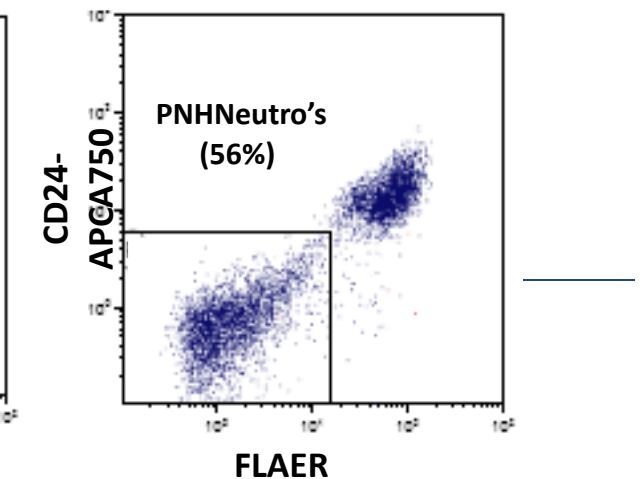
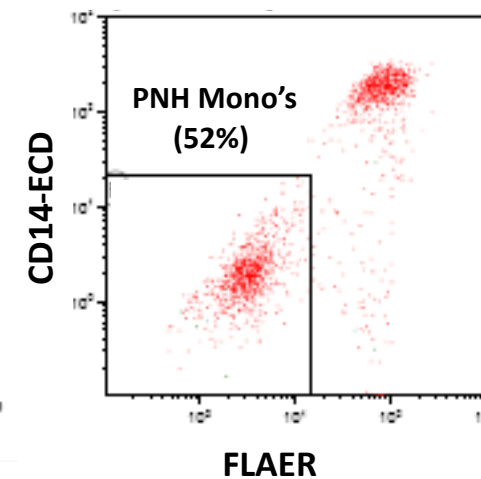
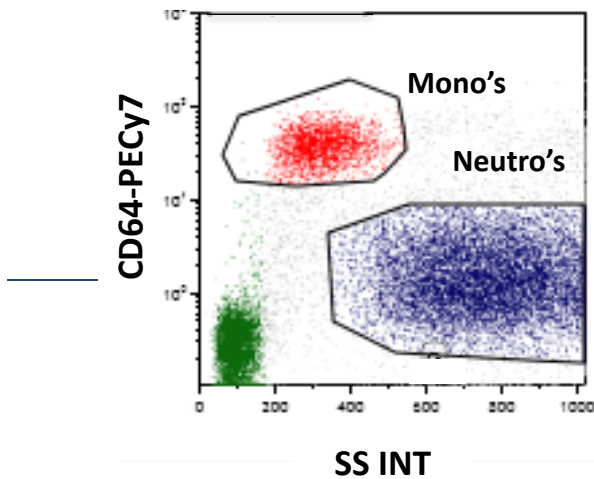
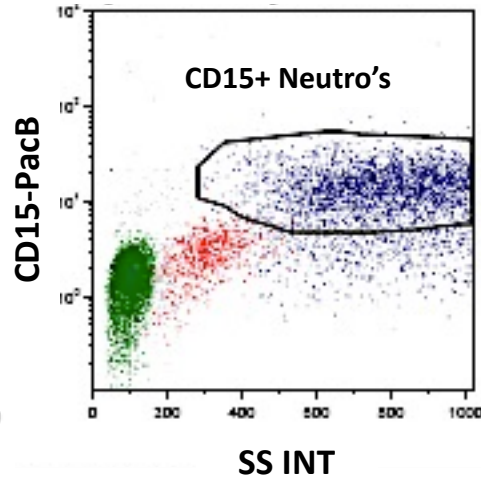
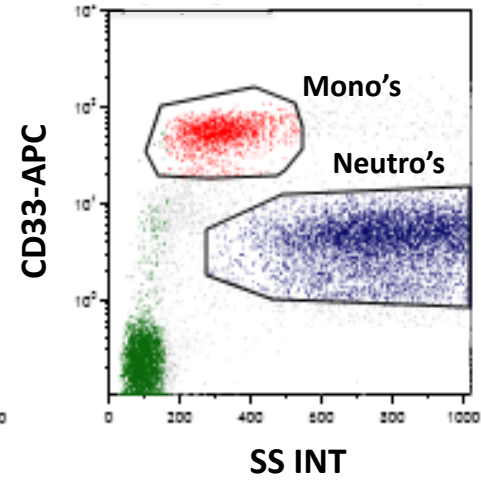
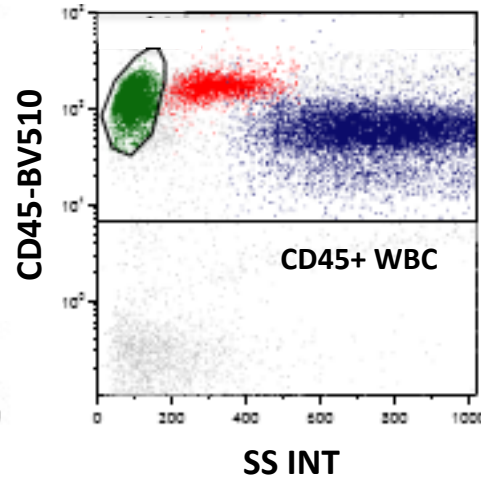
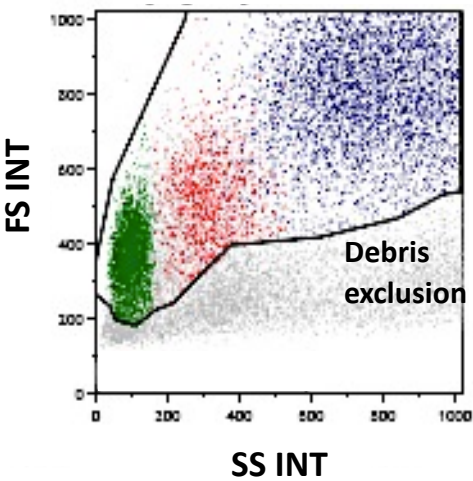


PNH CLONE DETECTION



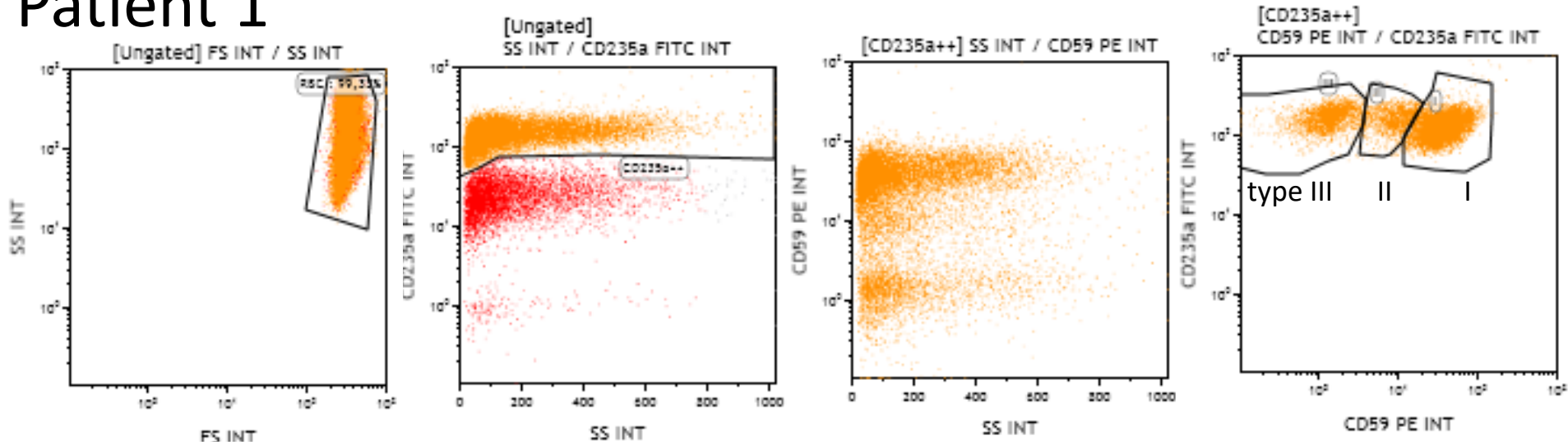
Stichting Kwaliteitsbewaking
Medische Laboratoriumdiagnostiek

PNH kloon detection in monocytes and neutrophils conform de aanbevelingen

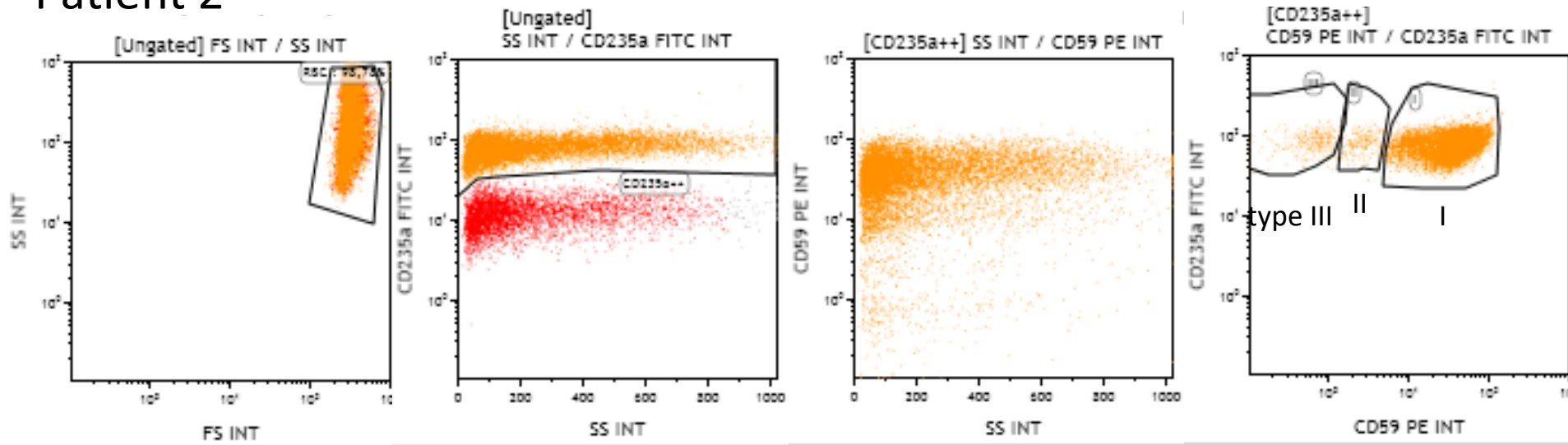


Bepaling van PNH kloon in erythrocyten

Patient 1



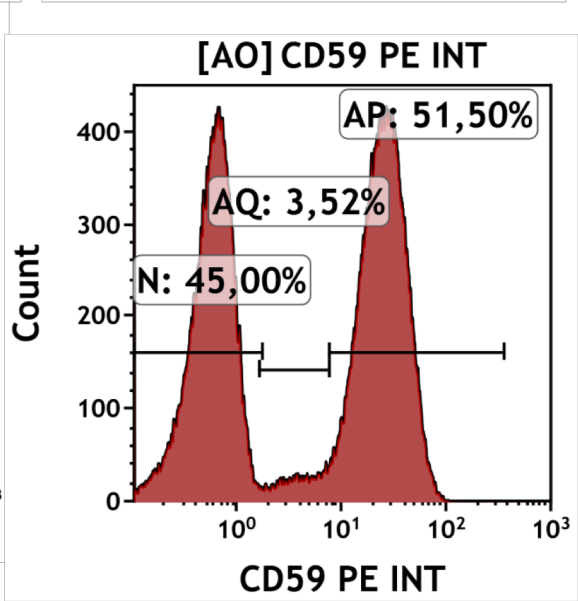
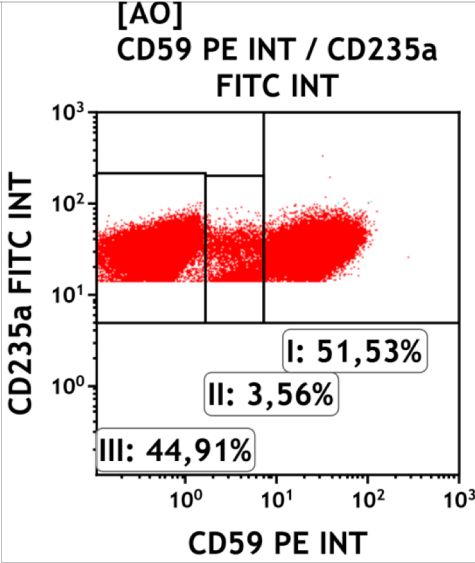
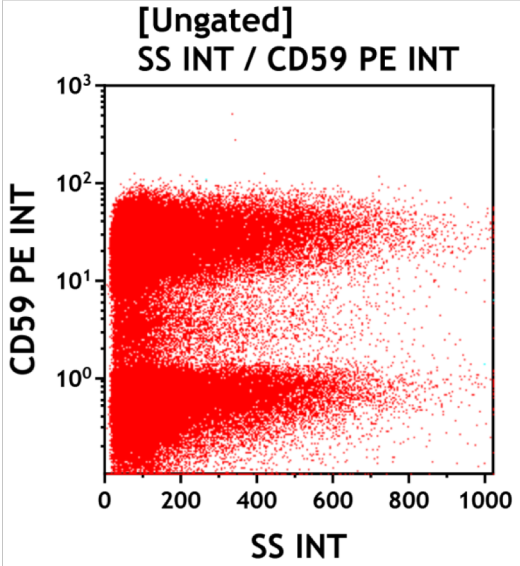
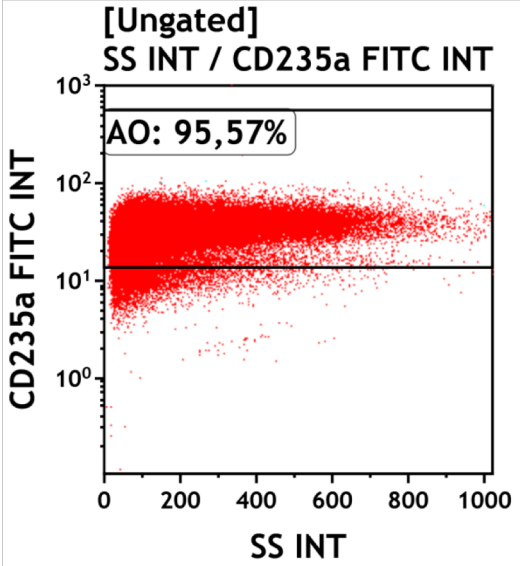
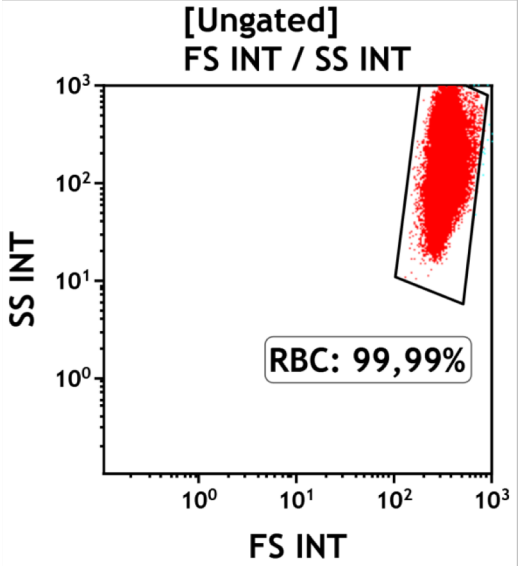
Patient 2



PNH Rondzending 2018

PNH Rondzending 2018.1

April 2018



PNH Rondzending 2018.1

CD55	55 type II	55 type III	CD59	59 type II	59 type III
67	2	65	67	2	65
			72	2	70
			50		
			41,5	0	41,5
			47	2	45
			26	4	22
47	2	45	47	2	45
			48	3	45
			28	2	26
			43	1	42
			41,8	1	40,8
			46,7	1,7	44,9
47	0	47	46	0	46
50	0	50	49	0	49
51	2	49	51	2	49
			47	47	0
			47	2	45
			48,4	3,5	44,9
			48		48
			46		
48			50		
			48		48
			47	2	45
			51	2	49

Erythrocyten

Ery bepaling 24/38 (gelijk 2017)

Evaluatie:

Gemiddelde-min/max

CD59: 47,2% ± 6,5%

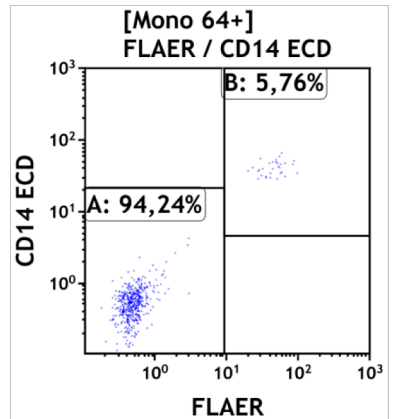
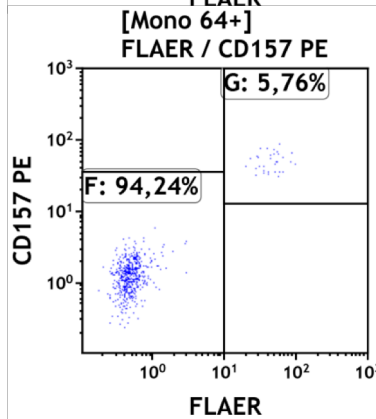
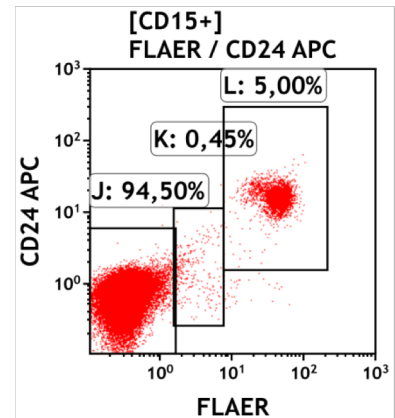
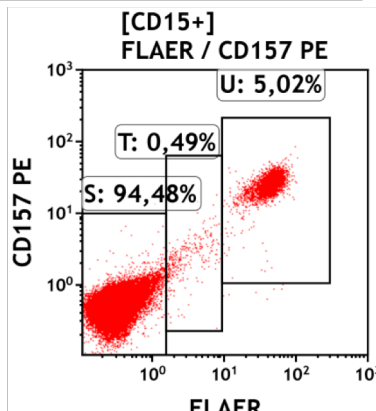
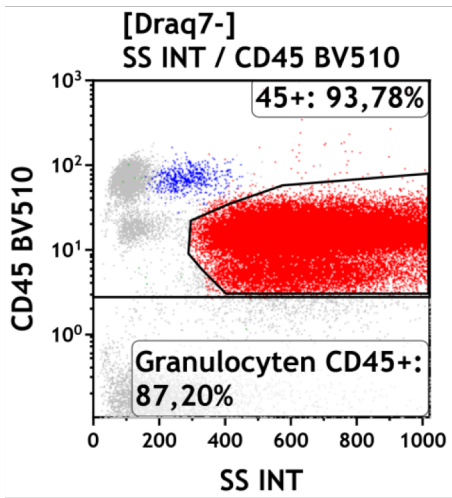
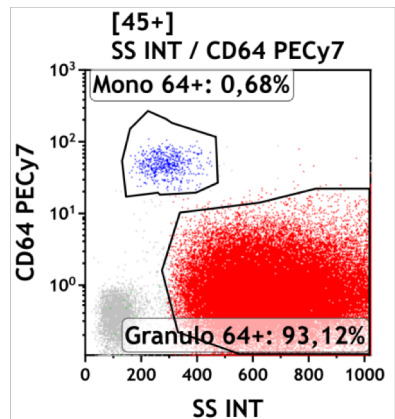
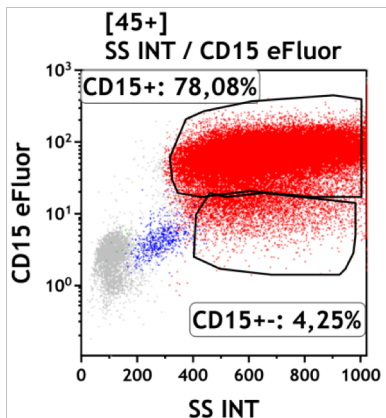
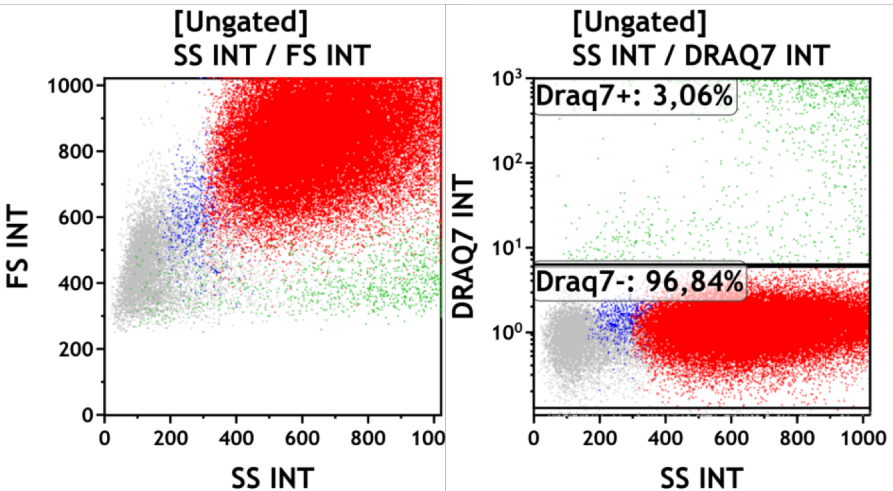
CD59 Type II: 1,9% ± 1,0%

CD59 Type III: 44,3% ± 8,8%

- 14x (37%) geen ery's bepaald.
- 92% bepaald type II en type III
- SD in type II en III is netjes!
- 6x CD59 en CD55

PNH Rondzending 2018.1

April 2018



CD14	CD55	CD59	157	FLAER	in WBC
91				91	2
92				92	4
94			94		3
94				95	1
93				93	2,4
87				87	2,4
95				95	2
93,5				93,5	2,6
90				90	2,5
94				94	2
			93	93	2
				93	2
			94	94	3
95				92	2
92				93	3
93					2
91				91	2
86				89	2
93			92	92	10
91,9				90,5	2
94				94	2,4
	91,6			90,1	1,8
94				94	3
			95	95	2
95				95	3,1
91	90			91	3
94				94	2,3
96				96	2
81	81			81	3
			91	91	3
			97	97	2
94,2			94,2	94,2	1,9
		32	94	94	2
94				94	2,5
93				93	2,2
92				92	2
92				92	3

CD16	CD24	CD55	CD59	CD157	FLAER	in WBC
	92				92	91
	92				92	81
				92		87
	99				99	71
	93				93	88
	93				92	86,9
	92				92	87,4
					90,9	76,5
	92,4				92,4	87,9
	93				93	86
	91			90	91	78
					92	90
				92	92	88
	93				92	82
	92				92	82
	92					91
	92				92	89
	93		92		92	93
	92			92	92	85
	90,7				92,2	89,3
	95				95	82,7
	92	92			92	88
	92				92	89
				92		90
	92				92	88,7
	91	84			91	86
93	93				93	87
92	92				92	88
	92	92			92	78
				92	92	89
				92	92	90
	94,9			94,9	94,9	89,5
			71	92	92	90,8
	92				92	87
		92	92			87
	93				93	82
	91				91	88
	92				92	87

Monocyten

-Bepaald door: 37/38

FLAER: 34/37

Geen CD14: 8/37

alternatief:

9x CD157 (9x in

2017)

4x CD55 of CD59

CD14: 92,5% ± 2,2%

FLAER: 92,5% ± 2,0%

Granulocyten

-Bepaald door: 38/38

Geen FLAER: 4/38

Geen CD24: 9/38

2x alleen FLAER

9x CD157

6x CD55/CD59

CD24: 92,4% ± 1,0%

FLAER: 92,2% ± 0,9%

PNH Rondzending 2018.1

	PNH kloon Ery	PNH kloon Mono	PNH kloon Granulo
Gemiddeld	% 47	% 93	% 92
SD	7	2	2

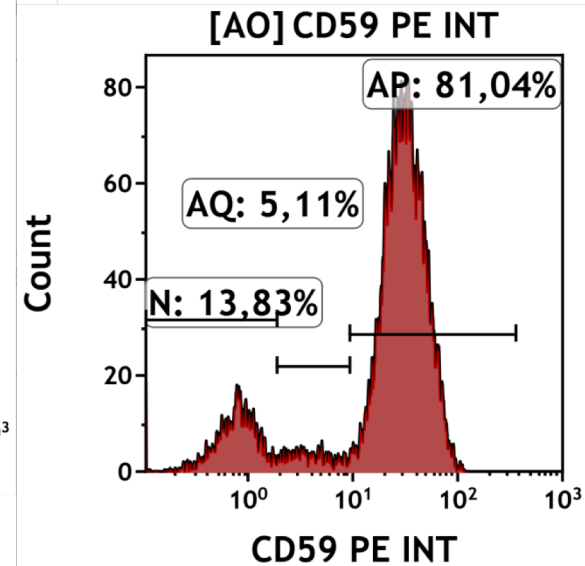
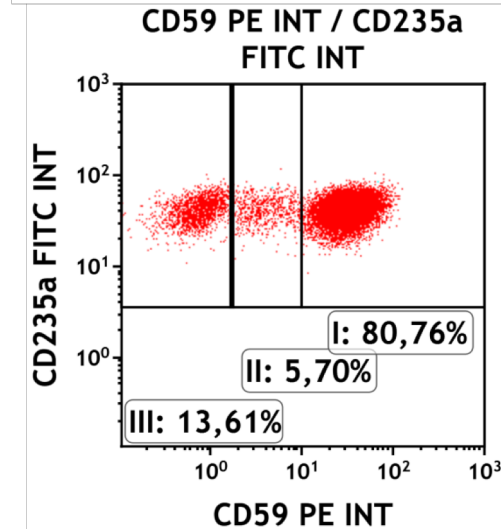
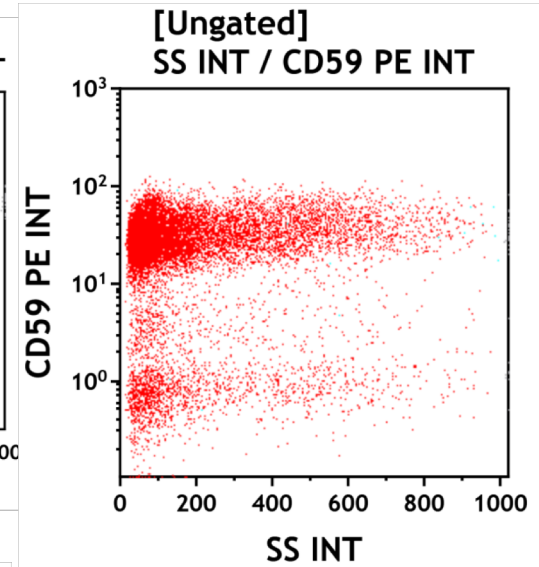
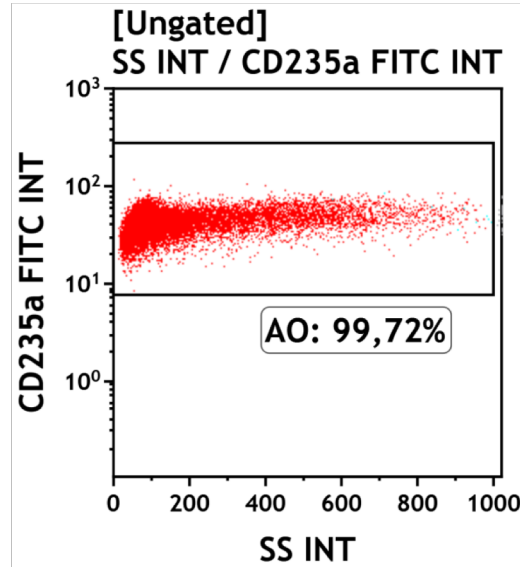
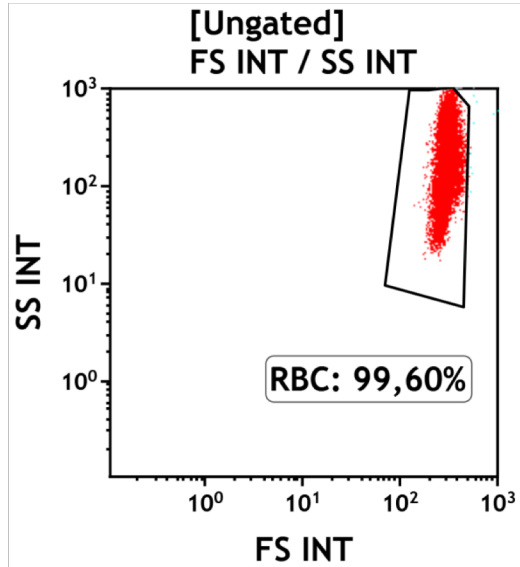
	Pre	Ana	Post
Pre= MoAb + cellijn			
#A	37	25	26
Ana= Percentages van MoAbs en cellijn in bloed			
#B	2	13	11
#C	0	0	1
Post= % Kloongrootte in target populaties			
%A	95	66	68
%B	5	34	29
%C	0	0	3

PNH Rondzending 2018.1

datum bepaling	Ery II	Ery III	Gran	Mono	
02-04-12	3	15	93	68	
24-12-12	3	22	71	76	
01-03-13	4	23	90	78	
16-08-13	3	22	91	79	
19-12-13	7	28	86	77	
21-01-14	5	30	86	77	Start eculizumab
11-06-14	7	33	80	91	
10-11-14	11	48	88	90	
07-05-15	3	21	93	87	
26-10-15	5	37	91	90	
14-03-16	5	41	94	89	
06-06-16	5	42	91	93	
29-08-16	3,9	35,3	89	91	
21-11-16	3,0	44,0	94	93	
08-05-17	3,8	40,0	94	94	
23-10-17	4,2	42,6	93	92	
09-04-18	2,3	45,1	92	91,6	

PNH Rondzending 2018.2

Juni 2018



CD55	55 type II	55 type III	CD59	59 type II	59 type III
34	7	27	34	7	27
			22	6	16
			20,9	4,2	16,7
			17,3	3,8	13,5
				6	14
				3	4
19	5	14	19	5	14
			19	6	13
			12	4	8
			18	2,5	15,3
			25,4	6,8	18,6
			20,4	5,6	14,8
15	0	15	18	0	18
18	0	18	19	4	15
33	7	25	31	6	25
			24	24	<1
			19	5	14
			19,3	5,7	13,6
			16	4	12
			22		
22		22	20		20
			21		21
			21	5	16
			25	6	19

Erythrocyten

Ery bepaling 24/38 (gelijk 2017)

Evaluatie:

Gemiddelde-min/max

CD59: 20,4% ± 3,9%

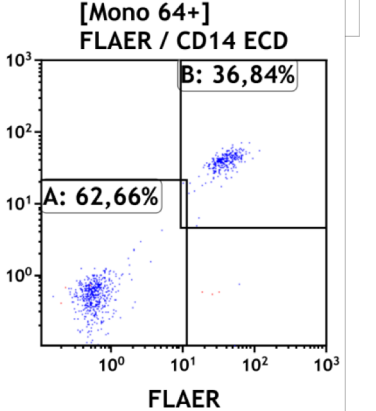
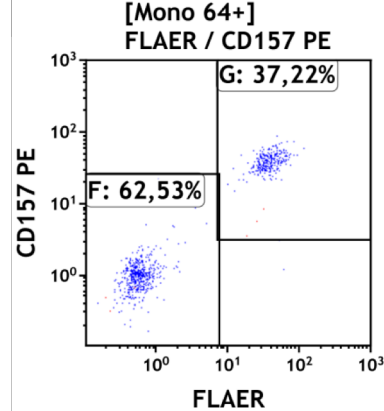
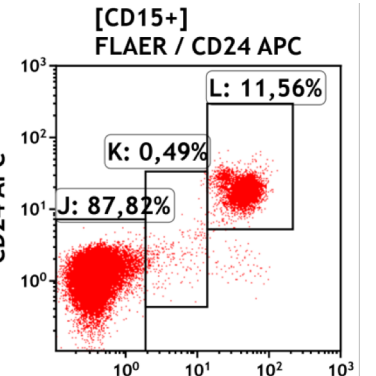
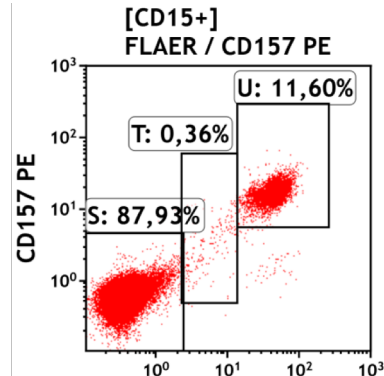
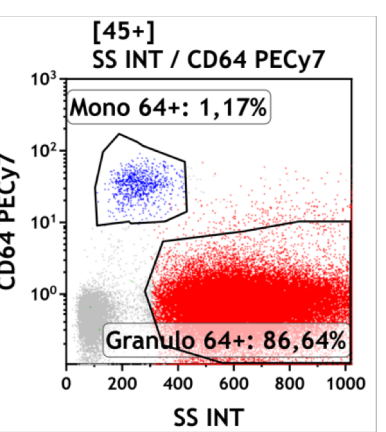
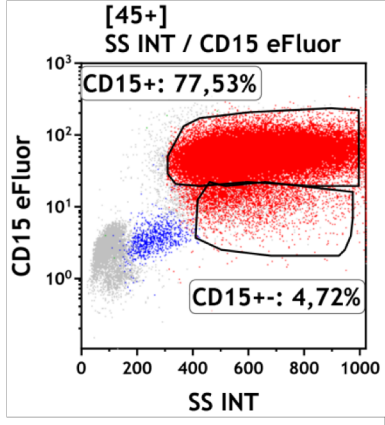
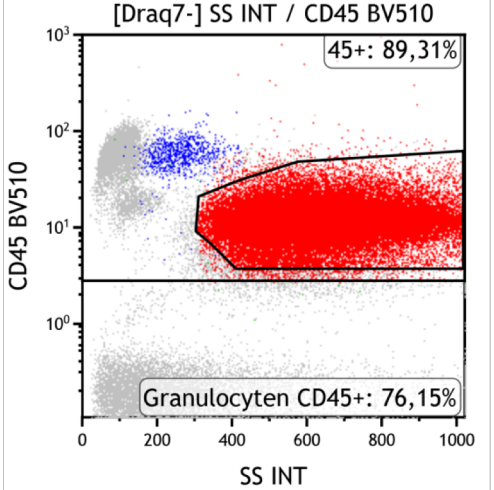
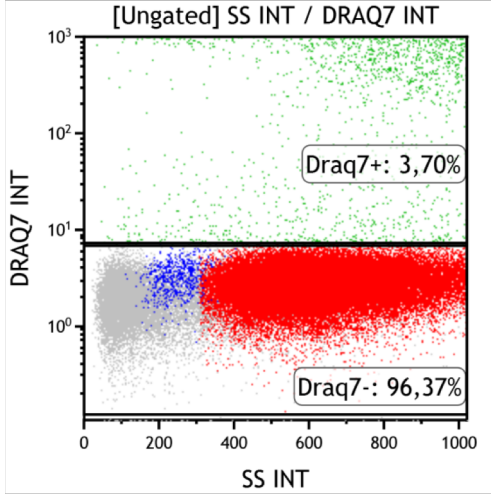
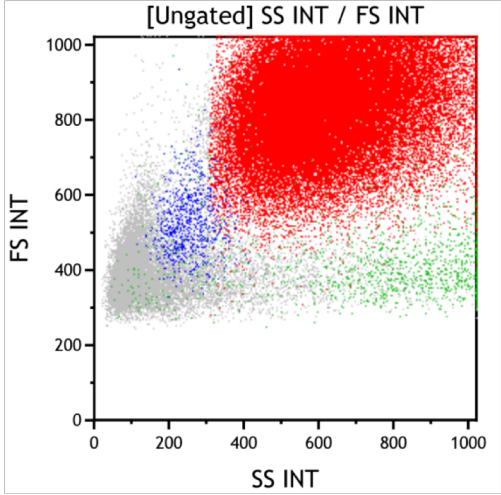
CD59 Type II: 5,0% ± 1,3%

CD59 Type III: 15,9% ± 3,7%

- **14x (37%) geen ery's bepaald**
- 95% bepaald type II en type III
- SD in type II en III is goed!
- 6x CD59 en CD55

PNH Rondzending 2018.2

Juni 2018



CD14	CD55	CD59	CD157	FLAER	in WBC
64				64	7
66				66	10
68			68	68	8
67				65	7
65				65	6,5
63,2				63,6	7,8
65				65	8
65				65	5
65				65	7
			63	63	6,5
				67	3
			65	65	8
66				63	9
67				67	5
65				65	8
63				63	5
65				65	7,1
64			64	64	9
66				64	8
69,4				69,4	3,2
	65			65	8,5
66				66	9
			66	66	9
68				68	8,7
68	66			68	9
67				67	7
70				64	8
63	63			63	7
			63	63	9
			67	67	7
64,2			64,2	64,2	8
		52	68	68	3,7
66				66	6,39
66				66	7
65				65	7
66				66	6

CD16	CD24	CD55	CD59	CD157	FLAER	in WBC
	69				69	60
	69				69	46
				70	70	54
	87				87	43
	69				69	60,4
	71,2				70,3	53,4
	68				68	54,3
					58,9	
	68				68	64
	72				72	55
				83	83	36
					71	81
				70	70	53
	81				78	47
	70				70	50
	69				69	63
	66				66	52
	69		67		67	54
	69			69	69	45
	68				69	61
	69,2				69,2	45,5
	70	70			70	58,7
	69				69	58
				69	69	57
	69				69	57,1
	68	67			68	53
71	71				71	53
70	69				69	56
	69	69			69	49
				70	70	58
				69	69	52
	77,2			77,2	77,2	55
			51	67	67	57
	69				69	69
		70	70			60
	71				71	60
	70				70	60
	78				78	46

Monocyten

-Bepaald door: 36/38

- Geen CD14: 8/36

6x CD157 ipv CD14

1x CD55 ipv CD14

CD14: 65,7% ± 1,6%

FLAER: 65,5% ± 1,5%

Granulocyten

-Bepaald door: 38/38

Geen FLAER: 1/38

Geen CD24: 9/38

7x CD157

1x CD55/59

1x alleen FLAER

CD24: 70,8% ± 4,5%

FLAER: 70,6% ± 4,4%

PNH Rondzending 2018.2

	PNH kloon Ery	PNH kloon Mono	PNH kloon Granulo
Gemiddeld	% 20	% 65	% 71
SD	4	2	5

Pre= MoAb + cellijn

**Ana= Percentages van MoAbs
en cellijn in bloed**

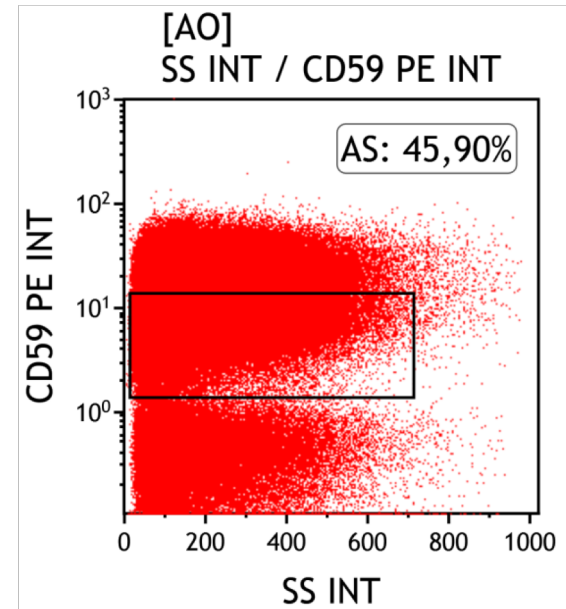
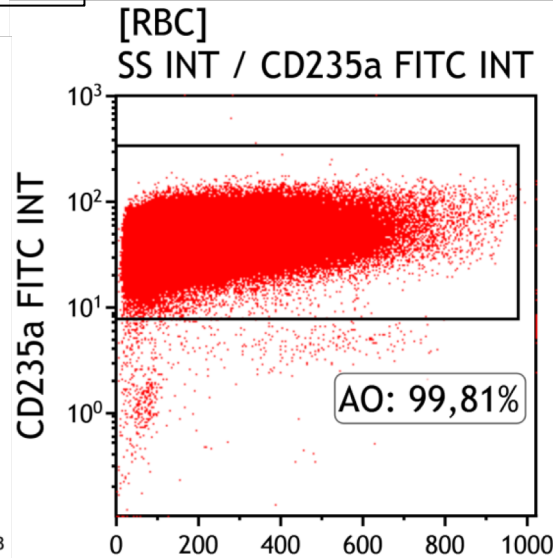
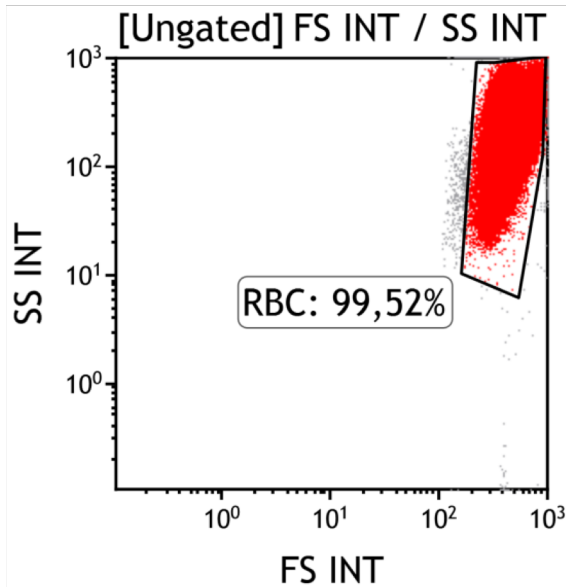
**Post= % Kloongrootte in target
populaties**

	Pre	Ana	Post
#A	37	27	22
#B	1	10	14
#C	0	1	2
%A	97	71	58
%B	3	26	37
%C	0	3	5

PNH Rondzending 2018.3

Sept. 2018

Eculizumab vanaf maart 2017

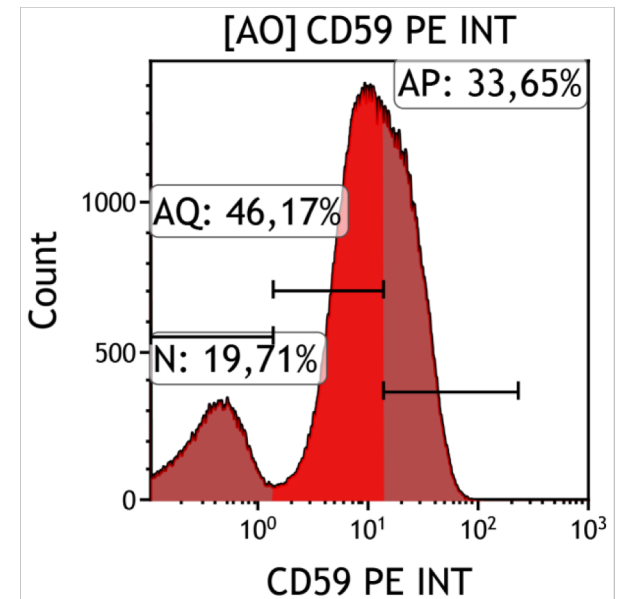
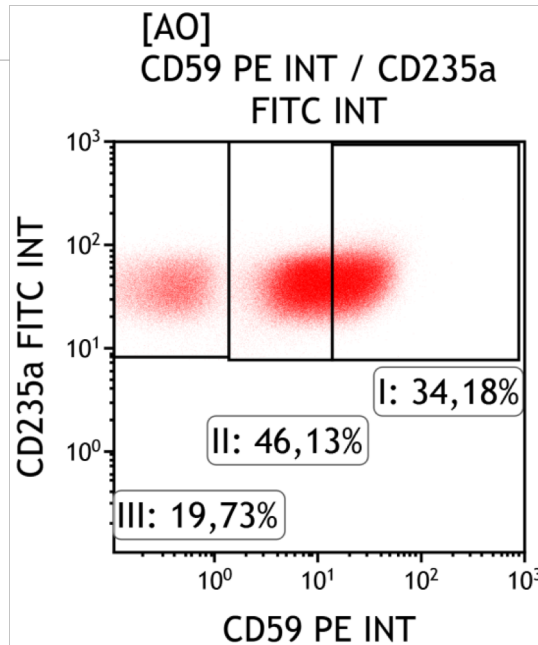


Complicatie

Type II = 46%!

Type III = 20%

Door consensus leidt dit tot B-score bij correcte uitvoering.



CD55	55 type II	55 type III	CD59	59 type II	59 type III
31	0	31	31	0	31
			29	2	27
					50
			14	0,3	13
			20,3	0,3	20
			15	0,5	14
68	48	20	68	48	20
			22	3	19
			8	0,2	8
			16	0,3	15
			50	30	20
			20,2	0,4	19,8
19			19		
25			68	49	19
			19	19	
			18	0,7	17
			66	46	20
			20	0	20
			17		
21			27		
			20		20
			35	16	19
			24	1	23

PNH Rondzending 2018.3

Erythrocyten

**Ery bepaling 22/37 (61%) : afname
tov 2017!**

Evaluatie:

Gemiddelde-min/max

CD59: 25,4% ± 12,7%

CD59 Type II: 10,5% ± 18,7%

CD59 Type III: 21,6% ± 8,5%

- 19/22 (86% bepaald type II en III)
- 5x CD59 en CD55

Complicatie

PNH ery kloon = 66%

Type II = 46%!

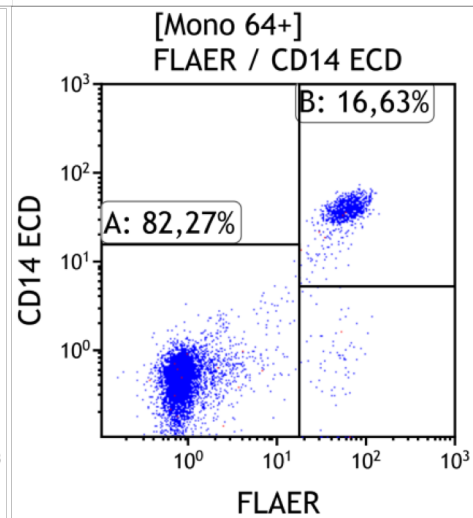
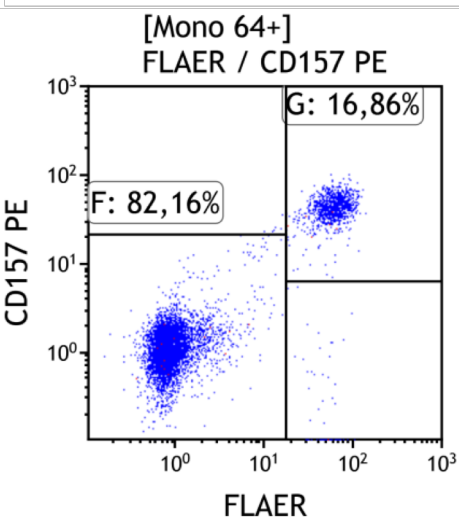
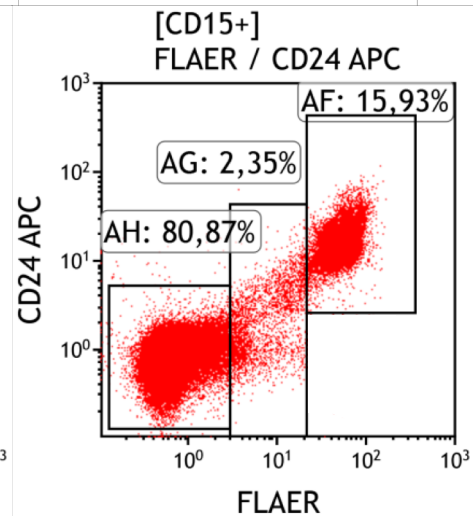
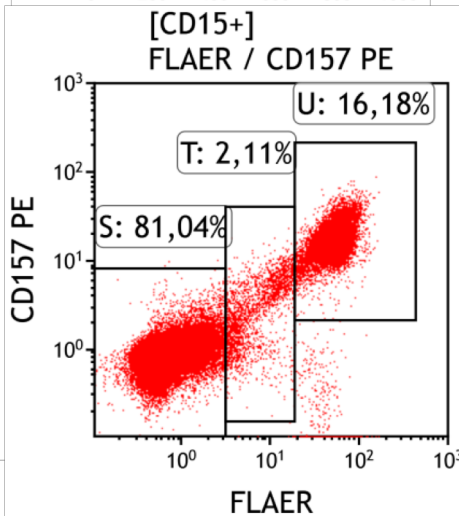
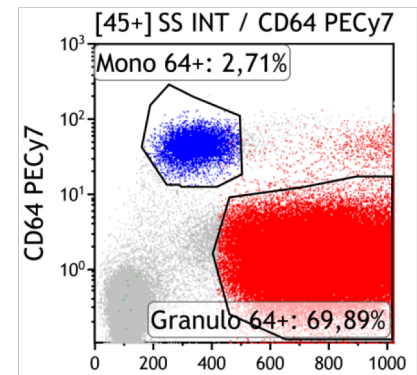
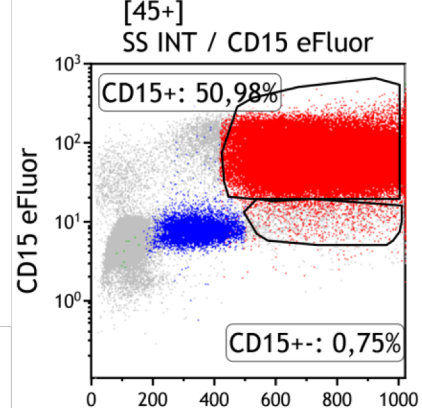
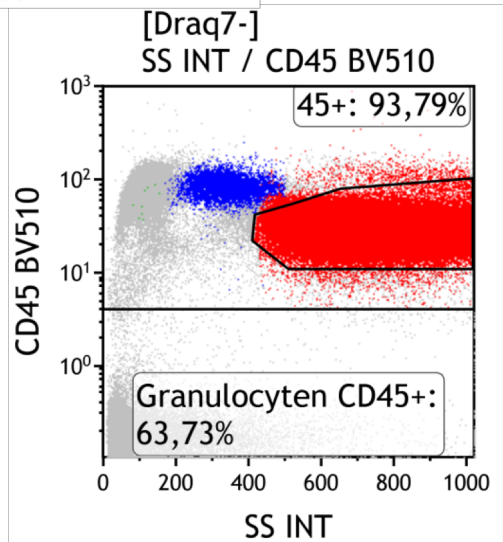
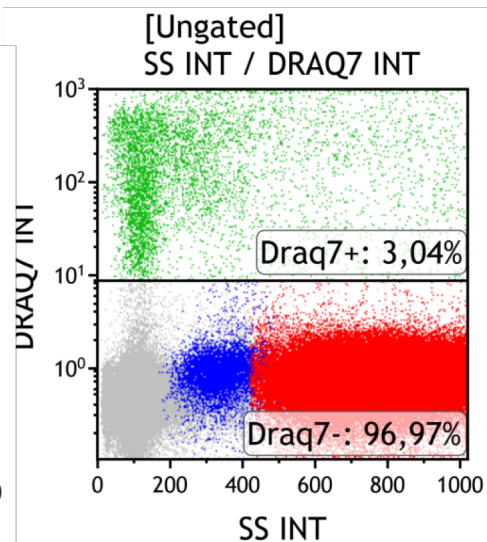
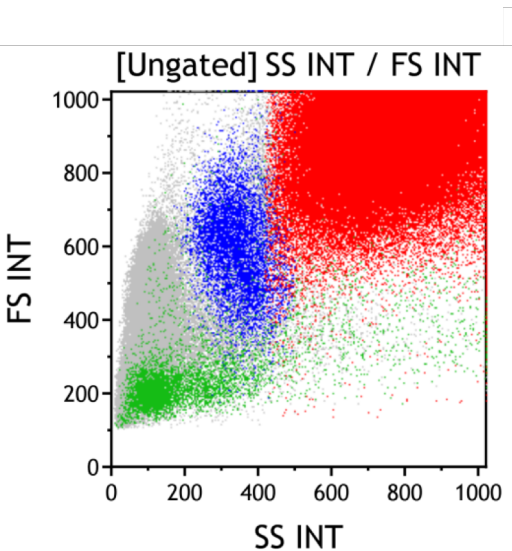
Type III = 20%

Door consensus leidt
dit tot B-score bij correcte
uitvoering.

PNH Rondzending

2018.3

Sept 2018



CD14	CD55	CD59	157	FLAER	Mono in WBC
82				82	6
82				82	7
86			86	86	6
83				83	4
86,7				84,3	4,3
97				94	9
82				82	6,9
79				79	5
73				73	5
83				83	7
			79	79	3,7
				81	7
			84	84	5
90				87	6
84				83	5
83				83	8
82				82	6
82				82	6
82			82	82	7
84				93	3,1
82,6				82,6	6
	83			82	6,2
85				85	5
			86	86	6
88				88	3,3
79				79	3,5
87				86	5
83	83			83	5
			79	79	6
			84	84	6
84			84	84	4
		64	79	79	4,7
85				85	9
84				84	6
80				80	6
83				83	7

CD16	CD24	CD55	CD59	157	FLAER	Grans in WBC
	82				82	50
	81				81	37
				81	81	44
	87				85	42
	84,1				82,9	57,2
	99				94	64
	76				76	60,9
					76	43
	77				77	58
	82				82	51
	84			84	84	36,5
					80	49
				85	85	43
	85				87	47
	79				81	50
	84				84	51
	79				79	55
	83		82		83	59
	79			80	80	39
	82				82	53,7
85,9					81	41,6
	82	82			80,2	50
	80				80	52
				81	81	50
					88	52,2
80	81				80	28
82	82				82	55
	80	80			80	39
					83	51
				81	81	52
83	83				83	70
			72	81	81	46
	80				80	56
		77	79			46
	82				82	59
	82				82	53
	81				81	50

Monocyten

-Bepaald door: 36/37

- Geen CD14: 8/36

6x CD157

CD157: 9x

1x CD55

-FLAER: 36/36 (!)

CD14: 83,5% ± 2,6%

FLAER: 83,1% ± 2,9%

Granulocyten

-Bepaald door: 37/37

-FLAER: 36/37

-Geen CD24: 11/37

-i.p.v CD24:

-2x alleen

FLAER

-5x CD157

-2x CD55/CD59

CD24: 81,7% ± 2,2%

FLAER: 81,7% ± 2,4%

PNH 2018.3

	PNH kloon Ery	PNH kloon Mono	PNH kloon Granulo
	%	%	%
Gemiddeld	29	83	82
SD	18	3	3

	Pre	Ana	Post
Pre = MoAb + cellijn			
#A	35	22	23
#B	2	15	11
Ana = Percentages van MoAbs en cellijn in bloed			
#C	0	0	3
Post = % Kloongrootte in target populaties			
%A	95	60	62
%B	5	41	30
%C	0	0	8

Conclusies

1. Score d.m.v. “nieuwe” richtlijnen (vanaf 1-1-2015). Dit betekent geen ery's maar wel neutro's en twee reagentia per lijn: A-score! (**zie richtlijnen voor score**). Pre-ana score is daardoor goed.
2. Nog steeds te vaak geen PNH kloon in erythrocyten bepaald (37 – 37 – 39%).
3. Indien PNH in ery's: 92% - 100% bepaald type II en type III
4. Gating: CD45/CD64/CD15.
 1. Monocyten: CD14 of CD157 en FLAER
 2. Granulocyten: CD24 en FLAER (Alternatief: CD157 en FLAER). CD157 gebruik neemt toe i.p.v. en naast CD24.
 3. Erythrocyten: CD59.
5. Analytische en post-analytische score: veel B-scores.
6. **Foutieve type II/III bepaling bij velen leidt tot B-score bij juiste bepaling!**

2019 Qbase for rapportage en rapporten

skml Instellingen

Bestand Help

Methodieken Opmerkingen

Bepaling
✓ Telling
✓ CD55 (RBC)
✓ CD59 (RBC)
✓ CD14 PNH Kloon (monocyten)
✓ CD55 PNH Kloon (monocyten)
✓ CD59 PNH Kloon (monocyten)
✓ FLAER PNH Kloon (monocyten)
✓ CD16 PNH Kloon (neutrofielen)
✓ Conclusie PNH kloon (type II + III)

Apparaat: AAS Solaar M6 *

Methode: Lyse Stain Wash *

Opmerking:

Producent: Thermo Electron Corporation

Lotnummer:

Expiratiedatum:

* = Verplichte velden

A. van Geel PNH diagnostiek 2018.1

Bestand

Materiaal : Serum.
(vrije tekst verplicht!)

Patiëntgegevens: Patiëntgegevens.
(vrije tekst Optioneel).

Vraag: PNH diagnostiek.
(vrije tekst Optioneel).

Opmerkingen: Opmerkingen.
(vrije tekst Optioneel).

Resultaten Opmerkingen Verdiepingsvragen

CFB PNH diagnostiek 2018.1

skml Resultaten

Bestand Help

Resultaten

Telling

Witte bloed cellen	<input type="text" value="25"/>	10 ⁹ /L
Monocyten (binnen WBC)	<input type="text" value="8"/>	%
Neutrofielen (binnen WBC)	<input type="text" value="38"/>	%

CD55 (RBC)

CD55 PNH Kloon totaal (RBC)	<input type="text" value="27"/>	%
CD55 Type II cellen (RBC)	<input type="text" value="0"/>	%
CD55 Type III cellen (RBC)	<input type="text" value="27"/>	%

CD59 (RBC)

CD59 PNH kloon totaal (RBC)	<input type="text" value="27"/>	%
CD59 Type II cellen (RBC)	<input type="text" value="0"/>	%
CD59 Type III cellen (RBC)	<input type="text" value="27"/>	%

PNH Kloon monocyten

CD14 PNH Kloon (monocyten)	<input type="text" value="97"/>	%
CD55 PNH Kloon (monocyten)	<input type="text"/>	%
CD59 PNH Kloon (monocyten)	<input type="text"/>	%
FLAER PNH Kloon (monocyten)	<input type="text" value="97"/>	%

PNH Kloon neutrofielen

CD16 PNH Kloon (neutrofielen)	<input type="text"/>	%
-------------------------------	----------------------	---

















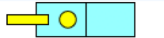


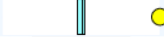




Conclusie PNH kloon (type II + III)

Rode bloedcellen	<input type="text" value="27"/>	%
Monocyten	<input type="text" value="97"/>	%
Neutrofielen	<input type="text" value="92"/>	%

Resultaten Opmerkingen

A. van Geel PNH diagnostiek 2018.1

PNH diagnostiek 2018.1

Bepaling		Juistheid				Precisie		Performance			
		uw gem.	ref.	cons.	SDtl	uw SD	SDbl	deze ronde	PS	cumulatief	PSc
<u>Telling</u>											
Witte bloed cellen	10 ⁹ /L	25.00		25.00	0.00						
Monocyten (binnen WBC)	%	8.00		7.69	0.71						
Neutrofielen (binnen WBC)	%	35.00		30.59	8.01						
<u>CD55 (RBC)</u>											
CD55 PNH Kloon totaal (RBC)	%	53.00		40.00	19.26						
CD55 Type III cellen (RBC)	%	53.00		40.00	19.26						
<u>CD59 (RBC)</u>											
CD59 PNH kloon totaal (RBC)	%	53.00		33.51	18.25						
CD59 Type III cellen (RBC)	%	53.00		26.78	27.37						
<u>PNH Kloon monocyten</u>											
CD14 PNH Kloon (monocyten)	%	95.0		96.0	1.5						
FLAER PNH Kloon (monocyten)	%	95.0		96.0	1.2						
<u>Conclusie PNH kloon (type II + III)</u>											
Rode bloedcellen	%	53.00		33.51	18.25						
Monocyten	%	95.0		96.0	1.2						
Neutrofielen	%	92.0		92.0	1.7						

PNH diagnostiek 2018.1

Monster : **A** Serum.(vrije tekst verplicht!)

Patiënt : Patiëntgegevens.
(vrije tekst Optioneel).

Vraag : PNH diagnostiek.
(vrije tekst Optioneel).

Opmerkingen : Opmerkingen.
(vrije tekst Optioneel).

Telling	Expertwaarden	Uw uitslagen
Witte bloed cellen	25.00 ^M 10 ⁹ /L	25 10 ⁹ /L
Monocyten (binnen WBC)	7.69 ^M %	8 %
Neutrofielen (binnen WBC)	30.59 ^M %	35 %
CD55 (RBC)	Expertwaarden	Uw uitslagen
CD55 PNH Kloon totaal (RBC)	40.00 ^M %	53 %
CD55 Type III cellen (RBC)	40.00 ^M %	53 %
CD59 (RBC)	Expertwaarden	Uw uitslagen
CD59 PNH kloon totaal (RBC)	33.51 ^M %	53 %
CD59 Type III cellen (RBC)	26.78 ^M %	53 %
PNH Kloon monocyten	Expertwaarden	Uw uitslagen
CD14 PNH Kloon (monocyten)	96.0 ^M %	95 %
FLAER PNH Kloon (monocyten)	96.0 ^M %	95 %
Conclusie PNH kloon (type II + III)	Expertwaarden	Uw uitslagen
Rode bloedcellen	33.51 ^M %	53 %
Monocyten	96.0 ^M %	95 %
Neutrofielen	92.0 ^M %	92 %

M = Methodegroepconsensus

Beoordeling conform uitslag enquête (rood=aanpassing)

I. Pre-analytische fase

Indien een PNH kloon aanwezig is, dient PNH kloon in minimaal granulocyten (i.v.m. bepaling van de kloongrootte) en de erythrocyten (i.v.m. klinische relevantie) bepaald te worden en minimaal twee MoAbs per cellijn. In dat geval is de beoordeling als volgt:

A. PNH kloon bepaald in:

Granulocyten en erythrocyten	A
Alleen granulocyten	B
Alleen erythrocyten	C
Alleen monocyten	C

B. Minimaal twee markers tegen GPI-verankerde antigenen per celpopulatie bepaald:

2 Markers of meer (FLAER + MoAb; Erythrocyten minimaal CD59)	A
2 Markers (MoAbs zonder FLAER) of alleen FLAER	B
1 MoAb	C

De richtlijnen bestaan uit aanbevelingen en zijn niet bindend. Hiermee is rekening gehouden bij de beoordeling.

A+A = A; **A+B=A**; B+B=B; A+C=B; etc.

Beoordeling conform uitslag enquête (rood=aanpassing)

II. Analytische fase

- Het **percentage** positiviteit van de markers wordt beoordeeld.
- Een marker wordt beoordeeld bij rapportage door **≥10 deelnemers** tenzij de waarde zeer sterk afwijkt van de groep (minimaal 5 deelnemers).
- Het percentage PNH kloon dat bepaald is met een bepaalde marker, wordt beoordeeld op basis van het **SD-verschil van het gemiddelde** van de groep na uitsluiting van de hoogste en laagste waarde.

Resultaat is $\leq 1x$ SD A per marker

Resultaat is $> 1x$ en $\leq 2x$ SD B per marker

Resultaat is $> 2x$ SD C per marker

De score wordt bepaald op basis van de som van aantal A's, B's, C's gedeeld door het aantal beoordeelde onderdelen (op basis van A=3, B=2, C=1)

Bijv. $7xA + 5xB + 2xC$ (1 onderdeel niet beoordeeld door heterogene verdeling of te weinig rapporterende deelnemers, etc.) = $33/14 = 2,4 = B$

$>2,5 = A$

$1,5-2,5 = B$

$<1,5 = C$

Om variatie door uitbijters te nivelleren: introductie van z-score

Beoordeling conform uitslag enquête (rood=aanpassing)

III. Post-analytische fase

1. PNH-kloon in granulocyten (%) beoordeling op basis van **SD verschil van gemiddelde**
2. PNH-kloon in monocyten (%) beoordeling op basis van **SD verschil van gemiddelde**
3. PNH-kloon in erythrocyten (%) beoordeling op basis van **SD verschil van gemiddelde**

Resultaat is $\leq 1x$ SD	A	A-B-A = AB-B-A = B A+B=B
Resultaat is $> 1x$ en $\leq 2x$ SD	B	A-B-C = B C-C-B = C B+C=C
Resultaat is $> 2x$ SD	C	B-C-B = B

SD op basis van gemiddelde gecorrigeerd voor hoogste en laagste waarde.

Om variatie door uitbijters te nivelleren: introductie van z-score

Deze wijzigingen zijn reeds in 2015 doorgevoerd