

Critically appraised topic: RBC-genotypering bij patiënten met warme auto-immuun hemolytische anemie

THOMAS PILATE

20-03-2018

PROMOTOR: DR. ELENA LAZAROVA

Overzicht

- Inleiding
- Huidige pretransfusietechnieken bij WAIHA
- RBC-fenotypering
- RBC-genotypering
- Data UZ Leuven
- Conclusies

Overzicht

- **Inleiding**
- Huidige pretransfusietechnieken bij WAIHA
- RBC-fenotypering
- RBC-genotypering
- Data UZ Leuven
- Conclusies

Inleiding

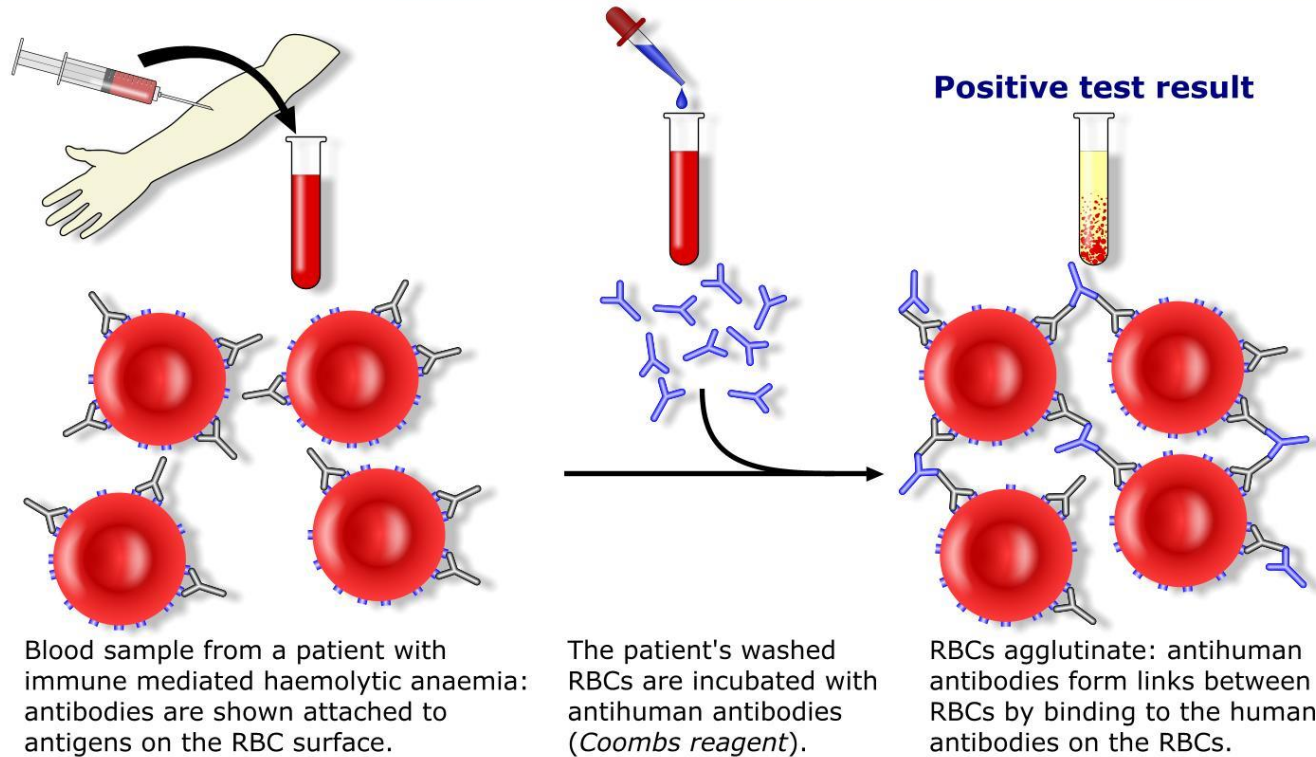
- Auto-immuun hemolytische anemie (AIHA): afbraak RBC door auto-antistoffen tegen RBC-antigenen
 - IgG antistoffen: reageren met proteïne antigenen op RBC bij lichaamstemperatuur → warme AIHA (WAIHA)
 - IgM antistoffen: reageren met polysaccharide antigenen op RBC bij lagere temperaturen → koude AIHA (KAIHA)
- Incidentie: 1-3/100.000/jaar
 - 80-90% WAIHA
- Onderliggende oorzaken WAIHA
 - Vaak idiopathisch
 - Lymfomen (11% van CLL-patiënten)
 - Virale infecties (typisch bij kinderen)
 - Systeemziekten
 - Immuundeficiënties

Inleiding

- Laboratoriumdiagnostiek bij WAIHA
 - Vaak matige tot ernstige anemie bij diagnose (Hgb 7-10 g/dL)
 - Reticulocytose
 - Indirecte bilirubinemie
 - Gestegen LDH
 - Gedaald haptoglobine
 - Sferocyten in bloeduitstrijkje
 - Positieve directe antiglobulinetest

Direct antiglobulin test

Direct Coombs test / Direct antiglobulin test



Directe antiglobulinetest

Polyspecifiek antiglobuline reagens



Anti-IgG (WAIHA)

Anti-C3d (KAIHA)

Directe antiglobulinetest

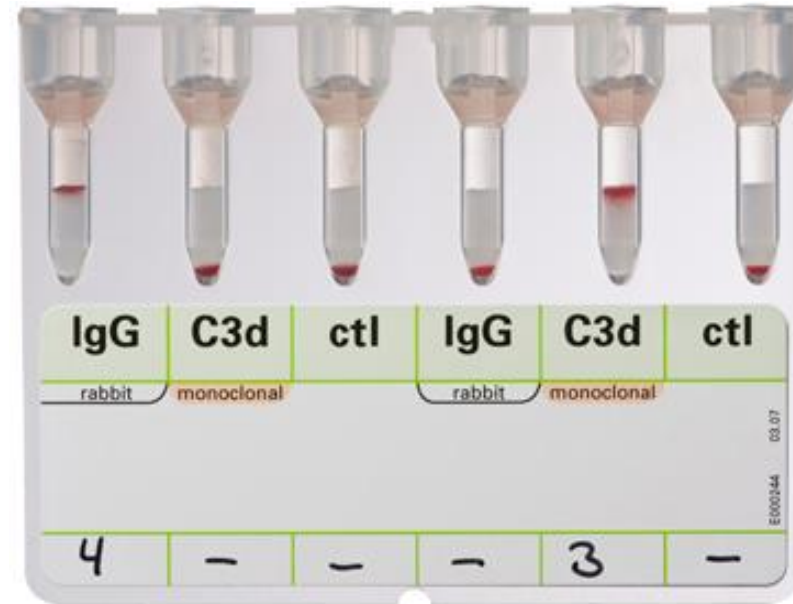
Polyspecifiek antiglobuline reagens



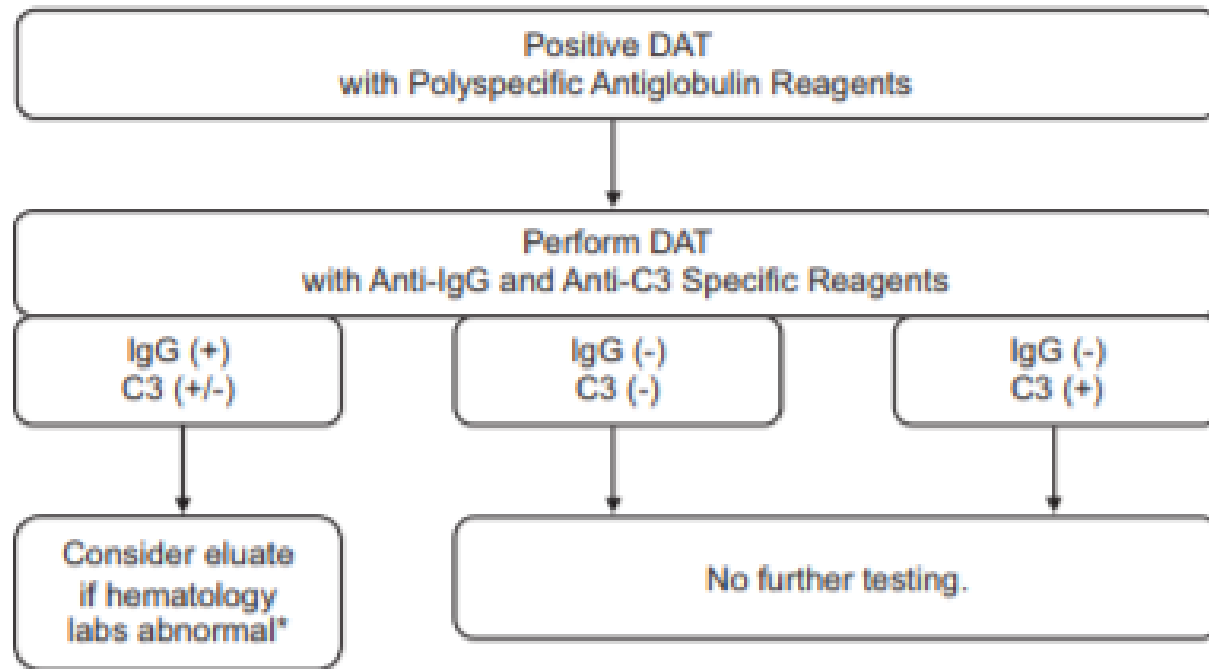
Anti-IgG (WAIHA)

Anti-C3d (KAIHA)

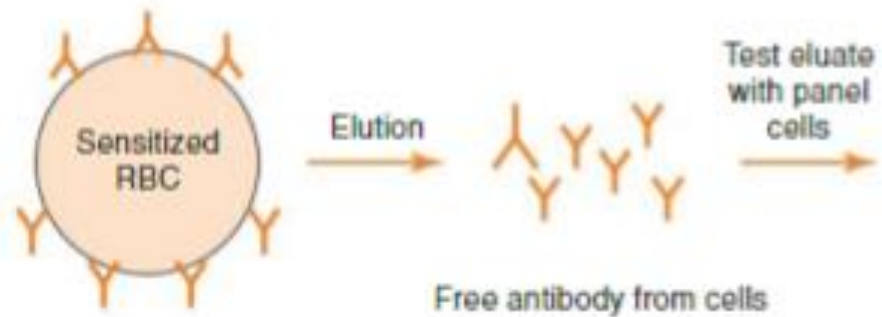
Monospecifieke reagentia



Direct antiglobulin test



Eluaat

[illegible]

Eluaat

Panel 7-10 Warm Autoantibody																											
	Rh							MNSs				P ₁	Lewis		Lutheran		Kell		Duffy		Kidd		LISS				
Cell	D	C	E	c	e	f	C ^W	M	N	S	s	P ₁	Le ^a	Le ^b	Lu ^a	Lu ^b	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	IS	37	AHG	C	
1 R1R1 (51)	+	+	0	0	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	3+	
2 R1R1 (32)	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	3+	
3 R2R2 (64)	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	3+	
4 r'r (75)	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	3+	
5 r'r (87)	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0	3+	
6 rr (98)	0	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	3+	
7 rr (76)	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0	3+	
8 rr (53)	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	3+	
9 rr (23)	0	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	0	3+	
10 R1R1 (34)	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0	3+	
Patient cells																							0	0	3+		

Warme auto-antistoffen (WAA)

- Antistoffen gewoonlijk reactief tegen antigenen van het Rhesus complex of glycoforine antigenen die aanwezig zijn bij quasi elke persoon
- Antistoffen reageren meestal met alle testpanel-RBC
- Slechts zeldzaam smalle specificiteit tegen antigenen van het Rhesus complex (bv. anti-e)
- WAA bevinden zich ook in het plasma bevinden:
 - Interferentie met kruisproef → onmogelijk om kruisproef compatibele RBC-eenheden te selecteren
 - Interferentie met indirecte antiglobulinetest → onmogelijk om onderliggende allo-antistoffen aan te tonen
- Frequent allo-antistoffen bij WAIHA patiënten

Onderliggende allo-antistoffen bij AIHA

Table 3 Prevalence of RBC alloantibodies in patients with AIHA

Author	N	Prevalence (%)	Alloantibody
Yurek et al ²⁷	36	19.4*	Anti-c, anti-E, anti-Jk ^a
Park et al ¹⁷	161	54	–
Das et al ²⁸	14	7.5	Anti-C
Yu et al ²⁹	61	29.5	–
Barros et al ³⁰	36	11.1	Anti-E, Anti-C
Das et al ³¹	23	30.4	Anti-C, Anti-E
Shirey et al ²³	20	40	Anti-D, anti-E, anti-C, anti-C ^w , anti-K, anti- Jk ^a , anti-Jk ^b
Branch et al ²⁰	647**	32	–
Leger et al ²¹	263	40	Anti-D, anti-E, anti-C, anti-c, anti-K, anti-Jk ^a , anti-Jk ^b , anti-Fy ^a
Issit et al ³²	138	43	–
Laine et al ³³	109	38	–

Notes: *8.3% were clinically significant alloantibodies; **mean of collective data from 1982 to 1999. "–" indicates no data.

Abbreviations: RBC, red blood cell; AIHA, autoimmune hemolytic anemia.

Prevalentie varieert sterk tussen de verschillende studies:
7,5 - 54%

Barros MM, Langhi Jr DM, Bordin JO. Autoimmune hemolytic anemia: transfusion challenges and solutions. International Journal of Clinical Transfusion Medicine, March 2017, Dove Medical Press.

Questions

- Hoe kunnen klinisch belangrijke allo-antistoffen worden aangetoond bij patiënten met WAIHA?
- Welke rol kan RBC-genotypering spelen in het transfusiebeleid bij WAIHA?
- In welke mate gebeurt RBC-genotypering in UZ Leuven bij patiënten met WAIHA?

Overzicht

- Inleiding
- **Huidige pretransfusietechnieken bij WAIHA**
- RBC-fenotypering
- RBC-genotypering
- Data UZ Leuven
- Conclusies

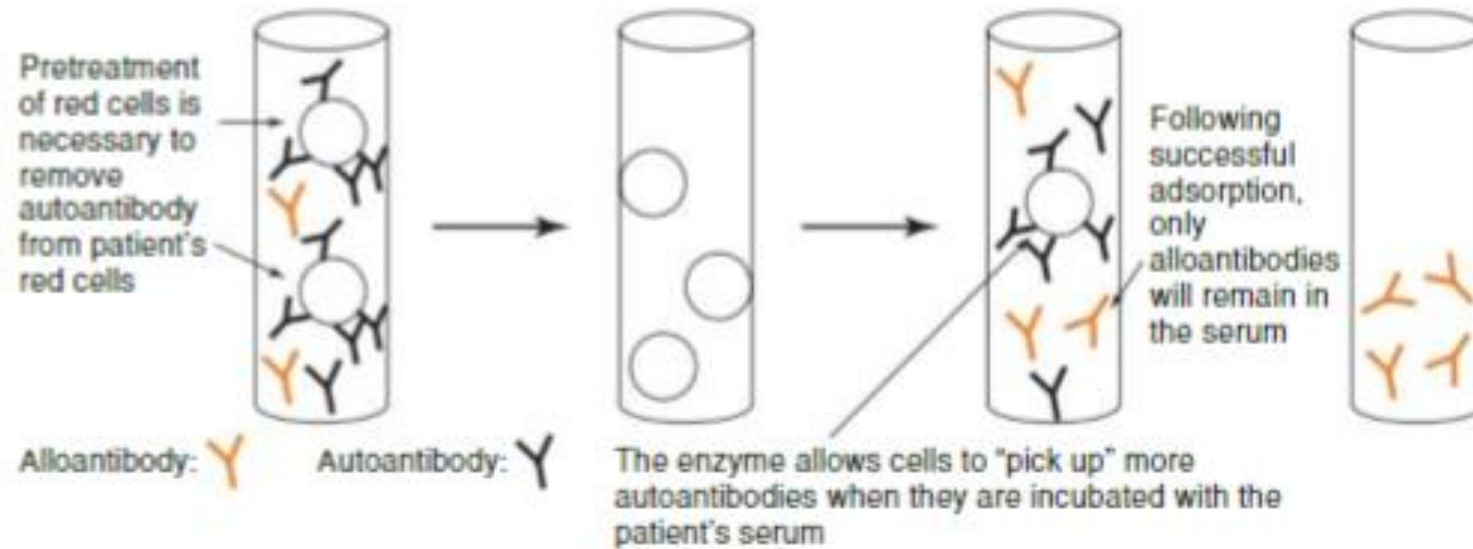
Huidige pretransfusietechnieken

- Doel pretransfusietesten: aanwezigheid van klinisch belangrijke allo-antistoffen opsporen
- Dilutietechniek
- Autologe adsorptie
- Allogene adsorptie

Autologe adsorptie

- Gouden standaard
- Plasma patiënt incuberen met RBC patiënt om zo auto-antistoffen te verwijderen
- Voorbehandeling RBC met ZZAP (mix van dithiothreitol (DTT) en papaïne)
- Adsorbaat testen met RBC testpanels voor opsporen allo-antistoffen of gebruiken in de kruisproef

Autologe adsorptie



Autologe adsorptie

- Gouden standaard
- Plasma patiënt incuberen met RBC patiënt om zo auto-antistoffen te verwijderen
- Voorbehandeling RBC met ZZAP (mix van dithiothreitol (DTT) en papaïne)
- Adsorbaat testen met RBC testpanels voor opsporen allo-antistoffen of gebruiken in de kruisproef
- Beperkingen
 - Duurt lang
 - Referentiecentrum
 - RBC-volume soms te beperkt
 - Niet bruikbaar indien recente transfusie

Allogene adsorptie

- Toegepast in UZ Leuven
- Plasma patiënt incuberen met 3 RBC-stalen met gekend fenotype om zo auto-antistoffen te verwijderen
- Geen nood aan RBC patiënt, geen interferentie door recente transfusies

Allogene adsorptie

		ABO/D	C	c	E	e	K	Jka	Jkb	Fya	Fyb	S	s
	Patiënt												
ECL 1	Unitnr: B0310 17 771925 P Vervaldatum: 13 nov 2017	O-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
ECL 2	Unitnr: B0310 17 266071 O Vervaldatum: 13 nov 2017	O+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+
ECL 3	Unitnr: B0310 17 024174 2 Vervaldatum: 13 nov 2017	O+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+

Allogene adsorptie

- Toegepast in UZ Leuven
- Plasma patiënt incuberen met 3 RBC-stalen met gekend fenotype om zo auto-antistoffen te verwijderen
- Geen nood aan RBC patiënt, geen interferentie door recente transfusies
- Beperkingen
 - Duurt lang
 - Referentiecentrum
 - Voldoende plasma/serum nodig
 - Antistoffen tegen HFA kunnen niet worden uitgesloten

Overzicht

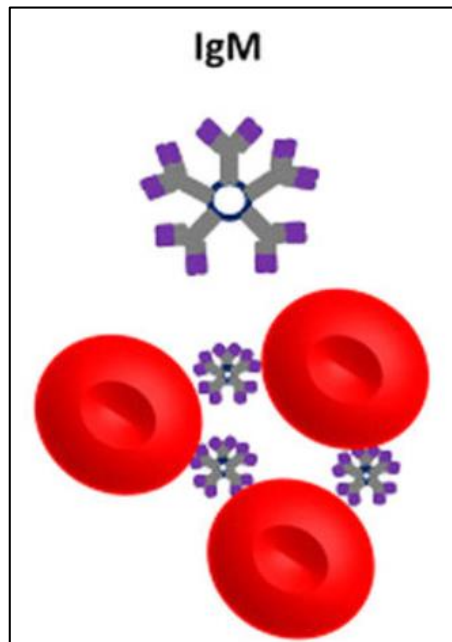
- Inleiding
- Huidige pretransfusietechnieken bij WAIHA
- **RBC-fenotypering**
- RBC-genotypering
- Data UZ Leuven
- Conclusies

RBC-fenotypering

- Uitgebreide fenotypering: C, E, c, e, K, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, S en s
- Hemagglutinatie: monoklonale antisera
- Fenotypisch gemaachte RBC-eenheden zonder noodzaak tot pretransfusietesten
- Verhinderen van ontwikkelen klinisch relevante allo-antistoffen

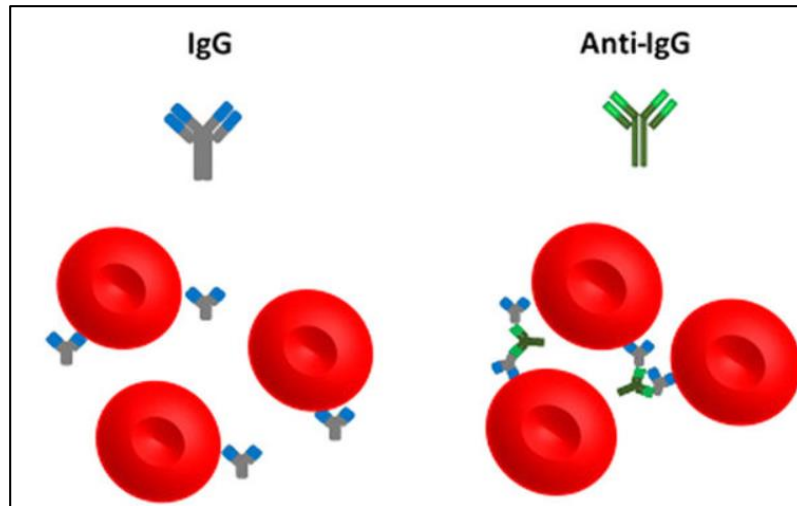
RBC-fenotypering

- Warme auto-antistoffen kunnen interfereren met RBC-fenotypering
- Meeste antisera = monoklonaal IgM: directe agglutinatie zonder AHG → geen interferentie door WAA



RBC-fenotypering

- Warme auto-antistoffen kunnen interfereren met RBC-fenotypering
- Meeste antisera = monoklonaal IgM: directe agglutinatie zonder AHG → geen interferentie door WAA
- Sommige antisera (bv. tegen Fy^a) = IgG: AHG nodig → interferentie door WAA



RBC-fenotypering

- Warme auto-antistoffen kunnen interfereren met RBC-fenotypering
- Meeste antisera = monoklonaal IgM: directe agglutinatie zonder AHG → geen interferentie door WAA
- Sommige antisera (bv. tegen Fy^a) = IgG: AHG nodig → interferentie door WAA
 - Behandeling van RBC met chloroquine difosfaat of een EDTA-glycine-HCL oplossing (bv. EGA): losmaken IgG
 - Echter bij sterke DAT (4+) vaak blijvende interferentie → bij +/- 40% is volledige fenotypering onmogelijk

RBC-fenotypering

- Warme auto-antistoffen kunnen interfereren met RBC-fenotypering
- Meeste antisera = monoklonaal IgM: directe agglutinatie zonder AHG → geen interferentie door WAA
- Sommige antisera (bv. tegen Fy^a) = IgG: AHG nodig → interferentie door WAA
 - Behandeling van RBC met chloroquine difosfaat of een EDTA-glycine-HCL oplossing (bv. EGA): losmaken IgG
 - Echter bij sterke DAT (4+) vaak blijvende interferentie → bij +/- 40% is volledige fenotypering onmogelijk
- RBC-fenotypering niet betrouwbaar bij recente transfusies

RBC-fenotypering

- Warme auto-antistoffen kunnen interfereren met RBC-fenotypering
- Meeste antisera = monoklonaal IgM: directe agglutinatie zonder AHG → geen interferentie door WAA
- Sommige antisera (bv. tegen Fy^a) = IgG: AHG nodig → interferentie door WAA
 - Behandeling van RBC met chloroquine difosfaat of een EDTA-glycine-HCL oplossing (bv. EGA): losmaken IgG
 - Echter bij sterke DAT (4+) vaak blijvende interferentie → bij +/- 40% is volledige fenotypering onmogelijk
- RBC-fenotypering niet betrouwbaar bij recente transfusies
- → RBC-genotypering?

Overzicht

- Inleiding
- Huidige pretransfusietechnieken bij WAIHA
- RBC-fenotypering
- **RBC-genotypering**
- Data UZ Leuven
- Conclusies

RBC-genotypering

- Moleculaire basis van quasi alle RBC-antigenen gekend
- Identificatie van SNP's (single nucleotide polymorphisms) die verschillen in expressie van antigenen verklaren
- Geen interferentie door auto-antistoffen
- Geen interferentie door recente transfusies
- Kleinere staalvolumes nodig
- Uit studies blijkt een zeer goede concordantie tussen resultaten RBC-fenotypering en -genotypering, behalve bij chronische transfusiepatiënten: genotypering > fenotypering

RBC-genotypering

- Stalen van UZ Leuven: geanalyseerd in HILA Mechelen
- RBC-FluoGene vERYfy kit (Inno-Train)
- PCR-SSP (sequence specific priming)
- Wells PCR-plaat gecoat met
 - gelyofiliseerde primers
 - met fluorochromen gelabelde DNA-probes
- Verschil in fluorescentie post- en pre-PCR
- Automatische berekening aan- of afwezigheid allel



FluoMix +
DNA + ddH₂O



Pre-read



PCR



Post-read
Automation analysis



RBC-genotyping

- Rhesussysteem: Rh2 (C), Rh3 (E), Rh4 (c), Rh5 (e), Rh8 (C^w)
- Kell: KEL1 (K), KEL2 (k)
- Kidd: JK1 (Jk^a), JK2 (Jk^b)
- Duffy: FY1 (Fy^a), FY2 (Fy^b), FYnull, FYX
- MNS: MNS1 (M), MNS2 (N), MNS3 (S), MNS4 (s), U+var(P2), U+var(NY)
- Dombrock: DO1 (Do^a), DO2 (Do^b)

RBC-genotypering: terugbetaling

587775 587786 "K.B. 11.9.2016" (in werking 1.11.2016)
Bepalen van andere erythrocyten antigenen dan ABO en Rh door middel van een moleculair biologische methode, minimum 14 antigenen (Maximum 1) (Diagnoseregulering 15) B 4500

"K.B. 11.9.2016" (in werking 1.11.2016)
"15. De verstrekking 587775-587786 mag alleen aangerekend worden aan de ZIV in geval van chronische transfusienood bij patiënten met auto-antistoffen, met congenitale hemolytische aandoeningen, met aplastische anemie of met allo-antistoffen na transfusie.

VI. Artikel 33 bis van de nomenclatuur (geen forfaitarisering met vermindering honoraria tot 25%)

Moleculaire biologische testen op menselijk genetisch materiaal bij verworven aandoeningen

Codenummer				Honoraria 100%	Tegemoetkoming Ambulant		Tegemoetkoming Gehospitaliseerd		
AMB		HOS			Rechthebbenden met voorkeurregeling	Rechthebbenden zonder voorkeurregeling	Rechthebbenden met voorkeurregeling	Rechthebbenden zonder voorkeurregeling	
B =	0,042584	587775	587786		B	4500	191,63	182,95	191,63

RBC-genotyping: evidentie?

RBC-genotyping: evidentie?



RBC-genotypering

Transfusion support of autoimmune hemolytic anemia: how could the blood group genotyping help?

- Studie van El Kenz uit 2014
- Inclusie van 7 WAIHA-patiënten: RBC-genotypering
- Toedienen van antigeen-gematchte RBC-eenheden zonder nood aan pretransfusietesten
- Verwachte hemoglobinesijging, geen transfusiële reacties
- Geen nieuwe allo-antistoffen ontwikkeld

El Kenz H, Efira A, Le PQ, et al. Transfusion support of autoimmune hemolytic anemia: how could the blood group genotyping help? Transl Res. 2014 Jan;163(1):36-42.

RBC-genotypering

- Zeer weinig evidentie voor het toedienen van antigeen-gematchte RBC-eenheden bij patiënten met WAA

- Petz & Garraty (auteurs 'Acquired Immune Hemolytic Anemia', 2004):

"For all patients with WAIHA who require transfusion, we strongly recommend determining the extended RBC phenotype or genotype of the patient prior to initial transfusion. If time does not allow, it is nevertheless advisable to obtain a blood specimen from the patient for subsequent typing."

- CBO richtlijnen voor bloedtransfusie, 2011:

"Ter voorkoming van allo-antistofvorming dient indien mogelijk rhesusfenotype- en K-compatibel bloed geselecteerd te worden voor patiënten met AIHA.

Bij voorkeur is matchen voor Kidd-, Duffy- en Ss-antigenen ook aangewezen (dit in volgorde van belangrijkheid) als de aanwezigheid van alloantistoffen niet kan worden uitgesloten. De antigenen van het Rhesus, Kidd en Ss zijn, indien de patiënt de laatste drie maanden niet getransfundeerd is, serologisch met monoklonale reagentia vast te stellen. Voor alle andere gevallen (antigenen in het Duffy-systeem en typering van personen die de laatste drie maanden zijn getransfundeerd) bestaat de mogelijkheid op DNA-niveau te typeren."

RBC-genotypering: bemerkingen

- RBC-genotypering lijkt een interessant alternatief voor RBC-fenotypering bij WAIHA-patiënten
- Genotypisch gemaakte RBC-eenheden toedienen → geen nood aan ingewikkelde pretransfusietesten
- Maar...

RBC-genotypering: bemerkingen

- RBC-genotypering lijkt een interessant alternatief voor RBC-fenotypering bij WAIHA-patiënten
- Genotypisch gematchte RBC-eenheden toedienen → geen nood aan ingewikkelde pretransfusietesten
- Enkel in gespecialiseerde labo's + duurt relatief lang → nieuwe diagnose van WAIHA met transfusienood → adsorptietesten blijven nodig
- Is er na diagnose van WAIHA wel nog nieuwe transfusienood wanneer therapie wordt opgestart? → RBC-genotypering niet overbodig? Kosteneffectief?
- Er moeten compatibele bloedeenheden voorhanden zijn: bij patiënten met zeldzame genotypes soms moeilijk tot onmogelijk → adsorptietesten blijven nodig

Overzicht

- Inleiding
- Huidige pretransfusietechnieken bij WAIHA
- RBC-fenotypering
- RBC-genotypering
- **Data UZ Leuven**
- Conclusies

Data UZ Leuven

- Query met de resultaten van alle DAT-analyses tussen 2013 en 2017
- Naam, leeftijd & geslacht patiënt - resultaat DAT en eventuele eluaat - of er RBC-genotypering was uitgevoerd en of er RBC-transfusies hadden plaatsgevonden
- In totaal 5477 DAT-aanvragen (4805 volwassenen en 672 kinderen)
- Bij 271/5477 stalen (4,9%) was DAT IgG+ en eluaat positief met auto-antistoffen: behoorden toe aan 188 patiënten (167 volwassenen, 21 kinderen)
 - 5 patiënten auto-antistoffen met smalle specificiteit (2x anti-e, anti-E, anti-c, anti-D)
 - 183 patiënten met auto-antistoffen met brede specificiteit

Data UZ Leuven

- 45/188 patiënten (24%) hadden eveneens allo-antistoffen in het plasma (16 patiënten: 2 of meer)

Antistof	Aantal
Anti-D	5
Anti-C	6
Anti-c	3
Anti-E	12
Anti-e	1
Anti-K	11
Anti-S	8
Anti-s	1
Anti-Jk ^a	8
Anti-Jk ^b	2
Anti-Fy ^a	4
Anti-Fy ^b	1
Anti-M	1
Anti-Le ^a	2
Anti-Kp ^a	3
Anti-C ^w	2
Anti-P1	2
Anti-Wr ^a	2
Anti-Bg ^a	1

Data UZ Leuven

- 45/188 patiënten (24%) hadden eveneens allo-antistoffen in het plasma (16 patiënten: 2 of meer)

Antistof	Aantal
Anti-D	5
Anti-C	6
Anti-c	3
Anti-E	12
Anti-e	1
Anti-K	11
Anti-S	8
Anti-s	1
Anti-Jk ^a	8
Anti-Jk ^b	2
Anti-Fy ^a	4
Anti-Fy ^b	1
Anti-M	1
Anti-Le ^a	2
Anti-Kp ^a	3
Anti-C ^w	2
Anti-P1	2
Anti-Wr ^a	2
Anti-Bg ^a	1

Table 3 Prevalence of RBC alloantibodies in patients with AIHA

Author	N	Prevalence (%)	Alloantibody
Yurek et al ²⁷	36	19.4*	Anti-c, anti-E, anti-Jk ^a
Park et al ¹⁷	161	54	—
Das et al ²⁸	14	7.5	Anti-C
Yu et al ²⁹	61	29.5	—
Barros et al ³⁰	36	11.1	Anti-E, Anti-C
Das et al ³¹	23	30.4	Anti-C, Anti-E
Shirey et al ²³	20	40	Anti-D, anti-E, anti-C, anti-C ^w , anti-K, anti- Jk ^a , anti-Jk ^b
Branch et al ²⁰	647**	32	—
Leger et al ²¹	263	40	Anti-D, anti-E, anti-C, anti-c, anti-K, anti-Jk ^a , anti-Jk ^b , anti-Fy ^a
Issit et al ³²	138	43	—
Laine et al ³³	109	38	—

Notes: *8.3% were clinically significant alloantibodies; **mean of collective data from 1982 to 1999. "—" indicates no data.

Abbreviations: RBC, red blood cell; AIHA, autoimmune hemolytic anemia.

Data UZ Leuven

- Bij 136/188 patiënten met WAA (72%) werd RBC-genotypering uitgevoerd; bij kinderen was dit (slechts) 57% (12 van de 21 patiënten)

Jaar	Genotypering uitgevoerd (%)	Genotypering niet uitgevoerd	Totaal
2013	35 (76%)	11	46
2014	23 (72%)	9	32
2015	26 (81%)	6	32
2016	33 (75%)	11	44
2017	19 (56%)	15	34

Data UZ Leuven

- Bij 94 van deze 136 patiënten met een moleculaire bepaling (69%) werden nadien RBC-eenheden toegediend

Tijdstip	Mediane hoeveelheid RBC- eenheden	Gemiddelde hoeveelheid RBC- eenheden	Minimale hoeveelheid RBC- eenheden	Maximale hoeveelheid RBC- eenheden
Voor moleculaire bepaling	8	16.5	1	75
Na moleculaire bepaling	6.5	17.0	1	191

RBC-genotypering: bemerkingen

- RBC-genotypering lijkt een interessant alternatief voor RBC-fenotypering bij WAIHA-patiënten
- Genotypisch gematchte RBC-eenheden toedienen → geen nood aan ingewikkelde pretransfusietesten
- Enkel in gespecialiseerde labo's + duurt relatief lang → nieuwe diagnose van WAIHA met transfusienood → adsorptietesten blijven nodig
- Is er na diagnose van WAIHA wel nog nieuwe transfusienood na starten van therapie?
→ RBC-genotypering niet overbodig? Kosteneffectief?
- Er moeten compatibele bloedeenheden voorhanden zijn: bij patiënten met zeldzame genotypes soms moeilijk tot onmogelijk → adsorptietesten blijven nodig

RBC-genotypering: bemerkingen

- RBC-genotypering lijkt een interessant alternatief voor RBC-fenotypering bij WAIHA-patiënten
- Genotypisch gematchte RBC-eenheden toedienen → geen nood aan ingewikkelde pretransfusietesten
- Enkel in gespecialiseerde labo's + duurt relatief lang → nieuwe diagnose van WAIHA met transfusienood → adsorptietesten blijven nodig
- Is er na diagnose van WAIHA wel nog nieuwe transfusienood na starten van therapie? **JA (69%)**
- Er moeten compatibele bloedeenheden voorhanden zijn: bij patiënten met zeldzame genotypes soms moeilijk tot onmogelijk → adsorptietesten blijven nodig

Overzicht

- Inleiding
- Huidige pretransfusietechnieken bij WAIHA
- RBC-fenotypering
- RBC-genotypering
- Data UZ Leuven
- **Conclusies**

Conclusies

- Warme auto-antistoffen interfereren met quasi alle routine pretransfusietesten én vaak ook met RBC-fenotypering
- WAIHA patiënten hebben frequent klinisch belangrijke allo-antistoffen → nood aan lange en ingewikkelde adsorptietesten
- Het toedienen van genotypisch gematchte RBC-eenheden lijkt een interessant alternatief in het transfusiebeleid van WAIHA patiënten
- Ondanks de beperkte klinische evidentie wordt deze strategie reeds frequent toegepast in UZ Leuven

