

Herstellung eines «ready-to-use» DTT-behandelten Antikörpersuchtests für Anti-CD38 therapierte Patientinnen und Patienten

Celine Andres, BMA 20-23

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Insel Gruppe AG Inselspital, UKH-HZL - Transfusionsmedizin

1. Zusammenfassung

Bei Patientinnen und Patienten, die eine Anti-CD38-Antikörpertherapie zur Behandlung des Multiplen Myeloms erhalten, hat sich gezeigt, dass der Antikörpersuchtest (AKST) falsch-positive Ergebnisse erzielt. Da ein positiver AKST auf einen Alloantikörper hinweist, muss sichergestellt werden, dass ein solcher nicht durch die Panpositivität maskiert wird. Dazu muss der AKST manuell mit Dithiothreitol (DTT) angesetzt werden. Das Ziel der Diplomarbeit ist es, diesen aufwändigen und zeitintensiven Prozess zu vereinfachen, indem die Testzellen des AKST direkt zu Beginn des Monats mit DTT vorbehandelt werden. Dadurch müssen die Testzellen nicht mehr für jede Abklärung einzeln vorbehandelt werden.

Es werden verschiedene Antiseren benutzt, um zu überprüfen, ob Antigene auf der Erythrozytenoberfläche durch die Behandlung denaturiert werden. Aus den Resultaten geht hervor, dass die Panpositivität erfolgreich unterdrückt werden kann, jedoch Anti-s und Anti-Jka schwächer reagieren und möglicherweise Alloantikörper übersehen werden können. Der vorbehandelte AKST kann nicht ohne Weiteres in die Routine eingeführt werden. Der bisherige Prozess kann somit nicht durch den vorbehandelten AKST ersetzt und vereinfacht werden.

2. Einleitung

Beim Anti-CD38-Antikörper handelt es sich um einen humanen monoklonalen IgG-Antikörper, welcher auch Daratumumab genannt wird. Er bindet an das CD38-Antigen, welches in hoher Konzentration auf der Oberfläche von Tumorzellen des Multiplen Myeloms exprimiert wird [1].

Da auch Erythrozyten CD38-Antigene exprimieren, kommt es zur Panpositivität im AKST. Auf nachfolgender Abbildung ist die Interferenz dargestellt. Daratumumab befindet sich im Serum der Patientinnen und Patienten und bindet an das CD38-Antigen, welches in geringer Menge auch auf den Erythrozyten (in Abb. 1 RBC genannt) vorkommt. Da das Coombs-Serum Antikörper gegen humane IgG-Antikörper beinhaltet, bindet es an Daratumumab und führt zu einem positiven Resultat [2].

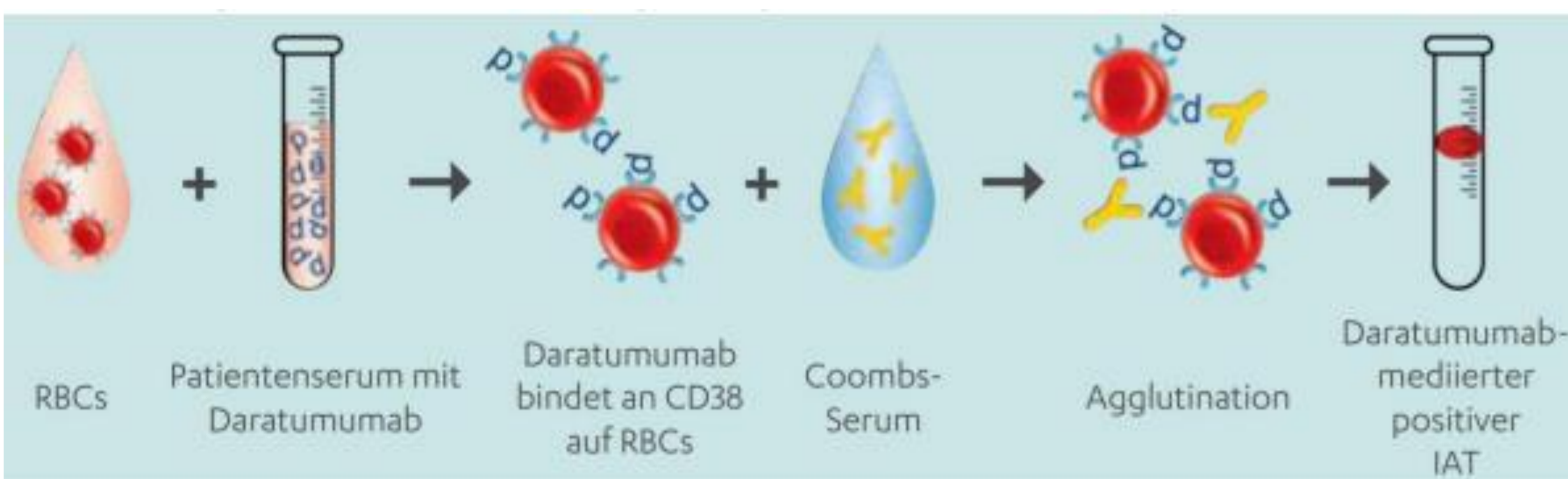


Abb. 1: Interferenz im IAT durch Anti-CD38-Antikörper (Janssen-Cilag GmbH, 2021, S.7)

Bei der Behandlung von Erythrozyten mit DTT wird das CD38-Antigen denaturiert, indem Disulfidbrücken gespalten werden. Folglich bieten die Erythrozyten dem Daratumumab keine Bindungsstellen mehr und der AKST fällt negativ aus, sofern keine Alloantikörper vorliegen. Neben CD38 werden auch andere Strukturen mit Disulfidbrücken denaturiert [3].

3. Ziele und Fragestellungen

Ziel: **Vorbehandlung der DiaScreen-Testzellen à 10ml von Biorad mit dem DTT-Reagenz und überprüfen der Funktionalität und Stabilität.**

Fragestellung:

- Kann man die DiaScreen-Testzellen à 10ml mit DTT-Reagenz vorbehandeln und in der Routine wie ein herkömmlicher AKST mit Serum verwenden?

Quellenverzeichnis

- Janssen-Cilag AG, Packungsbeilage, Darzalex®, 2021
- Janssen-Cilag GmbH. (2021). *Interferenz von Darzalex® (Daratumumab) mit Blutkompatibilitätstests* (Version 6). Johnson & Johnson.
- Weinstock, C. (2019). Störung der blutgruppenserologischen Untersuchungen durch therapeutische monoklonale Antikörper. *Hämotherapie*, 2019/32, 12.

Abbildungen

Abb. 1 Janssen-Cilag GmbH. (2021). *Interferenz von Darzalex® (Daratumumab) mit Blutkompatibilitätstests* (Version 6). Johnson & Johnson.

Tabellen

Tabelle 1 Reaktionen von Anti-Jka und Anti-s dritter Monat (Andres, 2023)

4. Material, Methodik, Vorgehen

Bei der Stichprobe handelt es sich um Proben von Patientinnen und Patienten, welche aufgrund der Anti-CD38-Interferenz einen positiven AKST zeigen und nicht aufgrund von Alloantikörpern. Zur Überprüfung, ob die Antigenstrukturen auf den behandelten Testzellen erhalten bleiben, werden insgesamt 19 Antiseren der Firma Grifols und Biorad verwendet.

Zu Beginn jedes Monats werden die verwendeten Antiseren titriert und mit unbehandelten Testzellen angesetzt. Dabei werden jeweils die letzten drei positiven Titer und deren Reaktionsstärken notiert, welche als Ausgangslage dienen. Ausserdem werden die Testzellen mit 0.02mol/L DTT behandelt.

Während dem ersten Monat werden täglich vier bestimmte Antiseren in ihren definierten Titern mit den behandelten Testzellen angesetzt. Im zweiten und dritten Monat wird einmal wöchentlich bei allen 19 Antiseren die Reaktionsstärken der definierten Titer überprüft. Am Ende des Monats werden die erzielten Ergebnisse der behandelten Testzellen mit denen der unbehandelten verglichen.

5. Ergebnisse / Resultate

Auf Tabelle 1 sieht man die erhaltenen Resultate der Anti-Jka und Anti-s aus dem dritten Monat, am jeweiligen Tag nach Behandlung der Testzellen. Als Tag 0 wird die Ausgangslage bzw. die erzielten Ergebnisse mit den unbehandelten Testzellen bezeichnet. Orange markiert sieht man die Veränderungen zum vorherigen Ansatz.

Tabelle 1 Reaktionen von Anti-Jka und Anti-s dritter Monat (Andres, 2023)

	Titer	Tag 0	Tag 1	Tag 6	Tag 13	Tag 20	Tag 27
Anti-Jka	1:64	2+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	1:128	1+	-	-	-	-	+/-
	1:256	+/-	-	-	-	-	-
Anti-s	1:16	3+	-	+/-	+/-	+/-	+/-
	1:32	2+	-	+/-	+/-	+/-	+/-
	1:64	1+	-	+/-	+/-	+/-	+/-

6. Diskussion

Die Panpositivität durch die Anti-CD38-Antikörper wird im AKST mit den behandelten Testzellen während allen drei Monaten erfolgreich unterdrückt. In Tabelle 1 ist jedoch ersichtlich, dass die Reaktionen der Anti-Jka und Anti-s am Ende des dritten Monats (Tag 27) im Vergleich zur Ausgangslage (Tag 0) deutlich abgeschwächt bzw. nicht mehr nachweisbar sind.

Es kann nicht abschliessend geklärt werden, weshalb Anti-s und Anti-Jka nach Behandlung der Testzellen mit dem DTT-Reagenz abgeschwächt reagieren. Es wird angenommen, dass die betroffenen Antigene auf den Erythrozyten durch die Behandlung mit DTT abgeschwächt werden. Aus diesem Grund kann der vorbehandelte AKST nicht ohne Weiteres in die Routine eingeführt werden, da sonst ein Alloantikörper übersehen werden könnte.