

Bloedtransfusieproblematiek: autoantistoffen met negatieve autocontrole, hoe kan dat?

Blood transfusion problems: auto-antibodies with negative auto control, how is this possible?

M.C. Möhlmann MSc¹, dr. K.M.K. de Vooght², dr. K.P.M. van Galen³

SAMENVATTING

Het screenen op irregulaire antistoffen in het kader van een bloedtransfusie geeft soms onverwachte resultaten. Aanvullende tests dienen dan onderscheid te maken in de specificiteit van de antistof om de klinische relevantie ervan te bepalen. Wij presenteren een casus waarbij een screening op irregulaire antistoffen lijkt te wijzen op een zeldzame autoantistof tegen kleine e, echter de negatieve autocontrole past daar niet bij.

(NED TIJDSCHR HEMATOL 2018;15:354-7)

SUMMARY

Screening for irregular antibodies before blood transfusion can give unexpected results. When the screening is positive, additional testing is needed to determine the specificity and relevance of the antibody. We present a case where the antibody screen for irregular antibodies shows a pattern of an auto-antibody against the e antigen, however, the negative auto control does not match this assumption.

INLEIDING

Natuurlijke bloedgroepantistoffen komen voor door contact met antigenen die erop lijken, zoals van darmbacteriën, zoals anti-A en anti-B. Irregulaire antistoffen ontstaan echter doorgaans door een immunologische reactie op lichaamsvreemde erythrocytenantigenen, zoals in het geval van een bloedtransfusie of zwangerschap (allo-antistoffen). Hierbij dient onderscheid te worden gemaakt tussen IgM-, IgG- en IgA-antistoffen. Daarnaast kan er sprake zijn van autoantistoffen.¹ Deze antistoffen kunnen gericht zijn tegen de verschillende bloedgroepantigenen van de eigen erythrocyten.

CASUS

Een 53-jarige vrouw van Turkse afkomst werd opgenomen voor een eindstandig colostoma in verband met ernstige proctitis met fisteling in het kader van M. Crohn. In de voor-

geschiedenis is zij, naast M. Crohn waarvoor zij ustekinumab gebruikt, bekend met M. Hodgkin, in 2011 gecureerd met ABVD-kuren en radiotherapie, en de ziekte van Kikuchi ('histiocytic necrotizing lymphadenitis'), momenteel in remissie. Preoperatieve bloedgroep- en antistofbepaling liet zien dat haar bloedgroep B-rhesus D-positief was met een zwak-positieve irregulaire antistofscreening (in de LISS-kolomtechniek), waarbij agglutinatie optrad in een van de drie kolommen (zie *Figuur 1*, pagina 355). Antigenebepaling van haar erythrocyten toonde de volgende antigenen: Cc, Ee. Het K-antigeen was afwezig (zie *Figuur 2*, pagina 355).

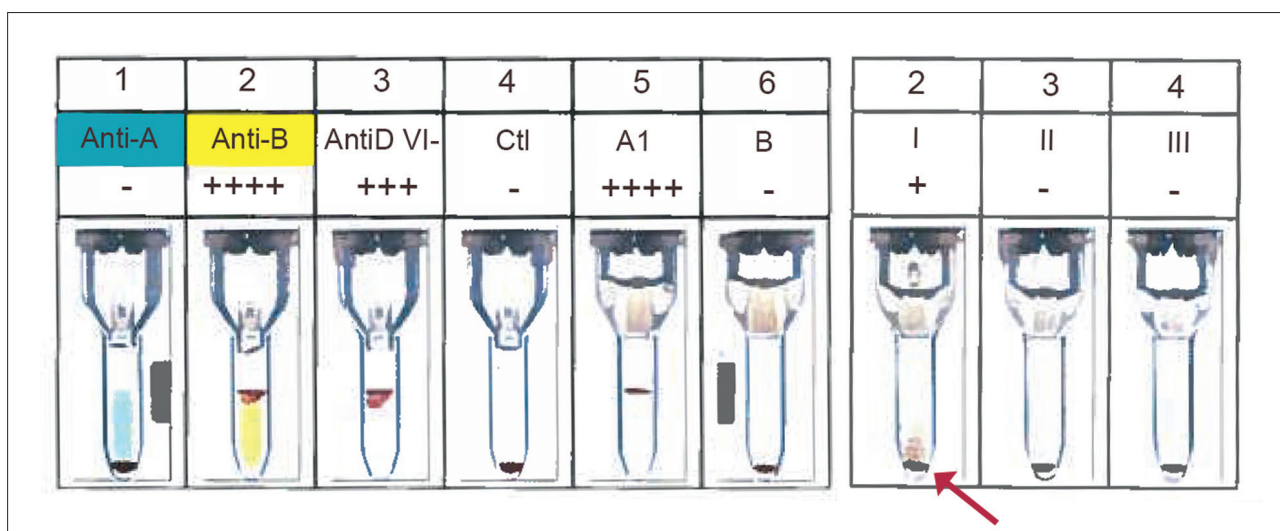
Patiënte had een Hb van 7,2 mmol/l en er waren klinisch en bij laboratoriumonderzoek geen aanwijzingen voor hemolyse. Voor zover bekend had zij nooit eerder een bloedtransfusie ontvangen. Zij is eenmaal zwanger geweest en bevallen van een zoon.

¹internist-hematoloog in opleiding, Amsterdam UMC, locatie VUmc, ²laboratoriumspecialist klinische chemie, Laboratorium Klinische Chemie en Hematologie, ³internist-hematoloog, Van Creveldkliniek, Universitair Medisch Centrum Utrecht. Correspondentie graag richten aan mw. M.C. Möhlmann, internist-hematoloog i.o., secretariaat Hematologie, Amsterdam UMC, locatie VUmc, De Boelelaan 1118, 1081 HV Amsterdam, tel.: 020 444 26 04, e-mailadres: m.mohlmann@vumc.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: bloedtransfusie, irregulaire antistoffen, e-antigeen

Keywords: blood transfusion, irregular antibodies, e-antigen



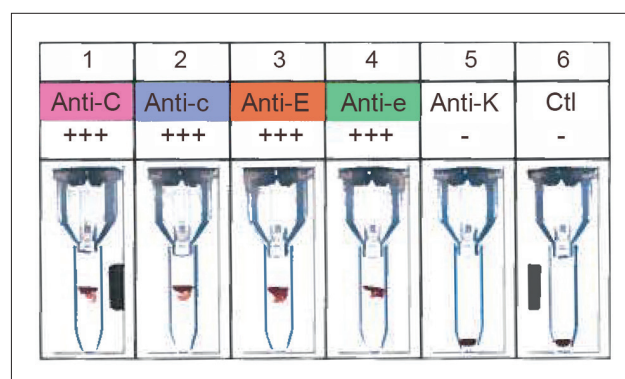
FIGUUR 1. AB0/RhD-bloedgroepbepaling en irregulaire antistofscreening. Via kolomtechniek wordt aangetoond dat de patiënt bloedgroep B, Rh-D-positief heeft. Bij een negatieve reactie (geen agglutinatie) bevinden alle erythrocyten zich aan de onderkant van de kolom, bij een sterk positieve reactie (agglutinatie) bevinden de erythrocyten zich aan de bovenzijde van de kolom. Een negatieve reactie betekent dus dat het antigeen waar de antistof tegen gericht is niet aanwezig is op de erythrocyten van de patiënt. Kolom 1 laat een negatieve reactie zien, wat betekent dat patiënte geen A-antigeen op haar erythrocyten heeft. Voor de irregulaire antistofscreening worden donorerythrocyten van drie verschillende bloedgroep O-donoren toegevoegd aan het plasma van de patiënt. De antistofscreening laat een zwakpositieve reactie zien in kolom 1 (zie pijl). De reactie in kolom I past bij de mogelijke aanwezigheid van een allo-antistof van de patiënt tegen de donorerythrocyten.

Bij nader onderzoek toonde het identificatiepaneel een reactiepatroon dat het meest paste bij een anti-e (zie Tabel 1). Er was daarom een vermoeden op een autoantistof anti-e, echter de autocontrole was negatief. Vanwege deze discrepantie werd een eluaat gemaakt van de eventueel aan de erythrocyten gebonden antistoffen. Uitvoeren van een indirecte antiglobulinetest met dit eluaat (zowel in LISS-kolomtechniek als in PEG-techniek) toonde geen klinisch relevante irregulaire antistoffen aan.

Er is geen directe antiglobulinetest (DAT) verricht, omdat de autocontrole negatief was en ook een eluaat geen aanwezigingen toonde voor irregulaire antistoffen. Onderzoek van het eluaat is doorgaans een gevoeligere test op IgG warme autoantistoffen dan een DAT.

BESPREKING

Bij de antistofscreening wordt een indirecte antiglobulinetest (IAT) verricht met plasma van de ontvanger en geselecteerde testerythrocyten van drie verschillende donoren. Hiermee kan de aanwezigheid van irregulaire erythrocytenantistoffen worden onderzocht in verschillende technieken, zoals met gebruikmaking van (bovine)albumine of 'low ionic strength solution' (LISS) en polyethyleenglycol (PEG). In deze casus was er een positieve irregulaire antistofscreening in de LISS-techniek (zie Figuur 1).



FIGUUR 2. Rhesus- en K-antigenbepaling van erythrocyten van de patiënt. De kolommen bevatten antistoffen gericht tegen de specifieke erythrocytantigenen. De erythrocyten van de patiënt worden toegevoegd aan de kolommen.

Nadere typering van deze antistof toonde een patroon mogelijk passend bij een anti-e (zie Tabel 1). In het geval van irregulaire antistoffen wordt altijd een antigeenbepaling verricht. Hierbij wordt gebruikgemaakt van monoklonale antistoffen tegen de te onderzoeken antigenen, waarbij agglutinatie wijst op aanwezigheid van het betreffende antigeen (zie Figuur 2). De erythrocyten van onze patiënte bleken zelf het e-antigeen te bevatten, wat zou betekenen dat het om een autoantistof tegen kleine e gaat.

TABEL 1. Serologisch patroon van antistofdetectie en identificatie.

In het geval van een positieve antistofscreening wordt het plasma van de patiënt toegevoegd aan donorerytrocyten van verschillende bloedgroep-0-donoren. Deze donorerytrocyten hebben een bekend antigeenpatroon waardoor een eventueel klinisch relevante antistof kan worden geïdentificeerd. Hieronder wordt het antigram getoond van de cellen die zijn gebruikt voor deze antistofscreening. Nummer 1 tot 11 betreft de verschillende donorcellen met verschillende antigeenopmaak. De laatste kolom toont de reactiesterktes van eventuele agglutinaties die zijn opgetreden (LISS-kolomtechniek). Dit patroon past het meest bij een antistof tegen antigeen kleine e.

Rh-hr	Geno-type	Rh-hr				Kell				Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS			Luth.		Xg	LISS					
		D	C	E	c	e	C ^w	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b		Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁			M	N	S	s	Lu ^a
1	CCC ^w D.ee	+	0	0	0	+	+	0	+	0	nt	nt	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	+	-
2	CCD.ee	+	0	0	0	+	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0,5+
3	ccD.EE	+	0	+	0	0	0	0	+	nt	nt	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	nt	-
4	Ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	nt	nt	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	+	0,5+
5	ccddEe	0	0	+	+	+	0	0	+	nt	nt	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	+	-
6	ccddeee	0	0	0	+	+	0	+	+	nt	nt	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	+	0,5+
7	ccddeee	0	0	0	+	+	0	0	+	nt	nt	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	+	-
8	ccDee	+	0	0	+	+	0	0	+	nt	nt	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	0	0,5+
9	ccddeee	0	0	0	+	+	0	0	+	nt	nt	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	-
10	ccddeee	0	0	0	+	+	0	0	+	nt	nt	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	+	-
11	ccddeee	0	0	0	+	+	0	0	+	nt	nt	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	+	0,5+
Autocontrole																												neg

Antigram gebruikt voor de indirecte antiglobulinetest (LISS,Biorad). LISS=low ionic strength solution'.

AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

Bij een positieve antistofscreening met negatieve autocontrole kan bij de aanwezigheid van het betreffende antigeen op de erythrocyt van de patiënt toch sprake zijn van een allo-antistof. Denk hierbij aan een antigeenvariant.

De autocontrole, waarbij plasma van de patiënt wordt toegevoegd aan de eigen erythrocyten van de patiënt (in LISS), was echter negatief. Bij een autoantistof verwacht je dat de autocontrole positief is.

Met behulp van een eluaat kan worden onderzocht of de erythrocyten van de ontvanger beladen zijn met (auto)antistoffen. Hiervoor vindt elutie (afwassen) plaats van de antistoffen door hitte, zuur of chemische middelen, waardoor de antistoffen vrijkomen in de oplossing; dit noemt men het eluaat. Daarna kan de specificiteit van de antistoffen worden getest door een IAT uit te voeren van het eluaat met testerythrocyten.² In onze casus bleken er geen antistoffen aantoonbaar te zijn in het eluaat, wat de aanwezigheid van auto-antistof, in combinatie met de negatieve autocontrole, onwaarschijnlijk maakt.

Het Rhesus-systeem bestaat onder andere uit: D, C, c, E en e. Antistoffen gericht tegen Rhesus-antigenen ontstaan voornamelijk na transfusie of zwangerschap (anti-E kan ook natuurlijk voorkomen), hierbij gaat het om IgG1- of IgG3-antistoffen. Van de antigenen is kleine e het minst immuogeen (voor Rhesus-antistoffen geldt dat in minder dan 4,5% van de gevallen antistoffen worden gemaakt tegen C, c, E of e na transfusie met C, c, E en e incompatibel bloed).

Allo-anti-e is zeldzaam, 98% van de Kaukasische mensen heeft namelijk het e-antigeen op de erythrocyten, zoals ook het geval is bij onze patiënte.¹ Allo-anti-e-antilichamen kunnen echter toch worden gevormd als sommige specifieke e-antigeen-epitopen missen bij patiënten met e-antigeen positieve rode bloedcellen. Dan spreekt men van een zogenoemde 'e-variant'. Nog steeds worden nieuwe variant e-allelen ontdekt. Dit komt vaker voor bij negroïde mensen dan bij mensen van het Kaukasische ras. Bevestiging van een 'e-variant' kan plaatsvinden door DNA-onderzoek op het e-antigeen. Bij de patiënte in onze casus is geen DNA-onderzoek verricht, omdat dit in dit specifieke geval geen klinische consequenties zou hebben. Klinisch geeft een allo-anti-e kans op een milde tot matige transfusiële reactie.³⁻⁶ In het geval van noodzaak tot bloedtransfusie krijgt zij kleine-e-negatief bloed toegediend. Daarnaast zal er geen nieuwe zwangerschap meer zijn.

Het is zeer waarschijnlijk dat zij deze allo-antistof heeft opgelopen door een zwangerschap. Bij een anti-e is hemolytische

ziekte van de foetus of pasgeborene mogelijk, echter voor zover bekend is dit bij het kind van onze patiënte niet opgetreden. Meest waarschijnlijk is de anti-e pas laat in of na de zwangerschap ontstaan.

Bij M. Crohn is slechts in zeldzame gevallen auto-immuunhemolyse beschreven ten gevolge van autoantistoffen als begeleidend verschijnsel bij de ziekte. Ustekinumab is een antistof gericht tegen p-40-eiwit subeenheid van vrij IL-12 en IL-23 en remt hiermee deze interleukines en de T-helper-celfunctie. Er wordt beschreven dat 4-6% van de patiënten die dit middel krijgen antistoffen tegen het medicament vormen.⁷⁻⁹ Wij hebben in deze casus geen aanwijzingen dat dit medicament de bloedgroepantistof testen heeft beïnvloed.

CONCLUSIE

In de gepresenteerde casus werd een anti-e-bloedgroepantistof gevonden zonder positieve autocontrole, verdacht voor een allo-antistof tegen een variant kleine-e-antigeen.

REFERENTIES

1. Meulenbroek AJ. Erythrocytenserologie. Amsterdam: Stichting Sanquin bloedvoorziening, 2011.
2. CBO. Richtlijn bloedtransfusie, 2011.
3. Reid M, Lomas-Francis C. The blood group antigen factsbook. New York: Academic Press, 2003.
4. Westhoff C, Silberstein L, Wylie D, et al. 16Cys encoded by the RHce gene is associated with altered expression of the e antigen and is frequent in the R0 haplotype. *Br J Haematol* 2001;113:666-71.
5. Noizat-Pirenne F, Mouri I, Le Penne PY, et al. Two new alleles of the RHCE gene in black individuals: the RHce allele ceMO and the RHcE allele cEMl. *Br J Haematol* 2001;113:672-9.
6. Goldman M, Cemborain A, Cote J, et al. Identification of six new RHCE variant alleles in individuals of diverse racial origin. *Transfusion* 2016;56:244-8.
7. Farmacotherapeutisch Kompas 2018. Te raadplegen via www.farmacotherapeutischkompas.nl.
8. Uptodate: ustekinumab drug information. Te raadplegen via: https://www.uptodate.com/contents/ustekinumab-drug-information?search=ustekinumab&source=search_result&selectedTitle=1~48&usage_type=default&display_rank=1.
9. Hsu L. Antidrug antibodies in psoriasis: a systematic review. *Br J Dermatol* 2014;170:261-73.

ONTVANGEN 28 MEI 2018, GEACCEPTTEERD 18 JULI 2018.