

WHD – NVTH

UMCU, 23-03-2023

State of the art

Deel ① Hemofilie behandeling anno 2023

Door: Lize van Vulpen

Internist-hematoloog bij van Creveldkliniek

Een kort overzicht van hemofilie door de jaren heen. In grafiek zijn uiteengezet dat de levensverwachting van de patiënten toeneemt, er betere profylaxe is en de klachten afnemen. Specifiek is hierop 'spontane' gewrichtsbloedingen gemonitord. Je ziet bij oudere patiënten dat ze nog wel eens te maken hebben met HIV of hep. C, en ook boezemfibreren wordt genoemd. De huidige ontwikkelingen en een aantal van nieuwe middelen worden besproken:

- Extended half-life: Er is verbetering in profylaxe, dit komt door de verlenging van de halfwaardetijd. Voor de F8 gaat dat van gemiddeld ± 12 uur naar $\pm 14 - 19$ uur. Voor de F9 is dat verschil veel groter en gaat de T $\frac{1}{2}$ van gemiddeld ± 17 uur naar ± 90 uur. Dat is m.n. voor de patiënten een enorm verschil. Voor recombinant F8 wordt het middel BIVV001 uitgelicht, waarbij VWF aan het eiwit gekoppeld is, wat ook weer zorgt een langere T $\frac{1}{2}$. Dit middel is nog in studie fase, maar wordt wel al aan enkele patiënten gegeven.
- Non-replacement therapy: Het bekendste voorbeeld is emicizumab, waarbij het eiwit de werking van F8 nabootst. Ook zijn er andere middelen ('mabjes'), die niet nabootsen, maar remmen (bv TFPI). Als risico wordt TMA genoemd, dit komt met name voor bij de mensen met remmers, die kunnen in het begin risico op trombotische complicaties, embolie en TMA hebben.
- Gene therapy: Voor F9 wordt het Padua FIX gen uitgelicht, de studie waar Karina Meijer ook in heeft bijgedragen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van het zogenaamde 'gain of function'. Een grote winst voor patiënten, en er kan geen remmervorming optreden. Omdat het gen niet wordt ingebouwd in het eigen DNA is er wel een zekere terugloop te zien bij monitoring, afhankelijk van de snelheid waarmee de lever deelt. De lange termijn effecten worden dus zeker verder gemonitord. NB: patiënten voelen zich genezen, maar dat zijn ze feitelijk niet; voor (grote) ingrepen en trauma's blijven ze aangewezen op een hemofiliebehandelcentrum.

Rondvraag in de groep: Worden er wel eens remmers tegen emicizumab gevonden? -> Ja, in ieder geval een kind en 2 volwassenen bekend vanuit Amsterdam UMC.

Deel ② De factor VIII bepaling in tijden van emicizumab

Door: Albert Huisman

Een presentatie over de laboratorium-technische aspecten.

Klinisch-chemicus UMCU

Pre-analytische aspecten

- Bij voorkeur veneuze afname. Capillaire afname zorgt voor hogere APTT en lagere F8. Er zijn wel redenen waarom toch voor capillair wordt gekozen, bv de leeftijd van de patiënt i.c.m. moeilijk te prikken.
- Afname: niet/nauwelijks stuwen, niet pompen, groot genoeg naald, patient rustig vooraf, citraatbuis als eerste ivm carry-over EDTA ('pseudo-hemofilie), buis 4x mengen (andere buizen 8x; en niet schudden)

De factor VIII assay

- Op UMCU is vrij uitgebreid getest of het met behulp van LC-MS/MS bepaald kan worden. De correlatie over het geheel is goed, echter de afzonderlijke verschillen zijn groot, met name als patiënt een remmer heeft of exogeen F8 toegediend krijgt, dus het wordt nu niet verder toegepast.

- De guideline (WFH – recommendation 3.2.10) geeft aan dat om milde hemofilie A te diagnosticeren altijd meer dan 1 type assay nodig is. Zowel de one-stage kan hoger uitvallen dan de chromogene assay, als dat de chromogene assay hoger kan uitvallen dan de one-stage assay. Dit heeft te maken met waar de mutatie zich bevindt. Ook de NVvH heeft de aanbeveling, waarbij om onderbehandeling te voorkomen is de uitslag de laagste waarde van de 2 gemeten de uiteindelijke uitslag. Voorlopig geldt dit alleen nog voor de F8, voor de F9 is de waarde van de chromogene bepaling nog onvoldoende duidelijk.

- Er is uitleg gegeven over de werking van de F8 one-stage assay (functionaliteit F8 obv APTT), en over de werking van de chromogene assay (FIXa, FX, trombine, fosfolipiden, calcium + substraat met evt. trombineremmer). Bij de chromogene assays wordt onderscheid gemaakt tussen humaan en bovine. Het reagens van Hyphen scoort hiermee niet goed, de overige firma's wel. De WFH schrijft bovine voor. Belangrijk als je de optie hebt voor een patiënt te kiezen tussen de assay's: Emicizumab kan tot een ½ jaar effect hebben (bron: farmcotherapeutisch kompas). Op sommige labs wordt daarom standaard de chromogene assay gebruikt, en waar nodig aanvullend de one-stage.

Hoe de verschillende reagentia van de verschillende firma's reageren op diverse medicatie wordt weergegeven in de tabellen in de 'VHL handreiking diagnostiek monitoring hemofilie behandeling'

[20220621_220620VHLhandreikingmonitoringhemofilie.docx.pdf \(de-vhl.nl\)](#)

- Het UMCU bepaalt nu ook de emicizumab met LC-MS (uitgevoerd door apotheek). Evt. kunnen hier ook vanuit extern monsters voor worden ingestuurd.

Rondvraag hoe labs de assays toepassen:

Amsterdam UMC bepaalt alle patiënten monsters m.b.v. FVIII chromogeen, met uitzondering van nieuwe hemofilie patiënten (baby's en vluchtelingen), die worden m.b.v. beide FVIII assays uitgevoerd. Het UMCU doet ook alles (in ieder geval) chromogeen.

Opmerking uit de zaal:

Bij gebruik van BIVV001 kan er geen FVIII worden gemeten m.b.v. FVIII chromogeen en voor de labs die Siemens reagens gebruiken: Geen Actin FS gebruiken, maar Actin FSL, anders kloppen de uitslagen niet met de kliniek.

Nijmegen Ultra Sensitieve Bethesda bepaling (NuSBA)

Door: Sanna Rijpma, Radboud UMC

- Wáárom zou je de ultrasensitieve bepaling (NuSBA) willen doen, en niet de gewone Nijmegen Bethesda bepaling (NBA)?
- Bij congenitale hemofilie:
 - o Verklaren korte halfwaardetijd F8
 - o Vroege detectie (bypassing agent)
 - o Vroege detectie recidive
- Bij verworven hemofilie
 - o Behandeling immunosuppressie (zo snel mogelijk willen stoppen, maar ook zeker weten dat de remmer weg is)

NBA heeft een detectielimiet van 0,3 NBU.

Rondvraag: wat is de ondergrens wat labs nu hanteren? De meeste labs 0,3 of 0,4 NBU, internationaal wordt zelfs 0,6 NBU aangehouden.

- Verschillen tussen de NuSBA en NBA
- Verdunning met NP.
 - o NuSBA: Patientenplasma:NP = 9:1
 - o NBA: Patientenplasma:NP = 1:1
- Rekening houden met:
 - o Met de NuSBA moet je wel een andere berekening toepassen, omdat 1 BU betekent dat er 50% remming optreedt. Dus de berekening wordt $(2-\text{LOG}('Residual\ F8'))/0,30103)$
- Gedane testen en Validatie:
 - o Kalibratie met recombinant remmer (0,8 / 0,4 / 0,2 / 0,1 / 0,05)
 $Y = -0.528 \ln(x) + 2.3856 \quad R^2 = 0.998$
 - o EP10: lineairiteit, juistheid en precisie (wel met zelfde recombinante remmer)
 - o LOQ: 0,09 (bij maximale CV 25%)
 - o LOD (bij gezonde mensen): 0,07
 - o Klinische validatie nodig: F8, NBA, NusBA
 - o Cave: verschillende remmers geven verschillend gedrag, dus ook tussen NBA en NusBA
- Troubleshooting:
 - o Precisie in lage gebied
 - o Juisheid dmv ECAT samples. Het hoge gebied is door verdunning lastig hierbij.
 - o Variatie door verdunningen
 - o Nieuw lot F8dp gaf andere resultaten, kalibratie was niet goed toepasbaar meer
 - o Lastig: gevoelige assay, er is snel variatie bij bv. lotverandering van reagentia.
- Toepassing:

- Voor artsen vervangt de NuSBA de NLTIA (Nijmegen Low Titer Inhibitor Assay). De assays zijn echter niet uitwisselbaar (bv. de ene keer NusBa en andere keer NLTIA), en de NuSBA moet apart gevalideerd worden.
- Bij type-II remmers is het vooral om te zeggen: geen remmer = negatief. Maar kwantificatie van type-II remmer is lastig.

Rondvraag: hoe doen andere labs het met negatieve controles? -> geen ervaring met negatieve controle aan begin en eind zoals wij het gewend zijn. Bij andere labs ligt de basis van de test in de validatie en in een hogere ondergrens (0,3 of 0,4 BU). Tevens ook verdunnen met deficient plasma of BSA 4% (ipv OVB wat we doen). Zie verder de interactieve sessie.

Kwaliteit hemofilie labbepalingen – ECAT

Door: Piet Meijer, ECAT

De resultaten van de hemofilie-module worden stuk voor stuk bij langs gegaan, met aandacht voor de tussen-lab variatie, verschillen tussen onestage en chromogeen, longitudinale evaluatie en remmerdiagnostiek.

Opvallendheden zijn:

- Chromogene assay scoort 5% lager (F8) en 10% hoger (F9) dan de one-stage assay. Bij F9 komt lage gebied dan wel goed overeen.
- De longitudinale evaluatie geeft heel grote LCVa's aan. Gemiddeld 11,5% (range 4,0 – 38,1). De criteria voor Cva voor *monitoring* zijn 4,4% (F8) en 3,5% (F9). Er is dus nauwelijks een lab dat daaraan voldoet. Voor *diagnostiek* zijn de Cva's 14,0% (F8) en 10,3% (F9), dat komt beter in de buurt, maar alsnog zijn er veel labs die grotere Cva's hebben. Within labs kan het bovendien ook zo zijn dat F8 lage Cva heeft en F9 hoge Cva en vice versa.

Ook is er aandacht voor de rondzending van F8 met de medicijnen Afstyla, Esperoct, Jivi, Kovaltry en Novoeight. Er zijn verschillen in juistheid en precisie per medicijn. Bij Afstyla moest er een correctiefactor (x2) toegepast worden, waarschijnlijk heeft het merendeel van de labs dit over het hoofd gezien.

Als het gaat om remmerdiagnostiek: Er is een nieuwe guideline van de ICSH onderweg, naar verwachting komt die komende zomer uit. Adviezen die o.a. hierin voor gaan komen:

- Ga verdunningsfactor standaardiseren als je de remmer ongeveer weet. Veelal is de gebruikte verdunning (factor + manier van werken) een grote oorzaak van variatie.
- Corrigeer voor de concentratie F8 uit het NPP. (ter inzicht voor verschil: 100% F8 is 1BU, 80% F8 geeft al een resultaat van 1,42 BU). Rondvraag: correctie wordt uitgevoerd door verdunning tijdens de assay, met deficient plasma of 4% BSA. Het wordt niet echt door de labs toegepast dat de correctiefactor in de formule terecht komt.

Trombofilie en antistolling

Door: Michiel Coppens, vasculair arts AUMC

Een overzicht van dit thema door de jaren heen, met uiteindelijk de vraag; is het wel of niet zinvol (familiaal) te testen..?

Er wordt stil gestaan bij familiair testen (FVLeiden bv), de al-dan-niet-risico's bij pil gebruik en zwangerschap, bij het Anti-phospholipid syndroom, en de afwegingen wat de kansen zijn op (het voorkomen van) ellende door trombofilie. Vaak spelen meerdere afwegingen een rol, en daarin heeft de spreker ons ingeleid in het thema van de WHD-dag volgend jaar. Iedereen die dingen wil inbrengen – wat het ook zij, op het thema gericht of anders – is daartoe van harte uitgenodigd.

Voor in de agenda, volgend jaar WHD:

Wanneer: 21-03-2024

Locatie: Radboud UMC Nijmegen

Thema: Trombofilie en antistolling