

Richtlijnen voor beoordeling positiviteit van markers



Positiviteit bestaat bij de gratie van een negatieve controle; de mate van positiviteit (zwak versus sterk) tevens bij een positieve controle. Om de interpretatie van markers in de immunofenotypering te uniformeren zijn de onderstaande richtlijnen opgesteld. De toepasbaarheid van deze richtlijnen zal n.a.v. de data van de rondzendingen voorjaar 2014 en heranalyse van de rondzending 2013.4 worden geëvalueerd en indien nodig worden bijgesteld.

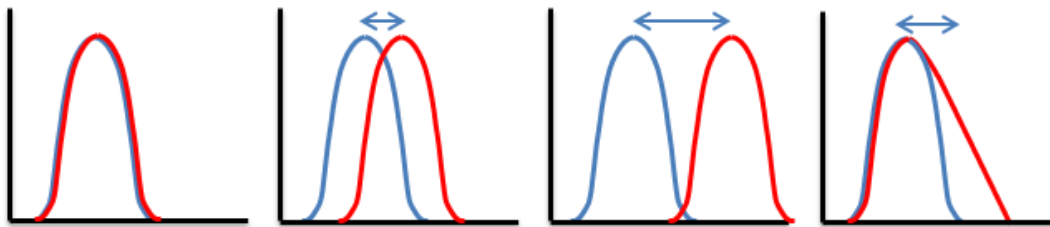
1. **Keuze negatieve controle.** Als negatieve controle dienen (indien mogelijk) rijpe T cellen in hetzelfde monster te worden gebruikt. Dit kan als er rijpe T cellen aanwezig en te identificeren zijn en als de te analyseren marker niet op rijpe T cellen voorkomt. Indien aan deze voorwaarden niet wordt voldaan kunnen andere lymfocyten (B-cellen of NK-cellen) of de totale lymfocytenpopulatie als negatieve controle fungeren.
2. **Keuze positieve controle.** Als positieve controle dient de expressie van een marker op een normale tegenhanger gebruikt te worden. Dit kunnen rijpe lymfocyten zijn (vb CD3 op rijpe T cellen en CD19 op rijpe B cellen) of onrijpe voorlopercellen (vb CD34 op voorlopercellen). Een vergelijkbare expressie op de afwijkende populatie als op de normale tegenhanger noemen we dan “sterk” in navolging van het WHO2008 (pg 150).
3. **Definitie positief.** Om de positiviteit van een marker vast te stellen dient het quotiënt van de gemiddelde fluorescentie intensiteit (MFI) van de afwijkende en de negatieve populatie te worden gebruikt. Als het verschil (= uitkomst quotiënt) groter is dan 10 (dus >1 log verschil), dan noemen we de afwijkende populatie positief voor die marker. Als het quotiënt van de MFI van de marker op de afwijkende populatie en de relevante controle tussen de 3.3 en 10 is (halve tot 1 log verschil), wordt de marker als positief, zwak gescored. Bij homogene populaties wordt de MFI van de gehele populatie gebruikt; indien de marker heterogeen tot expressie komt wordt enkel de MFI van het positieve deel gebruikt,

Voorbeelden.

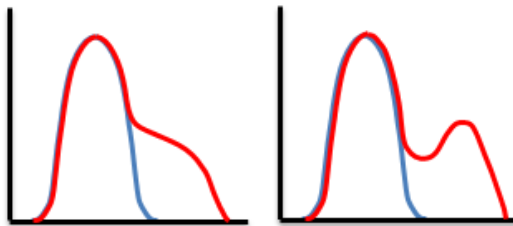
1. Hele populatie vertoont positiviteit
 - a. Gemiddelde fluorescentie intensiteit (MFI) voor een CD marker op de afwijkende populatie (rode curves) wordt vergeleken met een relevante controle (blauwe curves).
 - b. Positief is indien het quotiënt van de MFI van de afwijkende populatie en de MFI van de relevante controle (blauwe curve) >10 .
 - c. Zwak positief is indien het quotiënt van de MFI van de afwijkende populatie en de MFI van de relevante controle (blauwe curve) tussen 3.3 en 10 ligt.
 - d. Eerste figuur: negatief (0%), tweede, derde en vierde figuur positief (100%) indien voldaan wordt aan definitie onder b of c.
2. Een deel van de populatie is positief (schouder met “knik”)

- a. Het quotiënt van de MFI van het positieve deel van de populatie (de “schouder”) en de MFI van de relevante controle (blauwe curve) moet tussen 3.3-10 (zwak positief) of >10 (positief) zijn. Tevens wordt hier % positiviteit genoemd.
3. Een deel van de populatie is positief (bimodale verdeling)
- a. Ook hier moet het quotiënt van de MFI van het positieve deel van de afwijkende populatie en de relevante controle (blauwe curve) tussen 3.3-10 (zwak positief) of >10 (positief) zijn. Ook hier wordt het % positiviteit benoemd.

Ad 1.



Ad 2.



Ad 3.

