Modifizierung des bestehenden DTT-Reagenzes zur Verwendung für Antikörper-Abklärung bei Patienten:innen unter Daratumumb-Therapie

Luxsiga Somasundaram, BMA 21-24

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

SRK Blutspendedienst Aargau – Solothurn, Immunhämatologie

1. Zusammenfassung

Die Diplomarbeit untersucht die Modifizierung eines Dithiothreitol (DTT)-Reagenzes, um Antikörpertests bei Patienten und Patientinnen unter Daratumumab-Therapie zu verbessern. Daratumumab, ein Anti-CD38-Antikörper zur Behandlung von Multiplem Myelom, stört Antikörpertests, da es an CD38 auf Erythrozyten bindet und falsche positive Ergebnisse verursacht. Die DTT-Methode denaturiert CD38 auf Testzellen, kann aber auch klinisch relevante Antigene (Kell, Lutheran, Duffy) zerstören, was die Blutkompatibilitätsprüfung erschwert. Die modifizierte Methode schützt die Duffy-Antigene, wodurch die Transfusionsprüfung effizienter und sicherer wird. Die Arbeit zeigt, dass durch gezielte Anpassungen Laborprozesse optimiert werden können.

2. Einleitung

Das Labor des SRK Blutspendedienstes Aargau-Solothurn nutzt die DTT-Methode für Antikörpertests bei Patienten mit multiplem Myelom. Der monoklonale Antikörper Daratumumab (**Dara**) bindet an CD38 auf Myelomzellen und beeinträchtigt Erythrozyten, was zu fehlerhaften Testergebnissen führen kann. Um dies zu vermeiden, wird CD38 auf Erythrozyten mithilfe von Dithiothreitol (**DTT**) denaturiert. Dies kann jedoch auch andere wichtige Antigene wie Kell, Lutheran und Duffy schädigen, was die Bluttransfusionskompatibilität erschwert. Da Daratumumab mehrere Monate im Blut verbleibt, ist die Verwendung eines modifizierten DTT-Reagenzes, das Duffy-Antigene schont, entscheidend. Nach Abstimmung mit dem Blutspendedienst SRK Zürich wird diese verbesserte DTT-Methode nun im SRK Blutspendedienst Aargau-Solothurn implementiert, um die Kompatibilitätsprüfung für Patienten unter Daratumumab-Therapie zu erleichtern. [1] [2] [3]

3. Ziele und Fragestellungen

<u>Ziel:</u>

- Das modzfizierte DTT-Reagenz in die Routine einführen, um die Berücksichtigung der Antigene insbesondere die Duffy-Antigene bei einer Transfusion zu minimieren.

<u>Fragestellungen</u>

1. Verbleiben die Duffy-Antigene bis zum Verfall der Testzellen intakt?
2. Ist es möglich, die (Neu)Alloantikörper Fya/Fyb bei Dara-Patienten und Patientinnen nachzuweisen, selbst wenn sie schwach vorhanden sind?
3. Sind die Testzellen, welche einer Behandlung mit dem mod. DTT-Reagenz unterzogen wurden, in ihrer Haltbarkeit gleichwertig zu den bisher mit DTT behandelten Testzellen?
4. Sind die Kosten und der Aufwand für die Vorbereitung des DTT-Reagenzes und die Behandlung der Testerythrozyten im Vergleich zur bisher verwendeten DTT-Methode angemessen?

4. Material, Methodik, Vorgehen

Die Stichprobe umfasst Serumproben von Patienten mit Daratumumab ohne Allo- oder Autoantikörper. Um schwach vorhandene Anti-Fya- und Anti-Fyb-Alloantikörper nachzuweisen, wurden die Proben mit Antikörperseren ergänzt und eine Titration durchgeführt. Vier Testzellen (2, 3, 8, 13) wurden doppelt ausgewählt, um bei zwei DTT-Konzentrationen genügend Material sicherzustellen. Diese Testzellen decken alle relevanten Antigene ab und wurden vor der DTT-Behandlung überprüft. Es wurden DTT-Konzentrationen von 0,02 M für ID-System und 0,2 M in PBS bei pH 7,2 für das Röhrchensystem verwendet. Die Antigenkonstellation der Testzellen wurde vor und nach der DTT-Behandlung dokumentiert. Ein wöchentlicher Antikörpersuchtest zur Nachweisung der Anti-Fya- und Anti-Fyb-Alloantikörper fand über 28 Tage statt.

5. Ergebnisse/ Resultate

Tabelle 1: Antigenbestimmung der Testzellen nach DTT-Behandlung, Antigen Fya & Fyb sind rot markiert (Somasundaram,2024a)

Tag	Testzellen	Antigene																
		D	C	E	c	e	Cw	Fya	Fyb	Jka	Jkb	Lea	Leb	P1	M	N	S	s	ctl
1	2	4+	4+	-	-	4+	4+	-	2+	3+	-	-	4+	3+	4+	-	-	3+	i.o
	3	4+	-	4+	4+	-	-	-	2+	-	3+	-	3+	3+	4+	3+	3+	2+	i.o
	8	-	-	-	4+	4+	-	2+	-	3+	3+	3+	-	-	-	4+	2+	2+	i.o
	13	-	-	-	4+	4+	-	2+	-	4+	4+	-	3+	-	4+	-	2+	-	i.o
7	2		4+	-	-	4+	4+	-	1+	3+	-	-	4+	3+	4+	-	-	2+	i.o
	3		-	4+	4+	-	-	-	2+	-	3+	-	3+	3+	4+	3+	3+	2+	i.o
	8		-	-	4+	4+	-	2+	-	3+	3+	3+	-	-	-	3+	2+	2+	i.o
	13		-	-	4+	4+	-	2+	-	4+	3+	-	3+	-	4+	-	2+	-	i.o
14	2						4+	-	1+	3+	-	-	3+	3+	4+	-	-	2+	i.o
	3						-	-	1+	-	3+	-	3+	3+	4+	2+	2+	2+	i.o
	8						-	2+	-	3+	3+	2+	-	-	-	3+	2+	2+	i.o
	13						-	2+	-	3+	3+	-	3+	-	4+	-	2+	-	i.o
28	2						3+	-	+/-	2+	-	-	3+	3+	3+	-	-	2+	i.o
	3						-	-	1+	-	3+	-	3+	3+	3+	2+	2+	2+	i.o
	8																		
	13						-	2+	-	3+	3+	-	3+	-	3+	-	2+	-	i.o

Tabelle 2: Reaktionen von Anti-Fya und Anti-Fyb im ID-System (Somasundaram,2024b)

Tag	Dara-Pat. + Anti-Fya/Fyb	Testzelle			
		2 (Fyb)	3 (Fyb)	8 (Fya)	13 (Fya)
1	24030438 + Anti-Fya	-	-	+/-	1+
	24030380 + Anti-Fya	-	-	+/-	1+
	24030843 + Anti-Fyb	+/-	+/-	-	-
	24030573 + Anti-Fyb	+/-	+/-	-	-
7	24030438 + Anti-Fya	-	-	+/-	1+
	24030380 + Anti-Fya	-	-	+/-	1+
	24030843 + Anti-Fyb	-	+/-	-	-
	24030573 + Anti-Fyb	-	+/-	-	-
14	24030438 + Anti-Fya	-	-	+/-	1+
	24030380 + Anti-Fya	-	-	+/-	1+
	24040747 + Anti-Fyb	-	-	-	-
	24040606 + Anti-Fyb	-	-	-	-
21	24041068 + Anti-Fya	-	-	1+	1+
	24041068 + Anti-Fyb	+/-	1+	-	-
28	24041266 + Anti-Fya	-	-		+/-
	24041266 + Anti-Fyb	-	+/-		-

6. Diskussion/Schlussfolgerung

Die Duffy-Antigene (Fya/Fyb) blieben bis zum 28. Tag intakt, mit leichter Intensitätsabnahme bei Fyb (Tabelle 1). Nach der modifizierten DTT-Behandlung wurden schwach Anti-Fya-Antikörper nachgewiesen, während die Ergebnisse für Anti-Fyb unklar blieben (Tabelle 2). Testzellen mit DTT 0,02 M waren über 28 Tage stabil. Das modifizierte DTT-Reagenz war einfacher handhabbar, jedoch teurer in geringeren Mengen. Eine Kostenanalyse für größere Mengen steht noch aus. Aufgrund von Materialmangel konnte die Behandlung mit DTT 0,2 M nicht bewertet werden. Das immunhämatologische Labor des Blutspendedienstes Aargau-Solothurn muss entscheiden, ob weitere Untersuchungen zur Einführung der Methode in die Routine nötig sind. Das fragliche Resultat des Anti-Fyb-Antikörpers sollte mit einem anderen Verfahren, beispielsweise einem Patientenserum mit echtem Anti-Fyb-Alloantikörper, überprüft werden.

Referenzen

[1] Andreas Grossmann. (o. J.). *Multiples Myelom*. /

[2] Dr. Neubeck Monika. (2016). *Daratumumab*.

[3] Corinna.Schroller. (2020, Juni 4). DL-Dithiothreitol

Tabellen

Tabelle 1: Antigenbestimmung der Testzellen (Somasundaram, 2024a)
Tabelle 2: Reaktion von Anti-Fya und Anti-Fyb im ID-System (Somasundaram, 2024b)