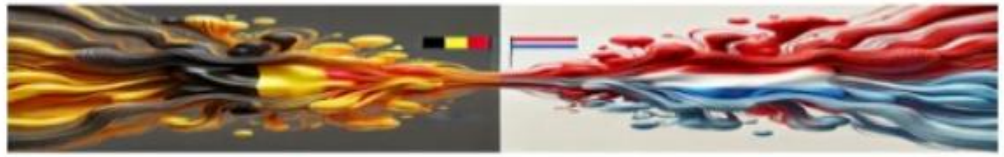
SKML IMCD nabespreking
26-06-2025

huishoudelijke mededelingen:

alle microfoons op mute
handje of chat voor vragen
feedback middels online enquête
accreditatie NVKC/ CMI: 2 punten



Save the date!

"Flow across borders"

25 & 26 November 2025, Antwerp (BE)

Joint congress

Dutch Society for Cytometry (NVC),

SKML-section IMCD

&

Belgian Society for the Advancement of Cytometry (BSAC)

SKML IMCD nabespreking
26-06-2025

programma:

BAL rondzending (Michiel Heron/ Leontine Mulder 10.00-10.15)

HbF rondzending (Jacqueline Leuvenink 10.15-10.30)

Leukemie en lymfomen rondzending (Rik Brooimans 10.30-10.45)

HbF enquête (Evelien Kemna 10.45-11.05)

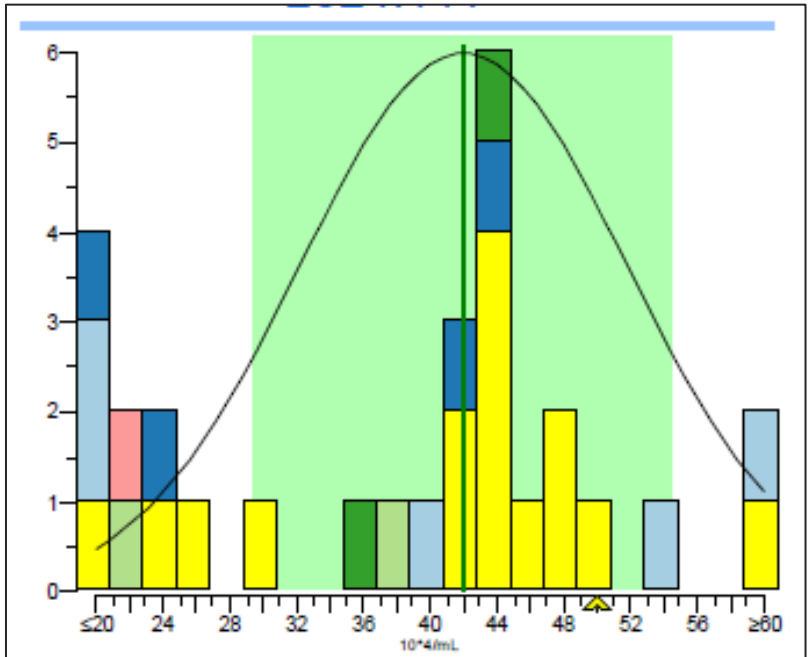
TRBC2, ervaring in routinediagnostiek (Ton Langerak 11.05-11.30)

SKML BAL 2024

2024.1

- Betreft lavage van 80 jarige vrouw.
- Voorgeschiedenis: sinds enige maanden progressief hoesten met groen sputum. In eerste instantie niet reagerend op antibiotica, later wel. Op X-thorax afwijkingen gezien die persisterend zijn nadat de hoestklachten verdwenen zijn.
- HR-CT: fibrotisch longbeeld, geen discriminerende of inconsistente kenmerken DD: fibrotische NSIP, EAA.
- Medicatie: niet relevant.
- Vraagstelling bij lavage: EAA, NSIP (fibrotisch)?

absoluut aantal cellen



	cons.	meth.	ALTM	lab
gem.	42.0	43.1	42.0	50
SD	9.8	5.8	9.8	
n	29	15	29	
nu	5	4	5	
rec.	119%	116%	119%	

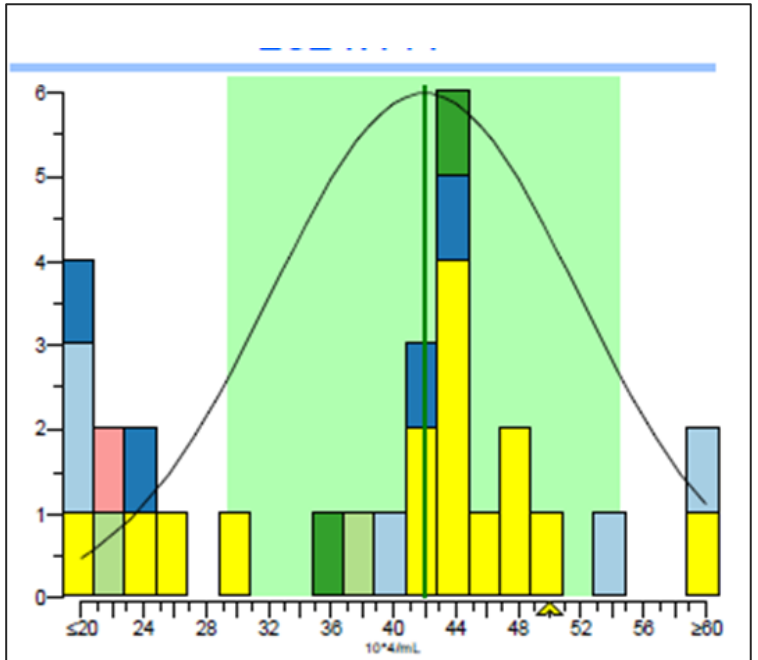
43,5		10*4/mL
43,1		10*4/mL
41,9		10*4/mL
23		10*4/mL
22		10*4/mL
0,4		10*4/mL
42,1		10*4/mL
48,6		10*4/mL
43,2		10*4/mL
30		10*4/mL
43		10*4/mL
23,5		10*4/mL
39,5		10*4/mL
50		10*4/mL
54,6		10*4/mL
75		10*4/mL
47		10*4/mL
42		10*4/mL
22,7		10*4/mL
38		10*4/mL
46,6		10*4/mL
25		10*4/mL
36		10*4/mL
43		10*4/mL
19,3		10*4/mL
0,3		10*4/mL
0,6		10*4/mL
415		10*4/mL
44,9		10*4/mL

Opnieuw aantal centra waar mogelijk wat fout gaat met de eenheid.

We streven naar minimaal 40 x 10^4cellen/mL. Uitslagen <1 en >100 zijn heel onwaarschijnlijk.

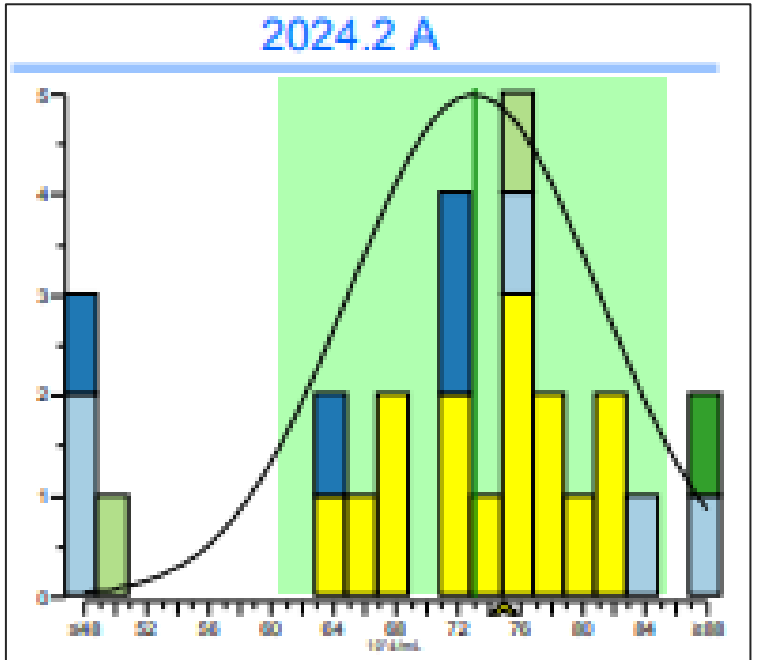
Waarom rapportage in 10^4cellen/mL? Statistische verwerking.

absoluut aantal cellen in beide rondzendingen



	cons.	meth.	ALTM	lab
gem.	42.0	43.1	42.0	50
SD	9.8	5.8	9.8	
n	29	15	29	
nu	5	4	5	
rec.	119%	116%	119%	

2024.2 A



	cons.	meth.	ALTM	lab
gem.	73.0	75.0	73.0	75
SD	8.0	5.9	8.0	
n	27	15	27	
nu	4	0	4	
rec.	103%	100%	103%	

Legenda

- Celteller overig
- Telkamer overig
- overig
- Telkamer + MGG kleuring
- Celteller Beckman Coulter

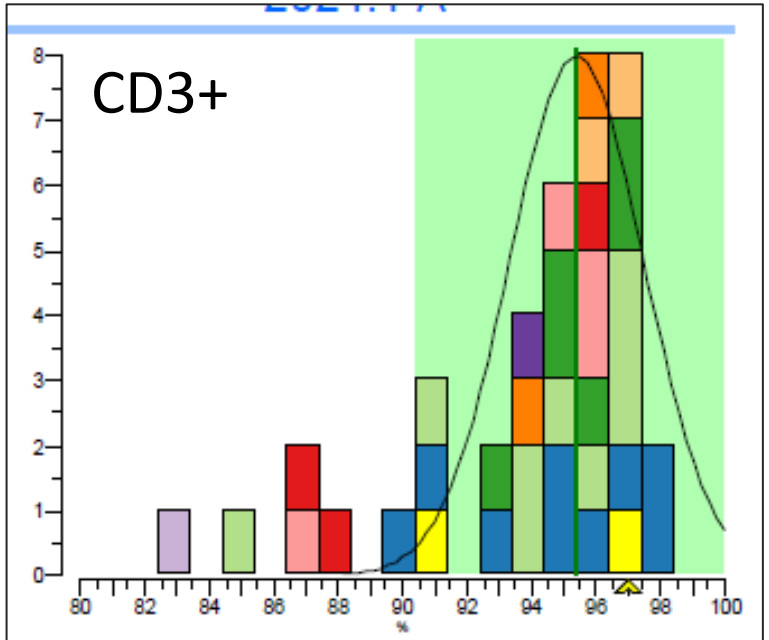
rondzending is geen natieve BAL

- Materiaal moet voor de houdbaarheid gestabiliseerd worden, eigen methode. Daardoor mogelijk om rond te zenden.
  - In een van de ingezonden commentaren stond dat het materiaal normaliter niet meer op hun lab in behandeling zou worden genomen, voor dit materiaal kan dit wel.

- Cel aantal rondzending is ook niet gelijk aan originele cel aantal. Omrekenen naar absolute getallen om die te gebruiken in de conclusie is dus niet mogelijk.

- Indien gewenst: origineel getal meesturen in de beschrijving. In deze casus was het cel aantal oorspronkelijk 22.3 10^4 cellen/mL.

aantal uitbijters



	cons.	meth.	ALTM	lab
gem.	95.4	94.2	95.4	97
SD	2.1		2.1	
n	39	2	39	
nu	5	0	5	
rec.	102%	103%	102%	

Parameter	Uitbijters (n)	Inzenders (n)
CD3+	5	39
CD3+CD4+	4	39
CD3+CD8+	0	39
CD19+	1	36
CD3-CD16/56+	0	36
CD103	6	35
CD103+CD4+/CD4+	7	35

conclusies

vraagstelling bij de lavage was EAA, NSIP (fibrotisch)

Aantal cellen	10*4/mL	42	C
Lymfo's op flow	%	25,1	C

Morfologie	Eenheid	Doelwaarden kwal.	Doelwaarden kwant.	
Macrofagen	%		73	C
Lymfocyten	%		19	C
Neutrofiele granulocyten	%		3	C
Eosinofiele granulocyten	%		5	C
Mestcellen	%		0	C
Plasmacellen	%		0	C
Overig	%		0	C

Lymfotypering	Eenheid	Doelwaarden kwal.	Doelwaarden kwant.	
CD3+	%		95,4	C
CD3+CD4+	%		79,3	C
CD3+CD8+	%		15	C
CD19+	%		1,2	C
CD3-CD16+CD56+	%		2	C
CD103	%		31,8	C
CD103,CD4/CD4	{ratio}		0,3	C

Leukocytose
Lymfocyten marginaal verhoogd → 19%
Licht toegenomen aantal eosinofielen → 5%
Hoge CD4/CD8 ratio, hoger dan in bloed → 5.3
Verder geen bijzonderheden

vraagstelling op grond van HR-CT beelden

- Vraagstelling bij de lavage was EAA, NSIP (fibrotisch).
- NSIP is niet specifieke interstitiële pneumonie.
- Tegenhanger van NSIP is UIP dat staat voor gebruikelijke (usual) interstitiële pneumonie. UIP is het meest voorkomende patroon, en heeft op beeldvorming karakteristieke kenmerken (ernstiger aan de basale en buitenste randen van de long, honeycombing).
- NSIP heet niet specifiek omdat het geen specifieke histopathologische kenmerken heeft. Op CT wordt een uniforme (homogene) ontsteking gezien die kenmerken van fibrose kan hebben.
- Oorzaken van NSIP: bindweefselziekten, virale infecties, medicatie.

BAL bij NSIP

Table 2 Bronchoalveolar lavage (BAL) findings and their relationship with HRCT diagnosis in IPF and idiopathic NSIP.

Variables	IPF ($n = 87$)	Idiopathic NSIP			*P*-value*
		Cellular ($n = 6$)	Fibrotic ($n = 29$)	Both ($n = 35$)	
BAL neutrophils					
Counts (%) (ranges)	7.0(0–85)	3.5(1–25)	3.0(0–38)	3.0(0–38)	<0.05
Neutrophilia (+) (*n*)	49	2	10	12	<0.05
BAL lymphocytes					
Counts (%) (ranges)	5.5(0–68)	40.5(29–76)	19.0(4–71)	29.0(4–76)	<0.05
Lymphocytosis (+) (*n*)	14	6	14	20	<0.05
HRCT diagnosis					
Confident IPF (*n*)	58	0	2	2	<0.05
BAL neutrophilia (+)	35/58	0	0	0	NS
BAL lymphocytosis (+)	10/58	0	1/2	1/2	NS
Not confident IPF (*n*)	29	6	27	33	<0.05
BAL neutrophilia (+)	14/29	2/6	10/27	12/33	NS
BAL lymphocytosis (+)	4/29	6/6	14/27	20/33	<0.05

Values are expressed as medians (ranges) or as the number of patients.
*When compared between IPF and idiopathic NSIP.

Respiratory Medicine, 2007-03-01, Volume 101, Issue 3, Pages 655-660,

Immunologisch lavage - interpretatie

American Thoracic Society Documents

An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline: The Clinical Utility of Bronchoalveolar Lavage Cellular Analysis in Interstitial Lung Disease

Keith C. Meyer, Ganesh Raghu, Robert P. Baughman, Kevin K. Brown, Ulrich Costabel, Roland M. du Bois, Marjolein Drent, Patricia L. Haslam, Dong Soon Kim, Sonoko Nagai, Paola Rottoli, Cesare Saltini, Moisés Selman, Charlie Strange, and Brent Wood, on behalf of the American Thoracic Society Committee on BAL in Interstitial Lung Disease

This Official Clinical Practice Guideline of the American Thoracic Society (ATS) was Approved by the ATS Board of Directors, January 2012

Am J Respir Crit Care Med Vol 185, Iss. 9, pp 1004–1014, May 1, 2012

Immunologisch lavage - interpretatie

Interstitial lung diseases

Disorders associated with increased percentage of specific BAL cell types

Lymphocytic cellular pattern	Eosinophilic cellular pattern	Neutrophilic cellular pattern
>15% lymphocytes	>1% eosinophils	>3% neutrophils
Sarcoidosis	Eosinophilic pneumonias	Collagen vascular diseases
Nonspecific interstitial pneumonia (NSIP)	Drug-induced pneumonitis	Idiopathic pulmonary fibrosis
Hypersensitivity pneumonitis	Bone marrow transplant	Aspiration pneumonia
Drug-induced pneumonitis	Asthma, bronchitis	Infection: bacterial, fungal
Collagen vascular diseases	Churg-Strauss syndrome	Bronchitis
Radiation pneumonitis	Allergic bronchopulmonary aspergillosis	Asbestosis
Cryptogenic organizing pneumonia (COP)	Bacterial, fungal, helminthic, *Pneumocystis* infection	Acute respiratory distress syndrome (ARDS)
Lymphoproliferative disorders	Hodgkin's disease	Diffuse alveolar damage (DAD)

Am J Respir Crit Care Med Vol 185, Iss. 9, pp 1004–1014, May 1, 2012

Immunologisch lavage - interpretatie

Abnormal BAL differential cell patterns that suggest specific types of ILD
A lymphocyte differential count ≥25% suggests granulomatous disease (sarcoidosis, hypersensitivity pneumonitis, or chronic beryllium disease), cellular nonspecific interstitial pneumonia, drug reaction, lymphoid interstitial pneumonia, cryptogenic organizing pneumonia, or lymphoma.
CD4+/CD8+ >4 is highly specific for sarcoidosis in the absence of an increased proportion of other inflammatory cell types.
A lymphocyte differential count >50% suggests hypersensitivity pneumonitis or cellular nonspecific interstitial pneumonia.
A neutrophil differential count >50% supports acute lung injury, aspiration pneumonia, or suppurative infection.
An eosinophil differential count >25% is virtually diagnostic of acute or chronic eosinophilic pneumonia.
A cell differential count of >1% mast cells, >50% lymphocytes, and >3% neutrophils is suggestive of acute hypersensitivity pneumonitis.

Other abnormal BAL findings	
Infectious organism	Lower respiratory infection
Malignant cells (light microscopy, flow cytometry)	Cancer
Bloody fluid that increases in successive aliquots	Pulmonary hemorrhage ± diffuse
Milky fluid with positive periodic acid Schiff staining and amorphous debris	Pulmonary alveolar proteinosis
In vitro lymphocyte proliferative response to specific beryllium antigen	Chronic beryllium disease

Am J Respir Crit Care Med Vol 185, Iss. 9, pp 1004–1014, May 1, 2012

vraagstelling bij de lavage was EAA, NSIP (fibrotisch)

Sarcoidose	11
EAA niet waarschijnlijk, NSIP niet uitgesloten/mogelijk	9
IPF	3
NSIP	2
EAA niet waarschijnlijk, NSIP niet uitgesloten/mogelijk. DD sarcoidose	2
Sarcoidose, EAA	1
Geen eenduidige conclusie mogelijk	1
Geen EAA, geen NSIP	1
Geen EAA	1
EAA	1

Leukocytose
Lymfocyten marginaal verhoogd → 19%
Licht toegenomen aantal eosinofielen → 5%
Hoge CD4/CD8 ratio, hoger dan in bloed → 5.3
Verder geen bijzonderheden

Sarcoïdose zonder verdere DD wordt het meest ingestuurd en past bij het cellulair profiel echter niet bij radiologische DD.

EAA niet waarschijnlijk: (te) laag aantal lymfocyten, als EAA dan waarschijnlijk chronisch.

NSIP niet uit te sluiten, meer waarschijnlijk fibrotische NSIP (en cellulaire IPF niet uit te sluiten).

Op grond van de vraagstelling niet logisch om alleen iets over sarcoïdose te zeggen in de conclusie.

Bespreking: de uitkomsten zijn conform vorige rondzendingen: in het algemeen goed concordante resultaten, met name van de flowcytometrische data met een gebruikelijke spreiding. Twee dingen blijven opvallen: wat betreft de hemosiderine score blijft de spreiding onverminderd groot en consensusafspraken wat we positief noemen zijn nodig. Dit geldt zowel voor de standaard rapportage als voor de Golde score. Ook de commentaren zijn heel divers. De casus is een casus pro diagnosi waar nog geen “label” op geplakt is.

2024.2

Lavage van 62 jarige vrouw.

Mevrouw rookt niet.

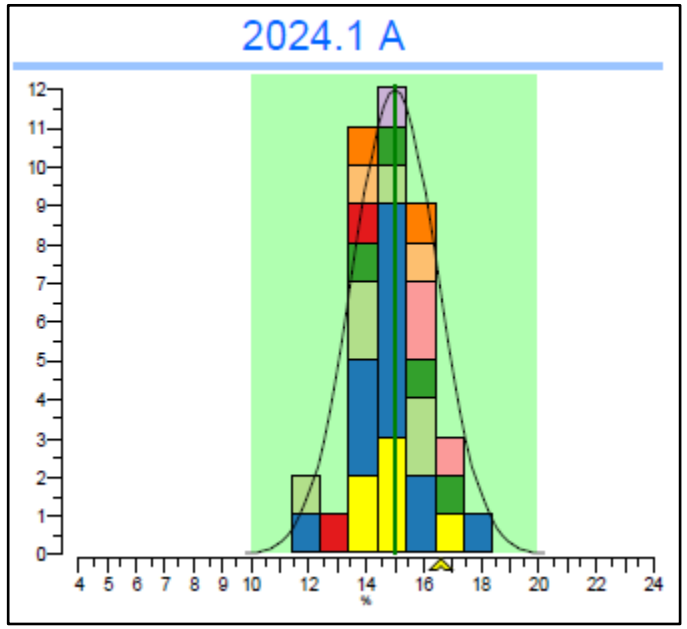
Huisdieren: hond

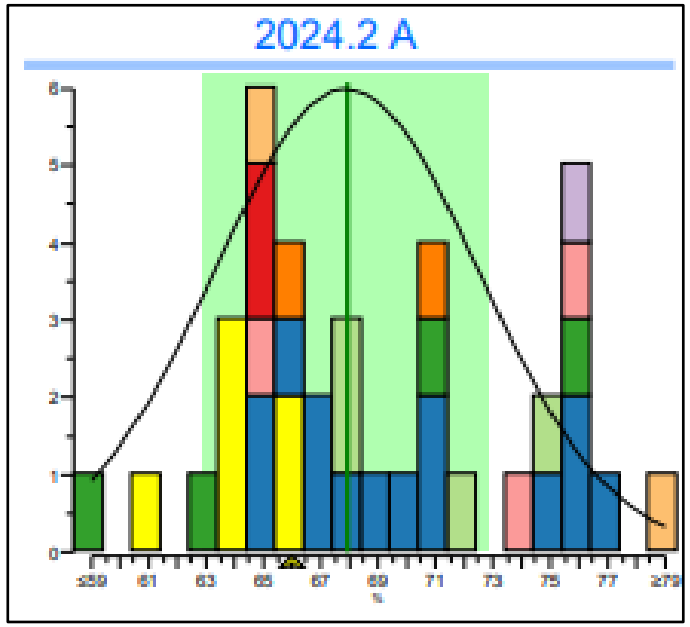
Medicatie: oogdruppels en ooggel, hydroxychloroquine 200 mg 1dd1

Voorgeschiedenis: M. Sjögren. In het verleden vaak longontstekingen gehad. Laatste in juli 2023. X-thorax is nog niet genormaliseerd daarom wordt HR-CT verricht.

Uitslag HR-CT: Bilateraal basaal diffuus, vlekkige gebieden met matglasdensiteit. Milde bronchiëctasiën. Mogelijk toch pulmonale manifestatie/NSIP bij bekende M. Sjögren.

CD3+CD8+



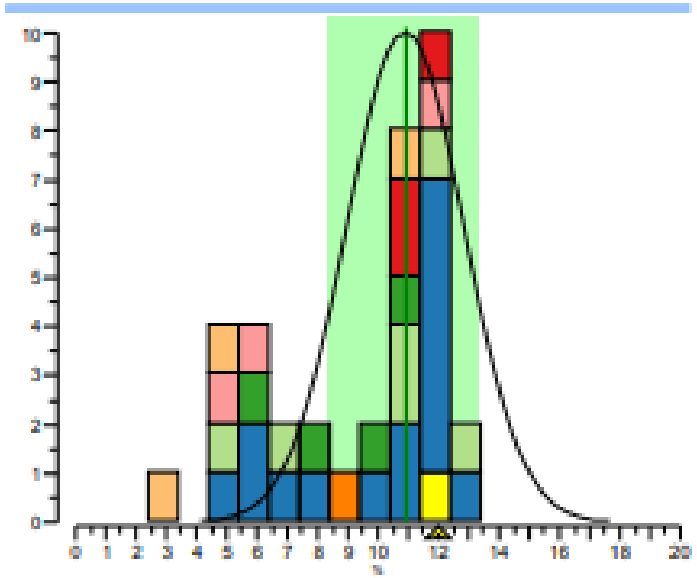


Grotere spreiding dan normaal op CD3+CD8 populatie. Er blijven inzendingen zijn met meer dan 10% verschil op CD3+ versus CD3+CD4+ + CD3+CD8+

CD3+	CD3/CD4+	CD3/CD8+	som CD4+CD8		verschil	
85	24	75	99		14	
87,3	22,5	75,5	98		10,7	
86,4	22,1	76,6	98,7		12,3	
90	24	76	100		10	
85	24	75	99		14	
86,2	23,9	75,7	99,6		13,4	

CD19+

2024.2 A



	cons.	meth.	ALTM	lab
gem.	10.9	12.0	10.9	12
SD	1.9		1.9	
n	36	1	36	
nu	4	0	4	
rec.	110%	100%	110%	

3.3.1 Minimaal inzet panel immunofenotyperingsonderzoek

- Voor immunofenotypering van de leukocyten in de BAL-vloeistof, worden 0.5 x10^6 cellen (100 µl van een suspensie met een concentratie van ca. 5x10^6/ml) met monoklonale antistoffen geïncubeerd volgens het geldende immunofenotyperings protocol voor lymfocytensubset analyse in de BAL.
- Een minimaal protocol ziet er als volgt uit:
  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 aan te vullen met:
  SmIgKappa/SmIgLambda 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.

0.109*67 (percentage lymfocyten) = 7.3% van leuko is B-cel, dus > 5%

echter, ref waarden %CD19+ binnen lymfocyten niet-rokers: 2 (0·5–3)
rokers: 1 (0·1–2)

8/39 inzendingen vermelden verhoogd aantal B-cellen in de conclusie

In dit materiaal was een B-cel populatie aanwezig. De range van de inzendingen loopt van 3-12.7 %. Eén lab meldt een volledig lambda monoclonaliteit, twee labs melden een kappa monoclonaliteit, twee labs benoemen expliciet dat de B-cel populatie polyclonaal is. Bij de oorspronkelijke analyse op het verse materiaal is de B-cel populatie uitgebreid bekeken, is apart gegated op de CD38+ populatie, de CD38- populatie en de $CD20^{zw+}$populatie. In geen van deze populaties is monoclonaliteit aangetoond.

conclusies

Aantal cellen	10*4/mL		73 C
Lymfo's op flow	%		71 C

Morfologie	Eenheid	Doelwaarden kwal.	Doelwaarden kwant.
Macrofagen	%		20.5 C
Lymfocyten	%		67 C
Neutrofiele granulocyten	%		6 C
Eosinofiele granulocyten	%		6 C
Mestcellen	%		0 C
Plasmacellen	%		0 C
Overig	%		0 C

Lymfotypering	Eenheid	Doelwaarden kwal.	Doelwaarden kwant.
CD3+	%		86,3 C
CD3+CD4+	%		20,4 C
CD3+CD8+	%		67,9 C
CD19+	%		10,9 C
CD3-CD16+CD56+	%		1,7 C
CD103	%		72,8 C
CD103,CD4/CD4	{ratio}		0,5 C

Forse leukocytose
Forse lymfocytose → 67%
Toename neutro- en eosinofiele granulocyten → 6%
Lage CD4/CD8 ratio → 0.3
B-cellen → 11%
Geen plasmacellen

ILD in SS, wat zie je in de lavage

- Uptodate: Bronchoalveolar lavage (BAL) cell count patterns in SjD are nonspecific, so the main role of BAL in a patient who is suspected of having SjD-ILD is to exclude other causes of diffuse parenchymal lung disease, such as eosinophilic pneumonia, infection, lymphangitic tumor, and hemorrhage.

- Increased numbers of BAL lymphocytes or neutrophils are common among patients with pSjD

Bronchoalveolar lavage cytology in connective tissue disease with and without associated interstitial lung disease

Disease	With ILD	Without ILD
Progressive systemic sclerosis	Neutrophils, eosinophils	Neutrophils, eosinophils
Rheumatoid arthritis	Neutrophils, lymphocytes	Lymphocytes (CD4+, T5/9)
Primary Sjögren's syndrome	Neutrophils, lymphocytes (CD8+)	Lymphocytes (CD4+)
Systemic lupus erythematosus	Neutrophils, lymphocytes	Lymphocytes
Dermatopolymyositis	Neutrophils	Neutrophils
Mixed connective tissue disease	Neutrophils	Neutrophils
Secondary Sjögren's syndrome	Neutrophils, lymphocytes (CD8+)	Neutrophils, lymphocytes (CD8+)

Presence of interstitial lung disease (ILD) is judged by clinical and radiographic findings.

Redrawn from Wallaert B, Rossi GA, Sibille Y, Eur Respir J 1990; 3:942.

uptodate

A cell differential count of >1% mast cells, >50% lymphocytes, and >3% neutrophils is suggestive of acute hypersensitivity pneumonitis.

Cellulair profiel kan passen bij HP of SS. Voor HP geen uitlokkend agens gevonden. Gebruikte medicatie is hydroxychloroquine. Geen schuimmacrofagen aanwezig. Vooralsnog werkdiagnose ILD bij SS.

Bespreking:

- Er zijn vier laboratoria die duidelijk een sterk verminderd cel aantal rapporteren. Alle vier zijn bepaald met de telkamer. In totaal zijn zeven van de ingestuurde resultaten bepaald met de telkamer. De groep ingestuurde resultaten bepaald met een celteller is veel homogener.
- Er zijn vijf inzendingen waarbij de som van CD3+CD4+ en CD3+CD8+ meer dan 10% afwijkt van het totaal CD3+ cellen. In vier van de vijf getallen is de som van de CD3+CD4+ en CD3+CD8+ het hoogst, er wordt geen melding gedaan van een populatie CD3+CD4+CD8+. Bij deze vier inzendingen ligt de som van de CD3+CD4+ en CD3+CD8+ dicht bij de 100%. Check a.u.b. dat echt het percentage tov het aantal lymfocyten wordt ingestuurd en niet tov het totaal CD3+ cellen.
- Eén inzender stuurt de CD103/CD4 ratio in ipv de CD4+CD103+/CD4+ ratio.
- In dit materiaal was een B-cel populatie aanwezig. De range van de inzendingen loopt van 3-12.7 %. Eén lab meldt een volledig lambda monoclonaliteit, twee labs melden een kappa monoclonaliteit, twee labs benoemen expliciet dat de B-cel populatie polyclonaal is. Bij de oorspronkelijke analyse op het verse materiaal is de B-cel populatie uitgebreid bekeken, is apart gegated op de CD38+ populatie, de CD38- populatie en de $CD20^{zw+}$populatie. In geen van deze populaties is monoclonaliteit aangetoond.

Qua commentaren vinden de meeste laboratoria dat de resultaten kunnen passen bij EAA of M. Sjögren geassocieerde ILD. Een laboratorium merkt op dat het materiaal normaliter niet in behandeling zou zijn genomen wegens de tijdslijn (vijf dagen na afname). Echter men moet zich realiseren dat het rondzendmateriaal gefixeerd is om de houdbaarheid te verlengen.

De werkdiagnose na bespreking van de casus in het multidisciplinair overleg is M. Sjögren geassocieerde ILD.