

# Alloantistoftesten en de opbrengst van trombocytentransfusies

**Auteur** M.-D. Levin

**Trefwoorden** trombocytentransfusie, alloantistoftest, trombocytopenie

## Samenvatting

Op 23 december 2004 promoveerde drs. M.-D. Levin aan de Erasmus Universiteit van Rotterdam op het promotieonderzoek getiteld 'Alloantibody Assays and the Outcome of Platelet Transfusions' onder begeleiding van promotor prof. dr. B.

Löwenberg en copromotor dr. M.B. van 't Veer. Hieronder volgt een samenvatting van de belangrijkste bevindingen en conclusies uit het proefschrift.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2005;2:158-60)

## Inleiding

Trombocytopenie is een frequent probleem bij patiënten met hematologische ziekten en wordt veroorzaakt door de hematologische ziekte, de therapie, het toegenomen verbruik van trombocyten en/of een abnormale distributie van trombocyten. Indien het trombocytenaantal daalt naar  $<10 \times 10^9$  per liter, worden profylactische trombocytentransfusies toegediend om bloedingen te voorkomen. Circa 30% van deze trombocytentransfusies zijn echter niet succesvol als gevolg van immunologische en/of niet-immunologische factoren.<sup>1</sup> Indien achtereenvolgende trombocytentransfusies meerdere keren falen, wordt de patiënt refractair genoemd. Het is dan van belang om immunologische factoren, die de trombocytenuitbrengst negatief beïnvloeden, te onderscheiden van niet-immunologische factoren op basis van klinisch condities (koorts, splenomegalie of actieve bloeding), voorgeschiedenis (zwangerschap of eerdere niet-gefilterde transfusies) en laboratoriumtesten die de aanwezigheid van alloantistoffen tegen HLA aantonen (HLA-alloantistoftesten). Op deze manier kunnen patiënten worden onderscheiden die gebaat zijn bij HLA-gematchte trombocytentransfusies (van een HLA-klasse-I-gematchte donor).

De validatie van deze HLA-alloantistoftesten vond voorheen met name plaats bij patiënten die ongefilterde bloedproducten hadden ontvangen.<sup>1</sup> De waarde van HLA-alloantistoftesten is onduidelijk bij patiënten die gefilterde trombocytentransfusies ontvangen. Dit onderscheid is van groot belang, aangezien de prevalentie van alloantistoffen tegen HLA lager is bij gebruik van gefilterde bloedproducten dan bij gebruik van niet-gefilterde bloedproducten.

In het proefschrift is de waarde van verschillende

HLA-alloantistoftesten beschreven in relatie tot referentietesten en tot het succes van trombocytentransfusies bij hematologische patiënten die gefilterde bloedproducten ontvangen.<sup>2</sup>

## Onderlinge vergelijking van verschillende in vitro alloantistoftesten

In het proefschrift is de validatie beschreven van een flowcytometrische techniek door 20 niet-geïmmuniseerde controlesera en 26 geïmmuniseerde controle sera met elkaar te vergelijken. Met deze techniek kunnen tegelijkertijd IgG- en IgM-antistoffen tegen trombocyten, lymfocyten en granulocyten worden aangetoond.<sup>3</sup> De plaatjesimmunofluorescentietest (PIFT) meet antistoffen tegen HLA of tegen trombocytenspecifieke antigenen, tegen een panel van trombocyten van vijf willekeurige bloedbankdonoren. De lymfocytenimmunofluorescentietest (LIFT) meet antistoffen tegen HLA, tegen een panel van lymfocyten van vijf willekeurige bloedbankdonoren. De granulocytenimmunofluorescentietest (GIFT) meet antistoffen tegen granulocytenspecifieke antigenen en HLA, tegen een panel van granulocyten van vijf willekeurige bloedbankdonoren. De lymfocytotoxiciteitstest (LCT) meet alleen complementgedieerde lysis van een panel van lymfocyten van vijf willekeurige bloedbankdonoren. Dit is mogelijk de reden dat de PIFT en de LIFT in deze studie gevoeliger zijn voor de detectie van HLA-alloantistoffen dan de LCT.

In 192 sera van 99 ongeselecteerde hematologische patiënten zijn de uitslagen van een commercieel verkrijgbare ELISA-test (Quikscreen®/'enzyme linked immunosorbent human leukocyte antigen assay': ELIHHA), die antistoffen tegen een breed scala van HLA-antigenen meet, vergeleken met uitslagen van

**Tabel 1. De (bloedvolume gecorrigeerde) opbrengst 1 en 16 uur na de eerste HLA-gematchte transfusie (gemiddelde  $\pm$  standaarddeviatie), opgesplitst naar een negatieve of positieve HLA-alloantistof-test (lymfocytenimmunofluorescentietest of 'monoclonal antibody immobilization of platelet antigens'), bij refractaire hematologische patiënten in afwezigheid van niet-immunologische factoren. Ook is het percentage succesvolle HLA-gematchte transfusies in deze 2 patiëntengroepen weergegeven door de opbrengst van 1 en 16 uur (respectievelijk >20% en >10%) na de transfusie op te meten.**

Eindpunt	HLA-alloantistof-test		p-waarde
	positief (n = 54)	negatief (n = 18)	
opbrengst na 1 uur	47% $\pm$ 24%	35% $\pm$ 25%	0,04
opbrengst na 16 uur	31% $\pm$ 24%	15% $\pm$ 14%	0,03
succesvolle transfusie na 1 uur	47 (87%)	14 (78%)	0,45
succesvolle transfusie na 16 uur	43 (80%)	11 (61%)	0,13

de LCT, PIFT en LIFT.<sup>4</sup> Er werd een statistisch significante correlatie gevonden tussen de uitslagen van al deze vier testen. De beste correlatie bestaat tussen de LIFT en de ELIHLA. Deze twee testen zijn tevens het meest positief. Dit past bij een grotere gevoeligheid voor de detectie van HLA-alloantistoffen in deze studie in vergelijking met de PIFT en de LCT.

### In-vivobinding van antistoffen aan trombocyten

In een poging de voorspellende waarde van de detectie van antistoffen tegen trombocyten te verhogen is een test ontwikkeld, die de in vivo binding van immunoglobuline aan getransfundeerde trombocyten detecteert (IVBI-PIFT).<sup>5</sup> In een studie met 164 sera van ongeselecteerde patiënten en 34 sera van geïmmuniseerde patiënten worden in de IVBI-PIFT op basis van de visuele scoringsmethode vier verschillende patronen onderscheiden. Hiermee kan de specificiteit van de antistoffen worden aangetoond (HLA-alloantistoffen, trombocyt-specifieke antistoffen en/of circulerende immuuncomplexen).<sup>5</sup> Het vaststellen van patroon 4 bij patiënten, aanwezigheid van HLA-alloantistoffen, voorspelt slechts in beperkte mate het falen van de trombocytentransfusie.<sup>5,6</sup> In een studie met 201 sera van 120 ongeselecteerde hematologische patiënten blijkt het goed mogelijk om patroon 4 van de visuele scoringsmethode van de IVBI-PIFT te vervangen door een geautomatiseerde uitslag ( $p < 0,001$ ).<sup>6</sup>

### Voorspellende waarde van immunologische en niet-immunologische factoren

De waarde van vier alloantistof-testen, de LCT, ELIHLA, PIFT en de LIFT, om het succes van trombocytentransfusies te kunnen voorspellen, is onderzocht bij 181 gefiltreerde trombocytentransfusies van 97 ongeselecteerde patiënten. Geen van deze testen voorspelt de trombocytenuitbrengst goed.<sup>7</sup> Ook een

trombocytenuitbrengst van patiëntenserum met donor-trombocyten uit de transfusiezak, is onbetrouwbaar in het voorspellen van het succes van trombocytentransfusies.<sup>8</sup> Splenomegalie en een trombocytentransfusie ouder dan drie dagen hebben wel een negatieve invloed op het succes van de trombocytentransfusies. Ten slotte zijn 72 sterk geselecteerde patiënten, die refractair waren voor willekeurige trombocytentransfusies en bij wie een niet-immunologische oorzaak onwaarschijnlijk was, retrospectief bestudeerd. In deze patiëntengroep voorspelt een positieve alloantistof-test een betere gemiddelde opbrengst van HLA-gematchte trombocytentransfusies (zie *Tabel 1*).<sup>9</sup> Een trend tot een groter percentage succesvolle HLA-gematchte trombocytentransfusies bij patiënten met een positieve HLA-alloantistof-test wordt waargenomen. Het ontbreken van statistische significantie voor dit laatstgenoemde eindpunt is mogelijk te wijten aan de relatief kleine onderzochte patiëntenpopulatie. Ook heeft de absolute stijging van het trombocytenuitbrengst (gemiddelde opbrengst) de grootste invloed op het aantal benodigde HLA-gematchte trombocytentransfusies. Dit bepaald de uiteindelijke kosten voor HLA-gematchte transfusies. Verder is opvallend dat bij deze geselecteerde patiënten een negatieve alloantistof-test vaak samengaat met succesvolle HLA-gematchte trombocytentransfusies. Dit toont wederom het aanvullende en niet het bewijzende karakter aan van HLA-antistof-testuitslagen bij hematologische patiënten.

### Conclusie

De resultaten van verschillende alloantistof-testen (LCT, PIFT, LIFT, en ELIHLA) hebben een grote overeenkomst, waarbij de ELIHLA in het Erasmus medisch centrum het meest eenvoudig te gebruiken is in de dagelijkse praktijk. De resultaten van alloantistof-testen bij ongeselecteerde hematologische patiënten, die gefiltreerde bloedproducten ontvangen, voor-

## Aanwijzingen voor de praktijk

1. Kies een in uw organisatie eenvoudig uit te voeren HLA-alloantistoftest, aangezien er geen duidelijk verschil in de voorspellende waarde van de bestudeerde testen bestaat (plaatjes-immunofluorescentietest, lymfocytenimmunofluorescentietest, lymfocytotoxiciteitstest of 'enzyme linked immunosorbent human leukocyte antigen assay').
2. Gebruik HLA-alloantistoftesten niet als screeningsinstrument.
3. Gebruik HLA-alloantistoftesten alleen bij refractaire patiënten ter ondersteuning van het trombocytentransfusiebeleid.
4. Een proeftransfusie met HLA-gematchte trombocyten is noodzakelijk bij refractaire patiënten indien niet-immunologische oorzaken afwezig zijn, onafhankelijk van het resultaat van een HLA-alloantistoftest.

spellen niet het succes van willekeurige trombocytentransfusies. De in vivo binding van antistoffen aan getransfundeerde trombocyten voorspelt niet betrouwbaar het succes van deze transfusies. Wel voorspellen splenomegalie en trombocytentransfusies ouder dan drie dagen een slechtere transfusieopbrengst. In sterk geselecteerde refractaire patiënten voorspelt een positieve alloantistoftest een betere gemiddelde opbrengst van HLA-gematchte trombocytentransfusies. Een goed transfusieresultaat bij patiënten met een negatieve alloantistoftest is echter niet uitgesloten. HLA-alloantistoftesten dienen terughoudend te worden toegepast bij hematologische patiënten en dienen niet als screeningsinstrument te worden gebruikt. Bij refractaire patiënten dient een HLA-alloantistoftest als ondersteuning van het transfusiebeleid. Deze test vervangt echter niet de toepassing van een proeftransfusie bij refractaire patiënten waar niet-immunologische oorzaken van transfusiefalen zijn uitgesloten.

### Referenties

1. Bishop JF, McGrath K, Wolf MM, Matthews JP, De Luise T, Holdsworth R, et al. Clinical factors influencing the efficacy of pooled platelet transfusions. *Blood* 1988;71:383-7.
2. The trial to reduce alloimmunization to platelets study group. Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions. *N Eng J Med* 1997;337:1861-9.
3. Gratama JW, Van der Linden R, De Vries W, De Veld J, Levin M-D, Sintnicolaas K, et al. Simultaneous detection of IgM and IgG antibodies against platelets, lymphocytes and granulocytes by flowcytometry. *Infus Ther Transfus Med* 1998;25:317-24.
4. Levin M-D, De Vries W, De Veld JC, Doekharan D, Van der Holt B, Van 't Veer MB. Platelet bound immunoglobins before and after platelet transfusion: measurement of in vivo binding. *Br J Haematol* 1999;104:397-402.
5. Levin M-D, De Veld JC, Van der Holt B, Van 't Veer MB. Screening for alloantibodies in the serum of patients receiving

platelet transfusions: a comparison of the ELISA, lymphocytotoxicity and the indirect immunofluorescence technique. *Transfusion* 2003;43:72-7.

6. Levin M-D, De Veld JC, Van der Holt B, Van 't Veer MB. Immune and non-immune causes of low recovery from leuodepleted platelet transfusions: a prospective study. *Ann Hematol* 2003;83:357-62.

7. Levin M-D, Van der Holt B, De Veld JC, Gratama JW, De Vries W, Van 't Veer MB. Visual scoring versus histogram subtraction of in vivo binding of immunoglobulins against platelets after transfusion. *Cytometry B Clin Cytom* 2004;57:40-6.

8. Levin M-D, Kappers-Klunne M, Sintnicolaas K, Van der Holt B, Van Vliet HH, Löwenberg B, et al. The value of alloantibody detection in predicting response to HLA matched platelet transfusions. *Br J Haematol* 2004;124:244-50.

9. Levin M-D, Van der Holt B, De Veld JC, Gratama JW, De Vries W, Van 't Veer MB. The value of crossmatch tests and panel tests as a screening tool to predict the outcome of platelet transfusion in a non-selected hematological patient population. *Vox Sang* 2004;87:291-8.

Ontvangen 10 februari 2005, geaccepteerd 30 maart 2005.

### Correspondentieadres

**Dr. M.-D. Levin, internist-hematoloog**

Erasmus Medisch Centrum,  
locatie Daniël den Hoed  
Postbus 2060  
3000 CB Rotterdam  
Tel.: 010 439 13 67  
E-mail: m.d.levin@erasmusmc.nl

Belangenconflict: geen gemeld.  
Financiële ondersteuning: geen gemeld.