

## Themadag NVTH Werkgroep hemostase Diagnostiek 18 Maart 2010

De jaarlijkse Themadag vond dit jaar plaats in het UMC St. Radboud te Nijmegen en had als thema Hemofilie.

Er waren 45 deelnemers afkomstig van 21 instellingen.

Als gastsprekers waren aanwezig Britta Laros (UMCN), Bert Verbruggen (UMCN) en Piet Meijer (ECAT). Als inleiding op het onderwerp voor de volgende themadag (24 Maart 2011) waarin trombocyten centraal zullen staan, heeft prof. Akkerman (UMCU) als gastspreker een presentatie gegeven.

- 9.30-10.00      Ontvangst met koffie
- 10.00-10.05     Welkom door voorzitter (Petra ter Hark)
- 10.05-10.40     *State of the art: Hemofilie, behandeling en complicaties (Dr. Britta Laros, hematoloog UMC St. Radboud te Nijmegen)*  
Mooi klinisch verhaal gericht op met name Hemofilie A en Hemofilie B i.v.m. het meest frequente voorkomen. Aan bod komen de incidentie, mutaties, overerving, indeling qua type bloedingen, secundaire Hemostase, fibrinolyse, behandeling en de daarbij voorkomende complicaties.  
Behandeling van hemofilie kan profylactisch of 'on-demand' zijn. De dosering van stollingsfactoren en de gewenste dal/ top spiegels is afhankelijk van de mate van bloeding. Over het algemeen kost een behandeling bij nabloeding al snel rond de € 30.000,-. Voorkomende complicaties bij behandeling zijn infecties, trombose, allergische reacties en het ontwikkelen van een remmer. Circa 25% van de ernstige Hemofilie A patiënten ontwikkelt een remmer. De behandeling bij deze groep bestaat uit bijv. rFVIIa en het proberen te verwijderen van de remmer door gedurende lange tijd hoge dosering FVIII gecombineerd met immunosuppressiva te geven.  
Concluderend was dit een erg leuk overzicht van de verschillende Hemofilie behandelingen waarbij duidelijk werd aangegeven dat de samenwerking met het laboratorium héél erg belangrijk is.
- 10.45-11.05     Pauze
- 11.05-12.05     *Overzichtsverhaal lab bepalingen en remmerdiagnostiek (Dr. Bert Verbruggen, UMC St. Radboud te Nijmegen)*  
Een uitgebreide presentatie over de diagnose van FVIII deficiëntie en over hoe optimaal de FVIII te bepalen is. Hiervoor is een intense samenwerking tussen laboratorium en kliniek het belangrijkste vereiste. Naast de gevoeligheid voor FVIII deficiëntie van het gebruikte reagens zijn ook de reproduceerbaarheid, gevoeligheid voor andere factoren, stabiliteit en analyser belangrijk.  
Daarnaast zijn er vele variabelen die de FVIII assay beïnvloeden zoals o.a. type en kwaliteit deficiënt plasma, type APTT reagens, type referentieplasma en chromogene assay versus one stage assay. Recombinant FVIII gedraagt zich bijv. anders in de chromogene dan de one stage assay, waarbij de resultaten van de chromogene assay het beste overeen komen met de kliniek.  
Samenvattend wordt de detectie van FVIII deficiëntie bemoeilijkt door meerdere variabelen en zijn optimale condities nodig. Om als laboratorium te kunnen voldoen aan alle eisen, verzoeken en indicaties (hemofilie, LAC, APTT-screening) heeft een laboratorium waarschijnlijk meer dan één APTT reagens nodig.  
Voor de FVIII remmer bepaling zijn er ook zéér vele variabelen die deze assay beïnvloeden waaronder de methode, de klassieke Bethesda assay versus de Nijmegen Bethesda assay. De variatie in de uitslagen is enorm maar daar is aan gewerkt door de ECAT in samenwerking met het UMC St. Radboud.
- 12.05-12.20     Mededelingen voorzitter (Petra ter Hark)
- Er is even stilgestaan bij het overlijden van Bep de Weerd. Zij heeft een grote rol gespeeld in de stuurgroep en zal nog vaak herinnerd worden.
  - Er is een link geplaatst op de NVTH website naar de WHD (Werkgroep Hemostase

Diagnostiek). Tevens staat er een e-mail adres waar eventuele vragen geplaatst kunnen worden.

- Aanwezigen dienen lid te zijn van de NVTH aangezien wij een subgroep van de NVTH zijn.
- Volgende themadag is op 24 Maart 2011 in het AMC, het thema is dan Trombocyten.
- Dit is de laatste themadag dat Petra ter Hark voorzitter is omdat ze volgend jaar niet meer werkzaam is in het UMC St. Radboud. Paul Verhezen (UMCM te Maastricht) zal deze taak overnemen.

12.20-12.45

*Questionnaire Hemofilie en resultaten (Paul Verhezen UMCM te Maastricht).*

Er zijn in totaal 20 inzendingen geretourneerd. Qua remmerbepalingen doet de helft de klassieke Bethesda assay en de andere helft de Nijmegen-Bethesda assay. Iedereen controleert bij de remmerbepaling de FVIII one stage assay maar slechts een klein gedeelte controleert ook de remmerbepaling m.b.v. een positieve controle. Er is commercieel remmerplasma te koop bij Affinity Biologicals, [www.affinitybiologicals.com](http://www.affinitybiologicals.com). Dit creëert de mogelijkheid om een positieve controle te maken en mee te nemen.

Het merendeel gebruikt bij de bepalingen de apparatuur en het reagens van dezelfde firma. Er zijn slechts 2 laboratoria die combinaties hebben van reagens en apparatuur van verschillende firma's.

12.45-13.30

Lunch

13.30-14.15

*FVIII Inhibitor testen (Dr. Piet Meijer ECAT)*

Een deel van de Hemofilie patiënten ontwikkelt een remmer, daarom is een goede en reproduceerbare remmer assay essentieel. De huidige VC van de FVIII remmer bepaling ligt tussen de 30-55% waarbij de VC in Nijmegen-Bethesda iets lager is dan de klassieke Bethesda assay. Om te kijken of deze hoge VC te reduceren is, maar ook om te kijken welke factoren hierin een rol spelen is er een workshop georganiseerd in het UMC St. Radboud te Nijmegen. Met 16 deelnemers uit 9 landen die 4 verschillende assay groepen vertegenwoordigen zijn gedurende 3 dagen 4 runs gedaan met variatie in assay condities. Na afloop blijkt dat er grote verbetering is waar te nemen bij standaardisatie van de verdunningen, de VC gaat van gem. 40% naar <10%.

Richtlijnen om de FVIII remmer te bepalen zijn: hitte inactivatie bij 58 °C, bepaling starten met onverdund plasma van de patiënt, indien verdunnen noodzakelijk gebruik dan de laagst mogelijke verdunning met een restactiviteit tussen de 20-50%, voorverdunnen in FVIII deficiënt plasma, gebruik gebufferd normaalpool plasma met pH 7.3-7.6, gebruik FVIII deficiënt plasma (of 4% BSA) als controle monster.

14.15-15.45

*Interactief onderdeel*

- *FVIII Chromogene assay m.b.v. de STA-Evolution (Claudia van Rijn, LUMC)*  
Doelgroep zijn de milde hemofilie A patiënten met een discrepant fenotype die met een one-stage assay laag tot normaal zijn, waarbij ze gemist kunnen worden, en bij de chromogene assay lager zijn. De kit van Biophen is uitgebreid gevalideerd en wordt nu gebruikt voor de diagnose van nieuwe hemofilie A patiënten en het monitoren van milde hemofilie patiënten met een discrepant fenotype.
- *Meten van intrinsieke factoren op de BCS (Lucy Leverink, AMC)*  
Aangezien de interesse uit gaat naar het hoge gebied is gekeken naar kosten besparing m.b.t. het verdunnen. Dit is gelukt door een directe verdunning met deficiënt plasma in de rotor te maken i.p.v. een verdunning in de verdunningskamer, dit levert een kostenbesparing van €1,- per monster op.
- *Evaluatie van de Asserachrom vWF:Collageen Binding Assay (Bas van Haren, UMC St. Radboud)*  
Het opzetten van een eigen methode hiervoor ging moeizaam i.v.m. lotnummers Collageen, daarom uitgebreide evaluatie van de commerciële assay, Asserachrom van Stago.

De CBA is stabiel en makkelijk uit te voeren met een acceptabele intra- en inter-run variatie en vertoont een goede correlatie met andere CBA assays. De normaalwaarden en biologische variatie is vergelijkbaar met de vWF RiCOF en vWFag. I.v.m. discrepantie tussen de CBA en vWF RiCOF bij vWF type 2M is de CBA geen vervanger van de vWF RiCOF maar wel een goed hulpmiddel bij de classificatie van vWD.

- *Stollingsbepalingen in plasma van patiënt met Marburg virus, gevolgen voor lab en analist (Piette Deutz, LUMC)*  
Een indrukwekkend verhaal over wat de gevolgen voor het lab en de analisten zijn bij de opname van een patiënt met het Marburg virus. Gelukkig is niemand besmet geraakt maar was het wel een zeer belastende periode. In zo'n situatie is de communicatie erg belangrijk. Daarnaast moet het aantal analisten, die er mee in aanraking komen, beperkt worden. Goede monitoring van de monsterstroom is essentieel en goede contacten met firma zijn ook erg belangrijk.
- *Interactief (Erik Jan van den Dool, AMC)*  
Er werden een aantal vragen aan de groep voorgelegd waaronder:
  - Bij overgang naar een nieuw lotnummer aPTT reagens, worden er dan patiënten plasma's vergeleken? Wordt er getest op gevoeligheid van FVIII en FIX en/ of op heparine gevoeligheid ?  
Men voert de validatie op verschillende manieren uit, sommige laboratoria valideren met patiënten monsters, anderen met controle plasma's. Ook het aantal metingen varieerde zeer per ziekenhuis.
  - Hoe om te gaan met anti-Xa bepalingen voor heparine activiteit?
  - Hoe om te gaan met referentie waarden. Per lotnummer opnieuw referentie waarden bepalen of niet?

15.45-16.00 Pauze

16.00-16.45 *Trombocyten: 2011 (Prof Akkerman, UMCU te Utrecht).*  
Interessant en uitgebreid verhaal over de werking van de trombocyten, de hematopoïëse, de rol van de megakaryocyt, plaatjes respons, activatiefactoren en plaatjes functies.  
De plaatjes respons is een kwestie van genen. M.b.v. genomisch DNA wordt gezocht naar een 'test' ter voorspelling van het voorkomen van arterothrombose. Er wordt gezocht naar een correlatie tussen fouten in het genoom en een relatie in patiënten met hart en vaatziekten. De toekomst is functionele genanalyse en genexpressie in de megakaryocyt. Daarna gaat men van het gen naar de eiwitfunctie op het gebied van genomisch DNA, megakaryocyt RNA, eiwitsynthese in plaatjes, eiwitfunctie in plaatjes.

16.45-17.30 Afsluiting en rondleiding laboratorium UMC St. Radboud.