

NVC cursus 2019

Broncho Alveolaire Lavages (BAL)

analyse en beoordeling resultaten

Carin Koelman
medisch immunoloog
Meander MC

Onderwerpen die aan bod zullen komen

- Analyse
- Postanalyse
- Presentatie in LIS
- Casuïstiek

Consensusprotocol BAL werkgroep 2016

- Rendement:
 - 60 %: goed rendement
 - 30% en < 60%: matig rendement
 - < 30%: slecht rendement
- Aspect:
 - Kleur (kleurloos/ rood/ wit/ bruin)
 - Homogeniciteit (helder/ troebel/ vlokkerig)
 - Slijm (weinig/ veel slijm)
- Celtelling:
 - Op onbehandeld, maar gefiltreerd BAL materiaal.
 - eenheid $10^4/\text{mL}$
- Ery/leuko ratio:
 - Goede indicatie voor actuele bloedbijmenging
 - BAL: 10-20
 - PB: >350
- Voorbehandeling FACS analyse
 - BAL: Erylysis (NH_4CL) vooraf (lyse/stain/wash)
 - PB: volbloedmethode (stain/lyse/wash).

Beoordeling Cytocentrifuge preparaten (MGG kleuring)

Beoordeel in ieder geval de volgende aspecten (tel minstens 300 leukocyten):

- differentiatie:

- % neutrofiele granulocyten
- % eosinofiele granulocyten
- % mestcellen
- % plasmacellen
- % lymfocyten
- % macrofagen

- fagocytose

- afwijkingen in het algemeen

- specifieke afwijkingen zoals aanwezigheid van:

- epitheel (plaveisel- en/of trilhaarepitheel)
- (veel) bacteriën
- asbestlichaampjes (hele preparaat doorscannen!)
- schuimmacrofagen
- rozetvorming van lymfocyten rondom macrofagen
- inluitsels aanwezig in cellen
- beoordeling hemosiderine in macrofagen na ijzerkleuring

Analyse immunofenotyperingsonderzoek

minimaal protocol: meet ten minste 2000 events binnen de lymfogate (SSC/CD45).

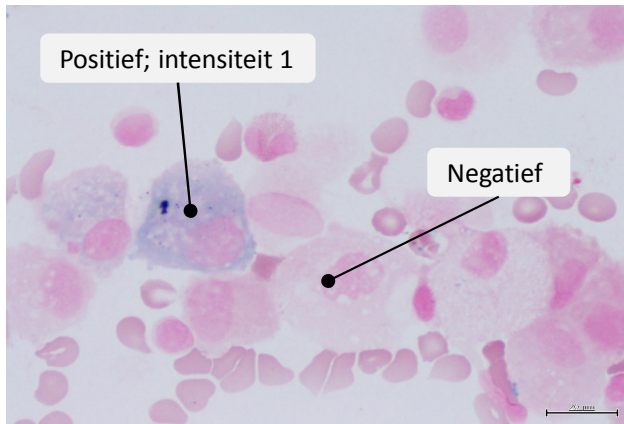
- CD45 als pan-leukocyten merker.
- CD3, CD4 en CD8 ter bepaling van T-cellen en CD4/CD8 ratio binnen de T-cellen.
- CD19, CD56, ter bepaling B-cellen en NK-cellen respectievelijk.
- CD103 ter bepaling van de CD103CD4/CD4 ratio. Een ratio < 0.2 verhoogt de sensitiviteit voor sarcoïdose.

Eventueel aanvullen met:

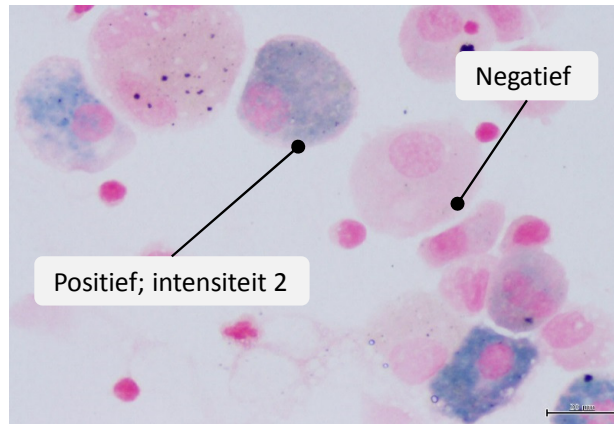
- SmlgKappa/SmlgLambda indien B-lymfocyten $>5\%$ van de leukocyten.
- HLA-DR op CD3+ T cellen ter bepaling van geactiveerde T-cellen.
- Een combinatie van CD11c, CD16, CD45,CD13.33 ter bepaling van (eosinofiele) granulocyten.
- CD1a bij vraagstelling histiocytose.

Beoordeling ijzerkleuring BAL materiaal

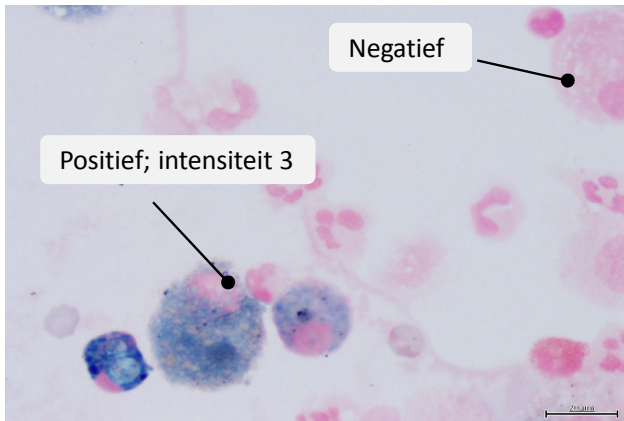
50x vergroting, schaal is 20µm



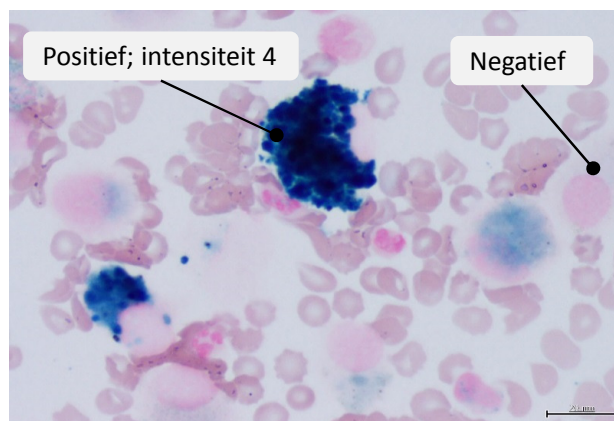
Golde score: 20



Golde score: 95



Golde score: 133



Golde score: 176

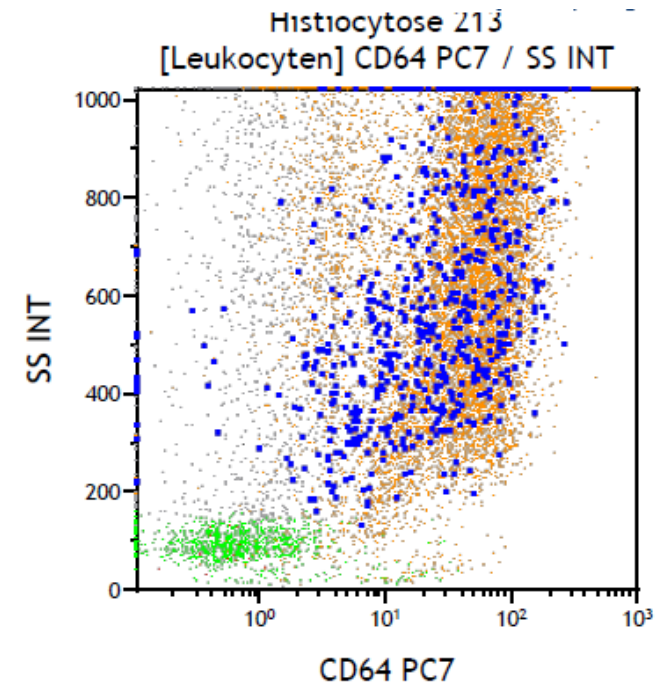
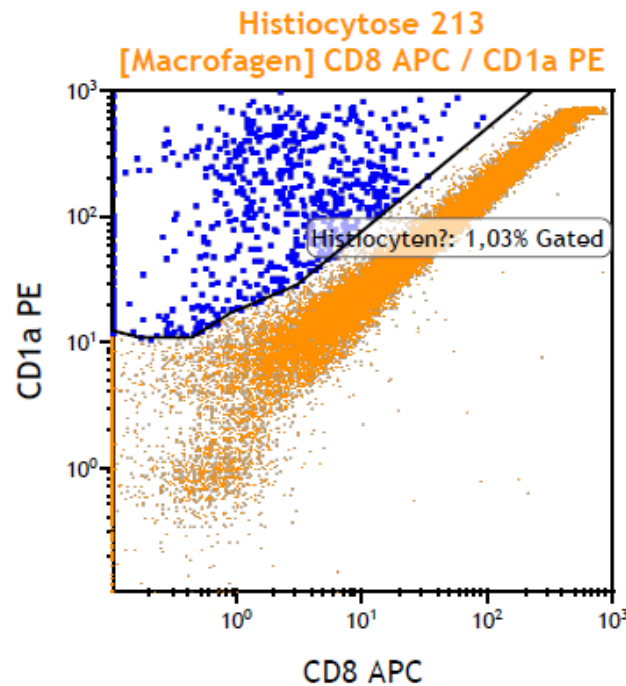
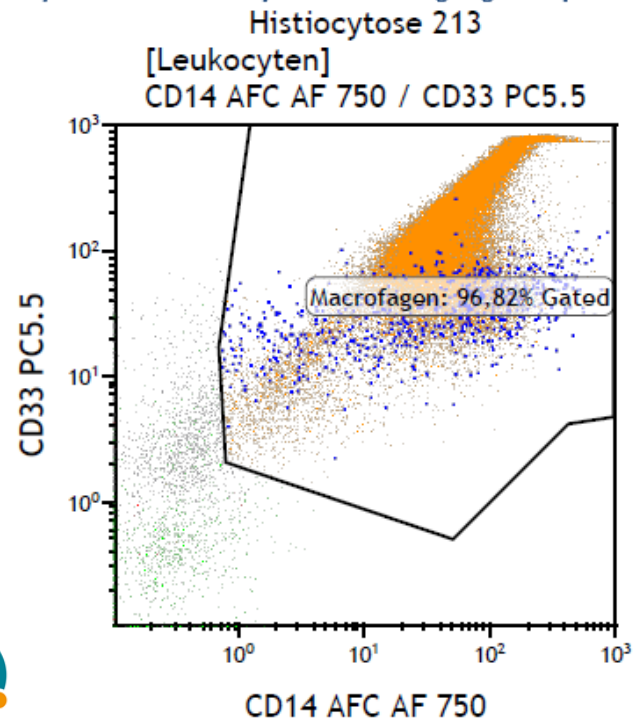
Golde score=
Intensiteit x % van de macrofagen
(er kan dus ook met twee
verschillende intensiteiten
gerekend worden)

Ref.w. score ijzerkleuring:
<20 negatief
20 - 100 dub
100-300 matige bloeding
300 - 400 ernstige bloeding

Histiocytose vraagstelling: CD1a

- Histiocytosen en macrofagen vertonen veel aspecifieke (FcR) binding

- 1) Gating op FSC/SSC
- 2) Gating op CD45+
- 3) Binnen de leukocyten de macrofagen gaten op basis van CD33+/CD14+



Controles analyse zowel in BAL als in PB

T + B + Nk-Lymfocyten / Lymfocyten(% binnen de leukocyten)
(=Lymfosium)

T+B+Nk-lymfocyten	28,13
Lymfocyten	28,07
Lymfosum %	100,19

- Lymfosum

- CD4+CD8: >80% CD3 (als lager controleer of dit is t.g.v. TCR-GD+ T-cellen)
- granulocyten+monocyten+lymfocyten: >90% van CD45 gate

Rapportage

Rapportage formulier immunofenotyperingen BAL

Afname datum: 04-Apr-19
Materiaal: BAL en Volbloed
Opmerkingen:

Vraagstelling: organiserende pneumonie
Medicatie: geen
Longsegment: rechter middenkwab

Conclusie:

In de BAL-vloeistof is het cel aantal verhoogd. Het betreft een forse toename van T-lymfocyten en in mindere mate van mestcellen en granulocyten. Plasmacellen zijn niet aanwezig, macrofagen zijn nauwelijks aantoonbaar. Binnen de T-celpopulatie is de CD4/CD8 ratio verlaagd, ook t.o.v. die in het perifere bloed (resp. 0.5 vs. 4.8).

Conclusie: Forse lymfocytair alveolitis welke goed kan passen bij een EAA of COP. Het lage percentage NK-cellen in de BAL pleit meer voor COP.

Dr. ir. CA. Koelman

Visueel aspect BAL:

Erythrocyten voor afdraaien	Hoog	Volume in(ml)	150
Erythrocyten na afdraaien	Hoog	Volume uit(ml)	100
Kleuraspect	rood	Rendement(%)	66,67
Homogeniteit	helder	Ref. waarden	
Stijmerigheid	weinig	Goed	>60%
Roken	Nee	Matig	30-60%
		Slecht	<30%

Legenda:

NR= Niet Rokers
R= Rokers

Percentages:

Absolute aantallen:

Ratio

BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

in%	x10e4/ml	Ref. w. x10e4/ml
Leukocyten 99,52	Leukocyten 50,0	NR: 4,7-16
SSC / CD45-negatief 0,35		R: 8,1-45,5
Erythrocyten 1100		
Ery/Leuko ratio 22		

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

in%	x10e9/L	Ref. w. x10e9/L
Leukocyten 98,21	Leukocyten 9,7	1,5-11,0
SSC / CD45-negatief 1,76		
Erythrocyten 3970		
Ery/Leuko ratio 409		

Samenstelling van de leukocyten

in %	x10e4/ml	Ref. w. x10e4/ml
Granulocyten 14,95	7,48	
Neutrofiële (2) 4,92	2,46	<0,7
Eosinofiele (2) 11,95	5,98	<0,3
Macrofagen 2,03	1,02	NR: 1,1-15,9 R: 7,3-44,7
Lymfocyten 80,56	40,28	0,2-3,7
T-lymfocyten 75,75	37,88	0,3-3,5
B-lymfocyten 0,41	0,21	<0,1
NK-lymfocyten 3,04	1,52	<0,15
Plasmacellen 0,01	0,01	<0,1
Totaal 97,56	48,80	NR: 4,7-18 R: 8,1-45,5

Samenstelling van de leukocyten

in %	x10e9/L	Ref. w. x10e9/L
Granulocyten 70,70	6,86	
Neutrofiële (2) 68,05	6,60	1,5-8,0
Eosinofiele (2) 2,49	0,24	0-0,5
Monocyten 4,33	0,42	0,1-0,8
Lymfocyten 24,23	2,35	1,5-4,0
T-lymfocyten 15,98	1,55	0,9-2,8
B-lymfocyten 2,68	0,26	0,1-0,4
NK-lymfocyten 4,87	0,47	0,1-0,5
Plasmacellen Niet bep.	Niet bep.	<0,1
Totaal 99,26	9,63	4,5-11,0

2) Onder evaluatie

Meander Medisch Centrum
Medische Immunologie
Postbus 1502
3400 BM Amersfoort
Tel: 033 850 20 87
033 850 26 24

Dr. ir. C.A. Koelman
medisch immunoloog
Tel: 033 850 20 85

CCKL

BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

in %	Ref. w. in %
T-lymfocyten 95,64	87-99
B-lymfocyten 0,52	0,1-3
NK-lymfocyten 3,84	1-12

Samenstelling van de T-lymfocyten

in %	x10e4/ml	Ref. w. x10e4/ml
CD4+ 32,65	CD4+ 12,37	0,1-1,7
CD8+ 64,21	CD8+ 24,32	0,04-1,7
CD103- 57,77		
HLA-DR+ 29,25		
TCR-AB+ 95,19		
TCR-GD+ 4,81		

CD4+/CD8+ ratio 0,51 Ref. w. 0,6-5,5
CD4+& CD103+/CD4+(1) 0,14
CD8+& CD103+/CD8+(2) 0,57
BAL/Bloed, CD4+/CD8+ 0,11 NR: 0,3-3,0
R: 0,1-1,3

1) Een ratio < 0.2 kan een aanwijzing zijn voor sarcoidose (specifiteit gaat van 70 naar 90%). Zie Heron et al Clin. Immunol. 2008 en Kollop-Sarda et al Lab. Invest. 2000.
2) Onder evaluatie

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

in %	Ref. w. in %
T-lymfocyten 67,90	66-85
B-lymfocyten 11,39	7-20
NK-lymfocyten 20,71	4-17

Samenstelling van de T-lymfocyten

in %	x10e9/L	Ref. w. x10e9/L
CD4+ 81,31	CD4+ 1,26	0,5-1,7
CD8+ 16,86	CD8+ 0,26	0,3-0,8
CD103- 99,39		
HLA-DR+ 2,54		
TCR-AB+ 98,75		
TCR-GD+ 1,25		

CD4+/CD8+ ratio 4,82 Ref. w. 0,9-2,8
CD4+&CD103+/CD4+ 0,00
CD8+&CD103+/CD8+(2) 0,02

Manuele differentiatie (microscopisch)

in %	Ref. w. in %
Granulocyten 11,1	0,2-4,3
Neutrofiële 3,7	0,1-3,5
Eosinofiele 12,2	0-1
Mestcellen 18,1	85-95
Macrofagen 54,9	<15%
Plasmacellen <0,1	<1%
Totaal 100	99-100

Opmerkingen:

Erythrocyten +++
Rozetvorming -
Trilhaarepithel -
Schuimige macrofagen ++
Overige cellen -
Asbest niet beoordeeld
Bacterien -
Fagocyterende macrofagen -

Ijzerkleuring van de macrofagen

Intensiteit	Ref. w. score ijzerkleuring:
0	<20 negatief
0	20 - 100 dub
0	100-300 matige bloeding
0	300 - 400 ernstige bloeding

Volbloed (hematologie analyzer)

in %	Ref. w. in %
Granulocyten 64	40-80
Neutrofiële 2	0-4
Bazofiele 1	0-2
Monocyten 7	1-12,8
Lymfocyten 26	15-35
Plasmacellen <0,1	<0,1
Totaal 100	99-100

Meander Medisch Centrum
Medische Immunologie
Postbus 1502
3400 BM Amersfoort
Tel: 033 850 20 87
033 850 26 24

Dr. ir. C.A. Koelman
medisch immunoloog
Tel: 033 850 20 85

CCKL

Referentiewaarden

- Heron M, Grutters JC, ten Dam-Molenkamp KM, Hijdra D, van Heugten-Roeling A, Claessen AM, Ruven HJ, van den Bosch JM, van Velzen-Blad H. Bronchoalveolar lavage cell pattern from healthy human lung. Clin Exp Immunol. 2012 Mar;167(3):523-31.

Casus 1: v geb. 1936

Vraagstelling: organiserende pneumonie

Medicatie: geen

Longsegment: rechter middenkwab

Visueel aspect BAL

Erythrocyten voor afdraaien	Hoog	Volume in(ml)	150
Erythrocyten na afdraaien	Hoog	Volume uit(ml)	100
Kleuraspect	rood	Rendement(%)	66,67
Homogeniteit	helder	Ref.waarden	
Slijmerigheid	weinig	Goed	>60%
Roker	Nee	Matig	30-60%
		Slecht	<30%

Legenda:

NR= Niet Rokers

R= Rokers

Percentages

Absolute aantallen

Ratio

BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

	in%	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
Leukocyten	99,52	50.0	NR: 4,7-18
SSC / CD45-negatief	0,35		R: 8,1-45.5
Erythrocyten		1100	
Ery/Leuko ratio		22	

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

	in%	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
Leukocyten	98,21	9.7	4,5-11,0
SSC / CD45-negatief	1,76		
Erythrocyten		3970	
Ery/Leuko ratio		409	

Manuele differentiatie (microscopisch)

	in %	Ref.w. in %
Granulocyten		
Neutrofiële	11,1	0,2-4,3
Eosinofiele	3,7	0,1-3,5
Mestcellen	12,2	0-1
Macrofagen	18,1	85-95
Lymfocyten	54,9	<15%
Plasmacellen		<0,1
Totaal	100	99-100

Opmerkingen:

Erythrocyten	+++
Rozetvorming	-
Trilhaarepitheel	-
Schuimige macrofagen	++
Overige cellen	-
Asbest	niet beoordeeld
Bacterien	-
Fagocyterende macrofagen	-

ijzerkleuring van de macrofagen		Ref.w. score ijzerkleuring:
Intensiteit	0	<20 negatief
Percentage positief	0	20 - 100 dub
Score (int x %)	0	100-300 matige bloeding
		300 - 400 ernstige bloeding

Volbloed (hematologie analyzer)

	in %	Ref.w. in %
Granulocyten		
Neutrofiële	64	40-80
Eosinofiele	2	0-4
Basofiele	1	0-2
Monocyten	7	1-12,8
Lymfocyten	26	15-35
Plasmacellen		<0,1
Totaal	100	99-100

Flowcytometrische analyse

Samenstelling van de leukocyten

	in %	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
Granulocyten	14,95	7,48	
Neutrofiële (2)	4,92	2,46	<0,7
Eosinofiele (2)	11,95	5,98	<0,3
Macrofagen	2,03	1,02	NR: 4,1-15,9. R: 7,3-44,7
Lymfocyten	80,56	40,28	0,2-3,7
T-lymfocyten	75,75	37,88	0,3-3,5
B-lymfocyten	0,41	0,21	<0,1
Nk-lymfocyten	3,04	1,52	<0,15
Plasmacellen	0,01	0,01	<0,1
Totaal	97,56	48,80	NR: 4,7-18. R: 8,1-45,5

2) Onder evaluatie

Samenstelling van de leukocyten

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
Granulocyten	70,70	6,86	
Neutrofiële (2)	68,05	6,60	1,5-8,0
Eosinofiele (2)	2,49	0,24	0-0,5
Monocyten	4,33	0,42	0,1-0,8
Lymfocyten	24,23	2,35	1,5-4,0
T-lymfocyten	15,98	1,55	0,9-2,8
B-lymfocyten	2,68	0,26	0,1-0,4
Nk-lymfocyten	4,87	0,47	0,1-0,5
Plasmacellen	Niet bep.	Niet bep.	<0,1
Totaal	99,26	9,63	4,5-11,0

2) Onder evaluatie

BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	95,64	87-99
B-lymfocyten	0,52	0,1-3
Nk-lymfocyten	3,84	1-12

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
CD4+	32,65	CD4+ 12,37	0,1-1,7
CD8+	64,21	CD8+ 24,32	0,04-1,7
CD103-	57,77		
HLA-DR+	29,25		
TCR-AB+	95,19		
TCR-GD+	4,81		

CD4+/CD8+ ratio	0,51	Ref.w. 0,6-5,5
CD4& CD103+/CD4+(1)	0,14	
CD8& CD103+/CD8+(2)	0,57	
BAL/Bloed, CD4+/CD8+	0,11	NR: 0,3-3,0 R: 0,1-1,3

- 1) Een ratio < 0.2 kan een aanwijzing zijn voor sarcoidose (specifiteit gaat van 70 naar 90%). Zie Heron et al Clin. Immunol. 2008 en Kollop-Sarda et al Lab. Invest. 2000.
- 2) Onder evaluatie

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	67,90	66-85
B-lymfocyten	11,39	7-20
Nk-lymfocyten	20,71	4-17

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
CD4+	81,31	CD4+ 1,26	0,5-1,7
CD8+	16,86	CD8+ 0,26	0,3-0,8
CD103-	99,39		
HLA-DR+	2,54		
TCR-AB+	98,75		
TCR-GD+	1,25		

CD4+/CD8+ ratio	4,82	Ref.w. 0,9-2,8
CD4&CD103+/CD4+	0,00	
CD8&CD103+/CD8+(2)	0,02	

Conclusie:

In de BAL-vloeistof is het celaantal verhoogd. Het betreft een forse toename van T-lymfocyten en in mindere mate van mestcellen en granulocyten. Plasmacellen zijn niet aanwezig, macrofagen zijn nauwelijks aantoonbaar. Binnen de T-celpopulatie is de CD4/CD8 ratio verlaagd, ook t.o.v. die in het perifere bloed (resp. 0.5 vs. 4.8).

Conclusie: Forse lymfocyttaire alveolitis welke goed kan passen bij een EAA of COP. Het lage percentage NK-cellen in de BAL pleit meer voor COP.

Conclusie Longarts:

laboratorium onderzoek 4-4-2019

Hb 7.2 Leu 9.7 geen eosinofilie

BAL middenkwab 4-4-2019

Endobronchiaal geen afwijkingen

-microbiologie:

PCR virale en atypische verwekkers negatief

Schimmel negatief

TBC negatief

Banale kweek negatief

-cytologie: Conclusie

BAL MK: benigne celbeeld passend bij een acute ontsteking. Geen maligniteit. Geen granulomen.

-Immunologie verslag:

In de BAL-vloeistof is het celaantal verhoogd. Het betreft een forse toename van T-lymfocyten en in mindere mate van mestcellen en granulocyten. Plasmacellen zijn niet aanwezig, macrofagen zijn nauwelijks aantoonbaar. Binnen de T-celpopulatie is de CD4/CD8 ratio verlaagd, ook t.o.v. die in het perifere bloed (resp. 0.5 vs. 4.8).

Conclusie: Forse lymfocyttaire alveolitis welke goed kan passen bij een EAA of COP. Het lage percentage NKcellen in de BAL pleit meer voor COP.

Conclusie

recidief organiserende pneumonie

Vorige keer de prednison snel na 1,5 -2 maand gestopt nadat recept niet goed doorgekomen bleek te zijn

Schoolvoorbeeld EAA?

Samenstelling van de leukocyten

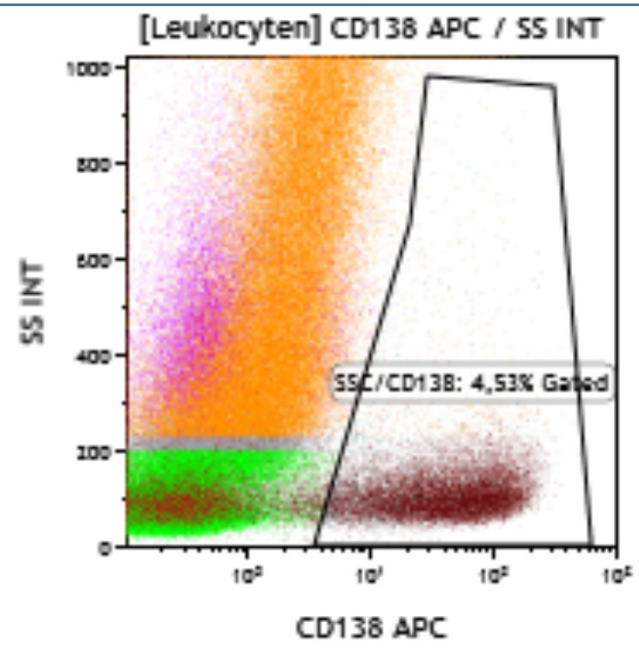
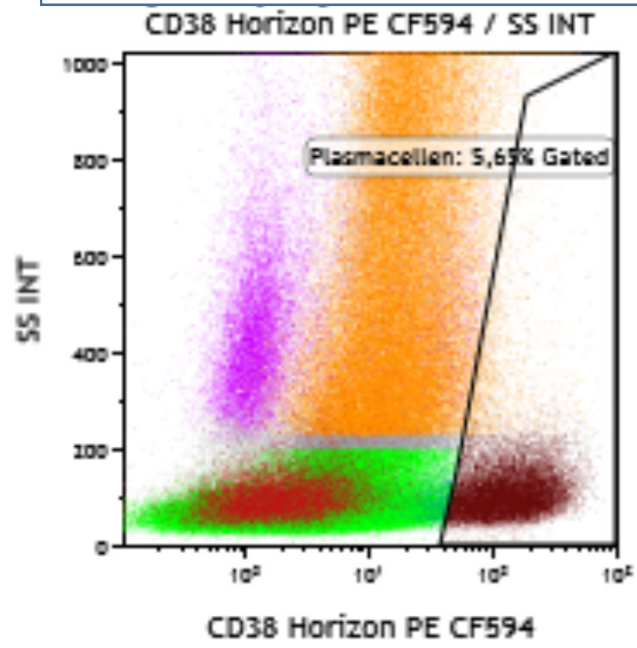
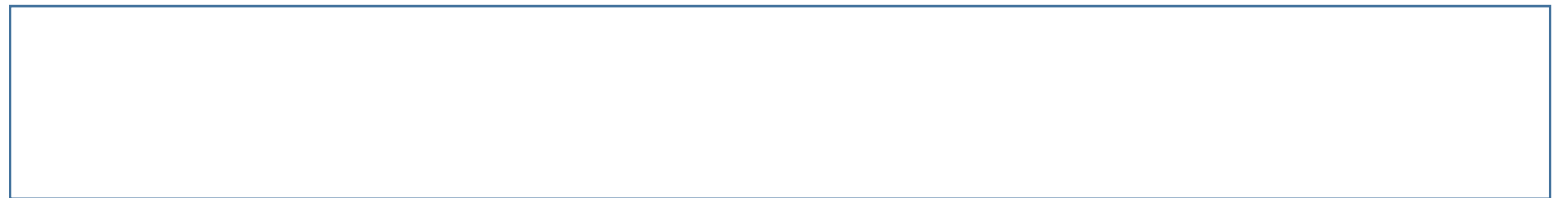
	in %	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
Granulocyten	5,04	3,13	
Neutrofiële (2)	3,41	2,11	<0,7
Eosinofiele (2)	1,04	0,64	<0,3
Macrofagen	40,22	24,93	NR: 4,1-15,9. R: 7,3-44,7
Lymfocyten	53,39	33,10	0,2-3,7
T-lymfocyten	33,00	20,46	0,3-3,5
B-lymfocyten	5,80	3,60	<0,1
Nk-lymfocyten	6,04	3,75	<0,15
Plasmacellen	5,65	3,50	<0,1
Totaal	104,29	61,47	NR: 4,7-18. R: 8,1-45,5

2) Onder evaluatie

Samenstelling van de leukocyten

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
Granulocyten	59,25	3,79	
Neutrofiële (2)	55,57	3,56	1,5-8,0
Eosinofiele (2)	3,28	0,21	0-0,5
Monocyten	5,75	0,37	0,1-0,8
Lymfocyten	34,03	2,18	1,5-4,0
T-lymfocyten	22,13	1,42	0,9-2,8
B-lymfocyten	3,24	0,21	0,1-0,4
Nk-lymfocyten	7,22	0,46	0,1-0,5
Plasmacellen	Niet bep.	Niet bep.	<0,1
Totaal	99,03	6,34	4,5-11,0

2) Onder evaluatie



BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	73,59	87-99
B-lymfocyten	12,94	0,1-3
Nk-lymfocyten	13,47	1-12

Samenstelling van de B-lymfocyten

	in %	Ref.w.
Kappa	58.50	
Lambda	31.54	
Kappa/Lambda=	1,85	0,9-2,4

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
CD4+	50,21	CD4+ 10,27	0,1-1,7
CD8+	32,40	CD8+ 6,63	0,04-1,7
CD103-	57,17		
HLA-DR+	4,98		
TCR-AB+	82,71		
TCR-GD+	17,29		

CD4+/CD8+ ratio	1,55	Ref.w.	0,6-5,5
CD4& CD103+/CD4+(1)	0,05		
CD8& CD103+/CD8+(2)	0,80		
BAL/Bloed, CD4+/CD8+	0,25	NR: 0,3-3,0	R: 0,1-1,3

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	67,92	66-85
B-lymfocyten	9,94	7-20
Nk-lymfocyten	22,15	4-17

Samenstelling van de B-lymfocyten

	in %	Ref.w.
Kappa	56.81	
Lambda	35.35	
Kappa/Lambda=	1,61	0,9-2,4

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
CD4+	82,17	CD4+ 1,16	0,5-1,7
CD8+	13,37	CD8+ 0,19	0,3-0,8
CD103-	99,82		
HLA-DR+	0,45		
TCR-AB+	97,20		
TCR-GD+	2,80		

CD4+/CD8+ ratio	6,14	Ref.w.	0,9-2,8
CD4&CD103+/CD4+	0,00		
CD8&CD103+/CD8+(2)	0,01		

Conclusie:

In de BAL-vloeistof is het celtaantal verhoogd. Het betreft een m.n. een forse toename van lymfocyten (voornamelijk T-cellen, maar ook van B- en NK cellen) en in mindere mate van granulocyten en plasmacellen. Binnen de T-celpopulatie is de CD4/CD8 ratio in de BAL normaal (1.6). In het perifere bloed daarentegen is er binnen de T-celpopulatie een sterk verhoogde CD4/CD8 ratio (6.1) als gevolg van een verlaagd aantal CD8+ T-cellen.

Het geheel kan goed passen bij een EAA of een COP. Het verhoogde aantal NK-cellen past meer bij EAA.

Casus 2: m geb. 1972

Vraagstelling: Sarcoidose
Medicatie: Geen
Longsegment: Rechter middenkwab

Visueel aspect BAL

Erythrocyten voor afdraaien	Laag	Volume in(ml)	150
Erythrocyten na afdraaien	Middel	Volume uit(ml)	50
Kleuraspect	Kleurloos	Rendement(%)	33
Homogeniciteit	Vlokkerig	Ref.waarden	
Slijmerigheid	Weinig	Goed	>60%
Roker	Nee	Matig	30-60%
		Slecht	<30%

Legenda:

NR= Niet Rokers
R= Rokers

Percentages

Absolute aantallen

Ratio

BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

	in%	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
Leukocyten	96,32	8	NR: 4,7-18
SSC / CD45-negatief	2,30		R: 8,1-45.5
Erythrocyten		100	
Ery/Leuko ratio		12.5	

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

	in%	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
Leukocyten	97,84	4.7	4,5-11,0
SSC / CD45-negatief	2,07		
Erythrocyten		4860	
Ery/Leuko ratio		1034	

Manuele differentiatie (microscopisch)

	in %	Ref.w. in %
Granulocyten		
Neutrofiële	3.8	0,2-4,3
Eosinofiele	1.2	0,1-3,5
Mestcellen	0.2	0-1
Macrofagen	82.8	85-95
Lymfocyten	12.1	<15%
Plasmacellen		<0,1
Totaal	100	99-100

Opmerkingen:

Erythrocyten	-
Rozetvorming	-
Trilhaarepitheel	+++
Schuimige macrofagen	-
Overige cellen	-
Asbest	niet beoordeeld
Bacterien	+/-
Fagocyterende macrofagen	-

ijzerkleuring van de macrofagen

Intensiteit	0
Percentage positief	0
Score (int x %)	0

Ref.w. score ijzerkleuring:

<20	negatief
20 - 100	dub
100-300	matige bloeding
300 - 400	ernstige bloeding

Volbloed (hematologie analyzer)

	in %	Ref.w. in %
Granulocyten		
Neutrofiële	67	40-80
Eosinofiele	4	0-4
Basofiele	1	0-2
Monocyten	12	1-12,8
Lymfocyten	15	15-35
Plasmacellen		<0,1
Totaal	100	99-100

Samenstelling van de leukocyten

	in %	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
Granulocyten	8,12	0,65	
Neutrofiële (2)	2,52	0,20	<0,7
Eosinofiele (2)	14,22	1,14	<0,3
Macrofagen	70,64	5,65	NR: 4,1-15,9. R: 7,3-44,7
Lymfocyten	11,49	0,92	0,2-3,7
T-lymfocyten	10,13	0,81	0,3-3,5
B-lymfocyten	1,02	0,08	<0,1
Nk-lymfocyten	0,59	0,05	<0,15
Plasmacellen	0,00	0,00	<0.1
Totaal	90,25	7,22	NR: 4,7-18. R: 8,1-45,5

2) Onder evaluatie

Samenstelling van de leukocyten

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
Granulocyten	80,41	3,78	
Neutrofiële (2)	74,77	3,51	1,5-8,0
Eosinofiele (2)	5,56	0,26	0-0,5
Monocyten	5,70	0,27	0,1-0,8
Lymfocyten	12,56	0,59	1,5-4,0
T-lymfocyten	5,76	0,27	0,9-2,8
B-lymfocyten	1,71	0,08	0,1-0,4
Nk-lymfocyten	3,80	0,18	0,1-0,5
Plasmacellen	Niet bep.	Niet bep.	<0.1
Totaal	98,68	4,64	4,5-11,0

2) Onder evaluatie

BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	86,26	87-99
B-lymfocyten	8,72	0,1-3
Nk-lymfocyten	5,02	1-12

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
CD4+	85,00	0,69	0,1-1,7
CD8+	8,79	0,07	0,04-1,7
CD103-	89,98		
HLA-DR+	9,85		
TCR-AB+	94,52		
TCR-GD+	5,48		

CD4+/CD8+ ratio	9,68	Ref.w.	0,6-5,5
CD4& CD103+/CD4+(1)	0,07		
CD8& CD103+/CD8+(2)	0,52		
BAL/Bloed, CD4+/CD8+	4,81	NR: 0,3-3,0	R: 0,1-1,3

1) Een ratio < 0.2 kan een aanwijzing zijn voor sarcoidose (specifiteit gaat van 70 naar 90%). Zie Heron et al Clin. Immunol. 2008 en Kollop-Sarda et al Lab. Invest. 2000.

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	51,13	66-85
B-lymfocyten	15,15	7-20
Nk-lymfocyten	33,72	4-17

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
CD4+	60,53	0,16	0,5-1,7
CD8+	30,07	0,08	0,3-0,8
CD103-	98,37		
HLA-DR+	2,15		
TCR-AB+	93,21		
TCR-GD+	6,78		

CD4+/CD8+ ratio	2,01	Ref.w.	0,9-2,8
CD4&CD103+/CD4+	0,01		
CD8&CD103+/CD8+(2)	0,06		

Conclusie:

De BAL had een matig rendement, hetgeen de analyse minder betrouwbaar maakt.

In de BAL-vloeistof is het celaantal normaal en is de celverdeling lymfocyten/granulocyten/macrofagen niet afwijkend. Wel is binnen de T-celpopulatie de CD4/CD8 ratio sterk verhoogd (9.7), ook t.o.v. die in het perifere bloed (2.0) . In het perifere bloed is het aantal T-cellen duidelijk verlaagd (zowel CD4+ als CD8+ T-cellen).

Conclusie: Hoewel er geen sprake is van alveolitis kan het verlaagde aantal T-cellen in het perifere bloed in combinatie met de sterk verhoogde CD4/CD8 ratio in de BAL toch passen bij Sarcoidose. Ook de niet-mucosale oorsprong van de T-cellen in de BAL (CD103 negatief) geeft hier extra steun voor.

Conclusie Longarts:

Aanvullend onderzoek

Ct-thorax

CONCLUSIE:

Beeld van sarcoidose met mediastinale en hilaire lymfadenopathie en pulmonale betrokkenheid. Multipele gebieden met airtrapping bij expiratie dit kan ook gezien worden bij sarcoidose.

Lab : geen afwijkingen

Longfunctie : iets obstructie, verder gb

ECG: incompleet RBTB

Urine gb

Lab; allergisch huisstofmijt en boompollen

Ace en sil2r zijn niet verhoogd

Bal

Conclusie: Hoewel er geen sprake is van alveolitis kan het verlaagde aantal T-cellen in het perifere bloed in combinatie met de sterk verhoogde CD4/CD8 ratio in de BAL toch passen bij Sarcoidose. Ook de niet-mucosale oorsprong van de T-cellen in de BAL (CD103 negatief) geeft hier extra steun voor.

Ogen ; gb

Conclusie

Wrs sarcoidose met in de longfunctie lichte obstructie dd astma

Ook een afwijkingen ecg : cardiale sarcoidose ?

Effect foster: minder dyspnoe

Casus 3: m geb. 1951

Vraagstelling: EAA, Fibrose

Medicatie: Alirocumab, xarelto, coversyl, metformine, diamac..., tildiem

Longsegment: rechter middenkwab

Opmerkingen:

Landbouwverleden, stofinhalatie.

Visueel aspect BAL

Erythrocyten voor afdraaien	hoog	Volume in(ml)	150
Erythrocyten na afdraaien	hoog	Volume uit(ml)	75
Kleuraspect	rood	Rendement(%)	50
Homogeniciteit	troebel/vlokkerig	Ref.waarden	
Slijmerigheid	weinig	Goed	>60%
Roker	gestopt sinds 1994	Matig	30-60%
		Slecht	<30%

Legenda:

NR= Niet Rokers

R= Rokers

Percentages

Absolute aantallen

Ratio

BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

	in%	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
Leukocyten	74,11	29.0	NR: 4,7-18
SSC / CD45-negatief	0,43		R: 8,1-45.5
Erythrocyten		3700	
Ery/Leuko ratio		127.59	

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

	in%	x10e9/L	Ref.w. x10e9
Leukocyten	93,29	15.7	4,5-11,0
SSC / CD45-negatief	6,62		
Erythrocyten		3670	
Ery/Leuko ratio		234	

Manuele differentiatie (microscopisch)

	in %	Ref.w. in %
Granulocyten		
Neutrofiële	24.9	0,2-4,3
Eosinofiele	1.3	0,1-3,5
Mestcellen	0.3	0-1
Macrofagen	71	85-95
Lymfocyten	2.2	<15%
Plasmacellen	0.1	<0,1
Totaal	99,80	99-100

Opmerkingen:

Erythrocyten	++
Rozetvorming	-
Trilhaarepitheel	++
Schuimige macrofagen	++
Overige cellen	Epitheel ++
Asbest	niet beoordeeld
Bacterien	+++
Fagocyterende macrofagen	+(bacteriën)

ijzerkleuring van de macrofagen		Ref.w. score ijzerkleuring:
Intensiteit	1	<20 negatief
Percentage positief	3	20 - 100 dub
Score (int x %)	3	100-300 matige bloeding
		300 - 400 ernstige bloeding

Volbloed (hematologie analyzer)

	in %	Ref.w. in %
Granulocyten		
Neutrofiële	77	40-80
Eosinofiele	5	0-4
Basofiele	1	0-2
Monocyten	8	1-12,8
Lymfocyten	10	15-35
Plasmacellen	-	<0,1
Totaal	100	99-100

Samenstelling van de leukocyten

	in %	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
Granulocyten	45	22,61	
Neutrofiële (2)	46,97	13,62	<0,7
Eosinofiele (2)	0,09	0,02	<0,3
Macrofagen	26,12	7,57	NR: 4,1-15,9. R: 7,3-44,7
Lymfocyten	2,91	0,84	0,2-3,7
T-lymfocyten	1,49	0,43	0,3-3,5
B-lymfocyten	0,18	0,05	<0,1
Nk-lymfocyten	0,20	0,06	<0,15
Overig, epitheel?	15,26	4,43	<0.1
Totaal	89,30	33,35	NR: 4,7-18. R: 8,1-45,5
2) Onder evaluatie			

Samenstelling van de leukocyten

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
Granulocyten	81,96	12,87	
Neutrofiële (2)	75,28	11,82	1,5-8,0
Eosinofiele (2)	7,23	1,14	0-0,5
Monocyten	4,93	0,77	0,1-0,8
Lymfocyten	11,12	1,75	1,5-4,0
T-lymfocyten	6,96	1,09	0,9-2,8
B-lymfocyten	1,70	0,27	0,1-0,4
Nk-lymfocyten	1,94	0,31	0,1-0,5
Plasmacellen	Niet bep.	Niet bep.	<0.1
Totaal	98,01	15,39	4,5-11,0
2) Onder evaluatie			

BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	79,90	87-99
B-lymfocyten	9,48	0,1-3
Nk-lymfocyten	10,63	1-12

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
CD4+	24,64	0,11	0,1-1,7
CD8+	65,23	0,28	0,04-1,7
CD103-	35,83		
HLA-DR+	5,59		
TCR-AB+	96,75		
TCR-GD+	3,25		

CD4+/CD8+ ratio	0,38	Ref.w. 0,6-5,5
CD4& CD103+/CD4+(1)	0,13	
CD8& CD103+/CD8+(2)	0,82	
BAL/Bloed, CD4+/CD8+	0,11	NR: 0,3-3,0 R: 0,1-1,3

- 1) Een ratio < 0.2 kan een aanwijzing zijn voor sarcoidose (specifiteit gaat van 70 naar 90%). Zie Heron et al Clin. Immunol. 2008 en Kollop-Sarda et al Lab. Invest. 2000.
- 2) Onder evaluatie

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	65,62	66-85
B-lymfocyten	16,06	7-20
Nk-lymfocyten	18,32	4-17

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
CD4+	73,05	0,80	0,5-1,7
CD8+	21,59	0,24	0,3-0,8
CD103-	99,12		
HLA-DR+	2,01		
TCR-AB+	99,23		
TCR-GD+	0,77		

CD4+/CD8+ ratio	3,38	Ref.w. 0,9-2,8
CD4&CD103+/CD4+	0,01	
CD8&CD103+/CD8+(2)	0,02	

Conclusie:

De BAL-vloeistof was sterk bijgemengd met bloed, bevatte epitheel cellen en had een matig rendement. Al deze bevindingen maken de analyse minder betrouwbaar.

In de BAL-vloeistof is het celaantal licht verhoogd. Het betreft een forse toename van neutrofiële granulocyten. Daarnaast worden er zeer veel bacterien waargenomen. In het perifere bloed is het leukocytengetal toegenomen.

Conclusie: Granulocyttaire alveolitis passend bij een bacteriële infectie. Er zijn geen aanwijzingen voor EAA of fibrose.

Maar longarts belt of beeld bij het volgende kan passen:

Anti MPO blijkt sterk POS (>100 IU/ml) :

Diagnose: ANCA geassocieerde vasculitis (AAV)

Leerpunt: IJzerkleuring kan negatief zijn bij AAV!

(ery/leuko ratio in BAL was wel verhoogd: 127)

Casus 4: m geb. 1953

Vraagstelling: EAA / CLL / NISP

Medicatie: Rituximab

Longsegment: Rechter middenkwab

Sinds 2009 bekend met CLL...

Anamnese bij opname

Al een week niet helemaal lekker. Kan het niet helemaal duiden, maar gewoon algehele malaise met minder eetlust en benauwdheid. Hoest niet, maar het borrelt wel wat in de borst. Geen pijn op de borst, geen pijn bij de ademhaling.

Beetje misselijk, niet braken, geen diarree.



Geen immobilisatie.

Geen vogels, geen sauna of zwembad, niet op vakantie of in het buitenland geweest. Geen andere dieren. Geen TB in de omgeving

Visueel aspect BAL

Erythrocyten voor afdraaien	Hoog	Volume in(ml)	150
Erythrocyten na afdraaien	Hoog	Volume uit(ml)	55
Kleuraspect	Rood	Rendement(%)	36,67
Homogeniciteit	Troebel / Vlokkerig	Ref.waarden	
Slijmerigheid	Weinig	Goed	>60%
Roker	Nee	Matig	30-60%
		Slecht	<30%

BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

	in %	x 10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
Leukocyten	99,68	139	NR: 4,7-18
SSC / CD45-negatief	0,34		R: 8,1-45.5
Erythrocyten		1600	
Ery/Leuko ratio		11,54	

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de totale celpopulatie

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
Leukocyten	64,60	3.6	4,5-11,0
SSC / CD45-negatief	35,40		
Erythrocyten		4010	
Ery/Leuko ratio		1114	

Manuele differentiatie (microscopisch)

	in %	Ref.w. in %
Granulocyten		
Neutrofiële	1,5	0,2-4,3
Eosinofiele	0,0	0,1-3,5
Mestcellen	0,1	0-1
Macrofagen	64,8	85-95
Lymfocyten	33,5	<15%
Plasmacellen		<0,1
Totaal	100	99-100

Opmerkingen:

Erythrocyten	++
Rozetvorming	-
Trilhaarepitheel	+
Schuimige macrofagen	++
Overige cellen	-
Asbest	niet beoordeeld
Bacterien	+
Fagocyterende macrofagen	+/-

ijzerkleuring van de macrofagen

Intensiteit	0
Percentage positief	0
Score (int x %)	0

Ref.w. score ijzerkleuring:

<20	negatief
20 - 100	dub
100-300	matige bloeding
300 - 400	ernstige bloeding

Volbloed (hematologie analyzer)

	in %	Ref.w. in %
Granulocyten		
Neutrofiële	59	40-80
Eosinofiele	0	0-4
Basofiele	0	0-2
Monocyten	5	1-12,8
Lymfocyten	37	15-35
Plasmacellen		<0,1
Totaal	101	99-100

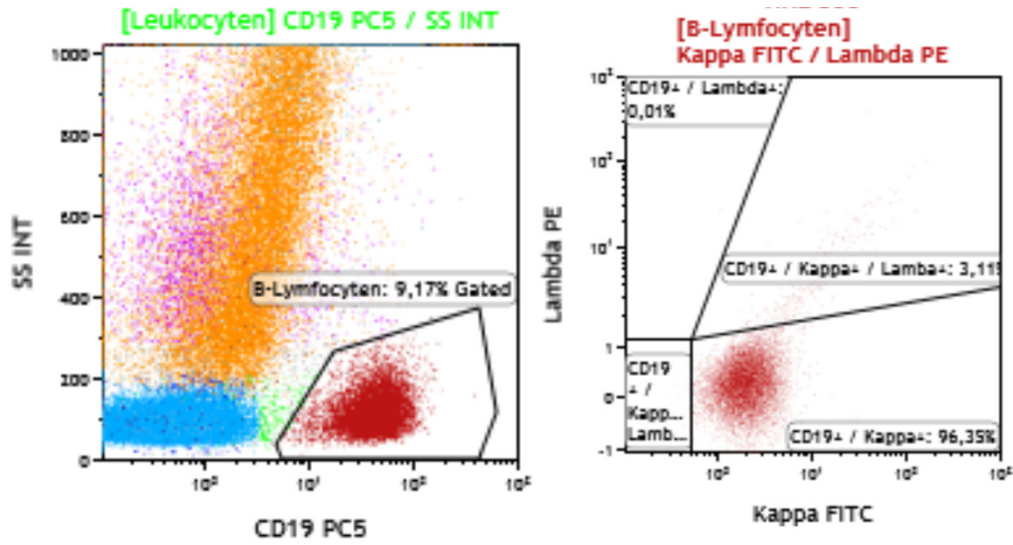
Samenstelling van de leukocyten

	in %	x 10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
Granulocyten	4,85	6,74	
Neutrofiële (2)	1,64	2,28	<0,7
Eosinofiele (2)	2,18	3,03	<0,3
Macrofagen	40,14	55,79	NR: 4,1-15,9. R: 7,3-44,7
Lymfocyten	53,53	74,41	0,2-3,7
T-lymfocyten	44,56	61,94	0,3-3,5
B-lymfocyten	8,48	11,79	<0,1
Nk-lymfocyten	0,19	0,26	<0,15
Plasmacellen	0,08	0,12	<0,1
Totaal	98,60	137,06	NR: 4,7-18. R: 8,1-45,5
2) Onder evaluatie			

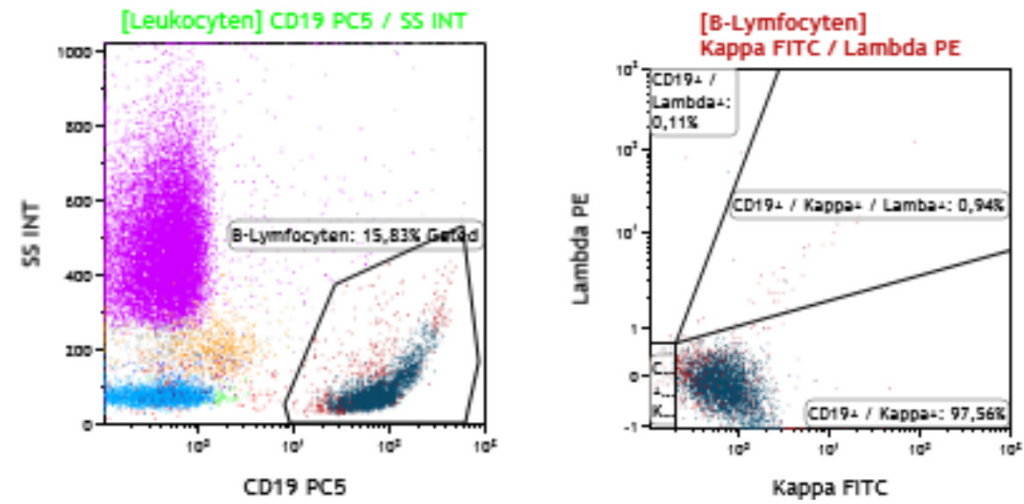
Samenstelling van de leukocyten

	in %	x 10e9/L	Ref.w. x10e9/L
Granulocyten	65,34	2,35	
Neutrofiële (2)	68,76	2,48	1,5-8,0
Eosinofiele (2)	0,20	0,01	0-0,5
Monocyten	2,23	0,08	0,1-0,8
Lymfocyten	29,80	1,07	1,5-4,0
T-lymfocyten	15,50	0,56	0,9-2,8
B-lymfocyten	13,72	0,49	0,1-0,4
Nk-lymfocyten	0,57	0,02	0,1-0,5
Plasmacellen	0,06	0,00	<0,1
Totaal	97,43	3,51	4,5-11,0
2) Onder evaluatie			

BAL



Bloed



BAL (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	83,72	87-99
B-lymfocyten	15,93	0,1-3
Nk-lymfocyten	0,35	1-12

Samenstelling van de B-lymfocyten

	in %	Ref.w.
Kappa	96,35	
Lambda	0,01	
Kappa/Lambda=	8.817,00	0,9-2,4

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x 10e4/ml	Ref.w. x10e4/ml
CD4+	60,42	CD4+ 37,42	0,1-1,7
CD8+	36,76	CD8+ 22,77	0,04-1,7
CD103-	80,87		
HLA-DR+	15,73		
TCR-AB+	96,80		
TCR-GD+	3,20		

CD4+/CD8+ ratio	1,64	Ref.w.	0,6-5,5
CD4+&CD103+/CD4+(1)	0,11		
CD8+&CD103+/CD8+(2)	0,33		
BAL/Bloed, CD4+/CD8+	12,06	NR:	0,3-3,0

Bloed (flowcytometrisch)

Samenstelling van de lymfocyten

	in %	Ref.w. in %
T-lymfocyten	52,04	66-85
B-lymfocyten	46,06	7-20
Nk-lymfocyten	1,90	4-17

Samenstelling van de B-lymfocyten

	in %	Ref.w.
Kappa	97,56	
Lambda	0,11	
Kappa/Lambda=	912,40	0,9-2,4

Samenstelling van de T-lymfocyten

	in %	x10e9/L	Ref.w. x10e9/L
CD4+	11,60	CD4+ 0,06	0,6-1,4
CD8+	85,16	CD8+ 0,48	0,2-0,8
CD103-	99,88		
HLA-DR+	26,14		
TCR-AB+	98,59		
TCR-GD+	1,41		

CD4+/CD8+ ratio	0,14	Ref.w.	0,9-2,8
CD4+&CD103+/CD4+	0,00		
CD8+&CD103+/CD8+(2)	0,00		

EAA?

CLL?

NSIP?

In de BAL-vloeistof is het celtaantal zeer sterk verhoogd. Hierbij is het percentage T-lymfocyten duidelijk toegenomen, ook is het percentage B-cellen verhoogd (8% van de leukocyten). Plasmacellen zijn niet aantoonbaar. De B-celpopulatie blijkt monoklonaal (SmlgK+/CD5+/ CD19+) en past bij de bekende CLL. Er zijn geen significante aanwijzingen voor bloedbijmenging.

In het perifere bloed is de CLL eveneens aanwezig (14% van de leukocyten). Dit percentage is toegenomen t.ov. 2016 (7-10-2016; 2% van de leukocyten).

In de BAL is de B-cel:granulocyt ratio 1.7, in het perifere bloed is dit slechts 0.2, hetgeen impliceert dat er een overmaat aan CLL cellen aanwezig is in de BAL.

Conclusie: aanwijzingen voor CLL-lokalisatie in de long met daarbij een reactieve T-celpopulatie.

Cytologie

Bronchus (BAL) 04-07-2018:

- 1) celrijk beeld met macrofagen, lymfocyten en meerkernige cellen. Er kan geen uitspraak gedaan worden tav een CLL lokalisatie.
- 2) bronchusspoelsel (zijdigheid onbekend): ontstekingsbeeld met normaal bronchusepitheel. CLL niet geheel uit te sluiten. Geen materiaal aanwezig voor aanvullende imunohistochemie.

Broncho-alveolaire lavage (04-07-2018):

PCR Pneumocystis jiroveci	Positief
PCR Mycoplasma pneumoniae	Negatief
PCR Chlamydia psittaci	Negatief
PCR Chlamydia pneumoniae	Negatief
PCR HSV type 1	Negatief
PCR HSV type 2	Negatief
PCR VZV	Negatief
PCR Cytomegalovirus	Negatief
PCR Influenza A	Negatief
PCR Influenza B	Negatief
PCR Parainfluenza type 1	Negatief
PCR Parainfluenza type 2	Negatief
PCR Parainfluenza type 3	Negatief
PCR Parainfluenza type 4	Negatief
PCR RS-virus	Negatief
PCR Adenovirus	Negatief
PCR Rhinovirus	Negatief
PCR HMPV	Negatief
PCR Coronavirus OC43	Negatief
PCR Coronavirus 229E	Negatief
PCR Coronavirus NL63	Negatief
PCR Legionella pneumoph.	Negatief
PCR Legionella non-pneum.	Negatief
PCR TBC-complex* (direct)	Negatief

Nocardiakweek: tot nu toe negatief

Actinomyceskweek: tot nu toe negatief

TBC kweek: tot nu toe negatief

Schimmeldraden: Niet gezien

Gist: Niet gezien

Aspergillus antigeen ELISA en Aspergillus Ag BAL meetbaar: volgen nog

Feceskwaken (06-07-2018):

PCR Norovirus GG1	Positief
PCR Norovirus GG2	Negatief
PCR Rotavirus (feces)	Negatief
PCR Adenovirus (feces)	Negatief
PCR STEC (STX1)	Negatief
PCR STEC (STX2)	Negatief
PCR Salmonella spp.	Negatief
PCR Shigella/EIEC	Negatief
PCR Campylobacter spp.	Negatief
PCR Yersinia spp.	Negatief

■

Conclusie

- 1) CLL in remissie, momenteel geen behandeling;
- 2) Recidief PJP;
- 3) Gastroenteritis door Norovirus infectie;

Samenvattend

- BAL analyse is niet recht toe recht aan
- Richt je in eerste instantie vooral op de vraagstelling vanuit de kliniek
- Geïntegreerde conclusie betreffende de cytomorfologie en FACS is te prefereren
- Voor de definitieve diagnose is overige diagnostiek minstens zo belangrijk
 - HRCT
 - Kweekresultaten
 - PA
 - Klinisch beeld
- **Conclusie alleen op basis geïntegreerde gegevens!**
- **Multidisciplinair**