

Ingangscontroles antistoffen FACS

Werkwijze Meander MC

C.A. Koelman
medisch immunoloog

Ervaring uit verleden (voor ISO tijdperk)

- Monoklonalen bij binnenkomst altijd getest:
 - vrijwel nooit expressieverschillen/problemen.

Richtlijnen

- [Aanbeveling: Ingangscontrole van antistoffen t.b.v. flowcytometrie.](#)

Ongoing validation

- Verificatie van de werking van de antistof gedurende de uitvoer van patiëntendiagnostiek op basis van systematische opvolging
 - is alléén toegestaan:
 - **indien er voldoende representatief patiëntenmateriaal over is** om de bepaling te kunnen herhalen indien een antistof(mix) niet aan de acceptatiecriteria blijkt te voldoen (na de analyse, maar vóór het vrijgeven van het resultaat aan de kliniek).

Ongoing validation bij een
Negatieve uitslag

- Bij een negatieve uitslag kan niet worden vastgesteld of de betreffende antistof correct heeft gewerkt; data verkregen met zo'n antistof zijn alleen acceptabel wanneer:
 1. Het resultaat van de bepaling niet enkel op deze antistof gebaseerd is;
én
 2. Er een aantoonbare systematische opvolging en periodieke beoordeling plaatsvindt van de resultaten van dit reagens ("ongoing validation"; waarbij na het evalueren van andere patiëntenmonsters, met positiviteit voor de betreffende marker, achteraf de werking van de antistof kan worden vastgesteld)

Antistoffen die gericht zijn tegen
zeldzame antigenen

- **"Ongoing validation" van zeldzame antigeenexpressie is niet bruikbaar indien de resultaten van deze antistof het klinisch handelen direct beïnvloeden:**

Voorbeeld CD1a:

- Voor analyse van een Langerhanscelhistiocytose is CD1a cruciaal voor de flowcytometrische conclusie, dus in dat geval moet de CD1a antistof voor rapportage van de data naar de kliniek geverifieerd zijn en is verificatie middels **"ongoing validation" onvoldoende.**
- CD1a is cruciaal om een common-thymocytair T-ALL te definiëren. Deze subclassificatie is echter niet klinisch relevant; in dit geval is CD1a daarom ook zonder acceptatietest te gebruiken, mits er een aantoonbare en systematische opvolging van het monoklonaal plaatsvindt. **"ongoing validation" voldoende.**

Prospectieve Risico Analyse: acceptatietesten Moabs FACS

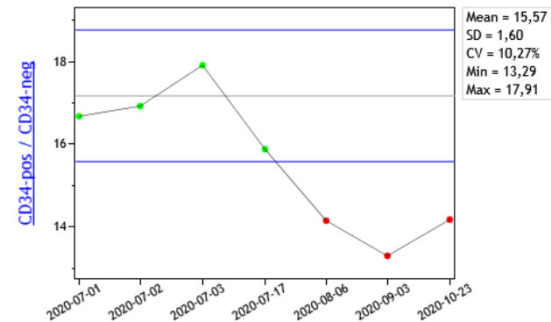
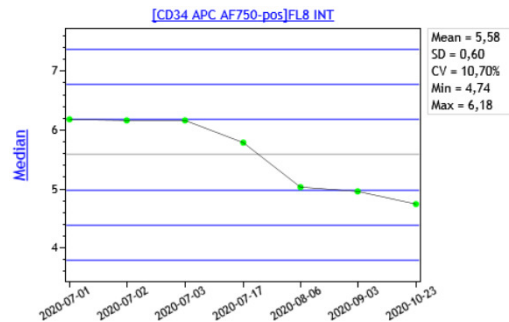
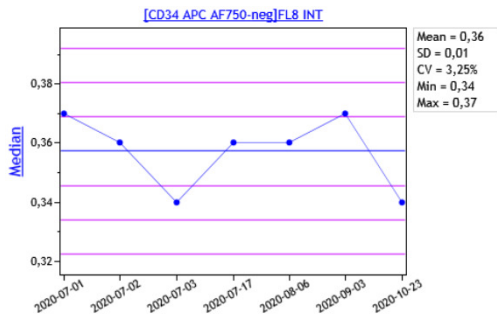
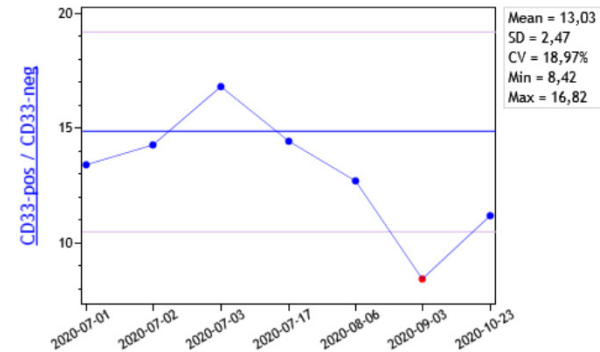
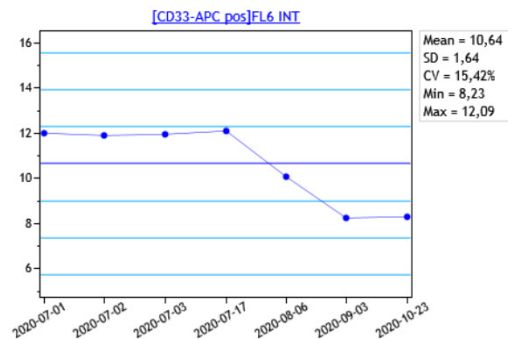
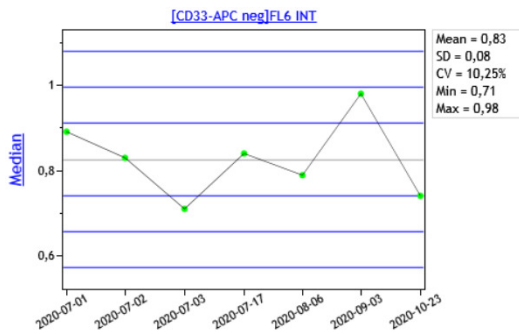
Onderdeel	Gebruikt in Mix:	Controle	Ongewenste gebeurtenis	Frequentie	Gevolg	Risico	Basisoorzaak	Accepteren, Controleren, Elimineren	Verbeteractie
1a PE	BAL histiocytose, Typ Onrijp T2	Geen controle, wel klinisch concequenties	vals negatief CD1a	<1 x per jaar	Groot	Zeer laag		Elimineren	bij iedere histiocytose vraagstelling CD1a controle meenemen
2 FITC	Screen 2, F-up AML, MRD4	ongoing validation met CD5,7,3 MRDbuis met T-cellen/lymfo's en CL-beads		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
2 PE	Niet in gebruik	ongoing validation met CD5,7,3		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
2 APC	Niet in gebruik	ongoing validation met CD5,7,3		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
3 APC	Screen 2, BAL, Subset, Cyt Cytoplasmatisch, Fup onrijp Algemeen, Typ Onrijp B 1, Fup T-ALL, Darm Biopt 2	ongoing validation met CD5,7,2		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
3 PB	Screen 1, Mastocytose, Typ Myeloid, Darm Biopt 1, Darm Biopt 2	ongoing validation met CD5,7,3		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
3 KO	Typ onrijp T2, F-up T-ALL	ongoing validation met CD5,7,4		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
3 FITC	Niet in gebruik	ongoing validation met CD5,7,4		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
4 ECD	Screen 1, BAL, Subset, Typ (Onrijp) T 1, Typ (Onrijp) T 2, Fup T-ALL, Darm Biopt 1	ongoing validation CD3,2,5,7,8		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
4 FITC	Niet in gebruik	ongoing validation CD3,2,5,7,8		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
4 PE	Niet in gebruik	ongoing validation CD3,2,5,7,8		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
4 APC	Niet in gebruik	ongoing validation CD3,2,5,7,8		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
5 FITC	F-up Onrijp Algemeen	ongoing validation met CD3,7,2		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
5 APC AF700	Screen 1, Screen 2, Typ Rijp B2, Typ Rijp B3, Sm PC1, BAL, BAL NHL, Subset, Fup CLL, Fup T-ALL	ongoing validation met CD3,7,2		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
5 PE	Niet in gebruik	ongoing validation met CD3,7,2		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
5 APC	Niet in gebruik	ongoing validation met CD3,7,2		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
7 PE	Screen 2, Fup onrijp Algemeen, Fup T-ALL, Darm Biopt1	ongoing validation met CD3,5,2		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
7 FITC	Fup AML, Darm Biopt 2, MRD1	ongoing validation met CD3,5,2 MRDbuis met T-cellen/lymfo's) en CL beads		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
8 PE	BAL, Subset	ongoing validation CD3,2,5,7,4		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
8 APC	Screen1, BAL Histiocytose, Darm Biopt 1	ongoing validation CD3,2,5,7,4		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
9 PB	Sm Cytoplasmatisch	additioneel, geen verplichte marker, ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
10 PC7	Screen 1, Typ Rijp B3, Typ Onrijp B1, Fup T-ALL	ongoing validation CD10/20 S-curve		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
10 PE	Typ Rijp B 2, Fup AML	ongoing validation CD10/20 S-curve		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
11b APC	Screen 3, MRD3	ongoing validation curves CD16/11b, MRDbuis met CL beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads
11c PC7	Typ Rijp B 1	SSC/Granulo's ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
13 PE	Screen 3, Fup AML, Typ Onrijp B1,	SSC/Granulo's ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
14 APC	PNH	ssc/FSC mono's ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
14 APC AF750	Screen 2, Sm PC 1, BAL, BAL NHL, BAL Histiocytose, Fup CLL, Fup onrijp Algemeen, Typ (Onrijp) T2	ssc/FSC mono's ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
15 PE (milty Biotec)	BAL	SSC/FSC granulo's ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
15 PB	Screen 2, SM PC1, Fup CLL, Fup onrijp Algemeen	SSC/FSC granulo's ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
16 PC7	Screen 2, BAL, Subset, Sm Cytoplasmatisch, Fup onrijp Algemeen, Fup AML, Typ (Onrijp) T 1	SSC/FSC granulo's ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
16 APC AF700	Screen 3	SSC/FSC granulo's ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
19 PB	Typ Onrijp B 1, Typ Onrijp B 2, Fup T-ALL	CD20/CD22/CD79b/FMC7/CD10 ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
19 PC5.5	Screen1, Typ Rijp B1, Typ Rijp B2, Typ Rijp B3, Sm PC1, Sm PC2, Sm PC3, BAL, BAL PC, Subset, Fup CLL	CD20/CD22/CD79b/FMC7/CD10 ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
19 PE	Niet in gebruik	CD20/CD22/CD79b/FMC7/CD10 ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
19 APC	Niet in gebruik	CD20/CD22/CD79b/FMC7/CD10 ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
20 APC AF750	Screen1, Typ Rijp B2, Typ Rijp B3, Typ Onrijp B1	CD19/CD22/CD79b/FMC7/CD10 ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			
20 FITC	Niet in gebruik	CD19/CD22/CD79b/FMC7/CD10 ongoing validation		<1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag			

Aanvullende acties naast ongoing validation

Onderdeel	Gebruikt in Mix:	Controle	Ongewenste gebeurtenis	Frequentie	Gevolg	Risico	Basisoorz	Accepteren, Controleren, Elimineren	Verbeteractie
1a PE	BAL histiocytose, Typ Onrijp T2	Geen controle, wel klinisch consequenties	vals negatief CD1a	< 1 x per jaar	Groot	Zeer laag		Elimineren	bij iedere histiocytose vraagstelling CD1a controle meenemen
11b APC	Screen 3, MRD3	ongoing validation curves CD16/13/11b, MRDbuis met CL beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	< 1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads
103 PE	Typ Rijp B1	BAL wel mucosale cellen / HCL fenotype	CD 103 vals negatief voor HCL leukemie	< 1 x per jaar	Matig	Zeer laag			Nieuw lotnummer controleren bij BAL
HLA-DR ECD	MRD 1,2,3,4	B-cel fenotype, blasten fenotype ongoing validation en CL-beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	< 1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads
117 PC7	MRD 1,2,3,4	blasten fenotype ongoing validation en CL-beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	< 1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads
33 APC	MRD 1,4	SSC/FSC granulo's ongoing validation en CL-beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	< 1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads
34 APC AF750	MRD 1,2,3,4	Zwak CD45 / blasten fenotype ongoing validation en CL-beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	< 1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads
13 horizon (PB kanaal)	MRD 1,2,3,4	SSC/Granulo's ongoing validation en CL-beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	< 1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads
15 FITC	MRD 2	SSC/FSC granulo's ongoing validation en CL-beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	< 1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads
14 PE	MRD 3	SSC/FSC mono's ongoing validation en CL-beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	< 1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads
133 PE	MRD 4	blasten fenotype, ongoing validation en CL-beads	Verschil in expressie afhankelijk van de mix	< 1 x per jaar	Beperkt	Zeer laag		Controleren	MRDmix controleren met CL-beads

MRD: ClearLLab beads (compensatiebeads):

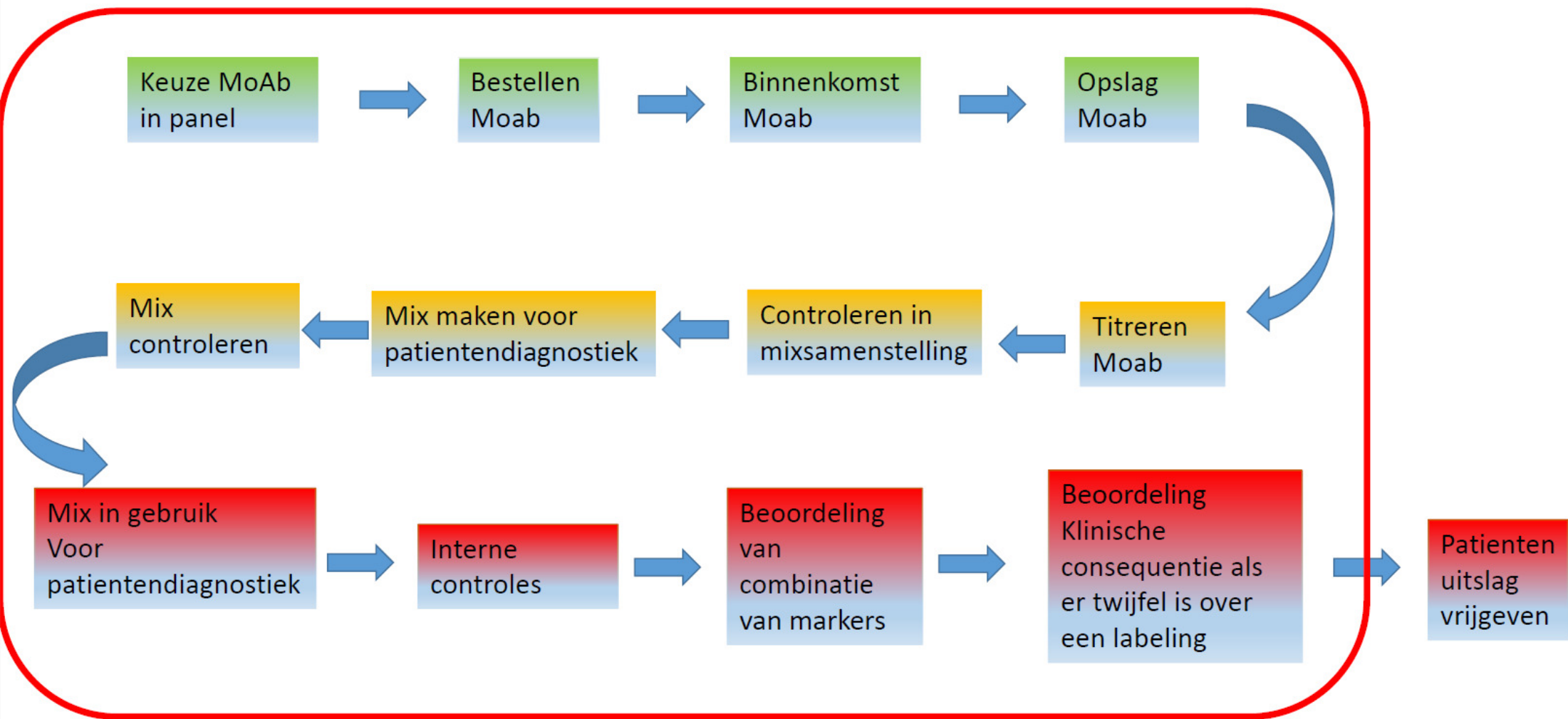
alle Ab's in mix binden aan bead; controle op expressie, niet op specificiteit



Nog zoekende
naar zinvolle
afkapgrenzen

Ongoing validation

Datum	MC	Omschrijving probleem	ondernomen acties	evaluatie	vervolg actie?	datum afronding	afronding: MC
26-11-2019	CK	FS INT/FS PEAK bij PB (bij BAL) ziet er niet goed uit. Dubbele wolken. Analyse laat wel dezelfde resultaten zien. Is de vloeistofstroom in de flowcel wel goed?	PB opnieuw meten. Zelfde resultaat? Evt opnieuw inzetten? Meerdere patiënten nakijken. Is er een structureel probleem? Document gemaakt voor overzicht patiënten.	21-1-2020 komt Coulter er naar kijken 22-1-2020 Signaal blauwe laser werd niet goed tegen gehouden waardoor er te veel signaal op de FSC detector viel. Aangepast door de firma. FS INT/FS PEAK nu weer goed.	Nee	25-01-2020	CK
08-01-2020	RL	FMC7 lijkt het niet te doen. Is 2e patient al.	Met een opgewerkt bloedje de mix ingezet en 10 ul FMC7 extra toegevoegd en ook met een nieuw lotnummer mix plus 10 ul extra. Dit geeft geen verandering in expressie. (expressie is redelijk (op 10-1). Ook los FMC7/CD19/CD45 ingezet met nieuw en oud lotnummer van FMC7 geeft ook geen verbetering. Dus de mix is goed. Zie Kaluza Beheerder/validatie/validatie Navios EX/ Controle FMC7	Geen structureel probleem.	Nee	17-01-2020	CK
31-03-2020	CK	CD5-AF700 in screen 2 lijkt de laatste weken te vaak positief. Nu ook weer. Is dit het gevolg van onderhoud FACS door Coulter 21-1-2020 of alignment FACS 3-3-2020???	Extra ingezet met CD5 FITC en weinig moabs. Is er spill over van CD19 PC5.5. en CD22 5.5? Het lijkt niet logisch dat dit van CD8-APC afkomstig is. Resultaat 20200402: Er is inderdaad lichte spill over in AF700 bij patiënt. Plaatjes screen 2 CD5/CD19 opzoeken van december en van februari. Deze vergelijken. Is doorstraling van CD5 toegenomen bij normale B-cellen? Hooguit een beetje (zie P-schijf Projecten), maar in dec (vorige mix ook al hogere CD5). KH zal daarom kijken of er met achteraf ietsje extra compenseren verbetering gegenereerd kan worden. 20200507 is besloten de compensatie van FL4 naar FL7 (PC5.5 naar APC-AF700 van 29 te verhogen naar 35 bij screen 1 en 2. Zie Sharepoint Ong. Validation 2020 "CD5 APC AF700 doorstraling scr1 en scr2" en logboek.	Spill over FL4 naar FL7 in screen 1 en 2 is niet helemaal weg te krijgen maar wel iets geoptimaliseerd per 13-5-2020.	Nee	13-05-2020	CK
16-06-2020	ED	12-6-2020: CytMPO doet het niet bij de granulocyten. Ook niet bij herhaling.	andere patiënten teruggezocht: 10-6: granulo nog OK, 11-6 geen interne controle granuloanwezig: NTB, 2-6-20: granulo nog OK. Cyt MPO zit in een mix die op 11-6-2020 in gebruik is genomen (de mix is dus net 1 dag in gebruik). Is de mix wel goed?	17-6-2020 wordt een cyt labeling meegenomen bij een beenmerg om MPO-Moab in de mix te controleren: 22289628: granulocyten laten hierbij een mooie expressie zien. Mix is dus goed. Is dus blijkbaar een patientspecifieke (afwijkende) expressie.	Nee	17-06-2020	CK
11-09-2020	CK	TypB3: CD79b is negatief terwijl je pos verwacht.	CD79b los erbij gepipetteerd: POS. 20200911 SH gevraagd hier naar te kijken.	er is net een nieuwe mix gemaakt. Er is 1 andere patient mee getest, maar hierbij is K, L, FMC7 en CD20 neg. Besloten deze klier niet te hertesten omdat de conclusie niet verandert. Cd79b is aan de mix toegevoegd. Er is een VIM gemaakt door RL.	Nee	15-09-2020	CK
11-09-2020	MA	PC1: CD14 is pos op de B-cellen	3 patiënten daarna gecontroleerd: Deze zien er allemaal goed uit. Blijkbaar patient specifiek probleem.	(b)lijkt patientspecifiek probleem.	Nee	16-09-2020	CK



Ongoing validation controleert de hele keten!