

## **Themadag NVTH, Werkgroep Hemostase Diagnostiek, 21 maart 2019**

De jaarlijkse themadag vond dit jaar plaats in het Amphia Ziekenhuis te Breda.

Het thema: **Lupus anticoagulans diagnostiek.**

Als gastsprekers waren aanwezig:

- Dr. Rolf Urbanus, UMCU
- Dr. Piet Meijer, ECAT Foundation
- Dr. An Stroobants, AMC

### **Programma:**

#### **10.00-10.15 Mededelingen voorzitter WHD**

- De volgende themadag vindt plaats op 19 maart 2020 in het Erasmus MC te Rotterdam.
- Aangezien de WHD een subgroep is van de NVTH dienen aanwezigen lid te zijn van de NVTH (minimaal 1 persoon per instelling).
- Er zijn veranderingen in de samenstelling van het bestuur van de WHD. Dit is de laatste dag van Clint als voorzitter, deze taak zal Caroline Klopper op zich nemen. Het secretariaat wordt dan overgenomen door Eline Liesting (emailadres secretariaat blijft hetzelfde). Claudia van Rijn (LUMC) en Riekje Nieman (Erasmus MC) zijn de nieuwe bestuursleden.
- De themadag is puur voor analisten. We willen deze dag graag interactief houden. Deze themadag komt alle input vanuit het bestuur. Volgend jaar graag meer eigen inbreng. Dit hoeft helemaal niet groots te zijn. Elk lab heeft wel problemen en/of vragen of ziet bijzondere dingen in uitslagen. Samen kunnen we erover praten en elkaar helpen met tips en tricks.
- De NVML heeft ons gevraagd een vervolgmodule stolling te maken voor de e-learning. We hebben besloten dit in een paar modules te verdelen, de eerste waar we nu aan werken gaat over Von Willebrand.

#### **10.15-11.15 State of the art: Lupus en richtlijnen, Dr. Rolf Urbanus, UMCU**

In deze interessante presentatie werden we helemaal bijgepraat over:

- APS, een zeldzame autoimmuunziekte.  
(definitie, classificatie, manifestatie)  
Persisterende aanwezigheid van antifosfolipide antistoffen (minimaal 12 weken na elkaar gemeten).
- Klinisch belang van LAC: hoger risico op trombose, hogere kans op zwangerschapscomplicaties en een hogere kans op een nieuwe trombose.
- Antifosfolipide-antistof is eigenlijk een verkeerde naam want de antistof herkent het eiwit ( $\beta$ 2-glycoproteïne) dat bindt aan fosfolipiden. In LAC-test op te sporen door onderzoek met reagens met weinig fosfolipiden (screen) en veel fosfolipiden (confirm).
- Paradox lupus: verlengde stoltijd en toch wordt het geassocieerd met trombose.  
Uit onderzoek is gebleken dat anti- $\beta$ 2GPI bindt aan FV en de FV activatie door FXa verstoort. Naast zijn procoagulante rol speelt FV echter ook een anticoagulante rol als cofactor voor APC. Anti- $\beta$ 2GPI antistoffen verstoren de cofactorfunctie van FV bij de inactivatie van FVIIIa.
- Gevaar vals positieve lupustesten door DOAC-gebruik  
DOAC te neutraliseren door gebruik DOAC-stop dan wel DOAC-remove  
Een alternatief zou ook de TSVT (Taipan Snake Venom Time)/Ecarine time ratio kunnen zijn (geen vals positieve uitslagen bij Rivaroxaban) maar hier is nog wel meer onderzoek naar nodig.

#### **11.15-11.30 Pauze**

#### **11.30-12.30 ECAT: LAC, Dr. Piet Meijer, ECAT Foundation.**

Een presentatie waarin de ECAT-resultaten betreffende de Lupus-diagnostiek besproken werd. Samenvattend:

- Het probleem zit vaak in de zwak positieve monsters. Deze worden soms onterecht negatief genoemd. In de loop der tijden leek dit beter te gaan (besproken themadag 2014). Deze tendens heeft zich gelukkig verder doorgezet als we kijken naar 2017/2018. Het percentage onterecht negatieve resultaten was weer verder gezakt. Wel zien we dat naarmate de waarde lager is, de kans op onterecht negatief genoemd te worden toeneemt.
- Laboratoria dienen zelf hun afkapwaarde vast te stellen met reagens/apparatuur.
- Vals negatieve resultaten zijn niet terug te leiden tot een bepaald reagens/apparatuur.
- Door de testen gelijk in mixproef uit te voeren bestaat het gevaar dat zwakke remmers verschuiven naar het normale gebied.

### 12.30-13.30 Lunch

### 13.30-15.30 Interactieve Sessie

#### LAC meten bij patiënt met OAC gebruik, Caroline Klopper, AMC.

Na eerst kort de richtlijnen ISTH (2007) betreffende dit onderwerp door te nemen werd de groep de volgende vragen voorgelegd:

- Wie meet er LAC onder DOAC? (rivaroxaban, apixaban, edoxaban, dabigatran)  
Hoe weet je dat de patiënt DOAC gebruikt? Sommige laboratoria geven aan dat het bij hun goed aangegeven wordt, andere labs moeten zelf gaan zoeken in het pat. dossier.  
Diverse laboratoria zijn al bezig met DOAC-stop dan wel DOAC-remove wat je kan gebruiken om de DOAC uit het plasma te verwijderen.
- Wie meet er LAC onder VKA gebruik (acenocoumarol, fenprocoumon)  
De meeste laboratoria doen dit wel, sommige zetten de LAC altijd gelijk in de mengproef in. Andere laboratoria tot een INR <1.5 gewoon, tussen 1.5-3.0 in de mengproef en >3.0 wordt de bepaling niet uitgevoerd.  
Alle laboratoria gebruiken in de mengproef een verhouding van 1:1
- Wie meet er LAC onder heparine en/of LMWH?  
Uit een stage-opdracht in 2015 is gebleken dat in het AMC een LAC betrouwbaar te meten is tot de volgend concentraties:
  - ongefacioneerd heparine tot 0,6 IE/ml
  - fraxi (dalteparine/nadroparine) tot 1,0 IE/ml
  - innohep tot 0,5 IE/ml
  - orgaran tot 0,5 IE/ml
  - arixtra tot 2.0 mg/l
  - clexane tot 1,0 IE/ml

#### Asjemenou-presentatie, Riekje Nieman, Erasmus MC

Soms zie je resultaten in het lab die je sterk verbazen, in deze presentatie werden 2 van die gevallen besproken:

- Het eerste geval ging over uitslagen bij trombofilie-onderzoek waarbij opviel dat de lupustesten verlengd waren (zowel screen als confirm, dus normale ratio's), een verhoogde Prot C activiteit en een zeer hoge Prot S activiteit.  
Het bleek dat de patiënt dabigatran gebruikte. Na behandeling van het plasma met DOAC-stop werd een normale Prot C en een normale Prot S gemeten (beide testen werden middels stolactiviteit bepaald, dus je meet een remming van de stolactiviteit door C of S. Dabigatran zorgt ook voor een verlengde stoltijd wat in de test dus voor vals verhoogde uitslagen zorgde).
- Het tweede geval ging over een patiënt met mastocytose die een ernstige allergische reactie kreeg na een wespenteek. Deze man had vervolgens een onmeetbare APTT?? Of er een anti-Xa gemeten kon worden maar op vraag lab welke heparine de man gebruikte kwam het antwoord: geen??  
Uiteindelijk zat de verklaring in de combinatie mastocytose en wespenteek. Bij mastocytose heb je teveel mestcellen (die ook nog eens abnormaal zijn wat zich uit in ongecontroleerde groei en activatie). Mestcellen spelen normaal een rol bij de afweer, zo zorgen ze bij een wespenteek ervoor dat het gif zich niet verder door het lichaam kan verspreiden. In mestcellen zitten korrels waarin veel factoren zoals histamine en heparine zitten.  
Bij deze patiënt was dus een enorme activatie van de vele mestcellen gaande wat resulteerde in een verhoogde heparine-spiegel in het bloed. Na behandeling met prednison was de APTT na 24 uur weer genormaliseerd.

### Casusbespreking, Claudia van Rijn, LUMC

In deze presentatie werd een vrouw van 22 jaar besproken (auto-immunhepatitis in remissie) die werd opgenomen i.v.m. bloeding na tonsilectomie. In het lab werd een normale PT en Fibrinogeen gevonden echter een verlengde APTT welke in de mengproef normaliseerde.

Vervolgens werden de volgende testen aangevraagd/uitgevoerd: AT, FV, FVII, FVIII, FIX, FXI, FXII en Lupus anticoagulans.

Qua uitslagen viel het op dat Lupus anticoagulans afwezig waren, de gemeten factoren normaal waren met uitzondering van een sterk verlaagd FXI (0.15 IU/ml). In verband met deze lage uitslag werd een remmerbepaling ingezet waarbij 2.5 Bethesda Eenheden antifactor XI gevonden werd. Na een maand werden deze testen herhaald: FXI 0.13 IU/ml, antifactor XI 1.2 BE

Conclusie: verworven Factor XI deficiëntie.

### Remmer bepaling tegen medicijn FVIII, Ria Dane Vogelaar, UMCU

In deze presentatie werd een onderzoek behandeld wat het UMC uitgevoerd heeft aan de hand van een vraag uit de kliniek of de patiënt een remmer had tegen zijn FVIII supplement.

In de test is naar 3 FVIII medicijnen gekeken: Haemate P, NovoEight en Advate.

FVIII-deficiënt plasma werd gespiked met deze produkten naar een werkbare concentratie van ca 125 % FVIII (werkelijk gemeten: Haemate P 97 %, NovoEight 123% en Advate 136%). Deze aldus verkregen plasma's werden als FVIII-bron gebruikt in de remmertest ipv het reguliere gebufferdplasma.

Van de mengsels werd op gezette tijden de FVIII bepaald: 0-15-30-60-120 min

De uitslagen werden in tabelvorm gepresenteerd.

De conclusie van het onderzoek: er waren marginale verschillen tussen de verschillende preparaten, maar wat opviel:

- de remmer tegen NovoEight blijft oplopen in de tijd.
- de remmer tegen Haemate-P blijft oplopen in de tijd, maar minder snel als NovoEight.
- de remmer tegen Advate blijft stabiel na een uur
- het lijkt erop dat tegen Advate de remmer het minst actief is
- verder is bij dezelfde order van de patiënt een reguliere FVIII van 1,4 BE bepaald en is bekend dat de patiënt op dat moment NovoEight gebruikt. De reguliere bepaling kwam overeen met de test tegen NovoEight.

Vervolgens werd er een ander voorbeeld getoond van een patiënt met een snel werkende antistof tegen NovoEight.

### Emicizumab, ff opletten, Andre Cappelle, UMCG

In deze presentatie wordt de invloed van Emicizumab op stollingsassays besproken.

Eerst werd uitgelegd wat emicizumab eigenlijk is: een medicijn wat bestaat uit een antibody wat bindt aan geactiveerd FIX en FX en op deze manier de rol van FVIII in de stollingscascade overneemt, dus geschikt voor patiënten met een remmer tegen FVIII.

De APTT is ongeschikt om Emicizumab te monitoren, aangezien een lage concentratie al genoeg is om de APTT te normaliseren (verschil met hogere concentraties niet zichtbaar). Dus ook interferentie met op APTT gebaseerde testen.

Concentratie emicizumab kan worden bepaald dmv FVIII-chromogeen met humaan FIXa/Fx (Hyphen), emicizumab calibratoren en controles zijn inmiddels op de markt. FVIII chromogeen bovine FIXa/FX (Stago, Siemens, Werfen) is niet geschikt (ongevoelig voor emicizumab).

Ook is het mogelijk de concentratie emicizumab te bepalen middels een gemodificeerde one-stage-clotting assay: calibratie met emicizumab en hogere verdunning van het monster.

Als een patiënt een remmer heeft tegen FVIII en emicizumab krijgt, dan de remmer bepalen met de chromogeen test die ongevoelig is voor emicizumab (dus bovine FIXa/FX).

15.30-15.45 **Pauze**

15.45-16.30 **Inleiding themadag 2020 Trombofilie en antistolling: Nieuws op het gebied van gebruik/meten van Doac's, Dr. An Stroobants, AMC**

Deze presentatie was een opwarmer voor de volgende themadag.

- voor en nadelen van DOAC's
- toename DOAC-gebruik (van 66.000 in 2015 naar 151.000 in 2016) en indicaties DOAC-gebruik
- lever en nierfunctie voor afbraak DOAC's:

dabigatran	80% nieren, 20% lever
rivaroxaban	35% nieren, 65% lever
apixaban	27% nieren, 73% lever
edoxaban	50% nieren, 50% lever

- indicaties voor laboratoriumcontrole: extreem overgewicht, nierinsufficiëntie, trombose tijdens therapie, vermoeden overdosering, twijfel aan therapietrouw of reden tot couperen van antistolling zoals bij een ernstige bloeding of noodzaak tot acute interventie/chirurgische ingreep
- hoe en wanneer DOAC testen?  
Richtlijn antitrombotisch beleid ([www.richtlijndatabase.nl](http://www.richtlijndatabase.nl))
- Kennis verzamelen:  
hoe vaak worden DOAC's aangevraagd, door wie, bij wie, hoe vaak afwijkend?  
wat zijn kwetsbare patiëntengroepen?  
welk score systeem/primair eindpunt (bloedingen/ trombose/net clinical benefit) is voor deze studie het meest geschikt?  
wat zijn de mogelijke interventies bij een afwijkende DOAC-uitslag?  
hoeveel patiënten die voldoen aan de criteria voor kwetsbaarheid hebben DOAC-spiegels buiten de te verwachten waarden?

#### 16.30-17.00 **Rondleiding lab Amphia ziekenhuis**

Nadat Wouter van Loenen door Clint bedankt is voor de perfecte organisatie, neemt hij belangstellenden mee voor een rondleiding over het lab.