



## MVZ SYNLAB Hämatologisches Labor Köln GmbH

### **Lokales Leistungsverzeichnis**

# Leistungsverzeichnis

|                                       |                                |
|---------------------------------------|--------------------------------|
| Erstellt: Eva Lorsy                   | Datum: 08.10.2021              |
| Geprüft: Prof. Dr. med. K.-A. Kreuzer | Datum: 27.10.2021              |
| Freigegeben: Stefanie Heynck          | Datum: 03.11.2021              |
| Versionsnr.: 4                        | VA_35_ZQM_Leistungsverzeichnis |

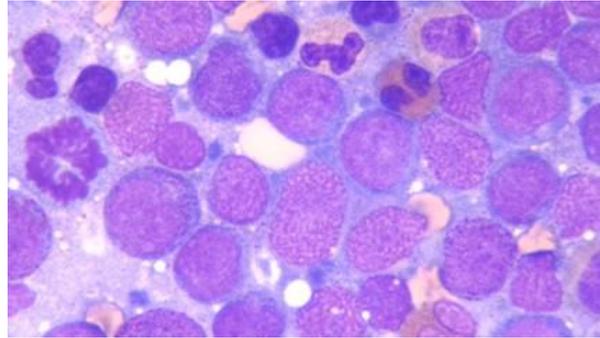
## Inhaltsverzeichnis

|                              |    |
|------------------------------|----|
| 1. Zytomorphologie.....      | 3  |
| 1.1 Indikationen.....        | 3  |
| 1.2 Material .....           | 3  |
| 2. Durchflusszytometrie..... | 4  |
| 2.1 Indikationen.....        | 4  |
| 2.2 Material .....           | 5  |
| 3. Molekulargenetik .....    | 6  |
| 3.1 Indikationen.....        | 6  |
| 3.2 Material .....           | 7  |
| 4. Tumorzytogenetik .....    | 8  |
| 4.1 Indikationen.....        | 8  |
| 4.2 Material .....           | 11 |

### Änderungshinweise

Durchflusszytometrie: TCR-V Beta Charakterisierung entfernt; MGUS und BAL-Untersuchungen ergänzt; generell überarbeitet  
Molekulargenetik: Indikationen überarbeitet/aktualisiert  
Zytogenetik: Überarbeitung FISH-Panel

# 1. Zytomorphologie



Bei hämatologischen Erkrankungen ist die Zytomorphologie die Basis der Diagnostik. In diesem Bereich wird die Richtung für weitere sinnvolle Zusatzuntersuchungen ermittelt. Diese Zusatzuntersuchungen werden in den Bereichen der Durchflusszytometrie, der Molekulargenetik und der Tumorzytogenetik durchgeführt.

Im Bereich der Zytomorphologie kommen folgende Methoden, entsprechend der Verdachtsdiagnose, zum Einsatz:

- Panoptische Färbung nach Pappenheim (Standardfärbung der Hämatologie, kommt bei allen Entitäten zum Einsatz)
- Peroxidase-Färbung (POX)
- Period-Säure-Schiffs-Reaktion (PAS)
- Berliner-Blau-Reaktion
- Toluidinblau
- Esterase-Färbung (NE)

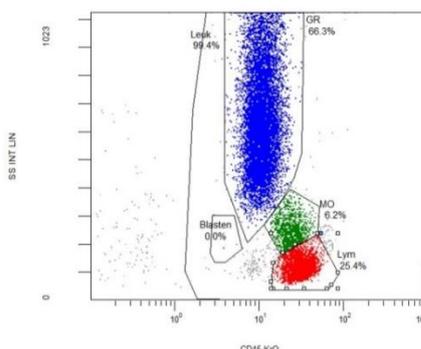
## 1.1 Indikationen

- Akute Leukämien (ALL/AML)
- Myelodysplastische Syndrome (MDS)
- Myeloproliferative Neoplasien (MPN)
- Lymphome (M. Hodgkin, Non-Hodgkin-Lymphome, DLBCL, Multiples Myelom)
- Andere hämatologischen Erkrankungen (z. B. Agranulozytose)
- Karzinosen
- Atypien in Ergüssen/Liquor
- Veränderungen der Erythrozyten

## 1.2 Material

- Native Knochenmark- und/oder periphere Blutaussstriche
- Knochenmark (EDTA)
- Peripheres Blut (EDTA)
- Körperhöhlenergüsse (Nativ oder EDTA)
  - ➔ Aszites
  - ➔ Pleura
  - ➔ Perikard
- Liquor (Nativ)
- Bronchoalveoläre Lavage

## 2. Durchflusszytometrie



Die Durchflusszytometrie ist für die Charakterisierung von Leukozytenpopulationen, insbesondere der Lymphozyten ein elementarer Bestandteil in der hämatologischen Diagnostik. Sie kann die morphologische Analyse ergänzen, sowie Informationen für die Auswahl der sich anschließenden molekulargenetischen und zytogenetischen Untersuchungen liefern. Sie dient zur Diagnosestellung, Diagnosesicherung und im Verlauf zur Überwachung maligner Zellpopulationen. Für die durchflusszytometrische Analyse werden Leukozyten mit Hilfe von fluoreszenzmarkierten Antikörpern mittels Durchflusszytometer analysiert. Unser Labor verfügt über vollautomatische 4-Farb-Durchflusszytometer für die Messung von Immunstaten und 10-Farb-Durchflusszytometer für die Abgrenzung maligner Zellpopulationen von benignen/reaktiven Zellpopulationen.

Mit unserem Screening-Panel können wir Leukozytenpopulationen voneinander trennen. Bei Auffälligkeiten oder bei entsprechender (Verdachts)-Diagnose können bestimmte Subpopulationen genauer betrachtet werden. Hierzu gehören bei Auffälligkeiten von Progenitorzellen das AML-, B-ALL- und T-ALL-Panel. Bei Auffälligkeiten der Lymphozyten das B-NHL- und T-NHL-Panel. Bei Verdacht auf eine Plasmazellerkrankung kann ein Plasmazellpanel durchgeführt werden.

Eine spezielle Analyse bieten wir zur Detektion der Minimalen Resterkrankung der CLL nach Therapie oder Transplantation an (CLL-MRD-Panel). Hiermit können auch noch sehr kleine CLL-Populationen, im peripheren Blut oder Knochenmark erkannt werden (Sensitivität mindestens  $1 \times 10^{-4}$ ).

### 2.1 Indikationen

#### Bei Verdachtsdiagnosen und im Verlauf

- Myeloproliferative Neoplasien (MPN)
- Myelodysplastische Syndrome (MDS)
- Akute myeloische Leukämie (AML)
- Akute lymphatische Leukämie (B-ALL/T-ALL)
- Detektion von Blasten (Screening-Panel Blasten)
  - ggf. Einteilung in myeloisch/ lymphatisch (AML-/B-ALL-/T-ALL-Panel)
- T-Zell-Non Hodgkin Lymphom (T-NHL)
- B-Zell-Non Hodgkin Lymphom (B-NHL)
- Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS)
- Detektion aberranter Lymphozytenpopulationen
  - Übersichtsanalyse (Screening-Panel Lymphozyten)
- Schwerpunkt T-Zellen/ B-Zellen/ Plasmazellen (T-NHL-/B-NHL-/Plasmazell-Panel) möglich
- Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (PNH-Panel)

#### Nach Therapie: Detektion der minimalen Resterkrankung (Nachweisgrenze $\leq 1 \times 10^{-4}$ )

- CLL-MRD (CLL-MRD-Panel)

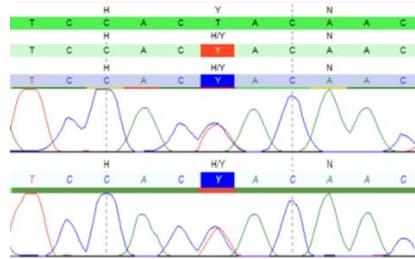
#### Immunstatus

- Quantifizierung T-, B-, NK-Zellen
- CD4/CD8-Quotient

## 2.2 Material

- Knochenmark (EDTA)
- Peripheres Blut (EDTA)
  - Für Immunstatus und PNH-Analyse erforderlich
- Körperhöhlenergüsse (Nativ oder EDTA) \*
  - Aszites
  - Pleura
  - Perikard
- Liquor (Nativ)
- Bronchoalveoläre Lavage (gesonderter Anforderungsschein)
  - Übersichtsanalyse der Lymphozyten-Subpopulationen

### 3. Molekulargenetik



Der Bereich der Molekulargenetik ist ein wichtiger Bestandteil der Diagnostik und Prognoseabschätzung im Bereich der Hämato-Onkologie. Diverse genetische Veränderungen lassen sich ausschließlich über molekulargenetische Methoden nachweisen. Die Bestimmung der minimalen Resterkrankung (MRD) hat einen hohen Stellenwert für die Überprüfung des Ansprechens von Therapien und die Früherkennung von Rezidiven.

#### 3.1 Indikationen

##### **Akute myeloische Leukämie (AML), Myelodysplastisches Syndrom (MDS)**

- AML-Panel (NGS): ASXL1, CEBPA, DNMT3A, FLT3-ITD, FLT3-TKD, IDH1/2, KIT, KRAS, NPM1, NRAS, RUNX1, TP53; ggf. ergänzt durch EZH2, SF3B1, SRSF2, TET2, U2AF1, WT1
- MDS-Panel (NGS): ASXL1, CBL, DNMT3A, ETV6, EZH2, IDH1/2, KRAS, NRAS, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, ZRSR2
- FLT3-TKD (Sanger-Sequenzierung)
- KMT2A-PTD qualitativ und quantitativ
- WT1 quantitativ
- PML/RARA quantitativ
- RUNX1/RUNX1T1 quantitativ
- CBFβ/MYH11 quantitativ
- KIT-D816 (Sanger-Sequenzierung mit Clamp)
- NPM1-Mutation quantitativ
- CEBPA (Sanger Sequenzierung)
- TP53-Exon 4-10 (Sanger Sequenzierung)
- IDH1-Exon 4 (Sanger Sequenzierung)
- KMT2A/MLL10 \* qualitativ

##### **Akute lymphatische Leukämie (ALL)**

- BCR/ABL1 qualitativ und quantitativ
- WT1 quantitativ
- TCF3/PBX1 quantitativ
- KMT2A/AFF1 quantitativ

##### **Myelodysplastische/Myeloproliferative Neoplasien (MDS/MPN Overlap)**

- MDS/MPN-Panel (NGS): ASXL1, CALR, CBL, CSF3R, DNMT3A, ETNK1, EZH2, IDH1/2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, NRAS, PTPN11, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1
- BCR/ABL1 qualitativ und quantitativ

##### **Myeloproliferative Neoplasien (MPN)**

- MPN-Panel (NGS): ASXL1, CALR, CSF3R, EZH2, IDH1/2, JAK2, MPL, SF3B1, SRSF2, TP53, U2AF1; ggf. ergänzt durch CBL, DNMT3A, ETNK1, KIT, KRAS, NRAS, SETBP1, TET2
- BCR/ABL1 qualitativ und quantitativ
- JAK2-V617F (HRM und Sanger-Sequenzierung)
- JAK2-Exon 12 (Sanger Sequenzierung)
- MPL-Exon 10 (Sanger Sequenzierung)
- CALR-Exon 9 (Sanger Sequenzierung)
- KIT-D816 (Sanger-Sequenzierung mit Clamp)
- ABL1 (TKI-Resistenz, Sanger Sequenzierung)

### **B-Zell-Non Hodgkin Lymphom (B-NHL)**

- B-NHL-Panel (NGS): BAX, BCL2, BRAF, BTK, CXCR4, EZH2, KIT, KRAS, MCL1, MYD88, NOTCH1, NRAS, PLCG2, TP53
- CLL-Panel (NGS): ATM, BAX, BCL2, BIRC3, BRAF, BTK, KRAS, MCL1, MYD88, NOTCH1, NRAS, PLCG2, POT1, SF3B1, TP53, XPO1
- TP53-Exon 4-10 (Sanger Sequenzierung)
- IGHV Status (bei CLL)
- BRAF-V600E/K (HRM)
- MYD88-L265P (Sanger Sequenzierung)
- CXCR4-Exon 5 (Sanger Sequenzierung)
- CCND1 quantitativ
- SOX11 quantitativ

### **T-Zell-Non Hodgkin Lymphom (T-NHL)**

- T-NHL-Panel (NGS): ATM, STAT3, STAT5B, TP53
- TP53-Exon 4-10 (Sanger Sequenzierung)
- STAT3-Exon 21 (Sanger Sequenzierung)
- T-Zell-Klonalität\*

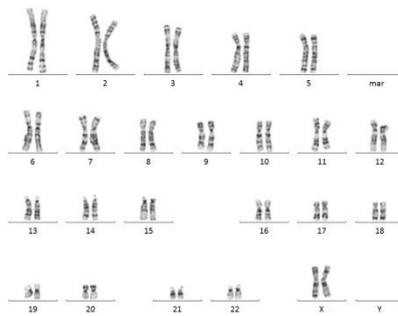
### **Stammzelltransplantation**

- Chimärismus (STR)

## **3.2 Material**

- Knochenmark (EDTA)
- Peripheres Blut (EDTA)

## 4. Tumorzytogenetik



Chromosomen- und FISH-Analyse stellen die wesentlichen Techniken der Tumorzytogenetik bei der initialen Diagnostik hämato-onkologischen Erkrankungen dar. Die klassische Chromosomenanalyse (CA), also die Erstellung eines Karyotyps hat einen bedeutenden Anteil an der Bestimmung einer spezifischen Entität. In vielen Fällen stellt sie zudem einen entscheidenden Prognose-Parameter dar. Mit Hilfe der Interphase-FISH-Analyse werden submikroskopische Veränderungen detektiert. Ebenso wie bei der CA können hier Aberrationen von wegweisender Bedeutung für prognostische Einstufung detektiert werden.

Bei Plasmazellerkrankungen, die eine niedrige *In-vitro*-Proliferationsrate aufweisen, ist die Aussagekraft der Chromosomenanalyse begrenzt. Hier kommt der FISH-Analyse die entscheidende Bedeutung zu. Die CD138-positiven Plasmazellen werden mittels zunächst MACS angereichert und anschließend der FISH analysiert.

Zur Aufklärung komplex aberranter Karyotypen, wie sie nicht selten bei hämatologischen Neoplasien auftreten, wird die M-FISH-Analyse (Multi-Color-FISH) eingesetzt, die jedes Chromosom mit einer eigenen, spezifischen Farbe markiert und so eine eindeutige Darstellung chromosomaler Umbauten erlaubt.

### 4.1 Indikationen

#### **Akute lymphatische Leukämie (ALL)**

##### **Bei B-ALL**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - KMT2A (früher MLL) (11q23)
  - BCR/ABL1 (22q11/9q34)
  - MYC/IGH (8q24 /14q32)
  - ETV6/RUNX1 (12p13.2/21q22.1)

##### **Bei T-ALL**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - TCRA/D (14q11.2)
  - KMT2A (früher MLL) (11q23)

#### **Akute myeloische Leukämie (AML)**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - EGR1/RPS14 (5q31/5q32-33)
  - 7cen/KMT2E/MET (7cen/7q22/7q31)
  - KMT2A (früher MLL) (11q23)
  - CBFβ/MYH11 (16p13/16q22)
  - TP53/NF1 (17p13/17q11)
  - PML/RARA (15q24/17q21)
  - RUNX1T1/RUNX1 (8q21/21q22)

### **Bei Variante M4 EO zusätzlich**

- FISH:
  - FIP1L1/CHIC2/PDGFRB (4q12)
  - PDGFRB (5q32-q33)
  - FGFR1 (8p11)
  - PCM1/JAK2 (8p22/9p24)
  - BCR/ABL1 (22q11/9q34)

### **Myelodysplastisches Syndrom (MDS)**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - EGR1/RPS14 (5q31/5q32-33)
  - 7cen/KMT2E/MET (7cen/7q22/7q31)
  - PTPRT/20qter (20q12/20qter)
  - 8cen (8cen)
  - TP53/NF1 (17p13/17q11)

### **Bei V.a. MDS zusätzlich**

- FISH:
  - KMT2A (11q23)

### **Chronisch myelomonozytäre Leukämie (CMML)**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - 8cen (8cen)
  - 7cen/KMT2E/MET (7cen/7q22/7q31)
  - BCR/ABL1 (22q11/9q34)

### **Mit Eosinophilie zusätzlich:**

- FISH:
  - FIP1L1/CHIC2/PDGFRB (4q12)
  - PDGFRB (5q32-q33)
  - FGFR1 (8p11)
  - PCM1/JAK2 (8p22/9p24)

### **Myeloproliferative Neoplasien (MPN)**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - PTPRT/20qter (20q12/20qter)
  - 8cen (8cen)
  - DLEU/LAMP (13q14/13q34)
  - BCR/ABL1 (22q11/9q34)
  - CDKN2C/CKS1B (1p32/ 1q21)

### **Chronisch myeloische Leukämie (CML)**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - BCR/ABL1 (22q11/9q34)

### **Atypische CML (BCR/ABL1 negativ)**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - PTPRT/20qter (20q12/20qter)
  - 8cen (8cen)
  - DLEU/LAMP (13q14/13q34)
  - BCR/ABL1 (22q11/9q34)
  - CDKN2C/CKS1B (1p32/ 1q21)

## **Myeloische und lymphatische Neoplasien mit Eosinophilie und PDGFRA, PDGFRB- oder FGFR1-Rearrangement**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - FIP1L1/CHIC2/PDGFR A (4q12/4q12)
  - PDGFRB (5q32-q33)
  - FGFR1 (8p11)
  - PCM1/JAK2 (8p22/9p24)
  - BCR/ABL1 (22q11/9q34)

## **B-NHL ohne weitere Spezifikation, Follikuläres Lymphom (FL), Diffus großzelliges B-Zell-Lymphom (DLBCL), Burkitt-Lymphom (BL), Marginalzonen-Lymphome (MZL, nodales MZL, SMZL, MALT)**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - IGH/MYC (14q32/8q24)
  - IGH/BCL2 (14q32/18q21)
  - BCL6 (3q27-28)

## **Chronisch lymphatische Leukämie (CLL), Mantelzelllymphom (MCL), Monoklonale B-Zell-Lymphozytose (MBL)**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - ATM/TP53 (11q22/17p13)
  - DLEU/LAMP/12cen (13q14/13q34/12cen)
  - SEC63/MYB (6q21/ 6q23)
  - IGH/CCND1 (14q32/11q13)

## **Immunozytom / Lymphoplasmozytisches Lymphom (LPL), Morbus Waldenström**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - ATM/TP53 (11q22/17p13)
  - SEC63/MYB (6q21/6q23)
  - DLEU/LAMP (13q14 /13q34)
  - IGH/MYC (14q32/8q24)
  - IGH/FGFR3 (14q32/4p16)

## **Monoklonale Gammopathie, Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS), Multiples Myelom (MM) / Plasmozytom / Plasmazelleukämie**

- FISH nach CD138+ Anreicherung:
  - CDKN2C/CKS1B (1p32/1q21)
  - DLEU/TP53 (13q14 /17p13)
  - 11cen (11cen)
  - 3cen (3cen)
  - EGR1/RPS14 (5q31/5q32-33)
  - IGH (14q32)

### **Bei IGH-Rearrangement zusätzlich:**

- IGH/CCND1 (14q32/11q13)
- IGH/MYC (14q32/8q24)
- IGH/MAF (14q32 /16q23)
- IGH/FGFR3 (14q32 /4p16)

## **T-Zell Non-Hodgkin-Lymphome, T-NHL ohne weitere Spezifikation, T-Prolymphozyten-Leukämie (T-PLL)**

- Chromosomenanalyse
- FISH:
  - ATM/TP53 (11q22/17p13)
  - SEC63/MYB (6q21/6q23)
  - IGH/MYC (14q32/8q24)
  - TCRA/D (14q11)

### **4.2 Material**

- Knochenmark (Heparin 10-100 I.E./ml)
- Knochenmarkstanze (Heparin 10-100 I.E./ml)
- Peripheres Blut (Heparin 10-100 I.E./ml)

*Angaben zur Messunsicherheit stehen auf Anfrage zur Verfügung.  
\*nicht akkreditierte Parameter*