



Laboratoriumonderzoek voor transfusie van patiënten met warmte-autoantistoffen tegen erythrocyten

Editorial bij de gezamenlijke bijdragen over adsorptiemethoden

M.A.M. Overbeek en M. de Haas

(Tijdschr Bloedtransfusie 2010;3:68-70)

Een relatief hoog percentage van patiënten met een auto-immuunhemolytische anemie (AIHA), die bloedtransfusies ontvangen, heeft naast autoantistoffen ook alloantistoffen. In oude studies worden percentages tot 32% genoemd. Deze patiënten hebben blijkbaar een dermate actief immuunsysteem dat zij een grotere kans hebben op alloantistofvorming dan patiënten die deze ziekte niet hebben.¹ In verreweg de meeste gevallen betrof het antistoffen tegen antigenen behorende tot het Rhesus (Rh)-systeem en tegen het K-antigeen. Om deze reden is in de CBO-richtlijn Bloedtransfusie 2004 opgenomen dat patiënten met een AIHA en klinisch belangrijke autoantistoffen in eerste instantie getransfundeerd moeten worden met erythrocyten die wat betreft Rh-bloedgroepen (C, c, D, E, e) en K compatibel zijn aan de patiënt, zodat de patiënt geen alloantistoffen kan maken tegen de antigenen die hij zelf mist.

Het is vanzelfsprekend van belang, juist bij deze patiënten, te onderzoeken of er naast de autoantistoffen ook alloantistoffen aanwezig zijn. In de praktijk van het laboratoriumonderzoek is dat een probleem omdat zowel de warmte-autoantistoffen als alloantistoffen in dezelfde techniek reactief zijn. De autoantistoffen reageren namelijk vaak met alle donorerythrocyten met als gevolg dat de alloantistoffen verstopt blijven onder de autoantistoffen.

Erythrocyten worden in vivo door warmte-autoantistoffen meestal via hetzelfde afbraakmechanisme afgebroken als klinisch belangrijke alloantistoffen (ook meestal IgG-antistoffen). Het blijft echter de vraag of donorerythrocyten bij deze patiënten sneller worden afgebroken door de alloantistoffen dan door de ook aanwezige autoantistoffen. Met andere woorden is het wel noodzakelijk een uitgebreid serologisch onderzoek te verrichten naar de aanwezigheid van alloantistoffen naast autoantistoffen? En welke methoden hebben laboratoria nu ter beschikking om een onderzoek naar klinisch belangrijke allo-

antistoffen te verrichten indien een patiënt warmte-autoantistoffen heeft?²

Worden bij patiënten met een warmte type AIHA donorerythrocyten sneller afgebroken door de alloantistoffen dan door de ook al aanwezige autoantistoffen?

Om deze vraag te beantwoorden zijn geen data uit studies in de literatuur bekend. Wel zijn door een aantal deskundigen, samengebracht in een internationaal forum, de volgende 2 concepten omschreven die de noodzaak aangeven van het opsporen van alloantistoffen bij aanwezigheid van autoantistoffen.² Het eerste concept betreft de mogelijke aanwezigheid van complementbindende alloantistoffen. De afbraak van erythrocyten door IgG-autoantistoffen vindt plaats in de milt via binding van door IgG beladen erythrocyten aan macrofagen die de erythrocyten fagocyteren en cytotoxisch beschadigen. De afbraak door de meeste alloantistoffen zal op de zelfde manier plaatsvinden. Indien iemand echter complementbindende alloantistoffen heeft, zal een ander afbraakmechanisme een rol gaan spelen namelijk de extravasculaire hemolyse via adherentie aan complementreceptoren op de macrofaag of zelfs een intravasculaire hemolyse is mogelijk. Dit betekent dat het belangrijk is om in ieder geval een onderzoek te verrichten naar complementbindende alloantistoffen.

Het tweede concept betreft het gegeven dat erythrocyten warmte-autoantistoffen niet altijd een manifeste hemolyse geven die een anemie veroorzaakt. Indien een patiënt met autoantistoffen een transfusie nodig heeft, hoeft hemolyse niet altijd de reden van de anemie te zijn. Een anemie door een bloeding, of een medische ingreep waarbij bloedverlies verwacht wordt, kan de reden zijn voor de aanvraag van rode bloedcellen voor transfusie. In die gevallen, waarin de anemie niet veroorzaakt is door hemolyse,

gaat de redenering niet op dat mogelijk de afbraak van incompatibele donorerythrocyten door de autoantistoffen niet zal verschillen van de afbraak door alloantistoffen. Daarom is het in deze gevallen absoluut noodzakelijk de aanwezigheid van alloantistoffen naast de reeds aanwezige autoantistoffen uit te sluiten voor transfusie van erythrocyten.

Welke methoden hebben laboratoria nu ter beschikking om een onderzoek naar klinisch belangrijke alloantistoffen te verrichten indien een patiënt warmte-autoantistoffen heeft?

De makkelijkste maar meest ongevoelige (en daarom bijna niet meer gebruikte) methode is het verdunnen van het serum tot 1:3 en 1:5 om de meest compatibele donorerythrocyten te selecteren. Op deze wijze zullen alloantistoffen die zwakker reageren dan de autoantistoffen nooit worden aangetoond.

De methode die reeds lang en het meest gebruikt wordt is de zogenoemde adsorptie/absorptiemethode (de terminologie verschilt in de Britse (absorption) en Amerikaanse (adsorption) literatuur). In deze tijdrovende methode worden autoantistoffen verwijderd door binding aan erythrocyten met verschillende antigene samenstelling. De samenstelling van deze zogenoemde adsorptie-erythrocyten is zodanig dat de meest klinisch belangrijke alloantistoffen na de adsorptiestappen in het serum aanwezig blijven, zodat de specificiteit ervan kan worden vastgesteld. De adsorptiemethode kan zeer tijdrovend zijn indien de autoantistoffen sterk reactief zijn of niet efficiënt binden aan erythrocyten in vitro. Een totale duur van het onderzoek van 6-7 uur is niet ongebruikelijk.

In deze uitgave staan 4 gevalideerde adsorptiemethoden uitgebreid beschreven, die voornamelijk verschillen in het milieu waarin de adsorptie-erythrocyten gesuspenderd zijn om de antistoffen zo efficiënt mogelijk te laten binden. Alle auteurs hebben ernaar gestreefd om na adsorptie een antistofscreenings en identificatieonderzoek in een gevoelige methode (bijvoorbeeld kolomtechniek) uit te voeren. Ligthart et al. (zie *pagina 71*) beschrijven een methode van alloadsorptie met testerythrocyten van verschillende antigene samenstelling, waarbij de procedure in zout wordt uitgevoerd. Bij deze methode wordt het aantal adsorpties verminderd door de verhouding antigeen:antistof te verhogen. Zowel Eijsink et al. (zie *pagina 74*) als Adema et al. (zie *pagina 79*) analyseerden een

alloadsorptiemethode met toevoeging van polyethyleenglycol (PEG), waarbij gezien wordt dat het aantal adsorptierondes en de adsorptietijd per ronde bekort kan worden, maar dat verlies aan titer van eventueel aanwezige alloantistoffen, waarschijnlijk als gevolg van specifieke adsorptie, kan optreden en tot fout-negativiteit kan leiden. Meekers et al. (zie *pagina 77*) voeren de alloadsorptie uit met bromelinebehandelde testerythrocyten en met toevoeging van LISS. De auteurs tonen een snelle adsorptieprocedure, met, op basis van bepaling van titer en reactiesterkte geconcludeerd, behoud van de aantoonbaarheid van de alloantistoffen. Tot slot beschrijven Straat et al. (zie *pagina 83*) een validatie voor de cryopreservatie van testerythrocyten die gebruikt kunnen worden voor de alloadsorptie.

Indien iemand de laatste 3 maanden niet is getransfundeerd, is het mogelijk de patiënt te typeren voor de belangrijkste bloedgroepen (Rh, K, Duffy, Kidd, Ss). Als de patiënt negatief is voor een bepaald bloedgroepantigeen bestaat de mogelijkheid dat iemand tegen dat antigeen alloantistoffen gemaakt heeft of gaat maken. Er kan overwogen worden de patiënt preventief te transfunderen met erythrocyten die compatibel zijn aan de typering van de patiënt. Hoewel deze methode wat minder tijdrovend is dan de adsorptiemethode vergt het echter wel een goed overleg met de Sanquin Bloedbank omdat de beschikbaarheid van getypeerde erythrocyten beperkt is. Bovendien is typeren van erythrocyten die met IgG-autoantistoffen beladen zijn het best mogelijk met behulp van IgM-monoklonale testreagentia. Deze zijn voor Rh, K, Kidd en Ss commercieel beschikbaar maar niet voor Duffy. Het typeren voor Duffy-antigenen zal moeten plaatsvinden na verwijdering van de IgG-autoantistoffen of met DNA-onderzoek.

Als iemand recentelijk getransfundeerd is, blijft de mogelijkheid de volledige typering te verrichten met behulp van DNA-analyse bestaan. Slechts enkele laboratoria in Nederland kunnen deze bepalingen verrichten.³

Concluderend kan gezegd worden dat het laboratoriumonderzoek voor een erythrocytentransfusie aan patiënten met warmte-autoantistoffen over het algemeen gecompliceerd is. Een goed overleg tussen de behandelaar, die de transfusienoodzaak en -urgentie bepaalt, het ziekenhuislaboratorium, dat kan inschatten hoe lang het selecteren van geschikte



donorerythrocyten kan duren, het referentielaboratorium dat behulpzaam is bij gecompliceerd onderzoek, en de regionale Sanquin Bloedbank, die overzicht heeft over de beschikbaarheid van geschikte rode bloedcelconcentraten, is essentieel.

Referenties

1. Wallhermfechtel MA, Pohl BA, Chaplin H. Alloimmunization in patients with warm autoantibodies. A retrospective study employing three donor alloabsorptions to aid in antibody detection. *Transfusion* 1984;24:482-5.
2. Engelfriet CP, Reesink HW, Garratty G, Knight R, De Silva M, Contreras M, et al. The detection of alloantibodies against red cells in patients with warm-type autoimmune haemolytic anaemia. *Vox Sang* 2000;78:200-7.
3. Rozman P, Dovic T, Gassner C. Differentiation of autologous ABO, RHD, RHCE, KEL, JK, and FY blood group genotypes by analysis of peripheral blood samples of patients who have recently received multiple transfusions. *Transfusion* 2000;40:936-42.

Correspondentieadres

Mw. drs. M.A.M. Overbeeke, consulent Immunohematologie Diagnostiek

Mw. dr. M. de Haas, manager Immunohematologie Diagnostiek

Sanquin Diagnostiek
Immunohematologie Diagnostiek
Plesmanlaan 125

1066 CX Amsterdam

Tel.: 020 512 33 73

E-mailadres: m.overbeeke@sanquin.nl

Correspondentie graag richten aan de eerste auteur.

Belangenconflict: geen gemeld.

Financiële ondersteuning: geen gemeld.