

# Acceptatietesten Antistoffen

Arjan de Mare  
Medlon / Medisch Spectrum Twente  
16 november 2017

# Overzicht

- Eisen uit NEN-EN-ISO 15189
- Aanbeveling werkgroep NVC
- Werkwijze Medlon ingangscntrole nieuwe antistoffen
- Werkwijze Medlon verificatie verlopen antistoffen
- Samenvatting

# Kwaliteit (en standaardisatie)

## Wat is kwaliteit?

- In het algemeen? In de gezondheidszorg? Op een laboratorium?
- De term is eigenlijk heel subjectief.
- Definitie volgens NEN-ISO 9000:  
*Het geheel van eigenschappen en kenmerken van een product of dienst, dat van belang is voor het voldoen aan gestelde eisen of vanzelfsprekende behoeften.*
- Hoe realiseer je dat? Hoe borg je dat?

Nederlandse norm

**NEN-EN-ISO 15189**

(nl)

Medische laboratoria - Bijzondere eisen voor  
kwaliteit en competentie

Medical laboratories - Requirements for quality  
and competence

# Kwaliteit (en standaardisatie)

## Wat staat in de NEN-EN-ISO 15189?

### 5.3.2 Reagentia en verbruiksartikelen

#### 5.3.2.1 Algemeen

Het laboratorium moet beschikken over een gedocumenteerde procedure voor de ontvangst, opslag, acceptatietesten en voorraadbeheer van reagentia en verbruiksartikelen.

#### 5.3.2.3 Reagentia en verbruiksartikelen – Acceptatietesten

Van elke nieuwe samenstelling van onderzoekkits met gewijzigde reagentia of procedure, of een nieuwe batch of levering, moet alvorens deze voor onderzoek worden gebruikt, de werking worden geverifieerd.

- Hoe iets ingevuld moet worden staat (meestal) niet in een norm beschreven.
  - er zijn meerdere wegen, die naar Rome leiden
  - organisaties/laboratoria mogen zelf besluiten hoe ze invulling geven

# Acceptatietesten

## Aanbeveling werkgroep NVC ISO 15189

### **Aanbeveling:**

### **Ingangscontrole van antistoffen t.b.v. flowcytometrie**

Augustus 2016

**Werkgroep NVC ISO 15189**

**Leden:**

- A. Bloem**
- A. Claessen**
- C. Koelman**
- J. Lambers**
- J. Leuvenink**
- P. de Schouwer**
- V.H.J. van der Velden**

Dit document beschrijft hoe bij flowcytometrische analyses aan de ISO15189 verificatienorm 5.3.2.3 kan worden voldaan voor de ingangscontroles van antistoffen.

# Acceptatietesten

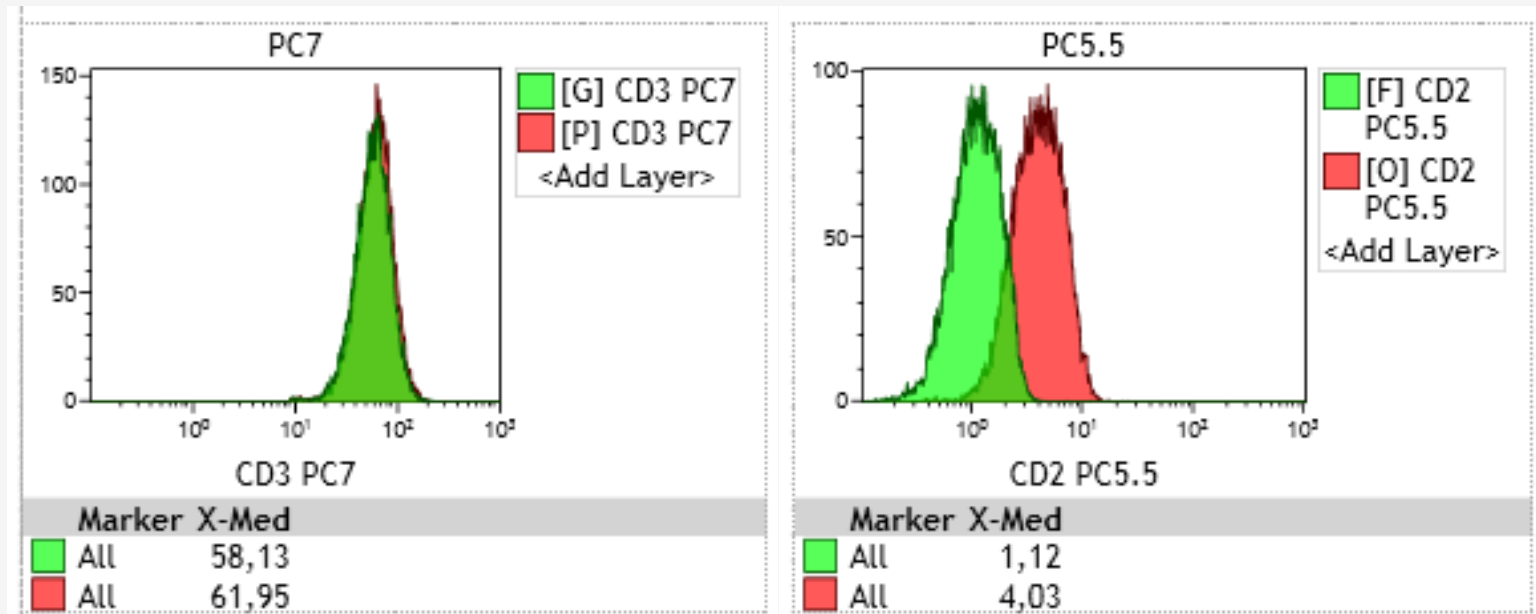
## Aanbeveling werkgroep NVC ISO 15189

- Ruimere interpretatie van de norm:
  - werking verifiëren alvorens ze bij onderzoeken worden toegepast
  - werking verifiëren alvorens uitslagen worden vrijgegeven (“ongoing verification”)
- Elke nieuwe batch of levering van een antistof-conjugaat.
- Vier situaties en suggesties hoe die aan te pakken.
  - losse antistoffen (kloon-fluorochroom-combinatie)
  - mix van antistoffen
  - losse antistoffen die bij een bekende mix gepipetteerd worden
  - losse antistoffen, gericht tegen antigenen die niet voorkomen op normale bloed- of beenmergmonsters

# Werkwijze Medlon; ingangscntrole

## Losse antistoffen

- Nieuwe batch/levering wordt vergeleken met oude batch/levering.
- Beide worden toegepast op bloed-/beenmergmonster van “gezonde” patiënt of evt. vrijwilliger.

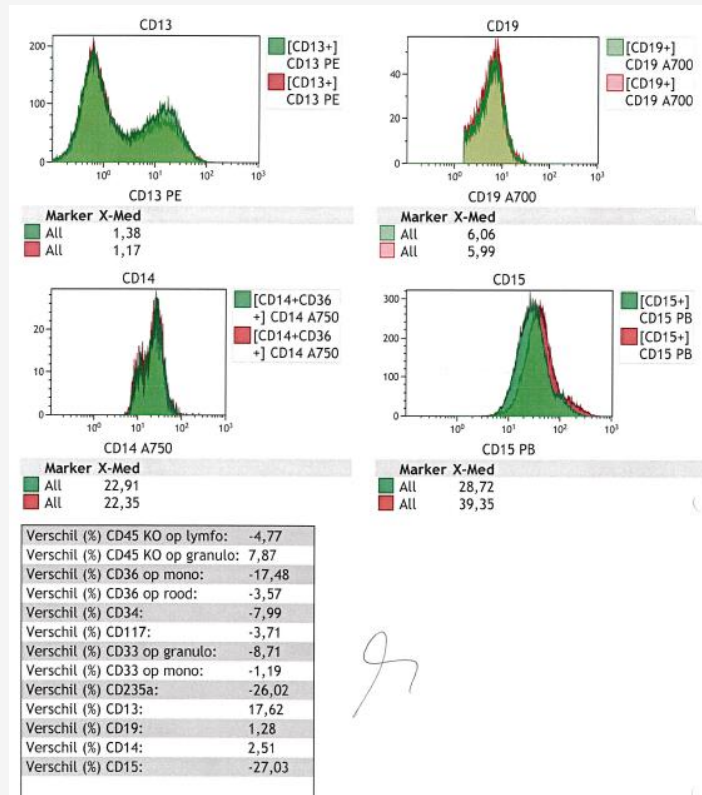
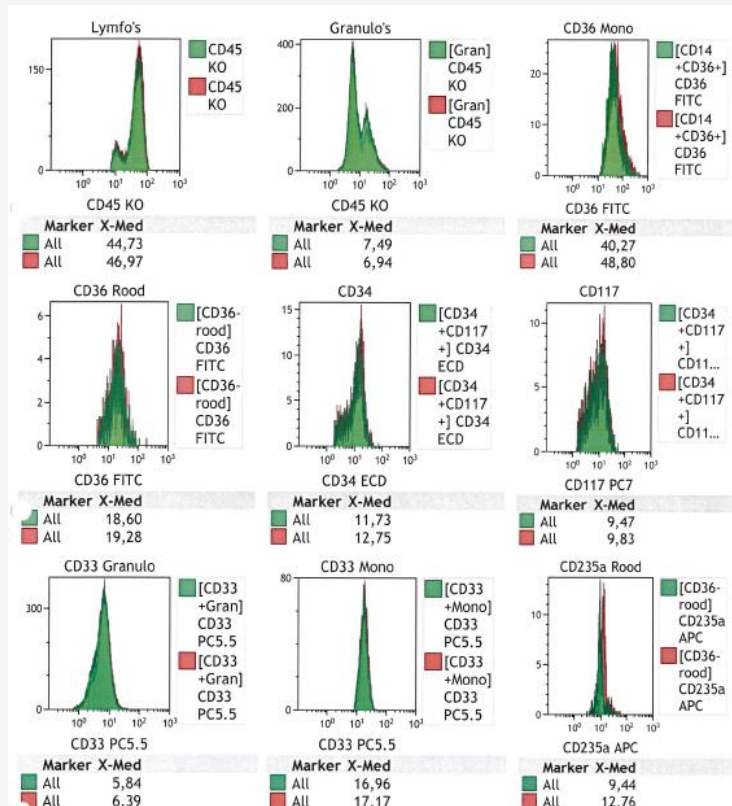


- Vergelijk tussen mediaan van nieuwe levering en mediaan van oude levering:  $(\text{nieuw-oude})/\text{oud} \times 100\%$
- Verschil in mediane fluorescentie mag niet meer dan 30% zijn.

# Werkwijze Medlon; ingangscntrole

## Mix van antistoffen

- Nieuwe mix wordt vergeleken met oude mix, conform losse antistof.
- Beide worden toegepast op bloed-/beenmergmonster van “gezonde” patiënt of evt. vrijwilliger.
- Bijkomend voordeel: check of alles erin zit.



|                                 |        |
|---------------------------------|--------|
| Vershil (%) CD45 KO op lymfo:   | -4,77  |
| Vershil (%) CD45 KO op granulo: | 7,87   |
| Vershil (%) CD36 op mono:       | -17,48 |
| Vershil (%) CD36 op rood:       | -3,57  |
| Vershil (%) CD34:               | -7,99  |
| Vershil (%) CD117:              | -3,71  |
| Vershil (%) CD33 op granulo:    | -8,71  |
| Vershil (%) CD33 op mono:       | -1,19  |
| Vershil (%) CD235a:             | -26,02 |
| Vershil (%) CD13:               | 17,62  |
| Vershil (%) CD19:               | 1,28   |
| Vershil (%) CD14:               | 2,51   |
| Vershil (%) CD15:               | -27,03 |

*Handwritten signature*



# Werkwijze Medlon; ingangscntrole

## Antistoffen tegen normaal niet voorkomende antigenen

- In principe vergelijkbare werkwijze als bij “losse antistoffen”.
- Alternatieven voor “gezonde” patiënt of vrijwilliger.
- Histiocyten uit BAL-monsters voor CD1a.
- KMH2 cellijn gemengd met perifeer bloed voor CD30.
- Ingevroren cellen van HCL-patiënt gemengd met perifeer bloed voor CD25?
- Ingevroren cellen van ALL-patiënt gemengd met perifeer bloed voor TdT?

# Kwaliteit (en standaardisatie)

## Wat staat in de NEN-EN-ISO 15189?

### 5.3.2.7 Reagentia en verbruiksartikelen – Registraties

Voor elke reagens en verbruiksartikel dat bijdraagt aan de uitvoering van onderzoeken moeten registraties worden onderhouden. Deze registraties moeten omvatten, maar niet beperkt zijn tot het volgende:

- a) de identificatie van het reagens of verbruiksartikel;
- b) de naam van de fabrikant en batchcode of lotnummer;
- c) contactinformatie van de leverancier of de fabrikant;
- d) de ontvangstdatum, de houdbaarheidsdatum, datum van ingebruikname en, voor zover van toepassing, de datum waarop het materiaal buiten gebruik is gesteld;
- e) conditie bij ontvangst (bijv. acceptabel of beschadigd);
- f) instructies van de fabrikant;
- g) registraties die de initiële geschiktheid voor gebruik van het reagens of verbruiksartikel bevestigen;
- h) registraties van prestaties die de continue geschiktheid voor gebruik van het reagens of verbruiksartikel bevestigen;

# Acceptatietesten verlopen antistoffen

## Aanbeveling werkgroep NVC ISO 15189

- Geen expliciete aanbeveling ten aanzien van dit punt.

### BIJLAGE 1

Voorbeelden van rapportage ingangscontrole en acceptatie:

Dit betreft enkel ter illustratie hoe in verschillende centra de acceptatietesten momenteel zijn opgezet; dit is niet per definitie volgens de hier beschreven richtlijnen.

doQu

Controle verlopen monoklonalen:

2-11-2015

| Moab | Fluorochroom | Batchnummer | Exp. Datum | Verdun-ning | Akkoord |
|------|--------------|-------------|------------|-------------|---------|
| CO3  | FIC          | 3150837     | 31-3-2015  |             | OK      |
| CO4  | FIC          | 24          | 9-11-2015  |             | OK      |
| CO15 | FIC          | 602733      | 31-1-2011  | 1:10        | OK      |
| CO16 | FIC          | 44021       | 30-4-2011  |             | OK      |
| CO22 | FIC          | 402999      | 31-10-15   |             | OK      |
| CO42 | FIC          | 3219862     | 31-5-15    |             | OK      |
| CO57 | FIC          | 26295       | 30-9-10    |             | OK      |
| CO58 | FIC          | 22          | 19-6-12    |             | OK      |

# Werkwijze Medlon; verlopen reagens

## Losse antistoffen

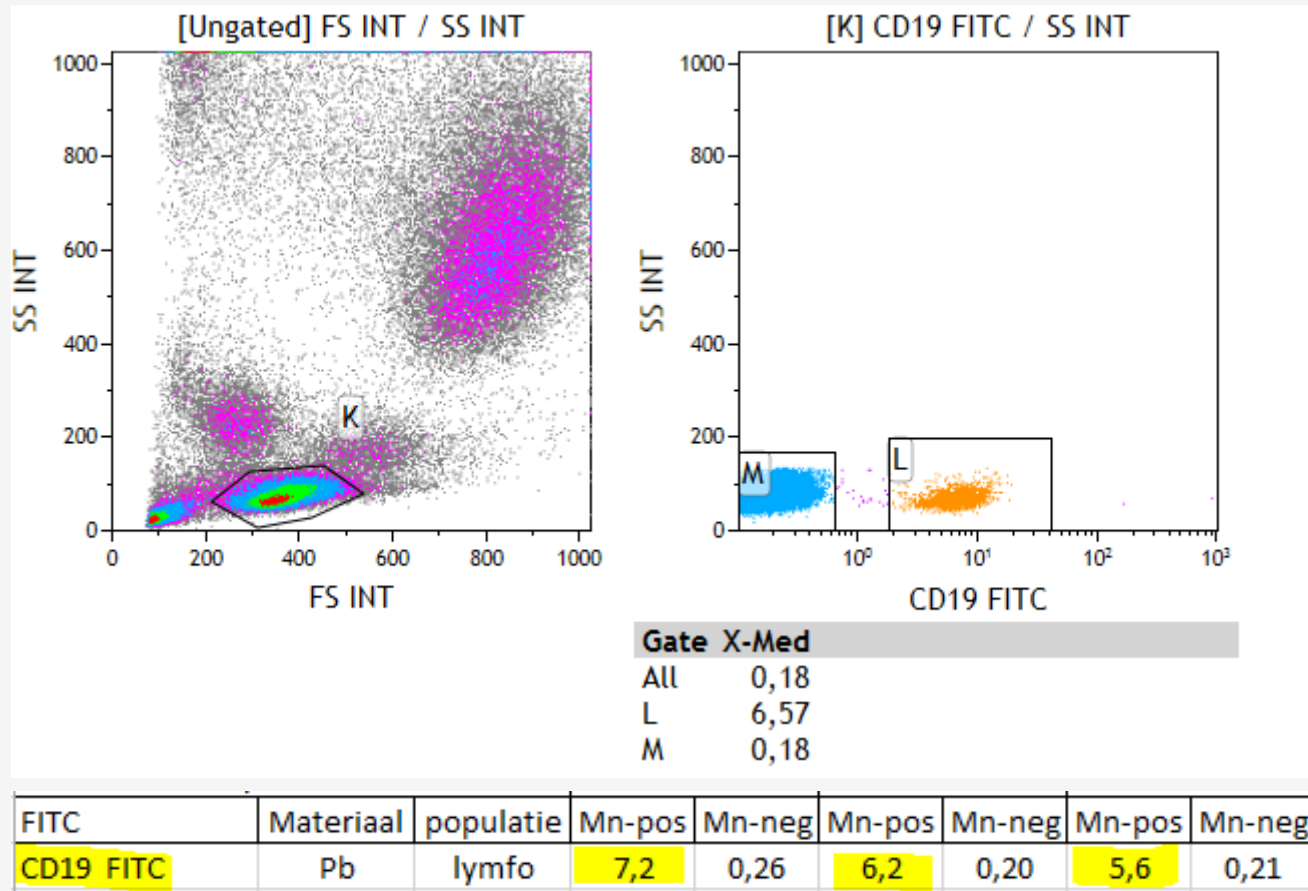
- Van nieuwe batch/levering is in drievoud (“gezonde” patiënt of evt. vrijwilliger) de mediane fluorescentie bepaald op specifieke populatie.

| PE    | Materiaal | populatie | Mn-pos | Mn-neg | Mn-pos | Mn-neg | Mn-pos | Mn-neg | Opm. bij controle verlopen moab's/Ingangscontrole |
|-------|-----------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---|
| CD56  | Pb        | lymfo     | 10,5   | 0,35   | 9,8    | 0,54   | 12,8   | 0,24   | i.c.m. CD3, gaten op NK-cellen!                   |
| CD103 | BAL       | lymfo     | 30,2   | 0,41   | 38,0   | 0,28   | 24,9   | 0,30   | i.c.m CD45 en CD4                                 |
| CD117 | BM        | blast     | 4,47   | 0,40   | 4,09   | 0,10   | 4,40   | 0,10   | i.c.m. CD45/CD34                                  |
| CD123 | BM        | baso's    | 12,2   | 0,13   | 5,6    | 0,15   | 3,0    | 0,14   | i.c.m. CD45/HLADR                                 |
|       | BM        | dend. Cel | 2,9    | 0,13   | 7,0    | 0,15   | 6,4    | 0,14   | i.c.m. CD45/HLADR                                 |
| CD133 | BM        | blast     | 1,74   | 0,40   | 3,90   | 0,49   | 4,00   | 0,55   | i.c.m. CD45/CD117/CD34                            |
| HLADR | Pb        | B-lymfo   | 20,7   | xx     | 13,6   | xx     | 24,2   | xx     | i.c.m. CD19, gaten op CD19+/DR+                   |
| IgD   | Pb        | B-lymfo   | 51,0   | 0,10   | 38,5   | 0,10   | 46,8   | 0,10   | i.c.m. CD19                                       |
| IgM   | Pb        | B-lymfo   | 22,4   | 0,45   | 16,5   | 0,38   | 12,4   | 0,50   | i.c.m. CD19                                       |

- Als antistof over houdbaarheidsdatum is, wordt mediane fluorescentie bepaald op zelfde specifieke populatie van “gezonde” patiënt of evt. vrijwilliger.
- Mediane fluorescentie van verlopen antistof moet minimaal gelijk zijn aan mediane fluorescentie van de laagste van de drie referentiemetingen.

# Werkwijze Medlon; verlopen reagens

## Losse antistoffen



- Indien onvoldoende fluorescentie: herhalen met twee andere “gezonde” patiënten/vrijwilligers.
- Indien dan weer onvoldoende fluorescentie: nieuwe antistof bestellen.

# Werkwijze Medlon; verlopen reagens

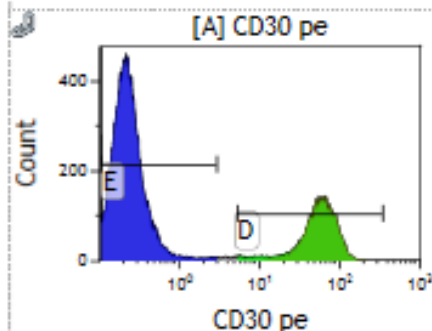
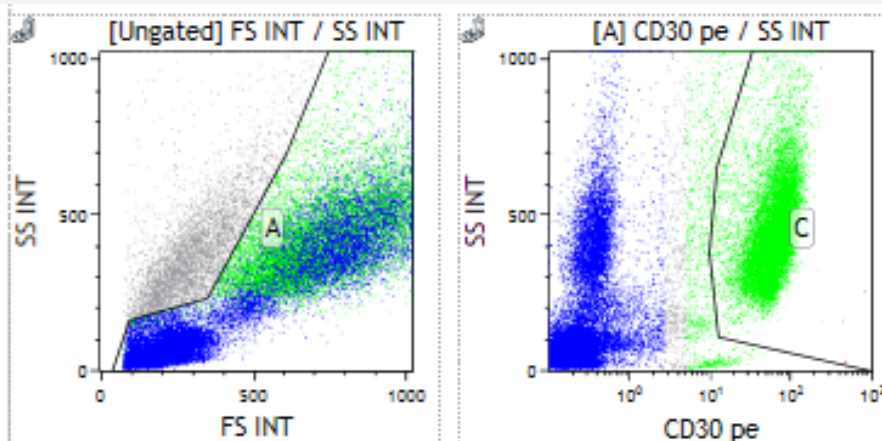
## Mix van antistoffen

- Mixen worden in zulke hoeveelheden gemaakt dat ze niet verlopen.
- Mixen zijn maximaal twee maanden in gebruik.

# Werkwijze Medlon; verlopen reagens

## Antistoffen tegen normaal niet voorkomende antigenen

- KMH2 cellijn gemengd met perifeer bloed voor CD30.
- Acceptatie op basis van ratio tussen positieve en negatieve populatie.



|                      |                 |
|----------------------|-----------------|
| [D] CD30 pe Median   | 56,69           |
| [E] CD30 pe Median   | 0,21            |
| Pos/Neg-ratio CD30PE | 266,09          |
| <hr/>                |                 |
| <Add Keywords>       | <Add Statistic> |

| Gate X-Med |       |
|------------|-------|
| All        | 0,26  |
| D          | 56,69 |
| E          | 0,21  |

|    | A       | B                        | C     | D    | E       | F           |
|----|---------|--------------------------|-------|------|---------|-------------|
| 1  | CD30 PE | 5 ul/ 50 ul celsuspensie |       |      | ref> 40 |             |
| 2  |         | Datum                    | pos   | neg  | ratio   | Beoordeling |
| 3  |         | apr-16                   | 38,6  | 0,42 | 91,9    | OK          |
| 4  |         | jun-16                   | 17    | 0,34 | 50,0    | OK          |
| 5  |         | jul-16                   | 36,7  | 0,38 | 96,6    | OK          |
| 6  |         | 23-8-2016                | 84    | 0,54 | 155,6   | OK          |
| 7  |         | 3-10-2016                | 30,1  | 0,60 | 50,2    | OK          |
| 8  |         | 28-12-2016               | 34,9  | 0,28 | 124,6   | OK          |
| 9  |         | 29-12-2016               | 23,3  | 0,28 | 83,2    | OK          |
| 10 |         | 7-2-2017                 | 41,1  | 0,4  | 102,8   | OK          |
| 11 |         | 20-3-2017                | 24,9  | 0,22 | 113,2   | OK          |
| 12 |         | 1-5-2017                 | 22,5  | 0,4  | 56,3    | OK          |
| 13 |         | 12-6-2017                | 54,3  | 0,21 | 258,6   | ok          |
| 14 |         | 24-7-2017                | 27,12 | 0,34 | 79,8    | OK          |
| 15 |         | 4-9-2017                 | 40,32 | 0,37 | 109,0   | OK          |
| 16 |         | 16-10-2017               | 30,84 | 0,37 | 83,4    | ok          |
| 17 |         |                          |       |      |         |             |

# Werkwijze Medlon

## Registratie

Titel: 03 N<sup>o</sup>s, Testen monoklonalen na expiratedatum Document ID (autonummer): 21570111 Versie: 3 Status: G<sup>e</sup>publiceerd Controledatum: 21-07-2017



| Label | MoAb   | Lotnr. | Vervaldat. | LMD-file           | Uitvoerdat. | Means bij niet verlopen MoAb |      |       | Mean bij controle  | Voldoet? Ja/Nee     | M-code |
|-------|--------|--------|------------|--------------------|-------------|------------------------------|------|-------|--------------------|---------------------|--------|
| Fite  | CD15   | 42     | 10-12-14   | 22616              | 20-7-15     | 49,5                         | 62,0 | 101,8 | 64,1               | ja                  | 3278   |
|       | CD34   | 40     | 24-11-14   | 31036              | 17-7-15     | 11,0                         | 12,2 | 7,9   | 12,6               | ja                  | -      |
|       | CD36   | 43     | 19-09-14   | 31038              | 17-7-15     | 26,4                         | 35,3 | 52,5  | 35,3               | ja                  | -      |
|       | CD57   | 55     | 06-03-12   | 31039              | 17-7-15     | 13,7                         | 14,1 | 7,3   | 12,4               | ja                  | -      |
|       | HLAdr  | 39     | 12-12-14   | 31041              | 17-7-15     | 27,9                         | 11,8 | 16,2  | 27,9               | ja                  | -      |
|       | MPD    | 40     | 4-5-14     | 32619              | 27-7-15     | -                            | -    | -     | 26,3               | niet meer besteld v | -      |
|       | CD45   | 21     | 15-3-14    | 31033<br>22615     | 17/20-7-15  | 25,7                         | 39,5 | 31,2  | 11,2 - 13,0 - 20,8 | nee                 | -      |
| PE    | CD4    | 19     | 16-11-14   | 22618/619<br>31037 | 17/20-7-15  | 30,9                         | 26,9 | 24,3  | 21,9 - 21,9 - 20,4 | nee                 | 3278   |
|       | CD10   | 18     | 5-4-15     | 22622/623<br>31038 | 17/20-7-15  | 12,6                         | 19,0 | 12,7  | 11,1 - 10,0 - 6,96 | nee                 | -      |
|       | CD19   | 18     | 14-12-14   | 31043              | 17-7-15     | 17,7                         | 22,4 | 23,5  | 19,4               | ja                  | 3278   |
|       | CD22   | 09389  | 31-03-13   | 31041              | 17-7-15     | 2,16                         | 3,24 | 2,55  | 2,29               | ja                  | -      |
|       | CD24   | 16     | 01-3-13    | 31035              | 17-7-15     | 22,5                         | 21,2 | 19,1  | 22,8               | ja                  | -      |
|       | HLADR  | 27     | 10-5-13    | 31039              | 17-7-15     | 20,7                         | 13,6 | 24,2  | 19,5               | ja                  | -      |
|       | Lambda | g2063  | 28-02-15   | 31040              | 17-7-15     | 11,9                         | 24,9 | 23,5  | 19,3               | ja                  | -      |

besteld

besteld

besteld

Goedkeuring voor gebruik tot: 28/7/2015 (datum)

M-code KC met aandachtsgebied: [Handwritten Signature] 5390



# Samenvatting

- Kwaliteitsnorm NEN-EN-ISO 15189 eist dat van iedere nieuwe batch of levering de werking wordt geverifieerd.
- Kwaliteitsnorm NEN-EN-ISO 15189 eist registraties van prestaties die de continue geschiktheid voor gebruik van het reagens of verbruiksartikel bevestigen.
- Mogelijke aanpak volgens Medlon gebaseerd op NVC-aanbeveling:
  - vergelijk oud en nieuw met maximaal verschil van 30%
  - BAL-vloeistof, cellijn en ingevroren patiëntmonsters
- Mogelijke aanpak volgens Medlon voor verlopen antistoffen
  - vergelijk met 3 referentiemetingen na verlopen houdbaarheidsdatum
  - ratio tussen negatieve populatie en positieve populatie bij cellijn

# Opmerkingen tijdens discussie

- Vergelijk met vorige batch en 30% verschil accepteren brengt een risico met zich mee dat je over een langere periode wegzakt.
- Bij de controle van verlopen antistoffen zou je expliciet moeten kijken naar het uitéén vallen van samengestelde fluorochromen.

