

STANDAARDISATIE VAN DE PNH DIAGNOSTIEK IN NEDERLAND EN BELGIË

SKML Kwaliteit in Harmonisatie
Nijmegen 14 juni 2011

Inleiding

- Paroxismale nachtelijke hemoglobinurie (PNH) is een zeldzame (incidentie 1/1.000.000) verworven klonale aandoening.
- Oorzaak is een mutatie in het PIG-A van de hematopoietische stamcel.
- Het PIG-A gen codeert voor het eiwit glucosamine fosfatidyl-inositol (GPI).
- GPI speelt een belangrijke rol bij de verankering van bepaalde eiwitten aan de celmembraan.

mutatie in PIG-A gen



GPI anker



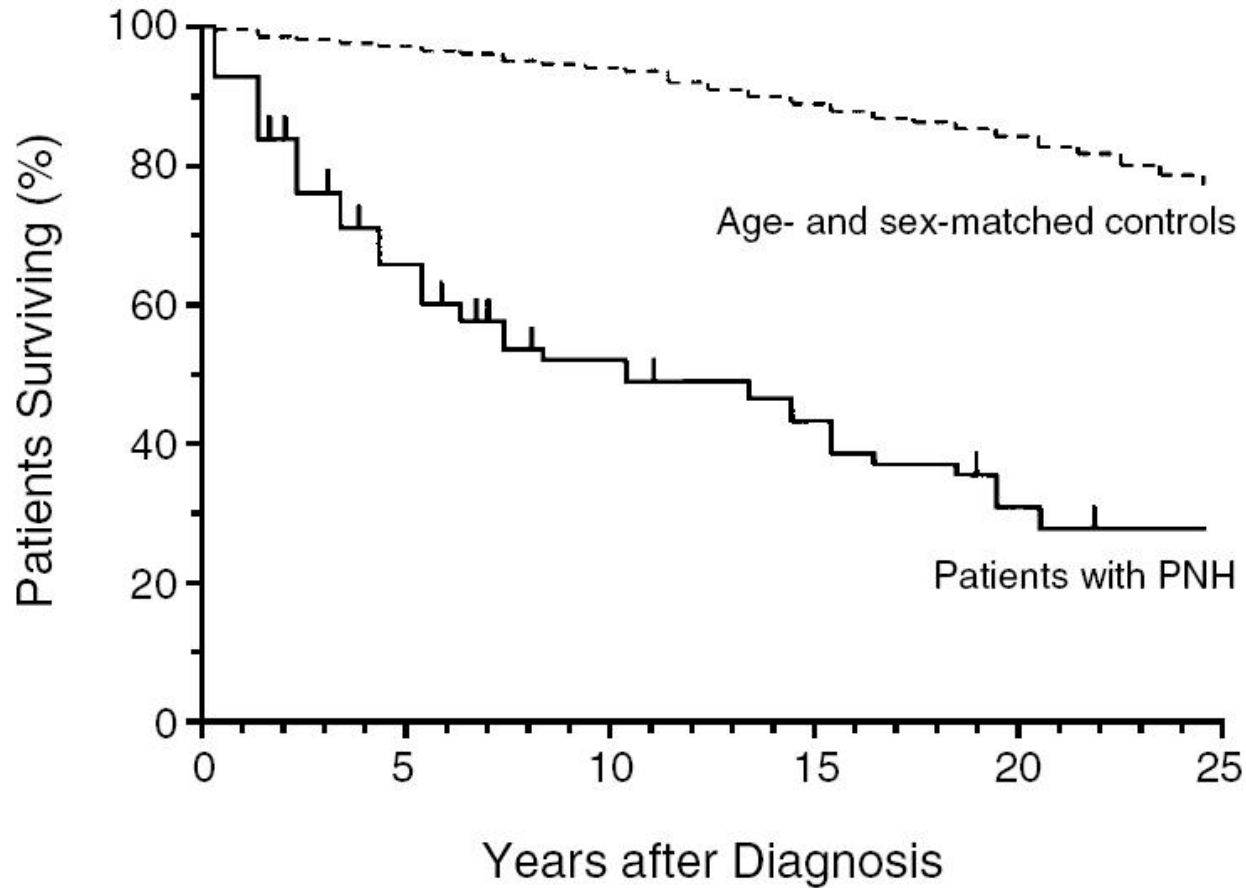
afwezigheid GPI
verankerde eiwitten

Klinische verschijnselen



- **Intravasculaire hemolyse:** Complement regulerende eiwitten CD55 en CD59 ontbreken op de rode bloedcellen: erythrocyten zijn extra gevoelig voor lysis door complement.
- **Onderliggend beenmerg falen:** Subklinisch tot een beeld van ernstige aplastische anemie (AA). Omgekeerd komt het ook voor dat AA patienten een PNH beeld ontwikkelen.
- **Veneuze trombose:** Complementactivatie op de trombocyten leidt tot verstoring van het fibrinolytisch systeem. Trombose treedt vaak op in lever (Budd-Chiari syndroom), buik- en hersenvaten.

Klinisch beloop



Classificatie

International PNH Interest Group, IPIG:

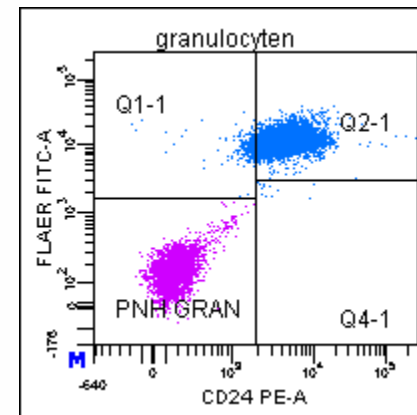
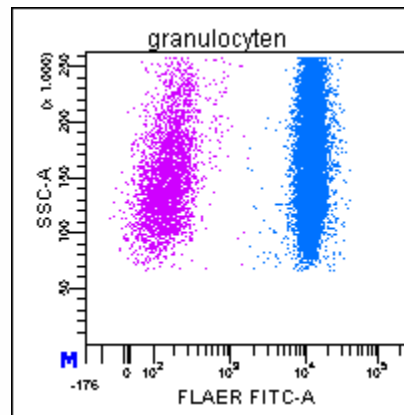
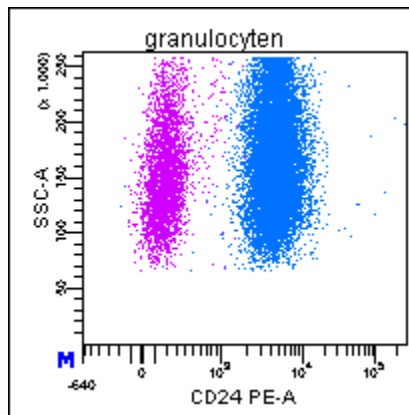
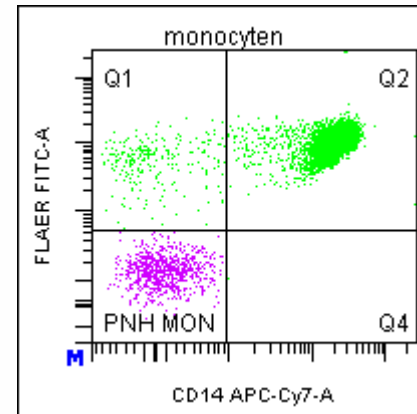
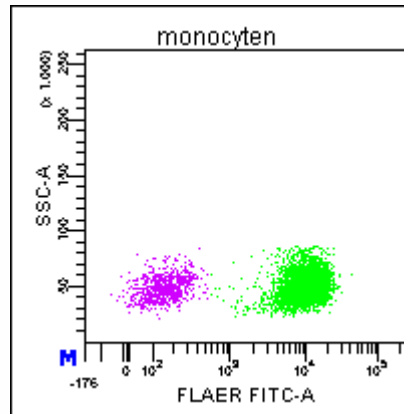
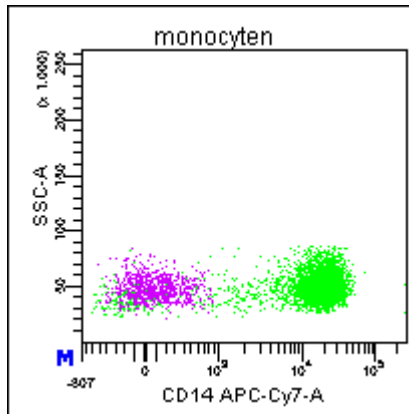
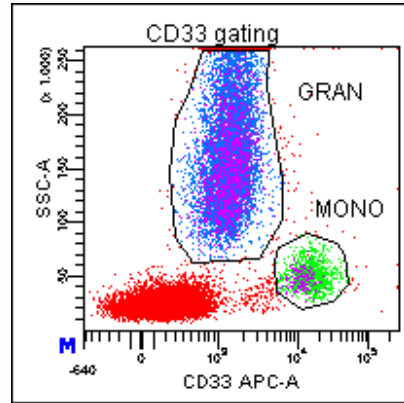
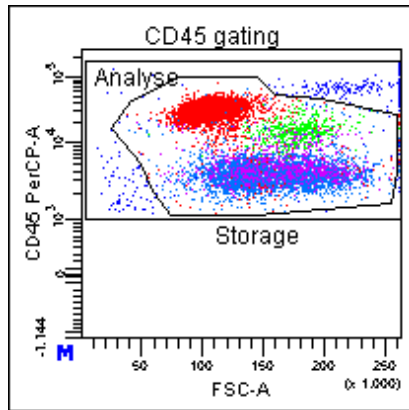
1. klassieke PNH: klinisch bewijs van intravasculaire hemolyse, PNH klonen van grote omvang, en grote populaties volledig GPI-deficiënte erythrocyten.
2. PNH (met intravasculaire hemolyse) in samenhang met een andere specifieke beenmergziekte (PNH/AA of PNH/MDS) (intermediaire PNH).
3. subklinische PNH in samenhang met een andere specifieke beenmergziekte (ongeclassificeerde PNH).

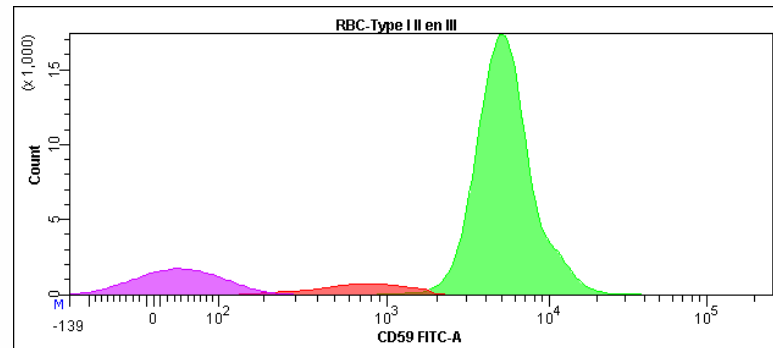
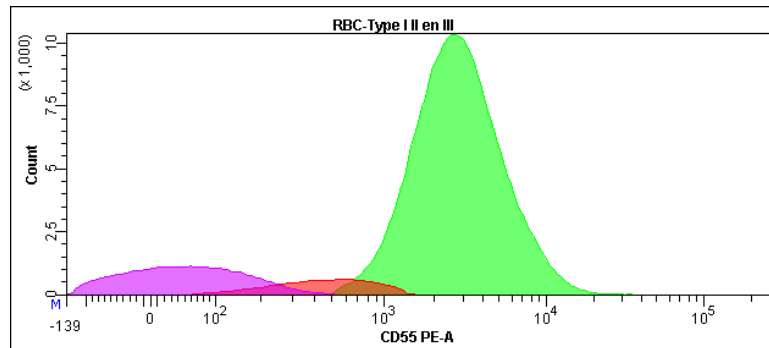
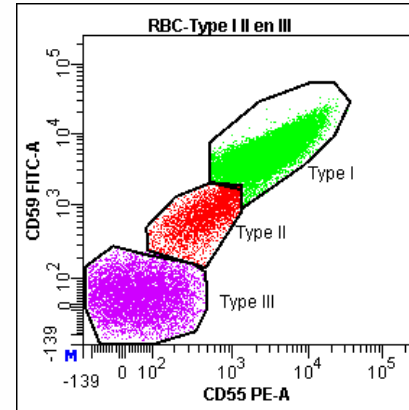
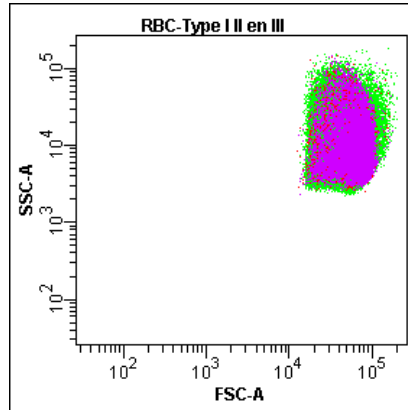
Diagnostiek bij PNH



- Flowcytometrie (FCM) is de gouden standaard: Acid Ham en de Sucrose hemolyse test worden niet meer uitgevoerd.

- Bij het aantonen van PNH klonen wordt gebruik gemaakt van:
 1. gelabelde monoklonale antistoffen die specifiek gericht zijn tegen deze eiwitten en/of
 2. FLAER, een gemodificeerd bacterieel product welke rechtstreeks aan het PI-anker bindt





Noodzaak educatie?



- Zeldzame aandoening, weinig aanvragen.
- Welke GPI-gebonden eiwitten zijn het meest geschikt?
- Welke celpopulaties zijn van belang voor PNH detectie?
- Wat is de beste “gating” strategie?
- Nieuwe ontwikkelingen:
 - multicolor FCM
 - nieuwe reagentia
 - verspreiden (internationale) richtlijnen

Veel variabelen!

UITSLAGFORMULIER PNH RONDZENDING



Monsternummer
 Rondzending ontvangen op Ingezet op:
 Deelnemend Instituut: Contactpersoon
 Email adres: Gebruikte Flowcytometer:

UITSLAG

Rode Bloedcellen

PNH Kloon totaal	Type II Cellen	Type III Cellen	Gebruikte Ab	Firma	Fluorochroom
<input type="text"/> %	<input type="text"/> %	<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="text"/> %	<input type="text"/> %	<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Witte Bloedcellen

Gebruikte methode

Monocyten (rapporteren binnen monocyten populatie)

PNH Kloon	Gebruikte Ab	Firma	Fluorochroom	
<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	% monocyten binnen WBC <input type="text"/>
<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	definitie: <input type="text"/>
<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	

Granulocyten (rapporteren binnen granulocyten populatie)

PNH Kloon %	Gebruikte Ab	Firma	Fluorochroom	
<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	% granulocyten binnen WBC <input type="text"/>
<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	definitie: <input type="text"/>
<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
<input type="text"/> %	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	

Conclusie:

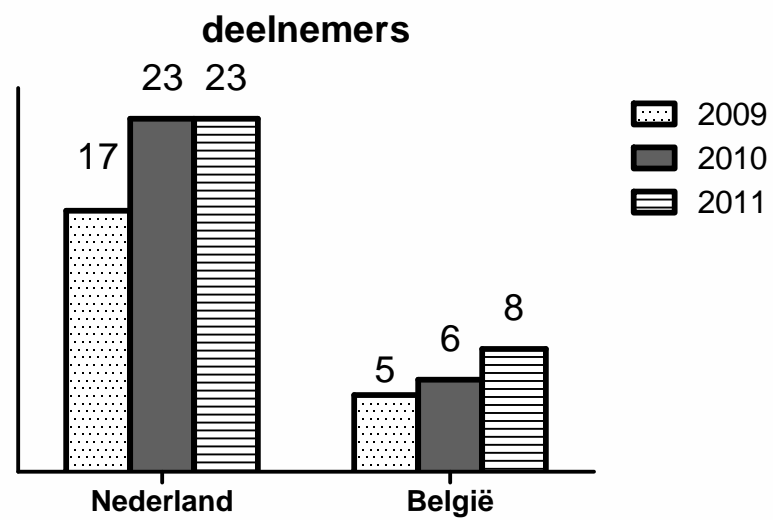
Rode Bloedcellen % Monocyten % Granulocyten %

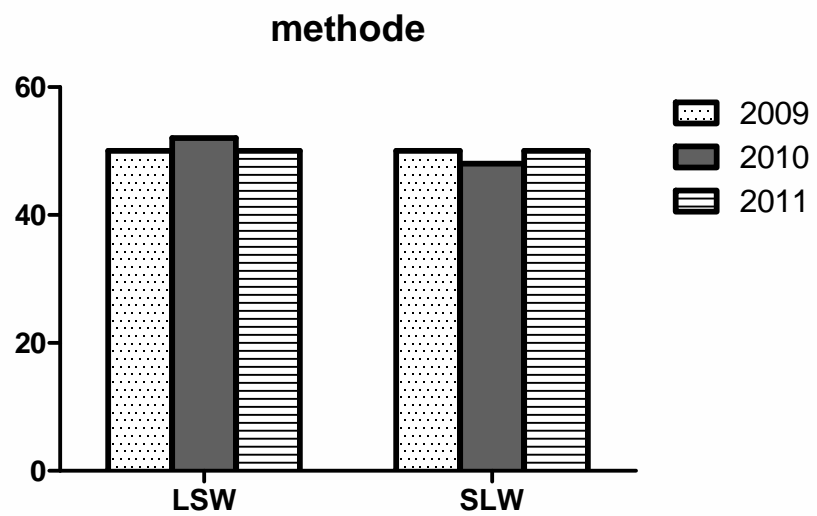
Opmerkingen: (eventueel)

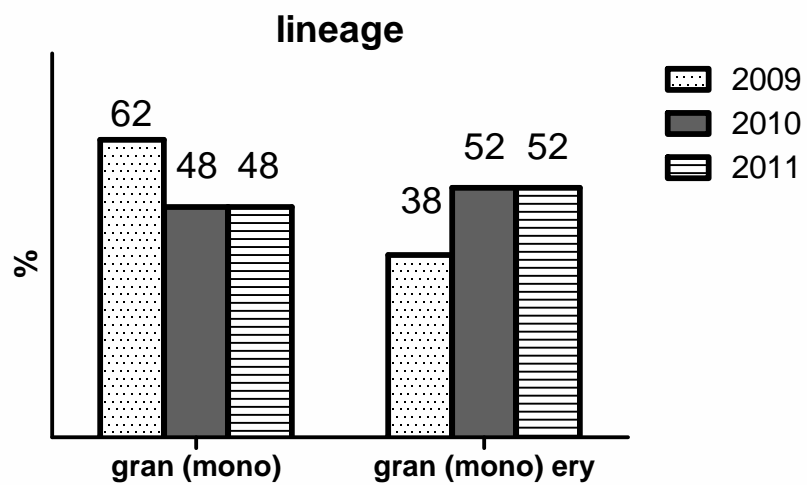
Educatie



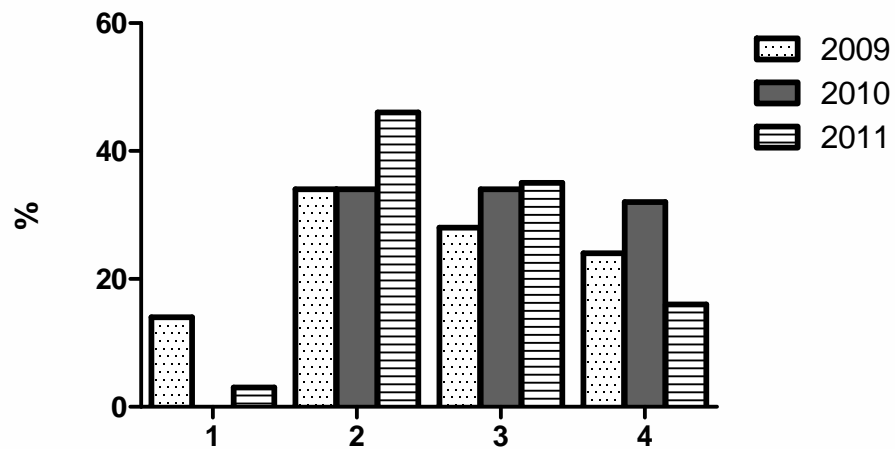
- Najaarsbespreking SKML 2008 Woerden: lezing over “state of the art” PNH diagnostiek en aankondiging PNH EQA.
- Najaarsbespreking SKML 2009 Woerden: bespreking van de drie rondgestuurde monsters.
- Voorjaar 2010 hoofdstuk over PNH diagnostiek in het boek getiteld: Nieuwe ontwikkelingen in de Medische Immunologie.
- Najaars bespreking SKML 2010 Woerden: bespreking van de drie rondgestuurde monsters en lezing door Stephen Richards, een vooraanstaand PNH deskundige uit Engeland.



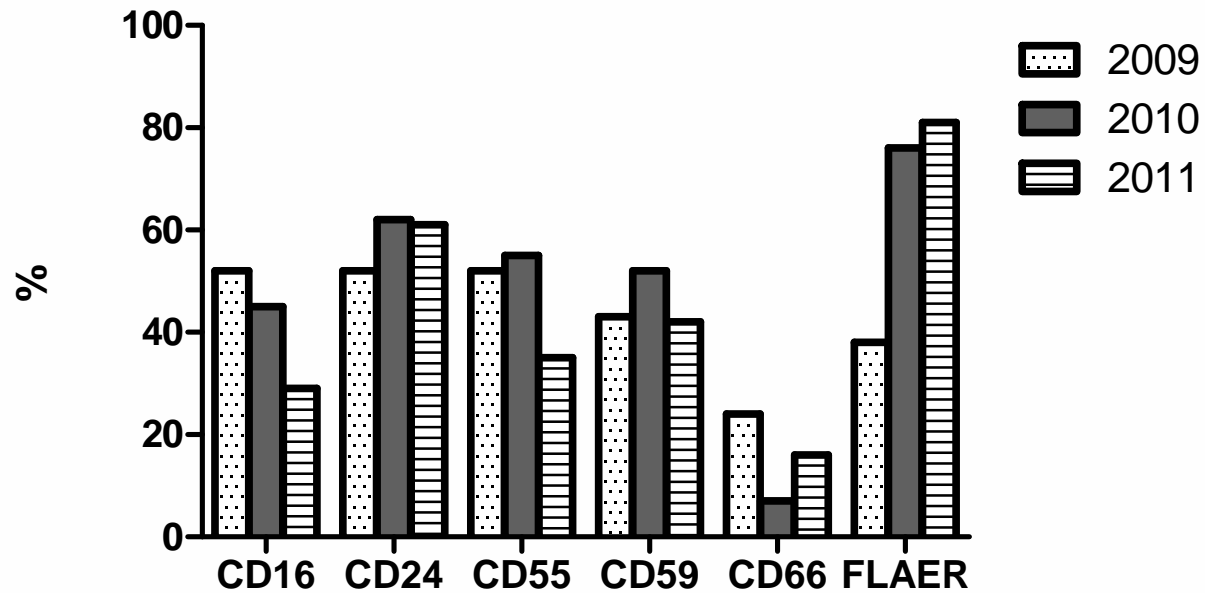




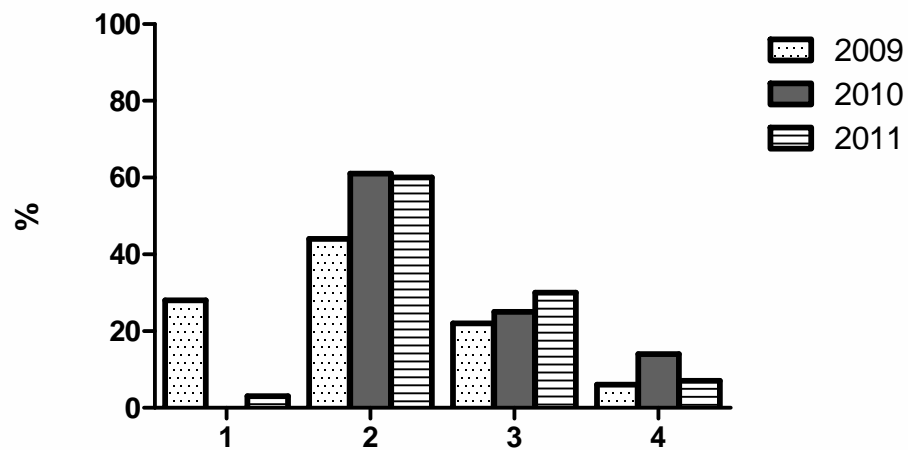
aantal Ab granulocyten



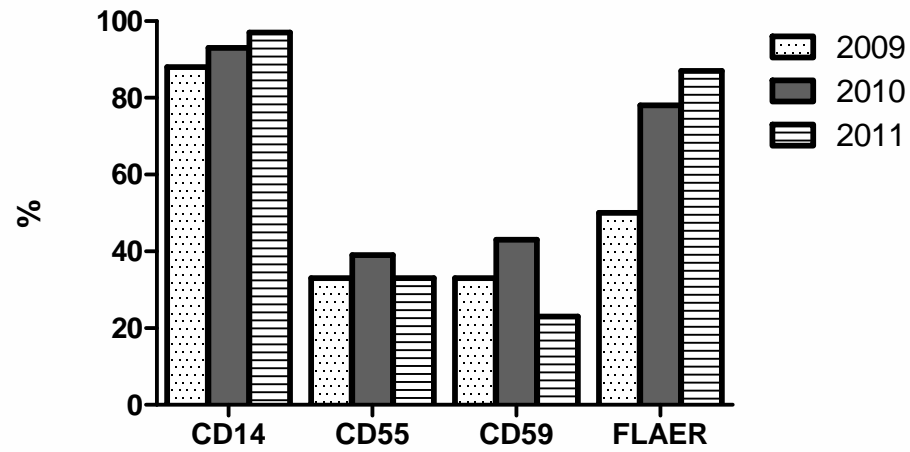
welke Ab granulocyten



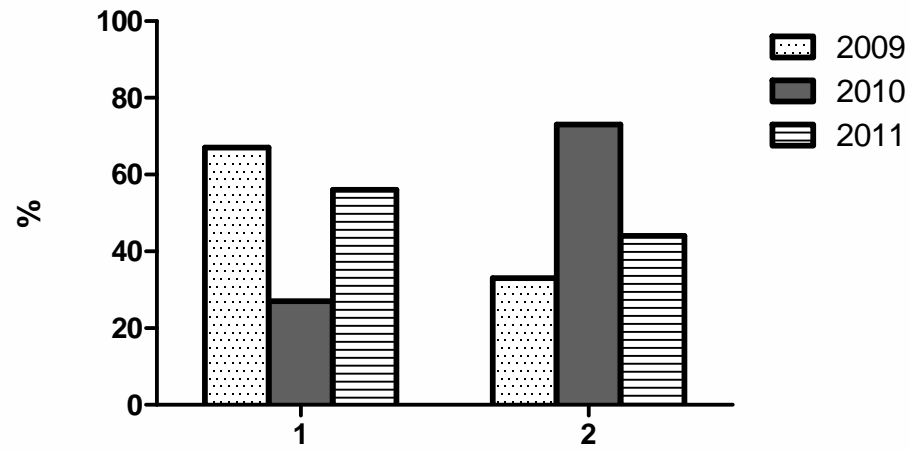
aantal Ab monocyten



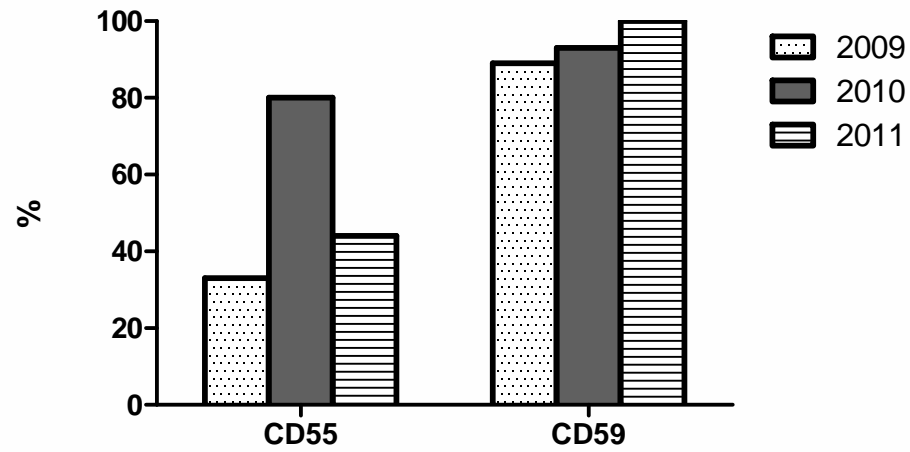
welke Ab monocyten



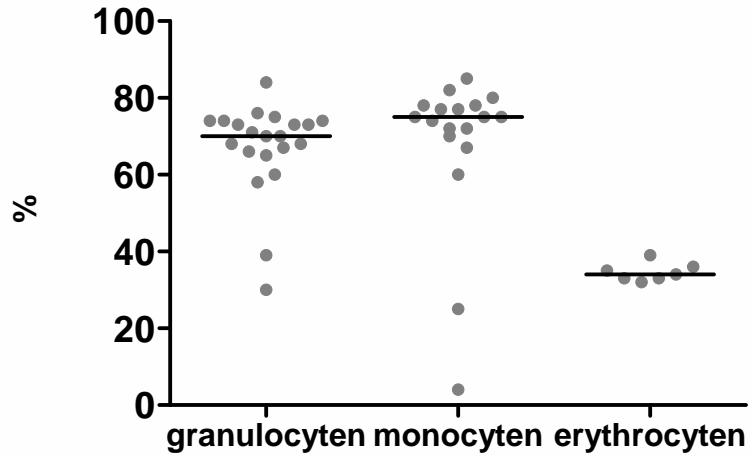
aantal Ab erythrocyten



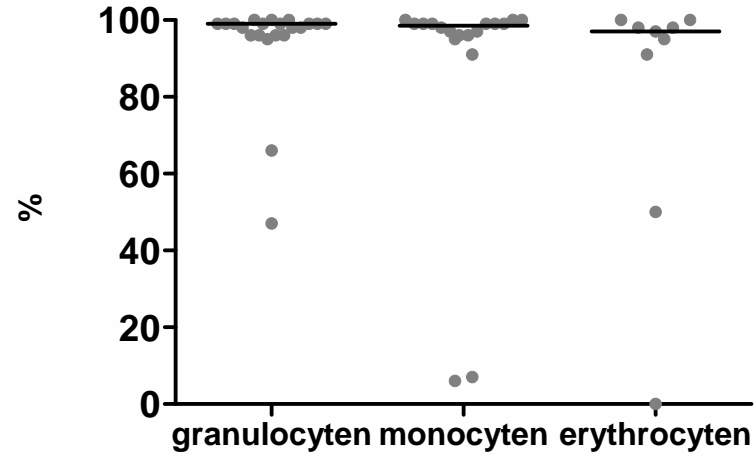
welke Ab erythrocyten



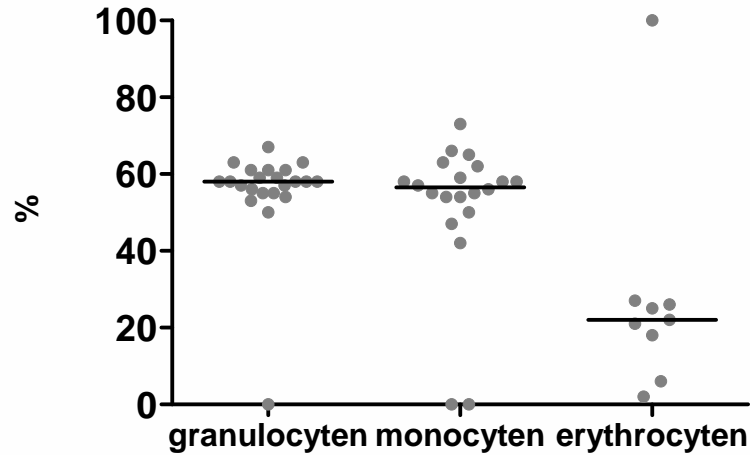
PNH 1-2009



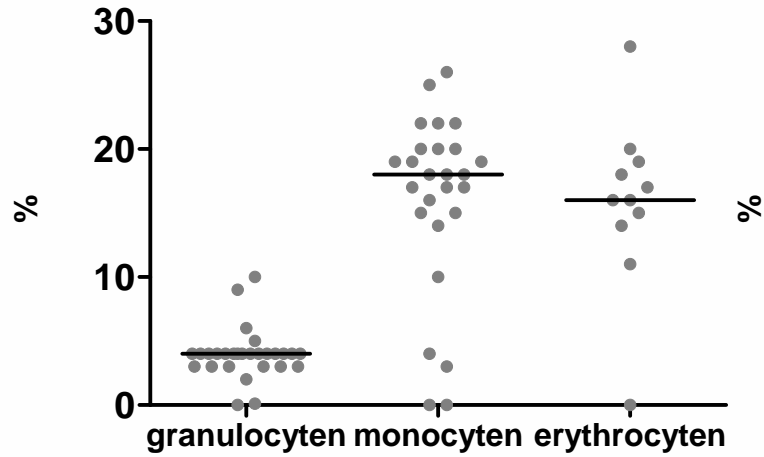
PNH 2-2009



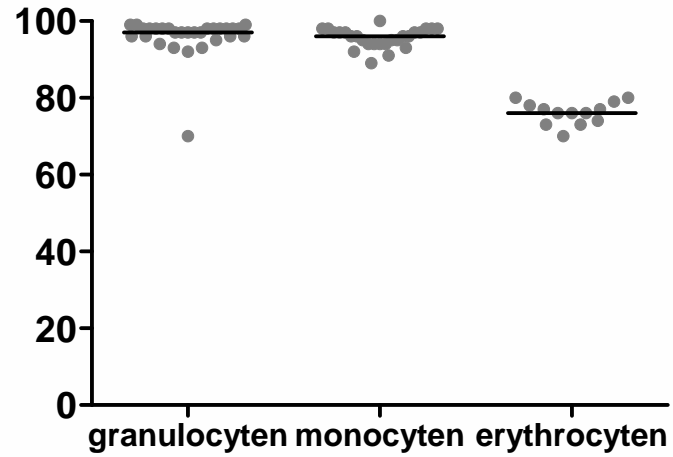
PNH 3-2009



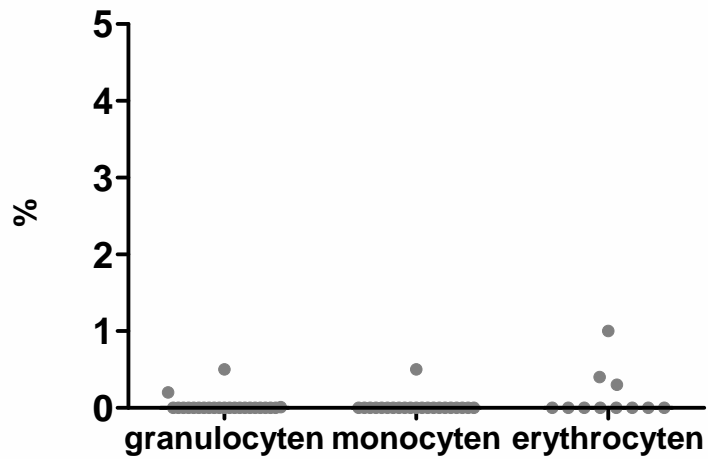
PNH 1-2010



PNH 2-2010



PNH 3-2010



Resultaten



- Geen enkel laboratorium typeert de granulocyten en monocytten met maar één antistof.
- Gebruik van FLAER neemt toe, PNH1 2009: 38 %, PNH1 2011: 81%.
- Steeds vaker worden twee hematopoïetische lijnen getypeerd: granulocyten (evt monocytten) en de erythrocyten.
- Laboratoria gebruiken bij de PNH typering minder antistoffen.

**Kwaliteit van de PNH diagnostiek
in Nederland en België is
toegenomen!**

Toekomst



- Vaststellen richtlijnen:
 1. methode
 2. antilichamen/reagents
 3. fluorochromen
 4. welke populaties
 5. Instrument set-up