

Een positieve directe antiglobuline-test zonder autoantistoffen: wat is er aan de hand?

Direct antiglobulin test positive in the absence of autoantibodies: what's going on?

M.F. Durian, P.A.W. te Boekhorst en M.B. van 't Veer

Samenvatting

Hemolytische anemie is een regelmatig voorkomend klinisch probleem. Het is geen ziekte of diagnose op zich, maar heeft nader onderzoek naar de onderliggende oorzaak. Met behulp van een gestructureerde aanpak zal men in veel gevallen zonder al te veel diagnostiek tot een diagnose kunnen komen. Vanzelfsprekend is de anamnese van cruciaal belang. Ook de morfologie van het perifere bloed kan al veel aanwijzingen geven. Een belangrijk onderzoek in de verdere differentiatie van hemolytische anemie is de directe antiglobulinetest (DAT). Bij een positieve DAT gaat het in de meeste gevallen om autoantistoffen, soms gaat het echter om alloantistoffen. In dit artikel zal aan de hand van een casus de diagnostiek bij (DAT-positieve) hemolytische anemie worden geïllustreerd. Een goede differentiaaldiagnose blijft vanzelfsprekend van belang.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2011;8:131-5)

Summary

Hemolytic anemia is a common clinical problem. It is no sickness or diagnosis on its own. Hemolytic anemia always needs a closer study into the underlying cause. In many cases, without using too many diagnostic tools, using a standard workup could give the diagnosis. Of course the anamnesis and case history is crucial. A peripheral blood smear could also give a clue. The next step to determine the underlying cause is the direct antiglobulin test (DAT). In most of the cases a positive DAT will be due to autoantibodies, sometimes it will be due to allo antibodies. In this article a case study demonstrates the diagnostics to evaluate a (DAT positive) hemolytic anemia. It is obvious that a good differential diagnosis remains important.

Inleiding

Hemolytische anemie is een regelmatig voorkomend klinisch probleem en wordt gekenmerkt door een toename van reticulocyten, verhoogd lactaatdehydrogenase (LDH), verhoogd ongeconjugeerd bilirubine en een verlaagd haptoglobine. Hemolyse kan een symptoom zijn van een grote verscheidenheid van aandoeningen, zoals bijvoorbeeld in geval van immuun-gemedieerde hemolyse in het kader van een lymfoproliferatieve aandoening of niet-immuun-gemedieerd,

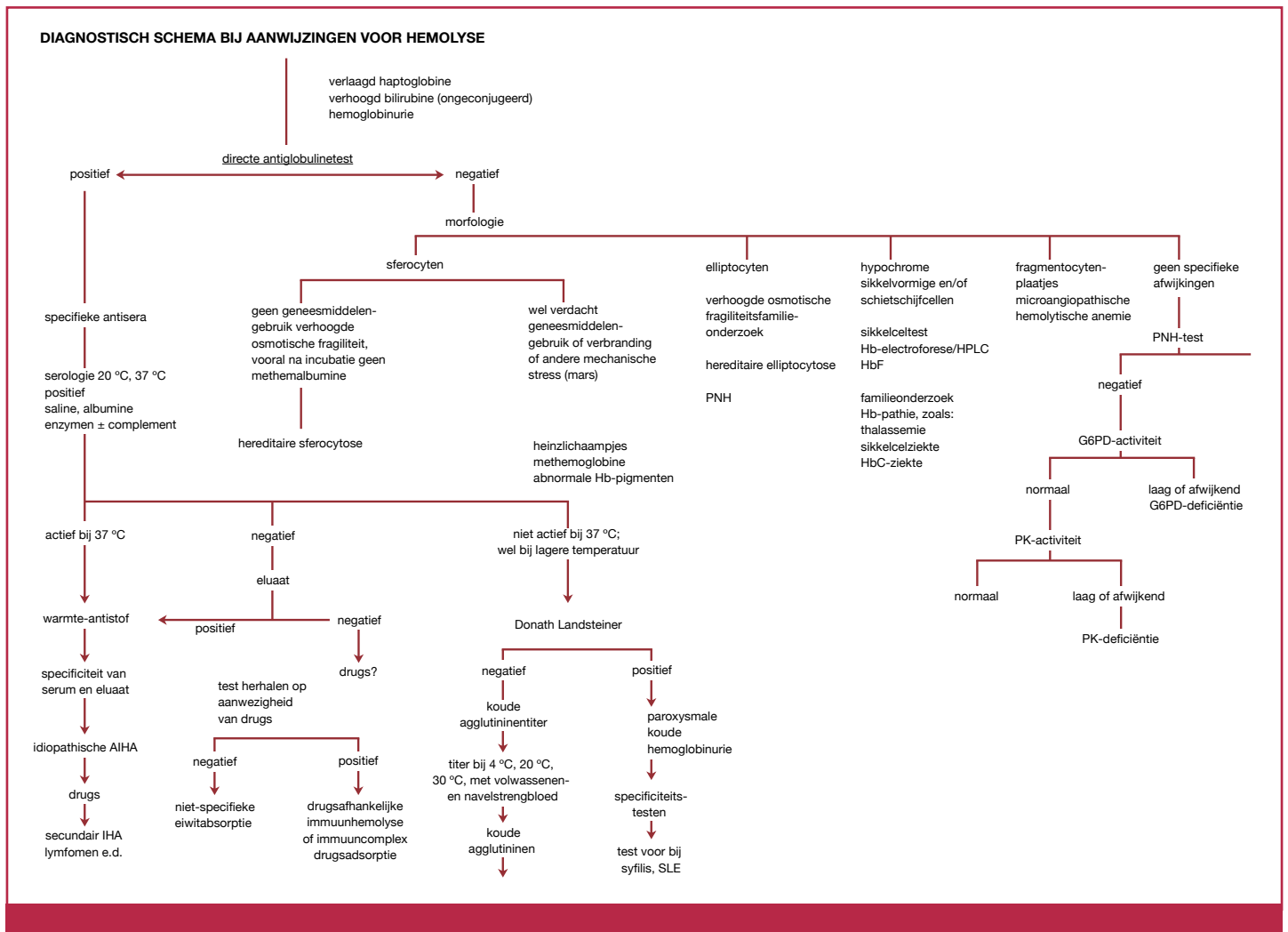
zoals bij het hemolytisch uremisch syndroom. De diagnostiek van anemie, maar ook hemolytische anemie, laat zich goed vertalen in een algoritme (zie *Figuur 1*, pagina 132). Een belangrijk onderzoek in de diagnostiek van hemolytische anemie is de directe antiglobulinetest (DAT), in het verleden ook wel als Coombstest aangeduid. In de hier beschreven casus wordt het diagnostisch traject bij een patiënte met verworven hemolytische anemie na niertransplantatie beschreven.

Auteurs: dhr. drs. M.F. Durian, internist-hematoloog, dhr. dr. P.A.W. te Boekhorst, internist-hematoloog/transfusiegeneskundige, afdeling Hematologie, Erasmus MC, dhr. dr. M.B. van 't Veer, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Leids Universitair Medisch Centrum. Correspondentie graag richten aan dhr. drs. M.F. Durian, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Erasmus MC, 's Gravendijkwal 230, 3015 CE Rotterdam, tel.: 010 703 31 23, e-mailadres: m.durian@erasmusmc.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: directe antiglobulinetest, hemolytische anemie, 'passenger B-lymphocyte syndrome'

Key words: direct hemoglobin test, hemolytic anemia, passenger B-lymphocyte syndrome



Figuur 1. Diagnostisch schema bij aanwijzingen voor hemolyse. AIHA=auto-immuunhemolytische anemie, IHA=immuunhemolytische anemie, Hb=hemoglobine, SLE=systemische lupus erythematoses, PNH=paroxysmale nachtelijke hemoglobinurie, HPLC='high-performance liquid chromatography', HbF=foetale hemoglobine, HbC=carboxyhemoglobine, G6PD= glucose-6-fosfaatdehydrogenase, PK=pyruvaatkinase.

Ziektegeschiedenis

Het betreft een 51-jarige vrouw bekend met langer bestaande hypertensie en nierinsufficiëntie. Sinds enige jaren bestaat er een terminale nierinsufficiëntie, waarvoor zij intermitterend hemodialyse krijgt. In 2006 ontvangt patiënte een nier van haar partner, deze procedure verloopt ongecompliceerd. Preoperatief bedraagt het hemoglobinegehalte 7,8 mmol/l (normaalwaarde 7,5-9,5 mmol/l), postoperatief 6,9 mmol/l, dit zonder transfusies. Postoperatief krijgt patiënte ciclosporine en mycofenolaatmofetil. Zij gebruikte reeds een angiotensineconverteerd enzymremmer en had enige tijd voor de transplantatie cefuroxim gehad. Op de vijfde dag na transplantatie treedt een kreatininesijting op, geduid als reëctie, waarvoor

patiënte werd behandeld met 3 dagen hogedosis-solumedrol, waarna herstel van de nierfunctie optreedt. Bij poliklinische controle 3 weken na de transplantatie blijkt patiënte plots een hemoglobine van 4,3 mmol/l te hebben. Differentiaaldiagnostisch wordt onder andere gedacht aan verlies ten gevolge van een bloeding, dan wel verhoogde afbraak (hemolyse), alsook verminderde aanmaak ten gevolge van deficiënties. Aanvullend laboratoriumonderzoek laat de volgende uitslagen zien: trombocyten $158 \times 10^9/l$ (normaalwaarde $150-370 \times 10^9/l$), leukocyten $7,8 \times 10^9/l$ (normaalwaarde $3,5-10,0 \times 10^9/l$), 'mean corpuscular volume' 95 fL (normaalwaarde 80-100 fL), reticulocyten $129 \times 10^9/l$ (normaalwaarde $30-95 \times 10^9/l$), kreatinine $135 \mu\text{mol/l}$ (normaalwaarde $65-115 \mu\text{mol/l}$),

Lactaatdehydrogenase 580 U/l (normaalwaarde 0-449 U/l), bilirubine 35 $\mu\text{mol/l}$ (normaalwaarde 0-16 $\mu\text{mol/l}$) en haptoglobine niet aantoonbaar (normaalwaarde 0,28-2,01 gram/l). De nefroloog concludeert op grond van deze uitslagen dat de anemie wordt veroorzaakt door hemolyse. Gezien het ciclosporinegebruik wordt er een perifere bloeduitstrijk gemaakt met de vraagstelling: fragmentocyten aantoonbaar? Deze blijken niet aantoonbaar. In aanvulling wordt een directe antiglobulinetest verricht. Tevens worden 2 gefiltreerde erythrocytenproducten besteld door de nefroloog. De DAT blijkt positief voor IgG en complement (zie *Figuur 2*), waarna wordt geconcludeerd dat het hier gaat om een auto-immuunhemolytische anemie, waarvan de oorzaak nog nader valt te bepalen.

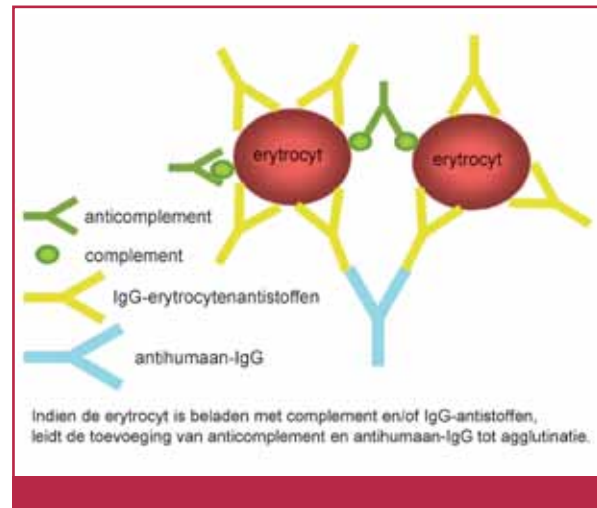
Nadere overwegingen

Immuunhemolytische anemieën op basis van auto-antistoffen tegen erythrocyten (AIHA) komen voor in geïsoleerde vorm en in combinatie met andere ziekten. De ziekten waarbij AIHA kunnen voorkomen zijn auto-immuunziekten, lymfoproliferatieve ziekten en solide tumoren, vooral bij kinderen, ook na infectieziekten. Bovendien kan immuungemedieerde anemie ook ontstaan ten gevolge van medicatie en transfusie van bloedproducten. Bij deze laatste oorzaak betreffen het dan geen autoantistoffen, maar alloantistoffen gericht tegen de donorerythrocyten. Ten slotte moet nog worden genoemd de hemolytische ziekte van de pasgeborene, waarbij erythrocyten van het kind worden afgebroken door antistoffen die de moeder heeft gevormd.

Voor de immuunserologische en -chemische karakterisering van erythrocytenantistoffen kunnen onder andere de volgende technieken worden gebruikt.

Directe antiglobulinetest

De directe antiglobulinetest is onderzoek van de erythrocyten van de patiënt met polyspecifiek antiglobulineserum, klassenspecifieke antisera en IgG-subklassenspecifieke antisera, en antisera tegen complementeiwitten (zie *Figuur 3*, pagina 134). In eerste instantie wordt de DAT uitgevoerd als screeningstest met alleen anti-IgG en anti-C3d. Als deze positief is, of indien negatief en toch sterke verdenking op AIHA, kan verder onderzoek met Ig-klassen en IgG-subspecifieke antisera worden uitgevoerd. Hoewel de gebonden antistoffen over het algemeen autoanti-



Figuur 2. Schematische weergave directe antiglobulinetest.

stoffen zijn, dient men zich te realiseren dat in geval van een recente transfusie (tijdens de laatste 3 maanden), ook (allo)antistoffen gericht tegen en gebonden aan de getransfundeerde erythrocyten een positieve DAT kunnen veroorzaken.

Elutie van aan erythrocyten gebonden antistoffen

Elutieonderzoek is van belang in verband met de bloedgroepspecificiteitsbepaling van de aan patiënt-erythrocyten (of eventueel getransfundeerde donor-erythrocyten) gebonden antistoffen.

Indirecte antiglobulinetest

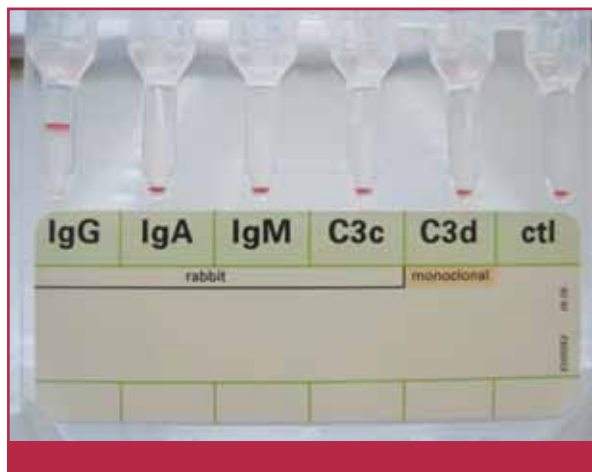
Met de indirecte antiglobulinetest wordt het serum of eluaat van de patiënt getest tegen een testpaneel van donorerythrocyten om vast te stellen of er vrijcirculerende warmte-autoantistoffen in het serum aantoonbaar zijn.

Bloedgroepspecificiteitsbepaling

Autoantistoffen die met alle panelcellen reageren, dus zonder bloedgroepspecificiteit, kunnen in serum en eluaat voorkomen naast alloantistoffen met een bloedgroepspecificiteit. In dat geval kan absorptie met geselecteerde donorerythrocyten noodzakelijk zijn om de eventuele aanwezigheid van alloantistoffen aan te tonen.

Terug naar de casus

Vanuit het transfusielaboratorium komt het bericht



Figuur 3. Voorbeeld van opstelling ten behoeve van directe antiglobulinetest, IgG-antistoffen positief.

dat er voorsnog geen bloed kan worden uitgegeven in verband met kruisproblemen. Gegevens worden geïnterpreteerd als auto-immuunhemolyse, mogelijk op basis van medicatiegebruik, danwel idiopathisch. Ook wordt de mogelijkheid geopperd van een epstein-barrviruslymfoproliferatiesyndroom. Aangezien er geen sprake was van een recente transfusie, wordt een uitgestelde transfusiële reactie uitgesloten. De giconsulteerde hematoloog neemt vervolgens contact op met het transfusielaboratorium. Dit overleg levert de volgende informatie op. De historische bloedgroep van patiënte is A-positief. Zij heeft in ons ziekenhuis niet eerder een transfusie ontvangen en was niet bekend met alloantistoffen. Hernieuwd onderzoek bevestigde de bloedgroep en de negatieve screening op irregulaire antistoffen. De kruisproeven met erythrocyten van donoren met bloedgroep A zijn echter allen positief. De bloedgroep van de nierdonor blijkt O-positief te zijn. Hierop worden in overleg met het transfusielaboratorium kruisproeven met erythrocytenconcentraten met O-positieve erythrocyten ingezet, deze zijn negatief. Bij elutieonderzoek blijkt sprake te zijn van een specifieke antistof: anti-A. Patiënte met bloedgroep A-positief heeft dus anti-A ten gevolge van antistofproductie door circulerende B-lymfocyten van de donor, ook wel aangeduid met de term 'passenger B-lymfocyte syndrome' (PLS).

Beschouwing

Het optreden van onverwachte antilichamen met A- of B-specificiteit bij ontvangers van niertransplantaties

werd voor het eerst gerapporteerd in begin jaren 80 van de vorige eeuw.¹ In 1984 werd een artikel gepubliceerd dat hetzelfde fenomeen beschreef bij patiënten met een levertransplantatie.² Een review gepubliceerd in 1991 door Ramsey et al. behandelde meer dan 100 casus na onder andere lever-, nier-, pancreas-, milt-, hart-, long- en hart-longtransplantaties.³ Circulerende lymfocyten van de donor zijn gerapporteerd als oorzaak voor hemolyse na solide-organtransplantatie en hematopoëtische stamceltransplantatie. Dit proces resulteert in een immunogemedieerde hemolyse ten gevolge van met het donororgaan meegetransplanteerde B-lymfocyten. Deze cellen kunnen antilichamen produceren gericht tegen het ABO-antigeen van de ontvanger.⁴ PLS-geassocieerde antilichamen worden relatief frequent gedetecteerd en de resulterende antilichaamgeïnduceerde hemolyse is een wel gekende consequentie van ABO-mismatcht solideorgantransplantatie, optredend bij 9% van de niertransplantaties, 29% van de levertransplantaties en tot 70% bij hart-longtransplantaties. De anemie bij het PLS ontstaat meestal abrupt en gaat grotendeels gepaard met een DAT-positieve hemolyse.³ Indien negatief, dan is het advies om na transplantatie alsnog een eluaat te maken. De hemolyse ontstaat meestal tussen de derde en 24^e dag na transplantatie en lijkt qua timing niet afhankelijk te zijn van antilichaamspecificiteit. In sommige gevallen duurt het enige dagen voordat serologische afwijkingen aantoonbaar zijn, zodat de diagnose pas wordt overwogen als andere oorzaken van bloedverlies zijn uitgesloten. In de meeste gevallen is sprake van een milde en 'self-limiting' hemolyse.¹ Bij ABO-incompatibele transplantaties is de DAT ongeveer in evenveel gevallen IgG, complement of beide positief.³ PLS houdt over het algemeen meestal niet langer aan dan enkele maanden, omdat lymfocyten doorgaans slechts voor een beperkte periode in staat zijn tot proliferatie en antilichaamproductie. Onder andere de grootte van het transplantaat en meegetransplanteerde lymfoïde organen zijn van invloed op de duur van antistofproductie; na niertransplantatie meestal kort. Sommige langlevende plasmacellen kunnen echter ook voor langere tijd overleven op beschutte plekken, zoals beenmerg of geïnfecteerd nierweefsel.^{5,6} Er zijn casus beschreven die bij ernstige hemolyse succesvol plasmaferese of een wisseltransfusie met erythrocytenproducten ABO-compatibel met de donor toepassen. De effectiviteit

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Een positieve directe antiglobulinetest (DAT) is niet synoniem met autoantistoffen.
2. Bij hemolyse na recente transplantatie van een gevasculariseerd orgaan behoort het 'passenger B-lymphocyte syndrome' onderdeel uit te maken van de differentiaaldiagnose.
3. Een kruisproef is noodzakelijk bij patiënten die recentelijk een transplantatie hebben ondergaan van een gevasculariseerd orgaan (tot 3 maanden na transplantatie).
4. Het volgen van een diagnostisch algoritme bij de diagnostiek met betrekking tot hemolytische anemie kan zeer behulpzaam zijn bij het zoeken naar een oorzaak. De DAT speelt hierin een centrale rol.

hiervan is echter niet bewezen.^{2,3,7,8} Rituximab is eveneens toegepast.³ Van steroiden is geen positief effect beschreven in deze setting. Lokale radiotherapie (van het transplantaat) is voorgesteld als profylactische behandeling in ABO-'minor' incompatibele niertransplantaties en was effectief in het reduceren van antilichamvorming van 71 tot 29% en hemolyse van 29 tot 0%.⁹

Deze patiënte kreeg een ongecompliceerde transfusie met een drietal O-positieve erythrocytconcentraten, waarna het hemoglobuline steeg van 4,0 naar 6,1 mmol/l. Nadien waren geen transfusies meer noodzakelijk, de hemolyse doofde binnen enkele dagen spontaan uit. De anti-A was binnen 2 weken niet meer aantoonbaar.

Conclusie

Immuungemedieerde hemolyse is geen zeldzaam optredend fenomeen na orgaantransplantatie. Onder andere ten gevolge van het 'passenger lymphocyte syndrome', waarbij antistoffen circuleren tegen met name ABO-antigenen geproduceerd door circulerende donor B-lymfocyten uit het donororgaan. Het beloop is over het algemeen mild en 'self-limiting'. Tijdelijk kan worden gekozen voor toediening van ABO-compatibele erythrocyten voor zowel donor als ontvanger. Voor de behandeling van meer ernstig verloopende hemolyse bestaat vooralsnog geen consensus. Ook relatief weinig voorkomende oorzaken

van hemolytische anemie kunnen met een gestructureerde aanpak vlot en relatief eenvoudig worden gediagnosticeerd.

Referenties

1. Bird GW, Wingham J. Anti-A autoantibodies with unusual properties in a patient on renal dialysis. *Immunol Commun* 1980;9:155-9.
2. Ramsey G, Nusbacker J, Starzl TE, Lindsay GD. Isohemagglutinins of graft origin after ABO-unmatched liver transplantation. *N Engl J Med* 1984; 311:1167-70.
3. Ramsey G. Red cell antibodies arising from solid organ transplants. *Transfusion* 1991;31:77-86.
4. Sokol RJ, Stamps R, Booker DJ, Scott FM, Laidlaw ST, Vandenberghe EA, Barker HF. Posttransplant immune-mediated hemolysis. *Transfusion* 2002;42: 198-204.
5. Manz RA, Thiel A, Radbruch A. Lifetime of plasma cells in the bone marrow. *Nature* 1997;388:133-4.
6. Cassese G, Lindenau S, De Boer B, Arce S, Hauser A, Riemekasten G, et al. Inflamed kidneys of NZB/W mice are a major site for the homeostasis of plasma cells. *Eur J Immunol* 2001;31:2726-32.
7. Triulzi DJ, Shirey RS, Ness PM, Klein AS. Immunohematologic complications of ABO unmatched liver transplants. *Transfusion* 1992;32:829-33.
8. Panaro F, DeChristopher PJ, Rondelli D, Testa G, Sankary H, Popescu M, et al. Severe hemolytic anemia due to passenger lymphocytes after living-related bowel transplant. *Clin Transplant* 2004;18:332-5.
9. Ishida H, Tanabe K, Tokumoto T, Shimmura H, Toma H. The evaluation of graft irradiation as a method of preventing hemolysis after ABO-mismatched renal transplantation. *Transplant Int* 2002;15:412-4.

Ontvangen 1 april 2010, geaccepteerd 25 februari 2011.