

Vaststellen van de expertwaarde bij
flowcytometrische diagnostiek van
lymfomen: van heterogeniteit tot
uniformiteit en vaststellen van
grenzen, samen met alle deelnemers

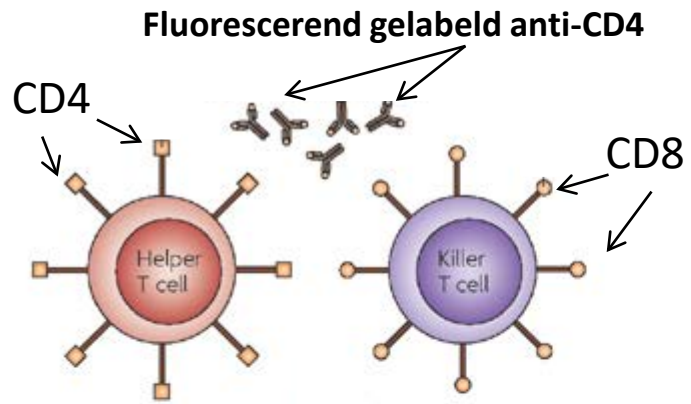


Michel van Gelder, internist-hematoloog, MUMC,
namens “Nomenclatuurcie.” van ICD van SKML

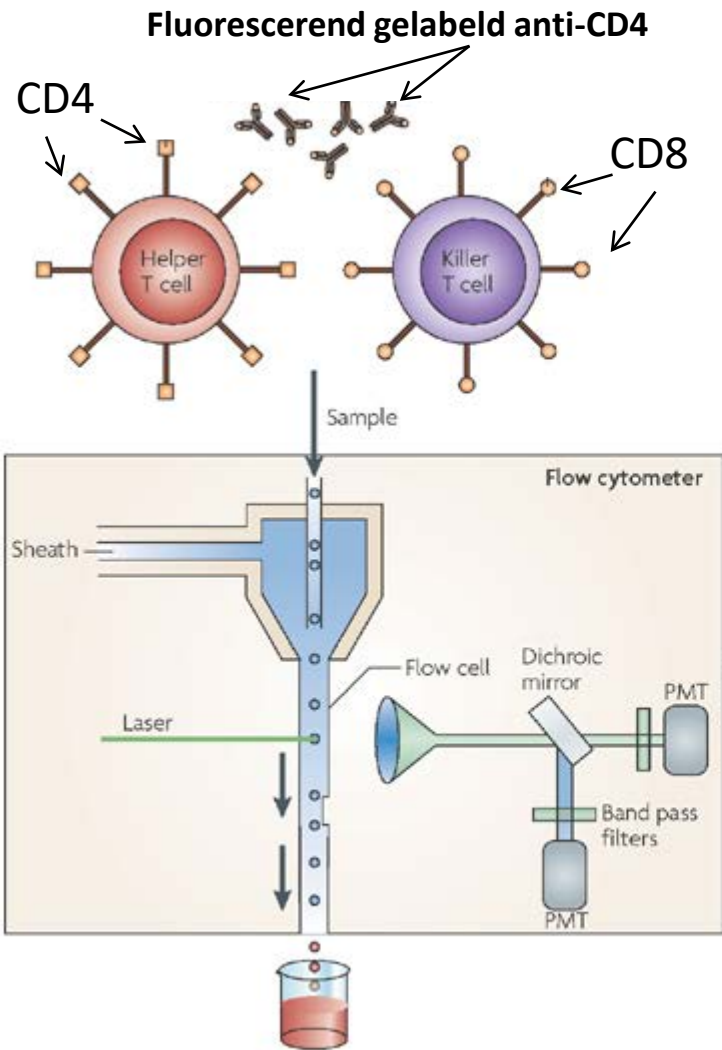
Inhoud

- introductie flowcytometrie
 - = *immuunfenotypering*
- voorbeeld vaststellen expertwaarde
 - inhoudelijk
 - reglementaire werkwijze

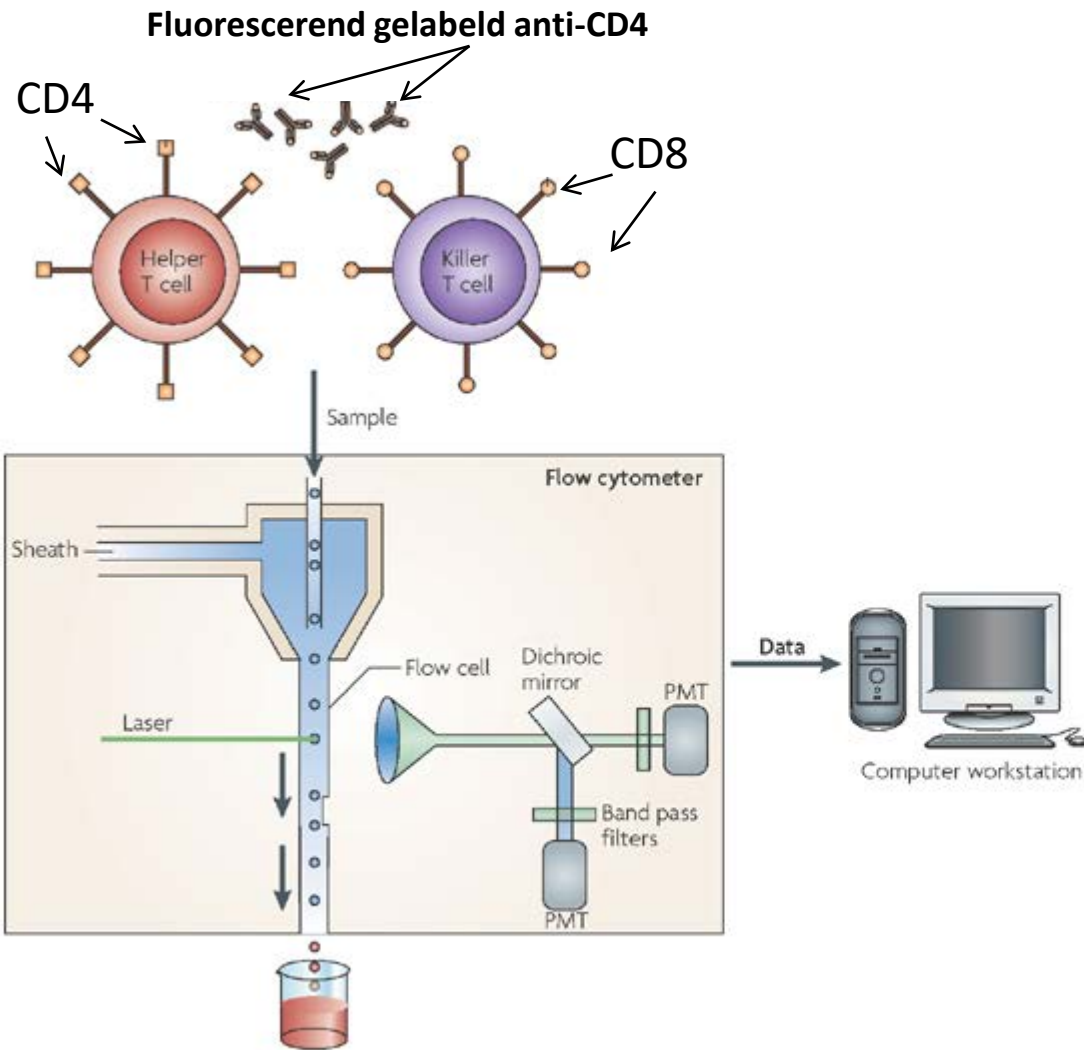
Immuunfenotypering — CD4



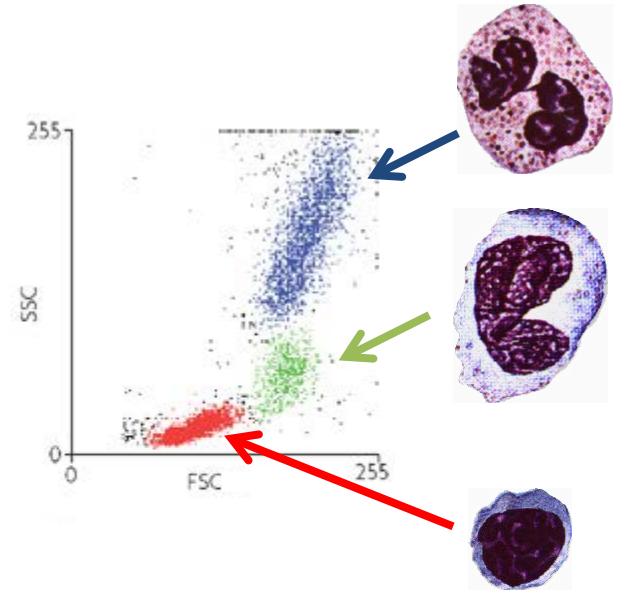
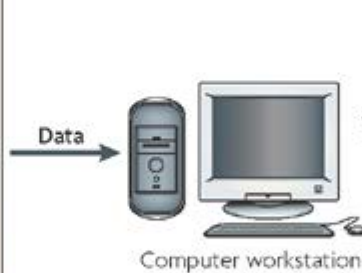
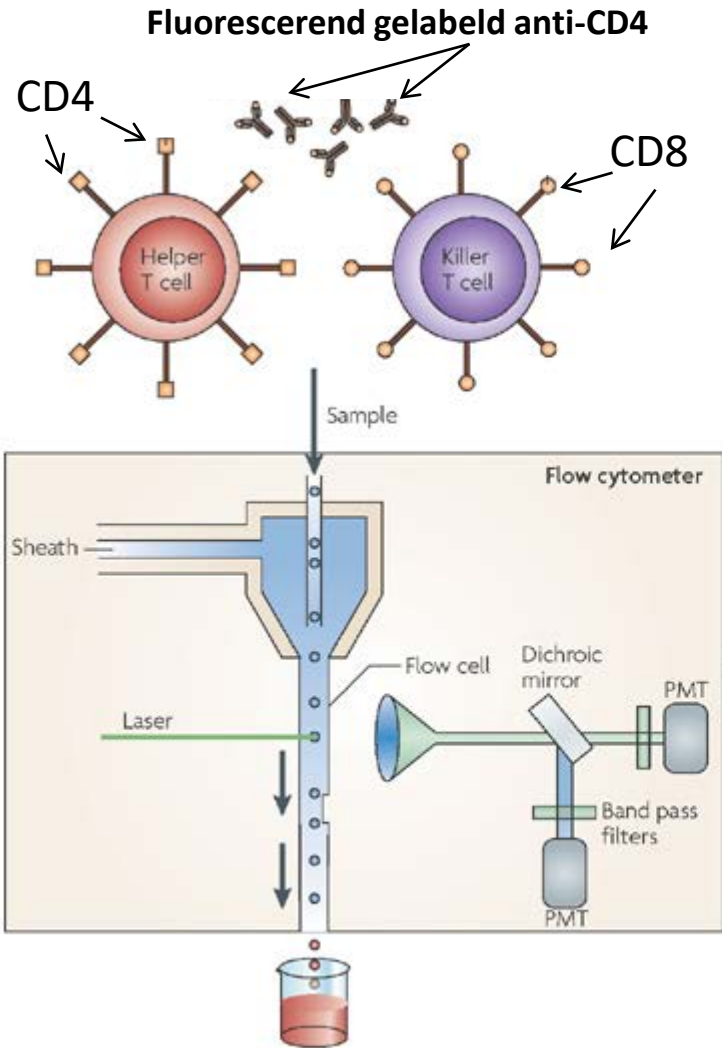
Immuunfenotypering — CD4



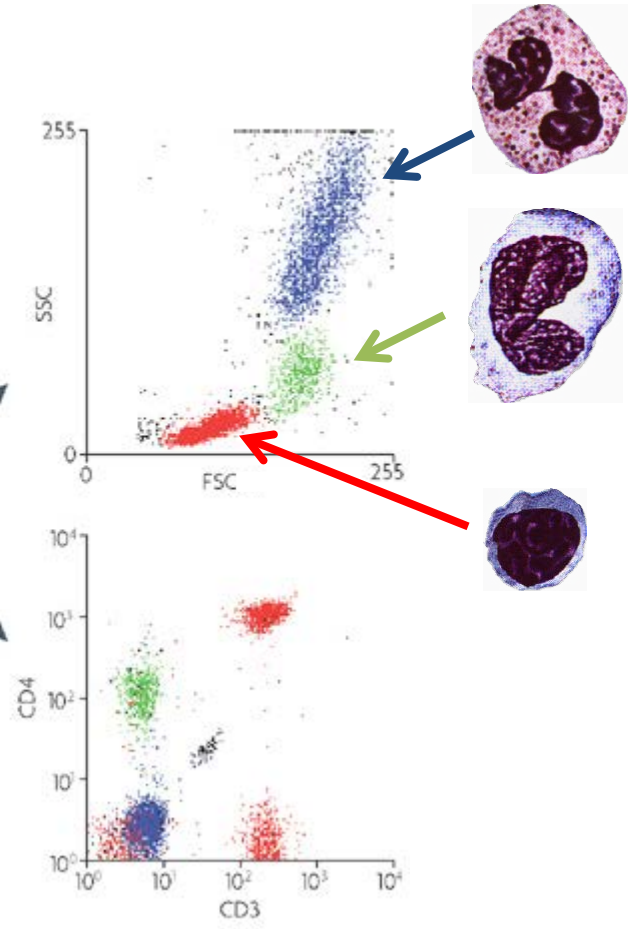
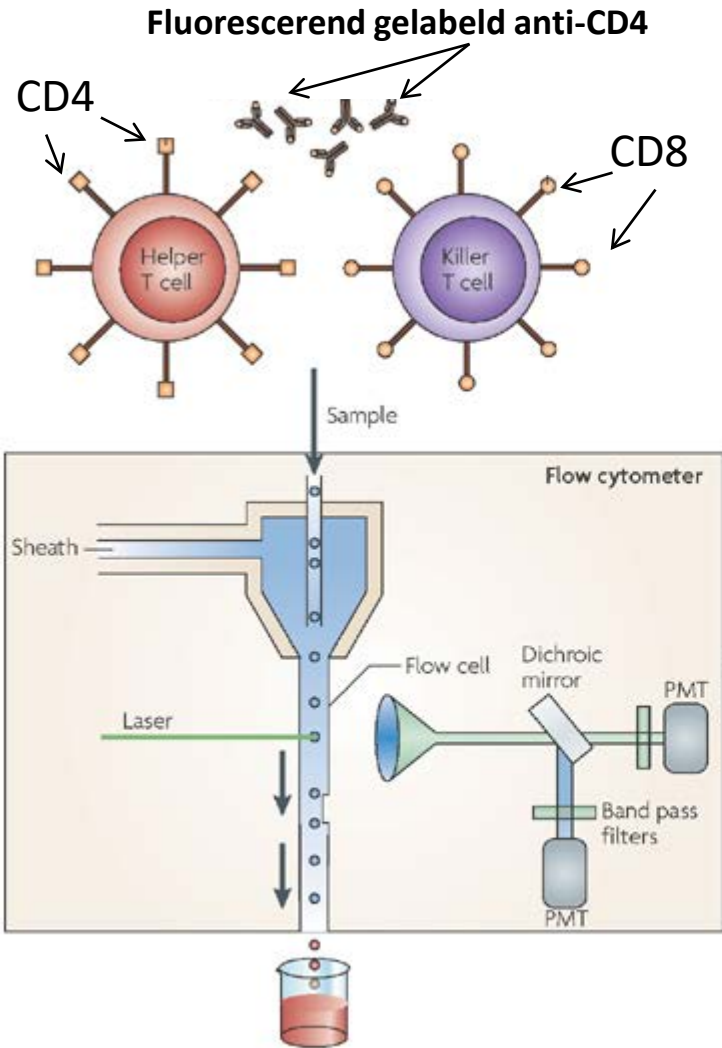
Immuunfenotypering — CD4



Immuunfenotypering — CD4



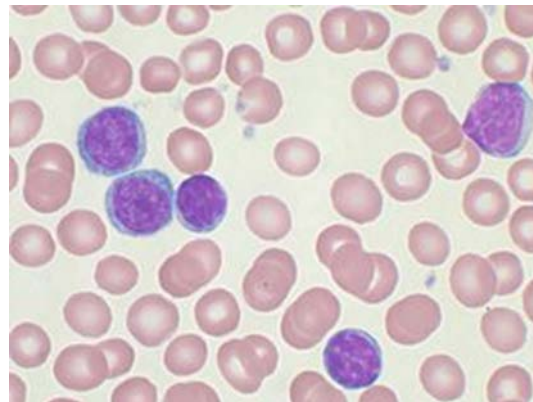
Immuunfenotypering — CD4



Voorbeeld vaststellen expertwaarde bij immunofenotypering

CLL =

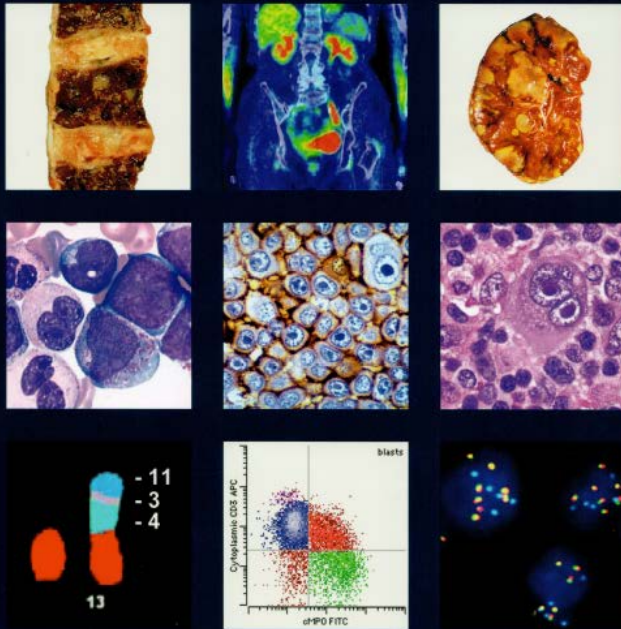
Chronisch lymfatische leukemie



WHO boek en tekst CLL

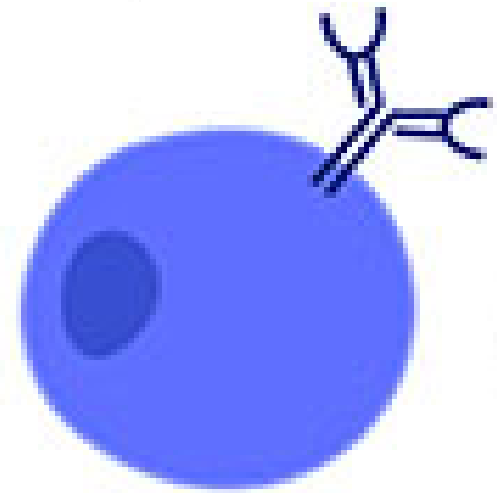
WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues

Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, Daniel A. Arber, Robert P. Hasserjian, Michelle M. Le Beau, Attilio Orazi, Reiner Siebert



WHO

Circulating leukaemic B cells express CD19 and dim surface IgM/IgD, CD20, CD22,

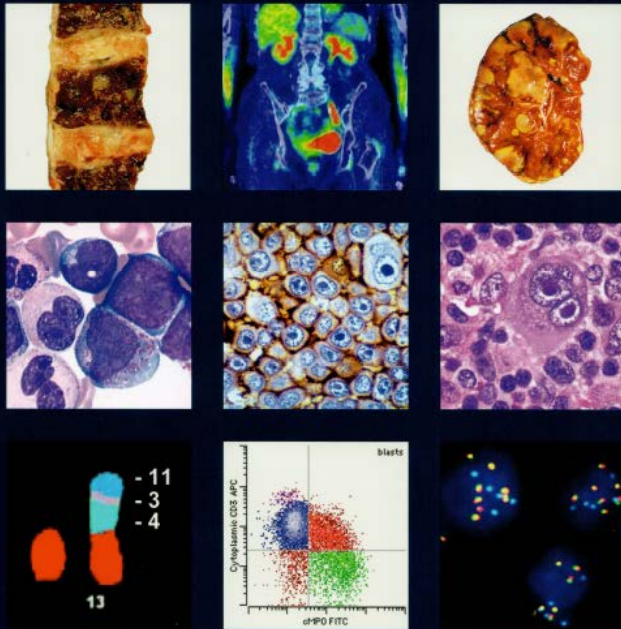


B-Cells

WHO boek en tekst CLL

WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues

Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, Daniel A. Arber, Robert P. Hasserjian, Michelle M. Le Beau, Attilio Orazi, Reiner Siebert

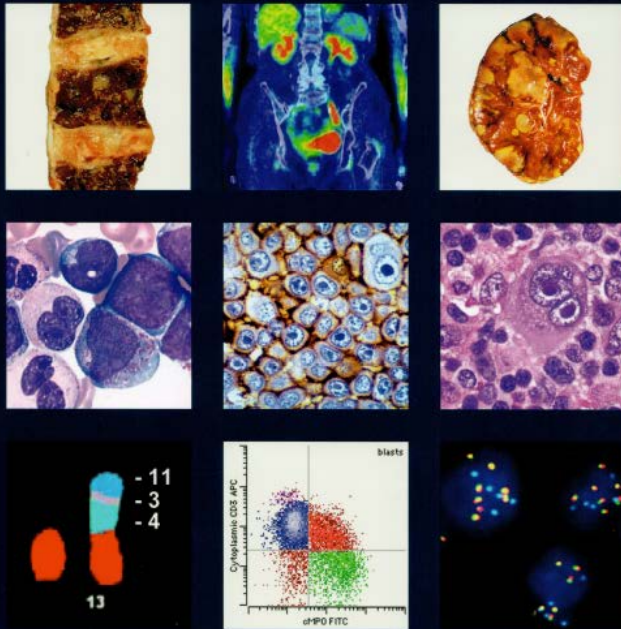


Circulating leukaemic B cells express CD19 and dim surface IgM/IgD, CD20, CD22, They are also positive for CD5 and strongly positive for CD23 and CD200. ... FMC7 is *usually* negative.

WHO boek en tekst CLL

WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues

Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, Daniel A. Arber, Robert P. Hasserjian, Michelle M. Le Beau, Attilio Orazi, Reiner Siebert

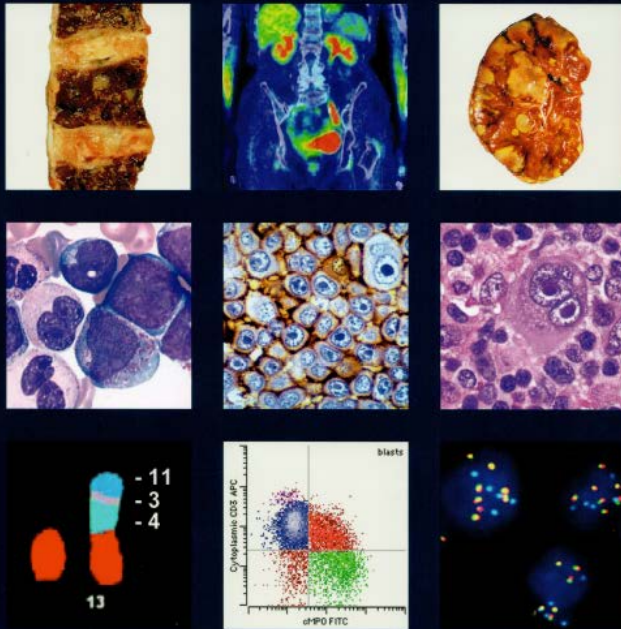


Circulating leukaemic B cells express CD19 and dim surface IgM/IgD, CD20, CD22, They are also positive for CD5 and strongly positive for CD23 and CD200. ... FMC7 is *usually* negative. The immunophenotype of CLL is integrated in a scoring system that helps in the differential diagnosis of CLL and other B cell leukaemias.

WHO boek en tekst CLL

WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues

Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, Daniel A. Arber, Robert P. Hasserjian, Michelle M. Le Beau, Attilio Orazi, Reiner Siebert



WHO

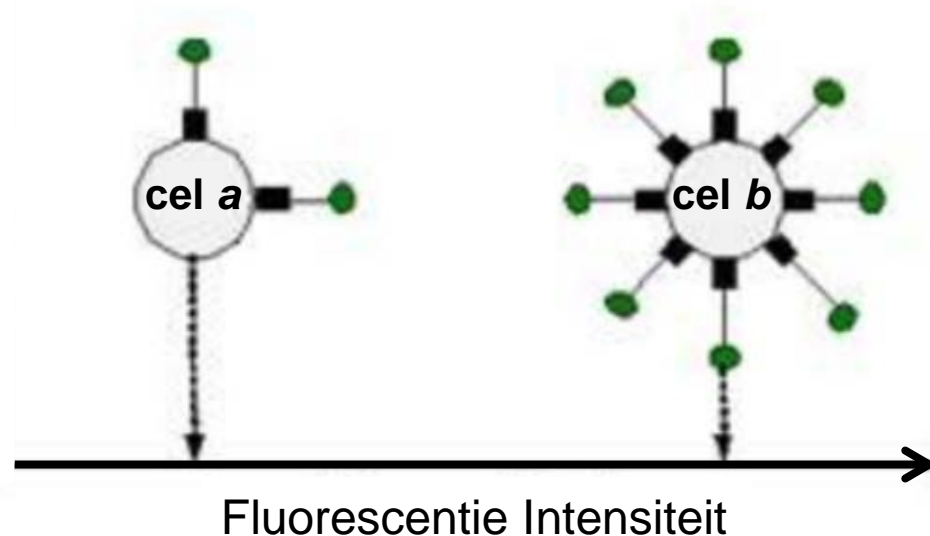
Circulating leukaemic B cells express CD19 and dim surface IgM/IgD, CD20, CD22, They are also positive for CD5 and strongly positive for CD23 and CD200. ... FMC7 is *usually* negative. The immunophenotype of CLL is integrated in a scoring system that helps in the differential diagnosis of CLL and other B cell leukaemias.

Scoring system:

CD5	positive
CD22	weak or negative
CD23	positive
FMC7	negative
surface light chain	weak

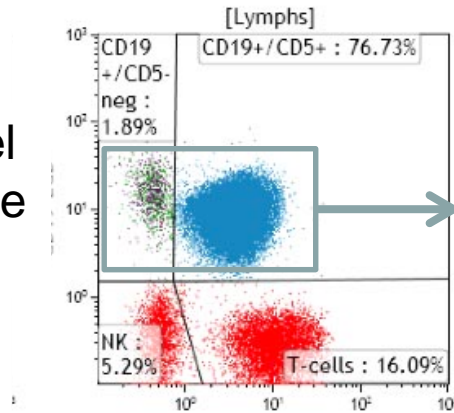
“sterkte-zwakte analyse”

● Fluorescerende Antistof
■ Antigeen



Chronisch Lymfatische Leukemie

CD19 B cel
definiërende
merker

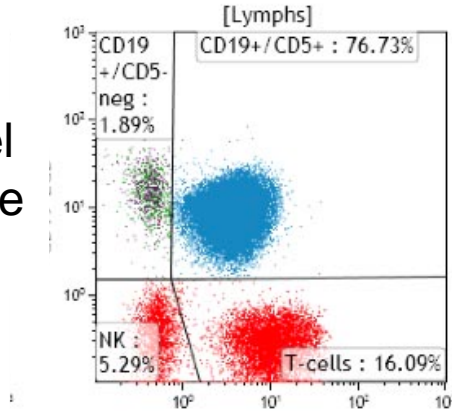


op B cellen focussen via “gating”

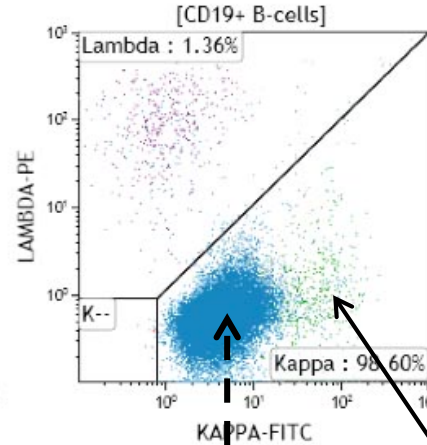
CD5 = T cel merker

Chronisch Lymfatische Leukemie

CD19 B cel
definiërende
merker



CD5 = T cel merker



Kappa &
Lambda

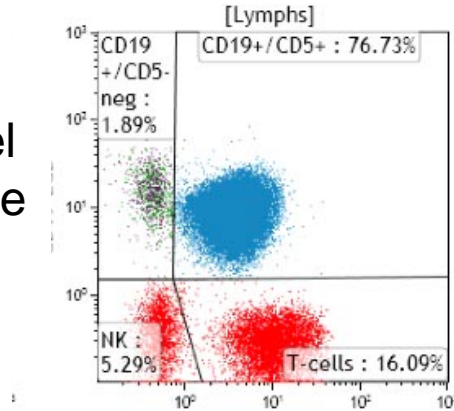
= lichte ketens van
immuunglobuline

zwak

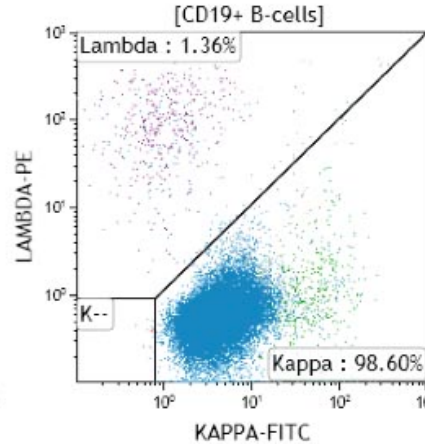
sterk

Chronisch Lymfatische Leukemie

CD19 B cel
definiërende
merker



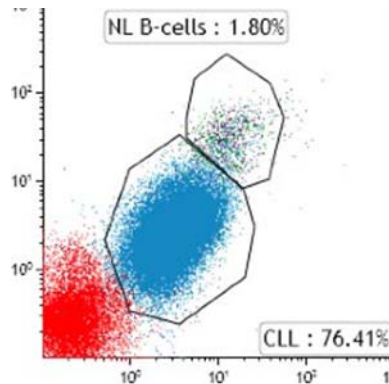
CD5 = T cel merker



Kappa &
Lambda

= lichte ketens van
immuunglobuline

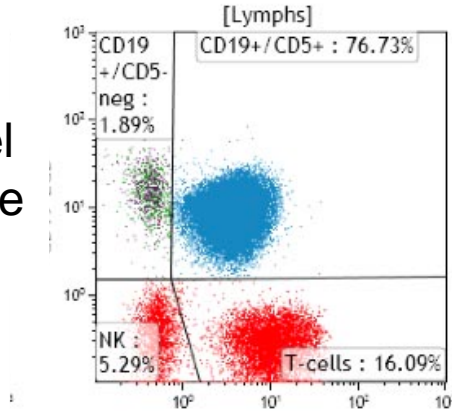
CD20 B cel
definiërende
merker



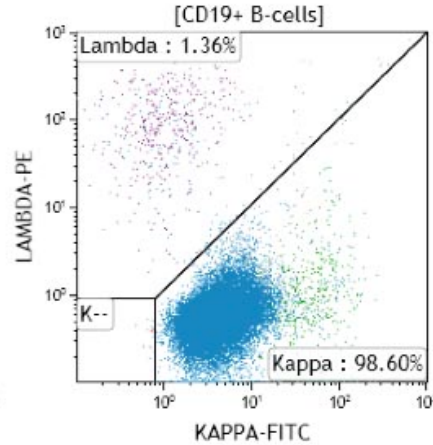
CD22 B cel
definiërende merker

Chronisch Lymfatische Leukemie

CD19 B cel
definiërende
merker



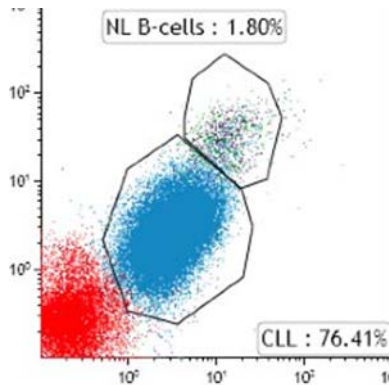
CD5 = T cel merker



Kappa &
Lambda

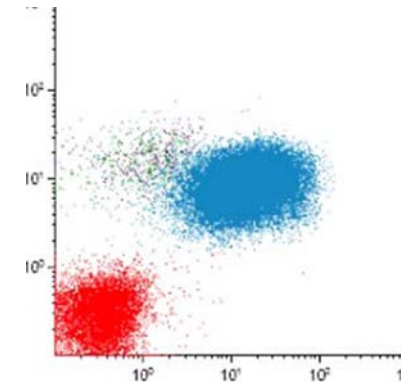
= lichte ketens van
immuunglobuline

CD20 B cel
definiërende
merker



CD22 B cel
definiërende merker

CD19 B cel
definiërende
merker

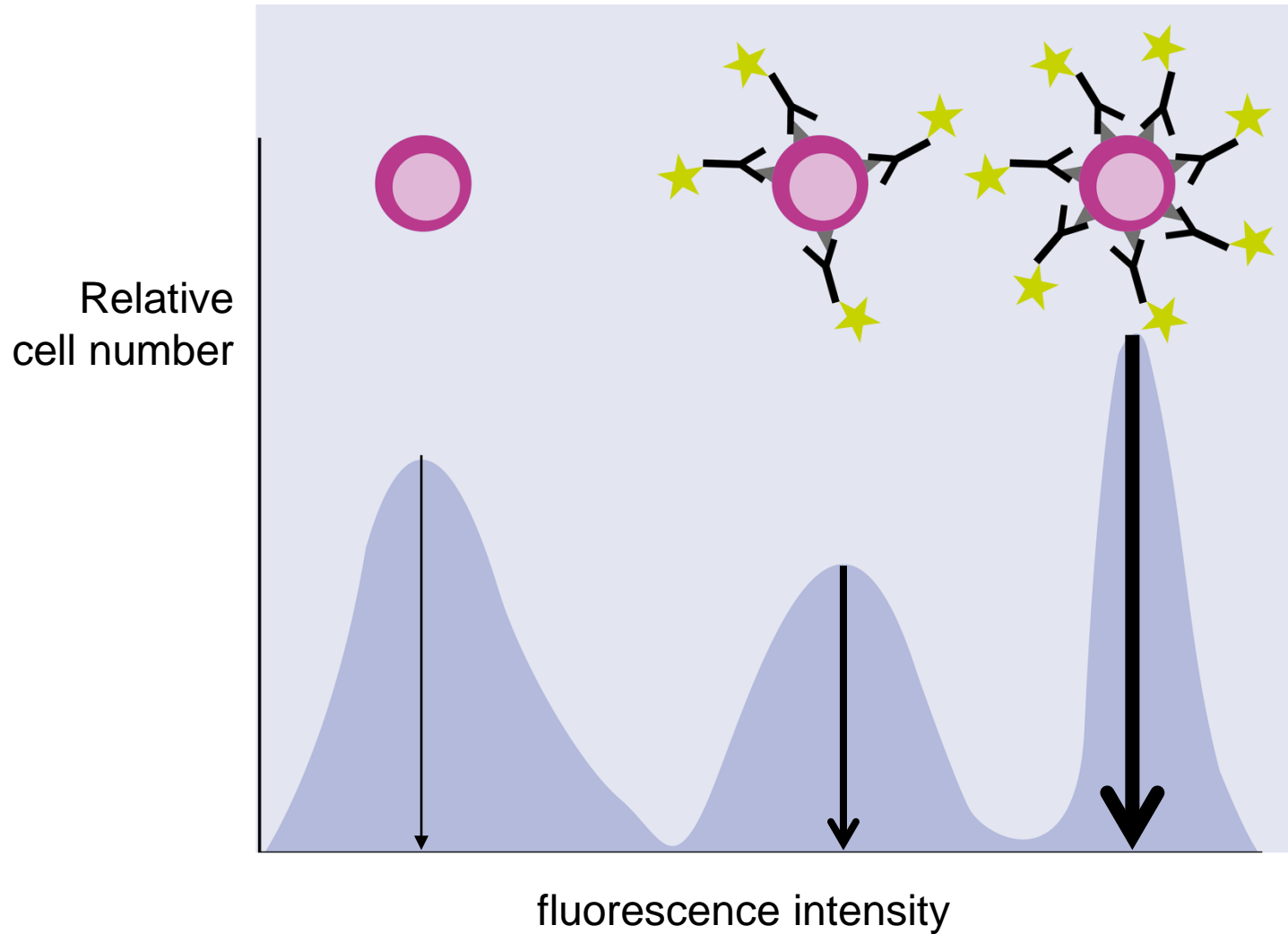


CD23 =
aberrante
merker

Negatief, Positief & Sterkte

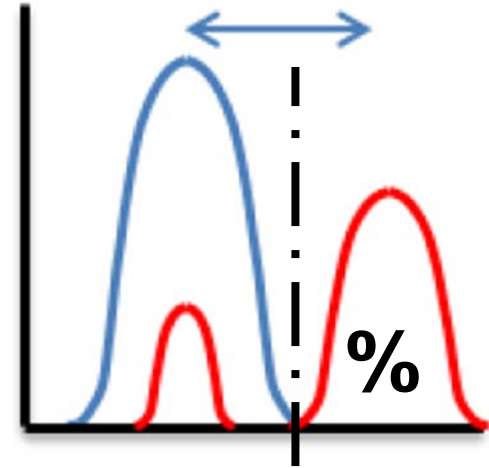
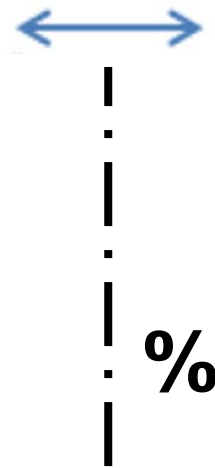
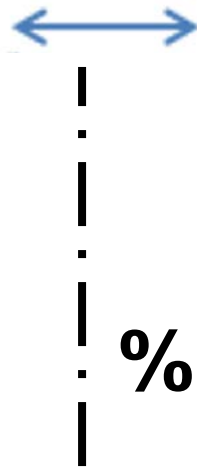
- Parameter
 - mean fluorescence intensity

MFI (mean fluorescence intensity)



Negatief, Positief & Sterkte

- Parameter
 - mean fluorescence intensity
 - **afspraken bij niet-normale verdeling**

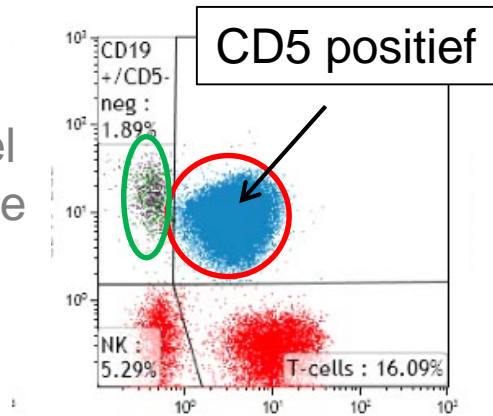


Negatief, Positief & Sterkte

- Parameter
 - mean fluorescence intensity
 - afspraken bij niet-normale verdeling
- Negatief & Positief
 - t.o.v. ***NEGATIEVE CONTROLE***
 - kwantificering
- Sterkte positiviteit
 - t.o.v. ***POSITIEVE CONTROLE***
 - kwantificering

Chronisch Lymfatische leukemie

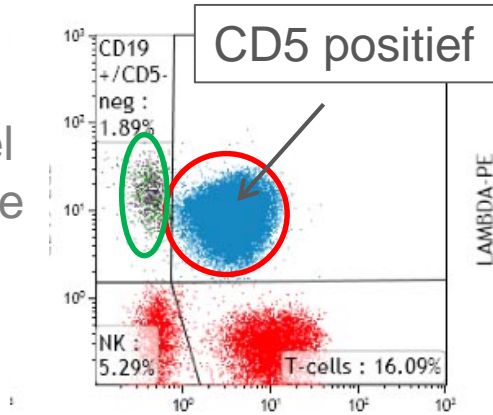
CD19 B cel
definiërende
merker



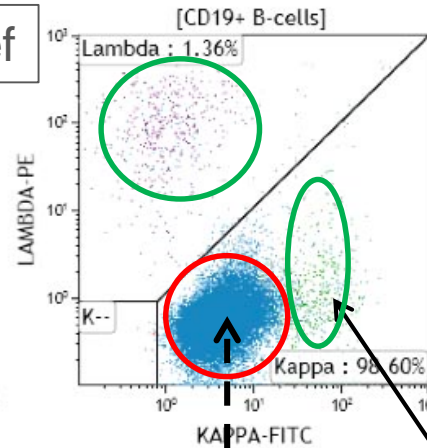
CD5 = T cel merker

Chronisch Lymfatische Leukemie

CD19 B cel
definiërende
merker



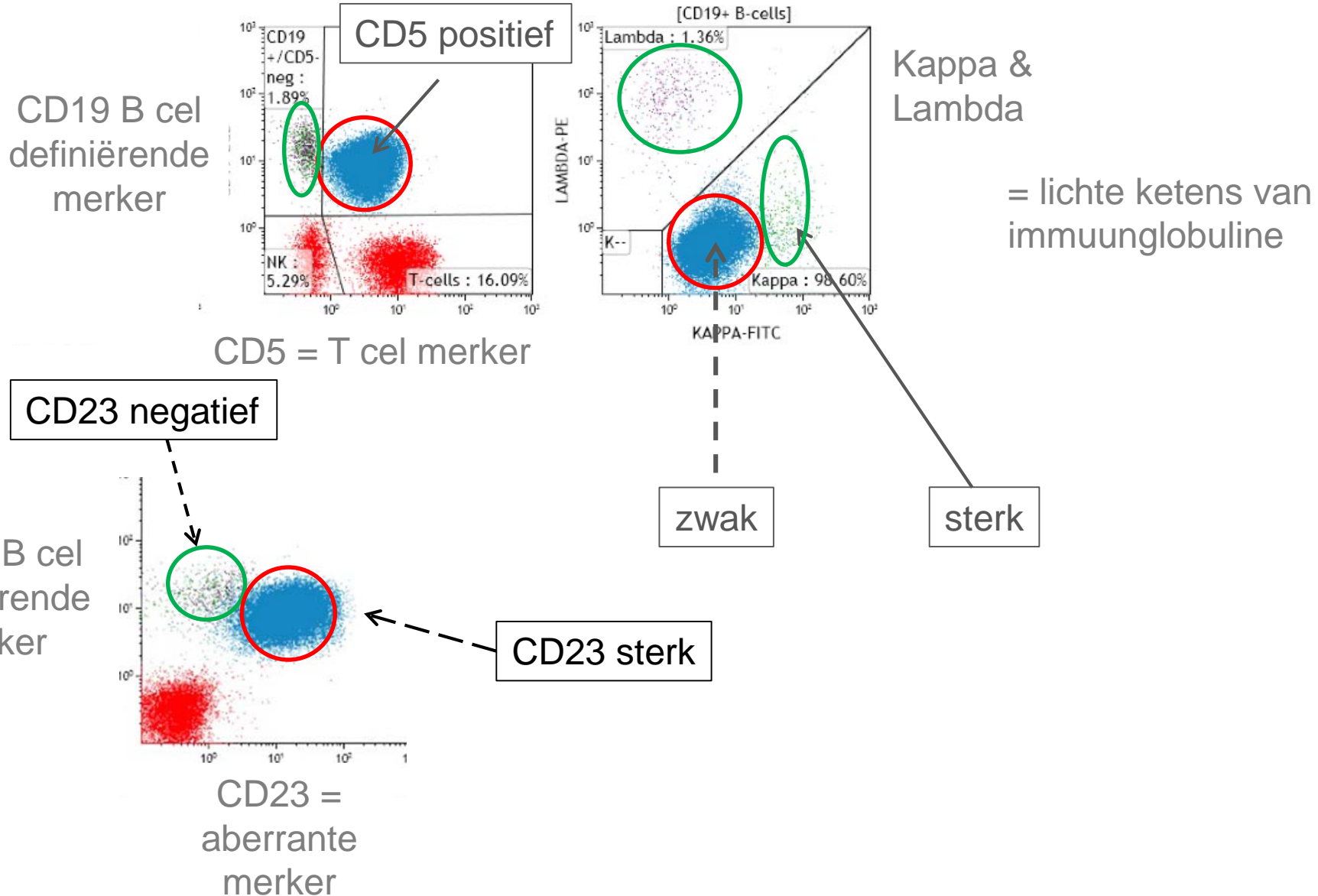
CD5 = T cel merker



zwak

sterk

Chronisch Lymfatische Leukemie



Expertwaarde IFT lymfoom/leukemie

- Sommige merkerpatronen wijzen onmiskenbaar op een ziekte
- Soms passen meerdere merkerpatronen bij een ziekte
- Soms kunnen merkerpatronen passen bij meerdere ziektes
- Soms is een ziekte niet alleen met IFT vast te stellen
 - onderscheid van normaal onmogelijk
 - andersoortige diagnostiek nodig

Huidige situatie

- voor elke ziekte is er een set van “verplichte” merkers
 - o.b.v. WHO diagnoseboek

Discussie ontstaat vanwege

- de soms vage beschrijvingen
- de meerdere mogelijke merkerpatronen
- soms de onmogelijkheid *ziek* van *normaal* te onderscheiden
- de wens toch een diagnose te suggereren ...

rijp B-cel	
CD45	(lymfocyten)
CD5	(T-cel)
CD10	
CD19	(B-cel)
CD20	(B-cel)
CD23	
CD38	
CD103	
Smlgkappa	(B-cel)
Smlglambda	(B-cel)
Alleen bij HCL: CD25	
Alleen bij HCL: CD11c	
<i>additioneel:</i>	
FMC7	(B-cel)
CD22	(B-cel)
CD79b	
CD43	

Rood gemerkte markers: indien de marker niet negatief is, dient altijd de afwijkende mate van expressie t.o.v de tussenhaakjes vermelde referentie populatie gerapporteerd te worden

Work in Progress

- Vernieuwde versie WHO diagnoseboek
 - Vaststellen welke merkerpatronen
 - diagnostisch zijn
 - zouden kunnen passen bij een ziekte
- en
- welke diagnoses niet met IFT alleen zijn te stellen

Work in Progress — the case CLL

patroon	CD45	CD19	CD5 t.o.v. polyklonale B cellen	CD23 (t.o.v. T cellen)	CD20 (t.o.v. T-cellen en polyklonale B cellen)	κ / λ (t.o.v. polyklonale B cellen)	CD200
1	pos.	pos.	$\geq 30x$	$\geq 5x$	$\geq 10x$ & zwak	zwak	n.v.t.

volgens Rawstron et al., Cytometry Part B (Clinical Cytometry 2018; 94B: 121-128),



als kwaliteit verhogende implementatie van een door de WHO gepropageerde oude **vage** score

Work in Progress — the case CLL

patroon	CD45	CD19	CD5 t.o.v. polyklonale B cellen	CD23 (t.o.v. T cellen)	CD20 (t.o.v. T-cellen en polyklonale B cellen)	κ / λ (t.o.v. polyklonale B cellen)	CD200
1	pos.	pos.	$\geq 30x$	$\geq 5x$	$\geq 10x$ & zwak	zwak	n.v.t.
2	pos.	pos.	<30x	$\geq 5x$	$\geq 10x$ & zwak	zwak	+++
3	pos.	pos.	$\geq 30x$	<5x	$\geq 10x$ & zwak	zwak	+++
4	pos.	pos.	$\geq 30x$	$\geq 5x$	<10x e/o niet zwak	zwak	+++
5	pos.	pos.	$\geq 30x$	$\geq 5x$	$\geq 10x$ & zwak	niet zwak	+++

volgens Rawstron et al., Cytometry Part B (Clinical Cytometry 2018; 94B: 121-128),



als kwaliteit verhogende implementatie van een door de WHO gepropageerde oude **vage** score

de reglementaire werkwijze

- sectie ICD = *I*mmunologische **C**el *D*iagnostiek
- “Nomenclatuurcommissie”
 - werkgroep binnen de sectie ICD
 - ingesteld door bestuur van de sectie ICD
 - ≥ 6 leden met IFT ervaring van leukemiën/lymfomen
 - ≥ 2 uit academische labs
 - ≥ 1 uit algemeen ziekenhuis lab
 - ≥ 1 uit Belgisch ziekenhuis lab
 - ≥ 1 medicus met ruime ervaring op dit gebied



de reglementaire werkwijze

- “Nomenclatuurcommissie”
 - beschouwt nieuwe WHO diagnoseboek
 - maakt voorstellen voor diagnostische merkerpatronen
 - legt dit voor aan de
 - deelnemers aan de Kwaliteits-rondzendingen
 - NVC*
 - na hoor en wederhoor worden ze vastgesteld

Precisiediagnostiek

- Precisie waar het moet en ook mogelijk is
- Minder precies waar precisie niet echt nodig is?
 - waarom vasthouden aan oude classificaties
 - zonder klinische relevantie
 - verliezen we dan relevante “expertise”

Dank voor de aandacht!

