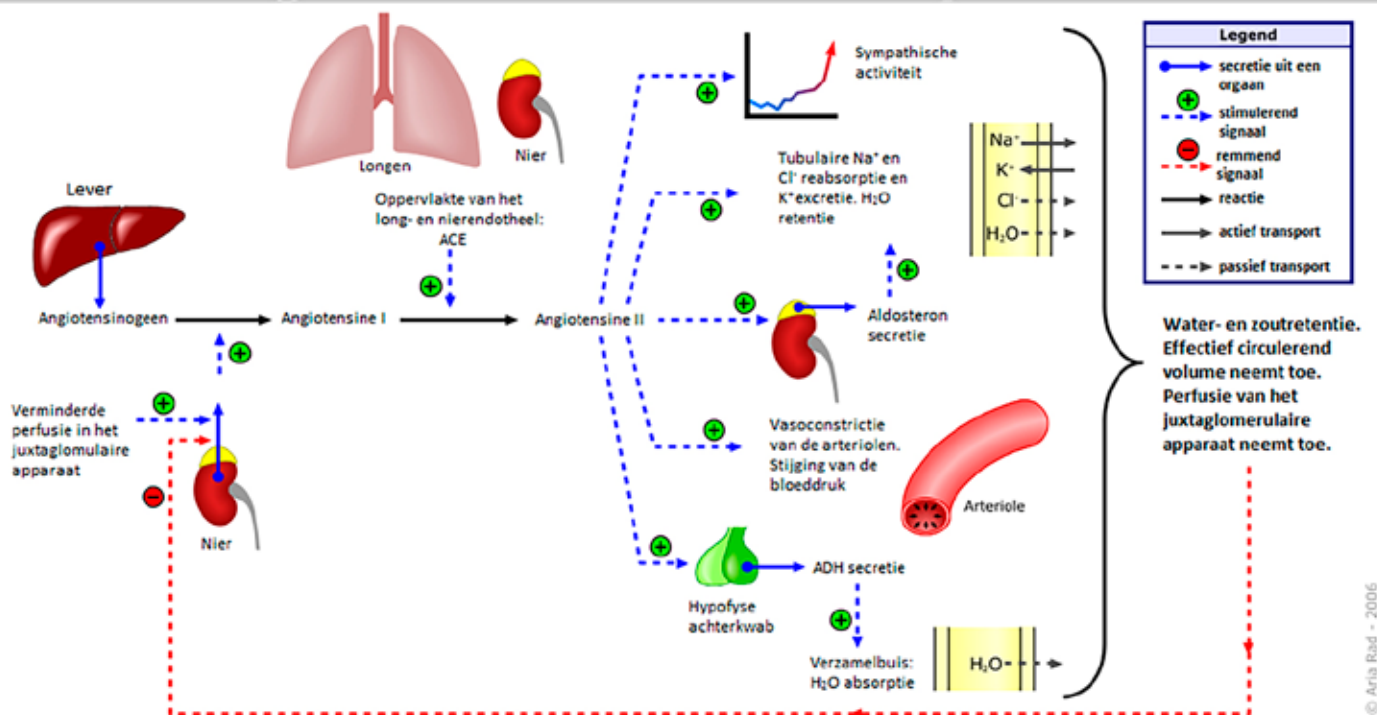
Hormonen uit de bijnier kunnen eveneens bijdragen aan het ontstaan van hypertensie. Het belangrijkste hormoon is aldosteron. Aldosteron verhoogt de expressie van epitheliale zout kanalen in de distale tubulus van de nier waar-

door er meer zout- en waterreabsorptie plaatsvindt. Hierdoor neemt het circulerend volume toe en stijgt de bloeddruk. Normaliter vindt er een terugkoppeling plaats, waarbij een hogere bloeddruk leidt tot remming van de aldosteronproductie. Soms onttrekt de bijnier zich van deze terugkoppeling en wordt de productie autonoom. In dat geval spreken we van primair hyperaldosteronisme. Primair hyperaldosteronisme kan veroorzaakt worden doordat beide bijnieren zich aan deze sturing onttrekken of door een adenoom van één van de bijnieren, ook wel de ziekte van Conn genoemd. De aldosteronreceptoren (mineraalcorticoïd receptoren) zijn ook gevoelig voor cortisol. Cortisol wordt door het enzym 11-betahydroxysteroiddehydrogenase omgezet in cortisol, een ander belangrijk hormoon in de bijnier. Remming van 11-betahydroxysteroiddehydrogenase zorgt voor een verhoogde

concentratie cortisol wat leidt tot stimulatie van de mineraal corticoïd receptor en dus tot hypertensie. Een belangrijke oorzaak voor remming van dit enzym is glycyrrhizine, een stof die voornamelijk in drop en zoethoutproducten voorkomt. Daarom kan dropinname leiden tot een hoge bloeddruk (4). Hypercortisolisme kan ook leiden tot een hoge bloeddruk, hoewel vaak andere klachten en symptomen, zoals een vollemaansgezicht, overmatig haargroei en een dunne huid op de voorgrond staan. Andere hormonen uit de bijnier die kunnen leiden tot hypertensie zijn catecholaminen, zoals adrenaline en noradrenaline. Een catecholamineproducerend adenoom, ofwel feochromocytoom, presenteert zich vaak met typische aanvallen van hoofdpijn, zweten, bleekheid en hartkloppingen. Gedurende een aanval is er vaak sprake van hypertensie, welke echter hierbuiten ook aanwezig kan



Renine-angiotensine-aldosteron systeem



Afbeelding 1. Het RAAS systeem. Bron: Wikimedia Commons (gelabeld voor hergebruik).

zijn. Uiteraard zijn er hiernaast nog vele andere oorzaken, zoals genetische mutaties, die kunnen leiden tot een hoge bloeddruk. Deze zijn echter zeldzaam en daarom nu buiten beschouwing gelaten.

Risico's van een hoge bloeddruk

Hoge bloeddruk geeft op zichzelf vaak weinig klachten en wordt vaak bij toeval of bij screening ontdekt. Hoge bloeddruk draagt bij aan aderverkalking en leidt op de langere termijn tot schade in verschillende organen, waaronder de nieren (nierfalen), de ogen (netvliesbeschadiging), de hersenen (herseninfarct of -bloeding) en het hart (hartinfarct en hartfalen). Indien de bloeddruk in korte tijd ernstig stijgt kunnen er wél klachten ontstaan en kan dit op korte termijn leiden tot orgaanschade. Indien er orgaanschade optreedt spreken we van een hypertensief noodgeval. Klachten die hierbij kunnen optreden zijn onder meer hoofdpijn, visusstoornissen, maag-darmklachten en neurologische symptomen. De organen die beschadigd kunnen zijn bij een hypertensief

noodgeval zijn vrijwel dezelfde als bij langdurige hypertensie. Een hypertensief noodgeval dient altijd met intraveneuze bloeddrukverlagende medicatie behandeld te worden op een bewaakte afdeling. Hoewel het vaak lukt om de bloeddruk adequaat te behandelen, is dit een gevaarlijke aandoening gezien er nog altijd een 18 maal hogere kans om de komende 5 jaar te overlijden na een hypertensief noodgeval dan bij controlepersonen met een normale bloeddruk (5).

Behandeling van een hoge bloeddruk

Bij een mild verhoogde bloeddruk zonder veel andere risicofactoren voor hart- en vaatziekten (zoals roken, overgewicht of een belaste familieanamnese) kan geprobeerd worden de bloeddruk te verlagen met leefstijlaanpassingen, zoals minder zout eten of meer bewegen. Meestal zal hoge bloeddruk echter met bloeddrukverlagende medicijnen moeten worden behandeld. De meest gebruikte klassen van bloeddrukverlagende medicijnen zijn calciumantagonisten, diuretica, bètablokkers,

RAAS-remmers, waaronder ACE-remmers, angiotensine receptor blokkers (ARB) en renineblokkers vallen, en mineraalcorticoïd receptor agonisten. Hoewel deze middelen dus ieder op een andere manier de bloeddruk verlagen, is het gemiddelde bloeddrukverlagende effect ongeveer gelijk. Wel zijn er specifieke situaties waarin een bepaald middel de voorkeur krijgt. Deze indicaties zijn onder meer te vinden in de multidisciplinaire richtlijn cardiovasculair risicomangement (6). Vrij recent leek renale sympathicus denervatie (RSD) een veelbelovende aanvullende behandeling bij patiënten met een moeilijk te behandelen bloeddruk. Bij RSD worden middels een catheter in de arteria renalis de zenuwen rondom deze arteriën beiderzijds doorgebrand. Hierdoor wordt de sympathische activiteit vanuit de nieren naar de hersenen geremd en zou er een lagere bloeddruk ontstaan. Uit een grote, gecontroleerde studie bleek echter dat er geen significante bloeddrukverlaging plaatsvond na RSD ten opzichte van een nepprocedure (7). Hoewel er momenteel nog

wordt gekeken of RSD in bepaalde subgroepen effectief is, is deze procedure momenteel geen onderdeel van de standaardbehandeling van hypertensie.

Conclusie

Hoge bloeddruk is een belangrijke en veel voorkomende behandelbare risicofactor voor hart- en vaatziekten. Omdat het weinig klachten geeft is het belangrijk de bloeddruk regelmatig te laten controleren, waarbij de voorkeur uitgaat naar een bloeddrukmeting buiten het ziekenhuis. Bij een te hoge bloeddruk is behandeling met medicijnen vaak geïndiceerd.

Literatuur

1. Parati G, Stergiou GS, Asmar R, Bilo G, de LP, Imai Y, et al. European Society of guidelines for blood pressure monitoring at home: a summary report of the Second International Consensus Conference on Home Blood Pressure Monitoring. *J Hypertens.* 2008;26(8):1505-26.
2. Parati G, Stergiou G, O'Brien E, Asmar R, Beilin L, Bilo G, et al. European Society of Hypertension practice guidelines for ambulatory blood pressure monitoring. *J Hypertens.* 2014;32(7):1359-66.
3. Myers MG, Kaczorowski J, Dawes M, Godwin M. Automated office blood pressure measurement in primary care. *Can Fam Physician.* 2014;60(2):127-32.
4. Boganen H, van Hee K, Grundmeijer HG. [Hypertension due to liquorice and liquorice tea consumption]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2007;151(51):2825-8.
5. Amraoui F, van der Hoeven NV, Van Valkengoed IG, Vogt L, van den Born BJ. Mortality and cardiovascular risk in patients with a history of malignant hypertension: a case-control study. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2014;16(2):122-6.
6. Multidisciplinaire richtlijn Cardiovasculair risicomanagement, herziening 2011. Houten: Bohn Stafleu van Loghum, 2011.
7. Bhatt DL, Kandzari DE, O'Neill WW, D'Agostino R, Flack JM, Katzen BT, et al. A controlled trial of renal denervation for resistant hypertension. *N Engl J Med.* 2014;370(15):1393-401.

JaarUrenSystematiek

Heb je een vraag over de arbeidsomstandigheden op uw werk? Er kan wel eens wat misgaan. Niet alle werkgevers kennen de cao van A tot Z. Hiervoor bestaat de Commissie Sociale Belangen van de NVML. Leden van de NVML kunnen hier kosteloos advies over hun kwestie of vraag krijgen. Een aantal vragen die we behandeld hebben, worden in deze rubriek besproken.

"Ik heb een vraag over de Jaarurensystematiek en compensatie feestdagen volgens de cao Ziekenhuizen. Hoe zit dit met meerwerkuren en overwerkuren toeslag en met de compensatie feestdagen? Is dit van toepassing op iedereen, dus ook als je alleen op kantoor tijden werkt?"

Al meer dan 15 jaar werkt de cao Ziekenhuizen met de JaarUrenSystematiek (JUS), maar regelmatig rijzen er toch nog vragen hierover. Overigens kent ook de cao Umc een dergelijke regeling. Een korte opfrisser.

In het kort houdt de regeling het volgende in:

- Iemand die een voltijdbaan (36 uur) heeft moet per jaar 1878 uur werken (cao Umc: 1872 uur). Dat zijn bruto-uren, dat betekent dat hier nog een aantal uren vanaf gaat.
- Bij een deeltijdbaan deel je dit aantal uren door het deeltijdpercentage, bijvoorbeeld 18 uur gedeeld door 36 is 0,5 maal 1878 uur.
- Van dit aantal uren mag je aftrekken: je vakantie-uren (art.12.1.2 cao z., art. 7.1.1 cao Umc) en de uren die je nog overhad van het jaar ervoor.
- Verder gaat er nog een aantal uur vanaf in verband met de compensatieregeling feestdagen: voor elke feestdag die in het lopende jaar op een doordeweekse dag valt, mag je 7,2 uur van het totale aantal te werken uren aftrekken (of naar rato van je deeltijdcontract). Voor 2017 zijn dat: 2e Paasdag, Koningsdag, 5 mei (alleen bij de cao Z), Hemelvaartsdag, vrijdag na Hemelvaartsdag (alleen bij de cao Umc), 2e Pinksterdag, twee kerstdagen).

Deze regeling geldt voor iedereen die onder de cao Ziekenhuizen valt, dus ook het kantoorpersoneel. Alleen de uren die in je contract staan, dus de vaste uren, tellen mee voor de berekening van je feestdagen-compensatieuren. Dus overwerkuren tellen daarbij niet mee.

Over deze feestdagenregeling is in de beginjaren van de JUS veel te doen geweest. De vroegere regeling benadeelde werknemers die altijd vrij waren op maandag (de dag waarop immers de meeste doordeweekse feestdagen vallen). De huidige regeling zorgt ervoor dat iedereen 7,2 uur betaald krijgt voor de doordeweekse feestdagen, of men nu wel of niet op die dagen werkt.

Wat betreft meerwerk- of overwerkuren: als het goed is spreek je in je jaargesprek een vast urenpatroon per week of per jaar af. Kleine afwijkingen daarvan kun je natuurlijk opschrijven en in goed overleg opnemen. Maar als het overwerk meer structurele vormen gaat aannemen dan is het zaak om met je leidinggevende afspraken te maken over vergoeding en/of compensatie van deze extra uren. Hierover lees je meer in hoofdstuk 8 van de cao Ziekenhuizen en art. 4.7.6 van de cao Umc.

Wil je meer weten over de Jaarurensystematiek dan kun je die lezen in de cao Ziekenhuizen en de cao Umc, beide in hoofdstuk 6.

Heb je ook een vraag of zit je iets dwars? Neem contact op met de Commissie Sociale Belangen via nvml.csb@nvml.nl. De post wordt vertrouwelijk behandeld.

12de WHT Themadag



5 oktober 2017 NBC - Nieuwegein

'Corpus uteri.....daar zit wat in!'

Programma**



9.00 - 9.30 u	Ontvangst: Inschrijven, koffie/thee
9.30 - 9.35 u	Welkomstwoord door de voorzitter
9.35 - 10.05 u	Gynaecoloog Dr. J.H. Schagen
10.05 - 10.40 u	Erik Bleuel - Uterus
10.40 - 11.10 u	Koffie/thee pauze in de lobby
11.10 - 12.00 u	Genetisch consulent Sera Langeveld – Lynch Syndroom
12.00 - 12.45 u	Patholoog Suzanne Mol - Placenta
12.45 - 13.45 u	Lunch in de lobby
13.45 - 14.30 u	Cytogenetica
14.30 - 15.00 u	Mola

**wijzigingen voorbehouden



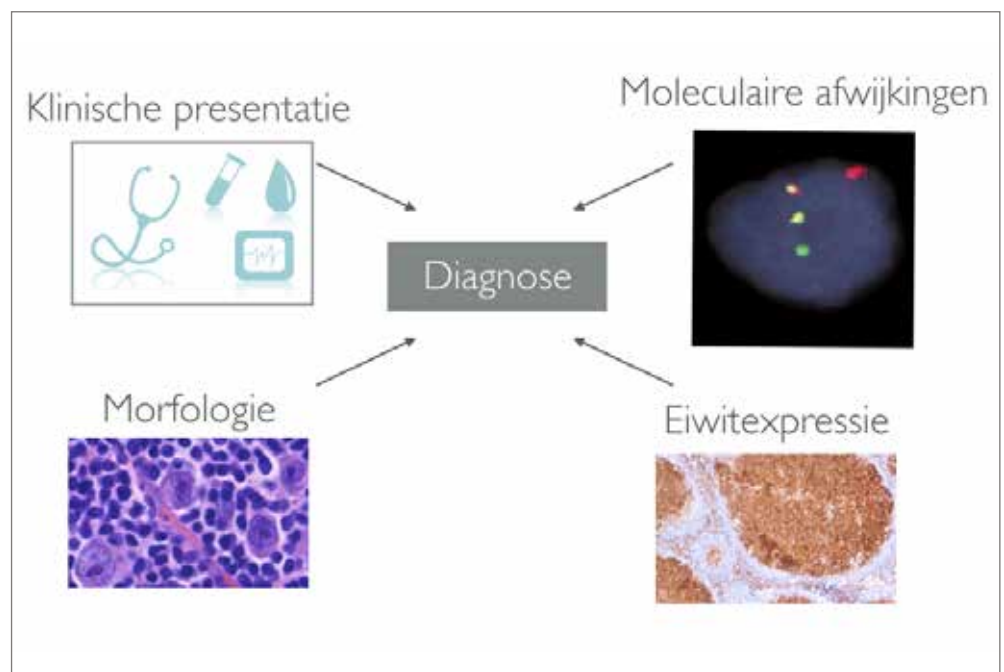
Lymfoomtypering – nu en in de toekomst

Michiel van den Brand, patholoog bij het Radboudumc in Nijmegen en bij Pathologie-DNA lokatie Arnhem

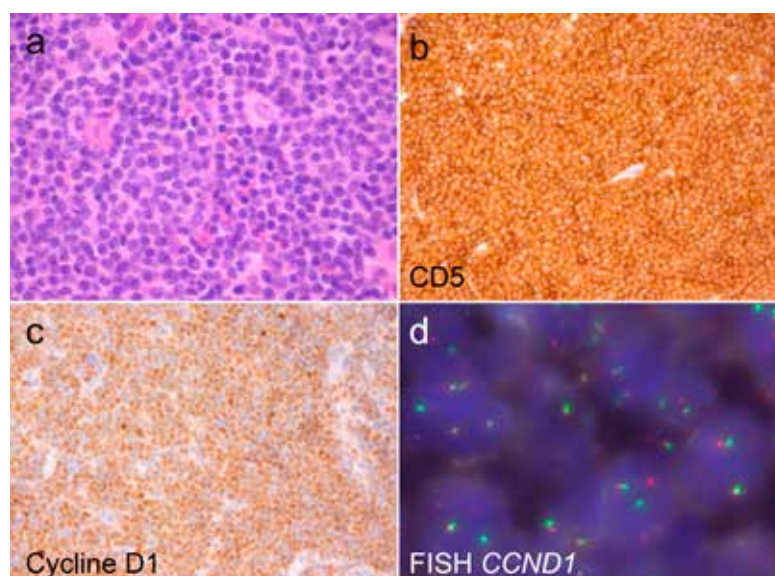
Lymfomen ontstaan uit lymfocyten, een type witte bloedcel die een belangrijke rol speelt bij de verworven immuunreactie. Er is een groot aantal verschillende lymfoomtypen waarbij de diagnose gesteld wordt door informatie vanuit verschillende bronnen te combineren. Hierbij wordt een aantal verschillende laboratoriumtechnieken gebruikt. In dit artikel worden de beginselen van lymfoomtypering besproken met illustraties van veel voorkomende vormen van lymfoom en met een vooruitzicht op ontwikkelingen in de toekomst.

Basisprincipes van lymfoomclassificatie

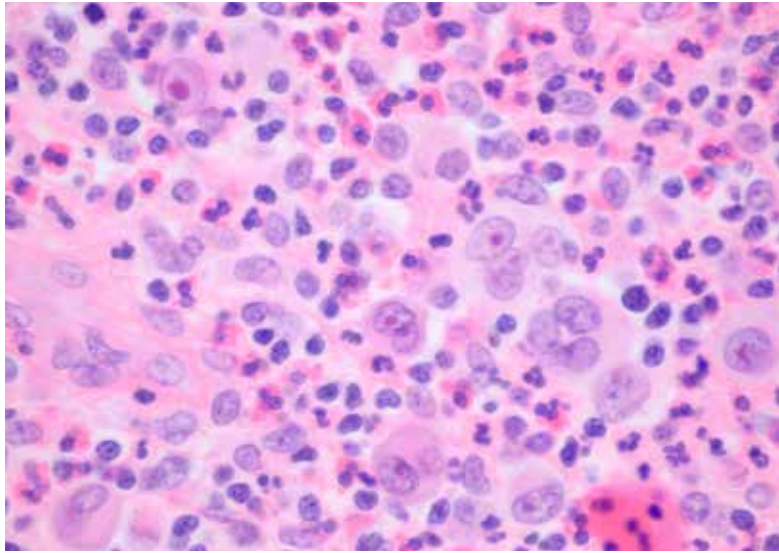
Lymfomen worden ingedeeld volgens het classificatiesysteem van de Wereldgezondheidsorganisatie (Engels: World Health Organization, WHO). Een precieze diagnose is belangrijk omdat dit de prognose en behandeling bepaalt. In eerdere classificatiesystemen lag met name de nadruk op de microscopische morfologie, maar in de WHO classificatie zijn de verschillende lymfomen gedefinieerd als *entiteiten*, waarbij naast de morfologie ook andere criteria de diagnose bepalen. Een entiteit is daarbij een verzameling van eigenschappen die samen leiden tot de diagnose van een bepaald type lymfoom (afbeelding 1). Deze eigenschappen zijn de klinische kenmerken (bijvoorbeeld de locatie van de ziekte), de microscopische morfologie (bijvoorbeeld grootcellig of kleincellig), eiwitexpressie (te bepalen met immunohistochemie en flow-cytometrie) en genetische kenmerken (specifieke translocaties of genmutaties). Zo wordt bijvoorbeeld het mantelcellymfoom gekenmerkt door een morfologie van kleine cellen, die eiwitexpressie tonen van B-cel markers, CD5 en cycline D1 en die op genetisch niveau een translocatie van het cycline D1 gen bezitten (Afbeelding 2). Het marginale zone lymfoom is een goed voorbeeld van een lymfoom waarbij de plaats van de ziekte



Afbeelding 1



Afbeelding 2



Afbeelding 3

van belang is; een marginale zone lymfoom in de milt wordt geclassificeerd als een splenaal marginale zone lymfoom, een marginale zone lymfoom in de huid of slijmvliezen als een extranodaal marginale zone lymfoom en een marginale zone lymfoom dat beperkt is tot de lymfklieren wordt geclassificeerd als nodaal marginale zone lymfoom.

Twee grote hoofdgroepen die worden onderscheiden zijn Hodgkin-lymfoom en non-Hodgkin lymfoom. Hodgkin lymfoom wordt gekenmerkt door grote atypische tumorcellen (Hodgkin- en Reed-Sternbergcellen) tussen een grote variatie aan cellen die in reactie op de tumorcellen aanwezig zijn (afbeelding 3).

De groep van non-Hodgkin lymfoom is een grote en diverse groep waarbij in eerste instantie onderscheid wordt gemaakt tussen B-cel lymfomen en T/NK-cel

lymfomen. Binnen de B-cel en T/NK-cel lymfomen wordt weer onderscheid gemaakt tussen lymfomen die lijken op voorlopers van B- en T-cellen (acute lymfoblastaire leukemie) en lymfomen die lijken op rijpe B- en T-cellen. Rijpe B-cellymfomen zijn verreweg de meest voorkomende groep en de rest van dit artikel zal dan ook met name gaan over deze categorie. Gezien het grote aantal (>25) verschillende rijpe B-cellymfomen zullen we ons richting op basisprincipes met veelvoorkomende lymfomen als illustratie.

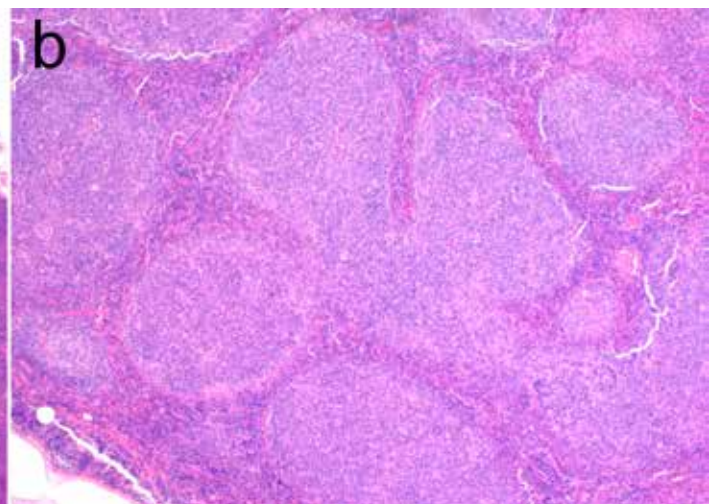
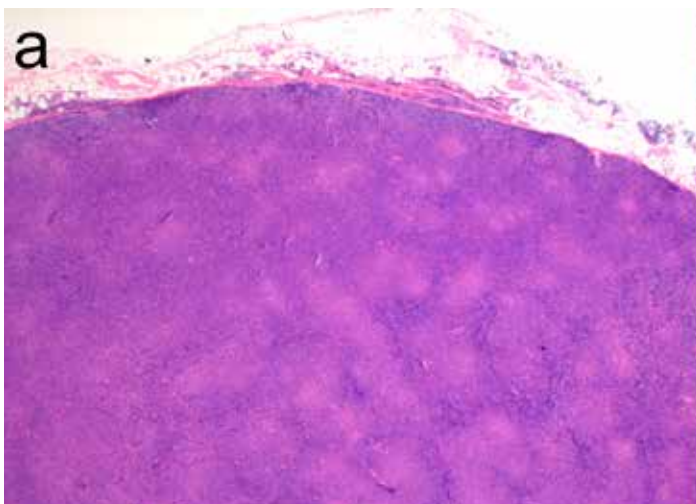
Morfologie als startpunt voor de diagnose

De microscopisch morfologie zoals te zien in een HE of Giemsa kleuring is nog steeds het startpunt voor het diagnosticeren van een lymfoom. Op basis hiervan worden aanvullende technieken ingezet. Een belangrijk onderscheid is dat tussen kleincellige en

grootcellige lymfomen. Grootcellige B-cel lymfomen bestaan uit cellen met grote kernen (zogenoemde 'blasten') en worden gekenmerkt door agressieve ziekte met hoge delingsactiviteit. Het meest voorkomende grootcellig B-cel lymfoom is het diffuus grootcellige B-cel lymfoom (Engels: diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL). Patiënten met DLBCL moeten snel en agressief worden behandeld, maar hierbij is er dan wel een goede kans op genezing van de ziekte. Kleincellige B-cel lymfomen bestaan voornamelijk uit kleine cellen die weinig deling tonen en waarbij de ziekte vaak meer sluipend ontstaat. Deze lymfomen worden over het algemeen minder agressief behandeld, maar blijven wel aanwezig als een niet te genezen, chronische ziekte. De kleincellige lymfomen kunnen overgaan in grootcellige lymfomen ('transformatie') waarbij dan agressieve behandeling nodig is voor de grootcellige component. Naast de celgrootte spelen andere morfologisch kenmerken een rol. Zo toont het folliculair lymfoom bijvoorbeeld gelijkenis met normale lymffollikels (afbeelding 4a) en ligt chronische lymfatische leukemie/kleincellig lymfocytair lymfoom (CLL) typisch in een patroon van 'witte wolken in een blauwe lucht' (afbeelding 4b).

Immuunhistochemie – onmisbaar voor lymfoomclassificatie

Immuunhistochemie is een onmisbaar instrument binnen de pathologie voor lymfoomtype-



Afbeelding 4

ring. Het wordt gebruikt voor het maken van onderscheid tussen B-cel en T-cel lymfomen door de expressie van B-cel markers (onder andere CD20, CD79a, PAX5) en T-cel markers (onder andere CD2, CD3, CD5, CD7) te bepalen. Vervolgens worden aanvullende kleuringen gebruikt om de diagnose verder te verfijnen. Zo toont folliculair lymfoom bijvoorbeeld expressie van eiwitten die ook in normale kiemcentra in de lymfklier tot expressie worden gebracht (onder andere CD10, BCL6) en kunnen met onder andere CD21 en CD23 de onderliggende dendritische netwerken zichtbaar worden gemaakt die zowel bij folliculair lymfoom als normale kiemcentra aanwezig zijn. CD5 is normaal gesproken een marker van T-cellen, maar komt ook tot expressie in een deel van de lymfomen; met name in mantelcellymfoom (MCL) en CLL. Verder onderscheid kan dan weer gemaakt worden met CD23 (positief in CLL, negatief in MCL) en cycline D1 (positief in MCL, negatief in CLL). Hierbij geldt wel dat lymfoom net als veel andere vormen van kanker een grillige ziekte is en dat niet ieder lymfoom een typisch aankleuringspatroon heeft met immuunhistochemie. Hierdoor wordt het arsenaal aan antilichamen nog steeds groter met bijvoorbeeld recent SOX11 als marker voor MCL, LEF1 als marker voor CLL en HGAL als marker voor folliculair lymfoom. Ook onderzoek naar genetische afwijkingen is een belangrijke aanvulling bij lastige gevallen.

Genetische afwijkingen – belang voor classificatie en behandeling

Net zoals andere vormen van kanker is ook lymfoom een genetische ziekte waarbij veranderingen in het genoom aan de basis staan van het ontstaan van de ziekte. In lymfomen spelen translocaties hierbij een belangrijke rol. Bij een translocatie wordt een stuk van het DNA verplaatst naar een ander chromosoom. Dit leidt tot de vorming van een fusiegen (een gen dat uit delen van twee verschillende genen is opgebouwd) of tot een verstoorde regulatie van

genexpressie. Bij B-cel lymfomen is er vaak een translocatie tussen een gen dat codeert voor de B-cel receptor en een oncogen. Dit leidt tot ongecontroleerde expressie van het oncogen, wat bijdraagt aan het ontstaan van lymfoom door bijvoorbeeld het stimuleren van de celdeling of juist het remmen van apoptose (geprogrammeerde celdood, een proces waarbij een cel zichzelf doodt). Belangrijke oncogenen bij lymfoom zijn *BCL2*, *BCL6*, *CCND1/BCL1* (het gen dat codeert voor cycline D1) en *MYC*. Veel van deze genen zijn voor het eerst ontdekt in lymfoom en hun naam verwijst daar ook naar (BCL – B-cel lymfoom).

In de afgelopen jaren is het mogelijk geworden om het genoom van lymfomen in kaart te brengen en deze informatie begint nu steeds meer door te dringen naar de classificatie van lymfomen en de behandeling. Zo is aangetoond dat mutaties in *BRAF* specifiek aanwezig zijn in hairy cell leukemie en heeft een groot deel van de lymfoplasmocytair lymfomen mutaties in *MYD88*. Ook voor het bepalen van de behandeling speelt het onderzoeken van genmutaties een rol. Het meest bekende voorbeeld hiervan zijn *TP53* mutaties in CLL die gepaard gaan met een agressiever ziektebeloop waarbij aanwezigheid van de mutatie ook van invloed is op de behandeling. De verwachting is dat de kennis over mutaties in lymfomen in de komende jaren sterk zal toenemen en dat dit ook steeds meer gebruikt zal worden voor de classificatie van lymfomen en ook voor het bepalen van de meest effectieve behandeling. Hierbij wordt met name veel verwacht van zeer gerichte/targeted behandelingen (precisiegeneeskunde) waarbij de aan- of afwezigheid van mutaties ook gebruikt zal worden om te voorspellen of een specifiek geneesmiddel werkzaam zal zijn.

Clonaliteitsanalyse

Clonaliteitsanalyse maakt gebruik van de normale variatie in receptoren op lymfocyten. Deze receptoren zijn belangrijk voor de

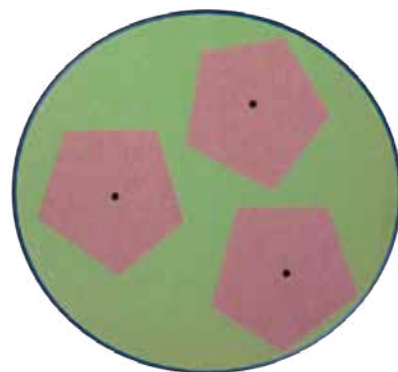
afweerreactie tegen onder andere virussen en bacteriën. Doordat het lichaam lymfocyten bezit met een grote variatie aan receptoren is het lichaam in staat een afweerreactie te maken tegen een grote variatie aan virussen en bacteriën. Een normale lymfklier bevat dan ook heel veel verschillende lymfocyten met heel veel verschillende B-cel/ T-cel receptoren. Lymfoom is juist een clonaal proces; het is terug te voeren op een enkele lymfocyt en alle kankercellen hebben dezelfde receptor. Clonaliteitsanalyse geeft een weergave van de variatie aan receptoren in een stukje weefsel, bijvoorbeeld een lymfklier; als er veel verschillende receptoren gezien worden dan is het weefsel polyclonaal en is er waarschijnlijk geen sprake van lymfoom. Als er juist maar één type receptor aanwezig is, dan is dit verdacht voor lymfoom. Bij patiënten die meerder malen lymfoom ontwikkelen is het met clonaliteitsanalyse mogelijk het type receptor te vergelijken om zo te bepalen of sprake is van een recidief, transformatie of juist een tweede primaire tumor. Op dit moment wordt een clonaliteitsanalyse uitgelezen op basis van de fragmentgrootte. Next generation sequencing clonaliteit is een nieuwe techniek die in ontwikkeling is waarbij naar de werkelijke DNA sequentie wordt gekeken in plaats van de fragmentgrootte. Dit is een gevoeliger analyse waarbij clonale vergelijking ook beter mogelijk is doordat de sequentie bekend is.

Conclusie

Lymfoomtypering vergt een multidisciplinaire benadering waarbij het klinisch beeld samen met informatie vanuit verschillende technieken de diagnose en behandeling bepalen. De uitdaging zit in het integreren van al deze verschillende soorten van informatie en hoewel het meestal lukt om tot een eenduidige diagnose te komen zijn er nog steeds lymfomen die lastig te typeren zijn. In de toekomst zal mutatie-analyse een grotere rol gaan spelen met als doel een preciezere classificatie en meer gerichte behandeling.

Houd deze dag vrij

Jubileum



40 jaar cytodiagnostiek

Datum:

30 september 2017

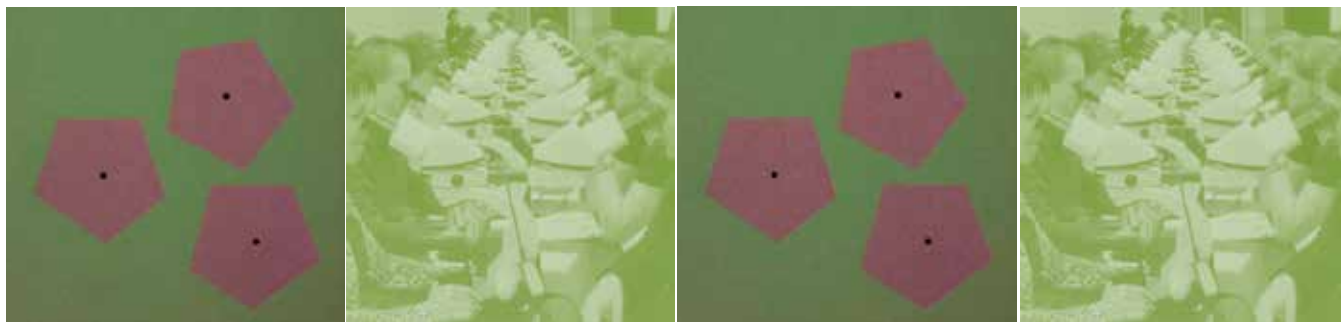
Locatie:

UMC Utrecht

Roze zaal en Foyer niveau 0

Programma:

Zie binnenkort de website en de volgende VAPvisie



www.vapweb.nl

Immunofenotypering van kwaadaardige lymfatische afwijkingen

Een diagnostische pijler van de brug tussen de Pathologie en Klinische Chemie & Hematologie

Mathie.P.G. Leers¹, Ruud Clarijs²

¹Afd Klinische Chemie & Hematologie, ²Afd. Klinische Pathologie, Zuyderland Medisch Centrum, locatie Heerlen en Sittard-Geleen

Inleiding

De immunofenotypering van kwaadaardige (maligne) lymfatische afwijkingen is een van de pijlers in de lymfoomdiagnostiek. De huidige benadering hiervan berust op een integratie van klinische kenmerken, morfologie, fenotype en genetica. De indeling van de lymfatische afwijkingen is gebaseerd op de WHO-classificatie en is opgebouwd uit een aantal kenmerken. Elke lymfatische afwijking wordt gedefinieerd als een afzonderlijke entiteit en is gebaseerd op een samenspel van morfologie, kliniek en biologische kenmerken. De cel waaruit de ziekte ontstaat ("cell of origin") is het startpunt van de definitie van de afwijking. Er zijn lymfatische afwijkingen die men kan benoemen op basis van routine morfologische kenmerken. Echter, voor de meeste lymfatische afwijkingen is kennis op het gebied van immunofenotype en moleculaire genetica/cytogenetica noodzakelijk. De plek waar de lymfatische afwijking zich presenteert is een belangrijke aanwijzing voor onderliggende biologische kenmerken. Daarnaast blijkt dat lymfatische afwijkingen die zich buiten een lymfklier ontwikkelen (zogenaamde extranodale lymfomen) verschillen in biologisch gedrag ten opzichte van degene die in een lymfklier ontstaan (nodaal).

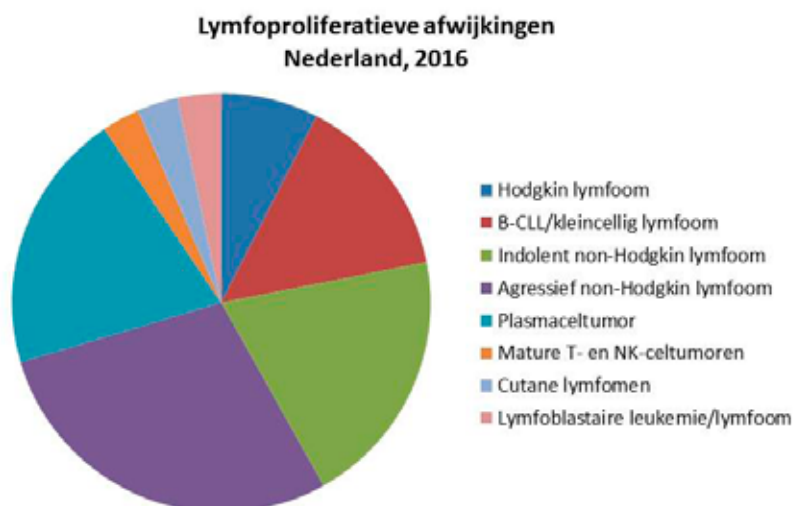
In 2016 werden in Nederland 9.072 nieuwe gevallen van een maligne lymfatische afwijking geregistreerd (bron: cijfersoverkanker.nl; Afbeelding 1). Hierbij vormen de rijpe T- en NK-cellymfomen, de huidtumoren en de lymfoblastaire leukemieën/lymfomen de minderheid.

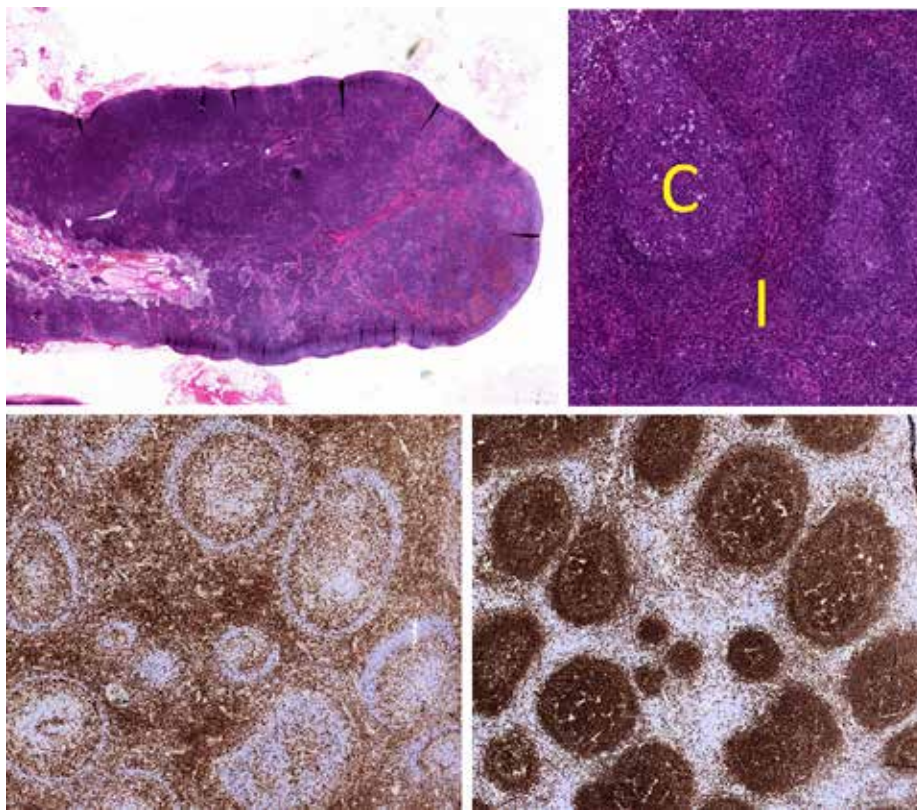
Lymfopoiese en aandoeningen

In het beenmerg ontstaat uit een van de hematopoietische stamcellen de lymfoide voorlopercel (zogenaamde progenitorcel). De B-lymfoide progenitorcel ontwikkelt zich in het beenmerg verder via de pre-B-lymfocyt tot een onrijpe B-lymfocyt. Deze onrijpe B-lymfocyt is voor wat betreft het immuunsysteem nog maagdelijk daar het nog niet in contact is geweest met een mogelijke antigene prikkel. Deze onrijpe B-lymfocyt verlaat het beenmerg en verplaatst zich richting lymfklier. In de lymfklier zijn functionele gebieden zichtbaar. Het meest in het oog springend zijn de follikels. Deze bestaan uit een kiemcentrum en een mantelzone. Deze follikels zijn een dynamisch geheel en kunnen bij een antigene prikkel enorm in grootte en

omvang toenemen. Dit komt doordat de B-lymfocyten in het kiemcentrum zich gaan vermeerderen waardoor het kiemcentrum in grootte toeneemt. Rondom de follikels bevindt zich de interfolliculaire gebieden. In de follikels treft men met name de B-lymfocyten aan, terwijl in de interfolliculaire gebieden de T-lymfocyten de overhand hebben (Afbeelding 2). Uiteraard zijn er ook T-lymfocyten aantoonbaar in het kiemcentrum. Zij spelen hier met name een rol bij de antigeenpresentatie en fine-tuning van de immuunrespons (Afbeelding 3A). Een onrijpe B-lymfocyt zal vanuit het beenmerg zich in eerste instantie begeven in de gebieden tussen de follikels waarbij de mogelijkheid bestaat dat het in direct contact komt met een antigene prikkel. De reactie hierop kan tweërlei

Afbeelding 1. De relatieve verdeling van maligne lymfatische afwijkingen in de Nederlandse bevolking (2016; bron IKNL, cijfersoverkanker.nl).

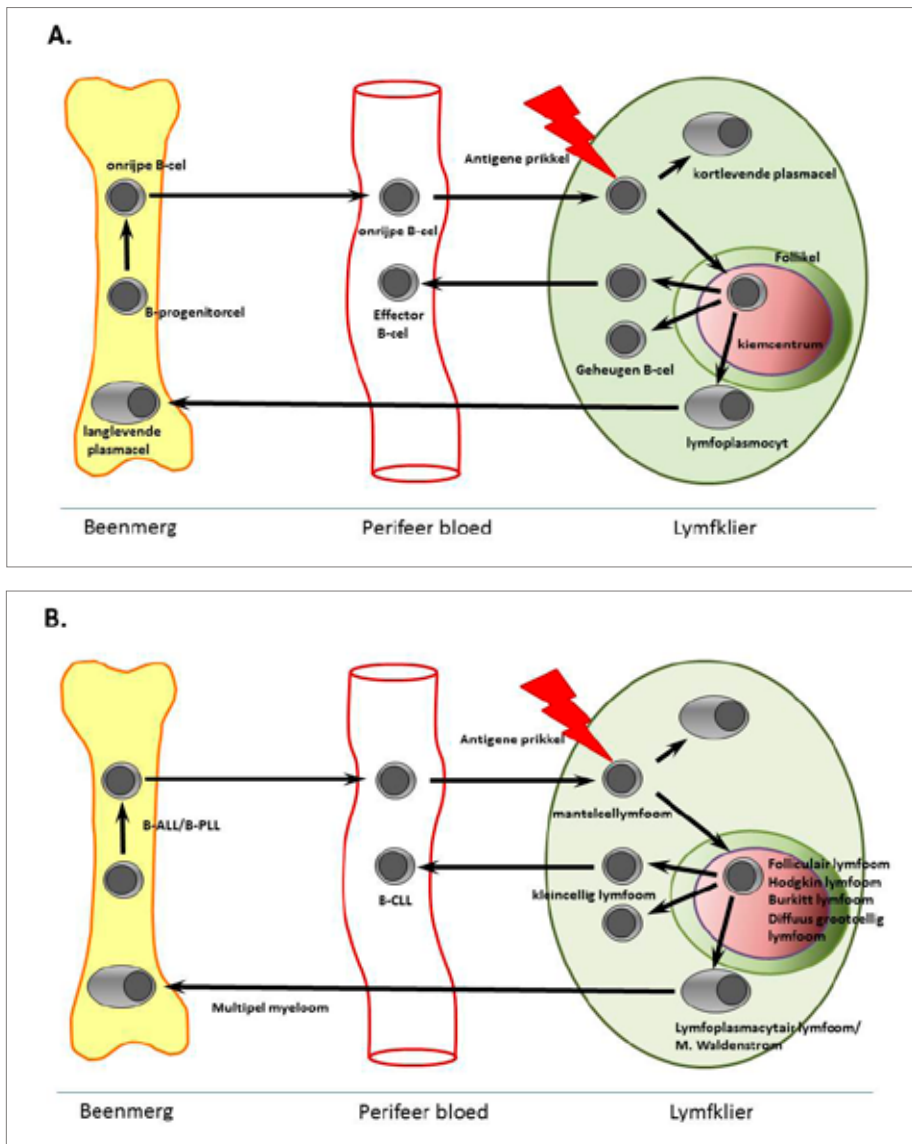




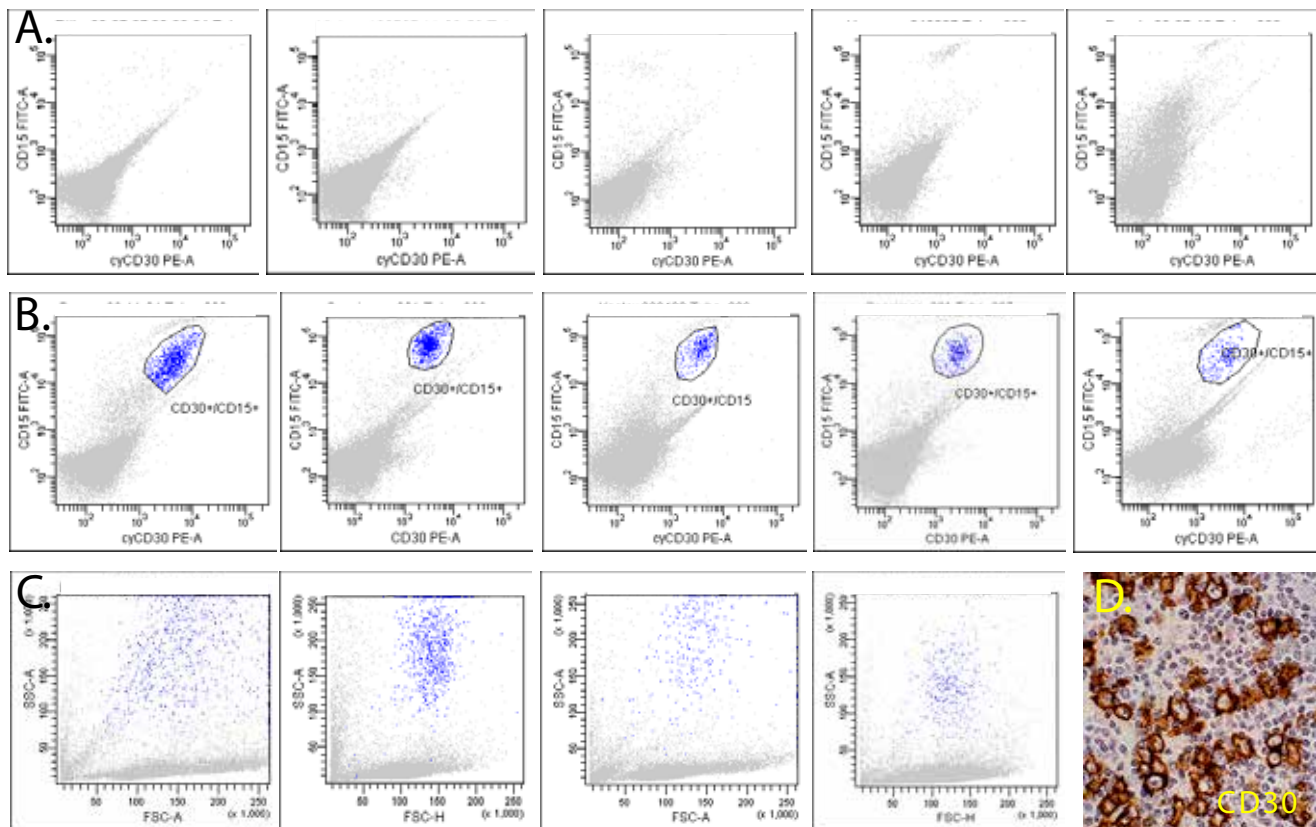
Afbeelding 2. Histologische en immunohistochemische kleuringen van een formaline gefixeerde, paraffine ingebedde lymfklier. De bovenste helft toont in de haematoxyline-eosine gekleurde opnames een overzicht (links) en een detail (rechts) van een normale lymfklier (C: follikelkiemcentrum en I: interfolliculaire gebied). De onderste helft toont middels immuunhistochemische kleuringen de normale distributie van de T-cellen (CD3, links) en de B-cellen (CD20, rechts). Het celmembraan van de T- en B-cellen zijn respectievelijk bruin aangekleurd, de negatieve cellen zijn blauw gekleurd.

zijn. Het kan direct reageren en zich ontwikkelen tot een kort levende plasmacel die antilichamen uitscheidt ter afweer van de antigene prikkel, of de geprikkelde lymfocyt migreert naar een follikel waar het zich ontwikkelt tot een effector B-lymfocyt (met antilichamen op zijn celmembraan) of tot een langlevende plasmacel (die antilichamen uitscheidt). Een deel van de effector B-lymfocyten zal zich ontwikkelen tot een geheugen B-lymfocyt. Deze kunnen na een herhaalde prikkel met dit antigeen zich snel tot een effector B-lymfocyt ontwikkelen. De T-lymfoide progenitorcel verplaatst zich vanuit het beenmerg naar de thymus, een orgaan dat bij kinderen goed ontwikkeld is en zich achter het borstbeen voor het hart bevindt. In de thymus zal de T-progenitorcel zich ontwikkelen via een corticale thymocyt in een maagdelijke T-effector cel (T-helper (CD4+) of T-suppressor (CD8+)). Deze maagdelijke effector-cel verlaat de thymus en zal voor een groot deel in de lymfklieren met een antigeen in contact komen, en voor een ander deel in de perifere weefsels (huid, milt, slijmvliezen).

In elke stap van hierboven beschreven ontwikkelingsproces kan een stoornis optreden en een maligne lymfatische afwijking ontstaat. Men kan de lymfomen/leukemieën grofweg onderverdelen op basis van de plek waar de lymfocyt ontaard (Afbeelding 3B, Tabel 1 WHO lijst met lymfatische afwijkingen). Voor de B-lymfocyt-afwijkingen zijn dit het precursor B-cellymfoom/leukemie, de pre-kiemcentrum- (bv. mantelcellymfoom), de kiemcentrum- (bv. folliculair en het Hodgkin lymfoom) en de postkiemcentrumlymfomen (bv. CLL en multipel myeloom) (Afbeelding 3B). Voor de T-lymfocyt-afwijkingen zijn dat het T-lymfoblastaire lymfoom/leukemie en de perifere T- en NK-cel lymfomen/leukemieën. De verschillende stadia die



Afbeelding 3. Route uitrijping en differentiatie van de normale B-lymfocyt. De plek van maligne ontaarding tijdens de uitrijping/differentiatie bepaalt het type lymfatische afwijking dat ontstaat.



Afbeelding 4. Verschillende voorbeelden van enkele goedaardige reactieve (A) als ook enkele maligne Hodgkin-lymfomen (B). In de 5 verschillende voorbeelden van een Hodgkin-lymfoom is een duidelijke cyCD30/CD15 dubbelpositieve cel populatie aanwezig. Wanneer men deze populatie selecteert en backgate in de FSC/SSC-plot, blijken dit cellen te zijn met een hoge FSC en middelmatige SSC (C.). Dit komt overeen met de morfologie van deze cellen (D.).

men kan onderscheiden gedurende de uitrijping van B- of T-lymfoide progenitorcel tot rijpe B- of T-lymfocyt worden gekenmerkt door de expressie van verschillende eiwitten op met name de celmembraan. Ook zijn er enkele eiwitten die in een bepaald stadium specifiek of in de kern (bv TdT) of in het cytoplasma (bv CD79a of CD3) tot expressie komen. De kennis van de expressie van deze specifieke eiwitten op het celmembraan, de kern of in het cytoplasma is van belang bij het vaststellen in welk stadium van de uitrijping de kwaadaardige lymfatische afwijking is ontstaan. Dit verstaat men onder het immunofenotype en hiernaar is veel onderzoek verricht door bv. de afdeling Hematologie van het Erasmus MC (o.l.v. prof. dr. J.J. van Dongen).

Technieken

De 2 meest gebruikte manieren om het immunofenotype van een afwijkende lymfocytenpopulatie vast te stellen is door middel van immunohistochemie in combinatie met lichtmicroscopie versus immunofluorescentie in combinatie met flowcytometrie. Elke techniek heeft zijn voor- en nadelen. Het grote voordeel van de microscopie is dat men ziet waar het antigeen

zich bevindt, zowel op cellulair als op weefselniveau. Hierdoor heeft men naast cytologische (membraneus, cytoplasmatisch of kern-aankleuring, versus gelijkelijk verdeeld of geaggregeerde aankleuring) ook histologische infor-

matie (bevindt de afwijkende populatie zich in de follikel- of mantelzone, wordt de gehele of een gedeelte van de klier ingenomen etc.). Een van de belangrijkste nadelen van immunohistochemie is dat men in 1 preparaat maar maximaal

Tabel 1 Meest voorkomende maligne lymfatische afwijking volgens WHO-classificatie 2016

Rijpe B-cel afwijkingen

- Monoklonale B-cel lymfocytose (MBL)
- Chronische Lymfatische leukemie/kleincellig lymfocytair lymfoom
- B-cel prolymfocytenleukemie (B-PLL)
- Hairy cell-leukemie
- Splenic marginal zone lymfoom
- Folliculair lymfoom
- Mantelcellymfoom
- Lymfoplasmacytair lymfoom
- Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS)
- Multipel myeloom
- Diffuus grootcellig B-cel lymfoom (DLBCL)
- Burkitt lymfoom

Hodgkin Lymfomen

- Nodulair scleroserend lymfoom
- Klassiek Hodgkin lymfoom

Rijpe T- en NK-celtumoren

- T-cel prolymfocytenleukemie (T-PLL)
- T-cel large granulair lymfocytair leukemie (T-LGL)
- T-cel leukemie/lymfoom
- Mycosis fungoides
- Sezary syndroom

Buis	FITC	PE	PcP-Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-H7
1	kappa	lambda	CD19	CD38	CD5	CD3
2	CD103	CD22	CD20	CD25	CD11c	CD19
3	slgG	slgD	CD138		slgM	CD19
4	FMC7	cyBcl-2*	CD20	CD10	CD23	CD19
5	slgA	CD24	CD45	CD10	CD5	CD19
6	CD15	cyCD30*	CD20	CD25	CD5	CD3

* Fix&Perm strategie t.b.v. cytoplasmatische aankleuring

Tabel 2. Voorbeeld 6 kleuren FCM lymfoomdiagnostiek-panel

2-3 epitopen gelijktijdig per cel zichtbaar kan maken. Daarnaast zijn de weefsels meestal gefixeerd in formaline en ingebed in paraffine, waardoor een groot deel van de epitopen op 3-dimensionaal vlak verstoord zijn. Dit is enerzijds door de methyleenbrug-vorming van de formaline-fixatie en anderzijds denaturatie door de toch vrij hoge temperaturen van de paraffine-inbedding. Hierdoor zijn niet alle commercieel verkrijgbare antilichamen tegen leukocyt-epitopen toepasbaar op formaline gefixeerd, paraffine ingebed weefsel doordat ze veelal ontwikkeld zijn voor niet-gefixeerde materialen (perifeer bloed, beenmergspiraat, lymfkliersuspensies). Daarnaast wordt door de formaline-fixatie de van nature in het weefselvocht aanwezige immunoglobulines (antistoffen) neergeslagen op de cellen, waardoor er een vals-positieve achtergrondkleuring ontstaat bij de klonaliteitsanalyse (deze voert men namelijk uit met commerciële antilichamen gericht tegen de lichte of zware ketens van deze immunoglobulines). Door het routine-proces van formaline fixatie en paraffine inbedding duurt het minimaal 24 uur voordat de eerste resultaten onder de microscoop bekeken kunnen worden. Tenslotte is de immunohistochemische beoordeling veelal semi-kwantitatief doordat de patholoog zo goed als mogelijk een schatting maakt van de mate van aankleuring voor de desbetreffende antilichaam. De grote voordelen van multiparameter flowcytometrie is dat de opwerking direct gestart kan worden en dat men in seconden tijd duizenden cellen kan analyseren waarbij er vervolgens een objectieve kwantificatie plaatsvindt. Daarnaast is het met de huidige generatie klinische flowcytometers mogelijk om 8 tot 10 verschillende antigenen zichtbaar te maken en men gelijktijdig ook informatie verzameld over de grootte (forward scatter) en de granulariteit (side scatter) van de cellen (dus 10-12 parameters per cel). Daar de belangrijkste voorwaarde voor flowcytometrische immunofenotypering

is dat men een suspensie met losse cellen dient te hebben, is het nadeel van de flowcytometer dat men geen informatie verkrijgt over de lokalisatie van de afwijkende cel in weefselverband.

Eigen ervaringen samenwerking t.b.v. de lymfoomdiagnostiek

Sinds 2005 is er in het Zuyderland Medisch Centrum een goede samenwerking tussen de Klinische Pathologie en Klinische Chemie & Hematologie (KCHL) voor wat de lymfoomdiagnostiek betreft. Hierbij wordt elke lymfklier die chirurgisch verwijderd wordt en waarbij een verdenking lymfoom is, met spoed droog aangeboden aan de Klinische Pathologie. De patholoog beoordeelt macroscopisch het lymfklierpreparaat. Indien de verdenking op een maligne lymfoom blijft bestaan, dan wordt er een representatief stukje van de lymfklier met de buizenpost droog verstuurd naar het KCHL. Deze nemen de lymfklier direct in bewerking en maken er een celsuspensie (mechanisch fijnhakken met 2 scalpelmessjes in een PBS-buffer). Deze celsuspensie wordt na wassen verdeeld over 6 buizen. In deze buizen zijn vlak van tevoren de juiste fluorochroom-gelabelde antilichamen gepipetteerd (tabel 2). Na incubatie en wassen, kunnen deze direct gemeten worden. In principe wordt dezelfde dag nog een rapport met immunofenotypische bevindingen gestuurd naar de Klinische Pathologie. De patholoog krijgt meestal de volgende dag de eerste H&E-coupe en kan aan de hand van de morfologische bevindingen en de immunofenotypische resultaten van het KCHL besluiten om nog een beperkt set immunohistochemische kleuringen uit te voeren voor de bevestiging van de differentiaaldiagnose. Hierdoor is er naast een kortere doorlooptijd (diagnostiek is sneller rond) ook een kostenbesparing (de patholoog kan volstaan met een klein panel ter bevestiging). Buis 6 uit het panel dat wij hanteren bij de lymfoomdiagnostiek, is samengesteld

om een eventueel Hodgkin-lymfoom aan te tonen. Een Hodgkin-lymfoom ontstaat uit een B-lymfocyt die zich qua uitrijping en differentiatie in het kiemcentrumstadium bevindt. Hodgkin lymfomen worden gekenmerkt doordat de kwaadaardige cellen een uiterst klein gedeelte van het lymfoom vormen, soms minder dan 2% van de totale tumor. Veelal is er een enorme infiltratie van reactieve T-lymfocyten. Dit is dan ook meteen de uitdaging in de flowcytometrie: men moet op zoek naar een naald in een hooiberg. Doordat de tumor ontstaat vanuit een cel die zich in het kiemcentrum bevindt, vertonen de kwaadaardige tumorcellen, de zogenaamde Reed-Sternberg- of Hodgkin cellen, ook geen monoklonaliteit en kan men ze hierop niet onderzoeken. Vanuit de histopathologie is bekend dat deze Reed-Sternberg of Hodgkin-cellen cytoplasmatisch sterk positief zijn voor CD30 (Ki-1) en sterk CD15 tot expressie brengen. Daarnaast is bekend dat deze cellen groot zijn en vaak een dubbele kern bevatten. Deze kennis is gebruikt bij het samenstellen van een geschikte buis waarbij naast forward scatter (grootte), side scatter (granulariteit), intracellulair CD30 en membraaneus CD15 verder nog CD20 als B-celmarker en nog enkele markers voor reactieve T-lymfocyten (bv. CD3 en CD5) zijn toegevoegd. De kwaadaardige Hodgkin-cellen kunnen dan goed herkend worden (Afbeelding 4). De afgelopen 5 jaar zijn er 150 lymfklieren aangeboden ter analyse, waaronder 22 door de Pathologie gediagnosticeerde Hodgkin-lymfomen. Van deze 22 werden er 17 ook flowcytometrisch gevonden met buis 6. Er werden 5 gemist, maar dat betroffen allen lymfocytenrijke Hodgkin-lymfomen. Er werden gelukkig geen vals-positieven gevonden.

Ontwikkelingen binnen de flowcytometrie

Er zijn 3 invalshoeken die de immunofenotypering van maligne lymfatische afwijkingen complex maakt. Ten eerste

neemt de kennis over de expressie van eiwitten op en in de afwijkende lymfocyten sterk toe. Ten tweede zijn de huidige generatie klinische flowcytometers in staat om routinematig 10-12 parameters per cel te onderzoeken. Ten slotte komen er steeds meer fluorochroom-gelabelde monoklonale antilichamen op de markt, ieder met zijn eigen specificiteit en sensitiviteit. Dit alles vereist dat de expertise binnen het laboratorium op een hoog niveau aanwezig dient te zijn om dit professioneel goed te kunnen interpreteren. Daarnaast wordt in Nederland vereist dat de ziekenhuislaboratoria geaccrediteerd zijn (CCKL dan wel ISO15189) waardoor het voor een doorsnee routine-laboratorium bijna ondoenlijk is om elke nieuw ontdekt eiwit op een leukocytenmembraan te implementeren in de diagnostiek van lymfatische afwijkingen. Om die redenen is in 2005 een Europees onafhankelijk wetenschappelijk consortium opgericht, genaamd Euroflow. Het huidige doel van dit consortium is het vaststellen en valideren van 8-kleuren (10 parameter) antilichaampanelen voor het diagnostiseren en classificeren van hematologische maligniteiten. Daarnaast ontwikkelen zij SOP's (standard operating procedures) die hierbij gehanteerd dienen te worden. In deze SOP's staan ook de kalibratie en afstemming van de flowcytometers beschreven. Bij het hanteren van deze SOP's in combinatie met het gebruik van de Euroflow-panelen zijn de resultaten van het ene ziekenhuislaboratorium vergelijkbaar met een ander laboratorium dat ook volgens deze procedures werkt. Hierdoor kunnen immunofenotyperingsresultaten van een patiënt makkelijker tussen ziekenhuizen uitgewisseld worden. Dit speelt een belangrijke rol in de samenwerking tussen de perifere en academische ziekenhuizen, daar veel patiënten voor specifieke behandelingen doorverwezen worden naar derdelijns-zorgcentra. Bovendien genoemde Euroflow-panelen zijn voor de specifieke hematologische afwijkingen opgebouwd uit 1 screening-

en enkele vervolgbuizen. Door gebruik te maken van 3-4 gemeenschappelijke fluorochroom-gelabelde antilichamen in de screening- en vervolgbuizen, zogenaamde "backbone-markers", in combinatie met de forward en side-scatter, kan men op basis van deze 5-6 gemeenschappelijke parameters softwarematig de informatie van de overige gebruikte antilichamen in de andere buizen met elkaar combineren. Met andere woorden, als men 1 screening- en 4 vervolgbuizen heeft met elk 8 parameters, dan heeft men in totaal een ca. 30-kleurenbuis. Voor dit doel heeft Euroflow in samenwerking met Cytognos een softwareprogramma (Infinicyt) ontwikkeld om de informatie van de afzonderlijke buizen op basis van de backbone-markers met elkaar te combineren. Dit gebeurt in multidimensionale plots, zogenaamde APS-plots (APS staat voor Automatic Population Separators). Voor de lymfatische afwijkingen zijn hiervoor met name de B-CLPD (zie tabel 3) en T-CLPD- Euroflow-panelen van belang (CLPD staat voor Chronic LymphoProliferative Disease).

Eindbeschouwing

Aangezien de levensverwachting van de mens de afgelopen 50 jaar sterk is toegenomen, is de kans op het krijgen van een chronische lymfatische afwijking ook toegenomen. Hierdoor wordt er een groter beroep gedaan op de diagnostische afdelingen en wordt samenwerking alleen maar vanzelfsprekender. Enerzijds kan dit leiden tot een snellere diagnostiek waardoor de patiënt sneller weet waar hij/zij aan toe is en de arts sneller kan gaan beginnen met gerichte therapie. Anderzijds zal door de samenwerking tussen bijvoorbeeld de Klinische Pathologie en de Klinische Chemie & Hematologie op den duur betere diagnostiek geleverd kunnen worden daar beide afdelingen op positieve manier gedwongen worden om over de juiste diagnose na te denken. Tenslotte zit er ook een financieel voordeel. Daar waar in het verleden beide afdelingen onafhankelijk van elkaar een compleet arsenaal

aan antilichamen inzetten om tot een diagnose te komen, kan in een samenwerking de complete immunofenotypering beter door de Klinische Chemie & Hematologie gedaan worden, en kan de Klinische Pathologie volstaan met een gericht pakket aan antilichamen om de immunofenotypering en morfologie met elkaar te combineren (bv gericht inzetten van specifieke markers in relatie tot histopathologie, zoals bv. cycline D1 (DD CLL/SLL vs mantelcellymfoom, bcl-2 (DD folliculair lyfoom vs diffuus grootcellig B-cellymfoom) en MYD88 (DD lymfoplasmacytair lyfoom). Door de innovatie in standaardisatie en diagnostische uitdagingen in de multiparameter flowcytometrie van kwaadaardige lymfatische afwijkingen in combinatie met de verdieping in kennis door de samenwerking tussen de Klinische Pathologie en het KCHL, kunnen patiënten met kwaadaardige lymfatische afwijkingen beter bediend worden in een gerichtere behandeling.

Over de auteurs:

Mathie Leers werkt sinds 2003 op de afdeling Klinische Chemie & Hematologie van het huidige Zuyderland MC, en sinds 2007 in de functie als geregistreerd klinisch chemicus-hematoloog. Hij is verantwoordelijk voor de hematologie in de brede zin van het woord (hemo-cytometrie, transfusie, stolling, beenmergdiagnostiek) en heeft al meer dan 25 jaar enorme belangstelling in de rol van multiparameter flowcytometrie in de klinische diagnostiek.

Ruud Clarijs werkt sinds 2007 op de afdeling Klinische Pathologie van het Zuyderland MC als klinisch patholoog. Reeds vanuit zijn opleiding tot klinisch patholoog heeft hij een warme bestelling voor de hematologie en de moleculaire diagnostiek.

Correspondentie:

Dr. ing. M.P.G. Leers
klinisch chemicus-hematoloog
Zuyderland Medisch Centrum
Postbus 5500, 6130 MB Sittard
mat.leers@zuyderland.nl

Tabel 3. B-CLPD panel Euroflow

Buis	PacB	PacO	FITC	PE	PcP-Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-H7
1	CD20	CD45	CD8	CD56	CD5	CD19	CD3	CD38
	CD4		lambda	kappa		TCR γ/δ		
2	CD20	CD45	CD23	CD20	CD79B	CD19	CD200	CD43
3	CD20	CD45	CD31	CD305	CD11C	CD19	SlgM	CD81
4	CD20	CD45	CD103	CD95	CD22	CD19	CD185	CD49d
5	CD20	CD45	CD62L	CD39	HLA-Dr	CD19	CD27	

Cao Ziekenhuizen

Er is een principe-akkoord voor een nieuwe cao Ziekenhuizen!

Op de website van de NVML (achter het ledenscherm) is het hele akkoord in te zien.

Looptijd

De Cao Ziekenhuizen heeft een looptijd van 1 januari 2017 tot 1 april 2019.

Salarisverhoging

- De salarisschalen en de salarissen worden per 1 juli 2017 verhoogd met 1,75%.
- De salarisschalen en de salarissen worden per 1 juli 2018 verhoogd met 2,00%.

De cao kent een eenmalige uitkering in 2017, 2018 en 2019 als financiële tegemoetkoming van mogelijk ten onrechte niet uitgekeerde onregelmatigheidstoeslag over vakantie-uren van 8,3% van de daadwerkelijk verdiende onregelmatigheidstoeslag in de jaren 2012, 2013 en 2014.

Daarnaast kent de cao driemaal een eenmalige uitkering op basis van een voltijd dienstverband bruto uit te keren in september 2017, € 200,00, september 2018,

€ 200,00 en februari 2019, € 125,00. De vakantiebijslag 2018 wordt verhoogd naar 8,33%.

Generatiebeleid

Er komt een regeling voor oudere medewerkers die minder willen gaan werken. Met de vrijgekomen uren krijgen jongeren de kans op een volwaardig arbeidscontract en wordt doorstroming binnen de organisatie bevorderd. Lees hierover meer in het hele akkoord op de NVML-website.

ORT-regeling

Er komt een éénmalige uitkering voor diegenen die in de periode van 1 januari 2012 tot 1 januari 2015 op onregelmatige tijdstippen hebben gewerkt. Deze ziet er als volgt uit:

- De medewerker ontvangt bij de betaling van het salaris in de maand september 2017 een eenmalige uitkering ter hoogte van 8,3% van het verdiende ORT-bedrag over het kalenderjaar 2012.
- In september 2018 ontvangt de

medewerker een eenmalige uitkering ter hoogte van 8,3% van het verdiende ORT-bedrag over het kalenderjaar 2013.

- In februari 2019 ontvangt de medewerker een eenmalige uitkering ter hoogte van 8,3% van het verdiende ORT-bedrag over het kalenderjaar 2014.

Deze eenmalige uitkeringen zijn volgens cao-partijen niet pensioengevend. *Cao-partijen maken deze afspraak onder voorbehoud van instemming door het PFZW-bestuur.*

Dit akkoord is naar verwachting begin juni goedgekeurd door de leden van de vakbonden. Voor vragen kunt u e-mailen naar: nvml.csb@nvml.nl

Voor VAP-leden: stuur een e-mail naar bovenstaand e-mailadres met als onderwerp 'cao ziekenhuizen 2017' en het stuk wordt toegestuurd.

De Commissie Sociale Belangen van de NVML

instru^{chemie}



www.instru^{chemie}.nl

Science without f(r)iction since 1979

ISO-9001 / 13485 / CE

Zwet 26 9932AB Delfzijl The Netherlands

Tel. +31 596 634 831 Fax. +31 596 634 755

e-mail: info@instru^{chemie}.nl

Door merg en been

Ing. H.F. (Harry) Kuipers, Vakspecialist Morfologie
Universitair Medisch Centrum Groningen. Afdeling Laboratoriumgeneeskunde.
Laboratorium Bijzondere Hematologie

De meeste mensen kennen het wel van de supermarkt of slager: mergpijpjes. Goed om bouillon van te maken voor een lekkere soep. Vroeger werd het gezien als lekkernij. Men at het binnenste gedeelte, dat rijk is aan ijzer, fosfor, vitamine A en onverzadigde vetten met een speciale merglepel uit een geroosterde mergpijp.

Het binnenste gedeelte is het been-merg. Het beenmerg is de plaats waar de hematopoïese (bloedcelaanmaak) plaatsvindt. Bloedcellen bestaan uit drie grote groepen: rode bloedcellen, erythrocyten, nodig voor transport van zuurstof en CO₂, witte bloedcellen, leukocyten, nodig voor een gezond afweersysteem en bloedplaatjes, trombocyten, nodig voor de bloedstolling.

Hematopoïese

De aanmaak van deze bloedcellen begint bij een stamcel in het beenmerg. Deze maakt cellen die zich kunnen

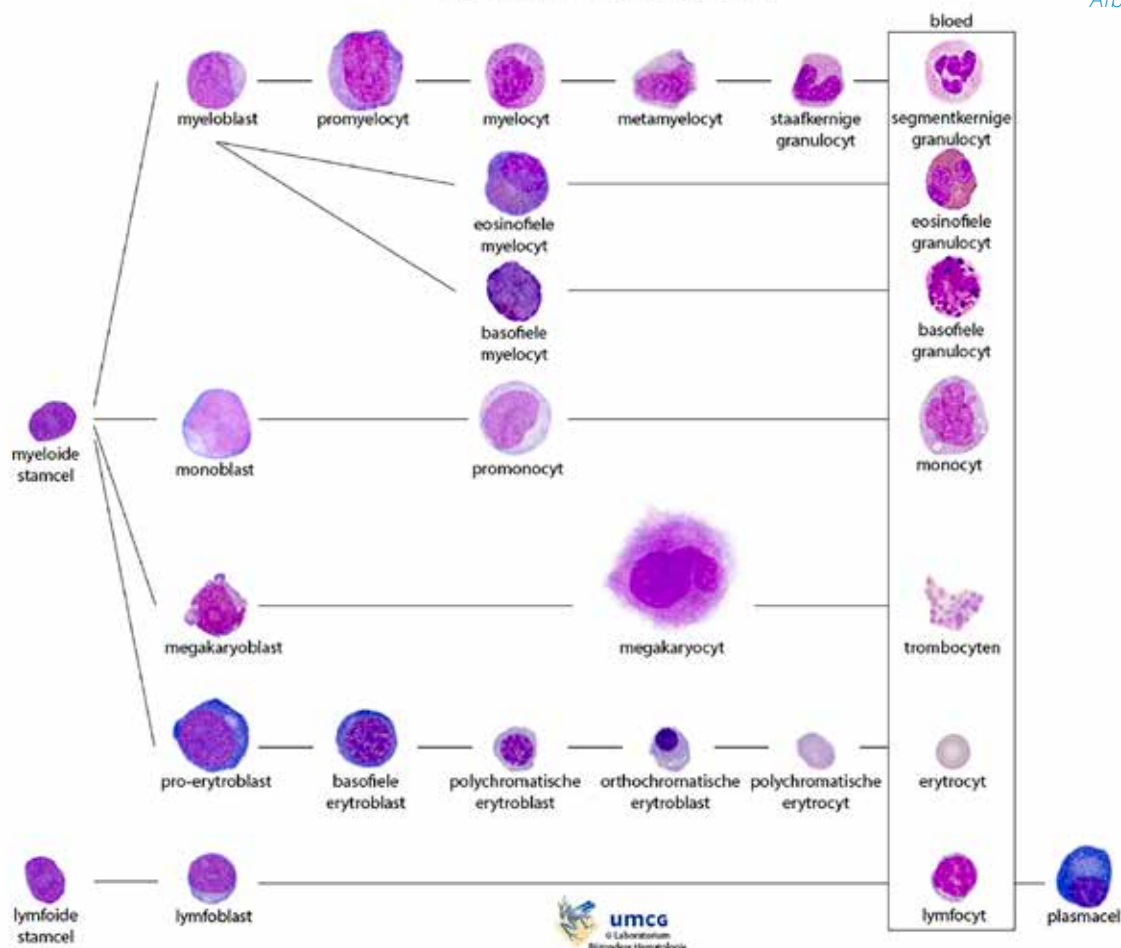
ontwikkelen tot verschillende typen cellen, afhankelijk waar op dat moment vraag naar is. In het beenmerg zit een grote voorraad van zowel onrijpe als uitgerijpte cellen die, eenmaal rijp geworden, uitgestoten kunnen worden richting de bloedbaan. Bij een normale uitrijping zijn dit onze normale bloedcellen. In afbeelding 1 is de uitrijpende hematopoïese weergegeven. In principe zijn het alleen de omrande cellen die in het bloed van gezonde mensen worden aangetroffen.

Er zijn 5 verschillende soorten witte

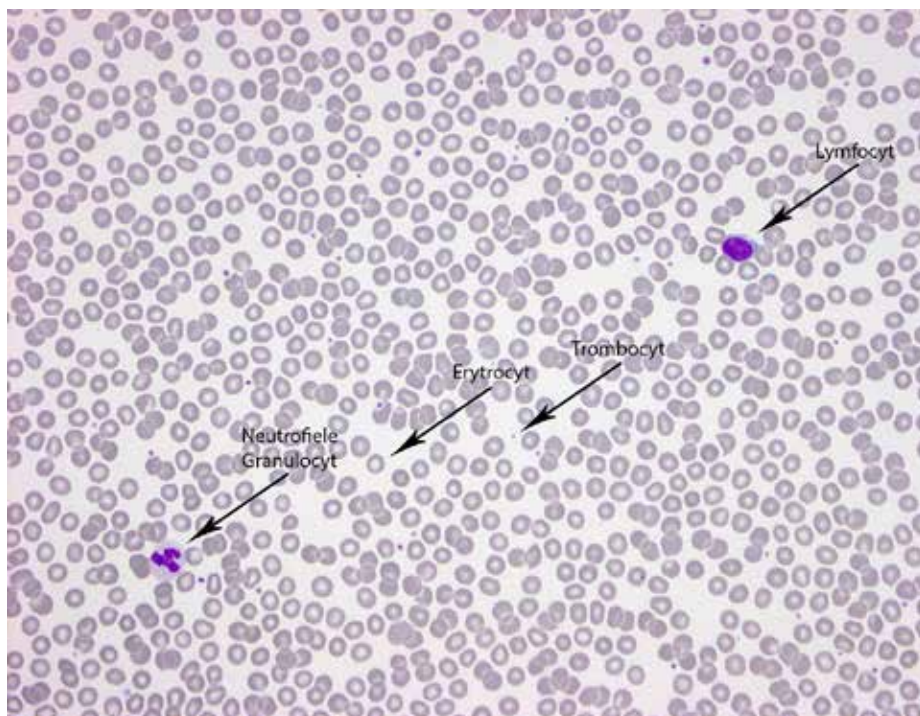
bloedcellen, elk met hun eigen morfologie en functie:

- Neutrofiële granulocyten zijn nodig voor afweer tegen voornamelijk bacteriën
- Lymfocyten zijn nodig voor afweer tegen virussen
- Monocyten zijn onze vreetmachines, zowel in de bloedbaan als in de weefsels (macrofagen)
- Eosinofiele granulocyten zijn betrokken bij o.a. parasitaire infecties en allergische reacties
- Basofiele granulocyten zijn betrokken bij allergische reacties

Hematopoïese



Afbeelding 1



Afbeelding 2

Afbeelding 2 laat zien hoe een gekleurd bloeduitstrijkje er onder de microscoop, met een vergroting van 400x, uitziet. Zo zie je heel goed de onderlinge groottes van de verschillende cellen, maar ook de verhouding tussen de cellen. Qua aantal hebben we de meeste erytrocyten, zo'n 4,5 biljoen (een biljoen is 1000 miljard) per liter bloed ($4,0-5,8 \cdot 10^{12}/L$). Dit is ongeveer een factor 1000 meer dan het aantal leukocyten ($4-10 \cdot 10^9/L$). Het aantal trombocyten is ongeveer 250 miljard per liter bloed ($150-400 \cdot 10^9/L$).

Een volwassen persoon heeft gemiddeld ongeveer 2500 gram beenmerg en dit bevindt zich in de beenderen. Het beenmerg kan worden verdeeld in twee compartimenten: een deel waar de hematopoïese plaatsvindt (rode merg) en een deel dat voornamelijk is opgebouwd uit dunwandige veneuze bloedvaten (gele merg). De hematopoïetische activiteit, die in de neonatale periode vrijwel heel het skelet omvat, trekt zich met het vorderen van de leeftijd terug naar de botten van de romp en de schedel. Indien nodig kan de bloedaanmaak zich weer uitbreiden over het gehele skelet en zelfs buiten het beenmerg expanderen, zoals in de milt en lever.

Beenmergafname

Beenmerg is dus nodig voor aanmaak van ons bloed. Gelukkig gaat dat bij de meeste mensen allemaal vanzelf en zonder problemen. Maar als dat niet zo is, dan willen we graag weten waarom. Het

kan zijn dat er te veel cellen zijn, zoals bij een leukemie, of dat er te weinig cellen zijn, zoals bij een aplasie. Beenmergonderzoek is dan noodzakelijk.

Beenmerg wordt afgenomen met een Jamshidi-naald (zie afbeelding 3). Dit is een soort appelboortje waarmee zowel beenmerg kan worden opgezogen alsmede een botbiopt genomen kan worden. De afname vindt plaats vanuit een gedeelte van het lichaam waar zich rood merg bevindt. De voorkeursplaats is de Spina Iliaca Posterior Superior, ofwel achterste, bovenste bekkenkam. Het sternum (borstbeen) wordt ook nog wel eens gebruikt, maar nadelen daarvan zijn dat er daar geen botbiopt kan worden genomen en het een plek is dicht bij vitale organen. Ook vinden patiënten het over het algemeen minder prettig omdat de afname zichtbaar is voor de patiënt.

Nadat de patiënt in foetushouding is gelegd, de biopsieplek gelokaliseerd is en de huid verdoofd is kan de afname beginnen. Met de Jamshidi-naald wordt

Afbeelding 3



door de huid geprikt op zoek naar de bekkenkam. Vervolgens worden het botvlies en het bot doorboord, waarna de punt van de naald in de mergholte komt. Door middel van een spuit met anticoagulans wordt het beenmerg opgezogen. Vervolgens kan er nog een botbiopt genomen worden. Het materiaal dat is verkregen door aspiratie, is een mengsel van bloed en beenmergvlokjes (zie afbeelding 4). De vlokjes zijn de representanten van het beenmerg. Het is belangrijk om bloedbijmenging zoveel mogelijk te beperken. Omdat beenmerg, net als bloed, buiten het lichaam gaat stollen dient een beenmergaspiraart te worden ontstold.

Goede uitleg aan de patiënt over de afnameprocedure is erg belangrijk. Je hoort soms de meest vreselijke verhalen over wat voor hel een beenmergafname is. Dit valt over het algemeen mee, maar het blijft een kleine operatie en is dus belastender voor een patiënt dan bijvoorbeeld een venapunctie. Zoals gezegd wordt de huid en het botvlies zoveel mogelijk verdoofd. Dit is hetzelfde gevoel als een verdoving bij de tandarts; niet gevoelloos, maar de pijn trekt snel weg. Het bot zelf met name de binnenzijde kan niet verdoofd worden, dus de patiënt zal het voelen. Met name het losmaken van een botbiopt en het opzuigen van het beenmerg (creëren van een vacuüm) zal de patiënt als minder prettig ervaren. Dit duurt maar even en kan over het algemeen met afleiding en concentratie op ademhaling overbrugd worden. Achteraf hoor je vaak dat een beenmergafname meegevallen is t.o.v. wat de patiënt had verwacht, maar prettig is anders. Pijnbeleving is voor iedereen anders, dus er zijn ook patiënten die geen goede ervaringen hebben met een beenmergafname. Beenmergafname wordt bij kinderen onder narcose uitgevoerd, bij volwassenen zelden.

Benodigheden

Beenmergafname blijft natuurlijk een ingreep en die wil je niet onnodig doen. Vandaar dat een geautoriseerde aanvraag belangrijk is. Door het betrekken van een hematoloog komt het regelmatig voor dat afnames niet gedaan hoeven te worden omdat er met andere onderzoeken een hematologisch probleem al kan worden uitgesloten.

Een schone ruimte is natuurlijk belangrijk om infecties te voorkomen. Een verpleegkundige is er om alle mate-



Afbeelding 4

rialen klaar te leggen, de patiënt voor te bereiden en tijdens de afname als steun voor de patiënt, een hematoloog om de daadwerkelijke afname te doen. Het is erg wenselijk om ook een analist bij de afname te hebben. Deze kan ter plekke de kwaliteit en kwantiteit van het afgenomen beenmerg beoordelen en direct met het verse materiaal preparaten maken voor de cytologie. De uitvoering van een beenmergafname verdient dus een optimale organisatie.

Beenmergonderzoek

Er zijn vele indicaties waarbij een beenmergonderzoek wordt uitgevoerd:

- Reactief te kort/te veel aan cellen door bijvoorbeeld infecties (viraal, parasitair)
- Maligne te kort of te veel aan cellen, zoals respectievelijk leukemieën en MDS-en
- Lymfomen (HL/NHL)
- Metastasering van niet-hematologische maligniteiten
- Zeldzame infecties die in het beenmerg aangetoond kunnen worden (Leishmania, tbc)

IJzer- en vitaminetekorten (Vitamine B-12, foliumzuur) zijn tegenwoordig bijna nooit meer een reden om beenmergonderzoek te doen.

Het beenmergaspiraat lijkt erg op bloed. Het is, net als bloed, vloeibaar (en dat blijft het ook als er een anticoagulans bij zit). Verschil is dat er beenmergvlokjes aanwezig zijn. EDTA-beenmerg wordt gebruikt voor cytologie, flowcytometrie en moleculair onderzoek, heparine-beenmerg wordt gebruikt voor cytogenetisch onderzoek. Het botbiopt wordt naar de PA gezonden en vervolgens ontkalkt. Dit duurt ongeveer 5 dagen. Vervolgens worden er hele dunne coupes gesneden, gekleurd en door de patholoog bekeken.

Cytologie wordt altijd gedaan. Het geeft een snelle uitslag, maar niet alles is in de cytologie te zien. Daarom zijn er ook andere onderzoeken nodig. De PA bijvoorbeeld is onmisbaar bij het vaststellen van de meeste lymfomen. Ook de mate van eventuele fibrose is PA-werk. Flowcytometrie wordt gedaan bij leukemieën en sommige lymfomen. Cytogenetica en moleculaire diagnostiek wordt verricht bij maligniteiten en onderzoek naar tbc en parasieten als Leishmania (in Nederland zeldzaam) gebeurt bij de Medische Microbiologie.

Er zijn verschillende soorten preparaten die gemaakt kunnen worden:

Het bloeditstrijkje: Dit is een preparaat dat vaak vergeten wordt, maar erg belangrijk is. Bij een groot aantal ziektebeelden is de beoordeling van het bloed onmisbaar. Sommige, met name subtiele, afwijkingen zie je beter in het bloed dan in het beenmerg. Ook zijn de cel aantallen soms bepalend voor een diagnose en/of prognose. En voor de prognose van lymfomen kan het van belang zijn of het ook leukemisch is, dat wil zeggen dat het ook in het bloed voorkomt.

Een pletpreparaat: Dit is het standaardpreparaat dat gemaakt wordt van de vlokjes van een beenmergaspiraat. Door voorzichtig enkele vlokjes tussen 2 preparaten te leggen en de glaasjes uit elkaar te trekken kun je een mooie indruk krijgen van de celrijkdom en het aantal megakaryocyten, de voorlopers van de trombocyten. Ook kunnen haardsgewijze infiltraties en cellen die zich vooral in en om de vlokken bevinden goed beoordeeld worden. De morfologie van de cellen is in sommige andere preparaten mooier, maar door veel in pletpreparaten te kijken wen je daaraan. Het is altijd raadzaam om naast pletpreparaten ook andere preparaten te maken.

Een uitstrijkpreparaat: Dit wordt op dezelfde manier gemaakt als een uitstrijkje van bloed. Het wordt nog vrij veel gedaan omdat het makkelijk is en de cellen goed te beoordelen zijn. Echter, je kunt weinig zeggen over de celrijkdom en het aantal megakaryocyten. Ook kun je haardsgewijze infiltraties of, doordat de meeste vlokjes weggestreken worden, bepaalde cellen die zich voornamelijk in of rond de vlokken bevinden, missen.

Een zigzagpreparaat: ook wel het Groningse preparaat genoemd. Dit is een redelijk makkelijk te maken preparaat waarin vooral de morfologie van de cellen heel mooi is. Ook hier kun je geen goede beoordeling maken van de celrijkdom en het aantal megakaryocyten en kun je haardsgewijze infiltraties missen.

Een rollerpreparaat: deze wordt gemaakt door het botbiopt voorzichtig tussen 2 glaasjes te rollen. Zo krijg je een afdruk van de buitenkant van het biopt. Zeker als er een zogenaamde 'dry-tap' is (als er geen aspiraats kan worden verkregen) dan is dit een makkelijke manier om toch preparaten te maken, zonder dat daarbij de beoordeling van de PA bemoeilijkt wordt. In veel gevallen is het dan toch mogelijk om een snelle voorlopige uitslag te geven.

Beenmergonderzoek vereist veel expertise. Cytologische beoordeling gebeurt op veel laboratoria. De meeste laboratoria zullen veel voorkomende en duidelijke afwijkingen wel zien, maar er zijn ook zeldzame ziektebeelden (bijvoorbeeld systemische mastocytose of bepaalde T-cellymfomen), ziektebeelden met hele subtiele afwijkingen (sommige MDS-en) of complexe patiënten. Mede-beoordeling of herbeoordeling door ervaren mensen is daarom soms nodig. Er zijn ook bepalingen die maar in een paar laboratoria in Nederland plaatsvinden. Bijvoorbeeld de Kit-bepaling (PCR-bepaling bij mastocytose) die alleen in Rotterdam en in Groningen wordt gedaan. Materiaal moet dan dus verstuurd worden. Let er goed op wat de afname- en verzendcondities zijn. Is het juiste anticoagulans gebruikt? Is er voldoende beenmergaspiraat afgenomen? Is de buis juist geïdentificeerd? Is er een duidelijke aanvraag mét NAW-gegevens van de patiënt, klinische gegevens, vraagstelling, afzender en AGB-code van de aanvragende arts? Is er, indien nodig, een afspraak gemaakt voor het uitvoeren van een bepaling? Zijn er, indien mogelijk, ongekleurde cytologiepreparaten meegestuurd? Kan het materiaal iedere dag opgestuurd worden, ook op vrijdag? Met de post of met een koerier? Zijn er eisen aan de temperatuur bij verzenden? Allemaal vragen waarbij men even stil moet staan, want:

Beenmergafname is niet zomaar een prikje!

A tissue block management breakthrough

Take control of your archives with the Thermo Scientific™ Syntri™ Arcos™ Block Management System. The system is designed to increase productivity, minimize errors, and keep your laboratory's resources focused on what matters most – positive patient outcomes.

No more time-consuming manual sorting of tissue blocks. In just minutes, the Arcos scans hundreds of blocks and records their exact location – from the position in the tray to the final storage point in your archive. Need a specimen for re-cutting? The Arcos System quickly gives you the location, records where you sent it and when it is due back. When you've completed your work simply place the block in the next tray to be scanned, the system will automatically update the location in your database.

The Arcos Block Management System – take control today.

secure. simple. savings.

• www.thermoscientific.com



Thermo Scientific Syntri Arcos
Block Management System



Lost blocks are a thing of the past
The Arcos system maintains a record
of all blocks in storage with robust
check-out and check-in controls



Beenmerg, een bron van nieuwvorming

Door Anke van Bruggen

Op het laboratorium van de Klinische Pathologie komt met enige regelmaat een beenmergbiopsie binnen. Een andere naam voor een beenmergbiopsie is crista. Deze naam is afkomstig van de plek waar het beenmergbiopsie vandaan komt, de bekkenkam ofwel Crista Iliaca.

Beenmerg

Beenmerg is een sponsachtig weefsel wat zich bevindt in de mergholten van de beenderen. Reticulair bindweefsel (fijnmazig netwerk van dunne draden collageen, zie afb. 1) vormt de basis van het beenmerg. Er zijn twee soorten beenmerg, rood (hematogeen/ actief) beenmerg en geel beenmerg wat rijk is aan vet. Bij pasgeborene is al het beenmerg rood, bij volwassenen is de verhouding tussen rood en geel beenmerg ongeveer gelijk. In het rode beenmerg worden alle cellen gemaakt die zich in het beenmerg en de bloedsomloop bevinden. De pluripotente stamcel is de moeder van alle cellen en is in staat zich te ontwikkelen tot verschillende typen bloedcellen. Dit wordt hematopoïese genoemd.

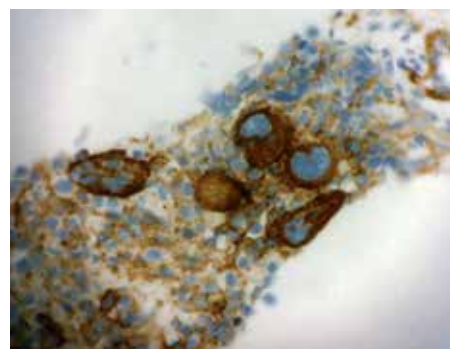
In de basis bestaat bloed uit rode bloedcellen, witte bloedcellen en bloed-

plaatjes. Rode bloedcellen, erythrocyten genoemd vervoeren zuurstof van de longen naar de rest van het lichaam. Witte bloedcellen, leukocyten genoemd die de basis vormen van het immuunsysteem en bloedplaatjes, trombocyten genoemd die zorgen voor de stolling van het bloed.

Weetje: voorlopers van trombocyten zijn megakaryocyten. Met behulp van bijvoorbeeld de immunohistochemische bepaling CD31 zijn deze megakaryocyten specifiek aan te tonen in het beenmerg (zie afb. 2).

Beenmergpunctie

Een beenmergpunctie wordt gedaan als er sprake is van een bloedafwijking waarbij bijvoorbeeld het aantal bloedcellen

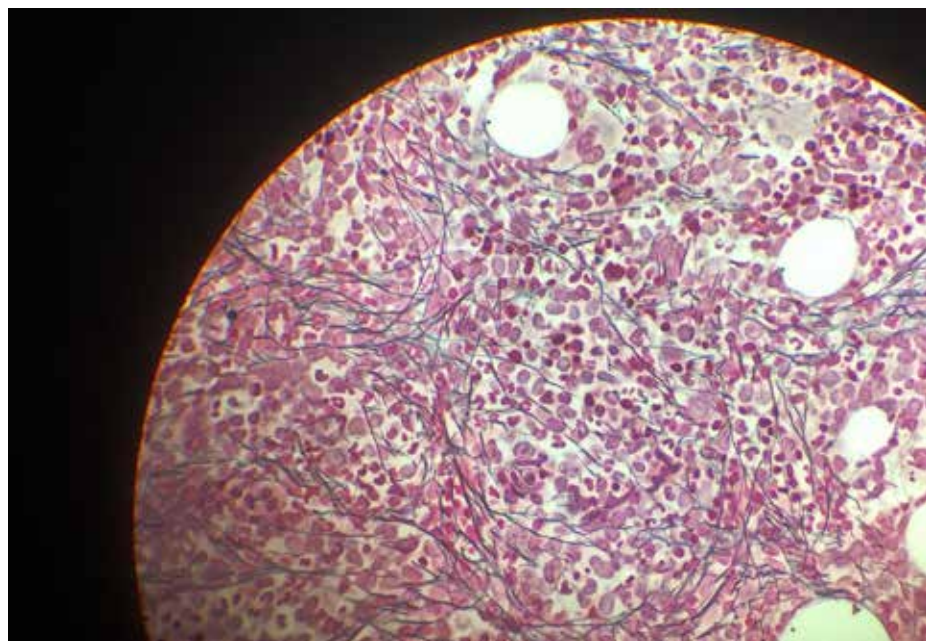


Afb. 2 Megakaryocyten



Afb. 3
Biopsienaald

Afb. 1 Reticulinevezels in de crista



van een bepaald type cellen afwijkt. Of er is sprake van hemato-oncologische aandoeningen zoals bijvoorbeeld leukemie.

Bij een beenmergpunctie wordt met behulp van een holle naald (zie afb. 3) de botcortex doorboort waarna er een spuit op de naald wordt gezet om merg op te zuigen. Voor een beenmergbiopsie wordt een iets grotere naald (soort kleine appelboor) met een draaiende beweging door de botcortex geduwd waarna er



Afb. 4 Cristabiopt vlak voor het inblokken

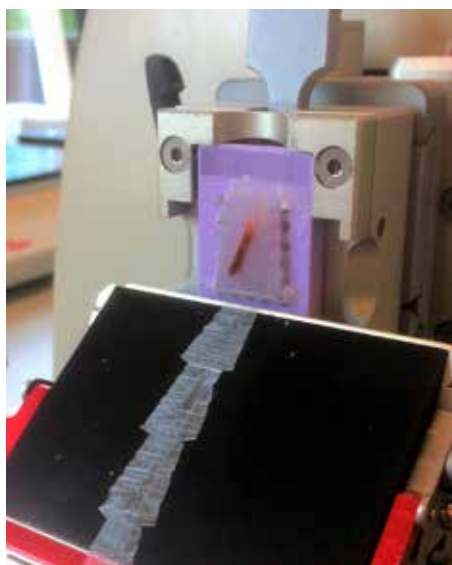
een cilindrisch, solide biopt van het merg gemaakt wordt. Dit botstaafje is gemiddeld 15mm lang en heeft een diameter van 3mm.

Bij de beenmergpuntie uit het bekken ligt de patiënt op de zij met opgetrokken knieën. Op heuphoogte wordt de huid plaatselijk verdoofd. Daarna wordt er een snede gemaakt in de huid waar door de holle naald in het bot van het bekken wordt gevoerd. Dit kan pijnlijk zijn. Ook het opzuigen van het merg en de biopsie kunnen pijn veroorzaken. Het is daarom mogelijk naast de verdoving nog een licht sederend middel (roesje) te gebruiken om het onderzoek iets aangenamer te laten verlopen. Het onderzoek duurt niet langer dan 20 minuten. Na het onderzoek dient de patiënt nog enige tijd op de biopsieplek te liggen om zo de wond dicht te drukken en het bloeden te stelpen.

Ontvangst op de klinische pathologie

Naast het bloeditstrijkje, een pletpreparaat, een uitstrijkpreparaat, een zigzag-

Afb. 5 3mu coupes van het cristabiopt



preparaat en een rollerpreparaat wat van het aspiraats gemaakt kan worden (zie artikel Ing. H.F. Kuipers elders in het blad) kan ook met een beenmergbiopsie een en ander duidelijk worden.

Het beenmergbiopsie wordt op formaline fixatief aangeleverd op de klinische pathologie. De macroscopie wordt beschreven waarna het biopsie nog 24 uur blijft fixeren. De volgende dag wordt het biopsie op EDTA (Ethyleendiaminetetraazijnzuur) gezet. Dit is een mild ontkalkingsmedium om het bot en kraakbeen in het beenmergbiopsie zacht te maken voor verdere bewerking. Iedere dag wordt gecontroleerd of het weefsel zacht genoeg is om doorgevoerd te worden. Als het biopsie genoeg ontkalkt is wordt het in een weefselcassette doorgevoerd (zie afb. 4). Dit houdt in dat het weefsel via alcohol en xyleen wordt voorbereid op het inbedden in paraffine. Met behulp van een mal wordt het biopsie gepositioneerd in de vloeibare paraffine waarna op een koelplaat of in de vriezer de paraffine stolt. Nu is het materiaal klaar om gesneden te worden. Met behulp van een microtoom worden er van het weefsel zeer dunne plakjes (coupes) gesneden (zie afb. 5). Deze coupes worden gehecht aan een objectglas en standaard H&E gekleurd. Nu kan een patholoog het weefsel onder de microscoop bekijken.

Histochemische kleuringen

Naast de standaard H&E kleuring kunnen er verschillende andere histochemische kleuringen op een crista worden uitgevoerd. Bijvoorbeeld een ijzerkleuring, reticulinekleuring, PAS-d bepaling en een giemsa. Op de ijzerkleuring en de Giemsa wil ik iets dieper ingaan.

“IJzerstapeling komt voor in twee vormen

IJzer en het homeostatisch regelsysteem

IJzer is een belangrijke bouwsteen in het lichaam en is van belang bij het maken van rode bloedcellen. Het lichaam heeft geen reguleringsmechanisme om overtollig ijzer uit te scheiden dus wordt het opgeslagen in de milt, de lever en het beenmerg. Door het homeostatisch regelsysteem waarbij het peptidehormoon hepcidine een rol speelt wordt de ijzerstapeling in het lichaam bewaakt.

Hepcidine wordt geproduceerd door de lever.

Erythrocyten hebben hun rode kleur door hemoglobine. Door afbraak van oude rode bloedcellen door macrofagen komt ijzer vrij. Hemoglobine wordt afgebroken tot onder andere globine en ijzer. IJzer vormt met het plasmaeiwit transferrine een complex waardoor het getransporteerd kan worden naar het rode beenmerg. Hier wordt het ijzer opnieuw gebruikt bij de vorming van nieuwe erythrocyten. Komt er veel ijzer (ferritine) vrij dan zal de productie van hepcidine worden gestimuleerd.

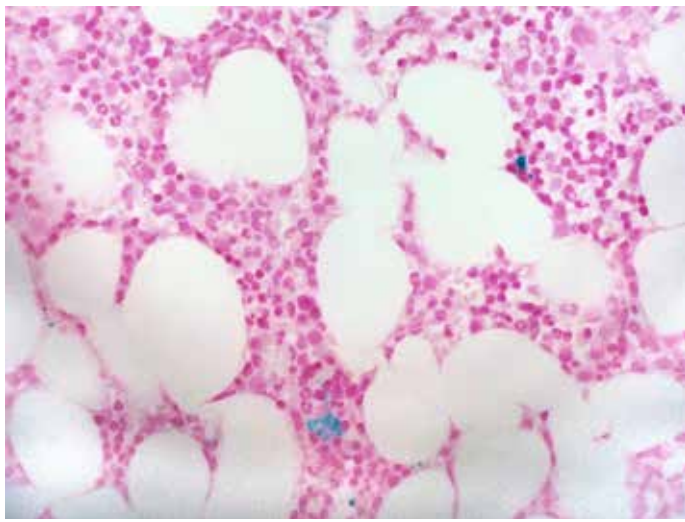
Hepcidine vormt vervolgens een complex met ferroportine op de membranen van de macrofagen waardoor er geen ijzer meer kan worden opgenomen of afgestaan. Hierdoor dalen de ijzerwaarden. De productie van hepcidine daalt waardoor er weer ijzer kan worden opgenomen en afgestaan. Is de beenmerg activiteit hoog (worden er dus veel rode bloedcellen gemaakt) zal de productie van hepcidine afnemen zodat er voldoende ijzer beschikbaar blijft. Het ijzer wordt in het beenmerg opgeslagen in het cytoplasma van macrofagen als ferritine (oplosbaar in water) en hemosiderine (niet oplosbaar in water). De ionen van deze opgeslagen vormen kunnen worden agetoond met de ijzerkleuring van Perls ofwel Pruisisch of Berlijns Blauw (zie afb. 6).

Het principe van de ijzerkleuring is gebaseerd op het aantonen van het driewaardig ijzermolecuul (Fe^{3+}). Hierbij wordt het ijzer-ion met behulp van zoutzuur losgekoppeld van het eiwit waarna het een complex vormt met ferrocyanide wat blauw aankleurt.

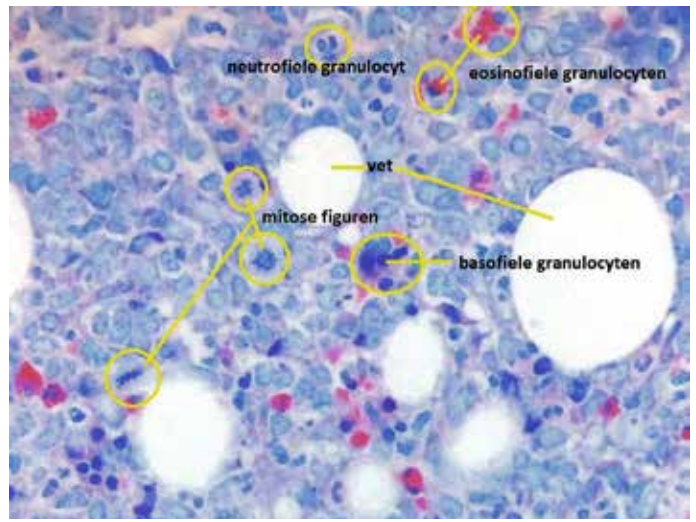
IJzerstapeling komt voor in twee vormen, de primaire hemochromatose, dit is een erfelijke aandoening en secundaire hemochromatose, dit is een verworven ziekte die ontstaat door bijvoorbeeld een aandoening van het beenmerg.

Giemsa

Om een mooi overzicht te krijgen van alle verschillende typen bloedcellen in het beenmerg kan gebruik worden gemaakt van de Giemsa kleuring. De verschillende celtypen van het bloed worden geïdentificeerd op basis van kleurverschillen tussen de kernen, cytoplasma en granula. Door het mengen



Afb. 6 IJzer in een beenmergbiopsie



Afb. 7 Verschillende stadia van cellen in de Giemsa kleuring

van een zure en een basische kleurstof ontstaat er een neutrale kleurstof. De Giemsa oplossing bestaat uit eosine, methyleenblauw en zijn oxidatieproducten. De erythrocyten kleuren oranje aan. Leukocyten krijgen een paarse kern, Het cytoplasma kleurt lila/blauw, granula rood bij eosinofiele granulocyten, blauw bij basofiele granulocyten en paars bij neutrofiële granulocyten (zie afb. 7). De verschillende typen cellen zijn in alle stadia in het beenmerg te vinden en moeten in een bepaalde verhouding zijn. Zijn er in verhouding meer van een bepaald type cel is dit een aanwijzing voor een bepaalde aandoening.

“ Een zeer agressieve ziekte

Is er bijvoorbeeld een grote hoeveelheid plasmacellen in het beenmerg aanwezig (normaal is het 5% van het totaal bloedbeeld) dan wordt dit veroorzaakt door het ongecontroleerd delen van deze cellen. Dit kan een aanwijzing zijn voor een maligne aandoening van het been-

merg zoals Multipel Myeloom (ziekte van Kahler) en leiden tot plasmacelleukemie of plasmacytomen.

Een plasmacel is een witte bloedcel. Specifieker een uitgerijpte B-lymfocyt. Deze cel maakt natuurlijke antistoffen die beschermen tegen virussen en infecties. Een plasmacel maakt één bepaalde soort (unieke) antistof. Bij een Multipel Myeloom ontstaan er een klonen van een bepaalde plasmacel. De gevormde haarden produceren nu heel veel van een bepaalde soort antistof. De haarden verdringen andere normale plasmacellen waardoor er een te kort aan andere soorten antistoffen ontstaat en de weerstand verminderd. Als de haarden van maligne plasmacellen (myelomen) doorgroeien in weefsels worden dit plasmacytomen genoemd. Zijn er veel plasmacellen in het bloed dan wordt dit plasmacelleukemie genoemd, wat een zeer agressieve ziekte is.

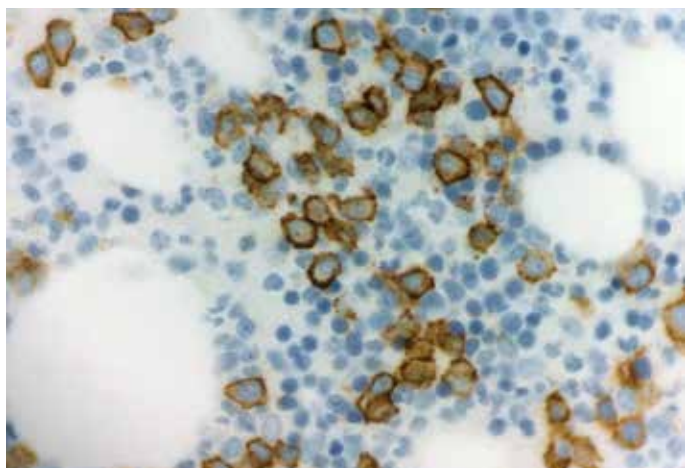
Immunohistochemie in het kort

Om tot een diagnose op een beenmerg te komen kan ook gebruik gemaakt worden van immunohistochemie. Im-

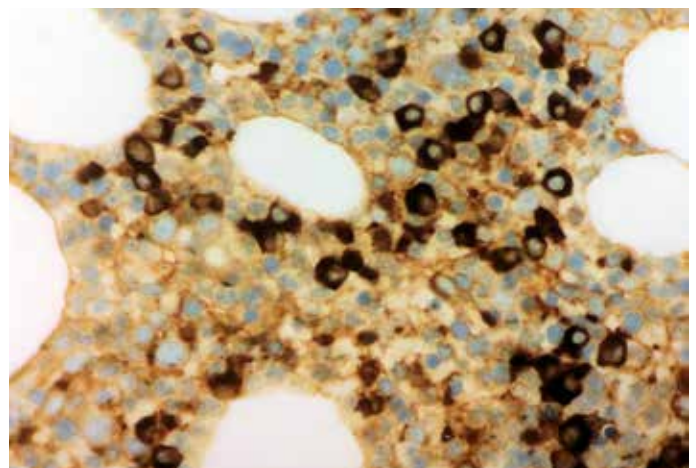
munohistochemie is een techniek om specifieke eiwitten in weefsels en cellen aan te tonen. Er kan gebruikt gemaakt worden van een directe of indirecte methode om eiwitten in weefsel aan te tonen. De indirecte methode wordt het meest gebruikt en is ook gevoeliger. Hierbij wordt eerst een primair antilichaam gebruikt wat reageert met het weefsel-antigeen. Het primaire antilichaam heeft meerdere bindingsplaatsen voor het secundaire antilichaam welk gelabeld is met een enzym of fluoriserende stof waardoor er een versterkte expressie (versterkt signaal) zichtbaar wordt. De eerder genoemde plasmacellen zijn aan te tonen in het beenmerg door bijvoorbeeld CD138 (zie afb. 8), Kappa (zie afb. 9) en Lambda te gebruiken. De desbetreffende (specifieke) eiwitten kleuren in het weefsel bruin.

Dit zijn slechts enkele korte voorbeelden van wat er allemaal mogelijk is met histologische en immunohistochemische technieken op een beenmergbiopsie. Dus zoals Ing. H.F. Kuipers reeds eerder in het blad terecht opmerkte; Beenmergafname is zeker niet zomaar een prikje!

Afb. 8 CD138 toont plasmacellen aan in een beenmergbiopsie



Afb. 9 Kappa toont eveneens plasmacellen aan in een beenmerg





Making the highest quality blocks for you

Building on the success and key principles of SMART Automation, Sakura Finetek launches the second generation fully automated embedder: The Tissue-Tek® AutoTEC® a120.

Fully automation of the embedding process provides the highest consistency in block quality as it eliminates need for labor intensive manual handling and retains locked orientation throughout the process from grossing to microtomy.

Only the proven AutoTEC® technology combined with the Paraform® Sectionable Cassette System, and new a120 features for integrated track & trace of specimen blocks, ensure ultimate patient safety as millions of patients worldwide have experienced until today.

AutoTEC® a120 & Paraform® sets the standard in automated embedding

- Locked orientation throughout the process
- Predictable workflow and turnaround time
- Facilitating track & trace of specimen blocks
- Enhanced ergonomics



Sakura Finetek Holland B.V.
autotec.sakura.eu
smartautomation@sakura.eu



Diagnostiek van zeldzame erfelijke stoornissen van de rode bloedcel

E.J. van Beers¹, E. Liesting², S. Zeerleder³, V.M.J. Novotny⁴, R. van Zwieten⁵, B.J. Biemond³, R.E.G. Schutgens¹ en R. van Wijk⁶.

1. Hematoloog, Van Creveldkliniek, Universitair Medisch Centrum Utrecht
2. Hoofdanalist, Laboratorium Klinische Chemie en Haematologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht
3. Hematologen, Afdeling klinische hematologie, Academisch Medisch Centrum Amsterdam
4. Hematoloog Afdeling interne geneeskunde, Gelre ziekenhuis Apeldoorn
5. Universitair docent, Laboratorium voor Rode Bloed Cel Diagnostiek, Sanquin Bloedbank, Amsterdam
6. Senior Docent Onderzoeker, Laboratorium Klinische Chemie en Haematologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht

Onder normale omstandigheden leven volwassen erythrocyten circa 120 dagen. Verouderde rode bloedcellen worden vooral afgebroken in de milt. Gezonde rode bloedcellen zijn flexibel en kunnen daar de rode pulpa (reticulo-endotheliale systeem) zonder problemen passeren. Oudere en abnormale cellen daarentegen worden beschadigd door de lokaal heersende relatief ongunstige omstandigheden (hypoxie, laag glucosegehalte, lage pH) en vervolgens door macrofagen verwijderd. Op welke manier de opname van verouderde RBC's door macrofagen in het RES precies gebeurt, is nog niet helemaal opgehelderd.

Waarschijnlijk spelen het tot expressie brengen van neoantigenen (bijvoorbeeld suikerstructuren met terminale galactose), fosfatidylserine, en veranderde antigeenstructuren en receptoren (bijvoorbeeld CD47- 'eat me' versus 'non-eat me'-signaal) een belangrijke rol. Door velerlei oorzaken kan de afbraak van erythrocyten versneld plaatsvinden. Men spreekt dan van hemolyse. Als het tempo van afbraak groter is dan de aanmaak ontstaat er een hemolytische anemie. Deze kan immuun-gemedieerd zijn (d.w.z. Coombs positief), er is dan sprake van een auto-immuun hemolytische anemie (Afbeelding 1). De hemolyse kan ook niet-immuun-gemedieerd zijn, in dat geval is de Coombs test negatief. De onderliggende oorzaak kan vervolgens verworven zijn of erfelijk. De groep erfelijk bepaalde oorzaken van hemolytische anemie betreft een grote en zeer heterogene groep stoornissen van de rode bloedcel. Een groot deel van de oorzaken is zeldzaam tot zeer zeldzaam en om die reden vaak moeilijk te diagnosticeren. Temeer omdat de diagnostische testen vaak alleen in een klein aantal (inter-)nationale expertisecentra kunnen worden verricht. Op deze groep stoornissen richt dit overzichtsartikel zich. Een juiste diagnose is van groot belang voor de behandeling en om de patiënt goede

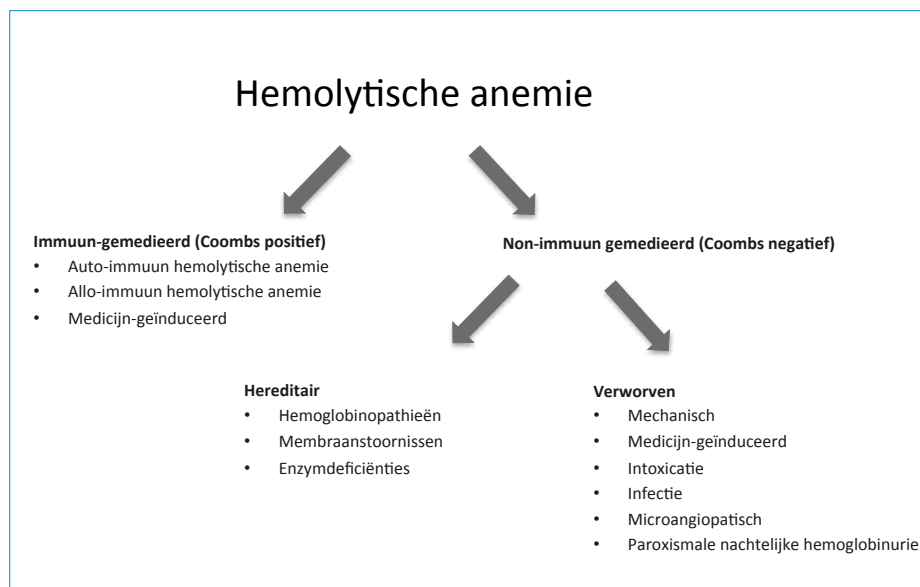
adviezen rondom de erfelijkheid van de ziekte te kunnen geven.

Algemene tekenen van hemolyse

De klassieke klinische verschijnselen van ernstige hemolyse, zoals anemie en icterus zijn wel bekend en eenvoudig te herkennen.⁽¹⁾ Hier bespreken we de effecten van hemolyse op de hemolytische parameters haptoglobine, reticulocyten, lactaat dehydrogenase en bilirubine.

Heem, het zuurstofbindend deel van het hemoglobine molecuul is uitermate toxisch. Daarom wordt hemoglobine (Hb) indien het vrij komt tijdens hemolyse direct gebonden aan in het plasma circulerend haptoglobine. Dit gebeurt zowel bij intravasculaire hemolyse als bij extravasculaire hemolyse. Derhalve is een verlaagd haptoglobine een van de gevoeligste parameters voor het aantonen van hemolyse. Bij neonaten wordt echter een geïsoleerd verlaagd haptoglo-

Afbeelding 1



bine zonder hemolyse gezien. Heem wordt door heem-oxygenase-1 afgebroken tot koolstofmonoxide, vrij ijzer en biliverdine. Biliverdine wordt vervolgens snel omgezet in ongeconjugeerd bilirubine. Deze afbraakproducten kunnen dan ook vaak in verhoogde concentratie worden aangetroffen bij patiënten met hemolyse. Een normaal hemoglobine of een normaal reticulocyten aantal sluit hemolyse niet uit. Dit hangt vooral af van de snelheid van ontstaan van de hemolyse en de mogelijkheid van het beenmerg om te compenseren. Combinaties van hemolyse met omstandigheden die de hematopoïese remmen, zoals recente behandeling met cytotoxische geneesmiddelen, ijzergebrek of beenmerginvasie geven uiteraard geen reticulocytose. In bepaalde gevallen van hereditaire hemolytische ziekte zoals bij congenitale dyserythropoëtische anemie type II, is een opvallend gebrek aan reticulocyten respons juist een aanwijzing voor de diagnose. Naast de eerdergenoemde afbraakproducten van heem komen er bij hemolyse enzymen vrij die zich in de rode bloedcel bevinden zoals lactaat dehydrogenase (LDH) en aspartaat aminotransaminase (ASAT). Beide enzymen komen echter ook in veel andere celtypen voor en zijn daarom niet specifiek voor hemolyse. De diagnostische waarde is derhalve beperkt. Hemolyse kan aanvalsgewijs optreden, waarbij hemolyseparameters tussentijds geheel normaal kunnen zijn.

Differentiaal diagnostiek bij hereditaire niet-immunologische vormen van hemolyse

Is er op basis van onder andere de leeftijd waarop de eerste symptomen zich voordoen, familiair voorkomen, en/of andere klinische tekenen zoals trombocytopenie, hepato-splenomegalie, skeletdeformaties en/of groeiachterstand mogelijk sprake van een hereditaire (erfelijke) vorm van hemolyse dan zijn er grofweg drie te onderscheiden groepen oorzaken: membraandefecten, hemoglobopathiën (waaronder sikkelcelziekte en thalassemiën) en metabole stoornissen (enzymdeficiënties). De eerste stap in de differentiaaldiagnostiek bestaat uit morfologisch onderzoek van de rode bloedcellen in combinatie met een hemoglobine-scheiding (HPLC) en bepaling van de osmotische fragiliteit van de rode bloedcel (i.e. de osmoti-

sche resistentietest of zure-glycerol test (AGLT), veelal in combinatie met de EMA test (zie onder)).

Cytomorfologische afwijkingen zijn vooral aanwezig bij membraandefecten (o.a. elliptocyten, sferocyten, poikilocyten, stomatocyten). Ook bij hemoglobopathiën komen morfologische afwijkingen voor (bijvoorbeeld sikkelcellen en schietschijfcellen (target cells)). Enzymdeficiënties geven in het algemeen geen specifieke morfologische afwijkingen. Een toegenomen osmotische fragiliteit wordt vaak gezien als gevolg van membraandefecten, maar niet bij hemoglobopathiën en enzymdeficiënties. Thalassemiën presenteren zich, naast duidelijke hemocytometrische afwijkingen (i.e. verhoogd aantal rode bloedcellen, verlaagd MCV) vaak met een verhoogde osmotische resistentie van de rode bloedcellen. Buiten genoemde oorzaken zijn er nog een aantal zeer zeldzame stoornissen van de rode bloedcel die zich kunnen presenteren als een hereditaire hemolytische anemie. Met name een congenitale dyserythropoëtische anemie type II toont veel overeenkomsten met hereditaire sferocytose, maar kenmerkt zich tegelijkertijd door een relatief laag aantal reticulocyten voor de mate van anemie (non-regeneratieve hemolytische anemie).

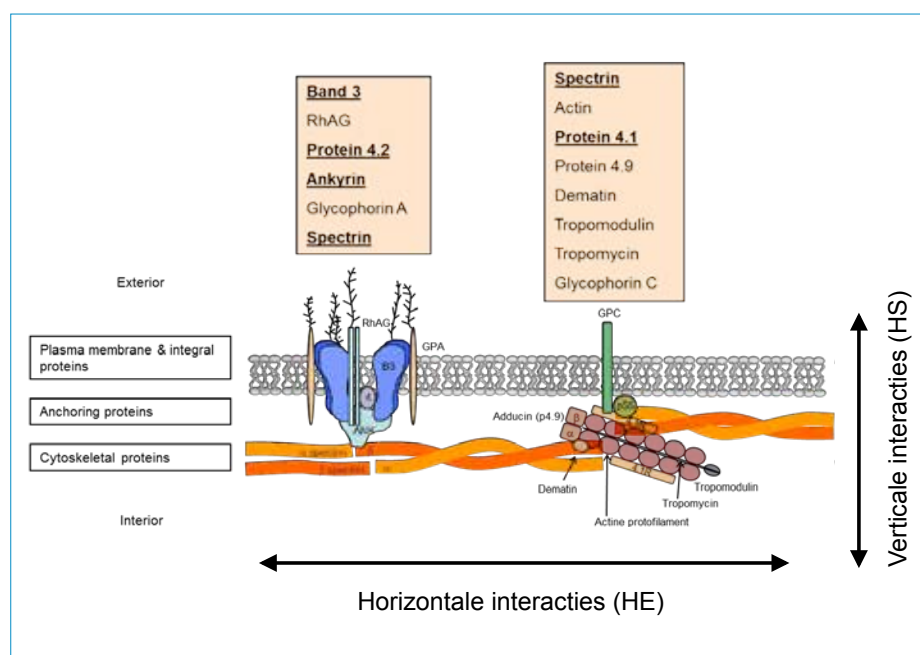
Membranedefecten

Morfologisch zijn hereditaire membraandefecten te onderscheiden in elliptocytose, sferocytose, pyropoikilocytose,

South-east Asian Ovalocytose (SAO) en stomatocytose. In geval van cytomorfologische afwijkingen en een toegenomen osmotische fragiliteit is de verdenking op een membraandefect hoog. Een uitzondering hierop vormt SAO: deze vertonen een kenmerkende morfologie met prominent aanwezige ovalocyten. Maar dergelijke cellen zijn juist meer rigide en vertonen een verminderde osmotische fragiliteit. Een membraandefect wordt veroorzaakt door een verstoring in de architectuur van het cytoskelet van de erythrocyt (horizontale interacties) en de wijze waarop dit cytoskelet aan de plasmamembraan is verankert (verticale interacties) (Afbeelding 2). (2)

Hereditaire sferocytose (HS) is het meest voorkomende membraandefect en wordt veroorzaakt door afwijkingen in eiwitten die de membraan aan het cytoskelet verbinden (verticale interacties), met name ankyrine, band 3 en eiwit 4.2. Als gevolg hiervan treedt een verlies aan cohesie op van de rode bloedcelmembraan. Deze wordt daardoor instabiel en de cel verliest membraanoppervlak in de vorm van blaasjes (vesicles). Dientengevolge verandert de vorm van de rode cel van biconcaaf naar bolvormig: de sferocyt. Bij het zien van dergelijk bolvormige hyperchrome rode bloedcellen en het meten van een toegenomen osmotische fragiliteit is de verdenking op sferocytose hoog. Echter, bij een goede miltfunctie zijn de morfologische afwijkingen niet altijd opvallend. In 75% van

Afbeelding 2



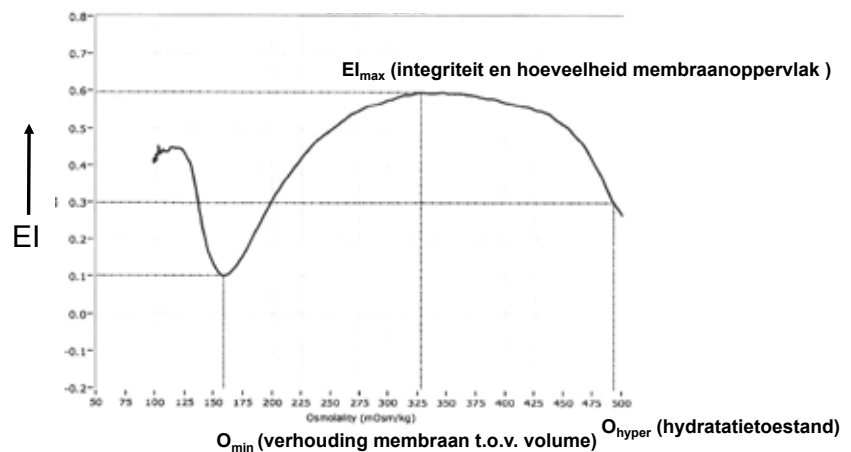
de gevallen is HS een dominant overervende aandoening, echter in 25% van de gevallen is de overerving recessief.(3) Afwijkingen in de horizontale interacties betreffen vooral verstoringen van het spectrine netwerk en het spectrin-actine-eiwit 4.1 complex. Deze interacties zijn cruciaal voor de membraanelasticiteit en verstoringen hierin liggen ten grondslag aan hereditaire elliptocytose (HE) en hereditaire pyropoikilocytose (HPP). HE wordt in 95% veroorzaakt door defecten in α -spectrine en in 5% van de gevallen door een eiwit 4.1 deficiëntie. HE erft over het algemeen dominant over. HPP is een zeldzamere, meer ernstige vorm van HE die wordt veroorzaakt door samengestelde heterozygotie voor mutaties in α -spectrine en erft recessief over.

South-east Asian Ovalocytose (SAO) is een subklinisch verlopende afwijking aan de rode bloedcelmembraan die wordt veroorzaakt door een en dezelfde mutatie in Band 3. De kenmerkende ovalocyteten zijn meer rigide en vertonen derhalve een verlaagde osmotische fragiliteit. SAO erft dominant over en komt frequent voor in malaria-endemische gebieden (5-25%).

Hereditaire stomatocytose is een groep zeldzame tot zeer zeldzame dominant overervende aandoeningen die wordt veroorzaakt door een abnormale membraanpermeabiliteit voor cationen. Dergelijke stoornissen worden tegenwoordig dan vaak beschouwd als ionkanaalstoornissen.(4) Op de bloeduitstrijk worden stomatocyten gezien, in sterk wisselende percentages. Bij stomatocytose is de incidentie van trombotische complicaties na splenectomie flink verhoogd. Een correcte diagnose is derhalve van belang indien splenectomie wordt overwogen.

Morfologische bestudering van het bloedbeeld is van groot belang in de diagnostiek van erythrocytaire membraanstoornissen. En soms kan op basis hiervan al een diagnose gesteld worden. De gouden standaard voor de (differentiaal)diagnostiek van membraanstoornissen echter is osmotische gradiënt ektacytometrie (Osmoscan). Deze techniek wordt uitgevoerd op de Lorrca (Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer) en betreft het meten van de mate van vervormbaarheid van de rode bloedcel, uitgedrukt als Elongatie Index – EI, als functie van graduele veranderingen in de extracellulaire osmotische omstandigheden (Afbeelding 3). De manier waarop

Osmotische gradiënt ektacytometrie (Osmoscan)



Afbeelding 3

de rode bloedcel zich hieraan aanpast is meetbaar als een verandering in de vervormbaarheid en is afhankelijk van de integriteit en oppervlakte van de rode celmembraan (EI_{max}), de verhouding membraan t.o.v. volume (O_{min}) en de hydratatie (O_{hyper}). Het aldus verkregen vervormbaarheidspatroon is karakteristiek voor het type membraanstoornis. (5, 6) Deze techniek is in Nederland in enkele expertisecentra beschikbaar. (UMC Utrecht, R. van Wijk; Sanquin, R. van Zwieten).

Aanvullend kan de eosine-5-maleimide (EMA) test worden gedaan en het spectrinegehalte worden bepaald (Sanquin, R. van Zwieten, UMC Utrecht, R. van Wijk). Met name de eerste test is zeer specifiek voor HS, in het bijzonder wanneer gecombineerd met de osmotische resistentietest of de AGLT test.(7) Verlies aan EMA-kleuring en/of een verlaagde hoeveelheid spectrine kan zowel een primair gevolg zijn van een defect in band 3 (de belangrijkste epitoom voor EMA-binding) of spectrine, of secundair zijn aan andere defecten van de erythrocytaire membraan.

Sinds kort is ook moleculair onderzoek naar de precieze mutatie mogelijk. Daarbij worden negen genen gelieerd aan membraanstoornissen onderzocht op mutaties m.b.v. Next Generation Sequencing technieken. Het betreft: α -spectrine (SPTA1), β -spectrine (SPTB), ankyrine (ANK1), band 3 (SLC4A1), eiwit 4.1 (EPB41), eiwit 4.2 (EPB42), Rhesus-geassocieerd glycoproteïne (RHAG), Piezo type mechanosensitive ion channel

component 1 (PIEZO1 – gemuteerd bij hereditaire xerocytose/gedehydrateerde stomatocytose, de meest voorkomende vorm van hereditaire stomatocytose) en SEC23 homolog B (SEC23B, gemuteerd bij congenitale dyserythropoïetische anemie type II) (UMC Utrecht, R. van Wijk; Sanquin, R. van Zwieten). DNA diagnostiek is met name relevant ter bevestiging van autosomaal recessieve vormen van HS, atypische presentatie van membraanstoornissen en uiteraard genetische en prenatale counseling.(8) Daarnaast kan het behulpzaam zijn bij het stellen van de diagnose bij transfusie-afhankelijke patiënten bij wie reguliere (biochemische) diagnostiek niet mogelijk is.

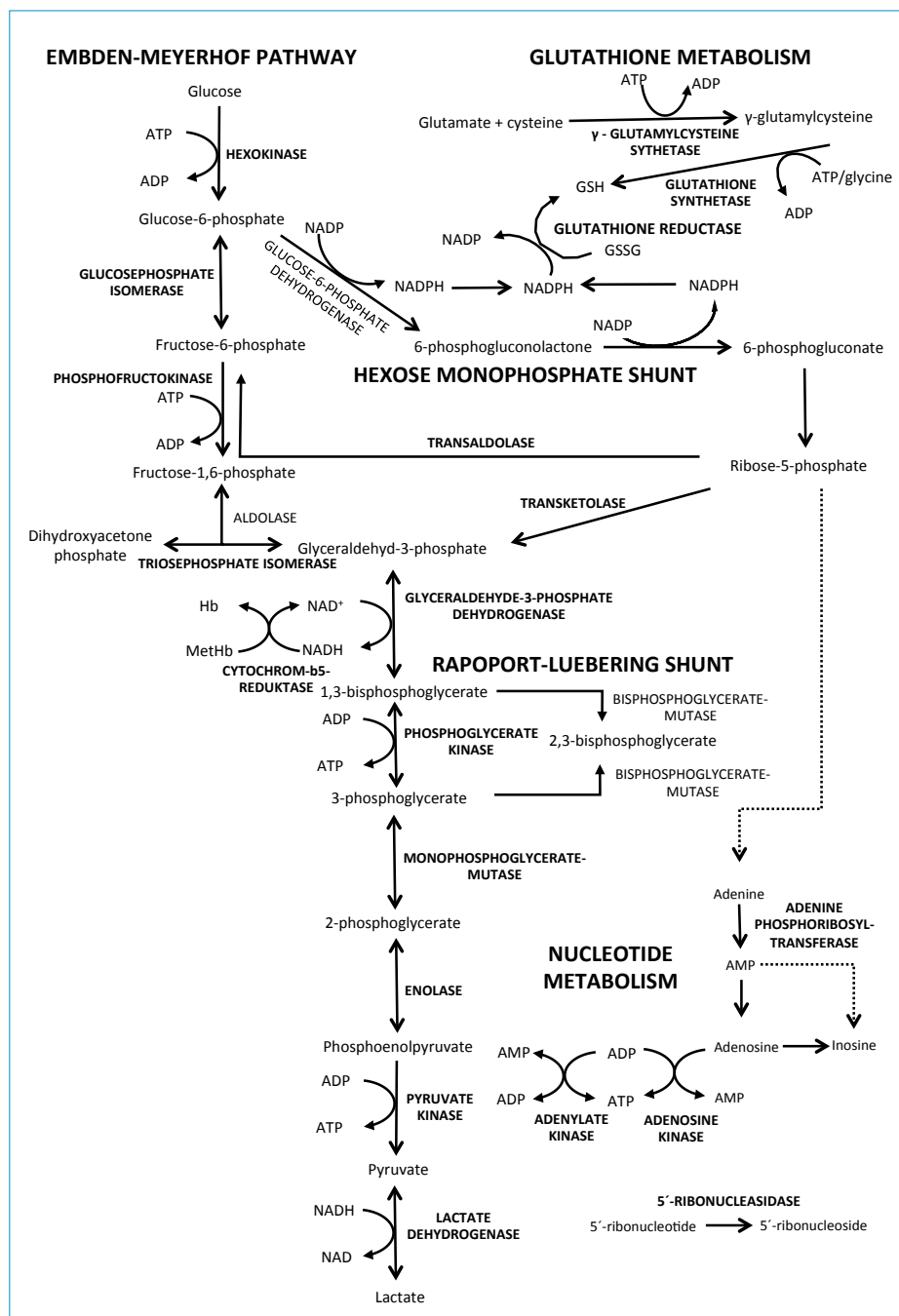
Hemoglobinopathiën

Een Hb-scheiding en kwantificering van HbA2 via HPLC of via capillaire elektroforese volstaat bij verdenking op een hemoglobinopathie. Veelal kan het afwijkende hemoglobine worden herkend op basis van scheidingspatroon en een thalassemie worden gediagnosticeerd op basis van het percentage HbA2. Een verhoogd HbA2 is er een sterke verdenking op β -thalassemie. In geval van een normaal of verlaagd percentage HbA2 en verdenking op thalassemie (laag MCV, relatief verhoogd aantal erythrocyten) is moleculair onderzoek naar een deletie van 1 of meer α -globine genen geïndiceerd. Bovendien kunnen de regio's waarin deze genen liggen worden gescreend voor grote deleties m.b.v. de MLPA techniek. (UMC Utrecht, A. Huisman; Sanquin, R. van Zwieten; LUMC, C. Harteveld). Zo nodig kunnen zowel de

α -globine genen als de β -globine genen worden gesequenced om afwijkende hemoglobines en thalassemieën te benoemen. (UMC Utrecht, A. Huisman /LUMC, C. Hartevelt/ Sanquin, R. van Zwieten). Aanbevolen wordt om een diagnose gesteld op een HPLC uitslag met een andere techniek te bevestigen, bij voorkeur op DNA niveau.(9)

Enzymdeficiënties

Als er sprake is van een hemolytische anemie zonder duidelijke en/of specifiek afwijkende rode bloedcelmorfologie, een normale osmotische fragiliteit en geen aanwijzingen voor een hemoglobinopathie, dan is er een verdenking op een erythrocytaire enzymstoornis (i.e. deficiënties). Enzymdeficiënties leiden tot een gebrek aan metabole energie en/of reducerend vermogen van de rode bloedcel (Afbeelding 4).(10) Alleen als de cellen niet (langer) in staat zijn om in hun metabole behoefte te voorzien leidt dit tot een verkorte levensduur van de rode bloedcel, met vroegtijdige verwijdering door de milt. Dit uit zich over het algemeen in een chronische vorm van hemolyse (kenmerkend voor stoornissen van de glycolyse en het nucleotide metabolisme), of acute hemolyse (kenmerkend voor stoornissen van de hexosemonofosfaatshunt en het glutathion metabolisme) (TABEL 1). Vaak gaat het om enzymen die ook in andere weefsels tot expressie komen maar juist de langlevende en kernloze rode bloedcel is niet in staat voor deze deficiëntie te compenseren door het ontbreken aan biosynthese capaciteit. Bij een deel van de enzymdeficiënties is de stoornis echter wel geassocieerd met klinische



Afbeelding 4

Tabel 1

Enzym	Metabool proces	Type hemolyse	Rode bloedcelmorfologie	Neurologische symptomen	Myopathie	Overerving
Hexokinase	Glycolyse	Chronisch	Geen bijzonderheden	-	-	AR
Glucosefosfaatisomerase	Glycolyse	Chronisch	Geen bijzonderheden	-/+	-	AR
Fosfofructokinase	Glycolyse	Mild	Geen bijzonderheden	-	+	AR
Aldolase	Glycolyse	Chronisch	Geen bijzonderheden	-	-/+	AR
Triosefosfaatisomerase	Glycolyse	Chronisch	Geen bijzonderheden	+	-	AR
Fosfoglyceraatkinase	Glycolyse	Mild/Chronisch	Geen bijzonderheden	-	+	X-chromosomaal
Pyruvaatkinase	Glycolyse	Chronisch	Geen bijzonderheden, soms echinocyten	-	-	AR
Glucose-6-fosfaatdehydrogenase	Hexosemonofosfaatshunt	Acuut	Geen bijzonderheden, soms 'bite' cells	-	-	X-chromosomaal
Glutathion-reductase	Glutathionmetabolisme	Acuut	Geen bijzonderheden	-	-	AR
Glutamaat-cysteineligase	Glutathionmetabolisme	Chronisch	Geen bijzonderheden	-/+	-	AR
Glutathion-synthetase	Glutathionmetabolisme	Chronisch	Geen bijzonderheden	+	-	AR
Adenosine-deaminase	Nucleotidenmetabolisme	Chronisch	Geen bijzonderheden	-	-	AD
Pyrimidine-5'-nucleotidase	Nucleotidenmetabolisme	Chronisch	Basofiele stippeling	-	-	AR

AR: Autosomaal Recessief AD: Autosomaal Dominant

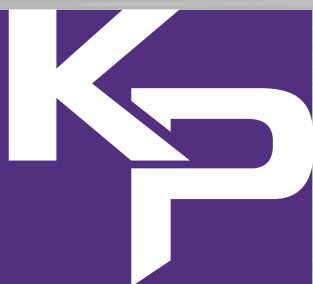
verschijnselen anders dan hemolyse en anemie, in het bijzonder neuromusculaire symptomen of myopathie. De overerving van enzymstoornissen is meestal autosomaal recessief, maar autosomaal dominant voor adenosine deaminase (ADA) hyperactiviteit en X-chromosoom gebonden voor G6PD en fosfoglyceraat-kinase deficiëntie.

De meest voorkomende stoornissen zijn deficiënties van glucose-6-fosfaat-dehydrogenase (G6PD) en pyruvaatkinase (PK). De activiteit van deze beide enzymen wordt daarom vaak als eerste bepaald. Omdat jonge rode bloedcellen een hoge enzymactiviteit hebben kan een deficiëntie worden gemaskeerd door een reticulocytose. Daarom wordt de gemeten activiteit altijd gerelateerd aan de activiteit van een ander leeftijdsafhankelijk enzym, bijvoorbeeld hexokinase (HK). In geval van sterke verdenking op een enzymdefect met normale activiteit van G6PD en PK, kan aanvullend biochemisch enzymonderzoek worden gedaan naar 12 overige enzymdeficiënties (UMC Utrecht, R. van Wijk). Een enzymdeficiëntie dient bij voorkeur op DNA niveau te worden bevestigd (UMC Utrecht, R. van Wijk).

Literatuur

1. Barcellini W, Fattizzo B. Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia. Dis Markers. 2015;2015:635670.
2. Andolfo I, Russo R, Gambale A, Iolascon A. New insights on hereditary erythrocyte membrane defects. Haematologica. 2016;101(11):1284-94.
3. Perrotta S, Gallagher PG, Mohandas N. Hereditary spherocytosis. Lancet. 2008;372(9647):1411-26.
4. Glogowska E, Gallagher PG. Disorders of erythrocyte volume homeostasis. International journal of laboratory hematology. 2015;37 Suppl 1:85-91.
5. Lazarova E, Gulbis B, Oirschot BV, van Wijk R. Next-generation osmotic gradient ektacytometry for the diagnosis of hereditary spherocytosis: interlaboratory method validation and experience. Clin Chem Lab Med. 2017;55(3):394-402.
6. Da Costa L, Suner L, Galimand J, Bonnel A, Pascreau T, Couque N, et al. Diagnostic tool for red blood cell membrane disorders: Assessment of a new generation ektacytometer. Blood Cells Mol Dis. 2016;56(1):9-22.
7. Bianchi P, Fermo E, Vercellati C, Marcello AP, Porretti L, Cortelezzi A, et al. Diagnostic power of laboratory tests for hereditary spherocytosis: a comparison study in 150 patients grouped according to molecular and clinical characteristics [in process citation]. Haematologica. 2012;97(4):516-23.
8. Bijleveld R, de Kok J, van der Zwaag B, van Wijk R, Diekman T. Solving a cold case of haemolysis: back to the basics. The Netherlands journal of medicine. 2015;73(2):86-9.
9. van Zwieten R, Veldthuis M, Delzenne B, Berghuis J, Groen J, Ait Ichou F, et al. Hemoglobin analyses in the Netherlands reveal more than 80 different variants including six novel ones. Hemoglobin. 2014;38(1):1-7.
10. Koralkova P, van Solinge WW, van Wijk R. Rare hereditary red blood cell enzymopathies associated with hemolytic anemia - pathophysiology, clinical aspects, and laboratory diagnosis. International journal of laboratory hematology. 2014;36(3):388-97.





PRIMERA SLIDEPRINTER

INNOVATIE OP ELKE WERKPLEK



PRIMERA
TECHNOLOGY EUROPE™

'S WERELDS EERSTE EN ENIGE KLEUREN SLIDEPRINTER

Met de Signature® SlidePrinter van Primera biedt Klinipath de mogelijkheid om de efficiëntie van uw lab significant te verhogen en het risico op misidentificatie te minimaliseren. De Signature® SlidePrinter print direct op de objectglazen en elimineert handgeschreven objectglazen en dure, moeilijk te hanteren xyleen-resistente etiketten. Met een indrukwekkende 300 dpi printresolutie, kunt u tekst, afbeeldingen en logo's met hoge resolutie lineair en 2D barcode printen op elk objectglas, op elke werkplek.



KLINIPATH
GOOD(S) IN PATHOLOGY

Klinipath BV T +31(0)316 26 64 66 E info@klinipath.nl
Nederland F +31(0)316 26 67 77 I www.klinipath.nl

Afname van bloedkweken: feiten en fabels

Akke van der Bij, arts-microbioloog, Laboratorium Medische Microbiologie en Immunologie, Diaconessenhuis Utrecht

Bloedbaaninfecties zijn een belangrijke oorzaak van sterfte. Tijdig en correcte afname van bloedkweken is de belangrijkste pijler om bloedbaan infecties te detecteren. Een positieve bloedkweek draagt bij aan het vaststellen van de bron van de infectie en aan een adequate en gerichte antibiotische therapie met als gevolg een betere patiënt uitkomst. Gecontamineerde bloedkweken, daarentegen, kunnen leiden tot overdiagnostiek, langere opname en onnodig gebruik van antibiotica bij patiënten. De opbrengst van bloedkweken en het risico op contaminatie hangt af van de methode van afname. In dit artikel worden de belangrijkste aspecten voor een goede afname van bloedkweken beschreven, die de opbrengst van bloedkweken optimaliseren. Het artikel behandelt deze aspecten aan de hand van feiten en fabels die in de praktijk circuleren over bloedkweken.

1. Koorts is de enige indicatie voor het afnemen van bloedkweken (fabel)

Bloedkweken moeten worden afgenomen bij iedere patiënt met verdenking op een bloedbaaninfectie. In zijn algemeenheid zullen de meeste patiënten met een bloedbaaninfectie koorts hebben. Echter, bij een ernstige bloedbaan infectie (sepsis) kunnen patiënten een ondertemperatuur hebben. Daarnaast zijn er patiëntengroepen met een bloedbaaninfectie maar zonder koorts, zoals patiënten met een endocarditis lenta (een ontsteking van de hartkleppen), patiënten die immuun gecompromitteerd zijn en ouderen. Bloedkweken moeten daarom worden afgenomen bij iedere patiënt met een verdenking op een bloedbaaninfectie op basis van de kliniek (bijvoorbeeld bij temperatuur $>38.5^{\circ}$ of $<36^{\circ}$, koude rillingen, ernstige lokale infecties zoals meningitis, pneumonie, pyelonefritis, snelle hartfrequentie of ademhalingsfrequentie en hypo- of hypertensie), zeker indien er gestart wordt met systemische antibiotische therapie.¹

2. Een bloedkweek dient te worden afgenomen voordat antibiotica gestart is (feit)

Antibioticagebruik voor afname van bloedkweken verlaagt de kans op een positieve kweek. Dit komt doordat zowel antibiotica als bacteriën in het bloedkweekflesje komen waardoor de bacteriën minder goed zullen groeien en de kweek fout-negatief kan zijn of het

langer duurt voordat de kweek positief wordt. Zeker in combinatie met een niet voldoende afgenomen volume kan het gebruik van antibiotica de opbrengst aanzienlijk verlagen. Sommige bloedkweken bevatten media zoals koolstof of andere bindmiddelen om antibiotica te neutraliseren. Voorbeelden hiervan zijn de BACTEC PLUS bloedkweekflessen van BD en Bact/ALERT bloedkweekflessen van bioMérieux. Beide media bevatten bindmiddelen die de meest voorkomende antibiotica verwijderen. Studies laten echter zien dat niet alle antibiotica even effectief worden geëlimineerd. Bij aanwezigheid van antibiotica is de sensitiviteit aanzienlijk lager (dalend tot een sensitiviteit van 25%) of is groei tot 3 dagen vertraagd, waardoor een vertraging in diagnose en/of behandeling kan optreden.^{2,3}

3. Een bloedkweek heeft de hoogste opbrengst indien afgenomen tijdens de koortspiek (fabel)

Het optimale tijdstip om bloedkweken af te nemen is weinig onderzocht tijdens klinische studies. De meeste richtlijnen hanteren dat bloedkweken dienen te worden afgenomen rondom de koortspiek. In een grote multicenter studie waar onderzocht is of er een relatie is tussen de lichaamstemperatuur en het optimale tijdstip van bloedkweek afname werd, daarentegen, geen associatie gevonden tussen beide parameters. De opbrengst van een bloedkweek was



Voorbeeld van een bloedkweek-incubator apparaat. Groei van bacteriën gaat gepaard met CO₂ productie welke gedetecteerd worden door het apparaat. Nadat een kweek positief is geworden wordt een Grampreparaat gemaakt, hierna volgt determinatie en resistentiebepaling.

even hoog indien afgenomen tijdens de koortspiek als gedurende de periode 24 uur voor tot 24 uur na de koortspiek.^{4,5}

4. Correcte voorbereiding van de huid en bloedkweekflesjes vermindert het risico op contaminatie (feit)

Bij afname van een bloedkweek moet de huid gedesinfecteerd worden. De gereinigde plek wordt daarna niet meer met de handen aangeraakt. Indien de bloedafname moeilijk verloopt en de huid met de vinger wordt betast, dient de



Links: Bloedkweek bestaande uit aëroob (groene dop) en anaëroob (oranje dop) flesje. Het aëroob flesje dient bij bloedafname als eerste te worden gevuld om te voorkomen dat zuurstof in het anaërobe flesje komt. Daarnaast komen bloedbaan-infecties met aërobe bacteriën het meest frequent voor waardoor bij een moeizame afname geborgd wordt dat minimaal het aërobe flesje wordt gevuld. Een optimale bloedafname bestaat uit 8-10 ml. Als ondersteuning voor een goede afname staan ml-strepen op de zijkant van het etiket vermeld. Bij een te groot bloedvolume is de verhouding kweek medium en bloedmonster verstoord wat een nadelig effect kan hebben op bacteriële groei. Daarnaast kan het leiden tot fout-positiviteit. Te weinig volume verlaagt de sensitiviteit van de kweek en kan leiden tot fout-negativiteit.

Rechts: Bloedkweek bestaande uit 1 pediatrisch flesje. Dit flesje is voor kinderen <2 jaar. Bij dit flesje is het medium dusdanig geoptimaliseerd zodat ook bij minder bloedvolume (1-4 ml) de kweek een hoge opbrengst heeft. Nadeel van dit medium is een verminderde gevoeligheid voor anaërobe bacteriën.

huid opnieuw gedesinfecteerd te worden. Tevens moet het rubberen septum van de bloedkweekfles, na het verwijderen van de dop, met alcohol worden afgenomen en aan de lucht gedroogd. Het rubberen septum is namelijk niet steriel. Hierna mag het septum niet meer met de handen worden aangeraakt. Het is bewezen dat goede hygiënische voorzorgsmaatregelen, bij het afnemen van een bloedkweek, leiden tot een contaminatie percentage lager dan 3% fout-positiviteit.⁶ Het vermijden van contaminatie is belangrijk omdat een bloedkweek met contaminatie effect heeft op de patiëntenzorg en kan leiden tot een langere opnameduur, extra diagnostiek en onnodig antibioticagebruik. Uit onderzoek is gebleken dat het opvolgen van hygiëne maatregelen conform een protocol, afname via een perifere venapunctie, desinfecteren van het septum van bloedkweekflesjes, bloedkweken als eerste afnemen bij bloedafname voor andere buisjes, afname door een speciaal opgeleid team en het monitoren van het contaminatiepercentage en het geven van feedback hierover, de belangrijkste factoren zijn die het contaminatiepercentage van bloedkweken verlagen.⁷

5. Voor de opbrengst maakt het niet uit of bloedkweken via een lijn of perifeer worden afgenomen (fabel)

Meerdere studies laten zien dat afname via een perifere venapunctie leidt tot minder contaminatie in vergelijking met

afname via een lijn. Contaminatie komt voor in 1,2% tot 7,3% van de gevallen bij een perifeer afgenomen bloedkweek. Bij bloedkweken afgenomen via een lijn is dit 3,4% tot 13%, dus ongeveer 2 keer zo hoog.^{7,8} Er is echter één indicatie waarbij het wel zinvol is om een bloedkweek via een lijn af te nemen. Bij verdenking op een lijn-gerelateerde infectie wordt een bloedkweek zowel perifeer als uit de lijn afgenomen. Indien het zogeheten verschil in tijd tot positiviteit (differential time to positivity [DTP]) groter is dan 2 uur tussen de bloedkweek afgenomen uit de centrale lijn en een perifeer afgenomen bloedkweek én er groeien dezelfde bacteriën, is dat bewijzend voor een lijn-gerelateerde infectie.⁸

6. Een adequate kweek bestaat uit 2x2 flesjes van 10 ml (feit)

Volume is de belangrijkste parameter om de opbrengst van een bloedkweek te verhogen. Er geldt: hoe groter het volume, hoe hoger de opbrengst. Een bloedkweek bestaat in principe uit een aëroob en een anaëroob flesje van elk 10 ml. Een studie bij 351 positieve bloedkweken met 4 of meer bloedkweken per patiënt, afgenomen gedurende 24 uur, liet zien dat de opbrengst bij één bloedkweek (20ml) 73% was. Bij twee bloedkweken (40ml) was de opbrengst 94%, bij drie bloedkweken (60ml) 97% en bij vier bloedkweken (80 ml) bijna 100%.⁹ Deze studie en ook andere studies laten zien dat bij twee bloedkweken meer dan 90% van de bloedbaaninfecties wordt

geïdentificeerd.¹ De meeste richtlijnen adviseren daarom dat er minimaal twee bloedkweken worden afgenomen, in totaal 40 ml. Bij endocarditis wordt geadviseerd om minimaal drie bloedkweken, in totaal 60 ml, af te nemen.

7. Een adequate kweek wordt afgenomen via twee verschillende venapuncties, beide keren 2 flesjes, met minimaal 30 minuten er tussen (fabel)

Het verkrijgen van een adequaat volume (40 ml) kan zowel via één venapunctie als via meerdere venapuncties met enige tijd er tussen. Door meerdere afnames kan onderscheid worden gemaakt tussen contaminatie en een klinisch relevant pathogeen. Daarnaast is er een grotere kans op detectie van een intermitterende bacteriëmie. Het afnemen van meerdere bloedkweken via verschillende venapuncties verhoogt echter het risico op contaminatie. Daarnaast leiden meerdere afnames tot vertraging in het toedienen van antibiotica, is het onprettig voor de patiënt, bewerkelijker voor personeel en is er een groter risico op solitaire bloedkweken waardoor de opbrengst aanzienlijk afneemt. Tot slot is het concept van intermitterende bacteriëmie slechts theoretisch en nooit wetenschappelijk onderbouwd. Het is waarschijnlijker dat er bij alle klinische bloedbaaninfecties sprake is van een continue bacteriëmie, maar dat de concentratie bacteriële load in het bloed varieert.¹

8. Herhaling van bloedkweken is zinvol bij patiënten met koorts (fabel/feit)

In principe worden bloedkweken eenmalig afgenomen. Daarna wordt met antibiotica gestart. Omdat het bloed niet meteen gesteriliseerd wordt na de start van antibiotica is het herhalen van bloedkweken binnen 48 uur niet zinvol. Er zijn echter een aantal indicaties waarbij het wel belangrijk is dat de bloedkweek herhaald wordt. Deze indicaties zijn: nieuwe septische episode, verdenking endocarditis of een ander endovasculair focus en het monitoren van therapie. Dit laatste wordt altijd gedaan bij een candidemie (bloedbaaninfectie met een gist) en een bacteriëmie met *Staphylococcus aureus*. Indien de bacterie *S. aureus* 48-72 uur na start van de antibiotica nog steeds wordt geïsoleerd uit de bloedkweek gaat het om een gecompliceerde *S. aureus* bacteriëmie waarbij langdurig met antibiotica zal moeten worden behandeld.¹⁰

Conclusie

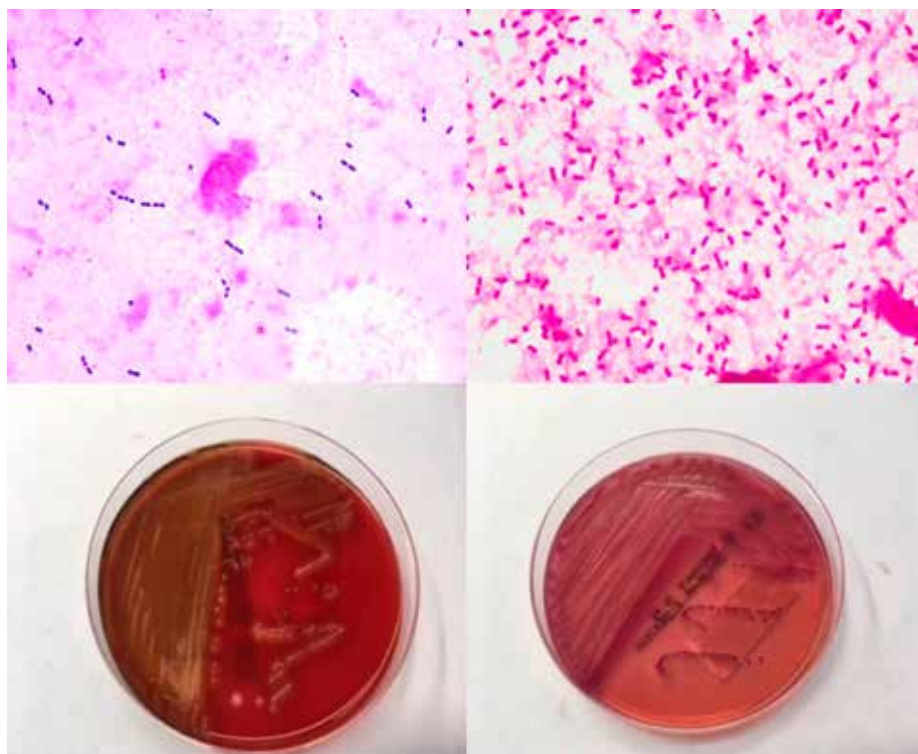
Een adequaat afnamevolume is de belangrijkste parameter om de opbrengst van bloedkweken te verhogen. Afname vindt bij voorkeur plaats via één venapunctie, zodat daarna meteen met antibiotica gestart kan worden en het risico op contaminatie wordt geminimaliseerd. Herhaling van bloedkweken is alleen zinvol op indicatie. Tot slot, bloedkweken worden frequent afgenomen bij verdenking op infectie en zijn onontbeerlijk bij patiënten met bloedbaaninfectie voor het stellen van een diagnose en gerichte antibiotische behandeling. Voor optimale afname van bloedkweken is het essentieel dat medewerkers die bloedkweken afnemen op de hoogte zijn van het belang van adequate desinfectie om contaminatie te voorkomen en het belang van een adequaat afname volume om opbrengst te optimaliseren.

Dankwoord

Met dank aan Sophia Jonkers, waarnemend hoofdanalist MMI Diakonessenhuis, voor het kritisch lezen van het manuscript en Robert van der Kieft, analist MMI Diakonessenhuis voor de foto's van de Gram-preparaten.

Referenties

1. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JP, Tattévin P. How to optimize the use of blood cultures voor the diagnosis of bloodstream infections. *Front Microbiol* 2016;7:697.



Links: Grampreparaat en kweek van een hemolytische Streptokok Groep A bij een patiënt met fasciitis necroticans (acute, heftig verloopende ontsteking van het onderhuidse weefsel). Door snelle identificatie kon er snel gewicht worden gegeven aan het breedspectrum antibioticum ceftriaxon naar een gerichte therapie met penicilline en clindamycine, de eerste keus antibiotica bij een fasciitis necroticans veroorzaakt door een Groep A streptokok. Rechts: Grampreparaat en kweek van een Escherichia coli bij een patiënt met urosepsis (bloedbaaninfectie door urineweginfectie). Door snelle identificatie en gevoeligheidsbepaling kon de patiënt na twee dagen intraveneus antibiotica met ceftriaxon worden overgezet naar gerichte orale therapie, waardoor behandeling in de thuissituatie kon worden voortgezet.

2. Flayhart D, Borek AP, Wakefield T, Dick J, Carrol KC. Comparison of BACTEC PLUS blood culture media to BacT/Alert FA blood culture media for detection of bacterial pathogens in samples containing therapeutic levels of antibiotics. *Clin Microbiol* 2007;45:861-21.
3. Mitteregger D, Barousch W, Nehr M, Kundi M, Zeitlinger M, Makrithatis A, et al. Neutralization of antimicrobial substances in new BacT/Alert FA and FN Plus blood culture bottles. *Clin Microbiol* 2013;51:1534-40.
4. Riedel S, Bourbeau P, Swartz B, Brecher S, Carroll KC, Stamper PD, et al. Timing of specimen collection for blood cultures from febrile patients with bacteremia. *J Clin Microbiol* 2008;46:1381-1385.
5. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on bloodcultures. *J Clin Microbiol* 1994;32:2829-2831.
6. Garcia RA, Spitzer E D, Beaudry J, Beck C, Diblasi R, Gilleeny-Blabac M, et al. Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *Am J Infect Control*. 2015;43:1222-37.
7. Dawson S. Blood culture contaminants. *J Hosp Infect* 2014;87:1-10.
8. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 update by the Infectious Disease Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49:1-45.
9. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream Infections in adults: how many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol* 2007;45:3546-3548.
10. Swab Richtlijn Sepsis. 2010. Stichting Werkgroep Antibioticabeleid. [http://www.swab.nl/swab/cms3.nsf/uploads/65FB380648516FF2C125780F002C39E2/\\$FILE/swab_sepsis_guideline_december_2010.pdf](http://www.swab.nl/swab/cms3.nsf/uploads/65FB380648516FF2C125780F002C39E2/$FILE/swab_sepsis_guideline_december_2010.pdf)

TRUST IN THE VIAL



SIGNIFICANT ADOPTION AROUND THE WORLD

- **Significantly more effective** in the detection of HSIL+ and LSIL than conventional Pap.^{1*}
- **Superior sample quality** compared to conventional Pap.^{1,2}
- **Adds flexibility** to your workflow to increase efficiency.
- **Chain-of-custody verification** on automated processors reduces possibility of errors.
- **The most out-of-the-vial FDA approvals/clearances** for HPV, CT/NG and trichomoniasis testing of any Pap test.[†]

MORE THAN 650 MILLION THINPREP PAP TESTS PERFORMED³

* The ThinPrep 2000 System is significantly more effective than the conventional Pap smear for the detection of low-grade squamous intraepithelial (LSIL) and more severe lesions in a variety of patient populations.

† Assays not available in all countries. For information on specific products available for sale in a particular country, contact your sales representative.

THIS MATERIAL IS NOT FOR DISTRIBUTION IN THE U.S.

References: 1. ThinPrep 2000 System [package insert]. MAN-02060-002 Rev. 001. Marlborough, MA: Hologic, Inc.; 2011. 2. Klinkhamer, et al. Liquid-based Cervical Cytology. *Cancer Cytopathol.* 2003;99(5):263-71. doi:10.1002/cncr.11673. 3. Hologic, Inc. Data on file.

ADS-00387-BEL-EN, Rev 001 ©2016 Hologic, Inc. All rights reserved. Hologic, Science of Sure, ThinPrep and associated logos are trademarks or registered trademarks of Hologic, Inc. and/or its subsidiaries in the United States and/or other countries. This information is intended for medical professionals and is not intended as a product solicitation or promotion where such activities are prohibited. Because Hologic materials are distributed through websites, eBroadcasts and tradeshow, it is not always possible to control where such materials appear. For specific information on what products are available for sale in a particular country, please contact your local Hologic representative or write to diagnostic.solutions.com.



ThinPrep
PAP TEST

Learn why the world trusts the ThinPrep system at ThinPrep.com

Casusbespreking beenmergaspiraats en ovarium

Irene Roelands, Ella de Boed. ETZ Elisabethziekenhuis Tilburg

Er werd ons gevraagd of we een hematologische casus hadden voor het gezamenlijke blad VAP visie en Analyse. Onafhankelijk van elkaar hebben wij toen ja gezegd en bij het zoeken naar de preparaten kwamen wij elkaar tegen en hadden we dus dezelfde casus in gedachte.

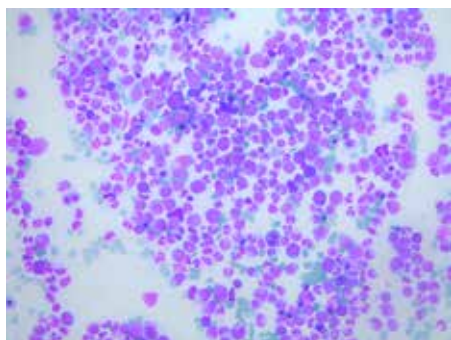


Foto 1. MGG20x

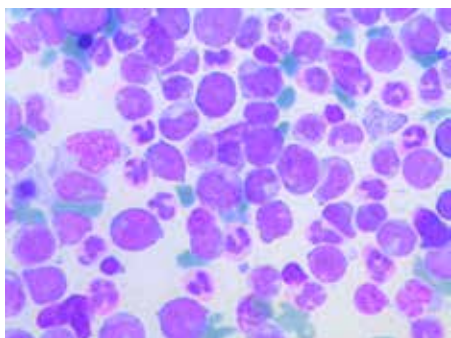


Foto 2. MGG63x

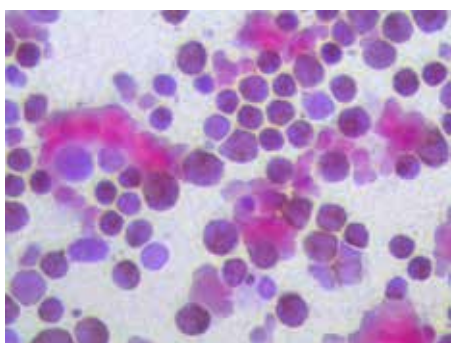


Foto 3. MPO63x

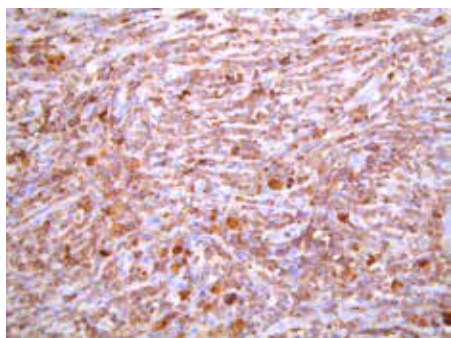


Foto 6. MPO 20x

Allereerst betreft het een beenmergaspiraats van een vrouw (52 jaar)
Vraagstelling: Myeloproliferatief syndroom onduidelijk of het hier om een AML of CMML betreft.
Microscopisch betrof het een duidelijk afwijkend aspiraat waarin een linksverschuiving in de myelopoiese waarneembaar is.
Ongeveer 20% blasten welke in de MPO duidelijk aankleuren. Zie foto 1, 2, 3
Het botbiopt laat morfologisch jonge myeloïde cellen zien welke deels CD34 positief aankleuren. Zie foto 4
Diagnose: Acute myeloïde leukemie (AML)

Tevens werd een ovarium ingestuurd:
Klinische gegevens: Leucocytose bij myeloproliferatieve ziekte van nog onbekende aard. Tevens teratoom. Foto 5
Microscopisch een cysteus ovarium met atypische rondkernige infiltraten met verhoogde mitotische activiteit. Tevens is er sprake van een verhoogde hemofagocytose. Beeld zou kunnen passen bij eerder vastgestelde AML. Aanvullend immuunhistochemisch onderzoek toont sterk positieve aankleuring in de beschreven verdachte cellen voor lysozym en MPO. De CD68 toont aanwezigheid van vele histiocyten waarin ook zeer duidelijk een beeld van hemofagocytose wordt aangetroffen. Er wordt een zeer hoge MIB-1 expressie gezien. De CD34 is negatief en toont overwegend aankleuring van de vaten. Foto 6, foto 7
Dit immuunhistochemisch profiel bevestigt de diagnose lokalisatie AML.
Differential diagnostisch kan ook MDS RAEB 2 en CMML-2 overwogen worden.
Materiaal is ter consult nog opgestuurd waarbij een voorkeur werd uitgesproken voor CMML-2.

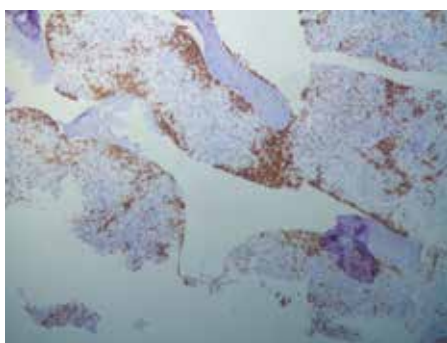


Foto 4. BOT CD34

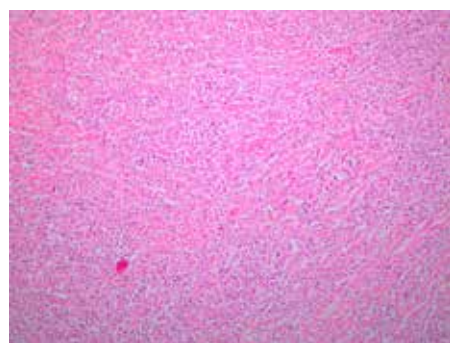


Foto 5. HE 10x

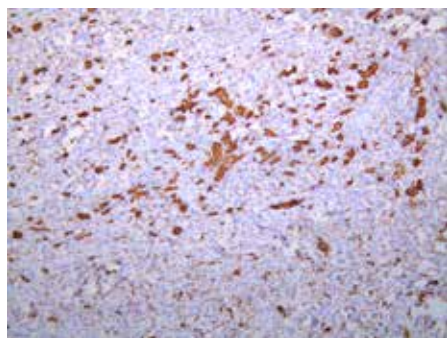


Foto 7. CD68 10x

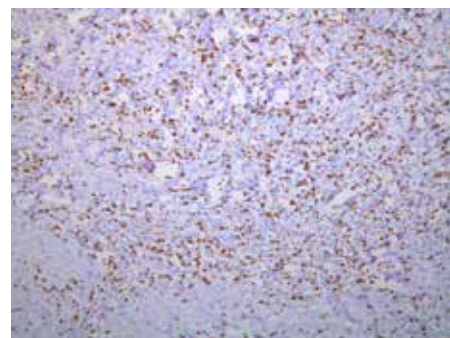


Foto 8. MIB 10x

De thymus (zwezerik) – Culinair verhaal, of de grondlegger van ons afweer?

Patrick Kromhout, St. Antonius Ziekenhuis locatie Utrecht en Nieuwegein

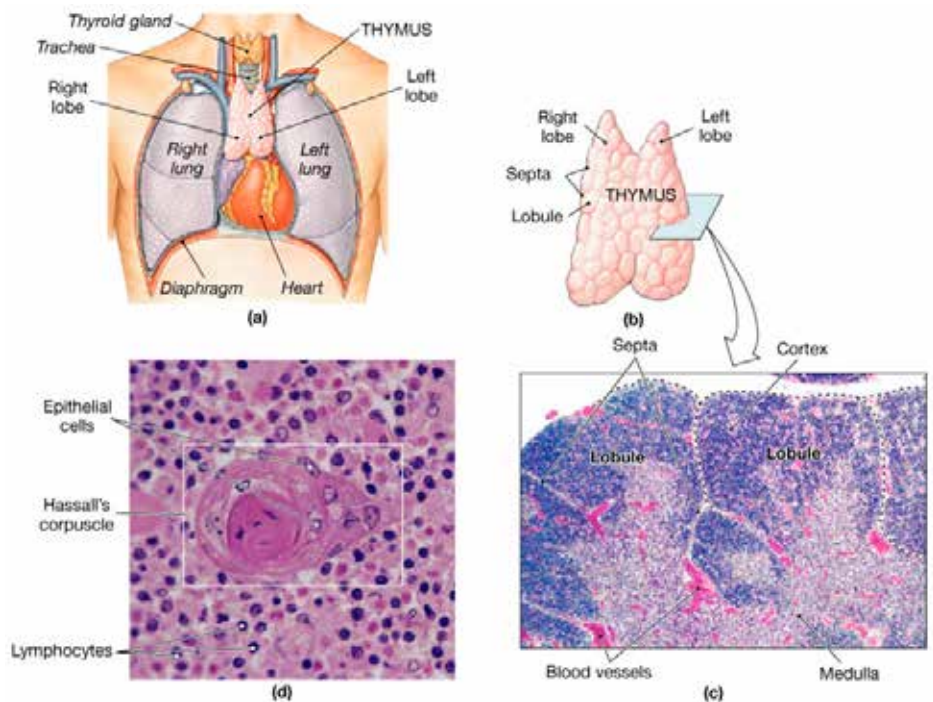
De thymus (zwezerik) is een orgaan dat onderdeel uitmaakt van het lymfesysteem. Het orgaan is de eerste 15 jaar actief en legt dan de basis van de specifieke afweer voor het verdere leven.

In de thymus worden de onrijpe T-lymfocyten die gemaakt zijn in het beenmerg, via een ingewikkeld proces van generschikking, geschikt gemaakt voor hun taak, waardoor er een grote verscheidenheid aan T-cel receptoren ontstaat. Slechts 2-5% van deze T-lymfocyten zullen geschikt bevonden worden voor hun taak en komen in circulatie. De overige T-lymfocyten zullen door middel van apoptose in de thymus te gronde gaan. Ons lichaam is na die 15 jaar in staat om miljoenen verschillende soorten antistoffen te maken, waardoor de dagelijkse aanval van micro-organismen en andere lichaamsvreemde elementen, kunnen worden tegengegaan. Hierdoor is ons lichaam in staat om gezond te blijven, of als we ziek zijn geworden van een infectieziekte, te genezen.

Inleiding

Ons lymfesysteem heeft als taak om overtollig weefselvloeistof af te voeren. Daarnaast maakt het deel uit van ons afweersysteem en het vervoer van

Afbeelding 1. Een culinair gerecht gemaakt van de zwezerik (thymus).



Afbeelding 2. De anatomie van de thymus.

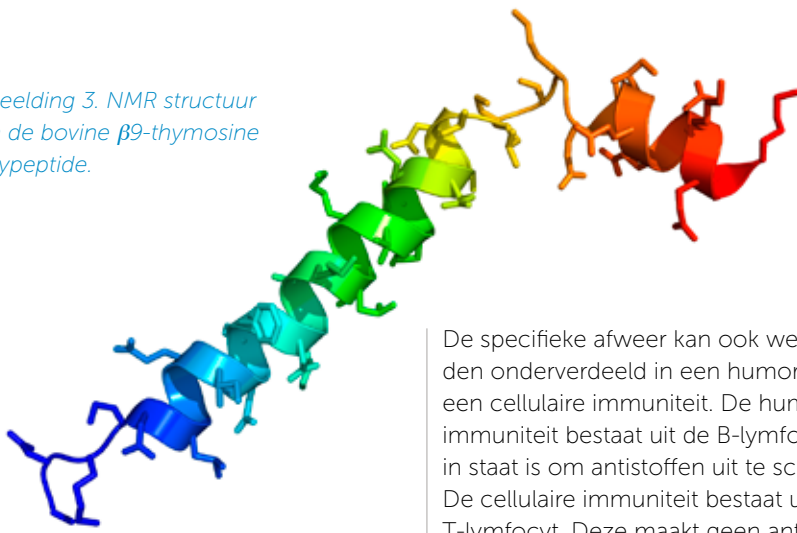
chylomicronen. Dit open systeem ligt naast ons bloedvatensysteem en brengt uiteindelijk het lymfevocht weer terug naar ons bloedvatensysteem. Het is dus eigenlijk een drainagesysteem om overtollig vocht, vet, afvalstoffen en ziekteverwekkers uit onze weefsels te halen. Naast lymfevaten en lymfevocht (hylus), maken ook lymfocyten, lymfeklieren en organen zoals de amandelen en de thymus, deel uit van het lymfestelsel. De thymus is een bijzonder orgaan. Sommigen zullen dan in eerste instantie denken aan een delicatessie op de menukaart (zie afbeelding 1). In dit artikel zal de thymus worden belicht als een belangrijk orgaan dat in staat is om in de eerste 15 jaar de basis te leggen voor onze afweer voor de rest van ons leven.

Anatomie

De thymus ligt tussen de luchtpijp en het borstbeen in. Het bestaat uit twee

kwabben en elke kwab is onderverdeeld in lobben. De lobben worden van elkaar gescheiden door een wand (zie afbeelding 2). De lobben zijn onderverdeeld in merg (medulla) en een schors (cortex). De kleur is grijs/roze en het weefsel is zacht. Vanaf een paar weken na de conceptie gaat de thymus groeien en heeft zijn hoogtepunt aan het begin van de pubertijd. Het orgaan weegt dan ongeveer 20-40 gram. Rond de 15-jarige leeftijd 'verschrimpelt' de thymus en neemt deze in grootte af. Dit verschriepelen is eigenlijk niet de juiste weergave. Het wordt zo gezegd, omdat dit er zo uitziet, maar feitelijk zorgen de hormonen van de geslachtsklieren ervoor dat de activiteit in de thymus gaat stoppen. Hierdoor gaat het functionele weefsel over in vetweefsel en raakt het de eigenlijke functie kwijt. Ondertussen is er in die 15 jaar wel een fundament neergelegd, die voor de afweer kan

Afbeelding 3. NMR structuur van de bovine β 9-thymosine polypeptide.



zorgen. Daarnaast is de thymus ook een endocrien orgaan. Het produceert de hormonen thymosine (zie afbeelding 3), thymosterine en Lymfocyt Stimulerend Hormoon (LSH). Thymosine speelt een rol bij de groei en bij de ontwikkeling van het afweersysteem en het stimuleert de lymfoïde cellen van het beenmerg en de rijping van lymfocyten.

Afweer

We leven in een wereld vol met diverse micro-organismen, variërend van nuttige bacteriën tot extreem schadelijk voor mensen. Deze micro-organismen worden in de eerste plaats tegen gehouden door de primaire barrières, zoals de huid en slijmvliezen, of de natuurlijk aanwezige darmflora. Op het moment dat deze barrières worden gepasseerd, zal het immuunsysteem in werking treden. Dit immuunsysteem kan onderverdeeld worden in een niet-specifieke immuniteit, ook wel een aangeboren immuniteit genoemd én een verworven of specifieke immuniteit. Ondanks het feit dat men deze verdeling kan maken, wil dit niet zeggen dat het 2 los van elkaar staande systemen zijn. Beide systemen hebben een interactie met elkaar. Bij de aangeboren immuniteit willen we niet te lang stilstaan. Het zijn de granulocyten, monocyten, macrofagen en NK cellen die uit de bloedbaan, de weefsels in kunnen gaan richting de ontstekingshaard. Dit proces duurt enkele minuten tot uren en kan de micro-organisme snel fagocyteren, zeker als het beladen is met complement en antistoffen. Naast het fagocyteren, scheiden deze cellen allerlei biologisch actieve stoffen uit die helpen bij de regulatie van de ontstekingsreactie. Deze afweer is in staat om de infectie in toom te houden, maar kan vaak niet de hele infectie uit het lichaam krijgen. Hiervoor is de hulp nodig van de specifieke immuniteit, die veel trager op gang komt.

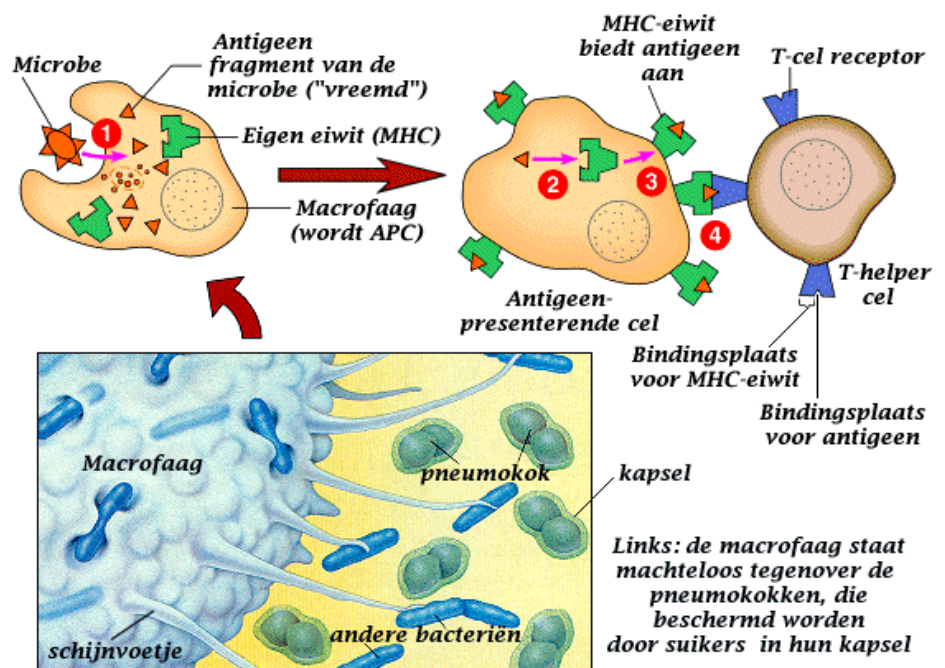
De specifieke afweer kan ook weer worden onderverdeeld in een humorale en een cellulaire immuniteit. De humorale immuniteit bestaat uit de B-lymfocyt, die in staat is om antistoffen uit te scheiden. De cellulaire immuniteit bestaat uit de T-lymfocyt. Deze maakt geen antistoffen aan, maar cytokinen. De T-lymfocyt kan vervolgens weer worden onderverdeeld in de T-helper-lymfocyt (met CD4 moleculen aan het celoppervlak) en de cytotoxische T-lymfocyt (met CD8 moleculen aan het celoppervlak). Ieder mogelijke micro-organisme, of een onderdeel ervan kan worden herkend door het specifieke immuunsysteem. Een volwassen persoon heeft minimaal 100 miljoen verschillende soorten antistoffen en ook nog eens minstens 100 miljoen verschillende T-lymfocyten. Deze verscheidenheid komt tot stand door middel van herschikking van de genen tijdens de ontwikkeling van de

B-lymfocyten in het beenmerg en de T-lymfocyten in de thymus. Het gevolg hiervan is dat een micro-organisme altijd wel wordt herkend door 1 of meerdere antistoffen of receptoren.

Als een B-lymfocyt wordt gestimuleerd door een micro-organisme of een vaccin, dan gaat deze B-lymfocyt prolifereren en differentiëren tot een antistof producerende plasmacel, of een geheugen-B-lymfocyt. Dit duurt 10 tot 14 dagen. Bij een tweede contact zal dit proces al binnen 3 tot 7 dagen plaats kunnen vinden. Iemand die na volledige vaccinatie wordt blootgesteld aan het natuurlijk voorkomend pathogeen, zal zeer snel overgaan tot aanmaak van grote hoeveelheden neutraliserende antistoffen, door activatie van geheugen-B-lymfocyten. Voor de meeste antigenen zijn naast de B-lymfocyten, ook nog T-helper-lymfocyten en cytotoxische-T-lymfocyten nodig. Dit proces wordt even verderop bij het kopje specifieke afweer besproken. De antistofrespons is in dit geval T-cel-afhankelijk. Pneumococci en meningococci zijn bacteriën met een polysaccharidekapsel (zie afbeelding 4) die door macrofagen moeilijk worden

Afbeelding 4. De T-cel afhankelijke antistof respons.

- 1) Een bacterie wordt door een macrofaag gefagocyteerd, waardoor fragmenten van de bacterie overblijven.
- 2) Deze fragmenten zijn lichaamsvreemde antigenen.
- 3) Deze antigenen worden aangeboden door de aanwezige MHC-eiwitten op de celwand van de macrofaag.
- 4) Bepaalde T-helper cellen zijn in staat om met de Tc receptor een binding aan te gaan met het betreffende antigeen. Hierdoor wordt de T-helper cel geactiveerd en scheidt cytokinen uit om B-lymfocyten en cytotoxische-T-lymfocyten te activeren.



gefagocyteerd. Gelukkig is het mogelijk om een antistofrespons zonder T-cellen op gang te brengen. Dit wordt dan een T-cel-onafhankelijk antistofrespons genoemd. Dit is mogelijk, omdat er in dit kapsel bijvoorbeeld mannosestructuren zitten, die niet bekend zijn bij de lichaamseigen cellen. Hier wordt direct een scheiding gemaakt in lichaamsvreemd, of lichaamseigen. Hierdoor kan de B-lymfocyt direct worden geactiveerd en zich ontwikkelen tot een plasmacel of geheugencel.

Aanmaak

Lymfocyten worden in het beenmerg aangemaakt en in de kinderjaren ook door de thymus. In het beenmerg bevindt zich de pluripotente stamcel (zie afbeelding 5) die cellen maakt met een uitdifferentiatie van B-lymfocyten en de voorloper-T-lymfocyt. Deze voorloper-T-lymfocyt gaat in de thymus verder differentiëren tot een rijpe T-lymfocyt (zie afbeelding 6). Dit is een ingewikkeld proces van genherschikking, waardoor er een grote verscheidenheid aan T-cel receptoren ontstaat. De bedoeling is dat in het lichaam de T-cellen lichaamsvreemde antigenen herkennen en geen lichaamseigen kenmerken. Daarom vindt er een selectie plaats in 2 stappen. Allereerst is er een positieve selectie waarbij T-cel receptoren moeten kunnen binden met HLA-moleculen op het thymusepithel. Als tweede moeten de resterende T-lymfocyten die lichaamseigen materiaal herkennen,

Afbeelding 6. Het ontwikkelingsproces van T-cellen.

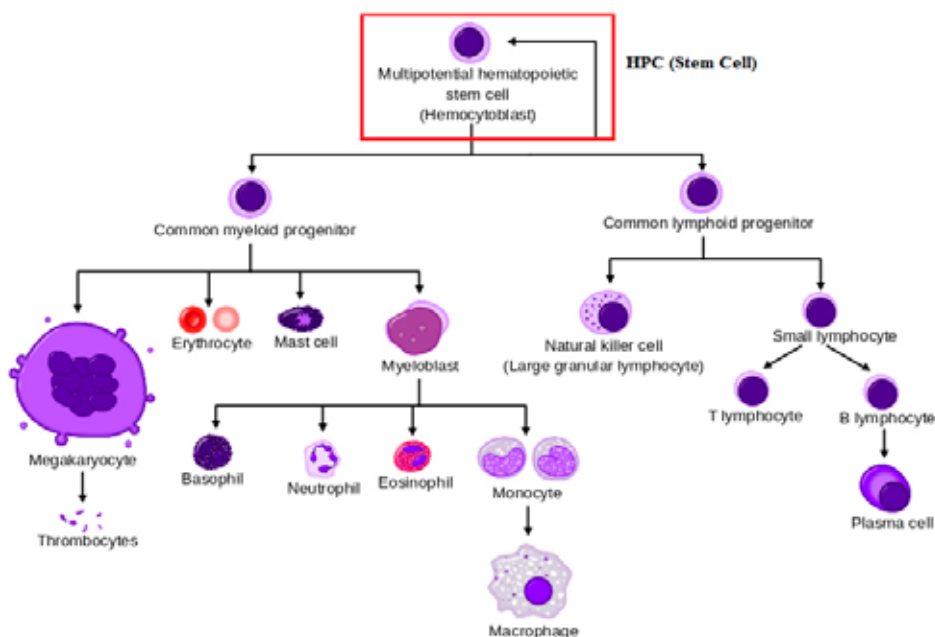
worden uitgeschakeld. Na deze selectie blijft slechts 2-5% van de T-lymfocyten over en deze voldoen aan de eisen. Zij kunnen vervolgens als rijpe T-lymfocyt in de circulatie worden gebracht. De resterende (>95%) T-lymfocyten zijn niet geschikt bevonden en zullen door apoptose in de thymus afsterven. De uitrijping van de B-lymfocyten vindt plaats in het beenmerg zelf. Ook hier zal door middel van genherschikking de receptoren van de B-lymfocyt (membraangebonden immunoglobulinen) worden gevormd. Bij deze genherschikking zullen ook cellen ontstaan die een specificiteit hebben voor lichaamseigen kenmerken. Men hoeft niet bang te zijn voor de productie van auto-antistoffen, vanwege het

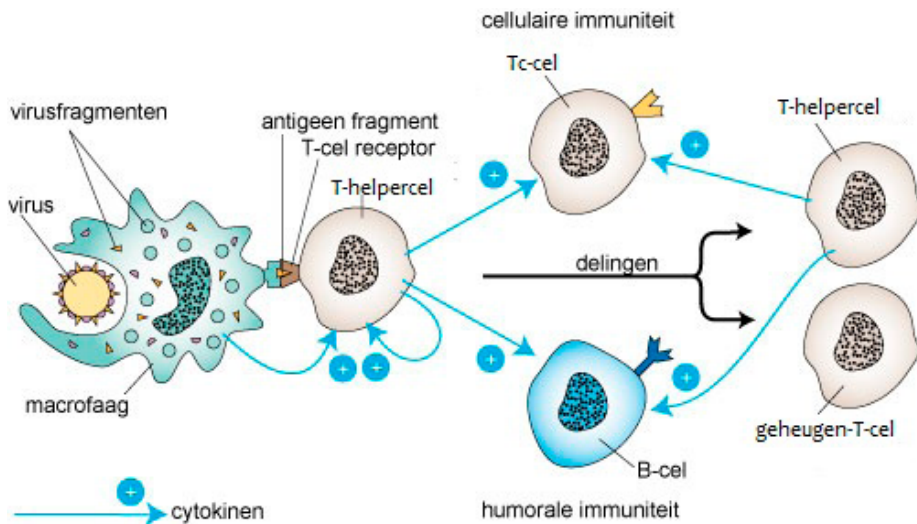
ontbreken van de daarvoor noodzakelijke T-helper-lymfocyt met dezelfde specificiteit. De lymfocyten die door de selectie komen, zullen hun werk gaan doen in de lymfknoten, milt en gespecialiseerd lymfoid weefsel langs de luchtwegen en de darm. Vanuit de thymus en het beenmerg zullen deze lymfocyten via de bloedbaan naar deze organen toegaan. Via de lymfe worden de lymfocyten afgevoerd naar de ductus thoracicus om daar weer in de bloedbaan te gaan komen.

Specifieke afweer

Onze cellen bestaan uit een dubbele fosfolipiden laag waar diverse glycoproteïnen tussen verankerd zitten. Deze suikers hebben allerlei functies, zoals het doorlaten van bepaalde moleculen die niet zelfstandig door het membraan heen kunnen. Elke persoon heeft een uniek patroon van glycoproteïnen waaraan onze afweer lichaamseigen cellen en lichaamsvreemde elementen kan herkennen. De T-helper-lymfocyten bestaan uit miljoenen soorten, zodat er voor ieder mogelijk antigeen die niet lichaamseigen is, een immuunreactie op gang gebracht kan worden. Dit zal pas gebeuren op het moment dat een lichaam wordt besmet met desbetreffend antigeen. Op het membraan van de T-lymfocyt zitten eiwitten die op antistoffen lijken. Ze worden Tc-receptoren genoemd (TCR). Macrofagen 'eten' lichaamsvreemde elementen op en kunnen celmembraan onderdelen van deze lichaamsvreemde cellen via de glycoproteïnen van de macrofaag, aan de T-helper-lymfocyt aanbieden (zie afbeelding 7). Dit glycoproteïne wordt een MHC-eiwit (Major Histocompatibility Complex) genoemd

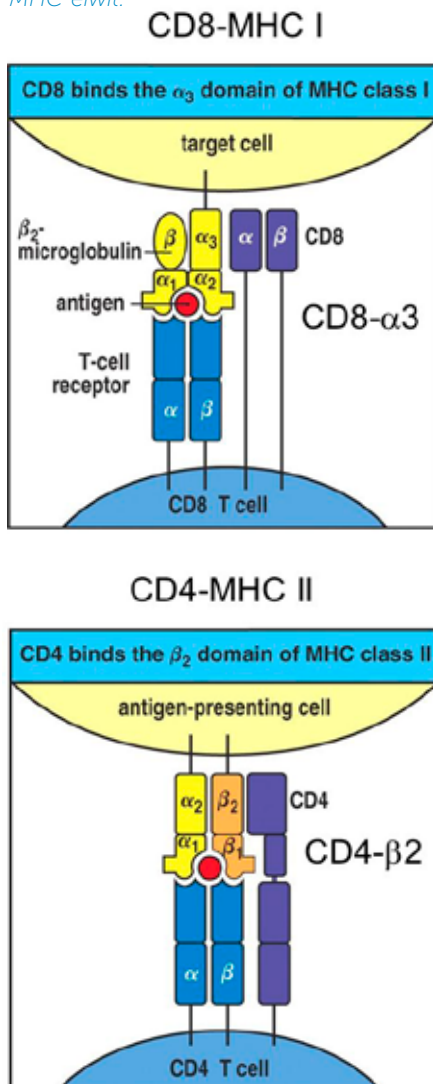
Afbeelding 5. Schematisch beeld van de proliferatie en differentiatie in het beenmerg vanaf de pluripotente stamcel naar de uiteindelijke rijpe cellen.





Afbeelding 7. Met dank aan 10voorbiologie.nl voor het overnemen van de afbeelding. De centrale rol van T-helpercellen bij de activatie van cellulaire en humorale immuniteit. Een macrofaag fagocyteert de ziekteverwekker en breekt hem af. Hij presenteert vervolgens brokstukken van de ziekteverwekker met MHC-II-receptoren op zijn celmembraan. De receptor van een T-helpercel herkent dit MHC-II-antigeen-complex. Na binding produceert de macrofaag cytokinen, die de gekoppelde T-helpercel activeren om eveneens cytokinen te maken. Deze cytokinen stimuleren de T-helpercellen, B-cellen en Tc-cellen om te delen. De T-helpercel activeert dus zowel de humorale als de cellulaire immuniteit.

Afbeelding 8. Twee voorbeelden van een MHC-eiwit.



(zie afbeelding 8). Hierdoor wordt de T-helper-lymfocyt geactiveerd. Deze activatie zorgt ervoor dat:

- Er meerdere T-helper geheugencellen worden gevormd. Hierdoor zal de immunrespons de tweede keer veel sneller op gang gaan komen.
- Een uitscheiding van cytokinen op gang komt van de T-helper-lymfocyt, waardoor de cytotoxische-T-lymfocyt met dezelfde TCR zich kan delen.
- De T-helpercellen B-lymfocyten gaan activeren en vormen.

De cytotoxische T-lymfocyten hebben nu de mogelijkheid om zichzelf met hun

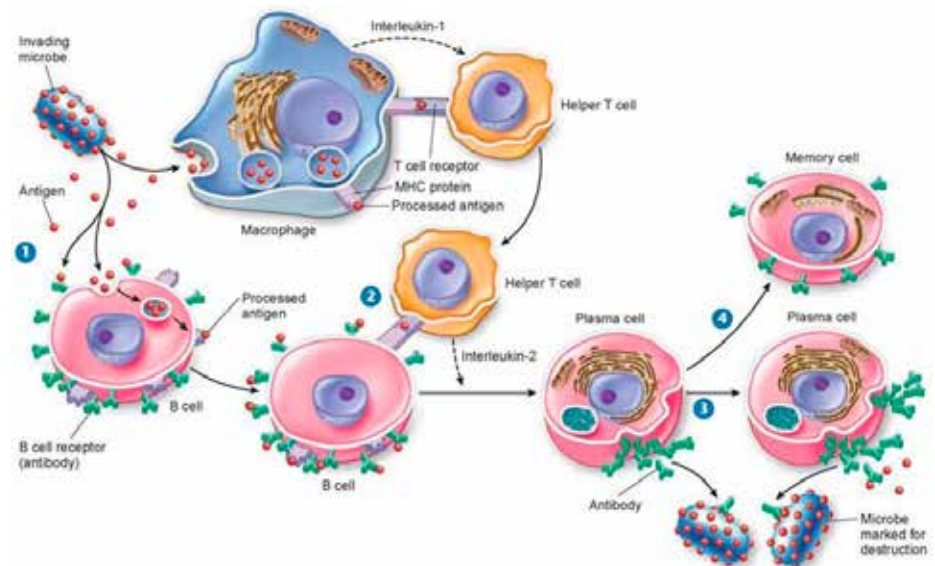
Tc receptoren vast te koppelen aan de lichaamsvreemde cellen en die vervolgens te doden. Dit gebeurt door het celmembraan van de lichaamsvreemde cel te doorboren met een kokertje of boortje. Via dit kokertje kan de cytotoxische T-lymfocyt granzyme en perforines de cel inbrengen. Deze enzymen brengen de apoptose op gang in de lichaamsvreemde cellen.

De geactiveerde T-helper-lymfocyt is in staat om een binding aan te gaan met het corresponderende B-lymfocyt, om deze te activeren. Hierdoor zal de B-lymfocyt zich prolifereren en differentiëren tot een antistof producerende plasmacel, of tot een geheugen-B-lymfocyt (zie afbeelding 9). Deze antistoffen gaan zitten op de antigenen van de lichaamsvreemde cellen, zodat macrofagen deze snel kunnen fagocyteren. Met hulp van de specifieke afweer is het lichaam in staat om de dagelijkse aanvallen van lichaamsvreemde elementen en cellen af te slaan en te zorgen dat het lichaam gezond blijft of weer gezond gaat worden.

Literatuur

1. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2004, vol. 29, no. 3; Weefsels, cellen en moleculen: bouw en functie van het immuunsysteem G.T. Rijkers en P. Herbrink
2. Atlas van de biochemie, J. Koolman en K. Röhm, Thieme Meulenhoff, 2009, 2e geheel herziene druk
3. Interne geneeskunde 12e herziene druk. J. van der Meer, C.D.A. Stehouwer. Houten/Diegem Bohn Stafleu Van Loghum, 2001

Afbeelding 9. Het hele proces van een binnendringende bacterie, tot een antistof producerende plasmacel om de infectie te elimineren.



Spring Event 2017



Het NVML 'Spring Event', 16 mei in CineMec te Ede, was een succesvolle dag. Meer dan 350 bezoekers volgden lezingen in vier zalen en bezochten de informatiemarkt.

Naast lezingen in vier zalen was er een informatiemarkt. Een deel van de bezoekers bestond uit studenten van MLO- en HLO-opleidingen, die voor een speciale prijs konden deelnemen. Lisa Peperkoorn-Baart, student aan Saxion Deventer, was de trotse winnares van de posterprijs.



INTERVIEW

Liquid biopsy, DNA uit bloed

Door Erik Bleuel

Interview met Prof. Dr. Ed Schuuring, hoofd van het laboratorium voor moleculaire pathologie van het UMCG te Groningen en één van de weinige hoogleraren in de moleculaire oncologische pathologie in Nederland. Het vakgebied van de moleculaire technieken is zeer boeiend en ontwikkelt zich snel. Eén van de ontwikkelingen is het testen op mutaties in het (tumor)DNA dat vrij in bloed circuleert. Dit onderzoek wordt Liquid Biopsy genoemd en zal in de nabije toekomst zeker een belangrijke plek in de diagnostiek gaan krijgen. Voordat we naar de liquid biopsy gaan eerst wat informatie over de ontwikkelingen in de moleculaire pathologie. Dit om het nut van liquid biopsy beter te begrijpen.

PATH

In de pathologie van longtumoren is in Nederland de behandeling niet gelijk in alle gezondheidscentra (ziekenhuizen). Om deze behandeling voor zoveel mogelijk patiënten zo optimaal mogelijk te krijgen is een project gestart, PATH (Predictieve Analyse voor Therapie) genoemd.

Wat is de stand van de moleculaire pathologie in relatie tot predictieve (voorspellende) detectie in relatie tot mutaties in het DNA? In het UMCG geldt dat voor longtumoren, melanomen, colo-rectale tumoren en GIST (Gastro-Intestinale

“Een selectieve groep van in totaal 35 genen

Stroma Tumoren). Bij deze tumoren wordt niet meer naar één of twee genen gekeken, maar er wordt naar meerdere genen gekeken. Naar welke gendefecten wordt gekeken is goed gedefinieerd. Bij een patiënt met longkanker wordt een biopt genomen waarvan histologische coupes gemaakt en beoordeeld worden. Van een deel van de patiënten waarvan histologisch longkanker is gediagnosti-

seerd wordt een uitgebreid moleculair profiel aangevraagd. Dat profiel bestaat uit meer dan de acht genen (BRAF, KRAS, MET, EGFR, ALK, HER2, RET en ROS1) waar nu standaard naar wordt gekeken (in de huidige longrichtlijn staat dat maar naar twee genen hoeft te worden gekeken). Het onderzoek is wel beperkt tot een selectieve groep van in totaal 35 genen waarvan bekend is dat bij een mutatie in één van deze genen een therapeutisch effect kan worden verwacht. Bij deze PATH studie is niet alleen UMC Groningen betrokken, maar ook veertig andere pathologiecentra. Ook oncologen, longartsen, PALGA (pathologisch landelijk geautomatiseerd archief) en patiëntenverenigingen zijn hierbij betrokken. Dit project wordt door ZonMw gesubsidieerd. Uiteindelijk willen we uit alle data informatie halen, welke behandelingen effectief zijn bij welke mutaties. We zullen daarom regelmatig in samenspraak met oncologen, longartsen, geneesmiddelenfabrikanten en trialbureaus het predictieve gen-panel evalueren zodat patiënten in aanmerking kunnen komen voor alle huidige beschikbare behandel mogelijkheden.

Moleculair Tumorboard

Door het gebruik van deze panels zien we steeds vaker genmutaties die relatief zeldzaam zijn of combinaties van mutaties waarvan op dit moment niet bekend is wat het beste behandeling is. Verder



zien we bijvoorbeeld ook mutaties die in longkanker voorkomen, maar nu ook in colorectale tumoren worden waargenomen. Daar heeft nog nooit iemand naar gekeken. De vraag is; moet je de colorectale kanker dezelfde behandeling geven als longkanker met hetzelfde gendefect? Om tot een optimaal behandeladvies te komen voor dergelijke mutaties zijn we meer dan twee jaar geleden begonnen met een nieuwe wekelijkse multidisciplinaire bespreking genaamd Moleculaire Tumorboard. Niet te verwarren met een M.D.O. (Multi Disciplinair Overleg) waarin specialisten gangbare diagnostiek bespreken. De Moleculaire Tumorboard bestaat uit vertegenwoordigers van verschillende specialismen zoals KMBPers (Klinisch Moleculair Biologen in de Pathologie), pathologen, medisch oncologen en longartsen. Het doel van moleculaire tumorboard is te komen tot een betere diagnose, prognose en/of behandeladvies van kankerpatiënten. We kijken in de literatuur en in diverse databases om te zoeken naar de beste behandelmethode. Deze gegevens worden geregistreerd en na een half jaar worden ze geëvalueerd.

“Maar ook bij deze therapie ontstaat uiteindelijk **resistentie**

Het zal dus voorkomen dat bepaalde zeldzame mutaties die waargenomen worden in onze diagnostiek wellicht in een ander centrum ook gezien zijn en dan is het belangrijk om te weten hoe de patiënt behandeld is en of dat succesvol was. Het doel van het PATH-project is om de moleculaire tumorboards in verschillende centra met elkaar af te stemmen om data en ervaringen aan elkaar te koppelen. Dat betekent dat we op elke patiënt dezelfde testen zouden moeten uitvoeren. Het streven is dat de patiënt op elke plek in Nederland dezelfde zorg (therapie) kan krijgen. De voorkeur voor behandeling van kanker is nog steeds opereren. Soms is de tumor inoperabel en wil je de patiënt toch helpen door een zo goed mogelijke therapie te kunnen bieden.

Resistentie

Tegenwoordig zijn er geneesmiddelen die specifiek inwerken op cellen met

bepaalde gendefecten, we noemen dit therapie-op-maat. Helaas bouwen tumoren na verloop van tijd therapieresistentie op. We zien dat tumoren die in eerste instantie goed reageren op de therapie na enkele maanden toch weer gaan groeien. Als we opnieuw een moleculair profiel bepalen zie je dat vaak een nieuw (ander) gendefect zichtbaar wordt. Als er voor dat defect ook een geneesmiddel beschikbaar is kan je de therapie bijstellen. We zien bijvoorbeeld bij longkankerpatiënten met een activerende EGFR-mutatie die behandeld worden met een specifieke EGFR-remmer, dat in de helft van de resistente tumoren een tweede EGFR-mutatie (T790M) wordt gevonden. Sinds enkele maanden is er een nieuw geneesmiddel waarop deze patiënten heel goed blijken te reageren. Maar ook bij deze therapie ontstaat uiteindelijk resistentie. Heel recent is gevonden dat er in deze tumoren dan een derde EGFR-mutatie gevonden wordt. In enkele gevallen zie je dat je soms weer terug kunt vallen op de eerste therapie die dan weer opnieuw een positief resultaat zou kunnen geven. De onderzoeken naar resistentie op therapie is op dit moment een belangrijk item in de moleculaire diagnostiek. De moleculaire pathologie is nog steeds in ontwikkeling.

Onderzoeken

Er worden panels ontwikkeld voor verschillende soorten kanker: prostaat, mamma, ovarium, darm, long, enzovoort. Het is de bedoeling dat in alle deelnemende laboratoria zoveel mogelijk dezelfde panels worden gebruikt zodat data vergelijkbaar zijn. Behalve de PCR-technieken wordt FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) ook nog veel gebruikt. Een deel van de genetische defecten ontstaat door translocaties en amplificaties van stukjes DNA. Die zijn met FISH goed aan te tonen en wat lastiger met PCR, in sommige gevallen aangevuld met specifieke immunohistochemische kleuringen. Kortom er moeten diverse testen worden gedaan om een zo goed mogelijk profiel van de tumor te krijgen. Al deze testen worden uitgevoerd op weefsel dat normaal is verwerkt voor histologisch onderzoek en dus is ingebed in paraffine. De patholoog geeft in de standaard H.E. coupe aan in welk gebied de tumor zit. Voor het moleculair onderzoek wordt tumorweefsel uit paraffinemateriaal verzameld. Uit de blanco coupes van het paraffineblokje wordt uit het aangegeven gebied

tumorweefsel weggekrabd. Hieruit wordt het DNA geëxtraheerd en gebruikt voor het moleculaire onderzoek. Voor de FISH wordt op de H.E.-coupe aangegeven in welk gebied naar aankleuring moet worden gezocht. Tot zo ver de routinematige moleculaire analyses. Maar DNA uit de tumor kan ook gevonden worden in bloed.

“Waardoor er ook relatief veel **tumor-DNA** in het bloed komt

Liquid Biopsy, tumor DNA in het bloed

Het blijkt dat van veel patiënten histologisch of cytologisch materiaal wordt verkregen waar geen of te weinig tumorcellen in aanwezig zijn of de kwaliteit van het aanwezige DNA te slecht is voor moleculair diagnostisch onderzoek. Voor de nieuwe moleculaire technieken zoals NGS (Next-Generation Sequencing) is een behoorlijke hoeveelheid DNA nodig. Verder blijkt dat bij sommige patiënten het nemen van een weefselbiopsie vaak niet mogelijk is. Bijvoorbeeld als de tumor vlak bij de aorta of het hart ligt of de patiënt vol met tumor zit maar er is geen plek om een goed biopsie te kunnen nemen of het risico op complicaties te hoog is. Het blijkt dat een aanzienlijk deel van de patiënten niet goed is te biopsieren waardoor er geen weefsel voor een goede diagnostiek beschikbaar is. Dus er is een andere benadering nodig om toch ook voor deze patiënten een mogelijke behandeloptie te geven. Voor die patiënten is DNA uit perifere bloed een alternatief. In het algemeen is in een normaal weefsel de turnover van cellen laag. Er komen weinig cellen bij en er gaan weinig cellen dood. In een tumor is de turnover veel groter. Tumorweefsel groeit immers harder, maar er gaan ook relatief meer cellen dood door apoptose, autolyse en necrose. Ook is het opruimmechanisme vaak verstoord. Hierdoor komen delen van cellen, zoals lysosomen, DNA, RNA, eiwitten en dergelijke uit de tumorcellen in de bloedbaan terecht. Dus een tumor die heel hard groeit heeft ook relatief veel cellen die kapot gaan, waardoor er ook relatief veel tumor-DNA in het bloed komt. Dit tumor DNA kan je in het bloed aantonen. Dat geldt ook voor tumor-RNA en tumoreiwitten.

Sequencing is het bepalen van de volgorde van de letters van het DNA die de genetische code vormen. De klassieke methode van Sanger uit 1977, waarbij de basen één voor één werden afgelezen is lange tijd de meest gebruikte methode geweest. Dit wordt de first generation sequencing genoemd. Het is tegenwoordig mogelijk om van vele DNA-fragmenten tegelijk de sequentievolgorde te bepalen in korte tijd en kosteneffectief. Deze techniek wordt next generation sequencing (NGS) genoemd.

Niet alleen in patiënten met tumoren, maar ook bij andere omstandigheden, kan de hoeveelheid totaal gemeten DNA in het bloed verhoogd zijn. Bij een gezond persoon kan ook veel DNA in het bloed zitten, bijvoorbeeld na grote inspanning of bij infecties. Bij een zwangere vrouw kan zelfs vijf tot tien procent van het DNA in het bloed van het kind afkomstig zijn. Ter informatie, dit DNA wordt gebruikt bij de NIPT test (Niet Invasieve Prenatale Test), bloedonderzoek dat wordt gedaan om te achterhalen of het ongeboren kind een aangeboren chromosoomafwijking heeft zoals het syndroom van Down. Dus de hoeveelheid totaal gemeten DNA in het bloed is geen maat voor de aanwezigheid of stadiëring van een tumor. Het DNA in het bloed is echter wel geschikt om te kijken welke mutaties in de tumor voorkomen. Voor het maken van een optimale behandelkeuze is een mutatieanalyse nodig. Er mag niet zomaar met een therapie op maat worden begonnen. De medicatie is daar veel te duur voor en als de mutatie, waar het middel specifiek tegen gericht is, niet aanwezig is, is de therapie juist nadelig voor de patiënt. Immers er is geen respons en je onthoudt de patiënt standaard therapie. Dus het is van belang om materiaal (weefsel of bloed DNA) beschikbaar te hebben voor de moleculaire pathologie.

Techniek

Het DNA in het bloed wordt verkregen uit het cel-vrij plasma. Het is belangrijk dat het bloed, meestal in een EDTA-bloedbuis, op een laag toerental wordt afgedraaid om het plasma van de bloedcellen te scheiden. Wanneer het bloed bij een hoog toerental wordt afgedraaid zal een deel van de lymfocyten en leukocyten kapot gaan en het DNA uit deze cellen komt ook in het plasma. Hierdoor

wordt het percentage tumor DNA ten opzichte van het normale DNA verdund en wordt de detectie van tumor DNA alleen maar lastiger. Na het afdraaien op laag toerental wordt de bovenste laag van de buis, het cel-vrije plasma, overgebracht in schone buis. Het cel-vrij plasma wordt opnieuw afgedraaid maar dan bij een hoog toerental waardoor celresten zich onder in de buis verzamelen. Het heldere cel-vrije plasma (met daarin ook het tumor DNA) wordt opgeslagen in -80°C vriezer totdat het DNA geëxtraheerd wordt.

Ook de tijd dat de buizen op tafel staan is van belang. In EDTA-bloedbuizen (EDTA=antistollingsmiddel) zit geen fixatief. Hierdoor gaan ook de lymfocyten kapot (hemolyse) en zal dus ook het lymfocyten DNA in het plasma terecht komen en zo ook het tumor DNA verdunnen. Het isoleren van het cel-vrije plasma uit EDTA-buizen dient te gebeuren binnen vier uur om hemolyse te voorkomen. Er zijn binnen de pathologie van het UMCG drie analisten beschikbaar om de bloedbuizen binnen twee tot vier uur te verwerken en het celvrij plasma in te vriezen. Voor bloedmonsters die van buiten het UMCG opgestuurd worden gebruiken we dure speciale buizen waarin het bloed maximaal zeven dagen geschikt blijft voor tumor DNA analyse. Mits tijdens de opslag en transport de temperatuur van het bloed niet te hoog of te laag wordt anders kunnen de lymfocyten kapot gaan en het DNA uit de lymfocyten in het plasma komen. Het is daarom van essentieel belang deze procedure in een zo goed mogelijk protocol te vatten en dat het protocol (inter)nationaal wordt gestandaardiseerd. Het UMCG is op dit moment betrokken bij verschillende internationale initiatieven om deze protocollen met elkaar af te stemmen en te komen tot een standaard protocol.

Het huidige serum/plasma-archief van de klinische chemie/hematologie

Standaard worden bloedbuizen sinds jaar en dag één keer hard afgedraaid om klinisch chemische en hematologische bepalingen uit te voeren. Tot de dag van vandaag was er geen reden om plasma te verzamelen voor (tumor) DNA analyse. Dit betekent dat plasma dat we in alle plasma-biobanken in vriezers hebben opgeslagen, niet geschikt is voor tumor DNA mutatieanalyse.

De patiënt

Binnen het UMCG worden standaard bij

“ Een rol bij de systemische en lokale reactie op tumorgroei

een longkankerpatiënt drie EDTA-buizen bloed afgenomen. Twee buizen worden gebruikt voor isolatie en opslag van celvrij plasma en één buis voor de isolatie van trombocyten die worden gebruikt voor RNA-onderzoek. Trombocyten (bloedplaatjes) zijn kernloze cellen die nodig zijn voor de bloedstolling. Naast de bloedstolling hebben ze ook een rol bij de systemische en lokale reactie op tumorgroei, waardoor de trombocyten in staat zijn om bijvoorbeeld RNA uit dode tumorcellen op te nemen. Uit de literatuur blijkt dat bij zeventig procent van de patiënten met een mutatie in het tumorweefsel deze mutatie in het bloed wordt gedetecteerd. Dat betekent dat bij een derde van de patiënten de mutaties niet terug zijn te vinden in het plasma. Dit komt waarschijnlijk doordat de patiënt te weinig tumorload heeft. Het is echter ook niet bekend hoelang tumor DNA in het bloed blijft circuleren. Heeft tumor DNA een korte halfwaardetijd? Wordt het snel afgebroken? Niemand die het antwoord weet. Bij ons onderzoek in GIST zien we dat, ondanks dat deze tumoren soms erg groot kunnen zijn, ze heel langzaam groeien. De aanwezigheid van de tumor-specifieke mutatie in het tumor DNA in het plasma is niet geassocieerd met tumorgrootte maar met patiënten met metastasen.

Als de therapie die specifiek is gericht tegen de DNA-mutatie (therapie op maat) goed werkt zien we dat direct na start van de therapie de mutaties in het plasma-DNA enorm oplopen om daarna volledig te verdwijnen. Vermoedelijk komt dit doordat de therapie veel tumorcellen doodt en daardoor komt er veel tumor DNA vrij dat kan worden gedetecteerd.

Wat zijn nu de toepassingen?

Er zijn er heel veel, maar de drie belangrijkste zijn:

1. Therapeutische doeleinden afkomstig uit de richtlijn voor de longtumoren. Als je geen geschikt weefselbiopt hebt dan mag je een mutatiebepaling doen op cel-vrij plasma uit bloed van de patiënt om te bepalen welke therapie het beste is. Dit wordt in het UMCG niet vaak gedaan, omdat de voorkeur uit gaat naar het verkrijgen van een weefselbiopt zodat ook histologisch en immunohisto-

chemisch onderzoek en een volledig mutatie-profiel kan worden gedaan.

2. Monitoring van de respons op therapie. Na behandeling kan de behandelend arts met behulp van een CT-scan zien of de tumor krimpt, gelijk blijft of groeit. Door de analyse van tumor DNA in plasma kunnen we onderzoeken of de tumor in regressie gaat of niet. Dit kan door (de analyse van) de mutaties in het bloedmonster te controleren en te kwantificeren. Binnen het UMCG lopen er verschillende studies op gebied van immunotherapie bij longkanker en therapie-op-maat bij GIST.
3. Detecteren van resistente mutaties in tumor DNA in plasma bij patiënten met progressie tijdens therapie op maat. Als de tumor weer terug komt wil je graag weten welke extra mutaties in de tumor voor komen. Binnen onze afdeling vindt veel onderzoek plaats om dergelijke resistente mutaties te identificeren. In de diagnostiek bieden we voor longkankerpatiënten die therapie-resistentie hebben ontwikkeld een plasma-test voor de detectie van de EGFR-T790M in verband met andere therapie-mogelijkheden.

Op weefselbiopten zijn met NGS deze testen goed uit te voeren, maar de hoeveelheden DNA in plasma zijn meestal niet genoeg. Je wil een test waarbij je alle patiënten kan testen. Daarom worden op dit moment vooral testen gebruikt die slechts één of twee genen kunnen analyseren. De hoop is dat in de nabije toekomst de NGS nog gevoeliger worden (en kosteneffectief) zodat we met minder DNA toch de testen kunnen uitvoeren om de mutaties te vinden. Een tweede probleem bij mutatieanalyse van tumor-DNA in het cel-vrij plasma is dat het percentage tumor DNA minder dan één procent is van het totale DNA. Tijdens de behandeling is dit percentage alleen nog maar lager. De vraag is bij zodanig lage hoeveelheden tumor DNA of we te maken hebben met ruis of toch een relevante mutatie?

Digital droplet PCR

We hebben in een reactie een probe voor het gemuteerde en één voor het wildtype DNA. Het reactiemengsel met DNA uit plasma wordt verdeeld in zeer kleine druppeltjes met in elk druppeltje maar heel weinig DNA. In elk druppeltje wordt een PCR-reactie uitgevoerd (Digital droplet PCR). Het gaat om vijftien-

duizend tot twintigduizend druppeltjes per reactie. Als wildtype DNA aanwezig is dan kleurt de druppel groen en bij mutatie blauw. Zo kan je dus enkele mutaties vinden in een hoge achtergrond van wildtype DNA. Doe je een standaard PCR dan is de hoeveelheid gemuteerd DNA zo klein dat het op de gel niet te onderscheiden is van wildtype. Digital droplet PCR is momenteel één van de weinige kwantitatieve methoden om de hoeveelheid gemuteerde genen vast te stellen. Echter het maakt al uit of de bloedbuis lang of kort op tafel heeft gestaan. Dat beïnvloedt de kwaliteit van het monster. Dit betekent dat alle testen zoveel mogelijk moeten worden gestandaardiseerd om kwantitatieve analyses te kunnen vergelijken. De vraag is wel: heeft de patiënt wat aan deze testen? Hoe gevoelig moet de test zijn? We willen tenslotte vaststellen of de tumor weer begint te groeien, maar op dit moment weten we niet wat de klinische relevante grens is.

“Een zo goed mogelijke zorg hebben voor de patiënt

Wie moet de Liquid Biopsy DNA bepalingen gaan doen?

De pathologie of de klinische chemie of.....? Het is gek dat de pathologie op dit moment bezig is om plasma te verzamelen. Je wil eigenlijk het proces van bloedbewerking tot cel-vrij plasma onderbrengen bij de klinische chemie. Dat is de gangbare stroom van de verwerking van bloed. Daarna zou het plasma verstuurd kunnen worden naar het laboratorium die de vraagstelling kan beantwoorden en daarvoor wellicht een specifieke moleculaire test heeft opgezet. Voor bijvoorbeeld de NIPtest wordt het plasma naar de genetica gestuurd. Bij een vraagstelling over mutatieanalyse voor therapiebehandeling wordt deze test uitgevoerd bij de pathologie.

In het UMCG is afgesproken dat alle mutatieanalyses op tumorweefsel voor therapeutische behandelingen naar de pathologie gaan. De uitslag is een integraal onderdeel van de verslaglegging. Bij de pathologie is tumorweefsel en de moleculaire analyse van de tumor een onderdeel van de gehele verslaglegging. Het maakt voor de analyse niet uit waaruit het tumor DNA wordt gehaald. Het belangrijkste is dat we een zo goed

mogelijke zorg hebben voor de patiënt en alle gegevens over de tumor in het pathologie-verslag worden beschreven.

Voordeel van mutatieanalyse in bloed

Bij patiënten met meerdere tumoren (metastase) zien we dat een relevante mutatie wel in de ene tumor aanwezig is, maar niet in de andere tumor. Deze moleculaire heterogeniteit wordt steeds vaker beschreven. Ga je in deze patiënt een tumorbiopt nemen dan kun je de mutatie dus missen terwijl je in het plasma die mutatie wel kan vinden (die mutatie zit dan in de andere tumorhaard). Dit kan een voordeel zijn. Je ziet dat patiënten die worden behandeld tegen een mutatie in een tumor toch ook een respons laten zien in tumorhaarden zonder deze mutatie. Om alle mutaties in beeld te brengen zou uit elke haard moeten worden gebiopteerd. Dit is echter heel duur en vaak niet mogelijk. Uit studies weten we dat bepaalde mutaties in alle tumorcellen aanwezig zijn. Andere mutaties vind je maar in een beperkt deel van de tumorcellen. Deze heterogeniteit is met name gezien voor een BRAF-mutatie in melanomen. We willen in het UMCG een studie starten om bij patiënten met een melanoom zonder BRAF-mutatie in het weefselbiopt, maar wel een BRAF-mutatie in het plasma, te onderzoeken of anti-BRAF therapie toch helpt en te kijken of de plasmatest een toegevoegde waarde heeft voor de behandeling van melanoompatiënten. Maar dit is nog in de testfase. Is bloedplasma in de toekomst te gebruiken als een soort bevolkingsonderzoek op kanker? Er zijn plannen om een onderzoek te starten om te onderzoeken of er bij mensen, bij wie een preventieve CT-scan gemaakt wordt voordat ze klachten hebben, al in het plasma kan worden aangetoond of er tumor DNA te vinden is voordat de ziekte zich manifesteert.

Liquid biopsy is voorlopig nog volop in ontwikkeling en het eindpunt is nog lang niet in zicht.

Ik wil prof. dr. Ed Schuurung, hoofd van het Laboratorium voor Moleculaire Pathologie voor UMCG en de regio Noord bedanken voor dit uitgebreide interview en voor het nakijken en het kritisch lezen van de tekst.

Voor vragen of meer informatie kunt u contact opnemen met prof. dr. Ed Schuurung, e.schuuring@umcg.nl www.moloncopath.nl

Wet Zeggenschap Lichaamsmateriaal, waar hebben we het eigenlijk over?

Van bijna alle Nederlanders ligt lichaamsmateriaal opgeslagen, bijvoorbeeld bij ziekenhuizen of laboratoria. Je kunt daarbij denken aan buisjes bloed, verwijderde galstenen of urinemonsters. Uit onderzoek van het Rathenau Instituut blijkt dat dit om miljoenen stukjes lichaamsmateriaal gaat. Op dit moment is het wettelijk niet goed geregeld wat er wel en niet met dat lichaamsmateriaal mag gebeuren. Om daar verandering in te brengen en duidelijk te regelen wat wel en niet mag, wordt er gewerkt aan de Wet Zeggenschap Lichaamsmateriaal.

Twee belangrijke uitgangspunten van dit voorstel zijn:

1. De burger heeft zelf zeggenschap over het lichaamsmateriaal en,
2. Materiaal dat afgenomen is, mag niet voor iets anders gebruikt worden dan waarvoor het afgenomen is.

Door de zeggenschap wordt de burger beschermd tegen ongewenst gebruik, door wie dan ook. In sommige heel specifieke gevallen is het onmogelijk of onredelijk om per persoon toestemming te vragen. Als dan er ook nog sprake is van een ander groot en algemeen belang, kan een uitzondering nodig zijn. Daarvoor zijn er in het voorstel drie uitzonderingen geformuleerd op de hoofdregels.

Deze uitzonderingen zijn:

1. Gebruik voor kwaliteitsbewaking van de gezondheidszorg
 - a. Te denken valt aan het gebruik van bloed om machines die bloed verwerken goed af te stellen,
 - b. of het trainen van medewerkers die met lichaamsmateriaal om moeten gaan in hun werk.
2. Gebruik voor onderwijs of onderzoeksdoeleinden. Daarbij geldt dat
 - a. Het moet gaan om onderzoek in algemeen belang
 - b. Er dusdanige waarborgen moeten zijn dat de persoonlijke levenssfeer van de betrokkene niet wordt geschaad
 - c. Het moet gaan om een situatie waarin toestemming vragen onmogelijk is of onevenredig veel inspanning kost.
3. In zeer uitzonderlijke gevallen gebruik in strafzaken.

Bij deze laatste uitzondering speelt het medisch beroepsgeheim een rol.

Daarom zijn de waarborgen die hiervoor gelden ook in samenspraak met artsenfederatie KNMG opgesteld. Met hen zijn de onderstaande voorwaarden afgesproken. Zou deze uitzondering niet zijn opgenomen, dan zou opgeslagen lichaamsmateriaal nooit voor de opsporing van een heel ernstig misdrijf gebruikt kunnen worden. In uitzonderlijke zedenzaken of bij moordzaken kan dat onwenselijk zijn. Gebruik van lichaamsmateriaal voor strafrechtelijk doeleinden mag alleen in heel uitzonderlijke gevallen, namelijk alleen als voldaan is aan alle 6 de volgende voorwaarden:

1. Het moet gaan om bepaalde ernstige misdrijven waarop een gevangenisstraf staat van 8 jaar of meer, zoals moord of verkrachting.
2. De verdachte moet bij naam en toenaam bekend zijn, en het dus om een gerichte actie gaat.
3. Afname van DNA is bij de verdachte zelf niet mogelijk, bijvoorbeeld omdat deze overleden of vermist is.
4. Gebruik van het materiaal is het laatste redmiddel om het bewijs rond te krijgen. De zaak kan niet op een andere manier bewezen worden.
5. Een speciale commissie moet hierover advies uitbrengen.
6. En uiteindelijk is het op basis van dit advies aan de rechter om te bepalen of het lichaamsmateriaal in een specifiek geval gebruikt mag worden.

Er bestaan een aantal misverstanden over het voorstel:

Er komt een DNA-databank

Nee. Van centrale opslag van lichaamsmateriaal is in dit voorstel helemaal geen sprake. Het gaat om lichaamsmateriaal dat door bijvoorbeeld ziekenhuizen of laboratoria wordt afgenomen en bewaard.

Justitie krijgt toegang tot mijn lichaamsmateriaal

Nee. Alleen als er bij een verdachte van en zeer ernstig misdrijf geen DNA afgenomen kan worden, kan justitie toestemming vragen aan de rechter om toegang te krijgen tot een specifiek stukje lichaamsmateriaal. Alleen in de hierboven genoemde heel uitzonderlijke gevallen kan de rechter oordelen dat de beheerder, bijvoorbeeld een ziekenhuis, een specifiek stukje lichaamsmateriaal af moet staan. Buiten die uitzondering blijft gelden dat degene van wie het materiaal is afgenomen, zelf toestemming moet geven voor het gebruik ervan.

Dit voorstel betekent een inperking van het medisch beroepsgeheim

Nee. De Hoge Raad heeft ook nu al heel duidelijk vastgesteld in welke uitzonderlijke gevallen het medisch beroepsgeheim in strafzaken doorbroken mag worden. De voorwaarden die de Hoge Raad, op basis van bestaande wetgeving, heeft vastgesteld, zijn als het gaat om lichaamsmateriaal echter niet in de wet vastgelegd. Dit voorstel doet dat wel.

De deur wordt opengezet voor groot-schalig gebruik van DNA-gegevens

Nee. Op dit moment is het juist niet goed geregeld wat er wel en niet mag met opgeslagen lichaamsmateriaal. Deze wet maakt daaraan een einde en stelt juist hele strikte wettelijke regels die niet zomaar veranderd kunnen worden. Uitgangspunt is bescherming van de burger tegen ongewenst gebruik, door deze zelf zeggenschap over het eigen lichaamsmateriaal te geven.

Meer weten over het voorstel? Kijk hier: <https://www.internetconsultatie.nl/zeggenschaplichaamsmateriaal>

Casus: acute promyelocytenleukemie

Marloes Gooden, AIOS UMCG

Klinische gegevens

Het betreft een vrouw van 52 jaar die zich bij de huisarts presenteert met moeheid en malaise. Laboratoriumonderzoek toont een anemie, trombocytopenie en een leukocytose.

Microscopie

Er wordt een beenmergbiopsie verricht, waarin een sterk toegenomen celrijk beenmerg wordt gezien met een diffuus infiltraat van blasten (afbeelding A). Er is verdringing van de overige hematopoëse. In de cytologie

van bloed en beenmerg worden blasten en promyelocyten gezien met Auerse staven en de voor dit ziektebeeld karakteristieke 'takkenbossen' (afbeelding B). In deze atypische cellen wordt bij moleculaire diagnostiek het PML-RARA fusieproduct aangetroffen.

Conclusie

Het beeld past bij een acute promyelocytenleukemie. Dit is een leukemie die meestal berust op een translokatie tussen chromosoom 15 en 17, waardoor het retinoïnezuur receptor-alfa

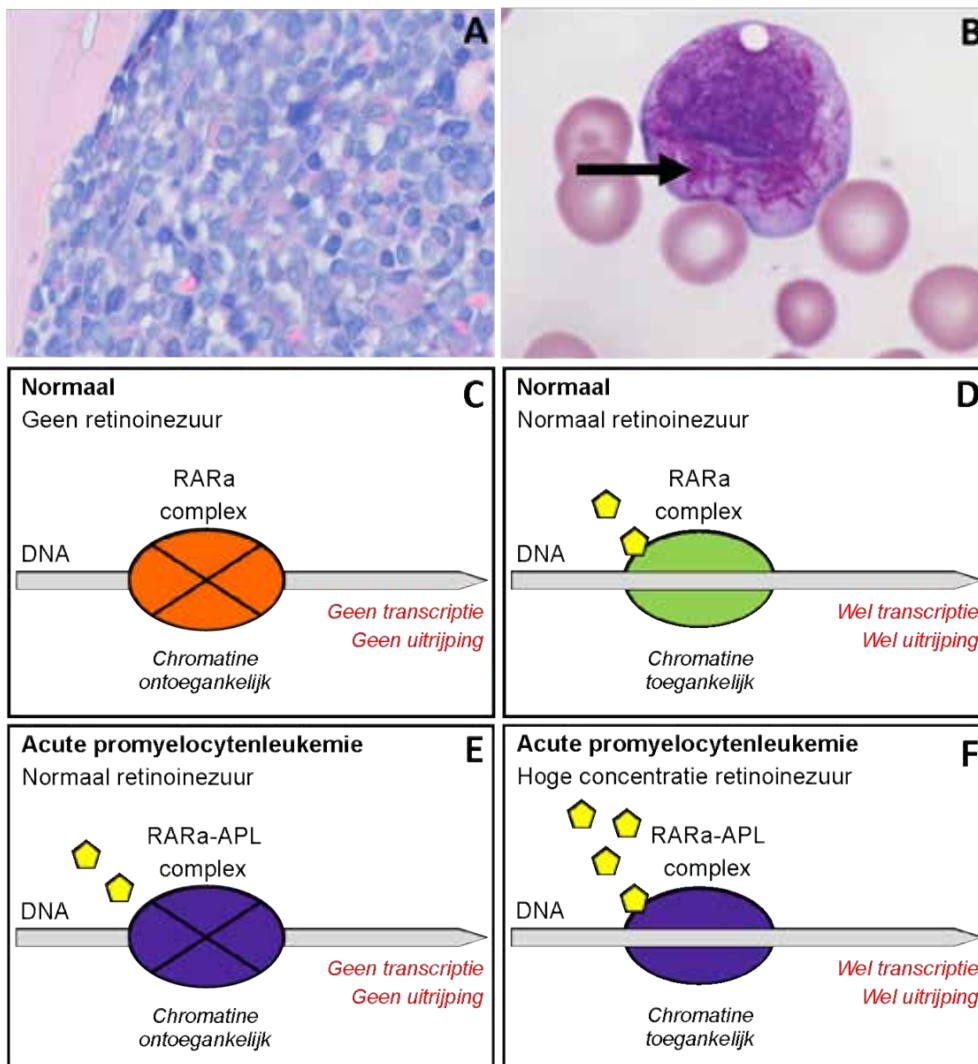
(RARA) gen gefuseerd raakt met het promyelocytenleukemie (PML) gen. RARA is onderdeel van een complex dat betrokken is bij de afschrijving van genen die verantwoordelijk zijn voor de differentiatie van promyelocyten naar granulocyten. Hierbij speelt retinoïnezuur (een vitamine A derivaat) een cruciale rol. In afwezigheid van retinoïnezuur maakt het RARA complex het DNA ontoegankelijk voor afschrijving (afbeelding C), maar in aanwezigheid van retinoïnezuur verandert dit complex naar een activerende conformatie en worden genen afgeschreven die de uitrijping van promyelocyten naar granulocyten bevorderen (afbeelding D). Het bij acute promyelocytenleukemie ontstane fusieproduct PML-RARA reageert echter niet op de fysiologische concentraties retinoïnezuur (afbeelding E). Hierdoor blijven de promyelocyten steken in een vroege fase van ontwikkeling. Een hoeksteen van behandeling is het toedienen van hoge concentraties All-transretinoïnezuur (afbeelding F), waardoor dit effect ongedaan wordt gemaakt en alsnog uitrijping optreedt van de granulocyten. Daarnaast wordt vaak chemotherapie gegeven om de leukemische kloon uit te roeien.

Kliniek

Acute promyelocytenleukemie is een absoluut spoedgeval omdat er kans is op levensbedreigende bloedingen. Behandeling wordt direct gestart bij het vermoeden van de diagnose. Het ziektebeeld heeft dan een goede prognose, met circa 80-90% kans op remissie.

Bronvermelding

Afbeelding B:
www.pathologystudent.com



De rubriek voor de pre-analytisch medewerker

Wat heb ik en wat maakt mij beter? Dat is vaak de kern van wat de patiënt van zijn huisarts of specialist wil weten.

Bij het beantwoorden van deze vragen kan pathologie een cruciale rol spelen. Voordat er een diagnose kan worden gesteld heeft het patiëntenmateriaal al een heel proces doorlopen. Dit proces start bij het moment van afname bij de patiënt.

Het belang van goed inzenden

Het is voor zowel de patiënt, aanvrager als voor het laboratorium belangrijk dat het patiëntenmateriaal op de juiste wijze wordt ingezonden. Daarom zijn er voor de verschillende materialen afzonderlijke inzendrichtlijnen opgesteld. Een inzendrichtlijn is bedoeld voor aanvragers en geeft aan hoe patiëntenmateriaal voor histologisch en cytologisch onderzoek op de juiste manier behandeld en opgestuurd moet worden. Door het materiaal op de juiste manier in te zenden, komt het in optimale conditie binnen. Wanneer dit niet gebeurt, kan dit consequenties hebben voor de kwaliteit van de diagnostiek en daarmee voor de behandeling van de patiënt.

Pathologie Friesland is één van de pathologie laboratoria in Nederland. Hier wordt de klinische pathologie diagnostiek verricht voor huisartsen en verpleeghuisartsen in de regio en voor de vijf ziekenhuizen in Friesland. Het patiëntenmateriaal wordt dagelijks met een eigen transportdienst opgehaald.

Wat gebeurt er met het materiaal dat binnenkomt?

'De dag begint vroeg bij Pathologie Friesland. Om zeven uur gaan de eerste analisten al aan de slag met een deel van de 'oogst' van de vorige dag: lichaamsweefsel dat na een voorbereiding is ont-

leed, ontwaterd en ingeblokkt. Kort daarna komt ook de eerste nieuwe zending van de dag al binnen: potjes en zakjes die zijn aangeleverd door huisartsen en verpleeghuisartsen, spoedig gevolgd door overige van de ongeveer zeven dagelijkse zendingen vanuit de ziekenhuizen en de grotere huisartsenpraktijken. Op piekdagen kunnen er wel 350 pakketjes met patiëntenmateriaal binnenkomen. Elke inzending krijgt een nummer en barcode die het verdere proces begeleidt. Bij de ontvangst wordt ook direct al een scheiding aangebracht tussen materiaal dat met spoed moet worden onderzocht en zendingen die de normale procedure volgen. Spoed betekent een afhandeling in twee of drie dagen, de rest kent een doorlooptijd van ongeveer een week. In het eerste deel van de keten spelen ontvangstmedewerkers, administratief personeel en patholoog-assistenten de hoofdrol. Zij zorgen voor een zorgvuldige registratie en labeling, rapporteren terug naar de afzender wat er is ontvangen, prepareren het materiaal en leveren de coupes aan die uiteindelijk door de pathologen worden beoordeeld.

De inzendingen omvatten weefsels of cellen. Bij kleine weefselstukjes, zogenaamde bipten, gaat het veelal om een eerste diagnose. Bij grote operatiepreparaten, zogeheten excisies, gaat het om de definitieve diagnose en om het resultaat te meten van chemotherapie, bestralingen en medicatie'.

'Alles voor de diagnose', begint bij het accurate werken door de pre-analytisch medewerker!

Annet Nawijn,
NVML commissie preanalyse



The background of the entire poster is a photograph of two hands, one from the top and one from the bottom, gently cupping a dark, textured globe. The hands are light-skinned and the lighting is soft, creating a sense of care and global reach.

Congres



Nieuws over:

Calprotectine assay

Connective tissue disease

Schildklierdiagnostiek

Antifosfolipidensyndroom

auto immuni teit

dinsdag 31 oktober 2017

**Congrescentrum De Eenhoorn
Amersfoort**

www.nvml.nl

Verleden en toekomst van de NVML besproken in de ALV

Tijdens de Algemene Leden Vergadering (ALV) van 16 mei jongstleden zijn de leden ingelicht over het gevoerde beleid, van het afgelopen verenigingsjaar, door middel van korte presentaties.

Discussies

Naar aanleiding van, en tijdens de presentatie ontstonden verschillende discussies:

- Over de status van de (nieuwe) website.
- Over de begroting qua onderverdeling in posten en in vergelijking met de uiteindelijk betere resultaten de laatste jaren.
- Over het aangepaste huishoudelijk reglement.
- Over de mogelijkheden van analistenplatforms binnen de academische ziekenhuizen.

Decharge

Het NVML-bestuur wordt bij acclamatie gedechargeerd voor gevoerd beleid in 2016.

Bestuursleden

Statutair afgetreden zijn dhr. van der Kolk, mw. IJzerman, en mw. Versluis. Herkozen voor zijn 2e termijn is dhr. Klein Brink. Mw. Liesing neemt de taak van secretaris en vicevoorzitter over van mw. IJzerman. Mw. Wester heeft zich voorgesteld en is aangenomen als nieuw bestuurslid. Zij neemt de taak van penningmeester op zich.

Volledig verslag

Leden kunnen het volledige conceptverslag vanaf half juni op de website (www.nvml.nl) achter het ledenscherm inzien. Voor het ledenscherm dient u in te loggen met geboortedatum en lidnummer.

Marja Pospiech-Greijn

NVML jaarverslag 2016

Tijdens de ALV op 16 mei is het jaarverslag ter goedkeuring aangeboden aan de NVML-leden

De voorzitter kondigt met trots het jaarverslag aan van het jubileumjaar van de vereniging. Het 70-jarig jubileum is gevierd met een prachtig jubileumcongres. Naast de organisatie van het jubileumcongres zijn de speerpunten van 2016 de nieuwe commissie pre-analyse en de eerste stap naar een mogelijke samenwerking met de Vereniging Analisten Pathologie (VAP). Dit allemaal gerealiseerd naast alle andere lopende activiteiten van de vereniging is mogelijk door enthousiasme en grote inzet van de vrijwilligers, bureaumedeerkers en freelancers. Het toenevend ledenaantal is gestagneerd. Maar er is goede hoop op verbetering door laboratoria te stimuleren om een laboratoriumlidmaatschap aan te gaan waarbij alle medewerkers individueel lid worden, want

zonder leden heeft de vereniging geen recht van bestaan.

Het verslag is in te zien en te downloaden vanaf onze website www.nvml.nl. Ga naar 'NVML-organisatie' en dan naar 'Organisatie en Jaarverslag'.

Het financieel jaarverslag is voor leden beschikbaar. Zij kunnen dit aanvragen bij het bureau van de NVML.



CSB-Middagsymposium

Respectvol met elkaar omgaan op het lab
...en wat kun je doen als het even niet zo leuk meer is?

Een veilige werkomgeving, waar iedereen respectvol met elkaar omgaat is nog niet voor iedereen vanzelfsprekend! Wat doe je als je merkt dat de sfeer niet goed (meer) is?

Wat voor de één een leuke grap is, kan voor een ander kwetsend zijn. Pesten en roddelen komt (bijna) overal voor. Hoge werkdruk kan zorgen voor onaangenaam of negatief gedrag, soms zelfs intimidatie. Door reorganisaties en formatieteruggang is het heus niet overal en altijd meer 'leuk' op het lab.

Op deze middag verkennen we een aantal vormen van minder prettig gedrag en wordt ook gekeken naar wat je er, als afdeling- maar ook persoonlijk - aan kunt doen. Ook achtergronden van dit gedrag zullen geschetst worden.

- | | |
|-----------|--|
| 13.30 uur | Inloop, aanmelding, koffie & thee |
| 14.00 uur | Start: verkenning van het onderwerp: mw. M. Buiteman, vertrouwenspersoon bij Promen, zorgt voor de inleiding |
| 15.15 uur | Welke activiteiten, regelingen, scholingsprogramma's zijn er al op dit gebied?
Mw. J. Schoemaker, medewerker Sociale Belangen, NVML |
| 15.30 uur | Pauze |
| 16.00 uur | Wat kun je er zelf aan doen?
Over positief gedrag op de werkvloer
Dhr. G. Kuipéri van bureau Beysterveld |
| 17.00 uur | Einde, drankje en hapje |

Datum en locatie

21 november 2017, De Eenhoorn, Amersfoort.

UEC

Voor dit middagsymposium ontvangt u 3 UEC.

Kosten

NVML-lid € 65,=
Niet-lid € 95,=

(NVML-leden kunnen persoonlijk 30 euro via de geld-terug-bon aanvragen)

Aanmelden

Graag vóór 1 november 2017

U kunt zich uitsluitend aanmelden via de website www.nvml.nl

Aanmelding NVML cursussen geopend:

Voor de volgende NVML cursussen is het aanmeldingsformulier te vinden op de website www.nvml.nl:

	Sluiting inschrijving	Cursusdata
Stagebegeleiding (C), duur 4 dagen	8 augustus	donderdag 14, 21, 28 september, 23 november
"SAFER" in het laboratorium	5 september	woensdag 11 oktober
Meewerkend leidinggevende Plus (C), duur 3 dagen	29 augustus	donderdag 5 en 12 oktober, 7 december
Invloedrijk communiceren, duur 2 dagen	19 september	dinsdag 24 oktober, 7 november
Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk (B)	26 september	donderdag 2 november
Moleculair biologische technieken, duur 2 dagen	10 oktober	dinsdag 14, woensdag 15 november
Dermatofieten	17 oktober	dinsdag 21 november
Incidentanalyse	17 oktober	woensdag 29 november
Hemoglobinoopathiën	31 oktober	dinsdag 5 december
Flowcytometrie van lymfoproliferatieve aandoeningen	31 oktober	donderdag 14 december

Opleidingen

Hogeschool van Arnhem en Nijmegen Cursussen, post-hbo en maatwerkopleidingen Life Sciences

Titel: Basiskennis Chemie
Datum: e-learning (vrije keus startdatum)
Omvang: 2,5 maand
Kosten: € 603,-
Locatie: n.v.t.

Titel: Bloedbankkunde
Start: 12 september 2017 (11 dagen 18.00-21.00 uur)
Kosten: € 1.150,00
Locatie: Amsterdam

Titel: Labmanagement - Communicatie
Start: 12 september 2017 (4 dagen 9.00-13.00 uur)
Kosten: € 967,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Labmanagement - Projectmanagement
Start: 12 september 2017 (4 dagen 14.00-18.00 uur)
Kosten: € 967,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Introductie Massa Spectrometrie
Datum: 26 september 2017 (9.00 – 17.30 uur)
Kosten: € 550,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Toegepaste Microbiële Genomics
Start: 2 november 2017 (2x2 dagen 9.30 – 16.30 uur)
Kosten: € 1.910,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Statistiek voor Laboratorium-medewerkers Basis
Start: 3 oktober 2017 (6 dagen 18.00 – 21.00 uur)
Kosten: € 805,00
Locatie: Amsterdam

Titel: Proteomics
Datum: 3 en 10 oktober 2017 (9.00 – 17.00 uur)
Kosten: € 1.505,00
Locatie: Nijmegen

Voor aanmelding en aanvullende informatie over onze opleidingen kunt u terecht op onze website www.hanlifesciences.nl of stuur een mail naar info.lifesciences@han.nl.

Hogeschool Utrecht Institute for Life Sciences & Chemistry, Heidelberglaan 7, Utrecht

Titel: De kracht van R als data-analyse en grafieken tool voor Life Sciences analisten
Startdatum: 18 januari 2018
Omvang: 5 bijeenkomsten van 14.00-19.30 uur
Kosten: € 1750,- (vrij van BTW)

Kijk op onze website www.cvnt.nl en u vindt onder Institute for Life Sciences & Chemistry het volledige cursusaanbod of kies voor keuzemodules uit het bachelor-onderwijs. U kunt denken aan cursussen als Moleculaire biologie, Immunologie, Medische virologie en Microbiologie. Na de zomervakantie start weer een aantal cursussen. Prijs is € 875,- voor een cursus van 5 EC.

Ook bieden wij de opleiding Proefdierkunde HBO biotechnicus aan.

Wilt u de opleidingsbehoefte binnen uw organisatie in huis en op maat invullen, dan kunt u contact opnemen met de studieadviseur Life Sciences via 088-481 8888 of info@cvnt.nl.

Hogeschool Leiden Centrum Bioscience en Diagnostiek

Titel: Basiscursus moleculaire biologie
Datum: 21, 28 september, 5, 12 oktober, 2 en 9 november 2017
Inschrijven vóór: 10 augustus 2017
Cursusprijs: € 1.450,- (bij inschrijving vóór 13 juli 2017 € 1.320,-)

Titel: Nieuwe moleculaire diagnostische technieken
Datum: 6 oktober 2017
Inschrijven vóór: 25 augustus 2017
Cursusprijs: € 375,- (bij inschrijving vóór 27 juli 2017 € 340,-)

Titel: Variant Effect Predication (VEP)
Datum: 15 september 2017
Inschrijven vóór: 10 augustus 2017
Cursusprijs: € 510,-
(bij inschrijving tot 14 juli 2017 € 460,-)

Titel: Workshop NGS in de microbiologie diagnostiek
Datum: 18 september 2017
Inschrijven vóór: 7 augustus 2017
Cursusprijs: € 510,-
(bij inschrijving tot 10 juli 2017 € 460,-)

Titel: Gewoon Genomics NIEUW
Datum: 17 november 2017
Inschrijven vóór: 6 oktober 2017
Cursusprijs: € 650,- (bij inschrijving vóór 8 september 2017 € 595,-)

Titel: Parasitologie
Datum: 30, 31 oktober, 1, 8, 9 en 10 november 2017
Inschrijven vóór: 18 september 2017
Cursusprijs: € 1.960,- (bij inschrijving tot 28 augustus 2017 € 1.780,-)

Titel: Diagnostiek van veel voorkomende schimmels
Datum: 21, 23, 28, 30 november, 7 en 12 december 2018
Inschrijven vóór: 10 oktober 2017
Cursusprijs: € 1.610,- (bij inschrijving tot 12 september 2017 € 1.460,-)

Titel: Hematologie
Datum: 5, 12, 19, 26 september, 10, 31 oktober, 7 en 14 november 2017
Inschrijven vóór: 25 juli 2017
Cursusprijs: € 1.485,- (bij inschrijving tot 27 juni 2017 € 1.350,-)

Titel: Macroscopie van de huid
Datum: 26 september en 31 oktober 2017
Inschrijven vóór: 15 augustus 2017
Cursusprijs: € 800,-
(bij inschrijving tot 18 juli 2017 € 730,-)

Titel: Elisa theorie; achtergronden en kwaliteitsaspecten
Datum: 27 september, 4 en 11 oktober 2017
Inschrijven vóór: 16 augustus 2017
Cursusprijs: € 1.150,-
(bij inschrijving tot 19 juli 2017 € 1.045,-)

Raadpleeg onze website voor meer informatie en inschrijfformulieren. U kunt hier tevens informatie over onze maatwerktrajecten vinden.
Website: <http://cbd.hsleiden.nl>,
tel: 071-518 87 53,
fax: 071-518 84 15,
e-mail: cbd@hsleiden.nl.

Avans Hogeschool Breda In 2017 worden de volgende internationale cursussen georganiseerd:

Titel: Variant effect prediction
Datum: dinsdag 31 oktober – vrijdag 3 november 2017 (4-daagse cursus)
Locatie: Avans Hogeschool, Breda
Kosten: € 900,-

Titel: Flowcytometrie, van kalibratie tot applicatie
Datum: 3, 10 en 17 april 2018
Locatie: Erasmus MC
Kosten: € 600,-

Voor meer informatie over deze cursus verwijs ik u graag naar onze website: <http://www.alsavans.nl>.
Voor vragen, neem contact op met:
Mevr. Sari van Heel-Vauhkala,
Tel: +31 (0)88 525 7728;
e-mail: si.vanheel-vauhkala@avans.nl

Nu module 'Fixatie' online!

Het e-learningaanbod van de NVML is begin mei uitgebreid met de nieuwe module 'Fixatie'. Met deze uitbreiding is het totaal aan modules op 22 gekomen. Het streven is om voor alle disciplines binnen de medische laboratoria relevante modules aan te bieden op verschillende niveaus. Daarom is de uitbreiding met de module 'Fixatie' een goede aanvulling op de al bestaande mogelijkheden.

Inhoud module

In de module 'Fixatie' leggen we uit wat fixatie in de pathologie is, waar het voor dient, en hoe we dit in het laboratorium voor pathologie toepassen. De module bestaat uit 8 leertaken. Hierna volgt een toets, deze bestaat uit 10 (deel)vragen.
Minimum niveau: MBO.

Belangstelling?

Voor het volgen van de e-learning van de NVML kunnen organisaties staffels aanschaffen. Met een staffel zijn zij verzekerd van het kunnen volgen van alle bestaande en toekomstige modules voor de duur van een (kalender)jaar. Alles over de inschrijving, zowel voor organisaties als individueel, is te vinden op de website www.nvml.nl onder het kopje 'Opleiding & registratie' en vervolgens 'E-learning'. Voor verdere informatie kunt u contact opnemen met de NVML via nvml@nvml.nl.

In welk milieu laten we analisten groeien?

Anna Listje

Anna Listje is een rubriek in Analyse. Wij verzamelen grappige en treffende uitspraken over hoe het is om te werken in het lab.

Heeft u zelf een grappige uitspraak? Stuur deze dan naar: nvml.redactie@nvml.nl en misschien staat uw uitspraak de volgende keer in Analyse.

Agenda NVML

September

- | | | |
|----|--|-----------|
| 11 | Nascholing: "Vitamine D, een veelzijdige vitamine" (avondnascholing) | Veldhoven |
| 14 | start NVML-cursus Stagebegeleiding (C) | Utrecht |
| 26 | start NVML-cursus Theorie en kliniek van Immuno-assays | Utrecht |
| 28 | HOVON-Hematologie Scholingsdag | Ede |

Oktober

- | | | |
|----|--|------------|
| 5 | start NVML-cursus Meewerkend Leidinggevende Plus | Utrecht |
| 5 | NVML-symposium Fertiliteit (LFN) | Amersfoort |
| 11 | NVML-cursus 'SAFER' in het laboratorium | Utrecht |
| 24 | start NVML-cursus Invloedrijk Communiceren | Utrecht |
| 31 | NVML congres Autoimmunititeit | Amersfoort |

November

- | | | |
|----|--|------------|
| 2 | NVML-cursus Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk | Utrecht |
| 14 | start NVML-cursus Moleculair biologische technieken | Utrecht |
| 16 | NVML bijeenkomst Landelijk KwaliteitsNetwerk | Amersfoort |
| 21 | NVML-cursus Dermatofieten | Utrecht |
| 21 | NVML symposium Respectvol met elkaar omgaan op het lab (CSB) | Amersfoort |
| 28 | NVML congres Focus op Stofwisselingsziekten (KCL) | Amersfoort |
| 29 | NVML-cursus Incidentanalyse | Utrecht |
| 30 | NVML bijeenkomst Werkgroep Hoofdanalisten Medische Microbiologie | Amersfoort |

December

- | | | |
|----|---|---------|
| 5 | NVML-cursus Hemoglobinoopathiën | Utrecht |
| 14 | NVML-cursus Flowcytometrie van lymfoproliferatieve aandoeningen | Utrecht |

Agenda VAP activiteiten

Deze activiteiten zijn alleen toegankelijk voor VAPleden

- | | |
|----------------------|---|
| 30 september 2017 | 40 jaar WCD/OCM, UMC Utrecht Roze zaal en Foyer niveau 0 |
| 5 oktober 2017 | WHT Themadag in het NBC in Nieuwegein |
| 28 oktober 2017 | Pathasserdag te Nijmegen
Thema "Komt een vrouw bij de dokter" |
| 1 en 2 november 2017 | Najaarscongres WIHC, onderwerp gynaecopathologie.
Ernst Sillem Hoeve, Den Dolder |
| 16 en 17 november | Veldhuizencursus, Congrescentrum De Leeuwenhorst in Noordwijkerhout.
Thema: Speekselklier, schildklier, lymfklier en liquor. |

Om de agenda up to date te houden moeten data en gegevens tijdig doorgegeven worden aan de redactie. De redactie is niet verantwoordelijk voor de juistheid van de aangeleverde data en gegevens.



Verschijningsdata 2017

Nummer	deadline artikelen	deadline advertenties	verschijningsdatum
VAPvisie 01 - 2017	20 januari	3 februari	2 maart
VAPvisie 02 - 2017	31 maart	7 april	4 mei
VAPvisie 03 - 2017*	28 april	12 mei	15 juni
VAPvisie 04 - 2017	14 juli	28 juli	24 augustus
VAPvisie 05 - 2017	15 september	29 september	26 oktober
VAPvisie 06 - 2017	10 november	24 november	23 december

*gezamenlijk magazine VAPvisie en Analyse

Wat is het?



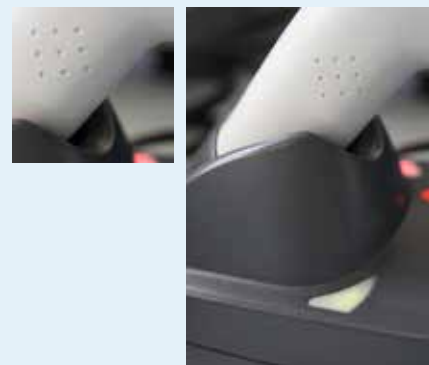
De oplossing in de VAPvisie 2 waren pellets paraffine. Uit de goede inzendingen hebben we Nadine Hogerhorst geloot. Van harte gefeliciteerd. De cadeaubon wordt naar je toe gezonden.



De nieuwe opgave is wat lastiger, het wordt op veel soorten laboratoria dagelijks gebruikt, maar er zullen maar weinig analisten zo dicht met hun neus op zitten dat ze ze zo dichtbij bekijken.

Weet je wat het is? De VAP leden kunnen het antwoord mailen naar redactie-vap@vapweb.nl, de NVML leden naar nvml@nvml.nl onder vermelding van "Wat is het". De uiterste inzenddatum is 14 juli 2017.

Onderstaande foto heeft 2 maal in Analyse gestaan en bleek moeilijk te raden.



Toch is eindelijk het goede antwoord geraden: een barcode scanner. Jannie Nijhof zal van de NVML een prijs opgestuurd krijgen. Gefeliciteerd!

NVML

Wilhelminapark 52, 3581 NM Utrecht. Telefoon: 030-2523792.
Telefonisch bereikbaar: maandag tot en met donderdag van
9:00 tot 14:00. E-mail: nvml@nvml.nl.
Website: www.nvml.nl

Bereikbaarheid bureaumedewerkers

- Ria Blom (organisatie nascholing): maandag, dinsdag en donderdag.
- Marja Pospiech (beroepsinhoudelijke belangenbehartiging en algemene zaken): maandag tot en met donderdag.
- Alice Gosselt-Imming (organisatie nascholing): maandag, dinsdag en donderdag.
- Jenny Schoemaker (voorlichting en sociale belangenbehartiging): dinsdag t/m donderdag.

Lidmaatschap

Voor informatie en ledenadministratie kunt u contact opnemen met het bureau van de NVML.

Contributie

Lees het aanmeldingsformulier op de website: www.nvml.nl.

Opzegging

Schriftelijk vóór 1 november van het lopende jaar per post of e-mail. U ontvangt hiervan een bevestiging binnen 10 werkdagen. Omdat niet al het communicatieverkeer probleemloos verloopt, adviseren wij u bij het uitblijven van de bevestiging telefonisch contact op te nemen met het bureau van de NVML.

Bestuur

Voorzitter

mw. M.J. Egbers, afdeling Medische Microbiologie, Isala Klinieken Zwolle

Penningmeester

Mw. E.M. Wester, opleidingsadviseur, afdeling Personeel & Organisatie Atalmedial Amsterdam

Secretaris/vicevoorzitter

Mw. E.C. Liesting, afdeling Specieële Klinische Chemie en Hematologie, UMC Utrecht.

Leden

dhr. B. klein Brink, Manager Histopathologie, Symbiant
mw. H. Duijn, Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis, Amsterdam

Adviseurs

- Prof. dr. R. de Jonge, Amsterdam, klinisch chemicus
- dr. J.G. Kusters, Utrecht, medisch moleculair microbioloog

NVML-Commissies en werkgroepen

Commissie Internationale Contacten

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Kwaliteit/Landelijk Kwaliteitsnetwerk (LKN)

Contactpersoon: Petra Melsen

Commissie Nascholing

Contactpersoon: Alice Gosselt-Imming en Ria Blom, bureau NVML.

Commissie/Platform Onderwijs

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Preanalyse

Contactpersoon: Hester Duijn, Kor Kooi

Redactiecommissie

Contactpersoon: Simone Priester-Vink

Werkgroep Registratie

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML

Commissie Sociale Belangen

Contactpersonen: Marja Pospiech en Jenny Schoemaker, bureau NVML.

Werkgroep e-learning

Contactpersoon: Nelly IJzerman

Landelijk fertiliteitsnetwerk (LFN)

Contactpersoon Sandra Versluis

Werkgroep Hoofdanalisten Medische Microbiologie (WHAMM)

Contactpersoon: Marianne Egbers

Werkgroep Hoofdanalisten Klinische Chemie (WHAKC)

Contactpersoon: Eline Liesting

Werkgroep Hoofdanalisten Pathologie (WHAPA)

Contactpersoon: Paul Rombout

Uitgave

Nederlandse vereniging van
bioMedisch laboratoriummedewerkers
NVML-leden ontvangen Analyse gratis.

Voor vragen over contributie, adreswijzigingen of andere administratieve zaken rond Analyse kunt u contact opnemen met het bureau van de NVML.

Redactiecoördinatie en eindredactie

Simone Priester-Vink

E-mail: nvml.redactie@nvml.nl

Redactie

mw. E. Liesting, Specieële Klinische Chemie en Hematologie, UMC Utrecht, Utrecht
mw. R. Blom, bureaumedewerker NVML
mw. I. Linde, Infectieziekten, GGD, Amsterdam
dhr. R. Lindenberg, Algemeen Medisch Laboratorium (AML), Antwerpen
mw. dr. W.W.J. van de Sande, Medische Microbiologie en Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam
functie vacant

Druk

BDU

Advertentie-exploitatie

Business Service Centre
Mw. M. van der Vegt
Tel.: 0572 – 820995 / 0572-348200
e-mail: info@mirandavandervegt.nl

Oplage

2500 exemplaren

Advertenties & kopij

Geldend advertentietarief: Tarievenlijst 2017

Sluitingsdatum advertenties

Voor nummer 4: 14 juli 2017

Inleverdata kopij

De redactie ziet korte berichten (bijvoorbeeld over opleidingen) voor Analyse 4 graag uiterlijk 23 juni 2017 tegemoet. Analyse 4 verschijnt op 25 juli 2017 en Analyse 5 op dinsdag 26 september 2017.

Copyright

Het overnemen van artikelen is alleen toegestaan na toestemming van de redactiecoördinator.

De NVML aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor de gepubliceerde advertenties; evenmin houdt het opnemen van advertenties en industriële informatie een aanbeveling van de NVML in.

ISSN 0166-7688

RIDA® GENE – Meer dan een PCR test

Flexibel:

gevalideerd voor een breed scala aan manuele en geautomatiseerde extractiemethoden; kan uitgevoerd worden op meest gebruikelijke real-time PCR instrumenten – vele studies beschikbaar

Compleet:

bevat alle benodigde componenten – geen extra kosten

Validated:

CE gemarkeerd en QCMD (externe kwaliteitsevaluatie) deelname

Specifiek en gevoelig:

real-time PCR met 'Taqman Hydrolysis Probe Technology'

Betrouwbaar:

- inclusief extractiecontrole (Internal Control RNA/ Internal Control DNA) voor de detectie van PCR
- remming en/of monitoren van kwaliteit reagentia
- en efficiëntie van DNA/RNA extractie

Efficiënt:

- Identiek PCR profiel voor
- alle DNA en RNA analyses

