

Q&A Sanquin Webinar ‘Wat ruist daar in het laboratorium?’

CD38: bekende ruis - Niegel Gijsbertha, analist

1. **Is het wel zo dat anti-C, D en E niet aangetoond zijn (positieve reacties bij homozygote testcellen)?**

Bij deze patiënt waren de anti-C, D en E bekend in TRIX. De antistoffen waren niet met alle test erythrocyten aantoonbaar, afhankelijk of de antigenen homozygoot of heterozygoot (hemizygoot) aanwezig waren. De patiënt heeft recent een nieuwe antistof gevormd en is daarmee een hoog-responder in termen van erythrocyten alloantistofvormer. Op het moment dat de bijgevormde antistof (anti-S) bewezen was is er een transfusieadvies opgesteld en eenheden gekruist. Op later moment is verder onderzoek verricht om inzichtelijk te maken in hoeverre de anti-C, anti-E en anti-D aantoonbaar waren; dit is met een extra panel en een enzyme panel in kaart gebracht. Op deze manier waren de wisselende reacties in de panels beter te interpreteren en is het duidelijker dat er naast de anti-S geen andere antistoffen aantoonbaar zijn (die misschien gemist worden met een negatieve kruisproef als het betrokken antigeen niet homozygoot op de donor erythrocyten aanwezig is).

2. **Wat is de meest waarschijnlijke verklaring voor de positieve DAT bij deze patiënt?**

De DAT was in de kolom techniek positief met anti-IgG. Het eluaat was negatief. In de buisjesmethode was de DAT: xxxxx. Voor ons is dat reden om niet aan klinisch belangrijke (allo)antistoffen te denken. Een kolomtechniek voor de DAT kan zeer zwakke signalen oppikken. Er is geen reden gevonden voor de positieve DAT. Wij kunnen ook geen meest waarschijnlijke oorzaak geven; daarvoor hebben wij onvoldoende klinische gegevens. Nog opgemerkt kan worden dat wij ook altijd naar de bloedgroep van de patiënt kijken; als patiënt bloedgroep A, B of AB heeft, dan kan het zijn dat er uit IVIG of een trombocytentransfusie afkomstig anti-A of anti-B gebonden is (bij deze patiënt was de bloedgroep O).

3. **Wordt er geen verder onderzoek gedaan naar de positieve AC/DAT?**

Zie antwoord vraag 2

4. **Wat is de reden om anti C,D,E as met homozygote cellen weer aan te tonen. As waren eerder gevonden, dus je houdt sowieso rekening met anti C,D,E as bij transfusie advies?**

Zie antwoord vraag 1

5. **Niegel, mooie presentatie. U bent niet ingegaan op de DAT en autocontrole, beide positief.**

Zie antwoord vraag 2

Q&A Sanquin Webinar 'Wat ruist daar in het laboratorium?'

CD38: toenemende ruis? - Josephine Vos, hematoloog

- 6. Heeft isatuximab dezelfde eigenschappen als daratumab? Kan dit met DTT behandeling ook teniet worden gedaan?**

Isatumab herkent ook het CD38 antigeen. Net als bij gebruik van Daratumumab kan er ook bij gebruik met Isatuximab met DTT of AET behandelde testerythrocyten pretransfusieonderzoek uitgevoerd worden.

CD47: ins en outs - Michaël Lukens, klinisch chemicus

- 7. Er wordt gefocussed op de ery-afbraak bij magrolimab, maar worden ook andere bloedcellen afgebroken?**

Erythrocyten zijn erg gevoelig voor het blokkeren van het 'do not eat me signaal'; andere bloedcellen zijn minder gevoelig.

- 8. Hoe kan het dat margolimab zorgt voor agglutinatie bij de ABO bloedgroep bepaling terwijl je in de IAT geen last met wanneer je met gamma IgG (zonder anti IgG4 wordt afgecoombs?**

Magrolimab is een monoklonale antistof die CD47 herkent en van IgG4 subklasse is. CD47 komt tot expressie op erythrocyten. Magrolimab kan bij hoge concentratie bij het vaststellen van de 'serumkant' van de bloedgroep, dus bij het onderzoek of er anti-A en/of anti-B in het serum/plasma aantoonbaar is, directe agglutinatie van de erythrocyten geven. In de indirecte agglutinatie techniek is er minder last van deze interferentie. Mogelijk omdat de erythrocyten gewassen worden. Het anti-IgG van de firma Gamma bindt niet aan IgG4. Als er in de IAT (indirecte Coombs) teruggekomen wordt 'afgeCoombst wordt' met het anti-IgG van de firma Gamma, dan wordt het Magrolimab niet herkend omdat he van de eigen erythrocyten van de patiënt kan aanleiding zijn tot agglutinatie van de eigen erythrocyten.

- 9. Typeer beleid is rhesus, Kell, Kidd, Duffy, MNS**

Voor advies over het pretransfusie onderzoek bij patiënten die Magrolimab gaan gebruiken, en als patiënten Magrolimab gebruiken: zie de website van de VHL: https://www.de-vhl.nl/upload/protocollen/bloedtransfusie/20230120_AanbevelingtransfusieMagrolimab.pdf

- 10. Maar bij uitgifte in spoed situatie wordt er geen rekening gehouden met M en N.**

Anti-M en anti-N zijn doorgaans van IgM klasse en alleen in de kou reagerende antistoffen. Het risico op een transfusiereactie is heel klein. Het aantal donors dat getypeerd is voor alle klinisch relevante bloedgroepantigenen is beperkt. Als ook rekening gehouden moet worden met anti-M of anti-N, dan vertraagt dat onnodig het beschikbaar komen van erythrocytenconcentraten in spoedsituaties.

Q&A Sanquin Webinar 'Wat ruist daar in het laboratorium?'

11. In welke mate is k(klein) typeren noodzakelijk?

Bij een K-positieve patiënt is het informatief om te weten of de patiënt K+k+ of K+k- is, zodat bekend is of een anti-k uitgesloten dient te worden. De kans dat een patiënt een anti-k heeft of vormt is niet zeer groot. De volgende vraag is vast of je dan in spoedsituaties rekening houdt met k, voor het preventief matchen. Eventueel kan ook in spoedsituaties door de artsen van de unit transfusiegeneeskunde van de bloedbank gekeken worden of er k-negatieve eenheden direct beschikbaar zijn. Het afwegen van de mate van vertraging in het kunnen toedienen van transfusieproducten bij een patiënt met een transfusiebehoefte door het willen voldoen aan een preventief matchingsadvies moet altijd in overleg met de behandelend arts worden gedaan.

12. Gezien het belang van de informatie over anti-CD38 of antiCD47 zou TRIX niet een rol kunnen spelen voor het hebben/geattendeerd worden op de relevante informatie bij verwijzingen naar andere ziekenhuizen of bij patiënten die in meerdere centra behandeld worden.

Inderdaad wordt het steeds belangrijker om een goede informatieoverdracht te hebben als patiënten in verschillende ziekenhuizen behandeld worden of als er in een referentielaboratorium onderzoek gedaan moet worden. Zoals ook toegelicht werd in de webinar zou elke toediening van CD38 en CD47 MoAb therapie voor het laboratorium eenvoudig terug te vinden moeten zijn, zodat er geen speurtocht ingericht hoeft te worden. Het is niet alleen belangrijk om te weten dat de therapie gestart is, maar ook of de therapie afgerond is, en wanneer de laatste toediening was. TRIX heeft op dit moment niet deze rol.

13. Kunnen wij een hand-out van de presentaties krijgen?

Nee, handouts worden niet ter beschikking gesteld.

14. De apotheken krijgen nu vaak kreat uitslagen van het KCL i.v.m. therapeuticum doseringen. Kan dit ook omgekeerd? Kan het lab van de apotheek doorkrijgen als een patiënt anti-CD 38/47 therapie krijgt? Of loopt dit niet via hen?

Zie antwoord vraag 12

Koude ruis? - Lianne Schreuder, analist

15. Is er een verklaring voor de gevormde anti vel en Jkb? Patiënt kreeg trombo en geen ery.

Ook trombocytenproducten bevatten een kleine hoeveelheid erythrocyten. De erythrocyten in een transfusieproduct kunnen een primaire immunisatie veroorzaken. Bijvoorbeeld voor anti-D. Maar de erythrocyten in het transfusieproduct kunnen ook in het verleden gevormde antistoffen 'boosteren', waardoor er snel weer vorming van de antistoffen is en deze in hogere concentratie in het bloed komen. Het lijkt aannemelijk dat dit in deze casus heeft plaatsgevonden.

Q&A Sanquin Webinar ‘Wat ruist daar in het laboratorium?’

Panellen in flow, licht in de ruis - Anne Cornelissen, klinisch chemicus

- 16. Is het niet mogelijk om commerciële screeningscellen al voor te behandelen zodat elk ziekenhuis dit in huis heeft en je de screeningscellen van de darapatiënten hiermee in kan zetten.**

Ja, het lijkt erop dat we met elkaar eraan moeten werken dat in ieder ziekenhuis het mogelijk gaat worden om voor patiënten die behandeld worden met monoklonale antistoffen er direct bloedgroepserologisch onderzoek verricht kan worden. Het ontwikkelen van nieuwe screeningscellen of van nieuwe technieken neemt tijd, en uitermate belangrijk dat dit gedaan wordt! Liefst samen met fabrikanten, zodat er een werkwijze komt om met elkaar bij ieder nieuw monokonaal antistofmedicijn direct ook de tools aangeleverd te krijgen om een goed transfusiebeleid in te kunnen richten en het reagens ook volgens de kwaliteitsrichtlijnen inzetbaar is in het laboratorium!

- 17. Hoeveel tijd kost het om de antistofidentificatie te doen in vergelijking tot de kolomtechniek?**

Een antistofbepaling op de flowcytometer duurt nu ruim één uur. De incubatie met het patiëntenserum duurt een half uur. Ook het incuberen van het secundaire fluorescente antilichaam duurt een half uur. Ook moet er nog een paar keer kort gewassen worden. Het meten op de flowcytometer duurt 5 minuten. Binnenkort gaan wij kijken of de incubatie- en wasstappen verkort kunnen worden (testoptimalisatie). Het streven is om een geautomatiseerd assay te ontwerpen die even veel tijd in beslag neemt als de agglutinatietest. De meerwaarde van een flowcytometrische test zit hem met name in de verminderde hoeveelheid reagentia, een hoge gevoeligheid, inzetten van grote panels tegelijkertijd én het kunnen onderscheiden van IgG en IgM antistoffen.

- 18. Hebben jullie ook gekeken naar de relevantie van een gevonden antistof met MFI boven cutoff t.o.v. negatieve in de agglutinatietest? missen we echt iets nu?**

Er is een grote validatie gedaan met patiëntensamples. Hierbij vonden we verschillende soorten antistoffen boven de cutoff die met de agglutinatietest niet aangetoond werden. Hier zaten zowel klinisch belangrijke als klinisch onbelangrijke antistoffen tussen. In de validatie zijn de samples volledig geanonimiseerd, en is er voor het transfusiebeleid altijd gevaren op de klassieke agglutinatietest. De flowcytometrische test is pas later ingezet, na een afgeronde workflow voor de patiënt. Omdat de samples volledig geanonimiseerd zijn hebben wij in deze validatie niet terug kunnen kijken of er consequenties zijn geweest voor de patiënten waarbij er een antistof werd gevonden op de flowcytometer die niet te detecteren was in de agglutinatietest.

Q&A Sanquin Webinar ‘Wat ruist daar in het laboratorium?’

19. Wat is de levensduur van opgekweekte bloedcellen? Is dat vergelijkbaar met donorbloed?

De levensduur van gekweekte erythrocyten is in vitro vergelijkbaar met donorbloed. In principe worden er in eerste instantie geen erythrocyten maar reticulocyten gekweekt (voorlopers van rode bloedcellen). In kweekbloed zijn de erythrocyten allemaal erg jong, waardoor de verwachting is dat een patiënt langer profijt heeft van kweekbloed dan van donorbloed.

20. Hoe lang is kweekbloed bruikbaar?

Zie antwoord vraag 19

21. Wordt de research naar het gebruik van de flowcytometer nog op andere laboratoria (ev internationaal) uitgevoerd?

Er zijn andere researchlaboratoria die flowcytometrie gebruiken voor analyse van erythrocyten, maar vaak met andere vraagstellingen. Deze specifieke assays (antistofscreening + antigeentypering) worden voor zover wij weten alleen bij Sanquin uitgevoerd.

22. Is er ook ergens anders research naar nog andere methodes dan agglutinatie/flowcytometrie om antistoffen te identificeren?

Ja, er is ook onderzoek of detectie met anti-IgG in bijvoorbeeld een chiptechniek gebruikt kan worden.