

Themadag NVTH, Werkgroep Hemostase Diagnostiek, 23 maart 2017

De jaarlijkse Themadag vond dit jaar plaats in het Meander Medisch Centrum te Amersfoort.

Het thema: Trombocyten

Als gastsprekers waren aanwezig:

- Albert Huisman, Klinisch Chemicus UMCU
- Suzanne Korporaal, Upact/UMCU
- Evelyn Grimberg, Nederlandse Vereniging voor Hemofilie Patiënten
- Rob Fijnheer, internist Meander MC/UMCU
- Waander van Heerde, stollingsfysioloog UMCN Radboud

Programma:

- 10:00-10:15 **Mededelingen voorzitter WHD:**
1. De certificaten worden per email opgestuurd aan de hand van de presentielijst. Er zijn 5 UEC punten te verkrijgen met deze themadag.
 2. Na vandaag zal Piëtte Deutz, LUMC, het stokje van voorzitterschap van de WHD over geven aan Clint van Duren, UMCN.
 3. De volgende themadag vindt plaats op do. 22 maart 2018 te Nijmegen (UMCN Radboud) met als thema: Von Willebrand.
- 10:15-11:00 **State of the art: Trombocyten, Albert Huisman UMCU**
- Een presentatie met een mooi overzicht en uitleg van bestaande testen én ontwikkelingen in toekomstige diagnostische testen voor het opsporen van primaire hemostase defecten (zie tevens artikel in het Nederlands Tijdschrift voor Hematologie, dec .2016: 13:332:10). Ook werd de studie TIN aangehaald. Zie <http://nvth.nl/wp-content/uploads/NVTH20170323-Huisman.pdf>
- 11:00-11:30 **PACT Plaatjes Activatie Test, Suzanne Korporaal, Upact/UMCU**
- PACT, een nieuwe test om plaatjes functie te onderzoeken m.b.v. flowcytometrie, nu nog in onderzoeksfase. Er wordt gebruik gemaakt van nanobodies om op het celoppervlak van de trombocyten defecten te traceren in de bloedplaatjes functie, zoals o.a. ziekte van Glanzmann, Bernard Soulier en Storage Pool Disease. Hierbij is de test niet afhankelijk van de hoeveelheid bloedplaatjes aanwezig in citraatbloed en is zeer geschikt voor bloedplaatjes functie onderzoek bij kinderen, omdat er maar zeer weinig bloed nodig is (5 µl). Deze test zal hoogst waarschijnlijk over 6 maanden beschikbaar zijn voor de kliniek. Zie <http://nvth.nl/wp-content/uploads/NVTH20170323-Korporaal.pdf>
- 11:30-12:00 **Leven met ziekte van Glanzmann, Evelyn Grimberg, NVHP.**
- Aan de hand van het thema van deze dag vertelt Evelyn haar persoonlijke verhaal over leven met de (zeldzame) ziekte van Glanzmann. Wat betekent het hebben van deze ziekte voor haar als kind en volwassene op sociaal gebied en werk gerelateerd. Ze wil graag bekendheid geven aan het bestaan van deze ziekte en geeft regelmatig presentaties hierover. Ook legt ze uit dat het contact met lotgenoten voor m.n. vrouwen met deze stollingsproblemen erg belangrijk is. Zie <http://nvth.nl/wp-content/uploads/NVTH20170323-Grimberg.pdf>

12:00-13:00 LUNCH

13:00-13:45 **State of the art: Trombocyten (klinisch), Rob Fijnheer, Meander MC/UMCU**
Een presentatie met de nadruk op de klinische verschijnselen en de behandeling van patiënten met een functiedefect van de trombocyten. Is er profylaxe nodig bij trombopenie of bij trombopathie? Wanneer heb je als arts het lab nodig ter ondersteuning van de diagnose? Er werden een aantal klinische casussen besproken. Daarnaast de vraag wanneer er nu wel en wanneer geen trombocytentransfusie nodig is, omdat het ook risico's met zich mee kan brengen bijv trombose risico bij TTP of allergische reacties bij kinderen.
Take home message:
Bij ITP: geen lab bepaling nodig
Bij bloedingsneiging: VWD uitsluiten en evt stollingsfactoren; indien normaal, dan verder kijken naar een evt. plaatjes afwijking (SPD/BS/Glanzmann), medicatie? ECI?
Erfelijke plaatjesafwijking: Onderzoek naar Bernard Soulier/Glanzmann
Verworven plaatjesafwijking: Medicatie? Of bij verminderde aanmaak: Beenmerg onderzoek

13:45-15:00 **Interactieve sessie, deel 1** o.a. inventarisatie bloedplaatjes functie testen in aanwezige instellingen, trombocyten aggregatie test op de CS2500 vs Chronolog (Erasmus MC) en andere onderwerpen, allen.

Er werd gestart met 2 interessante presentaties:

1. Vanuit het MUMC een presentatie over m.n. de pré analyse van bloedplaatjes functie onderzoek. Doel van dit onderzoek: Zijn er (dieet) beperkingen voor de bepaling van trombocyten aggregaties m.b.v. de LTA? Onderzocht zijn 5 groepen gezonde vrijwilligers bestaande uit 5 personen per groep. Gekeken werd naar de invloed van:

- Koffie drinken
- (Vetrijke) maaltijd
- Roken
- Lichamelijke Inspanning
- Controle groep

Er bleek geen significant verschil in de aggregaties tussen de groepen. Dat zou betekenen dat het niet uitmaakt of iemand rookt, koffie drinkt, eet of zich inspant vóór de bloedafname voor trombocyten aggregaties.

Opmerkingen vanuit de deelnemers WHD: De groepen zijn wel klein (n=5) om deze conclusies met zekerheid te trekken en misschien is de bloedafname te snel (na 2 uur) na het eten/ roken/ drinken/inspanning. Deze resultaten kunnen anders zijn voor andere typen aggregometers (op basis van verschil optisch meetsysteem). In het AMC zijn bij een onderzoek bij 20 gezonde vrijwilligers de tromb.aggregaties ingezet vóór en na slagroom drinken (4 uur tussen drinken en bloedafname). Hierbij zijn significante verschillen in de aggregaties tussen vóór en na, maar niet bij alle vrijwilligers.

2. Hierna volgde een presentatie over de trombocyten aggregatie m.b.v. de CS 2500 van Siemens (met reagentia van Hyphen), die in het Erasmus MC Rotterdam wordt gevalideerd. Deze aggregatie methode wordt vergeleken met de LTA methode op de Chronolog van Stago. De eerste resultaten zien er veelbelovend uit, de aggregatiepatronen van beide methoden komen zeer goed overeen. Het grootste voordeel is dat er veel minder plasma (PRP) nodig is voor deze test op de CS2500 t.o.v. de Chronolog, namelijk 140 µl i.p.v. 230 µl per test. Er zijn wel aparte cuvetten met roervlo voor nodig op de CS 2500, dus het kan niet zomaar even tussen de routine door worden bepaald. Daarnaast wordt er uiteraard automatisch gepipetteerd en is de test in ong. 20 min. klaar. De pré-analyse blijft

overigens hetzelfde als bij de LTA methode. Het stollingslab van het Erasmus MC wil, zoals het er nu uit ziet, deze aggregatie methode op de CS2500 in gebruik gaan nemen, m.n. voor aanvragen van aggregatie bij kinderen.

Aansluitend vond het 1^e deel van een inventarisatie plaats onder de aanwezige deelnemers op het gebied van plaatjesfunctie testen m.b.v. Socrative. De vragen gericht op trombocyt functie onderzoek in het algemeen. Hieronder een overzicht van de vragen met de gegeven antwoorden.

Vraag 1: Is deze SSC richtlijn voor diagnostiek naar plaatjes functie defecten bij u bekend?

Ja, en wij passen deze (deels) toe: 7x
Ja, maar passen deze niet toe: 3x
Nee: 3x

Vraag 2: Wordt Flowcytometrie gebruikt voor onderzoek naar membraan glycoproteïnen van de trombocyt (in uw instelling)?

Ja: 4x
Nee: 11x

Vraag 3: Indien er Flowcytometrie gebruikt wordt voor onderzoek naar membraan glycoproteïnen van de trombocyt, wanneer wordt deze dan uitgevoerd?

Ja: 1x
Ja, onderzoek naar Bernard Soulier+Glanzmann + andere glycoproteïnen: 1x

Vraag 4: Indien u flowcytometrie gebruikt voor onderzoek naar membraan GP van de trombocyt bij hoeveel patiënten vindt dit plaats?

2 of meer patiënten/week: 1x
< 10 patiënten/jaar: 1x

Vraag 5: Wordt er onderzoek naar dense granules / release uitgevoerd?

Ja, ATP release: 3X
Ja, ADP/ATP/serotonine: 3x
HPLC/Massaspectometrie: 1x
Ja, maar anders dan genoemd: 1x
Nee: 7x

Vraag 6: Wordt onderzoek naar alfa granules uitgevoerd?

Ja: 3x
Nee: 12x

Tenslotte werden nog enkele vragen/issues besproken over o.a. de omgang met interne kwaliteitscontroles en gebruik van digitale logboeken betreffende de ISO- normen; het gebruik van de PFA m.b.t. het bepalen van eigen ref. waarden.

15:00-15:15 PAUZE

15:15-15:45 **Interactieve sessie, deel 2**

Vervolg van de inventarisatie interactieve sessie, specifiek gericht op de trombocyt aggregatie.

Vraag 1: Wordt Trombocyt aggregatie uitgevoerd op uw Laboratorium?

Ja: 13x
Nee: 2x

Vraag 2: Wanneer trombocyten aggregatie wordt uitgevoerd, hoe vaak vindt dit plaats?

< 10 patienten/jaar: 3x
1-2 patienten/week: 3x
2 of meer /week: 7x

Vraag 3: Welke vorm van aggregatie wordt toegepast?

Licht Transmissie Aggregatie: 12x
Impedantie aggregatie: 1x

Vraag 4: Welk merk apparatuur wordt gebruikt voor aggregatie (LTA) onderzoek?

Chronolog : 7x
Biodata (PAP): 3x
Ander merk: 2x

Vraag 5: Welk merk apparatuur wordt gebruikt voor aggregatie (Impedantie) onderzoek?

Multiplate Roche: 2x

Vraag 6: Is het bestaan van 1 van deze richtlijnen (SSC en/ of CSLI) voor trombocytenaggregatie bij u bekend?

Ja, 1 of beide van deze richtlijnen wordt ook toegepast: 12x
Nee: 3x

Vraag 8: Wordt binnen het laboratorium een vorm van interne kwaliteitscontrole toegepast?

Ja, bloed van gezonde vrijwilliger simultaan met pat. meegenomen: 4x
Ja, bloed van gezonde vrijwilliger periodiek meegenomen: 2x
Nee, wel regelmatig verschillende meetkanalen vergeleken: 2x
Anders: 5x

Vraag 9: Heeft u een validatieprotocol beschikbaar voor de aggregatietesten?

Ja: 11x
Nee: 2x

Vraag 10: Bent u bekend met de Externe Rondzending 'Platelet aggregation Post analytical EQA exercise' van stichting ECAT/Nascola?

Ja, nemen ook deel aan: 7x
Ja, maar nemen geen deel aan: 3x
Nee: 5x

Vraag 11: Wordt bij jullie voor de aggregatie met Plaatjes Rijk Plasma (PRP) een gestandaardiseerd plaatjesaantal gebruikt?

Ja, 250 x10E9/l: 6x
Ja, 200x10E9/l: 1x
Nee: 6x

15:45-16:30 Von Willebrand, thema 2018, Waander van Heerde, UMCN Radboud

Een introductie op het thema van volgend jaar met als onderwerp het Von Willebrand eiwit, dat een functie heeft in zowel de primaire (plaatjes adhesie) als de secundaire (FVIII drager) hemostase. Von Willebrand ziekte is in 3 hoofdtypen te onderscheiden:

- Type 1 VWD is de meest voorkomende vorm (75% van de gevallen). Kenmerk type 1 VWD: een lager dan normaal vWF stollingsfactor niveau, autosomaal dominante afwijking.

- Type 2 VWD kenmerk: een verminderde werkzaamheid van VWF, werkt niet goed, waardoor de stollingsactiviteit lager is dan normaal, autosomaal dominante afwijking
- Type 3 VWD is de meest ernstige maar ook zeer zeldzame vorm. Kenmerk: geen vWF in het plasma, autosomaal recessieve afwijking

VWD is dus autosomaal dominant of autosomaal recessief overerfelijk. Soms treedt VWD op als gevolg van een spontane verandering in de VWF-gen voor de geboorte. Overerving in families is niet altijd duidelijk omdat de expressie van de ziekte niet bij iedereen hetzelfde is.

De verschillende type VWD behoeven verschillende behandelingen, zoals voor type 1 DDAVP; type 2 DDAVP (contra-indicatie bij 2B) óf VWF concentraat; bij type 3 VWF/FVIII concentraat (beide).

Voor het stellen van de diagnose VWD worden nu meestal de volgende stappen gevolgd:

1. Bloedingscore afnemen (ISTH, BAT score).
2. Confirmatie testen in het laboratorium uitvoeren: FVIII activiteit, VWF activiteit en –antigeen, collageen bindingsassay, FVIII bindingsassay (in het geval van verdenking type 2 N(ormandy)), VWF-multimeren, RIPA bij verdenking type 2B . Daarnaast wordt de DDAVP response bepaald (behalve bij type 2 B). DDAVP stimuleert de Weibel Palade Bodies gemedieerde VWF secretie uit endotheelcellen.
3. Genotypering.

Radboudumc is het referentie centrum voor de VWF genotypering, die zij m.b.v. WES (Whole Exome Sequencing) kunnen uitvoeren. Het panel die in het UMCN is samengesteld voor deze genotypering bestaat uit genen die bewezen betrokken zijn bij de VWD (137 in totaal). Deze bepaling is tegenwoordig relatief goedkoop (<2000,- €).

Voordelen van genotypering zijn: Een MDO aanpak (klinische genetica, hematologie, lab.); het is goedkoop en er is meer informatie van het eiwit in één keer te achterhalen.

Nadeel: Er kunnen afwijkingen worden gevonden, waar je niet naar op zoek was of die niet de bloedingsneiging kunnen verklaren. Informed consent van de patiënt is verplicht.

Take home message en ter discussie: Gebruik een andere volgorde bij de diagnose stelling VWD:

1. Patiënten anamnese (BAT score)
2. Genotypering
3. Confirmatie o.b.v. labtesten (fenotypering)

16:30-17:00 **Afsluiting en rondleiding laboratorium Meander MC**