

Blodtransfusjon og pretransfusjonsutgreiing ved autoimmun hemolytisk anemi av varmetype

Samandrag

Bakgrunn. Ved autoimmun hemolytisk anemi av varmetype har pasienten autoantistoff som kompliserer den serologiske forlikstestinga før blodtransfusjon. Ulike autoabsorpsjonsteknikkar blir nytta til utvida pretransfusjonsutgreiing av desse pasientane. Vi presenterer ein litteraturgjennomgang av blodtransfusjon ved tilstanden og vår erfaring med to ulike autoabsorpsjonsteknikkar.

Metode. 13 pasientar med påvist autoantistoff av varmetype blei undersøkt parallelt med autoabsorpsjon med papain og polyetylenglykol, etterfølgd av antistoffscreening og -identifisering for påvising av eventuelt alloantistoff.

Resultat. Autoantistoffet lét seg absorbere bort hjå seks av 13 pasientar. Fem av desse fekk påvist alloantistoff. I tre tilfelle oppnådde vi ulikt resultat med dei to metodane. Mangelfull blodtypeserologisk diagnostikk kan medføre at klinisk viktige alloantistoff hjå pasienten blir oversett før transfusjon, med hemolytisk transfusjonsreaksjon som konsekvens.

Konklusjon. Restriktiv transfusjonspraksis ved autoimmun hemolytisk anemi av varmetype blir tilrådd. Adekvat pretransfusjonstesting på spesiallaboratorium er ein føresetnad for transfusjon. Autoabsorpsjon med polyetylenglykol og papainautoabsorpsjon kan supplere kvarandre før transfusjon.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Guro Kristin Melve*

guro.kristin.melve@helse-bergen.no

Tor Hervig

Ragnhild Øvreboe

Blodbanken

Ingerid Nesthus

Medisinsk avdeling

Haukeland Universitetssjukehus
5021 Bergen

*Noverande adresse:

Avdeling for mikrobiologi og immunologi
Haukeland Universitetssjukehus
5021 Bergen

Ved autoimmun hemolytisk anemi av varmetype er blodtransfusjon risikabelt for pasienten og krev omfattande laboratorieundersøkingar på førehand. Vi vil gje ein kortfatta oversikt over problemstillingar knytte til blodtransfusjon ved denne tilstanden. Her vil vi leggje størst vekt på blodtypeserologisk diagnostikk før transfusjon. Vi presenterer også eit eige materiale basert på pretransfusjonsutgreiing av pasientar med autoantistoff av varmetype med to ulike metodar.

Autoimmun hemolytisk anemi er ein nok-så sjeldan tilstand med insidens på 1–3 per 100 000 per år (1). Om lag 70% av denne gruppa av anemiar er av såkalla varmetype (2). Pasienten produserer autoantistoff retta mot overflateantigenar på egne raude blodceller. Antistoffa er mest reaktive ved temperatur nær 37 °C. Dei tilhøyrer oftast IgG subklasse 1, og kan gje hemolyse via komplementsystemet og det retikuloendoteliale system. Sjukdommen kan opptre som følgjetilstand hjå pasientar med eit breitt spekter av diagnosar (ramme 1).

Diagnostikken baserer seg på direkte antiglobulintest (også kalla direkte Coombs' test) med påvising av IgG og/eller komplementfaktor C3d på erytrocyttoverflata, i tillegg til kliniske teikn og klinisk-kjemiske funn som tyder på hemolyse. Direkte antiglobulintest er positiv i over 95% av tilfella (2), og viser då at dei raude blodcellene er dekkja med antistoff og/eller komplementfaktorar in vivo. Det er ingen samanheng mellom reaksjonsstyrken ved direkte antiglobulintest og fallet i hemoglobin hjå den enkelte pasient.

Blodtransfusjon ved autoimmun hemolytisk anemi av varmetype

Val av behandling for tilstanden er avhengig av grad av hemolyse og steroidsensitivitet.

Kortikosteroider er førstelinjebehandling. Ved utfredsstillande respons er splenektomi, immunsuppressiv terapi eller behandling med anti-CD20 monoklonalt antistoff (3) aktuelle alternativ. Transfusjon av erytrocyttar gjev berre forbigåande auke av hemoglobinnivået. Transfusjon gjev også risiko for ytterlegare aktivering av immunsystemet, med produksjon av alloantistoff, det vil seie antistoff mot antigenar på transfunderte erytrocyttar. I tillegg kan autoantistoffet bli meir potent. Det er fare for aukande hemolysegrad, hemoglobinuri og nyresvikt (4).

Ved alvorleg autoimmun hemolytisk anemi bør ein difor transfundere berre på strenge indikasjonar: Livstrugande eller raskt progredierande anemi, fare for cerebrovaskulær eller kardial iskemi eller hjertesvikt, og som forbehandling til splenektomi (1, 4). Mengda transfunderte erytrocyttar bør vere så lita som mogleg. Målet for transfusjonen bør ikkje vere normalisering av hemoglobinverdien, men å heve hemoglobinkonsentrasjonen til eit nivå som gjer anna terapi mogleg.

Pretransfusjonsutgreiing ved autoantistoff av varmetype

For å forhindre hemolytiske transfusjonsreaksjonar utfører blodbanken rutinemessig blodtyping og antistoffscreening før alle transfusjonar. Ved positiv antistoffscreening blir det gjort vidare utgreiing med antistoffidentifisering, enkelt og utvida forlik.

Ved autoimmun hemolytisk anemi av varmetype blir serologisk forlikstesting komplisert av at autoantistoffa er såkalla panagglutininer: Dei har ikkje berre spesifisitet mot antigenar på pasienten sine egne raude blodceller, men har typisk også reaktivitet mot alle testcellene i diagnostiske panel. Dermed blir det ved ordinær pretransfusjonstesting umogleg å finne forlikeleg blod til pasienten. I tillegg vil

! Hovudbodskap

- Ved autoimmun hemolytisk anemi av varmetype bør ein vere restriktiv med blodtransfusjon
- Transfusjon utan fullgod serologisk utgreiing på førehand aukar risikoen for hemolytiske transfusjonsreaksjonar
- Utgreiinga bør skje i spesiallaboratorium med autoabsorpsjon med polyetylenglykol supplert med papainautoabsorpsjon

Ramme 1**Årsaker til autoimmun hemolytisk anemi av varmetype**

- Primær (idiopatisk) autoimmun hemolytisk anemi av varmetype
- Sekundær autoimmun hemolytisk anemi av varmetype
 - Lymfoproliferative sjukdommar
 - Kronisk lymfatisk leukemi
 - Hodgkins sjukdom
 - Non-Hodgkins lymfom
 - Waldenstrøms makroglobulinemi
 - Myelomatose
 - Autoimmune sjukdommar
 - Systemisk lupus erythematosus
 - Revmatoid artritt
 - Sclerodermi
 - Ulcerøs kolitt
 - Ikkje-lymfoide neoplasmer
 - Ovariale dermoidcyster
 - Teratom
 - Kaposi sarkom
 - Ulike karsinom
 - Tilstandar med immunsvikt
 - AIDS
 - Dysglobulinemi
 - Hypogammaglobulinemi
 - Virale barnesjukdommar

eventuelle alloantistoff i pasienten sitt serum vere maskert av det panagglutinerande autoantistoffet.

Hjå pasientar med autoantistoff må det difor gjerast utvida pretransfusjonstesting. Ein nyttar metodar som fjernar, reduserer eller omgår autoantistoffet. Mest brukt i praksis er ulike autoabsorpsjonsteknikkar. Prinsippet for metodane er at autoantistoffet i serum blir absorbert til eigne raude blodceller. Det absorberte serum kan deretter bli undersøkt på nytt for å identifisere eventuelle alloantistoff og for å utføre forlikstesting før transfusjon. Slik blir det mogleg å finne forlikeleg blod til pasienten. Autoabsorpsjon er til dels svært tidkrevjande. God kommunikasjon mellom klinikar og blodbank er difor viktig, slik at utgreiinga kan starte så snart transfusjon til ein pasient med autoimmun hemolytisk anemi av varmetype kan vere aktuelt.

Autoabsorpsjon med ZZAP (ei blanding av proteolytiske enzym og sulfhydrylreagens), papain og polyetylen glykol er dei mest brukte teknikkane. Ved vår avdeling har vi tidlegare prøvd ut autoabsorpsjon med ZZAP, men metoden tok lang tid og viste seg å gje usikre resultat hjå oss. Dei siste åra har autoabsorpsjon med papain vore standardmetode. Også denne teknikken er tidkrevjande og ressurskrevjande personellmessig. For pasienten vil dette kunne representere ein risiko når det hastar med transfusjon. Vi ynskjer difor å gå over til

autoabsorpsjon med polyetylen glykol som standardmetode. Prosedyren krev ikkje forbehandling av erytrocyttane og er mindre tidkrevjande (5, 6). Autoabsorpsjon med papain tek mellom to og tre timar, medan autoabsorpsjon med polyetylen glykol kan gjerast på 30–45 minutt.

Blodtransfusjon med biologisk forlikstest

I ein del tilfelle finst autoantistoffet i så store mengder og/eller har så stor affinitet til eigne erytrocyttar at det i praksis ikkje lèt seg gjere å absorbere det frå serum, sjølv ikkje ved gjentatt autoabsorpsjon. Om erytrocytttransfusjon er uunngåeleg, vil ein i desse tilfella velje dei «minst uforlikelege» erytrocytteiningane frå eit utval blodgjevarar (7).

I tillegg vil ein streve etter størst mogleg likskap mellom donor og mottakar i dei klinisk viktige blodtypesystema. Dette medfører fenotyping av gjevar og pasient for dei viktigaste antigenane i Rh-, Kell-, Duffy-, Kidd- og MNS-systema og transfusjon av typelikt blod (8, 9). Fenotypinga av pasientane kan bli komplisert av dei panagglutinerande eigenskapane til autoantistoffet.

Det blir gjort såkalla biologisk forlikstest ved transfusjonen. Det vil seie at dei første 20 ml blir transfundert raskt. Pasienten blir observert nøye i 15 minutt med tanke på hemolytisk transfusjonsreaksjon. Er det klinisk ikkje mistanke om dette, blir resten av transfusjonen gjennomført med normal dråpetakt.

Dersom pasienten er blitt transfundert i løpet av dei tre siste månadene, kan autoabsorpsjonsteknikkane ikkje nyttast. Transfunderte erytrocyttar kan då absorbere eventuelle alloantistoff under prosedyren, slik at alloantistoffet ikkje lèt seg påvise ved antistoffscreening av det absorberte plasma (10). I slike tilfelle kan ein nytte differensialabsorpsjon med forbehandla allogene celler. Teknikken kan vere vanskeleg å gjennomføre i praksis, og pasienten vil ofte bli transfundert med biologisk forlikstest.

Blodbankar som ikkje kan utføre adekvat

utgreiing før transfusjon på pasientar med autoantistoff av varmetype, bør sende prøver av pasienten vidare til spesiallaboratorium for diagnostikk med autoabsorpsjonsteknikk. Slik kan klinisk viktige antistoff påvisast og hemolytisk transfusjonsreaksjon unngåast. Berre i tilfelle der det er stor grad av hast kan det forsvarast å utelate vidare utgreiing og transfundere direkte med hjelp av biologisk forlikstest.

Metode

Vi gjorde autoabsorpsjon med papain og polyetylen glykol parallelt på 13 pasientar med autoantistoff av varmetypen.

Ved autoabsorpsjon med papain blir vaska erytrocyttar frå pasientprøve inkubert med cysteinaktivert papain i 37 °C varmeblokk i 12 minutt. Etter ny vask blir like mengder papainiserte pasienterytrocyttar og pasientplasma blanda og inkubert i varmeblokk på nytt. Ved autoabsorpsjon med polyetylen glykol blir like delar pasienterytrocyttar, pasientplasma og 20% polyetylen glykolløysning blanda godt og inkubert 15 minutt i 37 °C varmeblokk. Ved begge metodar blir det gjort antistoffscreening og eventuelt antistoffidentifisering på det absorberte plasma etter standardmetodar. Autoabsorpsjonen kan gjentakast ved behov ved papainteknikk. Ved polyetylen glykolteknikk vil repeterte absorpsjonar medføre fortykning av plasma, som gjev risiko for at eventuelle alloantistoff vanskeleg lar seg påvise. Vi utfører difor aldri meir enn ein autoabsorpsjon i same prøve med denne teknikken.

Resultat

Resultatet av undersøkingane går fram av tabell 1. Med papainteknikk lét autoantistoffet seg absorbere vekk hjå fem av 13 pasientar slik at antistoffidentifisering kunne utførast, for polyetylen glykolteknikk var tilsvarende tal fire av 13. Av dei 13 pasientane hadde heile sju autoantistoff som ikkje lét seg absorbere vekk med metodane vi nytta. Vi kunne difor ikkje vurdere om pasientane hadde alloantistoff i tillegg til autoantistof-

Tabell 1 Resultat av antistoffscreening og -identifisering etter autoabsorpsjon med papain og etter autoabsorpsjon med polyetylen glykol

Pasient	Papainabsorpsjon		Absorpsjon med polyetylen glykol	
	Autoantistoff etter absorpsjon	Alloantistoff etter absorpsjon	Autoantistoff etter absorpsjon	Alloantistoff etter absorpsjon
1	–	anti-D, anti-C	–	anti-D, anti-C
2	–	anti-S, anti-E	+	–
3	+	–	+	–
4	+	–	+	–
5	–	–	–	–
6	+	–	autoanti-E	anti-Kell
7	–	anti-Kell	–	anti-Kell
8	+	–	+	–
9	–	anti-c, anti-E	+	–
10	+	–	+	–
11	+	–	+	–
12	+	–	+	–
13	+	–	+	–

fet. Ein pasient hadde autoantistoff som lét seg absorbere med begge teknikkar utan at det blei påvist alloantistoff. Fem av dei seks pasientane der autoantistoffet lét seg absorbere, fekk påvist alloantistoff i tillegg til autoantistoffet. Hjø to av desse lét antistoffa seg berre påvise med papainteknikk, ikkje med polyetylen glykolteknikk (pasient nr. 2 og 9). Det vil seie at anti-S og anti-E hjå pasient nr. 2 og anti-c og anti-E hjå pasient nr. 9 ville ha blitt oversett dersom autoabsorpsjon med polyetylen glykol hadde blitt brukt som einaste metode. Hjø pasient 2 blei polyetylen glykolabsorpsjonen gjentatt ein gong. Autoantistoffet var då absorbert bort, men alloantistoffa lét seg framleis ikkje identifisere. Ein pasient fekk påvist anti-Kell og autoanti-E med polyetylen glykolteknikk, men ikkje med papainteknikk. Hjø to av pasientane påviste vi samme alloantistoff etter autoabsorpsjon med begge teknikkar.

Diskusjon

Våre viktigaste funn er at anti-S og anti-E hjå pasient 2 og anti-c og anti-E hjå pasient 9 ikkje lét seg påvise etter autoabsorpsjon med polyetylen glykol, og at anti-K hjå pasient 6 ikkje var påvisbart etter autoabsorpsjon med papain. Dei to metodane kan altså verke forskjellig på ulike antistoff. Det er kjent frå tidlegare at autoabsorpsjon med polyetylen glykol kan føre til at alloantistoff kan bli fjerna ved presipitasjon (11). Ved pretransfusjonstestinga kan ein då ikkje ta omsyn til alloantistoffet når ein vel ut blod til pasienten. Den kliniske konsekvensen av dette er at ein kan få ein hemolytisk transfusjonsreaksjon ved transfusjon av erythrocytar med overflateantigenar som alloantistoffet har spesifisert mot. Den hemolytiske transfusjonsreaksjonen kan vere vanskeleg å diagnostisere, ettersom pasienten si grunnliding også medfører hemolyse.

Hjø heile fem av dei seks pasientane der autoabsorpsjonen var vellukka med minst ein av teknikane som var brukt, påviste vi

alloantistoff. Blant tilfeldig valde pasientar som gjennomgjekk elektiv kirurgi var frekvensen av alloantistoff 8,2% i ein prospektiv studie (12).

Det synest som om pasientar med autoimmun hemolytisk anemi lettare enn andre dannar alloantistoff ved blodtransfusjon. Det har i tidlegare studiar blitt påvist alloantistoff hjå opptil 40% av pasientar med autoantistoff (9, 13). Det er grunn til å mistenkje at fleire av dei sju pasientane der autoantistoffet ikkje lét seg absorbere vekk, også har alloantistoff som ligg skjult bak autoantistoffet ved pretransfusjonsutgreinga.

Etter uformell kontakt med ein del av dei andre større blodbankane i landet, har vi inntrykk av at autoabsorpsjon med polyetylen glykol er standardmetoden ved problemstillinga autoantistoff dei fleste stader. Årsaka er truleg at teknikken er rask, enkel og relativt lite ressurskrevjande. Likevel vil vi karakterisere det som alvorleg at klinisk viktige alloantistoff ikkje alltid blir fanga opp av metoden.

Blodbankar på små sjukehus vil som regel ikkje ha kompetanse og ressursar til å gjere pretransfusjonsutgreiing med autoabsorpsjonsteknikk. Det er difor fare for at pasientar med autoantistoff av varmetype her ofte blir transfundert med biologisk forlikstest direkte utan fullgod diagnostikk. Vi tilrår mindre blodbankar å sende prøver vidare til spesiallaboratorium for å påvise moglege alloantistoff.

Verken polyetylen glykol- eller papainautoabsorpsjon sikrar at autoantistoff er fjerna og alloantistoff bevart hjå pasientar med autoantistoff av varmetype. Ein kan få inntrykk av at papainmetoden er noko meir sensitiv enn polyetylen glykolteknikk, men tala våre er for små til statistisk analyse. I vårt laboratorium vil vi i framtida gjere bruk av begge teknikkar.

Dersom vi ikkje lukkast med å fjerne autoantistoff med polyetylen glykolteknikk, vil vi supplere med autoabsorpsjon med pa-

pain. Biologisk forlikstest vil vi berre nytte i dei tilfella der autoantistoffet ikkje lar seg fjerne trass gjentatte forsøk med autoabsorpsjon med ulike teknikkar. Det er då viktig at pasient og donor er uttypa i dei klinisk viktigaste blodtypesystema, og at typelikt blod blir gitt så langt det er tilgjengeleg. Denne framgangsmåten finn vi også støtte for i litteraturen (6–9).

Litteratur

1. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* 2002; 69: 258–71.
2. Lee GR, Foerster J, Lukens J et al. *Wintrobe's hematology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999: 1245–50.
3. Robak T. Monoclonal antibodies in the treatment of autoimmune cytopenias. *Eur J Haematol* 2004; 72: 79–88.
4. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood transfusion in clinical medicine*. London: Blackwell Science, 1997: 224–30.
5. Cheng CK, Wong ML, Lee AW. PEG adsorption of autoantibodies and detection of alloantibodies in warm autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion* 2001; 41: 13–7.
6. Leger RM, Garratty G. Evaluation of methods for detecting alloantibodies underlying warm autoantibodies. *Transfusion* 1999; 39: 11–6.
7. Petz LD. «Least incompatible» units for transfusion in autoimmune hemolytic anemia: should we eliminate this meaningless term? A commentary for clinicians and transfusion medicine professionals. *Transfusion* 2003; 43: 1503–7.
8. Shirey RS, Boyd JS, Parwani AV, Tanz WS et al. Prophylactic antigen-matched donor blood for patients with warm autoantibodies: an algorithm for transfusion management. *Transfusion* 2002; 42: 1435–41.
9. Garratty G, Petz LD. Approaches to selecting blood for transfusion to patients with autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion* 2002; 42: 1390–2.
10. Laine EP, Leger RM, Arndt PA et al. In vitro studies of the impact of transfusion on the detection of alloantibodies after autoadsorption. *Transfusion* 2000; 40: 1384–7.
11. Judd J, Dake L. PEG adsorption of autoantibodies results in loss of concomitant alloantibody. *Transfusion* 2000; 40: 28S.
12. Redman M, Regan F, Contreras M. A prospective study of the incidence of red cell alloimmunisation following transfusion. *Vox Sang* 1996; 71: 216–20.
13. Laine ML, Beattie KM. Frequency of alloantibodies accompanying autoantibodies. *Transfusion* 1985; 25: 545–6.