



Analyse & Postanalyse

Flowcytometrie nascholingscursus NVC

Dr. E. Kneppers, *internist-hematoloog*

Dr. A. Gerrits, *laboratoriumspecialist klinische chemie*

20 mei 2019

@Isala

Systemen

- Flowcytometer: FACS Canto II, BD
- Flowanalyse: Infinicyt, Cytognos
- LIS: GLIMS
- ZIS: Eridanos → Hix

Overlegstructuren

- Grote visite
- MDO kliniek
- MDO diagnostiek



Patiënt 1, 60 jaar

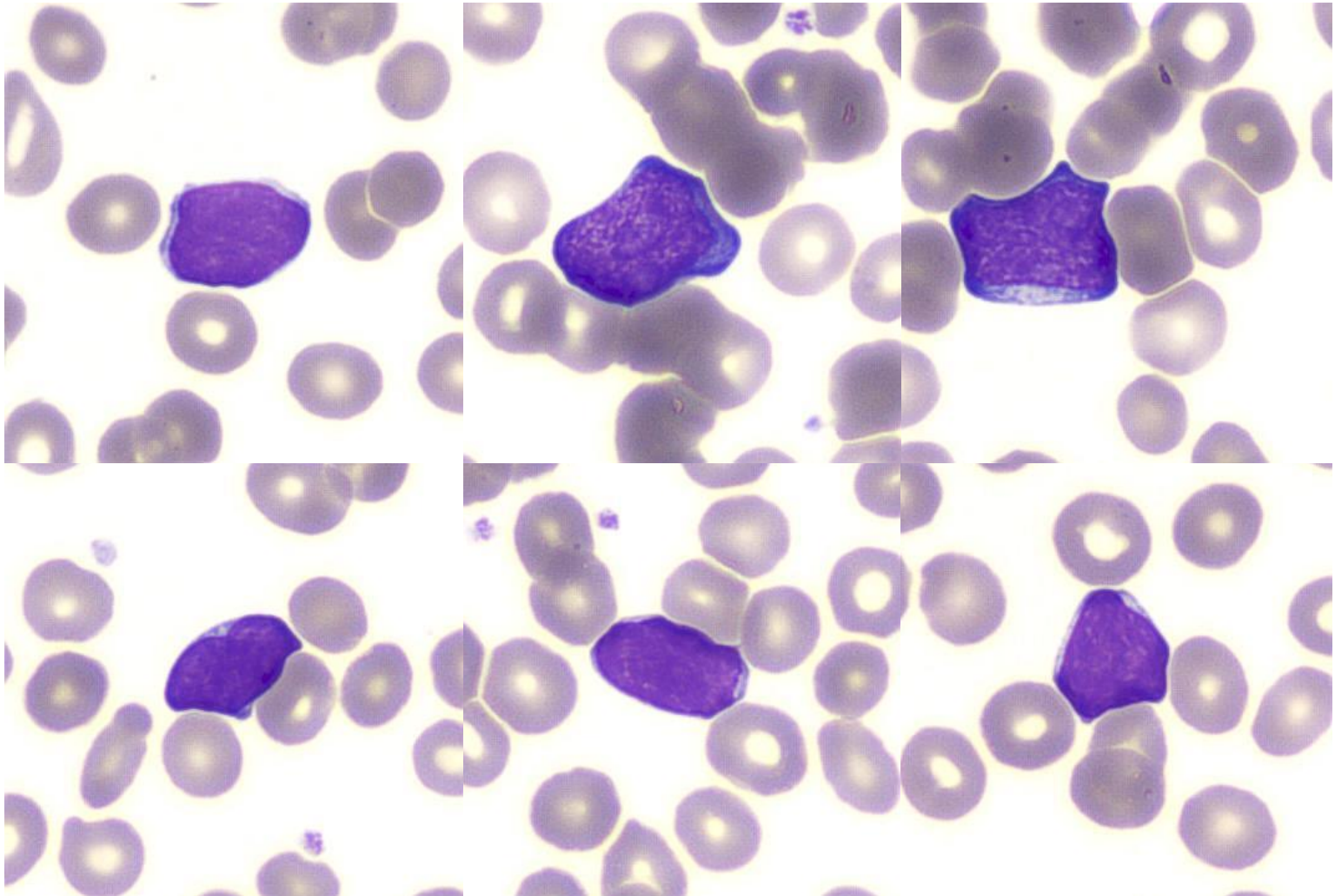
- A/ Sinds 3 weken pijn op de borst en in beide flanken, stekend. B-symptomen: Nachtzweeten. Fors gewichtsverlies.
- LO/ Niet acuut ziek. Geen perifere lymfadenopathie. Abdominaal geen hepatosplenomegalie, geen palpabele weerstanden.

Hematologie		
☐ Bezinking	114	▲
☐ Hemoglobine	6.7	▼
☐ Hematocriet	-	
☐ Erytrocyten	-	
☐ MCV	89	
☐ Trombocyten	130	▼
☐ Trombocyten (Citraatbloed)	-	
☐ Leukocyten	8.2	
☐ Reticulocyten	14	
☐ Anemie opmerking	.	
Differentiatie bloedbeeld		
☐ Erytroblasten	-	
☐ Neutrofielen	4.8	
☐ Segmenten	3.65	
☐ Staven	0.77	▲
☐ Metamyelocyten	0.12	
☐ Myelocyten	0.21	
☐ Promyelocyten	-	
☐ Lymfocyten	2.2	
☐ Monocyten	1.1	▲
☐ Eosinofielen	<0.1	
☐ Basofielen	<0.1	
☐ Blasten	0.25	▲
☐ Blasten (%)	3.0	
☐ Hypersegmentatie	-	
☐ Afwijkende lymfo's maligne	++	⚠
☐ Kapotte cellen	-	
☐ Microcytose	+	⚠
☐ Polychromasie	+	⚠
☐ Basofiele punctering	+	⚠
☐ Opmerking morfologie	-	
☐ Conclusie differentiatie bloedbeeld	.	☰

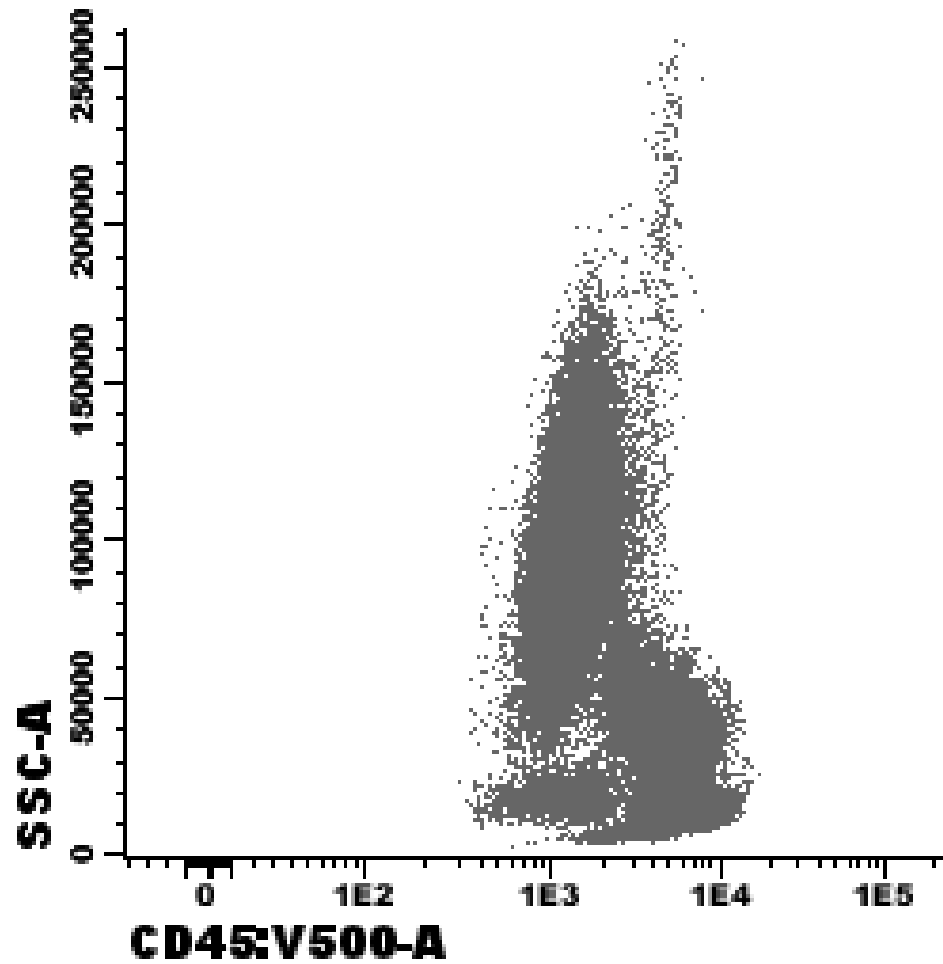
Sterk reactief bloedbeeld met daarin een monocytose, een linksverschuiving en enkele blastair ogende cellen. Immunofenotypering volgt.

Test		Ref. waarde	Eenheid
CRP	321	<5	mg/L
ALAT	19	0-45	U/L
GGT	60	<55	U/L
Ferritine	3800	30-350	µg/L

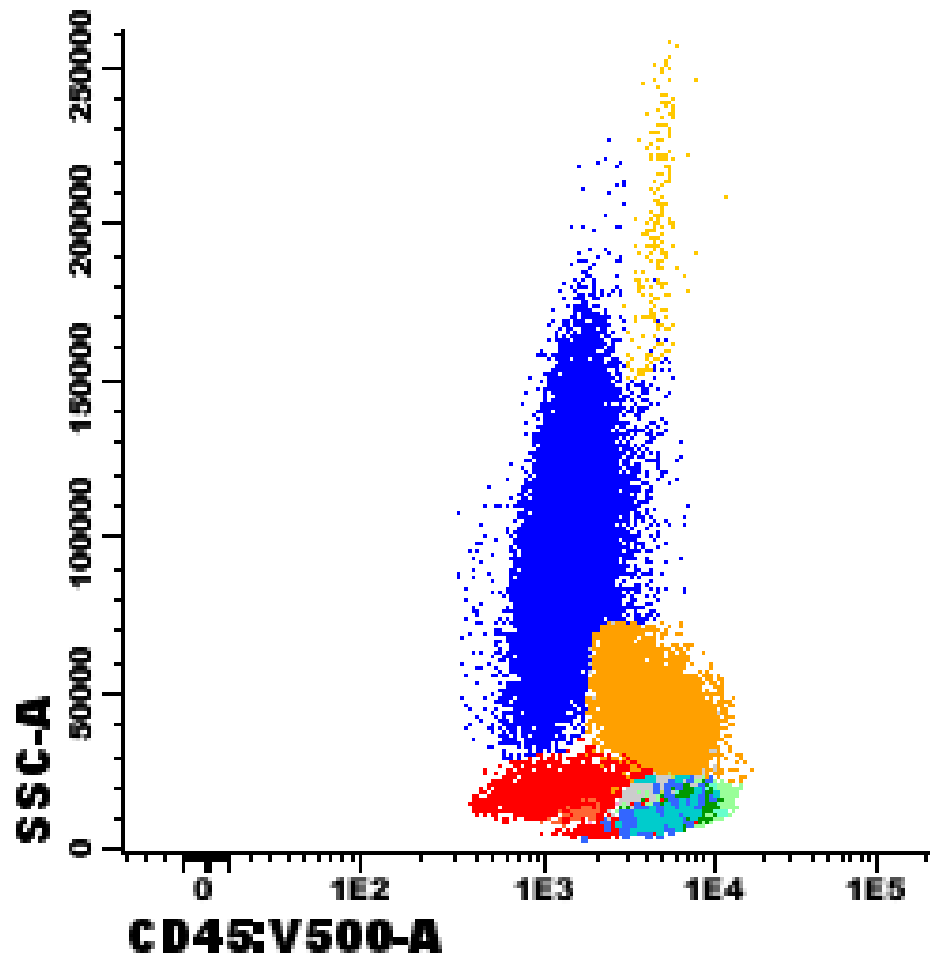
Blastair ogende cellen



CD45/SSC plot



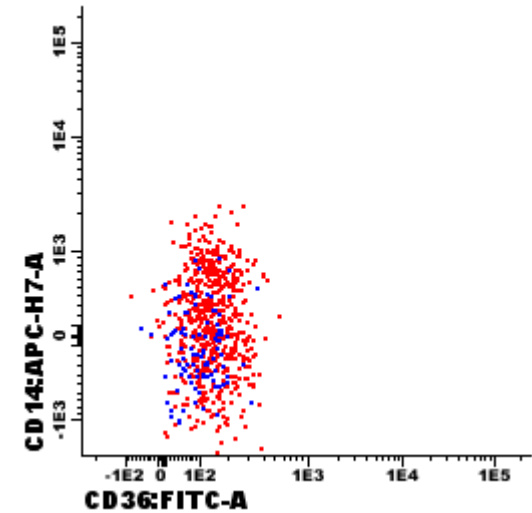
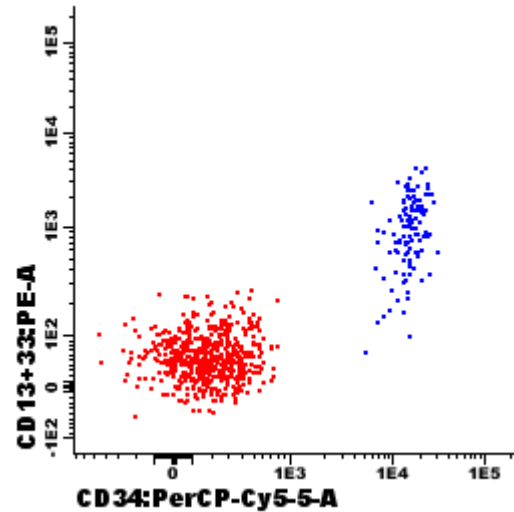
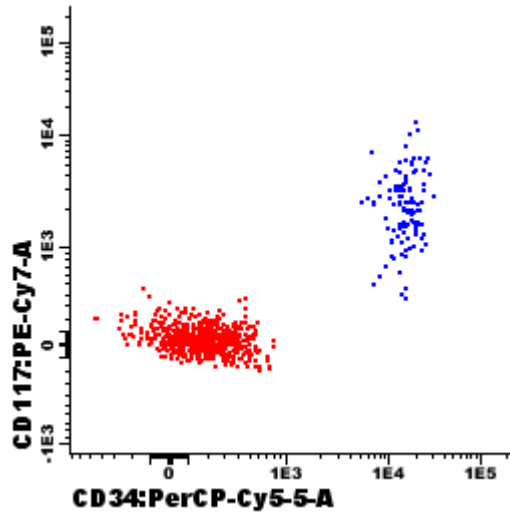
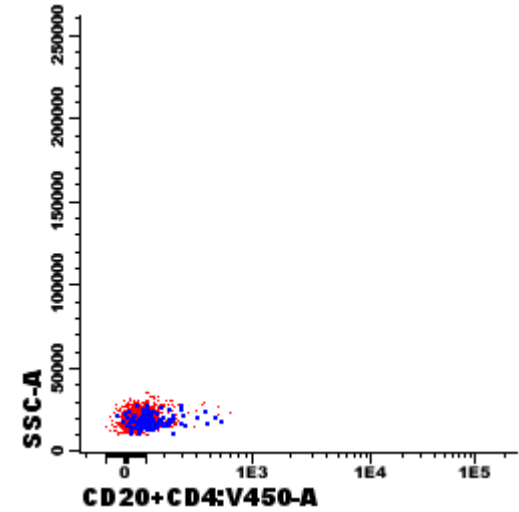
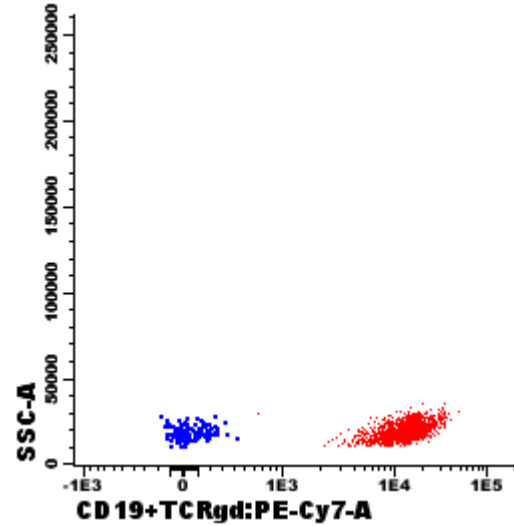
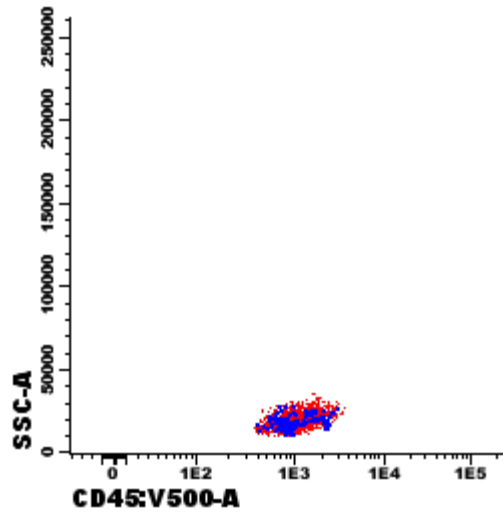
CD45/SSC plot



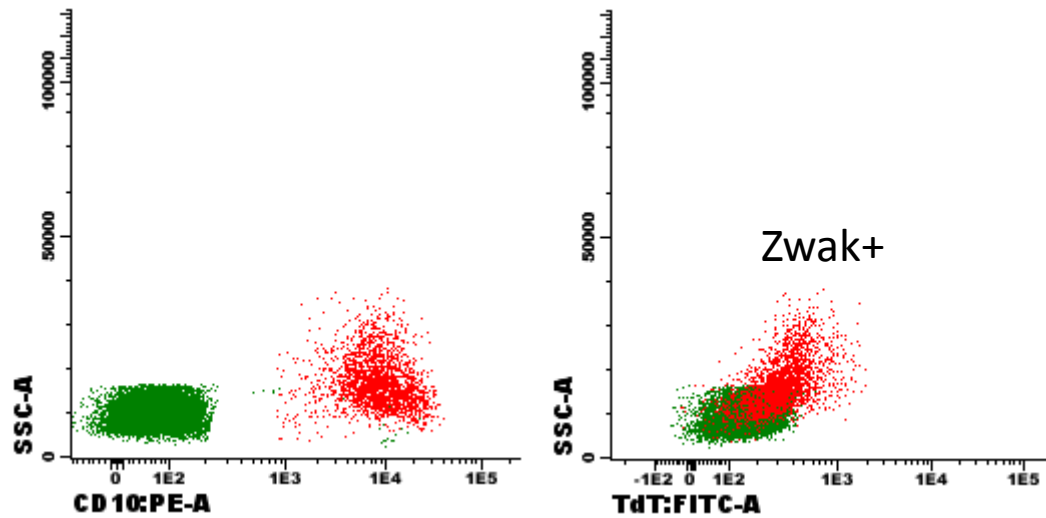
CD45zw+ cellen

B-lineage: 1.5%

Myeloid: 0.4%

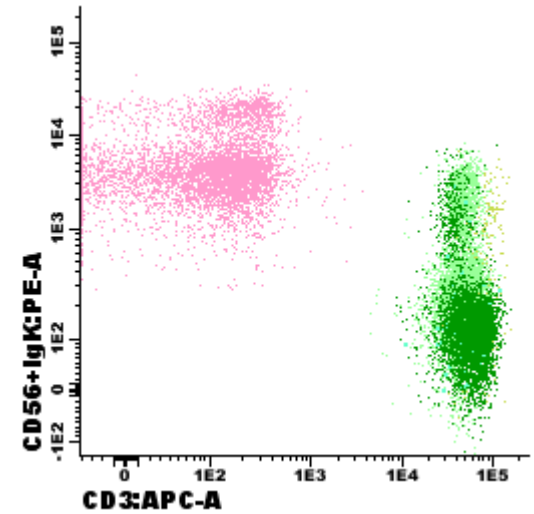
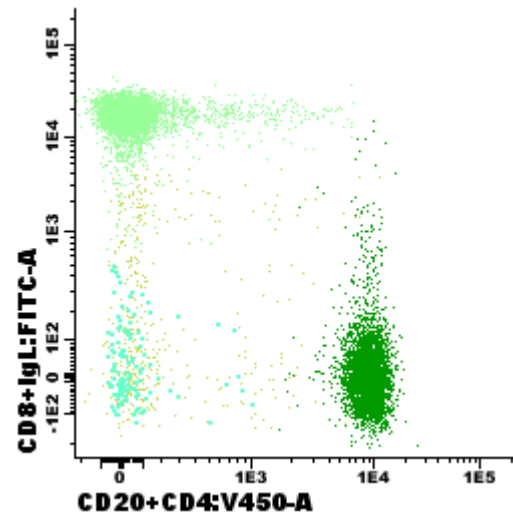
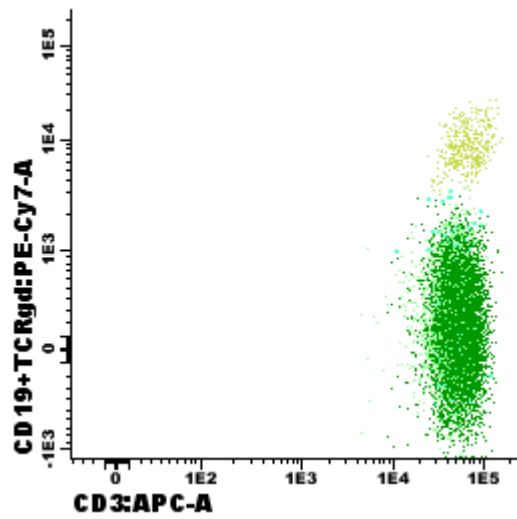


CD45zw+ CD19+ populatie

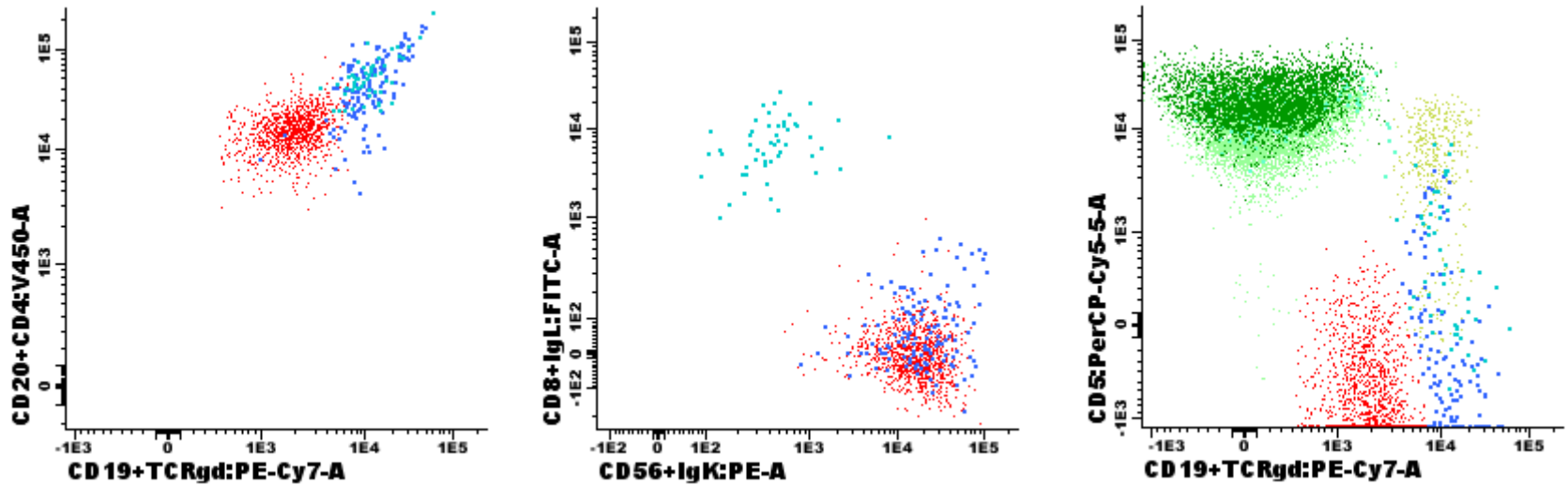


Negatief voor cytCD3, CD22, CD64, CD79a, MPO, cytlgM
en geen lichte keten expressie

T- & NK-cellen



B-cellen



1% afwijkende monoklonale CD19+ B-cellen

Differentiaal diagnose?

- ✓ 1.5% lymfatische blasten
- ✓ 0.4% myeloide blasten
- ✓ 1% monoklonale B-cellen

Bloed met daarin 1.5% lymfatische blasten en 0.4% myeloide blasten. DD Zeer sterk reactief beeld of toch een acute leukemie (ALL met myeloide blastenpopulatie t.g.v verdringing, MPAL?). Daarnaast 1% afwijkende monoklonale B-cellen, passend bij een non-CLL type MBL of de lokalisatie van een (CD5neg) B-NHL. Geadviseerd wordt om beenmergonderzoek te verrichten.

Hematologie		
☐ Bezinking	114	▲
☐ Hemoglobine	6.7	▼
☐ Hematocriet	-	
☐ Erytrocyten	-	
☐ MCV	89	
☐ Trombocyten	130	▼
☐ Trombocyten (Citraatbloed)	-	
☐ Leukocyten	8.2	
☐ Reticulocyten	14	
☐ Anemie opmerking	.	
Differentiatie bloedbeeld		
☐ Erytroblasten	-	
☐ Neutrofielen	4.8	
☐ Segmenten	3.65	
☐ Staven	0.77	▲
☐ Metamyelocyten	0.12	
☐ Myelocyten	0.21	
☐ Promyelocyten	-	
☐ Lymfocyten	2.2	
☐ Monocyten	1.1	▲
☐ Eosinofielen	<0.1	
☐ Basofielen	<0.1	
☐ Blasten	0.25	▲
☐ Blasten (%)	3.0	
☐ Hypersegmentatie	-	
☐ Afwijkende lymfo's maligne	++	⚠
☐ Kapotte cellen	-	
☐ Microcytose	+	⚠
☐ Polychromasie	+	⚠
☐ Basofiele puntering	+	⚠
☐ Opmerking morfologie	-	
☐ Conclusie differentiatie bloedbeeld	.	☰
Hemato-oncologie		
☐ Conclusie	.	☰

Sterk reactief bloedbeeld met daarin een monocytose, een linksverschuiving en enkele blastair ogende cellen. Immunofenotypering volgt.

Test		Ref. waarde	Eenheid
CRP	321	<5	mg/L
ALAT	19	0-45	U/L
GGT	60	<55	U/L
Ferritine	3800	30-350	µg/L

CONCLUSIE:

Bloed met daarin 1.5% lymfatische blasten en 0.4% myeloïde blasten. DD Zeer sterk reactief beeld of toch een acute leukemie (ALL met myeloïde blastenpopulatie t.g.v. verdringing, MPAL?). Daarnaast 1% afwijkende monoklonale B-cellen, passend bij een non-CLL type MBL of de lokalisatie van een (CD5neg) B-NHL. Geadviseerd wordt om beenmergonderzoek te verrichten.

MATERIAAL: Perifeer bloed

DATUM: 16/11/18

VRAAGSTELLING: Blastaire cellen en afwijkende lymfocyten

MORFOLOGIE:

Sterk reactief bloedbeeld met daarin een monocytose, een linksverschuiving en enkele blastaire ogende cellen. Daarnaast enkele abnormale rijpcellige lymfocyten, soms met klieving.

IMMUNOFENOTYPERING:

18% lymfocyten:

-11% CD3+ T-cellen, CD4/CD8 ratio: 0.7

-0.2% polyklonale CD19+ B-cellen

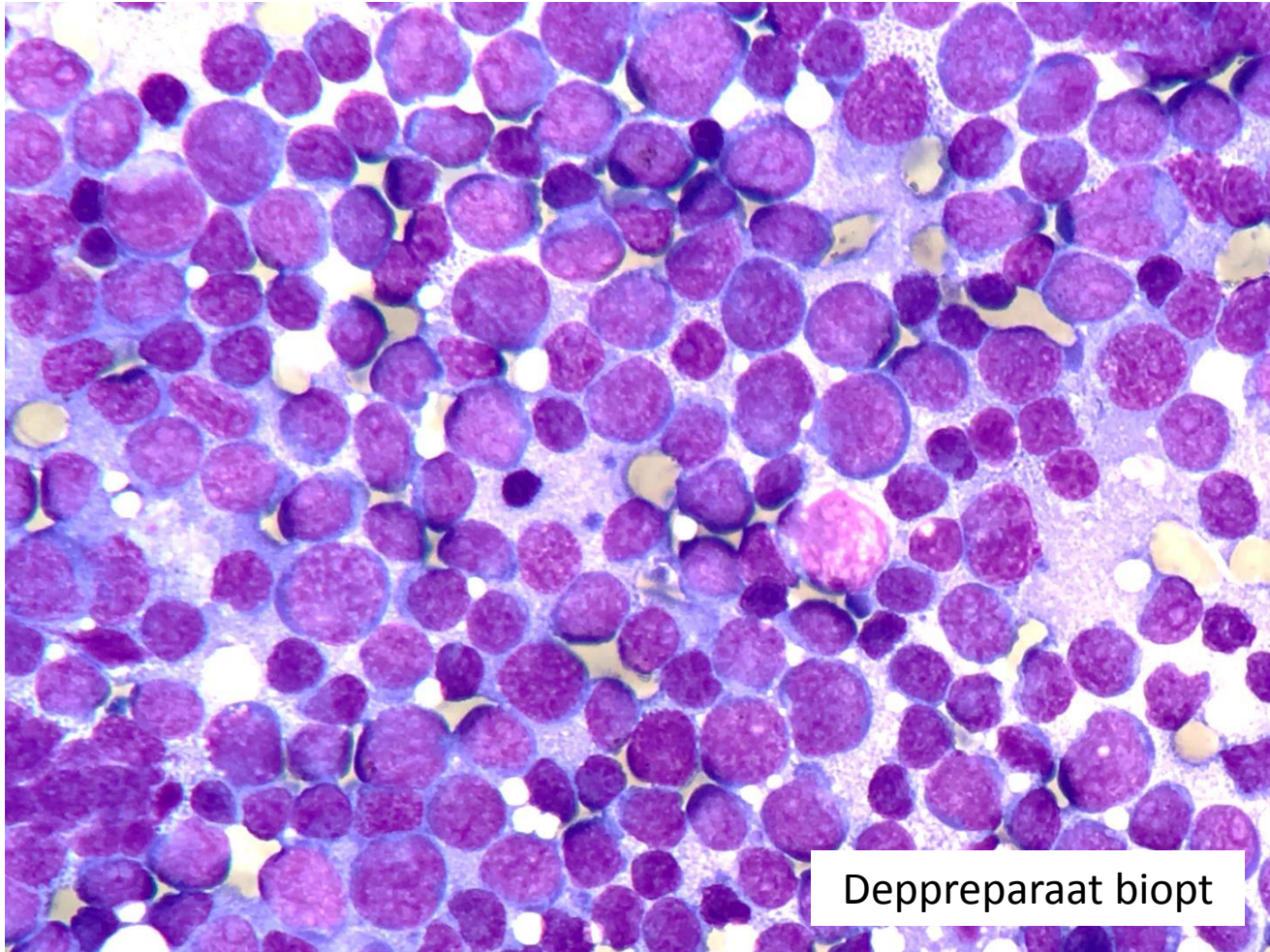
-1% afwijkende monoklonale CD19zw+ B-cellen, CD20zw+/+, Kappa+, CD5neg

-6% NK-cellen

1.5% CD45zw+ cellen, CD19+, CD10+, TdT zw+, cytCD3neg, CD14neg, CD20neg, CD22neg, CD34neg, CD64neg, CD79aneg, MPOneg, cytlgMneg, zonder lichte keten expressie

0.4% CD45zw+ cellen, CD34+, CD117+, CD13/33+

Beenmerg: dry tap



Deppreparaat biopt

CONCLUSIE:

Dry tap. In het deppreparaat worden compacte brokjes vol met blasten gezien. Normale hematopoïese is niet of nauwelijks aanwezig. De morfologie van de blasten is monotoon en sterk verdacht voor een ALL en komt ook overeen met de blasten in bloed (fenotype van een common B-ALL). Er is geen aspiraatsaat zodat geen immunofenotypering ingezet kon worden ter bevestiging. Zie daarom ook de uitslagen van cytogenetica en de beoordeling van het botbiopt.

CONCLUSIE:

Dry tap. In het deppreparaat worden compacte brokjes vol met blasten gezien. Normale hematopoïese is niet of nauwelijks aanwezig. De morfologie van de blasten is monotoon en sterk verdacht voor een ALL en komt ook overeen met de blasten in bloed (fenotype van een common B-ALL). Er is geen aspiraatsaat zodat geen immunofenotypering ingezet kon worden ter bevestiging. Zie daarom ook de uitslagen van cytogenetica en de beoordeling van het botbiopt.

MATERIAAL: **Beenmerg asp.**

DATUM: 20/11/18

VRAAGSTELLING: Verdenking leukemie

MORFOLOGIE:

Dry tap. Compacte brokjes vol met kleine tot middelgrote blasten. Deze hebben een ronde tot ovale soms gekleefde kern met 1 of meer nucleoli die soms opvallend groot zijn. Een smalle cytoplasmazoom, sterk basofiel zonder insluitsels, soms met kleine vacuolen. Geen Auerse staven gezien. Deze blasten hebben dezelfde morfologie als die in bloed. Tussen de cellen ook naaktkernige cellen zoals ook in bloed gevonden worden. Er is geen normale hematopoïese te zien, wel enkele normale lymfocyten.

IJZERKLEURING:

N.v.t.

IMMUNOFENOTYPERING:

Geen aspiraatsaat; niet verricht.

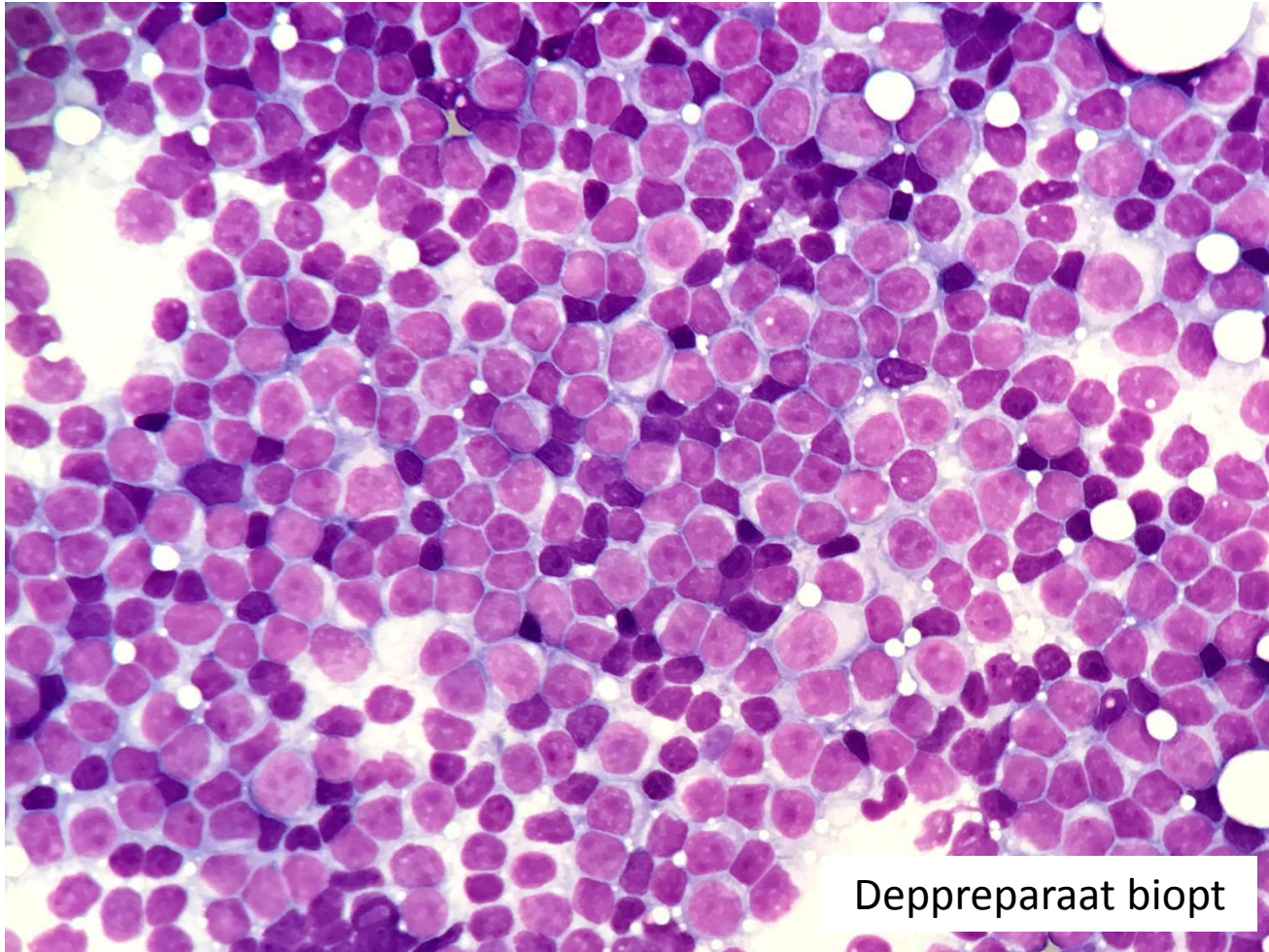
Cytogenetica

- Afwijkend karyotype (48XY) met zowel t(8;14) IGH/MYC als t(14;18) IGH/BCL2, passend bij double hit DLBCL

PET-CT

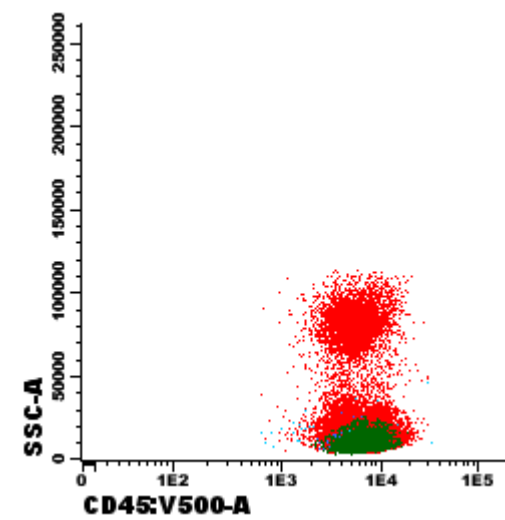
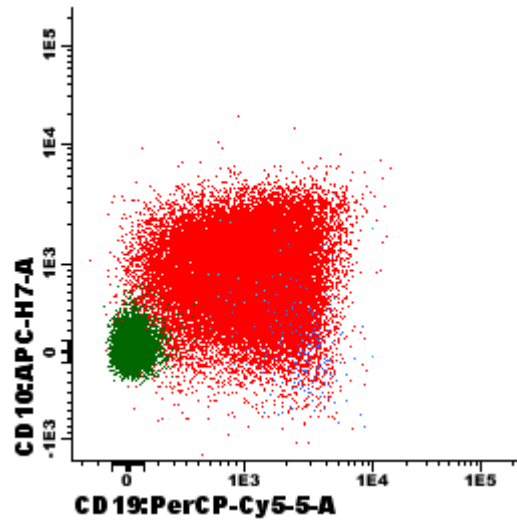
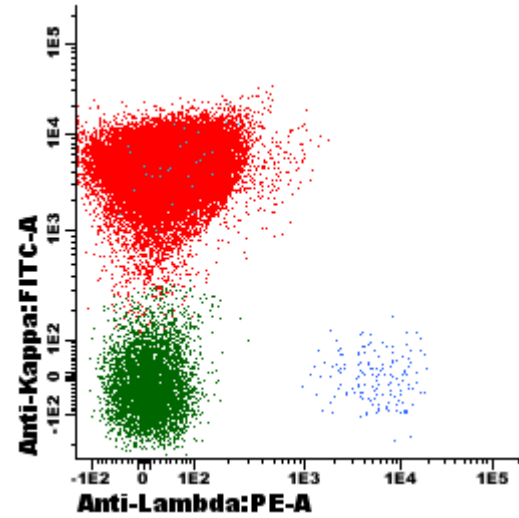
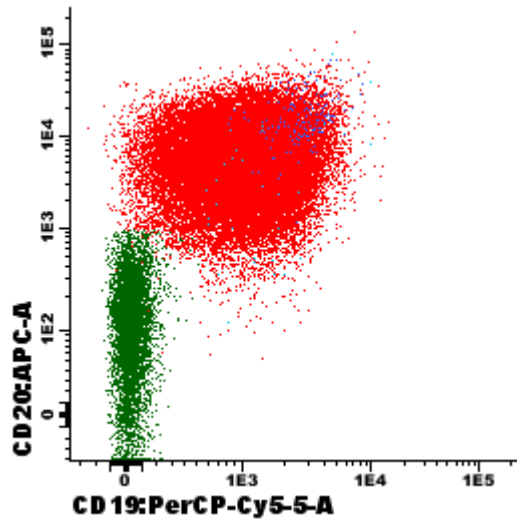


Klier



Deppreparaat biopt

Klier



CONCLUSIE:

Klier met daarin een grote afwijkende monoklonale B-celpopulatie, deels met blastaire morfologie. Er is duidelijke expressie van Kappa lichte ketens. Beeld past bij lokalisatie van een B-NHL (hooggradig?). Zie ook de uitslag van de pathologie.

IMMUNOFENOTYPERING:

72 % afwijkende monoklonale CD19+ B-cellen, met het volgende fenotype: CD20+, CD10zw+, CD38+. Opvallend is dat binnen deze populatie ongeveer 12% cellen een hoge SSC hebben.

CONCLUSIE:

Klier met daarin een grote afwijkende monoklonale B-celpopulatie met blastaire morfologie. Er is duidelijke expressie van Kappa lichte ketens. Meest waarschijnlijk gaat het dus om een hooggradig B-NHL. Zie ook de uitslag van de pathologie.

MATERIAAL: Lymfklier

DATUM: 26/11/18

VRAAGSTELLING: Lymfoom

MORFOLOGIE:

Celrijke klier met hoofdzakelijk grote lymfocyten met grijsblauw cytoplasma en gladde kernstructuur, soms met een nucleolus. Enkele lymfocyten zien er blastair uit. Daarnaast kleinere lymfocyten met een compacte kern.

IMMUNOFENOTYPERING:

85% lymfocyten:

-13% CD3+ T-cellen

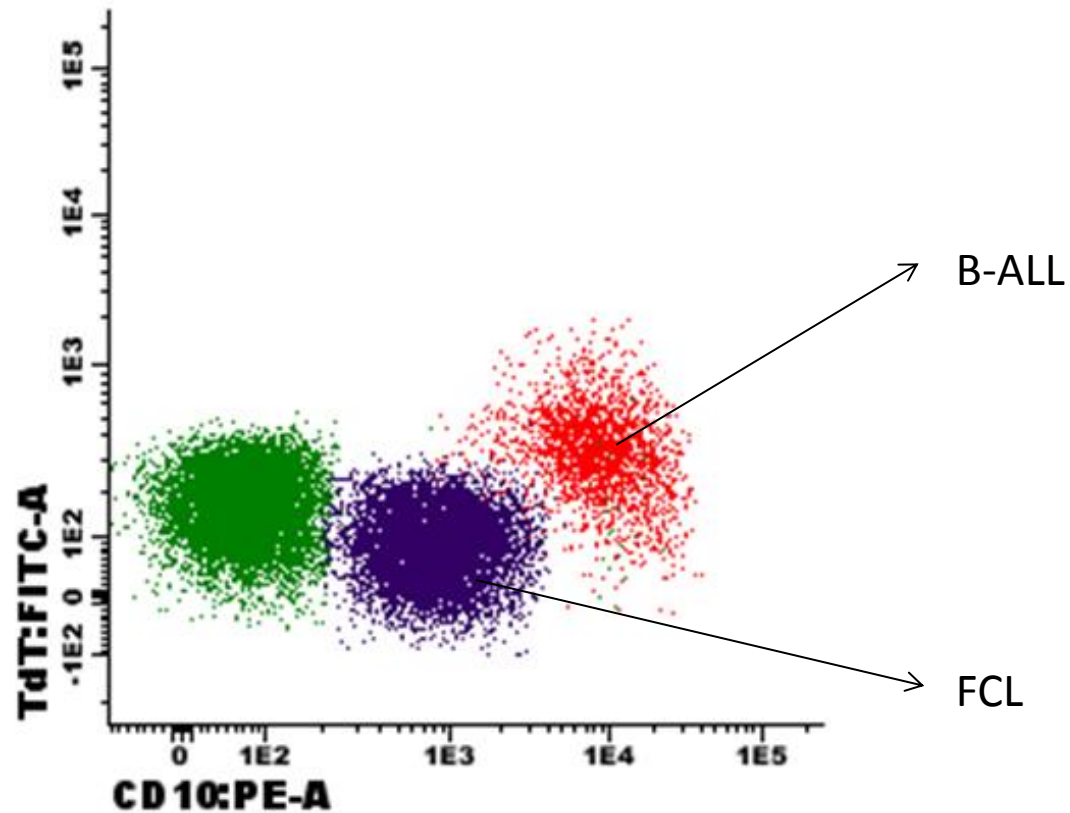
-0.4% polyklonale CD19+ B-cellen

-72 % afwijkende monoklonale CD19+ B-cellen, met het volgende fenotype: CD20+, CD10zw+, CD38+. Opvallend is dat binnen deze populatie ongeveer 12% cellen een hoge SSC hebben.

Uitslagen pathologie

- **Beenmerg:**
Uitgebreide lokalisatie van een B-ALL
CD79a+, CD10+, CD20neg, TdT grotendeels+
- **Klier:**
Folliculair lymfoom, graad 2
CD79a+, CD10+, CD20+, TdTneg

Terugkijkend naar bloed



Verwantschap?

	Klier	Beenmerg
	<i>Folliculair lymfoom</i>	<i>B-ALL</i>
BCL-2 breuk	POS	POS
MYC breuk	NEG	POS
IgH genherschikking	Klonaal <i>FR1: piek 316 bp</i> <i>FR2: piek 252 bp</i> <i>Ka: piek 194 bp</i>	Klonaal <i>FR1: piek 316 bp</i> <i>FR2: piek 252 bp</i> <i>Ka: piek 194 bp</i>

Diagnose

- ALL ex FL
- Hoog risico i.v.m. transformatie en o.b.v. cytogenetica

Behandeling

- 1 kuur R-CHOP vooraf definitieve diagnose en behandelplan
- Hierna chemotherapie vgs HOVON 100 + Rituximab (i.v.m. CD20+ lymfeklierbiopten) + intrathecale profylaxe. Voorgenomen allo-SCT ter consolidatie i.v.m. hoog risico
- Klinische twijfel over respons (nachtzweten, LDH oplopend in uitloop 1e kuur)
- Echter BM remissiebeelden, CT sterke verbetering

GLIMS

			959191341512 1913453983 CellMat	959191202186 1912055938 CellMat	959190881154 1908853584 CellMat	959190631466 1906353759 CellMat	959190382303 1903856055 CellMat	959190301059 1903052939 CellMat	959190142298 1901550721 CellMat	959190072584 1900854955 CellMat	959183651803 1900250455 CellMat	6800665481 1833151281 CellMat	6800663311 1833055200 CellMat	959183240562
Bepaling	Eenheid	Refw	15/05/19 08:45	30/04/19 16:15	29/03/19 11:35	05/03/19 08:15	07/02/19 15:55	31/01/19 08:15	14/01/19 15:22	07/01/19 16:11	31/12/18 16:55	26/11/18 17:07	26/11/18 13:45	20/11/18 10:00
Materiaal			*Beenmerg asp.	*Liquor	*Liquor	*Beenmerg asp.	*Liquor	*Beenmerg asp.	*Liquor	*Liquor	*Liquor	*Liquor	*Lymfklier	*Beenmerg asp.
Indruk MGG													*	
Bijz. Materiaal													*	
Zuiverheid beenmerg	Procent		97			93		82						
16ICB_screening			?	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Uitslag CT			?		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Uitslag liquor				*			*		*	*	*	*	*	*
18GEN	Briefnr.													Beeld
18FLOW			Beeld	Beeld	Beeld	Beeld	Beeld	Beeld	Beeld	Beeld	Beeld	Beeld	Beeld	

Bepaling

Materiaal

Indruk MGG

Bijz. Materiaal

Zuiverheid beenmerg

16ICB_screening

Uitslag CT

Uitslag liquor

18GEN

18FLOW

Integrale uitslag:

- Morfologie
- Immunofenotypering
- (Moleculaire diagnostiek)
- (Cytogenetica?)
- (Pathologie?)

Uitdaging Hix: 'standaard content'

Favorieten	Dossier		MonsterDatum ▾	Materiaal	Omschrijving	OntvangstDatum	OntvangstTijd	VerslagDatum
Voorblad		🖥	▷ 30-04-2019	liquor	cytologie	30-04-2019	15:57	01-05-2019
Naslag		🖥	▷ 29-03-2019	liquor	cytologie	29-03-2019	11:33	01-04-2019
EPD Dashboard		▶	▷ 07-02-2019	liquor	cytologie	07-02-2019	15:54	11-02-2019
Laboratorium		🖥	▷ 14-01-2019	liquor	cytologie	14-01-2019	15:10	15-01-2019
Pathologie		🖥 x	▷ 07-01-2019	liquor	cytologie	07-01-2019	17:26	08-01-2019
			▷ 28-12-2018	liquor	cytologie	31-12-2018	16:55	02-01-2019
			▷ 26-11-2018	liquor	cytologie	27-11-2018	08:32	27-11-2018
			▷ 26-11-2018	lymfklier	histologie	26-11-2018	11:43	31-12-2018
			▷ 20-11-2018	beenmerg	histologie	20-11-2018	11:08	27-11-2018

Favorieten	Dossier		▼ Filter	Onderzoeken filteren	▼	
Voorblad		🖥	Max	1000 - +	Datum	< _-_- > ▼ t/m < _-_- > ▼ Inclusief tijd
Naslag		🖥	Locatie		▼	
EPD Dashboard		▶	Sjabloon:		▼ 🗑 Onder	
Laboratorium		🖥 x				5-2019 15-05-2019 09-05-2019
Pathologie		🖥				5 08:09 08:29
			Test			
			▲ Bloedgroepen			
			☐ Bloedgroep			- -
			☐ Rhesus			- -
			▲ Bloedgroepserologie			
			☐ Bloedproducten			- - -

Uitdaging Hix: follow-up

Klinische Chemie ▶

08-05-2019 : - -

▼ Filter

Onderzoeken filteren

▼

Max

1000 - +

Datum

< _-_- > ▼

t/m

< _-_- > ▼

Inclusief tijd ☐ Tijd

< 00:00 >

Locatie

▼

Sjabloon:

▼

Onderzoeken: Alle (13)

Test	29-03-2019 11:35	05-03-2019 08:15	07-02-2019 15:55	31-01-2019 08:15	14-01-2019 15:22	07-01-2019 16:11	31-12-2018 16:56	26-11-2018 17:07	26-11-2018 13:48	20-11-2018 10:00	20-11-2018 10:00	16-11-2018 10:53					
Hemato-oncologie																	
☒ Conclusie	.		.		-	.		-	-	-	.		-	.		.	
☒ Conclusie liquor	-	-	-		-	.		.		.		-	-	-	-	-	-
☒ BCR-ABL1 (bloed)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NEG		-	-	-	-	-
☒ MLL-AF4 (bloed)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NEG		-	-	-	-	-
☒ Cytogenetisch onderzoek	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-			-	-
☒ IgH genherschikking (divers)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	POS		-	-	-	-	-	-
☒ BCL2-IGH (divers)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NEG		-	-	-	-	-	-

Patiënt 2, 26 jaar

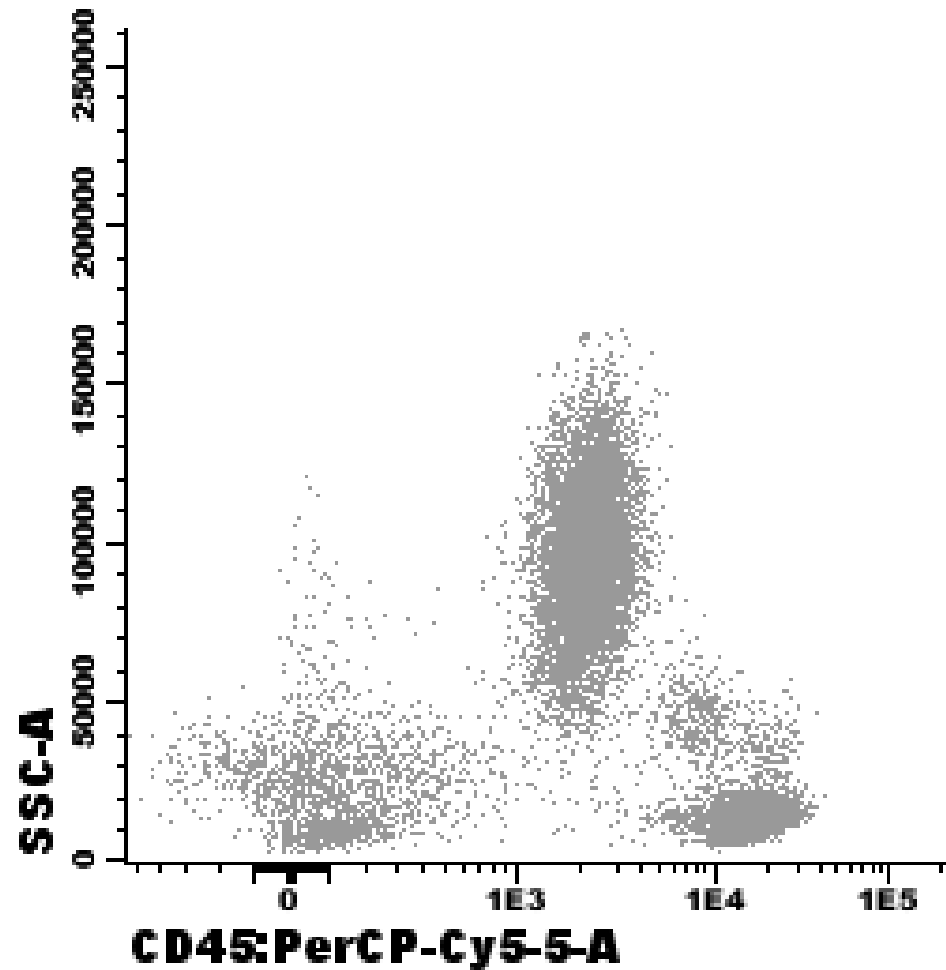
- A/ Sedert 3 maanden vermoeidheid en kortademigheid. Verspreide botpijnen. Toenemend. Geen B-symptomen.
- LO/ Bleek, verzwakte indruk. Geen perifere lymfadenopathie. Abd lever palpabel 1-2 cm onder de ribbenboog, milt niet palpabel. Verspreid over het lichaam hematomen en petechiën.

Hematologie		
☐ Bezinking	54	^
☐ Hemoglobine	2.9	v
☐ Hematocriet	-	
☐ Erytrocyten	-	
☐ MCV	101	^
☐ Trombocyten	34	v
☐ Leukocyten	3.8	v
☐ Reticulocyten	-	
☐ Anemie opmerking	-	
Differentiatie bloedbeeld		
☐ Erytroblasten	-	
☐ Neutrofielen	1.1	v
☐ Segmenten	1.03	v
☐ Staven	-	
☐ Metamyelocyten	0.04	
☐ Myelocyten	-	
☐ Promyelocyten	-	
☐ Lymfocyten	2.2	
☐ Monocyten	0.2	
☐ Eosinofielen	0.1	
☐ Basofielen	<0.1	
☐ Bijzondere cellen	0.04	
☐ Toxische korreling	+	⚠
☐ Lichaampjes van Döhle	++	⚠
☐ Afwijkende lymfocyten reactief/viraal	-	
☐ Microcytose	+	⚠
☐ Poikilocytose	+	⚠
☐ Macrocytose	++	⚠
☐ Hypochromasie	+	⚠
☐ Polychromasie	+	⚠
☐ Elliptocyten	+	⚠
☐ Traandruppelcel	-	
☐ Opmerking morfologie	.	☰
☐ Conclusie differentiatie bloedbeeld	.	☰

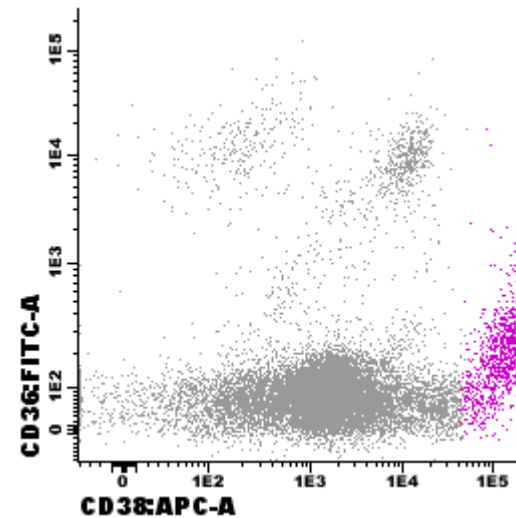
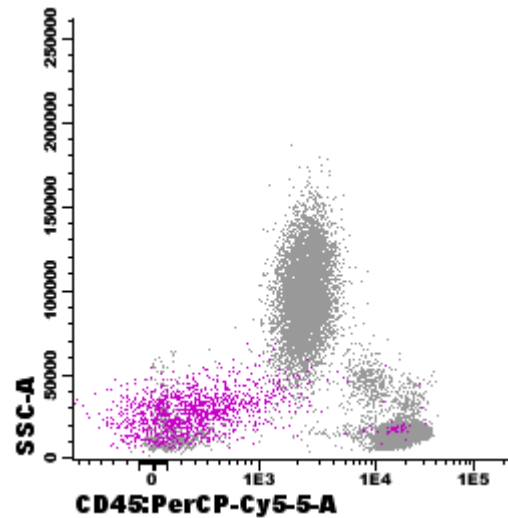
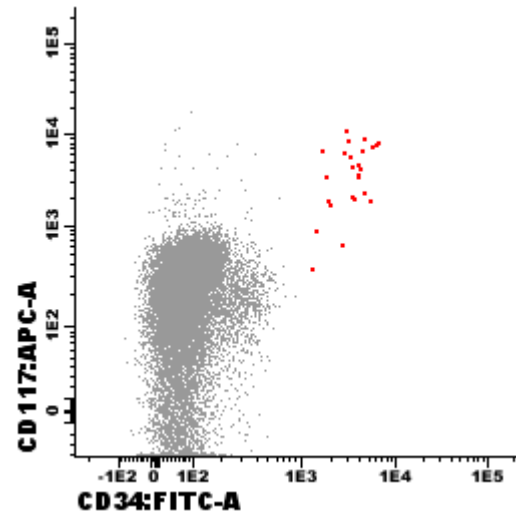
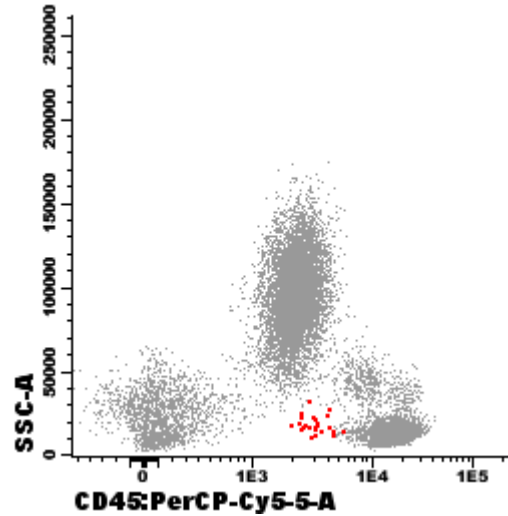
Pancytopenie met een bont rood bloedbeeld. In het witte bloedbeeld enkele voorlopers en een enkele blastaire cel gezien. Geen Auerse staven.

Differentiaal diagnose?

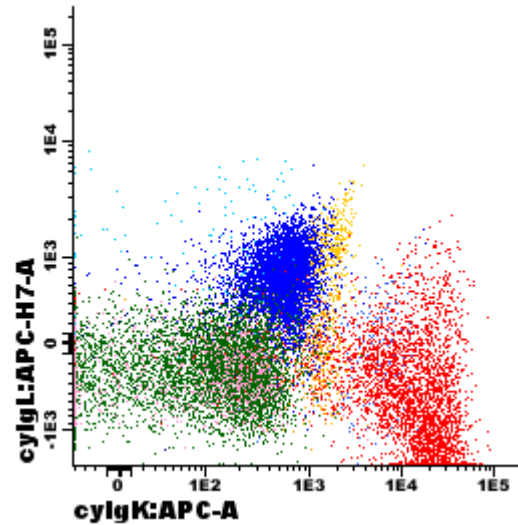
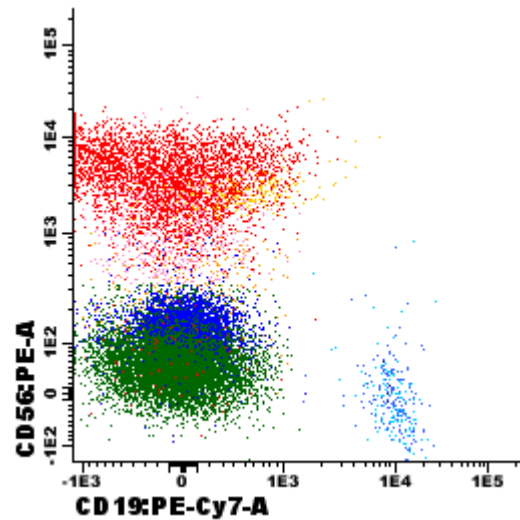
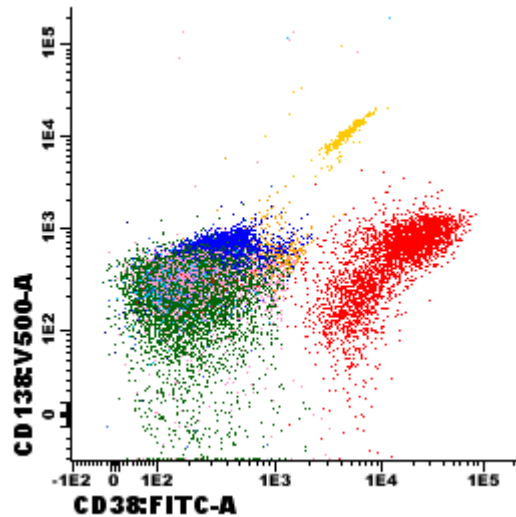
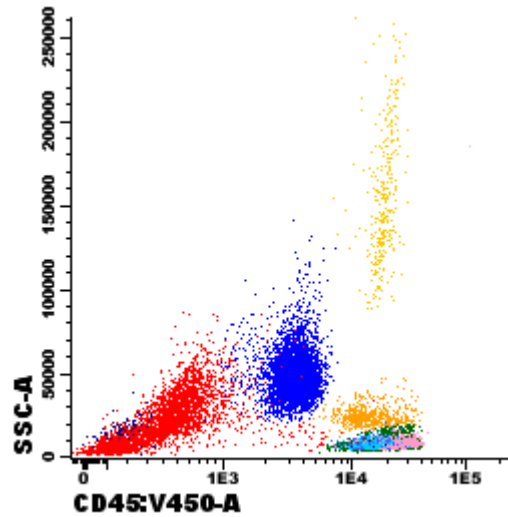
Beenmerg: CD45/SSC plot



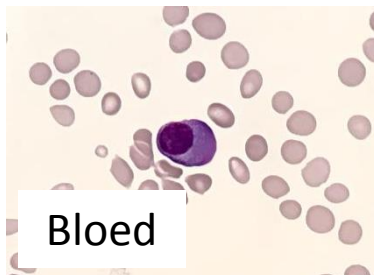
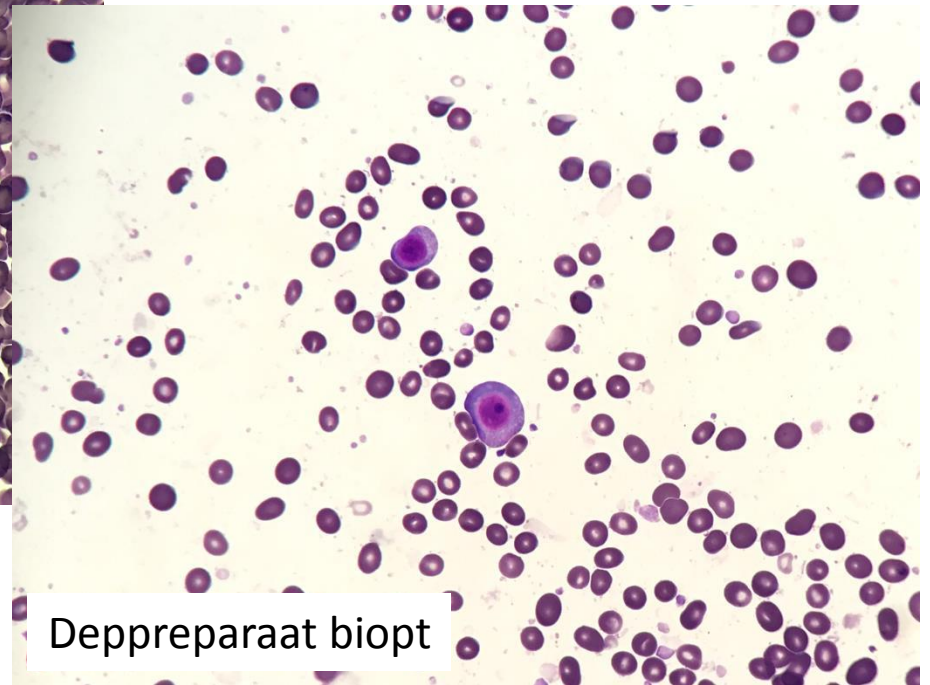
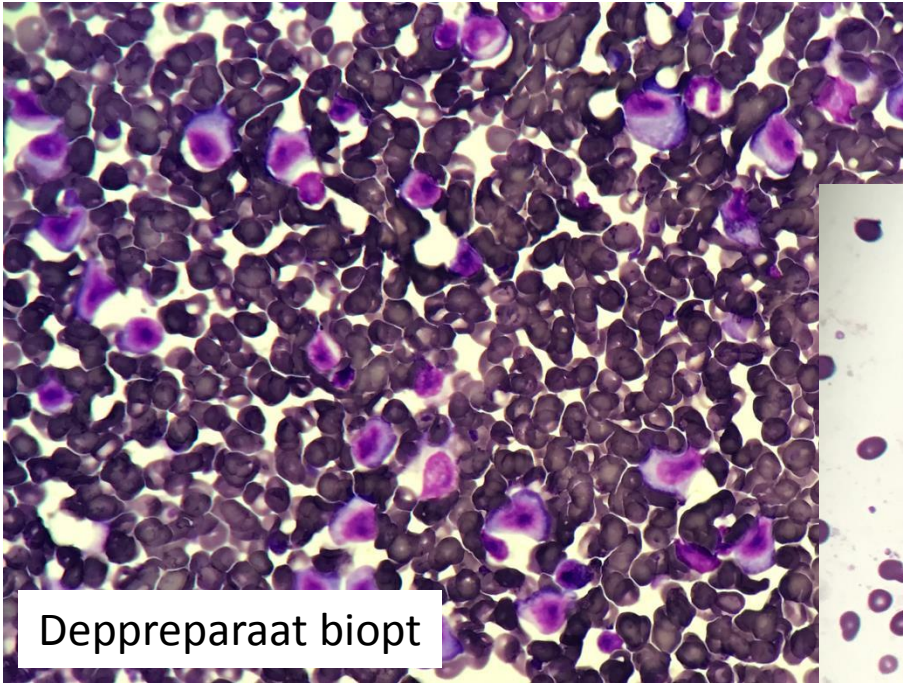
Beenmerg: screening algemeen



Beenmerg: plasmacellen



Beenmerg: aspiraats zonder brokjes



CONCLUSIE:

Aspiraats zonder brokjes, met in de deppreparaten van het biopt een opvallende toename van kleine, compacte plasmacellen. Deze zijn bij immunofenotypering monoklonaal Kappa. In perifeer bloed worden 2% monoklonale plasmacellen aangetoond. Beeld passend bij plasmacel myeloom. Geen aanwijzing voor ALL of plasmacel leukemie.

IMMUNOFENOTYPERING:

Beenmerg:

17% afwijkende monoklonale plasmacellen, met het volgende fenotype: CD38+, CD138+, CD56+, CD81+, B2microglobuline+, Kappa+, CD19neg, CD27neg, CD28neg, CD45neg, CD117neg

N.B. Zuiverheid van slechts 30%.

Bloed:

2% monoklonale plasmacellen

CONCLUSIE:
Aspiraats zonder brokjes, met in de deppreparaten van het biopt een opvallende toename van kleine, compacte plasmacellen. Deze zijn bij IF monoklonaal Kappa. In perifeer bloed worden 2% monoklonale plasmacellen aangetoond. Beeld passend bij plasmacel myeloom. Geen aanwijzing voor ALL of plasmacel leukemie.

MATERIAAL: **Beenmerg asp.**
DATUM: 31/01/18
VRAAGSTELLING: Verdenking acute leukemie

MORFOLOGIE:
Aspiraats zonder brokjes; in de deppreparaten van het biopt worden opvallend veel plasmacellen gezien; deze zijn klein en compact, enkele met flame-like cytoplasma. Daarnaast lymfocyten en enkele macrofagen. Geen blasten aanwezig.

UIZERKLEURING:
N.v.t.

IMMUNOFENOTYPERING:
44% lymfocyten:
-38% CD3+ T-cellen, CD4/CD8 ratio: 1.3
-2% CD19+ B-cellen, polykloonaal, K/L ratio: 1.7
-4% NK-cellen
17% afwijkende monoklonale plasmacellen, met het volgende fenotype: CD38+, CD138+, CD56+, CD81+, B2microglobuline+, Kappa+, CD19neg, CD27neg, CD28neg, CD45neg, CD117neg
0.2% blasten
N.B. Zuiverheid van slechts 30%.

In bloed worden 2% monoklonale plasmacellen aangetoond.

Uitslag pathologie

- Cristabiopt beenmerg ingenomen door een reincultuur van atypische plasmacellen met lichte ketenrestrictie voor Kappa

PET-CT



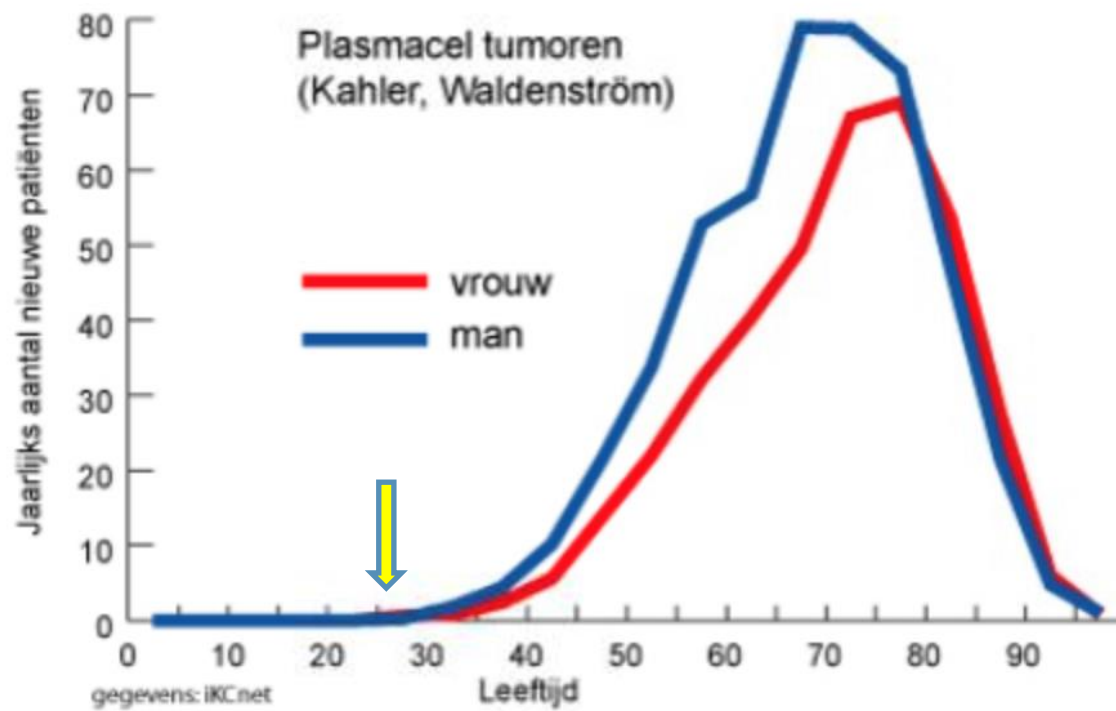
Cytogenetica

- Hypodiploïd karyotype, geen t(4;14) of 1q afwijking

Diagnose

- Multipel myeloom, vlk kappa, ISS 2, CRAB pancytopenie o.b.v. beenmergverdringing, uitgebreide botlaesies en milde hypercalciëmie

Figuur 1



Behandeling

- Gestart inductie VTD (bortezomib-thalidomide-dexamethason). Compl. Pijnlijke polyneuropathie
- Stamcellen geoogst met moeite (2x plerixafor), voor 1 auto-SCT
- Verdere inductie met KRd (carfilzomib-lenalidomide-dexamethason). Complete remissie o.b.v. vlk kappa voorafgaand aan autologe SCT
- Autologe stamceltransplantatie na hoge dosis melfalan
- Hierna lenalidomide onderhoudsbehandeling

Patiënt 3, 63 jaar

- VG: M. Addison (auto-immuun), sedert 32 jaar
- Verwezen door endocrinoloog i.v.m. anemie

Hematologie		
☐ Bezinking	-	
☐ Hemoglobine	6.2	▼
☐ Hematocriet	-	
☐ Erytrocyten	-	
☐ MCV	104	▲
☐ Trombocyten	294	
☐ Leukocyten	6.8	
☐ Reticulocyten	22	
Differentiatie bloedbeeld		
☐ Neutrofielen	2.1	
☐ Segmenten	2.09	
☐ Staven	0.03	
☐ Lymfocyten	4.1	▲
☐ Monocyten	0.4	
☐ Eosinofielen	<0.1	
☐ Basofielen	<0.1	
☐ Atypische lymfocyten	++	⚠️
☐ Kapotte cellen	+	⚠️
☐ Microcytose	+	⚠️
☐ Poikilocytose	+	⚠️
☐ Macrocytose	++	⚠️

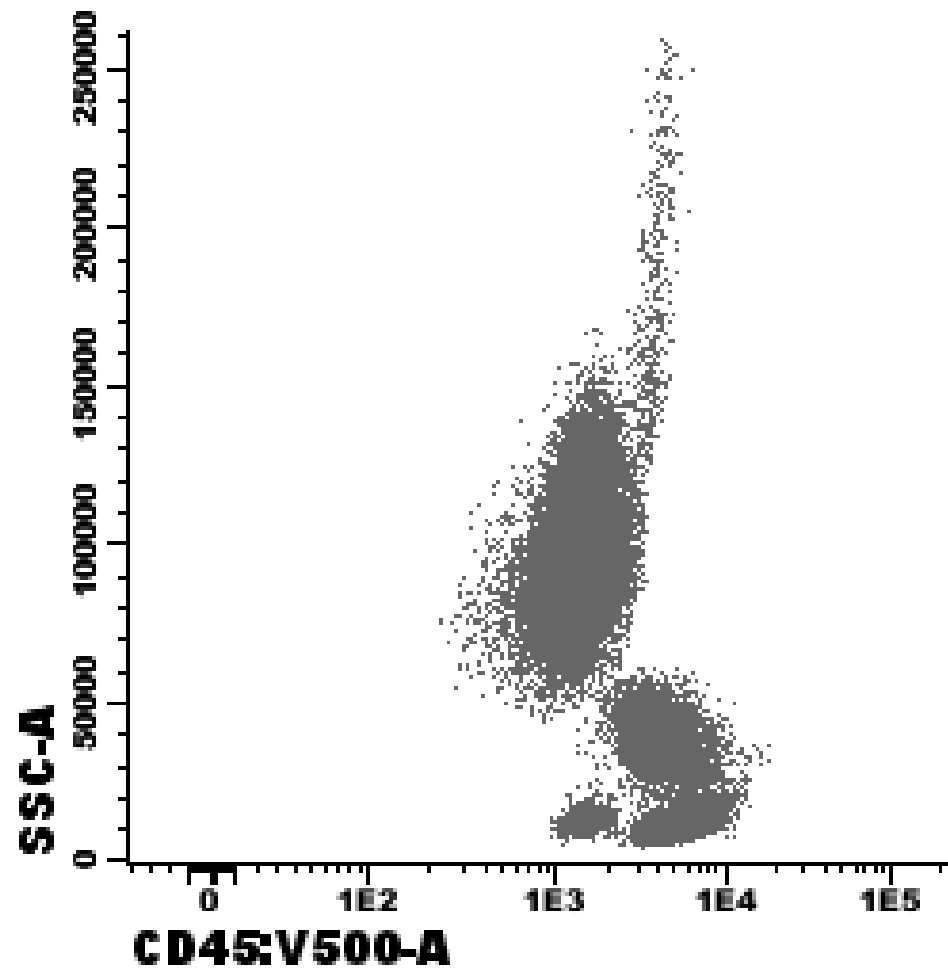
Viraal infect/ reactief



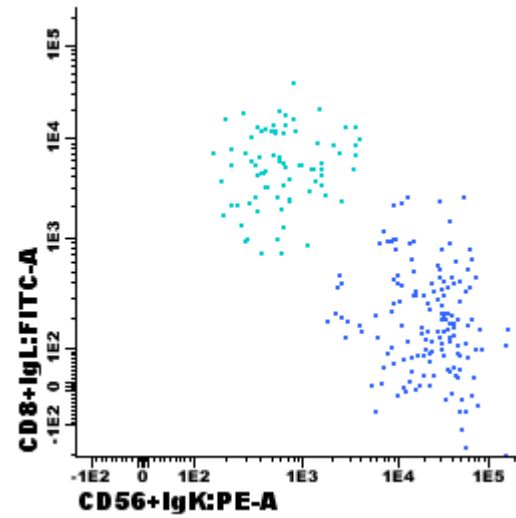
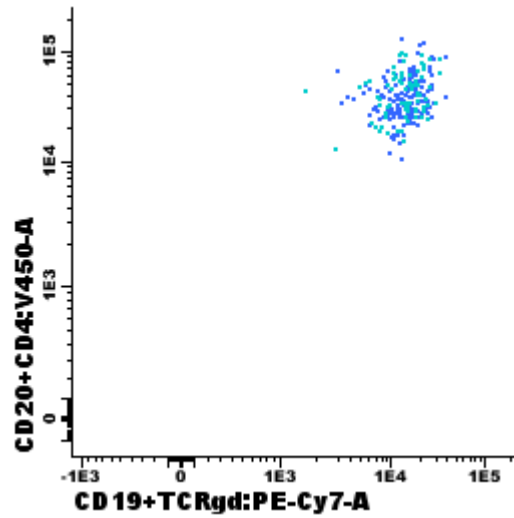
Kliniek

- A/ Geen klachten
- LO/ Fitte indruk, geen lymfadenopathie, geen hepatosplenomegalie
- DD: Reactief, laaggradig lymfoom, MDS, ?
- B/ Aanvullend lab met immunofenotypering: monoklonale B-cel lymfocytose? CT-HTA: lymfoom?

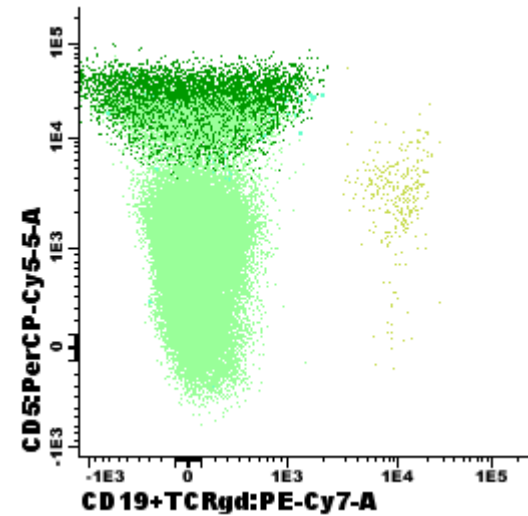
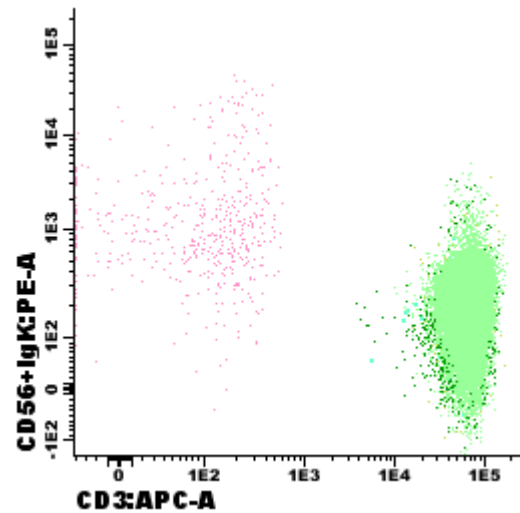
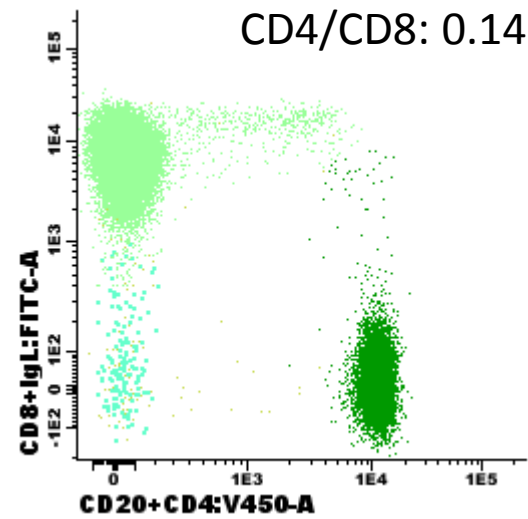
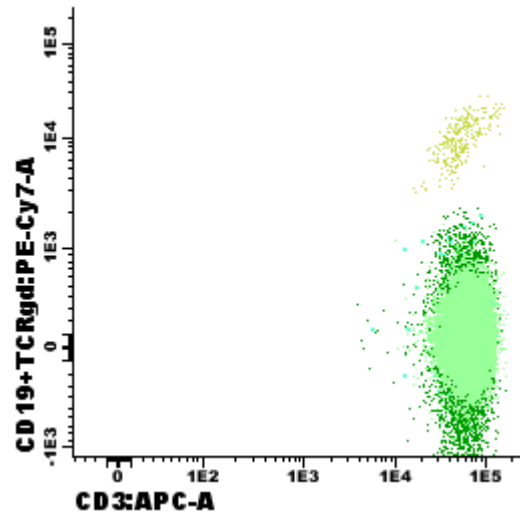
CD45/SSC plot



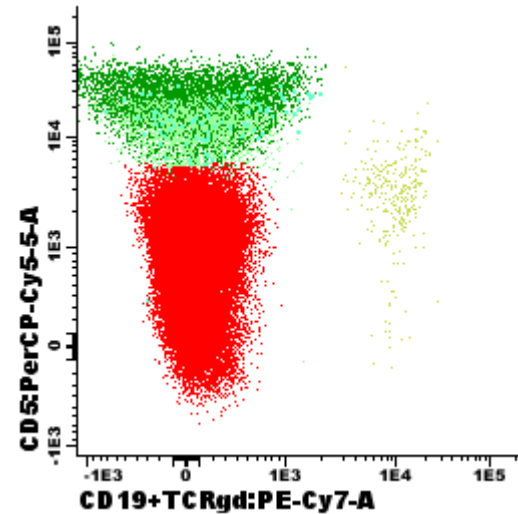
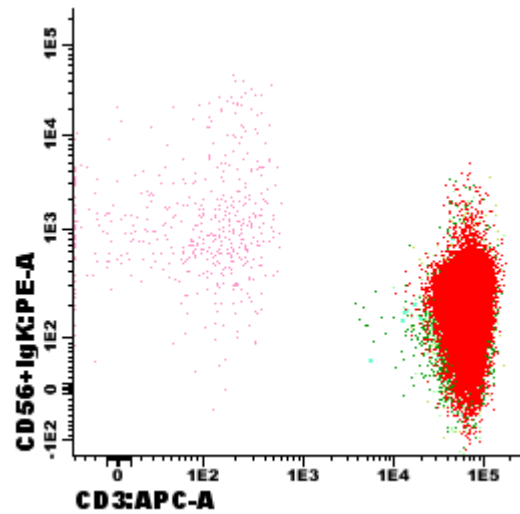
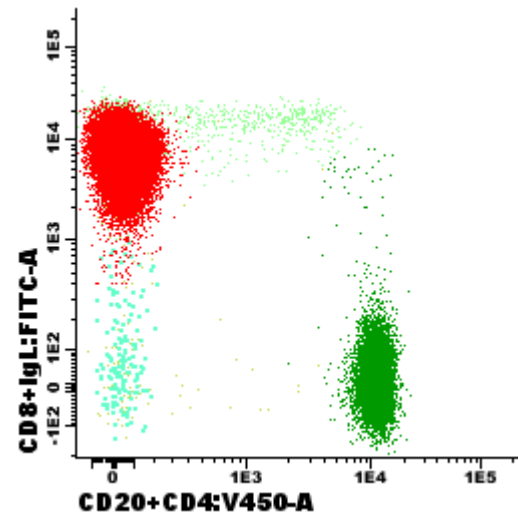
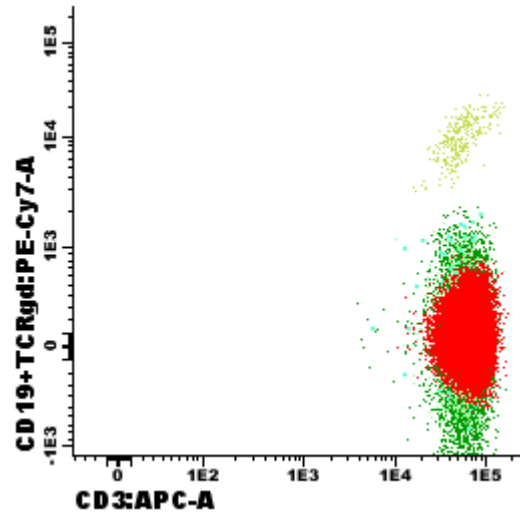
B-cellen



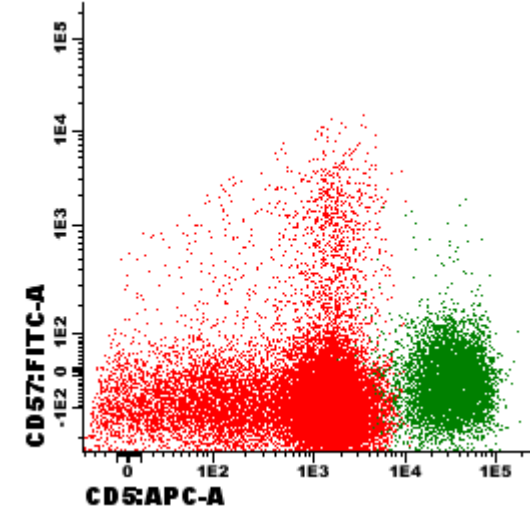
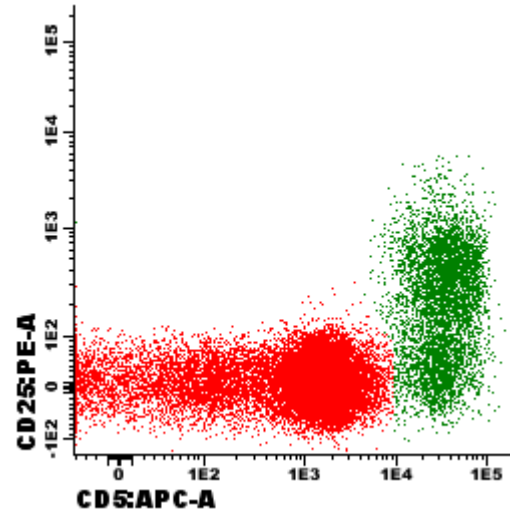
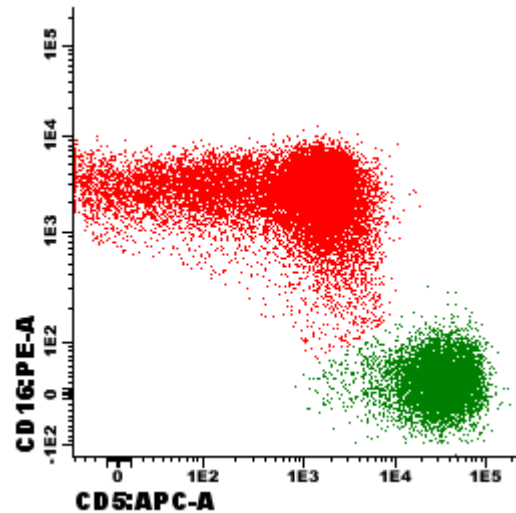
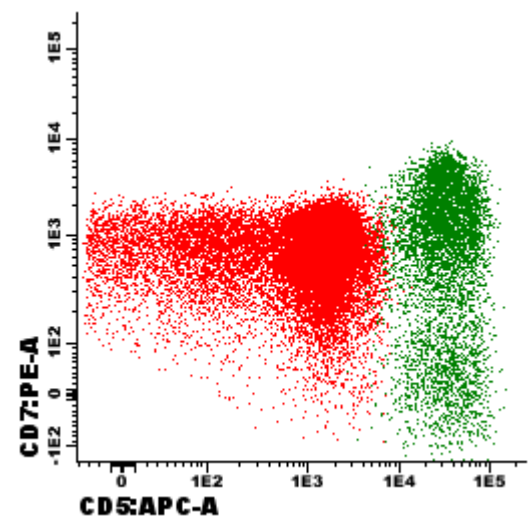
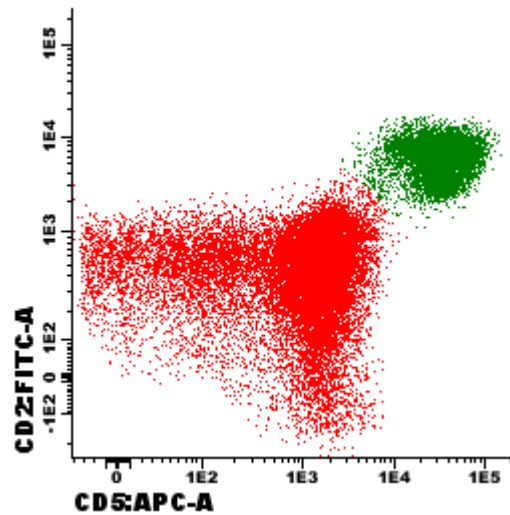
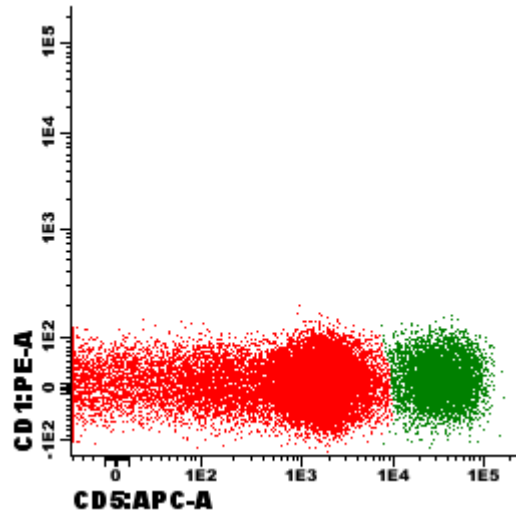
T- & NK-cellen



T- & NK-cellen



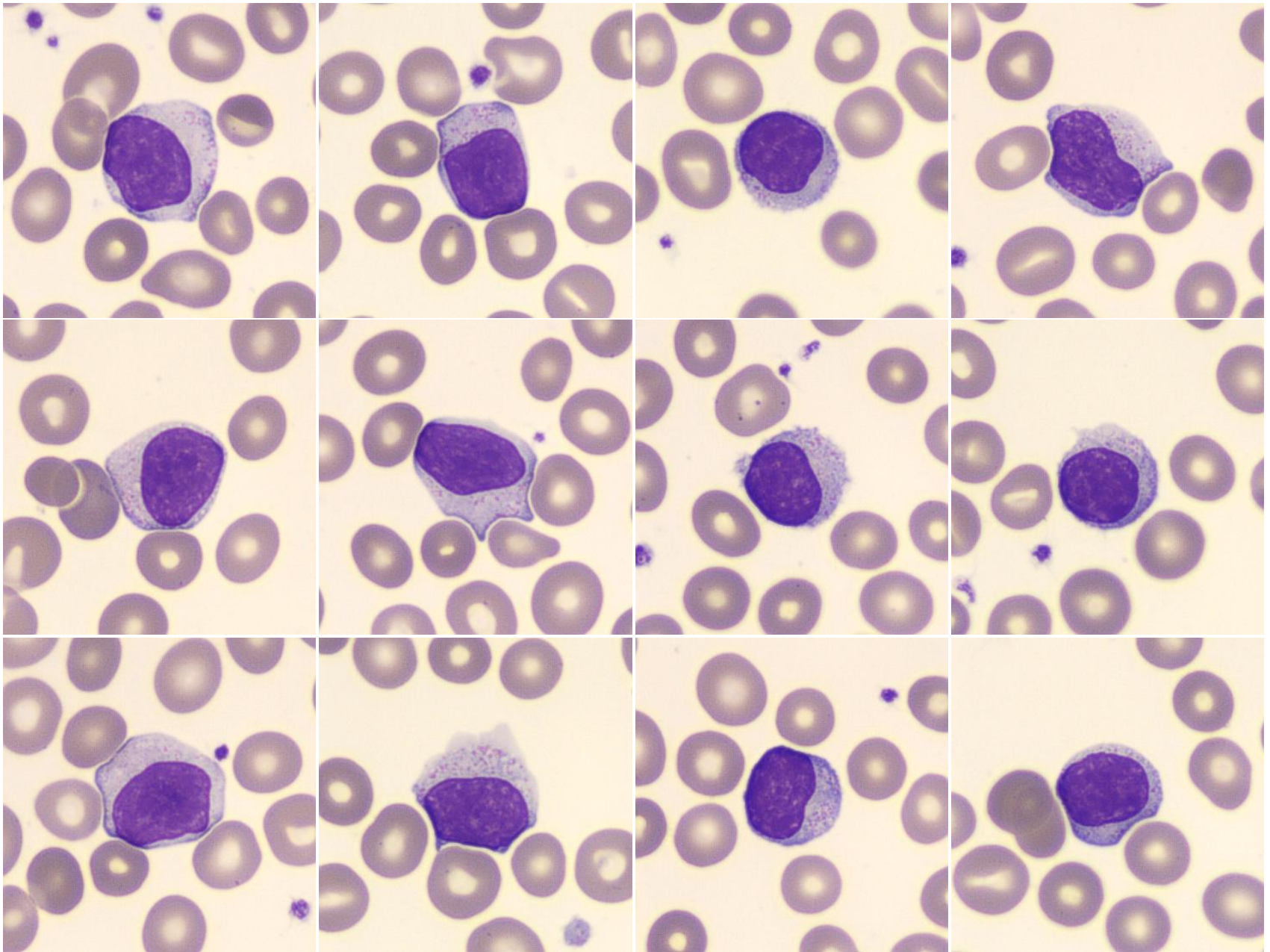
Nadere typering T-cellen



IMMUNOFENOTYPERING:

-53% afwijkende CD3+ T-cellen: CD2 neg/zwak+, CD5 neg/zwak+, CD7 neg/zwak+, CD8+, CD16+, TcRab+, CD1neg, CD4neg, CD25neg, CD56neg, CD57 grotendeels neg, TcRgdneg *

* De absolute omvang van de afwijkende populatie bedraagt $3.1 \times 10^9/L$.



CONCLUSIE:

Bloed met daarin morfologisch een grote populatie granulaire lymfocyten (LGLs) met een immunofenotype dat (behalve de CD57 negativiteit) kan passen bij een T-LGL. Gezien de absolute omvang van de afwijkende populatie ($>2 \times 10^9/L$), en het verlies van expressie van meerdere T-cel markers, kan het beeld passen bij een T-LGL leukemie. Echter, dan zou deze populatie volgens de WHO criteria >6 maanden moeten bestaan, zonder duidelijke oorzaak. TCR-G genherschikkingsonderzoek is ingezet om de klonaliteit van de afwijkende populatie vast te stellen.

CONCLUSIE:
Bloed met daarin morfologisch een grote populatie granulaire lymfocyten (LGLs) met een immunofenotype dat (behalve de CD57 negativiteit) kan passen bij een T-LGL. Gezien de absolute omvang van de afwijkende populatie ($>2 \times 10^9/L$), en het verlies van expressie van meerdere T-cel markers, kan het beeld passen bij een T-LGL leukemie. Echter, dan zou deze populatie volgens de WHO criteria >6 maanden moeten bestaan, zonder duidelijke oorzaak. TCR-G genherschikkingsonderzoek is ingezet om de klonaliteit van de afwijkende populatie vast te stellen.

MATERIAAL: **Perifeer bloed**

DATUM: 08/01/19

VRAAGSTELLING: Analyse anemie, hapto laag. Lymfocytose. Monoklonale B-celpopulatie?

MORFOLOGIE:

Milde lymfocytose. Een groot deel van de lymfocyten heeft grove kernen en een wat ruimer cytoplasma met daarin fijne azurofiele korreling.

IMMUNOFENOTYPERING:

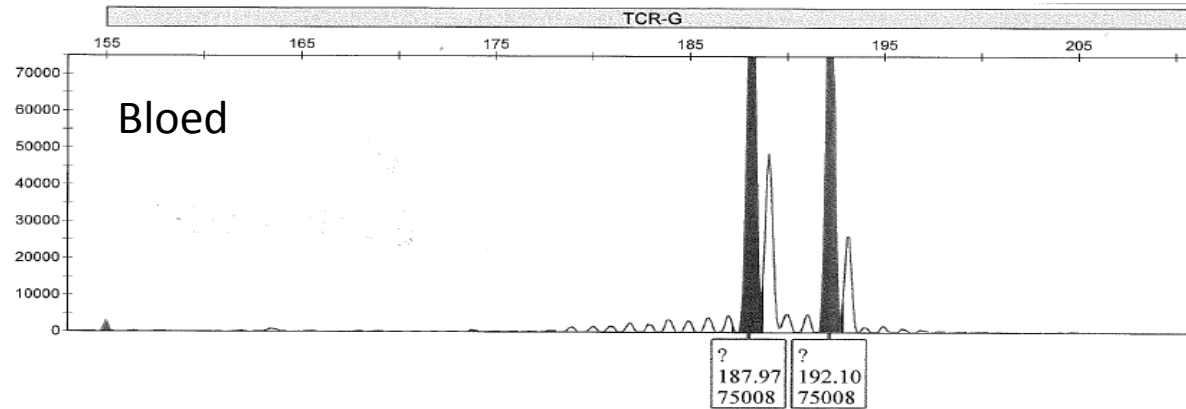
65% lymfocyten:
-11% normale CD3+ T-cellen, CD4/CD8 ratio: 3.7
-53% afwijkende CD3+ T-cellen: CD2 neg/zwak+, CD5 neg/zwak+, CD7 neg/zwak+, CD8+, CD16+, TcRab+, CD1neg, CD4neg, CD25neg, CD56neg, CD57 grotendeels neg, TcRgdneg *

-0.2% CD19+ B-cellen, polykloonaal, K/L ratio: 1.9

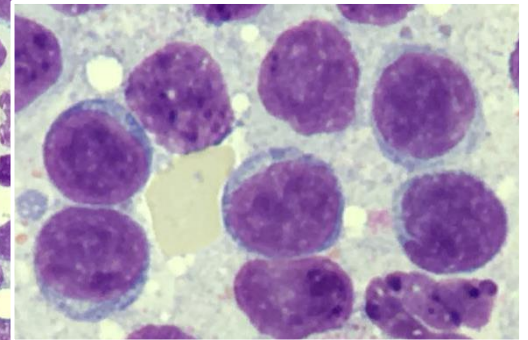
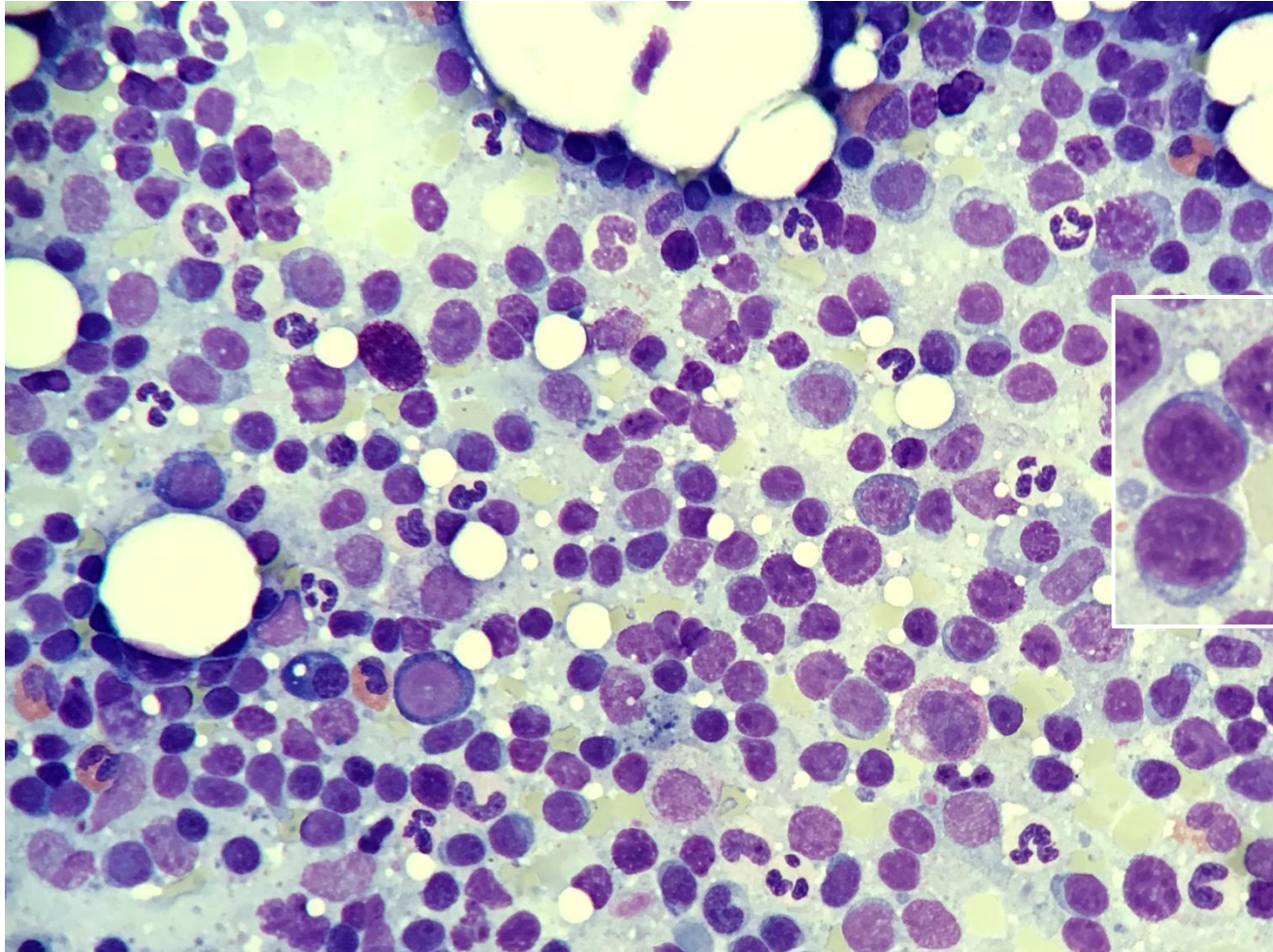
-0.6% NK-cellen

* De absolute omvang van de afwijkende populatie bedraagt $3.1 \times 10^9/L$.

TCR-G genherschikking



Beenmerg



CONCLUSIE:

Beenmerg met daarin een actieve hematopoïese die vrijwel zonder morfologische afwijkingen uitrijpt. Morfologisch worden ruim LGLs gezien en bij immunofenotypering worden 7% afwijkende T-cellen aangetoond met hetzelfde fenotype als in bloed.

CONCLUSIE:
Beenmerg met daarin een actieve hematopoïese die vrijwel zonder morfologische afwijkingen uitrijpt. Morfologisch worden ruim LGLs gezien en bij immunofenotypering worden 7% afwijkende T-cellen aangetoond met hetzelfde fenotype als in bloed.

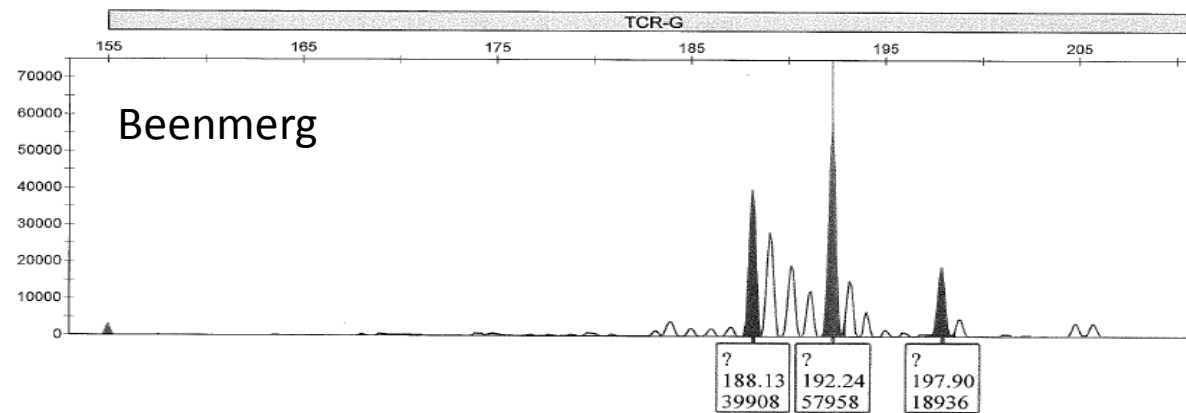
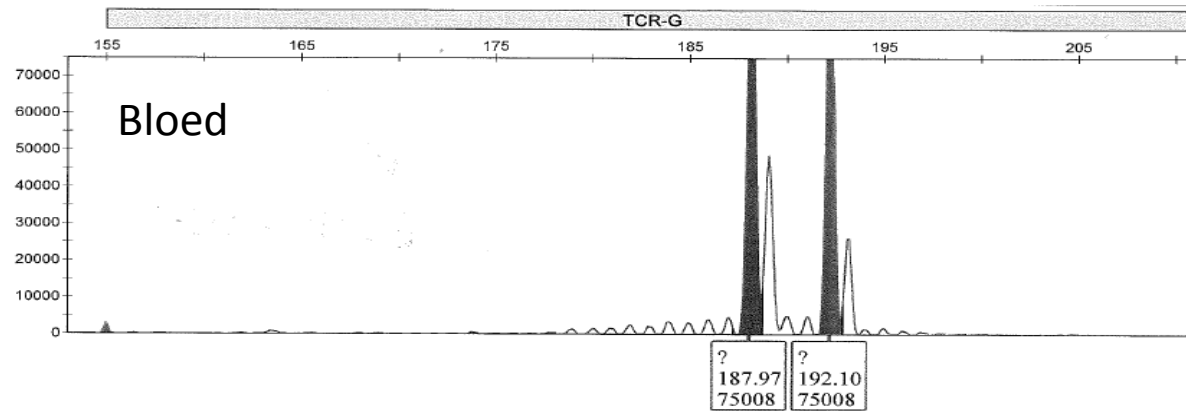
MATERIAAL: **Beenmerg asp.**
DATUM: 12/02/19
VRAAGSTELLING: T-LGL leukemie

MORFOLOGIE:
Beenmerg met daarin een actieve hematopoïese die zonder morfologische afwijkingen uitrijpt. Er worden 1% blasten geteld, 14% lymfocyten. Focaal ligt het percentage lymfocyten hoger (spreiding 7-20%); hier worden ook LGLs gezien.

IJZERKLEURING:
Goede voorraad en inbouw.

IMMUNOFENOTYPERING:
12% lymfocyten:
-4% CD3+ T-cellen, CD4/CD8 ratio: 0.6
-7% afwijkende CD3+ T-cellen met het volgende fenotype: CD2zw+, CD5neg/zw+, CD7zw+, CD8+, CD16+, TCRab+, HLA(deels)+, CD1neg, CD4neg, CD25neg, CD56neg, CD57neg, TDTneg
-0.2% polyklonale CD19+ B-cellen
-0.3% NK-cellen
0.6% CD45zw+ cellen

TCR-G genherschikking



Cytogenetica

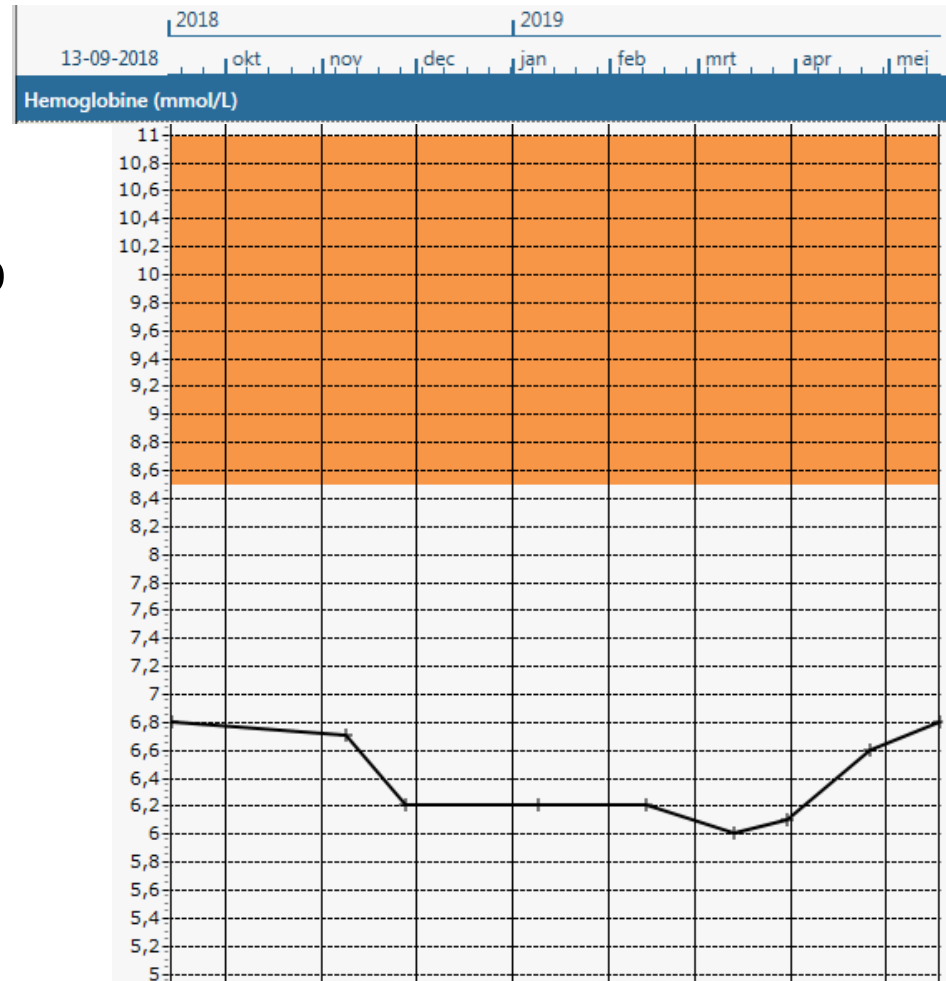
- Beenmerg: 45,x,-y (5)/46,xy(15), geduid bij leeftijd

Diagnose

- T-LGL leukemie, bij onderliggende auto-immuunziekte (M. Addison), bleek tevens ANA pos, hierbij geduid, klinisch geen SLE
- Behandeling methotrexaat 20 mg 1x per week met foliumzuur.
Behandelindicatie cytopenie.

Beloop

- Geleidelijk verbetering Hb
- Chronische aandoening, prognose gunstig



Flowcytometrie is inmiddels een essentieel onderdeel binnen de hemato-oncologische diagnostiek

- Richting gevend
- Ondersteunend bij diagnose
- Diagnostisch

