

## ‘Mixed field’ reacties in de automatische bloedgroepbepaling

K.C.J. BROEN, R.J.M.H.E. STRAAT, R.M.J. HENDRIKS\*, E.A.M. BECKERS en Y.M.C. HENSKENS

**Tijdens het routinematig inzetten van bloedgroep bepalingen werd een verhoogd aantal ‘mixed field’ (MF) reacties gezien. Hiervoor was geen biologische verklaring en er werd gedacht aan een verminderde gevoeligheid van het gebruikte monoklonaal in het bloedgroepen ID-kaartje. Er werd een verificatie uitgevoerd middels bloedgroepbepaling in buisjes met monoklonale antistoffen en automatische bloedgroepbepalingen op de IH1000 (BioRad) en de AutoVue (Ortho Diagnostic Systems). Hiermee werd uitgesloten dat de MF-reacties het gevolg waren van een reagentia probleem. Wel bleek dat de camera van de IH1000 bloedgroepenautomaat waarop de analyses waren uitgevoerd, gevoeliger was afgesteld. Hierdoor waren meer MF-reacties gerapporteerd. Wij stellen hier een algoritme voor om op een veilige manier tot de juiste uitslag te komen bij dit type MF-reactie.**

*Trefwoorden: Bloedgroepbepaling, mixed field, verificatie*

De CBO-richtlijn Bloedtransfusie stelt dat voorafgaande aan een transfusie een compatibiliteitsonderzoek moet plaatsvinden waarin onder andere een ABO/Rhesus-D bloedgroepbepaling wordt uitgevoerd (1). Indien het een patiënt betreft met een onbekende bloedgroep moet deze twee keer worden vastgesteld uit twee onafhankelijk afgenomen bloedmonsters. Bij het uitvoeren van de volledige, bloedgroep, worden de A, B en D antigenen met monoklonale antistoffen bepaald op de erythrocyten van de patiënt (“de voorkant”). Daarnaast wordt ook getest op de aanwezigheid van antistoffen tegen bloedgroepen A en B in het plasma van de patiënt (“de achterkant”). De antigenen dienen in overeenstemming te zijn met de aanwezige antistoffen. Indien tweemaal de volledige bloedgroep is bepaald, kan men vervolgens volstaan met een controle op de bloedgroep, waarbij alleen de ‘voorkant’ van de bepaling kan worden uitgevoerd. De bepaling kan worden uitgevoerd met diverse bloedgroepenkaartjes en bloedgroepautomaten, daarnaast kunnen deze bepalingen ook handmatig worden ingezet m.b.v. de zogenaamde “buisjesmethode”.

---

*Maastricht Universitair Medisch Centrum,  
Centraal diagnostisch laboratorium, Maastricht  
Klinisch chemisch en hematologisch laboratorium  
Zuyderland Medisch Centrum, Sittard\*  
Corresponderend auteur: mw. dr. K.C.J. Broen,  
Thans klinisch chemicus in st Anna Ziekenhuis, Geldrop*

E-mail: K.Broen@st-anna.nl

Dit artikel beschrijft de werkwijze die wij hebben gebruikt ter verklaring van een serie patiënten waarbij op het bloedtransfusie laboratorium “mixed field” reacties (MF) werden gevonden bij het uitvoeren van de bloedgroepbepaling. Naast een mogelijke klinische verklaring beschrijven wij een vergelijkend onderzoek m.b.v. (geautomatiseerde) bloedgroepenkaartjes en buisjesmethode en de invloed van de huidige, gevoelige afleesapparatuur op de interpretatie hiervan.

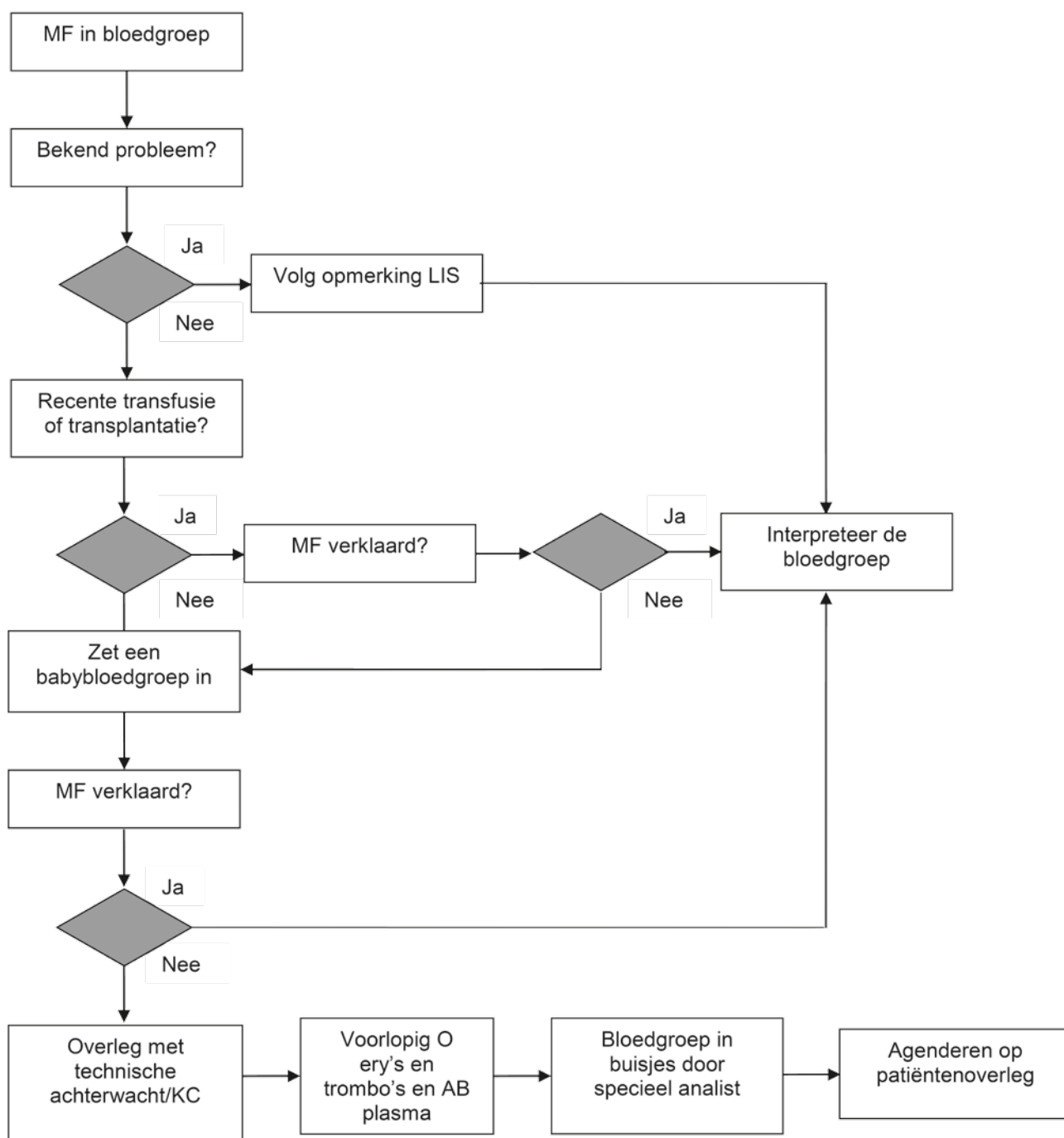
### Mixed field reacties in bloedgroepbepaling

In de november 2015 werden op het bloedtransfusielaboratorium van het Maastricht Universitair Medisch Centrum routinematig bloedgroep bepalingen ingezet op de IH1000 (BioRad) met BioRad ID-kaarten. Hierbij viel op dat het aantal bloedgroepbepalingen dat een zogenaamde “mixed field” (MF) reactie liet zien voor het A antigeen (kolom 1) erg hoog was. De standaard werkwijze bij MF-reacties in het MUMC+ is om eerst een aantal mogelijke klinische oorzaken voor de MF-reactie na te gaan. Deze werkwijze is beschreven in een stroomschema (Figuur 1). Echter de MF-reacties die gevonden werden bij deze patiënten, konden niet biologische verklaard worden en daarom zijn wij gestart met een uitgebreid onderzoek naar deze bloedgroepbevindingen. Opmerkelijk was dat deze patiënten allen bloedgroep A<sub>2</sub> of A<sub>2</sub>B hadden. Gezien de lagere hoeveelheid A antigenen op het celoppervlak bij een bloedgroep A<sub>2</sub> (160.000-440.000) in vergelijking met bloedgroep A<sub>1</sub> (800.000-900.000) (2) werd in eerste instantie gedacht aan een verminderde gevoeligheid van de monoklonaal anti-A in de, op dat moment gebruikte batch bloedgroepen ID-kaartjes.

Om een reagentia probleem uit te sluiten werd intern een verificatie uitgevoerd middels bloedgroepbepaling in buisjes met monoklonale antistoffen (Sanquin Diagnostics) en, bij een ander laboratorium, m.b.v. de AutoVue (Ortho Diagnostic Systems) met Ortho bloedgroepenkaartjes. Wij kozen hiervoor twee patiënten die volgens hun bloedgroephistorie bloedgroep A hadden en twee patiënten met bloedgroep AB. Als controle includeerden wij een patiënt die ook een MF in de bloedgroepbepaling liet zien en die leed aan acute myeloïde leukemie (AML) wat een verklaring voor deze MF-reactie kan zijn (Tabel 1). Verlies van A-, B- en H-antigenen komt vooral voor bij patiënten met een myeloïde hematologische maligniteit (3). Figuur 2 toont het verschil tussen de MF zoals deze te zien is bij een mogelijk technisch probleem (A) en zoals deze te zien is wanneer het een kloon erythrocyten betreft die het antigeen niet heeft (B).

Bevestiging middels een andere bloedgroepenauto-  
maat en manuele buisjes methode liet dezelfde resul-  
taten zien bij visuele inspectie van de reacties in de  
bloedgroepenkaartjes en buisjes (Tabel 2). Er was  
echter wel een verschil in geautomatiseerde interpre-  
tatie d.m.v. de afleesapparatuur tussen de IH1000 en  
AutoVue bloedgroepenautomaat. De IH1000 interpre-  
teerde de eerste kolom van de bloedgroepenkaartjes  
als een MF of als 2+ reactie. De controle patiënt werd  
ook als MF beoordeeld. De AutoVue beoordeelde de  
eerste kolom van elke bepaling als 4+ m.u.v. de  
controle (MF=mixed field). Deze resultaten zouden  
normaliter geen verdere visuele beoordeling of  
controle vergen volgens de geldende procedure.

Wanneer de reacties in AutoVue kaartjes toch visueel  
beoordeeld werden was ook hier een kleine populatie  
cellen zichtbaar die niet geagglutineerd was bij de  
patiënten die met BioRad kaartjes een MF gaven.  
Deze werd echter niet door de analyzer gerapporteerd  
(Figuur 3). Op basis van deze bevindingen werd uitge-  
sloten dat de beschreven MF-reacties het gevolg waren  
van een probleem met onze reagentia of techniek.  
De MF-reacties zijn immers met verschillende  
reagentia en in verschillende technieken zichtbaar. Wij  
zien hier echter wel een relatie met het zwakker  
reageren van de verschillende reagentia met A<sub>2</sub> anti-  
genen dan met A<sub>1</sub> antigenen.



**Figuur 1.** Stroomschema ‘werkwijze MF-reactie in bloedgroepbepaling’

**Tabel 1.** Uitslag bloedgroepbepaling Diamed, buisjesbepaling met monoklonale antistoffen en voorlopige interpretatie

Patiënt	Diamed anti-A	monoklonaal anti-A	monoklonaal anti-AB	Historische bloedgroep
I	MF	4+	4+*	AB
II	2+	4+	4+*	AB
III	MF	MF	4+	A
IV	2+	MF	4+	A
controle	MF	MF	MF	

\* Te verklaren door aanwezigheid B-antigenen.

**Tabel 2.** Uitslag bloedgroepbepaling Diamed versus Ortho

Patiënt	Diamed anti-A	Ortho anti-A
I	MF	4+
II	2+	4+
III	MF	4+
IV	2+	4+
controle	MF	MF

In de volgende stap werd onderzocht welke routing de betreffende monsters binnen ons laboratorium hadden doorlopen. De bloedgroep bepalingen waren allemaal uitgevoerd op dezelfde analyzer (het MUMC bloedtransfusielaboratorium beschikt over twee IH1000 automaten). Wanneer dezelfde patiëntenmonsters op de andere IH1000 werden gemeten, werden de MF niet gerapporteerd door de analyzer. De controlepatiënt, met een MF-populatie ten gevolge van zijn ziekte, werden op beide IH1000 terecht als MF-reactie gerapporteerd.

Hieruit concluderen wij dat wanneer een A<sub>2</sub> of A<sub>2</sub>B bloedgroep gemeten wordt, niet alle erythrocyten reageren met het monoklonaal in de kolom en er een zogenaamde mixed field reactie ontstaat. Deze wordt gerapporteerd als MF door de bloedgroepenautomaat indien de detectieapparatuur (camera met Tamron 23FM16SP lens, met IDS UI-1462LE-C CCD module) zeer gevoelig staat afgesteld. Op deze manier leidt variatie in technische instellingen tot interpretatie discrepanties tussen analyzers en methoden.

### Beschouwing

Een MF-reactie in de bloedgroep bepaling wil zeggen dat een deel van de erythrocyten geagglutineerd is terwijl de overige erythrocyten dat niet zijn. Een van de mogelijke oorzaken van een MF-reactie is een A<sub>2</sub> bloedgroep. Ongeveer 80% van de mensen met bloedgroep A heeft het fenotype A<sub>1</sub> en ongeveer 20% heeft fenotype A<sub>2</sub>. De overige subgroepen van A worden slechts zeer sporadisch gevonden. De verdeling van de bloedgroepen A<sub>1</sub>B en A<sub>2</sub>B is vergelijkbaar met de bloedgroepen A<sub>1</sub> en A<sub>2</sub> (4). Andere mogelijke oorzaken van een MF-reactie zijn een recente bloedtransfusie (<3 maanden), stamceltransplantatie, chimerisme, een substantiële foetomaternale transfusie of antigeenverlies ten gevolge van leukemie (5). Daarnaast kunnen specifieke koude (auto)antistoffen of antistoffen tegen Xg(a) of Sd(a) MF-reacties geven (6).

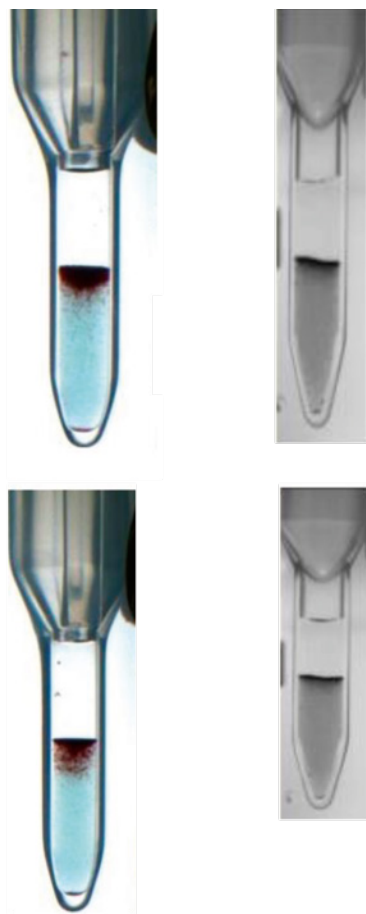


**Figuur 2.** MF-reactie afgelezen door IH1000 met DiaMed bloedgroepenkaartje. A toont de MF-reactie veroorzaakt in de anti-A kolom door een mogelijk technisch probleem en B zoals deze te zien is wanneer het gaat om een kloon erythrocyten die het A-antigeen niet hebben.

Ten slotte zijn er de subgroepen van de bloedgroep A als oorzaak van MF-reacties.

Hoewel het hier alleen A<sub>2</sub> of A<sub>2</sub>B bloedgroepen betrof was de bepaling hiervan, bij deze patiënten, tot het moment van dit voorval nooit eerder een probleem. De andere biologische oorzaken konden worden uitgesloten. Door de sterk verbeterde hardware (camera's) in de nieuwste analyzers werden wij met een nieuw fenomeen geconfronteerd. Na het uitsluiten van een afwijking in de door ons gebruikte reagentia en methode hebben wij een strategie ontwikkeld om deze nieuwe problemen het hoofd te bieden. In 1974 beschreven Cartron et al een relatieve agglutineerbaarheid van bloedgroep A-fenotypen. Hierin stelden ze de subgroep A<sub>1</sub> op 100% en werd bepaald dat subgroep A<sub>2</sub> 96% (±2%) agglutineerde (2). De lagere agglutineerbaarheid is een mogelijke verklaring voor de gevonden afwijkingen in de bloedgroep bepaling. De A<sub>2</sub> patiënten met weinig A-antigenen op de erythrocyten reageren minder goed met de standaard reagentia en de nauwelijks visueel waarneembare MF-reactie die dit tot gevolg heeft wordt gedetecteerd door de gevoelige nieuwe apparatuur.

Ter controle van de MF-reacties gebruikten wij o.a. een buisjesmethode. Het aflezen van de buisjesmethode is moeilijk te standaardiseren. Daarnaast vergt het beoordelen van MF-reacties in buisjes veel ervaring van de analist. Hierdoor is deze techniek minder geschikt om dubbele populaties te herkennen in een routine setting. Omdat een uniforme afstelling van de camera's van beide analyzers niet mogelijk is hebben wij gekozen om een algoritme op te stellen voor dit type reactie. Indien er geen recente transfusie is geweest zal getest worden of de patiënt bloedgroep A<sub>2</sub> of A<sub>2</sub>B heeft. Deze informatie kan vervolgens gerapporteerd worden in het laboratorium informatiesysteem. Indien een A<sub>2</sub> of A<sub>2</sub>B bloedgroep niet de oorzaak is van de MF-reactie wordt er, buiten kantooruren, geen bloedgroep ingevoerd voor de betreffende



**Figuur 3.** Twee voorbeelden van MF-reacties beoordeeld door de IH1000 (linkerzijde) of de AutoVue (rechterzijde). Alleen de anti-A kolom wordt getoond.

patiënt. Hierdoor kunnen deze patiënten alleen maar O erythrocyten en trombocyten of AB plasma ontvangen. Vervolgens kan, de volgende werkdag, een gespecialiseerd transfusie analist, eventueel in samenwerking met klinisch chemicus of hematoloog, nagaan of er een biologische oorzaak is voor de MF-reactie of besluiten om uitgebreider onderzoek in te zetten.

### Conclusie

Tijdens routine bloedgroepbepalingen vonden wij een toename van MF-reacties. Deze werd verklaard door een combinatie van A<sub>2</sub> of A<sub>2</sub>B bloedgroepen met extreem gevoelig afgestelde afleesapparatuur van de IH-1000 bloedgroepenautomaat.

### Referenties

1. Richtlijn Bloedtransfusie 2011. Kwaliteitsinstituut voor de Gezondheidszorg CBO.
2. Cartron JP, Gerbal A, Hughes-Jones NC, Salmon C. 'Weak A' phenotypes. Relationship between red cell agglutinability and antigen site density. *Immunology*. 1974; 27: 723-727.
3. Bianco T, Farmer BJ, Sage RE, Dobrovic A. Loss of red cell A, B, and H antigens is frequent in myloid malignancies. *Blood*. 2001; 97: 3633-3639.
4. Overbeeke MAM, Vreeswijk NJ, Ligthart PC, Meulenbroek AJ. Erythrocytenserologie. 2011 Stichting Sanquin Bloedvoorziening.
5. Russcher H, Ligthart PC, van Hulst-Sundermeijer AME, de Haas M, de Rijke Y. Alleen of toch met twee? Chimerismen in het bloedtransfusielaboratorium. *Tijdschrift voor Bloedtransfusie*. 2009; 2: 22-26.
6. Ligthart PC, van de Mark JACM, Folman CC. 'How Mixed is the field of Mixed-field reactions'. *Tijdschrift voor Bloedtransfusie*. 2013; 6: 27-29.

### Abstract

**Broen KCJ, Straat RJMHE, Hendriks RMJ, Beckers EAM, Henskens YMC. 'Mixed field' reactions in automated blood typing. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk*. 2017; 42:16-19.** During routine ABO blood typing, an increased number of 'mixed field' (MF) reactions was observed. There was no biological explanation and it was thought to be the result of reduced sensitivity of the used monoclonal in the blood group ID card. A verification was carried out using blood group determination in tubes with monoclonal antibodies and automatic blood typing on the IH1000 (BioRad) and the AutoVue (Ortho Diagnostic Systems). In this way it was excluded that the MF responses were the result of a reagent problem. However, it turned out that the camera of the blood type analyzer on which the analyzes were performed, was adjusted very sensitive. This resulted in more reported MF reactions. We propose an algorithm to obtain the right result in a safe way in this type of MF reaction.

*Keywords: Blood typing, mixed field, verification*