

Resultaten lymfocyten subsets BAL 2017-2 en 2018-1



22 november 2018

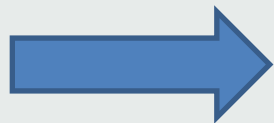
Harrie Eidhof

Lab Medlon Enschede



Doel BAL-QS

- Toetsen van de vergelijkbaarheid met andere laboratoria (ref. waarden)
- Aantonen van de kwaliteit van de testen en gebruikte technieken t.b.v. audit/ certificering



Doe ik het (nog) wel goed?

=> lering van conclusies / ervaring Fe-kleuring BAL

Vanaf 2000 begonnen pilot 10 deelnemers => 44

BAL onderzoek

- Longklachten en interst. longbeeld (foto)
- Rechter middenkwab gespoeld.
- Lavage vloeistof: analyse van cellen en fenotypering lymfocyten.

Rö- foto's longen



Werkwijze BAL-QS

- Cytospins van het vers gefiltreerd materiaal.
- BAL-cellen z.s.m. bewerkt ter stabilisatie
- Test op juistheid IFT
- Test op homogeniteit v.d. monsters
- Rondzending gebeurt via de post bij KT

BAL rondzending: 2017-2

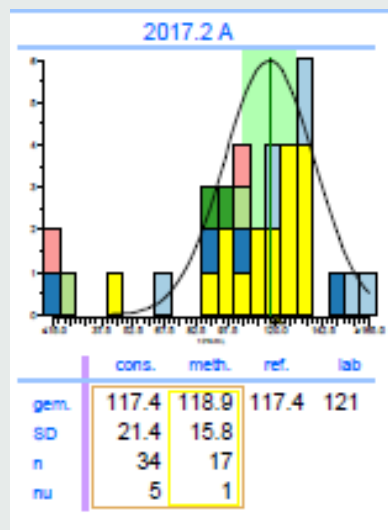
- Materiaal: man (20) vlekkerige consolidaties bdz.
- Vraagstelling: Sarcoidose, vasculitiden, eosinofiele pneumonie,
- Perifeer: geen gegevens

BAL 2017-2

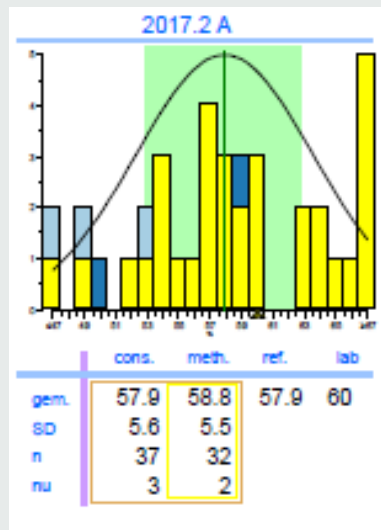
- Dieren: hond
- Medicatie: geen
- Vraagstelling: Sarcoidose, vasculitiden, eosinofiele pneumonie in BAL aantoonbaar?
- Lavage:
 - Hoeveelheid BAL vlst in: 150 ml en uit 135 ml
 - BAL: leuko 70*10E4/ml en ery: 1,67 *10E9/L

Resultaten 2017-2

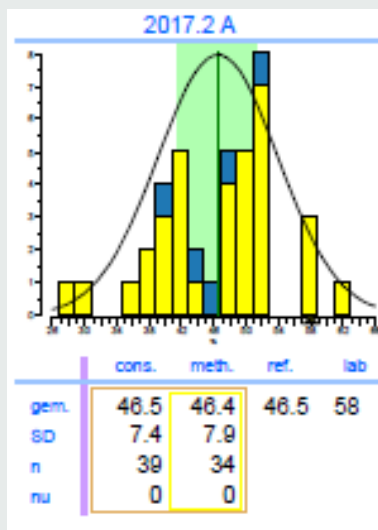
Celtelling



Lymfo flow



Lymfo micr

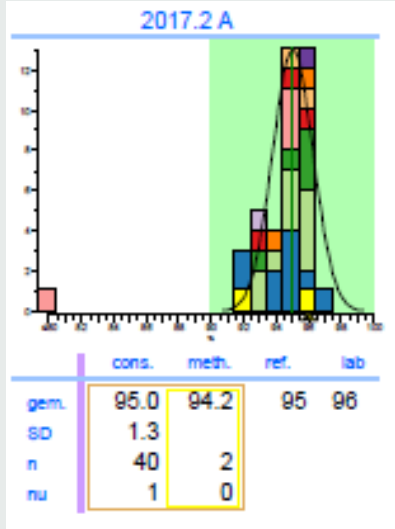


- Celtelling: 5 uitbijters
- Ly: sig verschil

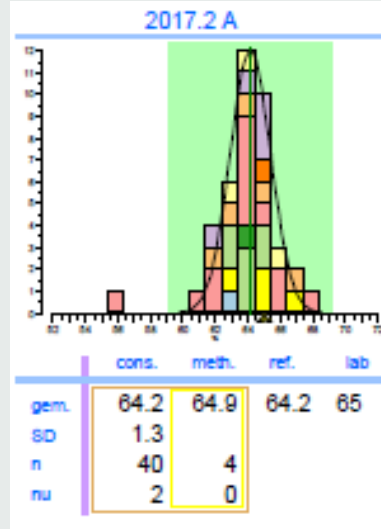
=>Aandacht celtelling.

- Niet vitaal
- Body fluid
- Flow met beads????

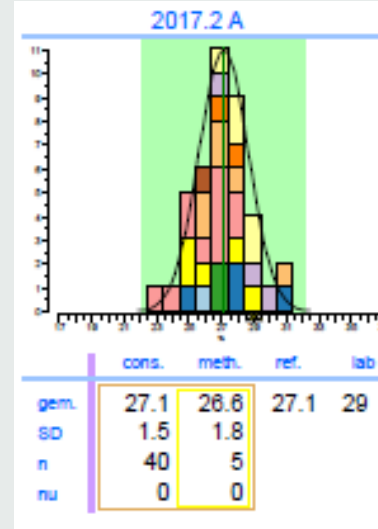
CD3+ ly



CD3+4+



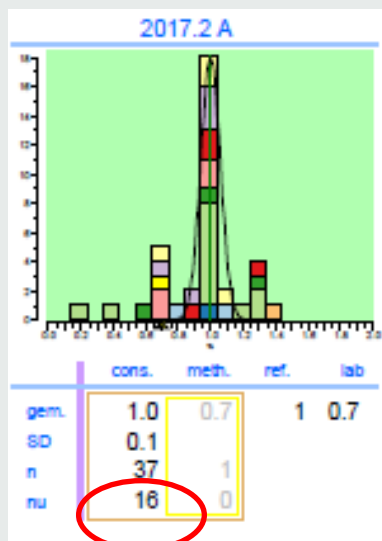
CD3+8+



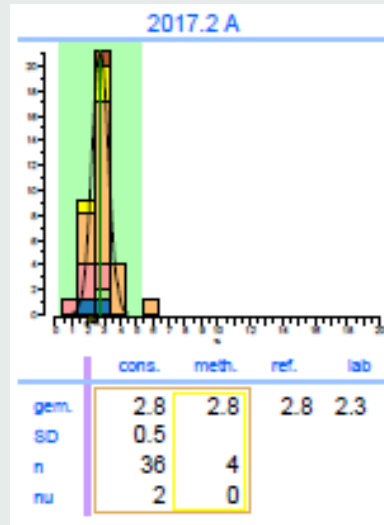
MEDLON
MEDISCHE DIAGNOSTIEK

- CD19+ *nu*
- CD103+

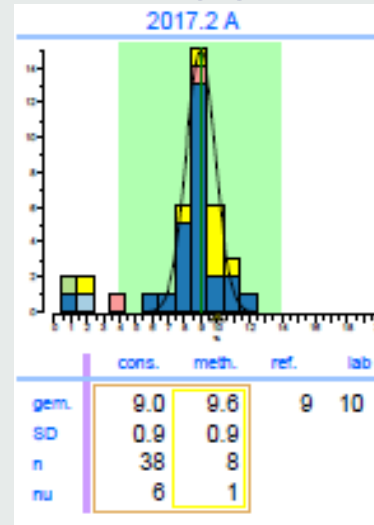
CD19+



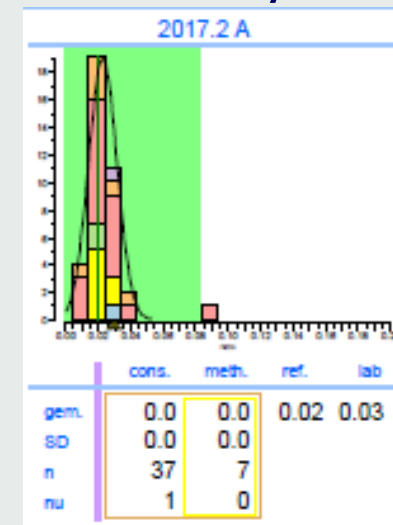
CD3- NK



CD103+



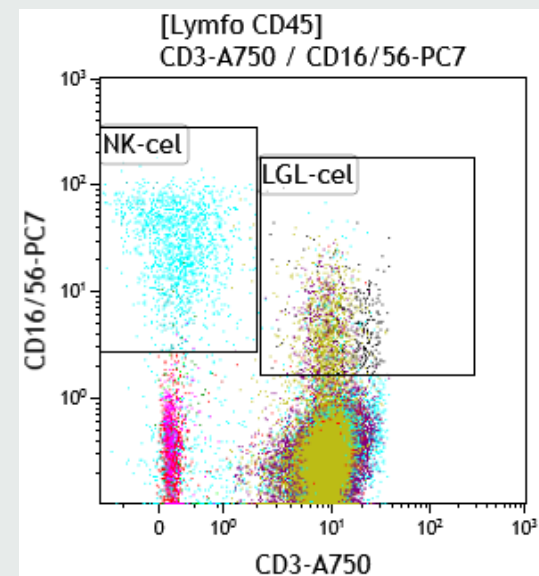
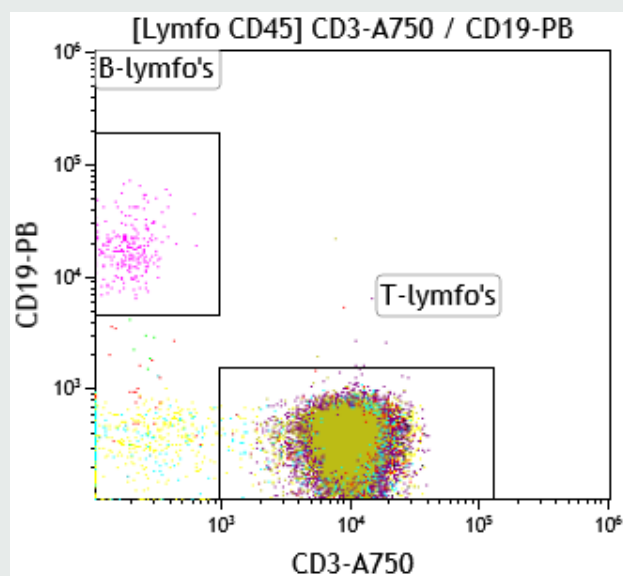
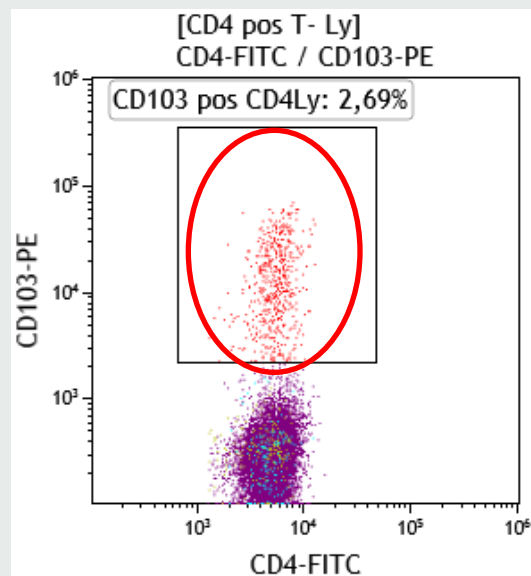
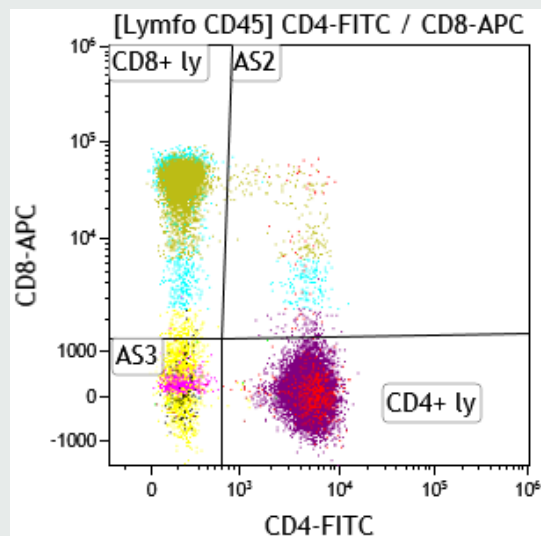
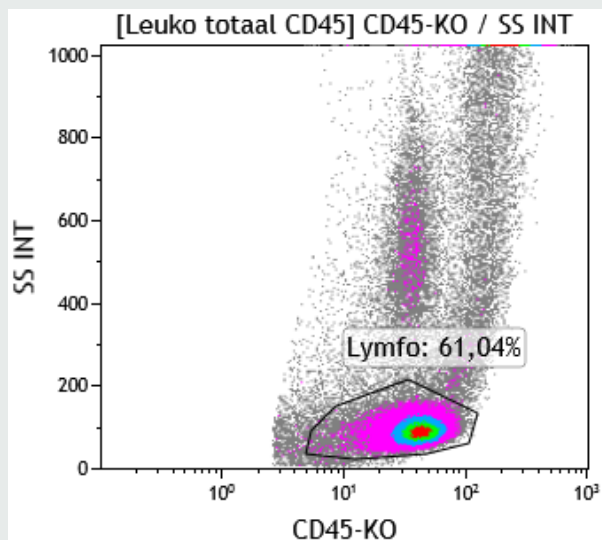
CD103+/CD4+



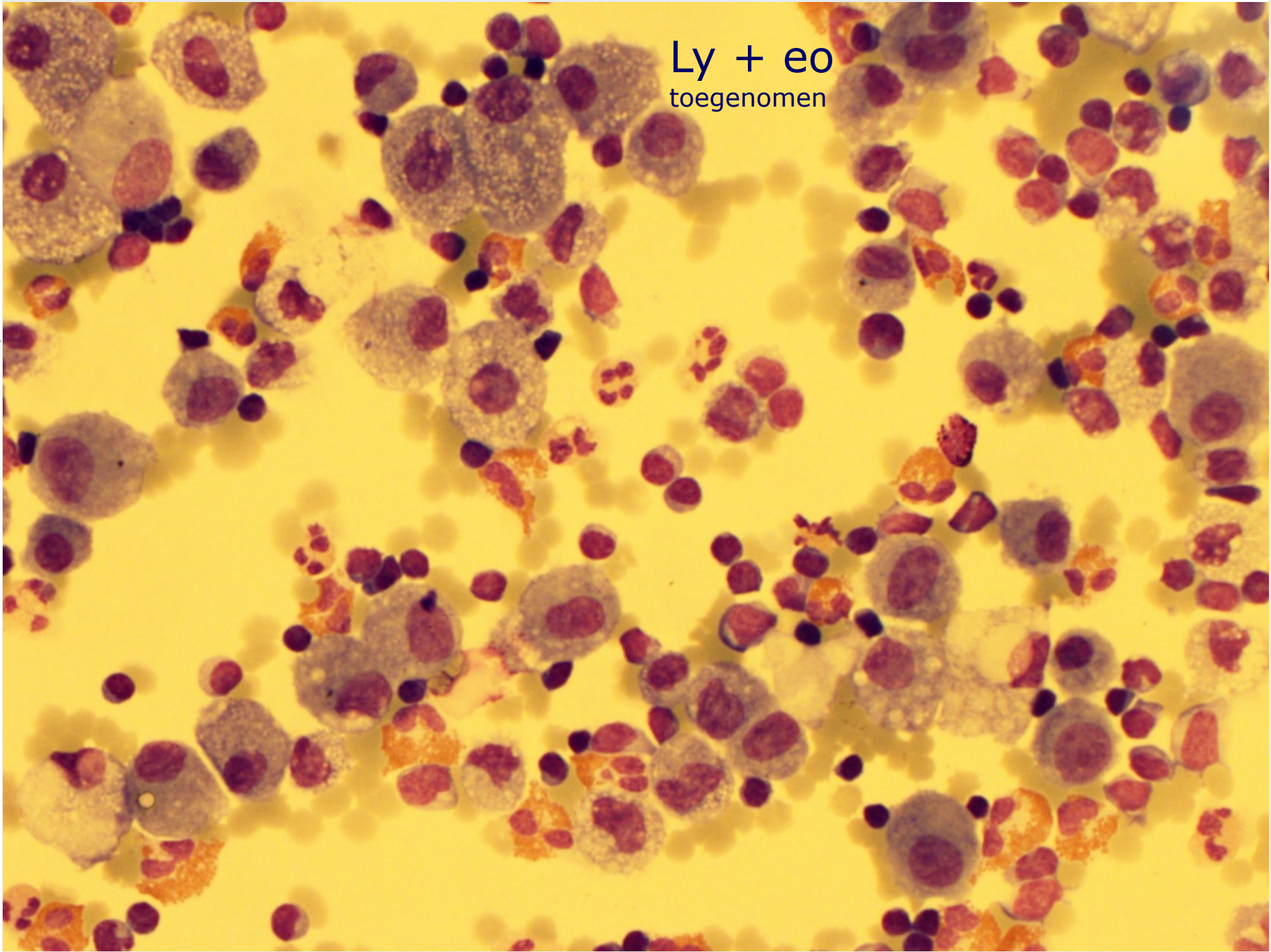
Plotjes lymfocyten

B+T+NK = 99%

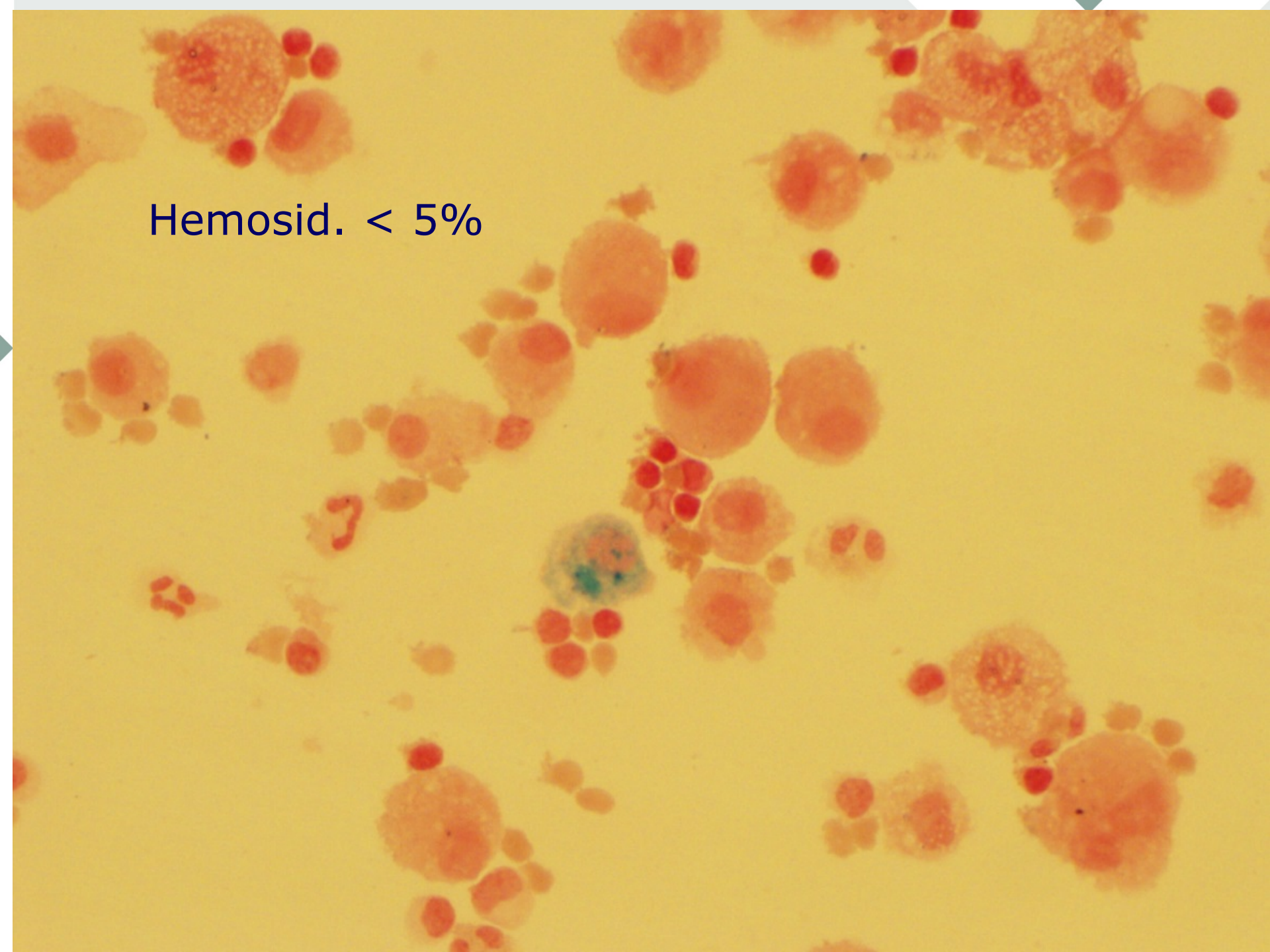
Laag % CD103+



Ly + eo
toegenomen



Hemosid. < 5%



Resultaten en rapportage 2017-2:



- Morfologie: toename totale leuko, lymfo's en eo's, géén toename hemosiderine pos macrofagen.
- Flowcytometrie: forse lymfocytose en normale CD 4/8 ratio, bij lage CD103/CD4 ratio

Resultaten en fouten

- Aandacht voor de celtelling (Homogen test: single platform $V_c < 5\%$ ($n = 6$))
- Gebruik daarbij juiste eenheid $10^4/\text{ml}$

Conclusies: (*géén score toegekend*)

- 8x Sarcoidose (niet uitgesloten)
- 18x EAA
- 3x eosinofiele pneumonie
- 2x vasculitis
- 10x divers

Bespreking casus 2017.2



- Klinisch: Man (20), doorgemaakte pneumonie, bleef hoesten, Thorax foto => infiltraten, toegenomen tov vier weken eerder. HR-CT: vlekkelijke consolidaties door hele longvelden, meerdere nodulaire verdikkingen.
- Lavage: leukocytose, lymfocytose en verhoogd aantal eosinofielen.
- Lymfocyten: CD4/CD8 ratio van circa 3 en de CD103 expressie binnen de CD4 + populatie is verlaagd.

Conclusie

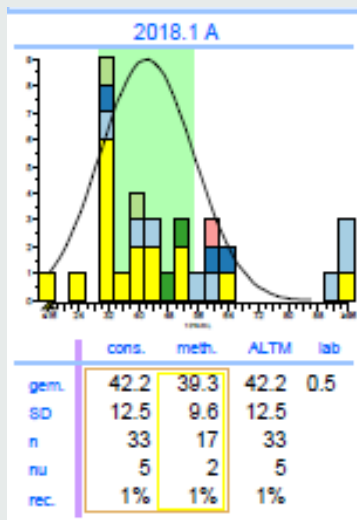
- EAA onwaarschijnlijk (CT-scan)
- Vasculitis onwaarsch.: ANCA neg, bez =norm, Hemosiderine pos. macrofagen = normaal
- Eos. pneum. onwaarsch.: eo te laag
- Veel andere zaken uitgesloten (TB etc...)
- Waarschijnlijkheidsdiagnose: necrotizerende sarcoidose. BAL profiel kan passen bij sarcoidose

BAL rondzending 2018-1

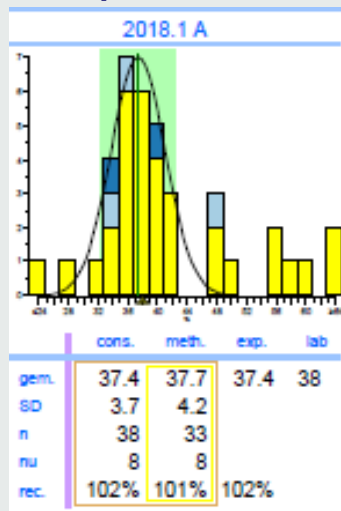
- Man 76 jaar oud.
 - Kliniek: Verleden EAA, champignon kweker, nu op CT matglas consolidaties en lymfopathie+ verkalking
 - Roken: sinds 10 jaar gestopt
 - Dieren: geen
 - Medicatie: Edoxaban
 - Hoeveelheid spoelvloeistof in: 150 ml, uit 75 ml.
 - Aspect BAL: licht rose/ licht troebel
 - Leuko: $33 \cdot 10^4/\text{ml}$. Ery: $0,48 \cdot 10^9/\text{L}$
 - Vraagst: EAA? of Anders?
- => verzonden *400ul Celsusp. en 2 cytopins; 1.Fe en 2 MGG*

Resultaten BAL:

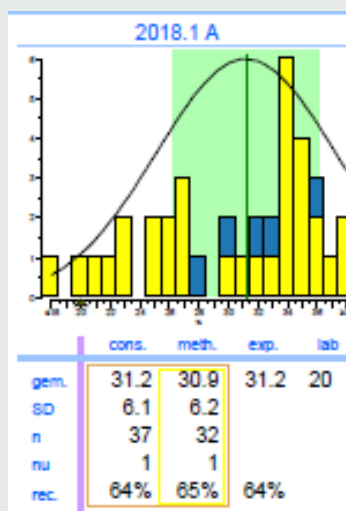
Celtelling



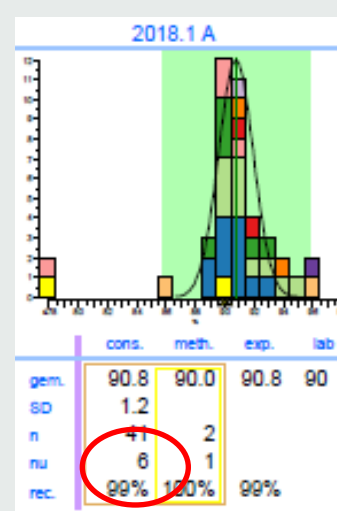
%lymfo flow



%lymfo micr.



% CD3

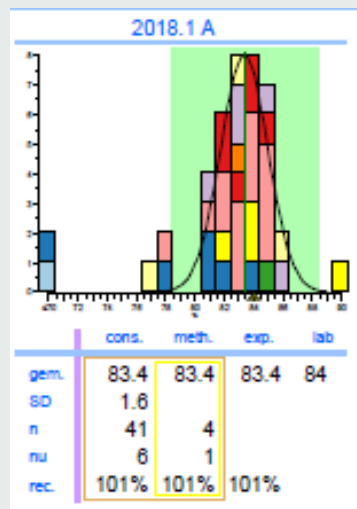


DLON
CHE DIAGNOSTIEK

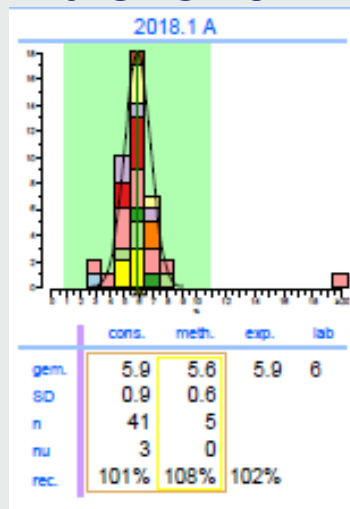
CD3+
uitbijters !

CD103 Sd!

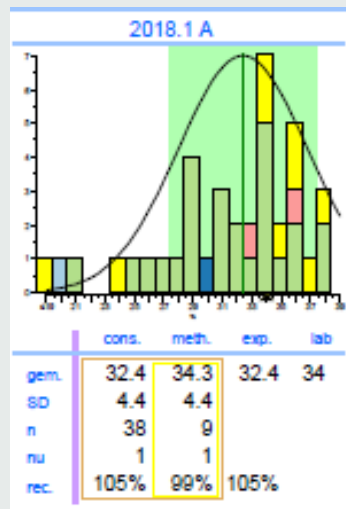
% CD3+4+



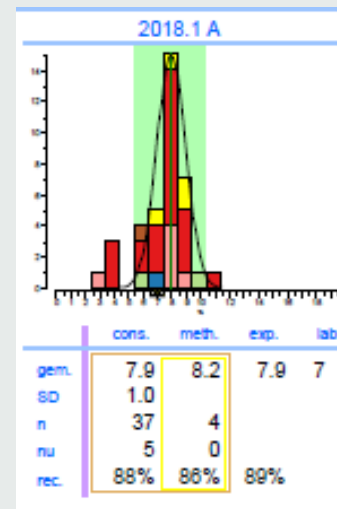
% CD3+8+

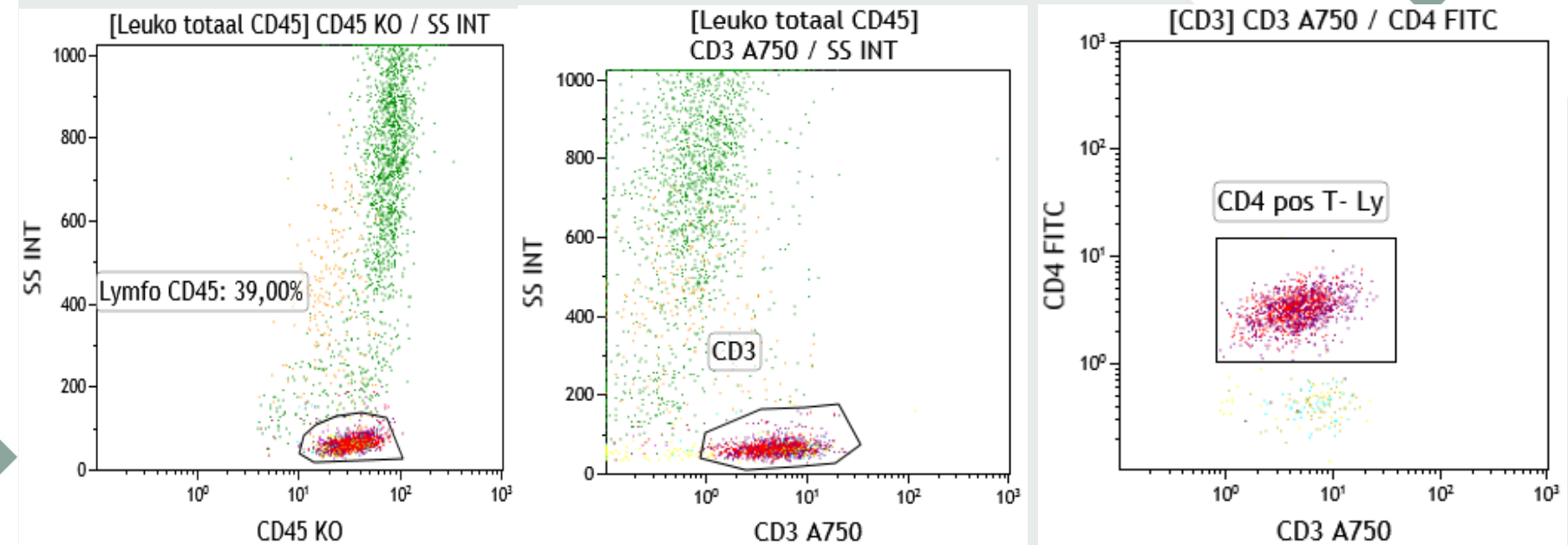


%CD103

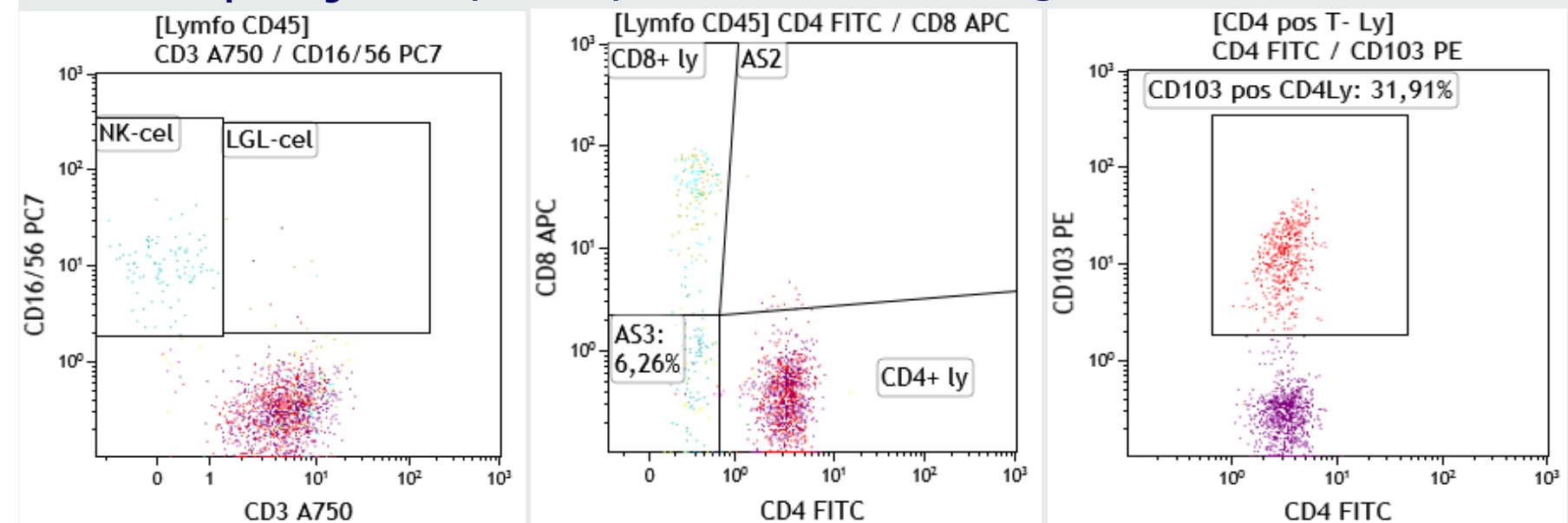


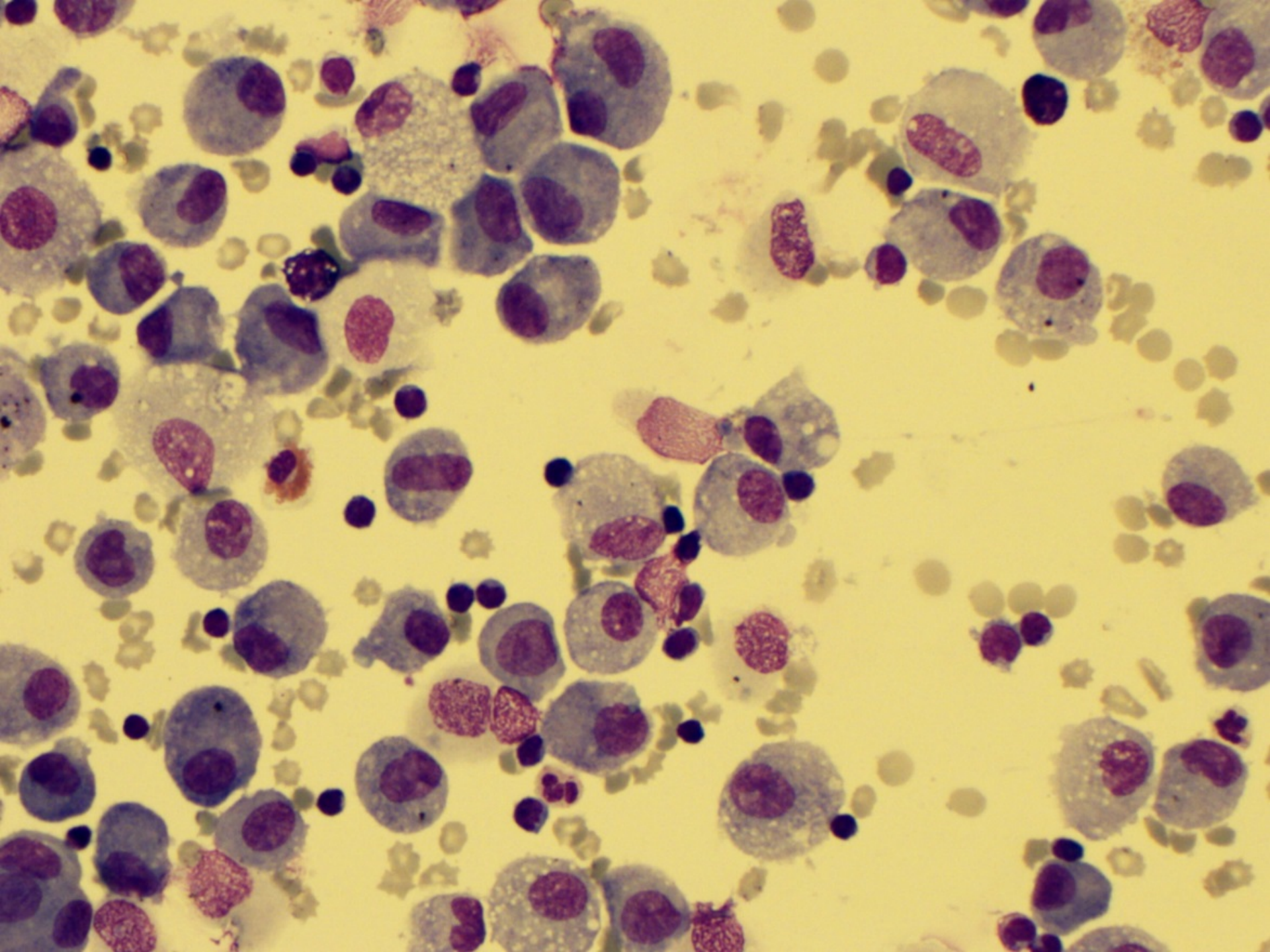
% NK

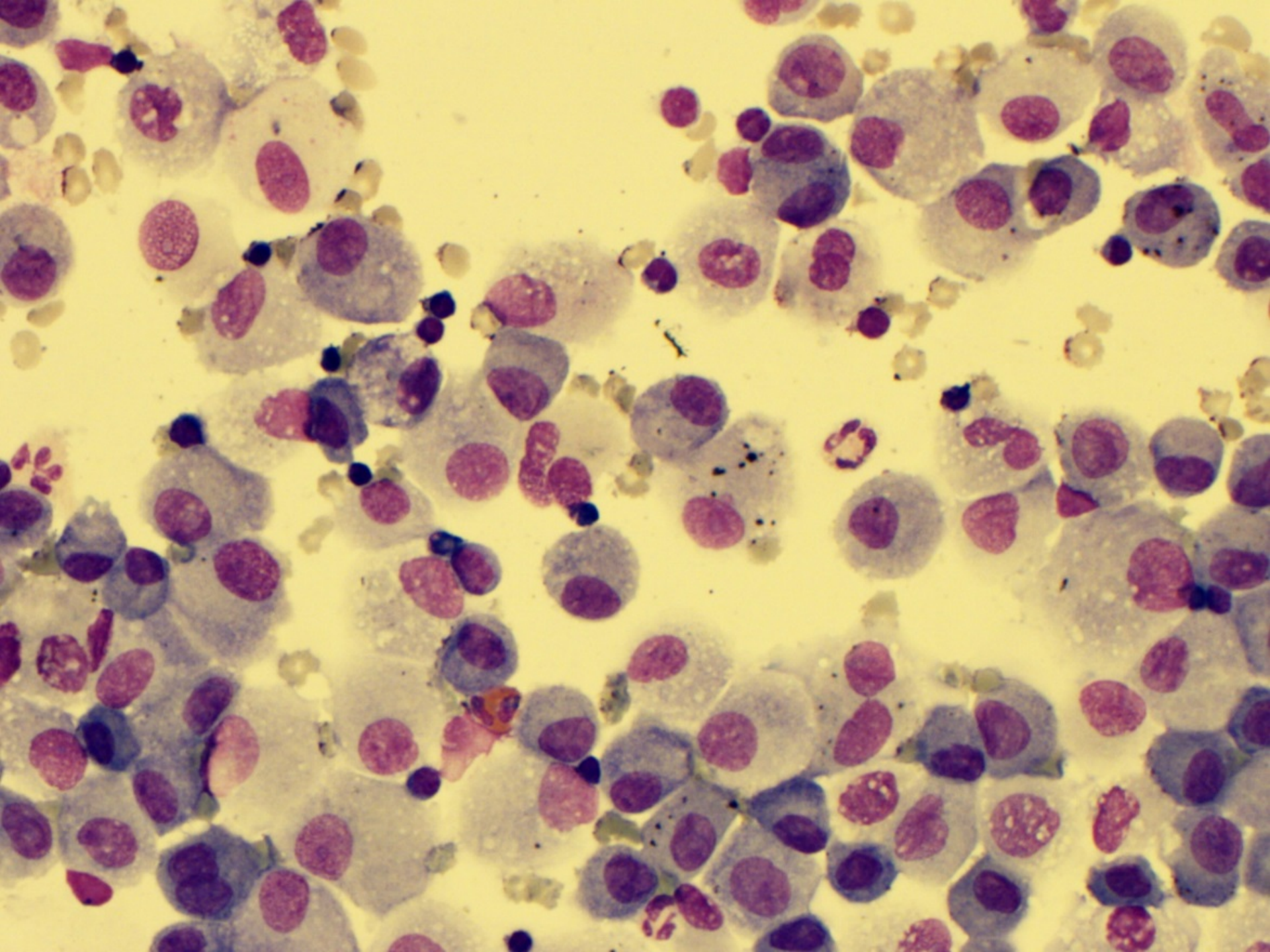




Flow plotjes: lymfocytose, CD 4/8 hoog, CD103/CD4=n







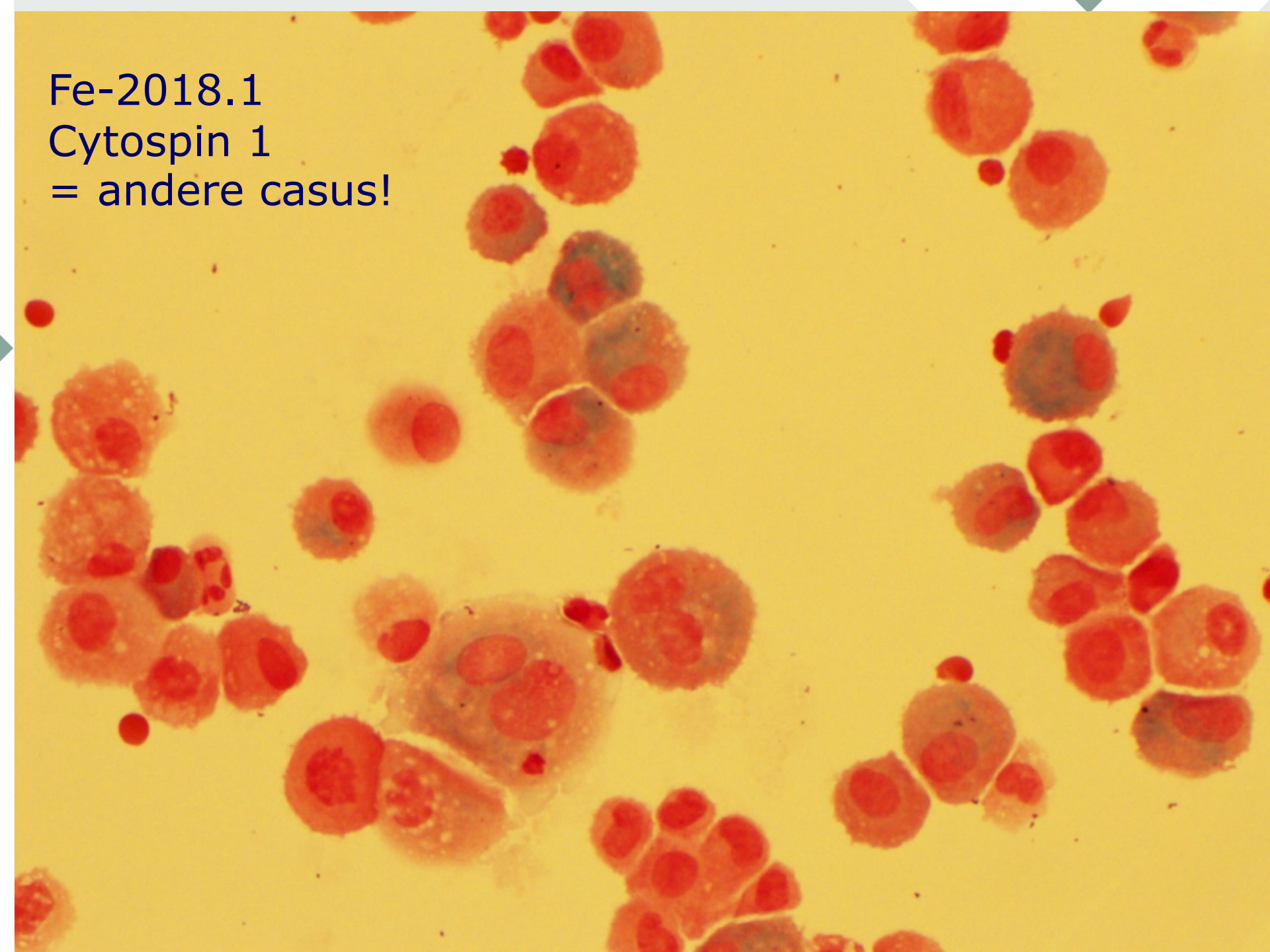
Bevindingen BAL:

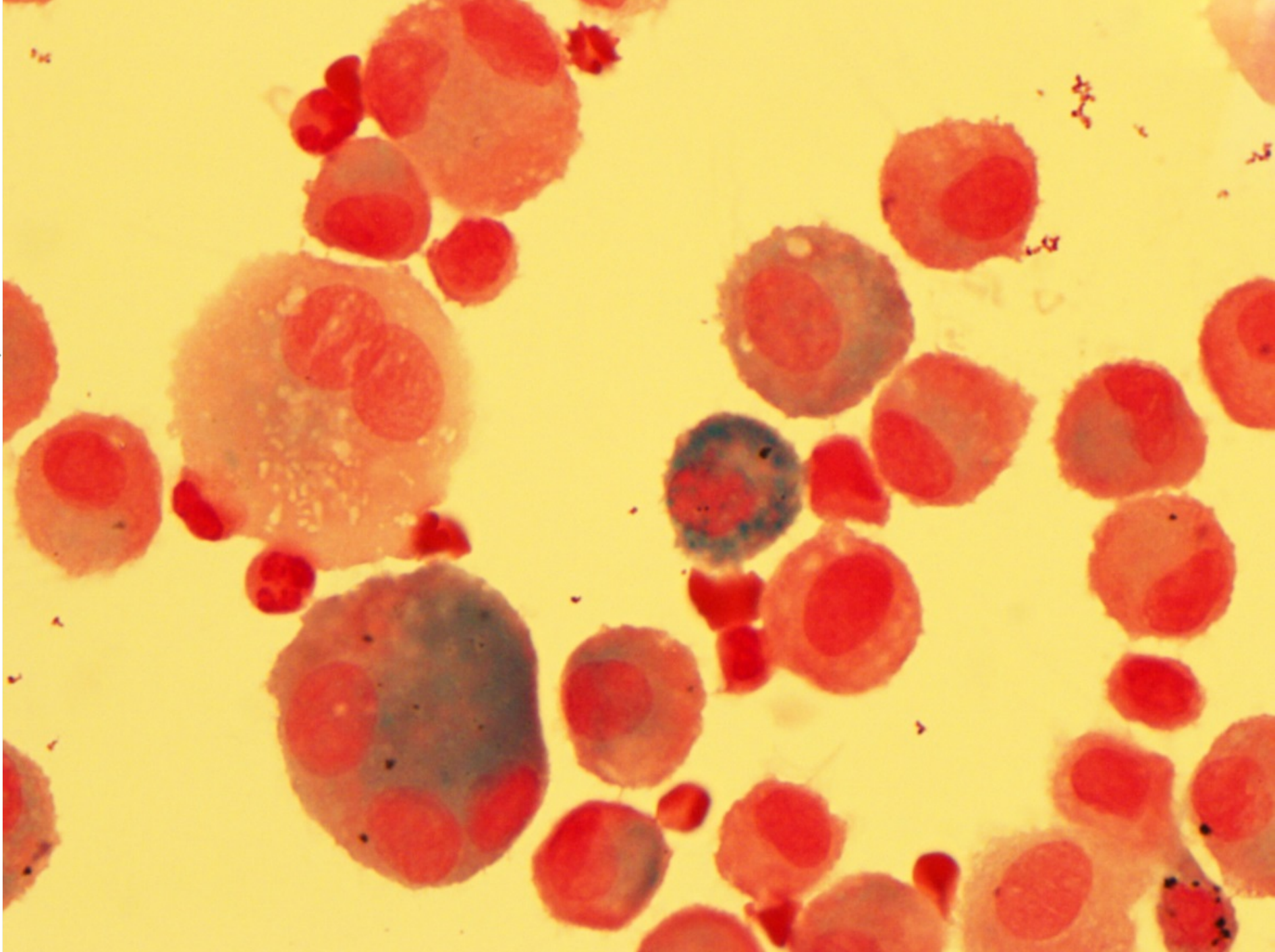
- Leuko(**33***10E4/ml)- en lymfocytose (**37**%)
- CD 4/8 BAL: **14,1** vs perifeer: 3,2
- CD103/CD4 is niet verlaagd (0,32)
- Eo's en gran. normaal, hemosiderine pos macrofagen: <5%
- Deelnemers:
 - 8 x niet conclusief.
 - 7 x EAA
 - 2 x IPF
 - 22 x sarcoïdose

Casus 2018.1 kliniek:

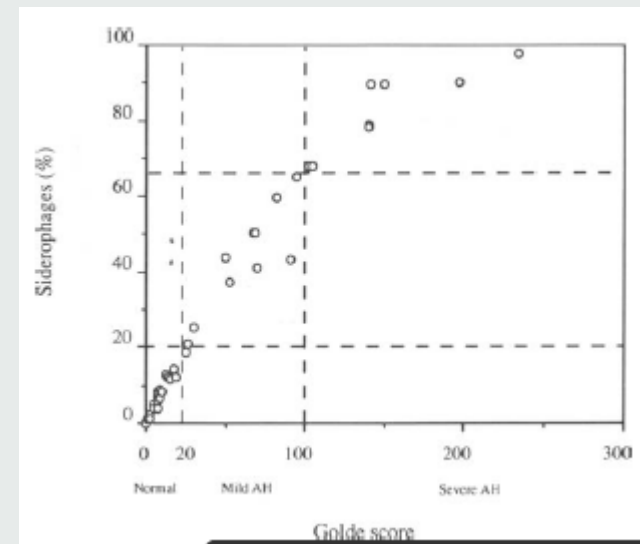
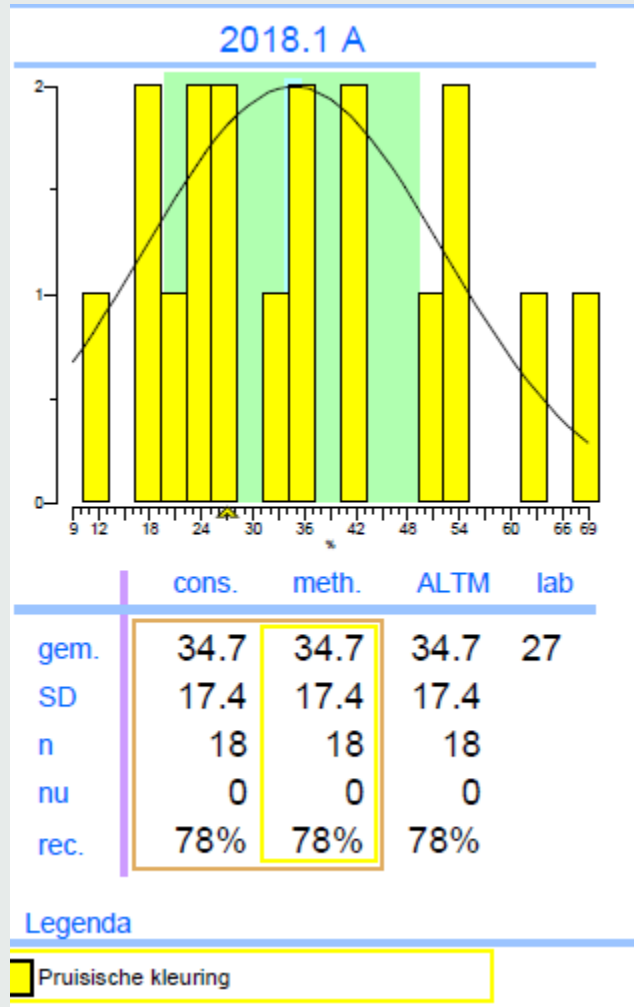
- Man 76 jr, eerder EAA => champignon expositie, nu niet meer. Vermoeidheid, CT-honingraat consolidaties + hilaire lymfadenopathie
- De lavage: leukocytose, lymfocytose. De CD4/CD8 is verhoogd ook t.o.v. perifeer. Echter CD103/CD4 ratio $> 0,20$
- Vraagstelling: EAA of anders?
- Werkdiagnose voor dit moment: sarcoïdose. (milde klachten, cellulaire profiel in de lavage en lymfoadenopathie met verkalkingen). Patiënt blijft ondanks geringe klachten komende tijd onder controle longarts.

Fe-2018.1
Cytospin 1
= andere casus!





Scores Fe-kleuring % pos



Resultaten en opmerkingen scores BAL



- Fe-prep en dif prep: verwarring en breuk!
- Celtelling: celtellers vaak betere precisie
- CD103 ! *Titer, label*
- Hemosiderine aankleuring
- 39 laboratoria: verdiepingsvraag beantwoord! Dit is terug gerapporteerd en becommentarieerd. Teksten inzichtelijk ter lering: “hoe verwoord een ander dit”

Ontwikkeling

- Huidige score aanhouden (ruimer) en gemotiveerde conclusie ter lering.
- Hemosiderine pos macrofagen
 - Score % pos
 - Golde score: gewogen naar sterkte positiviteit

Literatuur

An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline:
The Clinical Utility of Bronchoalveolar Lavage Cellular Analysis in
Interstitial Lung Disease; *Am J Respir Crit Care Med* Vol 185, Iss. 9, pp 1004–1014, May 1, 2012

K. Linssen, ILD care today, nr.3, 18 – 26, nov/ dec 2009
*Mogelijkheden van de broncho-alveolaire lavage bij de
diagnostiek van longaandoeningen.*

Lassence A. de, *Am J Respir Crit Care Med* Vol 151. pp 157-
163, 1995. *Alveolar Hemorrhage, Diagnostic Criteria and
Results in 194 Immunocompromised Hosts*



Score: veranderingen n.a.v. klachten

- Analooq aan L/L typering
- Echter gewogen target waarde

naam	target	TE(%)	units 1	2 punten (+/- TE*target)	1 punt (+/- 2,25*TE*target)
Aantal cellen	50	25	10 ⁴ /mL	+/- 12,5	+/- 28
Lymfo's op flow	20	25	%	+/- 5	+/- 11,2
Morfologie					
Macrofagen	25	25	%	+/- 6,25	+/- 14,1
Lymfocyten	20	25	%	+/- 5	+/- 11,2
Neutrofiële granulocyten	10	25	%	+/- 2,5	+/- 5.6
Eosinofiele granulocyten	10	25	%	+/- 2,5	+/- 5.6
Mestcellen	10	25	%	+/- 2,5	+/- 5.6
Plasmacellen	10	25	%	+/- 2,5	+/- 5.6
Overig	10	25	%	+/- 2,5	+/- 5.6
Lymfotypering					
CD3+	20	25	%	+/- 5	+/- 11,2
CD3+CD4+	20	25	%	+/- 5	+/- 11,2
CD3+CD8+	20	25	%	+/- 5	+/- 11,2
CD19+	10	25	%	+/- 2,5	+/- 5.6
CD3-CD16+CD56+	10	25	%	+/- 2,5	+/- 5.6
CD103	20	25	%	+/- 5	+/- 11,2
CD103,CD4/CD4	0,25	25	ratio	+/- 0,0625	+/- 0,14