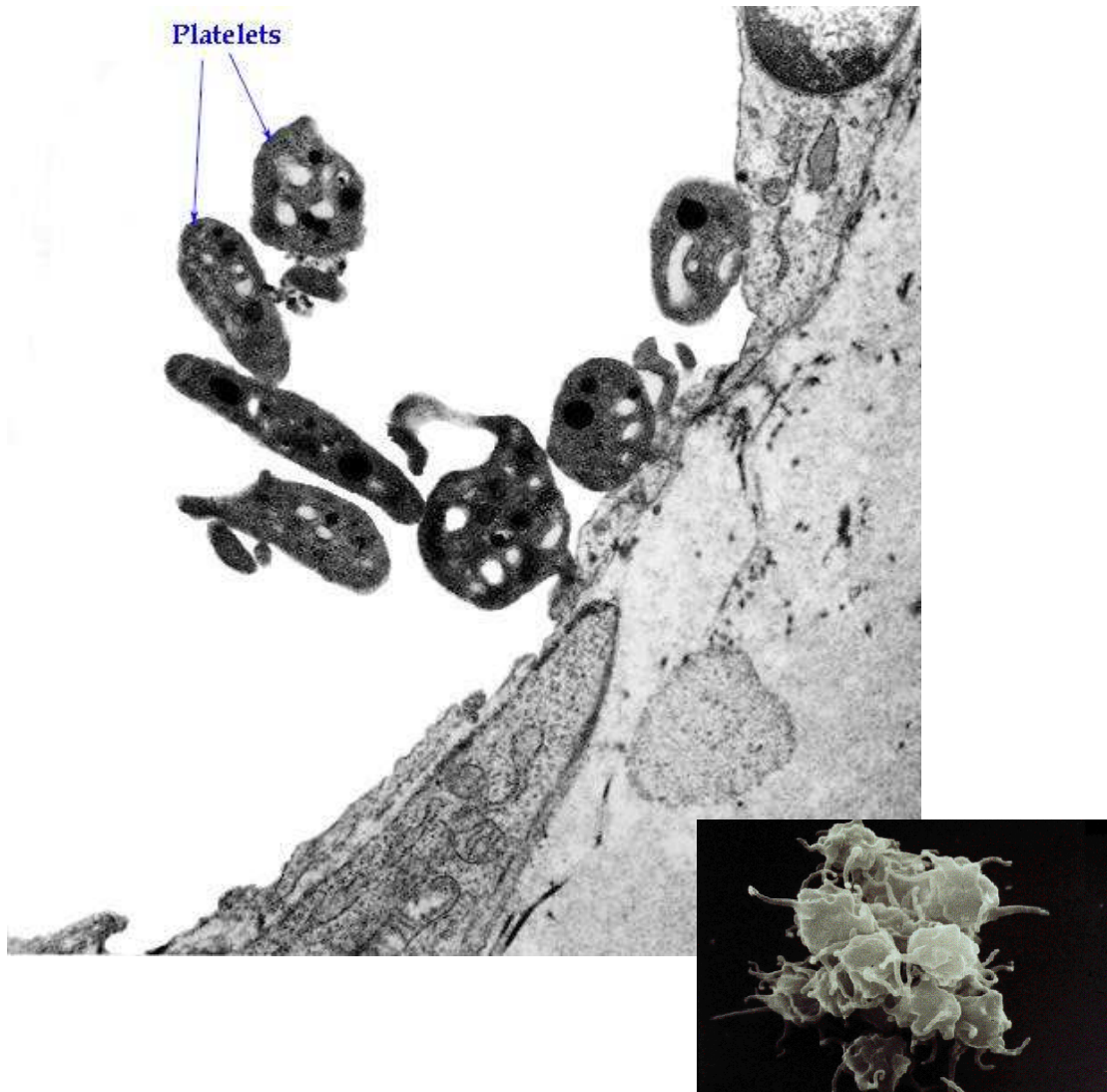


Utredning av antistoffavhengig trombocytopeni



**Nasjonal behandlingstjeneste for avansert trombocytimmunologi
Laboratoriemedisin
Universitetssykehuset i Nord Norge HF (UNN)
2015**

INNHALDSFORTEGNELSE

Generelt:

| | |
|--|---|
| Introduksjon..... | 4 |
| Generell informasjon..... | 5 |
| Metoder..... | 6 |
| Beregning av respons på blodplatetransfusjoner (CCI: corrected count increment)..... | 8 |

Prøvetaking:

| | |
|--|---|
| Rekvirering, prøvetaking og forsendelse..... | 9 |
|--|---|

Kliniske problemstillinger:

| | |
|--|----|
| Skjematisk oversikt over tilstander med antistoff avhengig trombocytopeni..... | 10 |
| Føtal Neonatal alloimmun trombocytopeni (FNAIT)..... | 11 |
| Føtal Neonatal autoimmun trombocytopeni..... | 13 |
| Post transfusjons purpura (PTP)..... | 14 |
| Refraktæritet mot blodplatetransfusjoner hos multitransfunderte..... | 15 |
| Autoimmun trombocytopenisk purpura (ITP / ATP)..... | 17 |
| Medikamentavhengig trombocytopeni..... | 18 |
| Referanser..... | 19 |

INTRODUKSJON

Blødningstendens som følge av trombocytopeni er en meget alvorlig klinisk tilstand. Gjennom de siste 30 årene, har man blitt mer oppmerksom på immunologiske mekanismer som årsak til trombocytopeni. Den laboratorietekniske utviklingen har gjort det mulig å påvise antistoffer mot blodplater, bestemme spesifisiteten av disse, samt type blodplatene for en rekke antigener.

Påvisning og utredning av immunbetingede trombocytopenier er av stor betydning både for diagnostikk og behandling av flere kliniske tilstander av alvorlig karakter.

Denne versjonen av informasjonsbrosjyren er den fjerde i sitt slag, og vi håper at den vil bli brukt av alle de avdelingene som måtte ha nytte av den. Det gjelder spesielt fødeavdelinger, medisinske avdelinger, barneavdelinger, blodbanker og laboratorier som tar blodprøver. Den elektroniske utgaven vil bli fortløpende revidert og vi vil derfor med glede ta mot tilbakemeldinger på brosjyren.

Historie:

Vårt laboratorium har i en årrekke jobbet med metoder for utredning av antistoff avhengige trombocytopenier og fikk i september 1995 status som «Landsfunksjon for avansert blodplateimmunologi».

Siden 1992 har vi deltatt i Platelet Serology Workshop, et internasjonalt laboratoriesamarbeide, for å sikre standardisering og kvalitet av analyser utført ved deltagende laboratorier. Annet hvert år sendes det ut prøvemateriale som testes, og resultatene fra de enkelte laboratorier sammenlignes.

Målsetting:

Vår målsetting er å yte best mulig service til rekvirenter og pasienter ved å:

- gi ut svar så raskt som praktisk mulig
- sikre god kvalitet på svar som gis ut
- sørge for kontinuerlig utvikling og oppdatering av metoder og utstyr
- informere og veilede rekvirenter

GENERELL INFORMASJON

Laboratoriet er bemannet på hverdager mellom 7.30 og 15.30, det er stengt i helgene og på helligdager.

Ved rekvirering av analyser til utredning av trombocytopenier er det viktig at rekvisisjonen er fullstendig og riktig utfylt. Pasientens blodplatetall føres på rekvisisjonen. Ut fra de kliniske opplysningene, vil vi gjøre en vurdering av hvilke undersøkelser som er relevante å utføre. Det vil være mulig å gi utfyllende kommentarer til resultatene hvis kliniske opplysninger er påført rekvisisjonen.

Svartiden fra vårt laboratorium er fra 2 dager til ca. to uker, avhengig av hvilke analyser som skal utføres. Ved lengre svartid vil vi sende ut en midlertidig rapport. I enkelte tilfeller vil telefonisk svar erstatte den midlertidige rapporten.

Av praktiske og bemanningsmessige grunner, utføres ikke alle de forskjellige analysene hver dag, men når det foreligger en serie av prøver. Det utføres ikke øyeblikkelig-hjelp analyser på laboratoriet, men hvis et raskt svar ønskes, kan dette påføres rekvisisjonen og vi vil analysere prøven så snart som mulig.

Svarrapport sendes bare til rekvirenten, men hvis kopi ønskes sendt til andre, påføres navn og evt. adresse merket «kopi av svar til». Hvis telefonisk svar ønskes, føres dette på rekvisisjonen sammen med telefonnummer.

METODER

Direkte trombocyt antistofftest: Påvisning av antistoff på overflaten av pasientens blodplater (autoantistoffer):

Blodplater isoleres fra EDTA-blod. Etter vask av blodplatene, tilsettes henholdsvis FITC merket anti-humant IgG og FITC merket anti-humant IgA. Prøven analyseres i flowcytometer.

Indirekte trombocyt antistoff test: Påvisning av frie antistoff mot blodplater i pasientens plasma (både allo-og autoantistoffer):

Frie antistoff mot blodplater undersøkes ved at pasientens plasma inkuberes med blodplater fra friske givere. Blodplatene vaskes før de inkuberes med FITC merket anti-humant IgG. Prøven undersøkes i flowcytometer. Ved spørsmål om Føtal/Neonatal alloimmun trombocytopeni (FNAIT) inkluderes farens blodplater i testen når man undersøker mors plasma.

Ved mistanke om medikamentavhengig trombocytopeni utføres det for de fleste medikamenter, indirekte trombocyt antistofftest før og evt. etter seponering av medikament.

Blodplate forlik:

I denne testen undersøkes det om pasienten har frie antistoff rettet mot antigener på overflaten av blodplater til potensielle givere og prinsippet for testen er det samme som for generell påvisning av frie antistoff mot blodplater i plasma (Indirekte trombocyt antistoff test). Testresultatet er uavhengig av antistoffenes spesifisitet slik at både platespesifikke antistoff og antistoff rettet mot HLA antigener (Human Leukocyte Antigen) blir påvist. Hvis det ikke kan påvises antistoff mot blodplatene til en giver i denne testen, er det mer enn 90% sjanse for at transfusjon med giverens blodplater gir en tilfredsstillende Corrected count increment (CCI) hos pasienten (1). Testen danner utgangspunkt for å innkalle givere til trombaferese. Behandlingstjenesten kan fremstille forlikelig blodplatekonsentrat ved behov.

Typing av blodplate antigener (Human Platelet Antigens – HPA):

Genotyping av HPA antigener gjøres ved hjelp av PCR (Polymerase Chain Reaction). Det brukes sekvensspesifikke primere for hver av allelene i HPA 1-5 og 15. (2,3,4). Ved fenotyping av HPA 1 systemet benyttes flowcytometri (5).

På overflaten av blodplatene finnes både HLA – antigener, blodtype - antigener og HPA - antigener. Mer enn 20 blodplatespesifikke alloantigener er serologisk definert, og det oppdages stadig nye alloantigener (6).

Spesifisitetsbestemmelse av blodplatereaktive antistoffer:

Spesifisitetsbestemmelse av antistoffer gjøres ved hjelp av MAIPA (Monoclonal Antibody Immobilization of Platelets Assay) (7,8). I denne testen isoleres spesifikke glycoproteiner på blodplatene ved hjelp av monoklonale antistoff etter at pasientens antistoff evt. har bundet seg. Hele komplekset; glycoprotein, monoklonalt antistoff og evt. pasientens antistoff appliseres i en brønn i en mikrotiterplate. Denne mikrotiterplaten er forhåndspreparert med et antistoff som binder det monoklonale muse-antistoff. Resten av testen bygger på ELISA-prinsippet (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) og vil i de fleste tilfeller gi nøyaktig informasjon om antistoffenes spesifisitet.

Kvantitering av anti-HPA 1a antistoff:

Ved spørsmål om FNAIT der antistoff mot HPA 1a antigenet er påvist, bestemmes antistoff nivået vha kvantitativ MAIPA teknikk (9). HPA 1bb gravide kan følges opp i svangerskapet for deteksjon evt. kvantitering av anti-HPA 1a antistoff i svangerskapsuke 20 og 32. Hos HPA 1bb gravide med antistoffnivå >200 arbitrære enheter pr.ml (AU/ml) tidlig eller sent i svangerskapet bør det planlegges forløsning, og forlidelige blodplater bør være i beredskap til barnet dersom barnet har alvorlig trombocytopeni ($<35 \times 10^9/l$). Prediktiv verdi for positiv test (antistoff nivå > 200 AU/ml) er 60%. Diagnostisk sensitivitet 94% (10).

Påvisning av antistoff mot Heparin-Platefaktor 4:

Ved mistanke om Heparin-indusert trombocytopeni undersøkes det for antistoff mot komplekset Heparin-Platefaktor 4 (PF4) ved hjelp av gelkort teknikk (11). Anti-Heparin/PF4 vil føre til agglutinerings av polymer partikler som er dekket med Heparin/PF4 komplekser. Etter en kort sentrifugering vil positiv test avleses ved at de røde polymerpartiklene former en rød linje på overflaten av gel-kolonnen. I negativ prøve vil polymer partiklene vandre gjennom gel-kolonnen og samles i bunnen av røret.

Beregning av respons på blodpladettransfusjoner:

CCI:

CCI står for Corrected Count Increment og brukes for å kunne vurdere nytten av en blodpladettransfusjon uavhengig av hvor stor pasienten er og hvor mange blodplater som er tilført i konsentratet.

$$\text{CCI} = \frac{\text{stigning i blodplate-tall}/\mu\text{l} \times \text{body surface area (m}^2\text{)}}{\text{antall blodplater transfundert} \times 10^{-8}}$$

BSA: Body Surface Area er en verdi som kan hentes i en tabell hvis man kjenner pasientens høyde og vekt.

Stigning i blodpladetall: Blodpladetallet hos pasienten måles før blodplate transfusjonen og 1 time etter transfusjonen. Stigningen er forskjellen mellom disse to målingene.

Antall blodplater transfundert: Konsentratet som er tiltenkt pasienten, undersøkes med hensyn til blodpladetall og vekt. Ut fra disse verdiene, regnes det ut hvor mange blodplater det finnes i konsentratet.

Transfusjonen anses som vellykket når CCI etter 1 time $\geq 7,5$.

REKVIRERING, PRØVETAKING OG FORSENDELSE

Rekvirering:

Rekvisisjonen fylles ut med:

- Navn, fødselsdato med personnummer og adresse på pasienten.
- Rekvirentens navn, adresse og rekvirentnummer
- Prøvetakingsdato og ønskede analyser.
- Kliniske opplysninger, blodplattetall og evt. medikament som pasienten er behandlet med.
- Ved spørsmål om FNAIT fylles det ut rekvisisjon for både mor, far og barn.

*** Merk at en fullstendig utfylling av rekvisisjonen er en betingelse for å sikre god nok kvalitet, at tilstrekkelig prøvemengde blir tatt og at de riktige analyser i forhold til klinisk situasjon blir utført.***

Prøvetaking:

- Vanligvis trengs 10 ml EDTA-blod til fullstendig utredning, men ved blodplate konsentrasjon lavere enn $50 \times 10^9/L$ trengs 15-20 ml EDTA-blod.
- Ved spørsmål om FNAIT trengs det 10 ml EDTA-blod av både mor og far, samt 2-3 ml EDTA-blod fra barnet.
- Utredning for Heparin induisert trombocytopeni (HIT) krever prøve på serumglass uten tilsetning (5 ml).

Forsendelse:

Prøven sendes umiddelbart etter prøvetaking og slik at den ankommer vårt laboratorium senest om morgenen 2 dager etter prøvetaking. Laboratoriet er stengt i helgene og på helligdager. Vennligst ta hensyn til dette ved prøvetaking slik at prøver tatt før helgen, er i hende vårt laboratorium senest fredag (eller siste dag før helligdag) kl. 9.00. Vi anbefaler om nødvendig å bruke kurérpost eller utsette prøvetaking til første virkedag etter helg eller helligdag.

Adresse til sendeprøver:

Universitetssykehuset Nord Norge HF
Sentralt prøvemottak, Laboratoriemedisin
9038 Tromsø

Ved spørsmål, ta kontakt med trombocytllaboratoriet:

Tlf: 77 62 80 86

e-mail: blodplatelab@unn.no

SKJEMATISK OVERSIKT OVER TILSTANDER MED ANTISTOFF AVHENGIG TROMBOCYTOPENI

Trombocyt verdier: Referanse område: 150-450 x 10⁹/L
 Alvorlig trombocytopeni: < 50 x 10⁹/L

| * Klinisk observasjon | Typisk pasient | Diagnose | Differensialdiagnose | Side |
|---|---|---|--|------|
| Barn: Blødningstendens, Symptomer fra CNS, dødfødsel Mor: gjentatte spontane aborter | nyfødt, foster | Føtal Neonatal alloimmun trombocytopeni (FNAIT) | ITP/ATP hos mor | 11 |
| Barn: Trombocytopeni Mor: Trombocytopeni, blødningstendens | nyfødt | Neonatal autoimmun trombocytopeni | FNAIT | 13 |
| Trombocytopeni 1-2 uker etter transfusjon | Pas. med allo-antistoff mot blodplater (etter transfusjon eller graviditet) | Post transfusjons purpura (PTP) | ITP/ATP Medikamentindusert trombocytopeni | 14 |
| CCI < 7,5 ved 2 påfølgende blodplate transfusjoner | multitransfundert og/eller vært gravid flere ganger. | Transfusjonsrefraktær trombocytopeni pga. alloantistoff | ITP/ATP | 15 |
| Periodevis trombocytopeni | | ITP/ATP | SLE Medikamentindusert trombocytopeni | 17 |
| Trombocytopeni under medikamentell behandling | Pas. behandlet med Heparin eller antibiotika | Medikamentindusert trombocytopeni | ITP/ATP PTP | 18 |

* Generelle observasjoner for alle tilstander, i tillegg til trombocytopeni, kan være petekier og blødningstendens.

FØTAL NEONATAL ALLOIMMUN TROMBOCYTOPENI (FNAIT)

Dersom fosteret hos den gravide arver et blodplateantigen fra sin far, som moren ikke har, kan hun bli immunisert mot dette. Dette kan skje allerede i første trimester av svangerskapet (12,13,14).

Maternelle antistoffer av IgG klasse, kan passere placenta og føre til destruksjon av fosterets blodplater. Følgene for fosteret kan være trombocytopeni og alvorlig blødning allerede in utero, med intrakraniell blødning og/eller fosterdød som de mest dramatiske konsekvenser (15,16). Denne tilstanden, hvor mor har blodplate allo-antistoffer, er en mye mer alvorlig tilstand enn de tilfellene hvor mor har auto-antistoffer mot blodplater (ITP / ATP). Det er derfor av stor betydning å skille mellom neonatal trombocytopeni av alloimmun og autoimmun genese (17).

Diagnostikk ved føtal neonatal alloimmun trombocytopeni (FNAIT)

Relevante undersøkelser:

Direkte og indirekte trombocyt antistofftest hos mor (farens blodplater inkluderes i den indirekte testen).

Direkte trombocyt antistofftest hos far.

Blodplateantigen-typing av mor, far og barn.

Antistoff spesifisitetsbestemmelse og kvantitering hos mor.

Konklusjon:

Barn som fødes med trombocytopeni skal utredes med tanke på FNAIT.

Også ved dødfødsler og gjentatte spontane aborter bør man tenke på FNAIT.

Dersom det påvises uforlikelighet mellom mor og far i et blodplate allo-antigensystem, og

mor har allo-antistoff mot det aktuelle antigen, og

barnet har arvet dette antigenet fra faren, og

barnet fødes med trombocytopeni,

er diagnosen FØTAL NEONATAL ALLOIMMUN TROMBOCYTOPENI.

(FNAIT) FORTS.

Konsekvens:

Moren må følges opp i neste svangerskap. Intensiteten i oppfølgingen avgjøres av alvorlighetsgraden av det første observerte tilfellet med FNAIT.

Spesifisitetsbestemmelse av antistoffet er viktig. Blodplate auto-antistoff hos moren (ITP/ATP) og anti-HLA antistoffer (som er relativt hyppig hos kvinner som har vært gravide) gir vanligvis ikke alvorlig trombocytopeni hos fosteret. I tillegg er den kliniske alvorlighetsgrad avhengig av hvilket trombocyttspesifikt antistoff som er involvert. Anti-HPA 1a gir vanligvis alvorligere trombocytopeni enn f.eks anti-HPA 3a.

Kunnskap om fars genetiske konstitusjon (homozygot / heterozygot) er viktig for oppfølgingen i det neste svangerskapet. Dersom far er homozygot, vet man at fosteret vil arve det antigenet som mor har antistoff mot. Dersom far er heterozygot, er det 50% sjanse for at fosteret ikke arver det aktuelle antigenet og vil i så fall være utenfor risiko.

Hvis mor har antistoff > 200 AU/ml bør hun henvises til svangerskapskontroll på universitetssykehus. Forløsning bør skje på sykehus som kan ha forlikelige blodplater i beredskap til barnet (10,18,19).

Kvinner med genotype HPA 1bb som har vært gravide eller transfunderte, kan være utsatt for post transfusjons purpura. Dersom en kvinne som er HPA 1bb, har fått påvist anti-HPA 1a, bør hun fortrinnsvis transfunderes med komponenter fra en giver som er HPA 1bb. Post transfusjons purpura har også vært assosiert med andre trombocyttspesifikke allo-antistoffer (19,20).

Personer med anti-HPA 1a antistoffer skal ikke være blodgivere.

FØTAL NEONATAL AUTOIMMUN TROMBOCYTOPENI

Fosteret hos en gravid kvinne med autoimmun trombocytopeni og frie blodplateantistoffer av IgG klasse i serum, kan bli utsatt for immunbetinget trombocytopeni. Trombocytopenien er som regel mindre uttalt, og den kliniske tilstanden mindre alvorlig enn ved FNAIT. Det er derfor viktig å kunne skille mellom allo- og autoantistoff mot blodplater hos gravide.

Diagnostikk ved føtal neonatal autoimmun trombocytopeni

Relevante undersøkelser:

Direkte og indirekte trombocytantistofftest hos mor (farens blodplater inkluderes i den indirekte testen).
Blodplateantigen typing av mor, far og barn.
Direkte trombocytantistofftest hos far.
Antistoff spesifisitetstest hos mor.

Konklusjon:

Dersom det fødes et barn med trombocytopeni, og det påvises antistoffer på morens egne blodplater, og hun ikke har allo-antistoffer som reagerer med blodplater, er diagnosen FØTAL NEONATAL AUTOIMMUN TROMBOCYTOPENI.

Konsekvens:

Dersom en kvinne med autoimmun trombocytopeni har født et barn med trombocytopeni, bør hun observeres i påfølgende svangerskap. Man bør også være oppmerksom på at det kan være et allo-antistoff i tillegg til autoantistoffet. Dette er spesielt viktig dersom det er uforlikelighet mellom mor og far i et av de viktigste alloantigen systemene.

POST TRANSFUSJONS PURPURA (PTP)

Post transfusjons purpura er en tilstand som kan føre til alvorlig immunbetinget trombocytopeni (vanligvis $< 10 \times 10^9/L$) i løpet av 14 dager etter en transfusjon. Som regel forekommer den hos individer som er HPA 1bb, og som transfunderes med HPA 1a positivt blod. PTP har også vært sett som følge av antistoffer mot HPA 1b, HPA 3a og 3b, HPA 4b og HPA 5b. Transfusjonen som går like forut for trombocytopenien, fører til en sekundær eksponering med f. eks. HPA 1a antigenet, og en sekundær immunrespons.

Pasientens antistoffer ødelegger de tilførte blodplatene som har det korresponderende antigen. Det er vanskeligere å forklare at pasientens egne blodplater også destrueres. Man tror at immunkomplekser binder seg til pasientens egne blodplater via Fc-receptor eller via en assosiasjon mellom GPIIb/IIIa på blodplatene og immunkompleksene.

Diagnostikk ved post transfusjons purpura

Relevante undersøkelser:

Direkte og indirekte trombocytt antistofftest.
Blodplateantigen typing.
Antistoff spesifisitetsbestemmelse.

Konklusjon:

Dersom en pasient i løpet av de første 14 dagene etter en transfusjon, utvikler alvorlig trombocytopeni,

og det kan påvises et blodplate allo-antistoff (som oftest anti-HPA 1a),

og pasienten ikke har dette antigenet på sine blodplater,

er diagnosen POST TRANSFUSJONS PURPURA.

Konsekvens:

Plasmautskiftning eller intravenøst immunglobulin har i mange tilfeller vist seg å være effektiv behandling. Steroider har i noen få tilfeller gitt blodplatestigning. Gjentatte transfusjoner med forlikelige blodplater har også gitt stigning i blodplatetallet og klinisk hemostase hos noen pasienter. Transfusjoner på denne måten bør prøves ved pågående blødning (20).

REFRAKTÆRITET MOT BLODPLATETRANSFUSJONER HOS MULTITRANSFUNDERTE

Refraktæritet i mot blodplatetransfusjoner er oftest knyttet til tilstedeværelse av anti-HLA klasse 1 antistoff. I dag leukocyt-filtreres alle cellulære blodprodukter i Norge. Det er derfor få pasienter som immuniseres via transfusjoner. 30% av kvinner som har vært gravide har dannet HLA klasse 1 antistoff (21). Disse kvinnene vil kunne være refraktære mot blodplatetransfusjoner fra første transfusjon som blir gitt.

Ved refraktæritet mot blodplatetransfusjoner, er det viktig å avgjøre om det skyldes antistoffer mot blodplater. Det er som oftest antistoffer mot HLA antigener som er årsak til immunbetinget refraktæritet, men det har også vært sett at platespesifikke antistoffer og blodtype antistoffer kan gi refraktæritet.

Påvisning av antistoffer mot blodplater, og spesifisitetsbestemmelse av disse er av stor betydning når man skal finne forlikelige blodplategivere til slike pasienter.

Diagnostikk ved refraktæritet mot blodplatetransfusjoner

Relevante undersøkelser:

Direkte og indirekte trombocyt antistofftest.

Evt: Blodplateantigen typing.

Evt: Antistoff spesifisitetsbestemmelse.

Konklusjon:

Dersom en pasient har lav CCI (<7,5) etter to påfølgende blodplatetransfusjoner, og

det kan påvises alloantistoffer mot blodplater i pasientens plasma, og

det ikke er noen annen åpenbar grunn til den dårlige responsen,

regner vi med å ha en ANTISTOFF BETINGET REFRAKTÆRITET.

REFRAKTÆRITET MOT BLODPLATETRANSFUSJONER HOS MULTITRANSFUNDERTE FORTS.

Konsekvens:

Pasienten må få tilført blodplater fra forlikelig giver. Blodplategivere kan velges ut ved å gjøre forlikelighetstest. Blodplater fra de givere som pasienten ikke har antistoff mot, brukes i transfusjoner. For å få en terapeutisk dose, kan man enten blande blodplater fra flere forlikelege givere (buffy coats), eller man kan gjøre blodplateafere fra en av de forlikelege givene. Det er viktig å rekvirere forlikelege blodplater i god tid før pasienten trenger transfusjon, da erfaringen viser at i enkelte tilfeller kan det ta noe tid å finne forlikelege givere.

Selv om man kan finne forlikelege blodplater ved å selektene givere mhp. HLA antigener, spiller også andre antigener en rolle for utvikling av refraktæritet. Man vet at både blodplatespesifikke antigener og blodtypeantigener kan være involvert. Forlikelege blodplater vil være forlikeleg med hensyn til alle typer antistoffer på det tidspunkt forliket gjøres. Pasienten kan imidlertid immuniseres med antigener på giverens blodplater som den ikke har blitt eksponert for tidligere.

Ved HLA forlikelighet mellom giver og pasient, vil pasienten ikke immuniseres med nye HLA antigener. Det kan selvfølgelig tenkes at immunisering kan skje mot andre antigener, eller at pasienten allerede har antistoffer mot andre antigene-strukturer på blodplatene.

Det er holdepunkter for at forlikstesting gir bedre prediktiv verdi for vellykkede transfusjoner enn HLA forlik, siden forliktesten også tar høyde for antistoffer mot andre antigen.

På større sykehus bør man derfor i tillegg til HLA matching, også kunne utføre forlikelighetstest av blodplater.

Det er idag uvanlig å transfundere blodplater som er forlikelege med hensyn på blodplatespesifikke antigener. Enkelte laboratorier tar hensyn til blodtypeantigener ved blodplatetransfusjoner. Man vet at anti-blodgruppe A antistoff kan påvirke resultatet av blodplatetransfusjoner (19,22).

Typing av/ forlik med givere fra andre blodbanker:

Hvis pasienter, inneliggende på sykehus utenom UNN, trenger blodplate-transfusjoner og er refraktære, kan den Nasjonale behandlingstjeneste ved UNN være behjelpelig på følgende måte:

HPA typing av givere: Hvis pasienten har et anti-HPA antistoff, kan vi HPA type givere fra blodbanken knyttet til sykehuset pasienten er innlagt på.

Forlik: Hvis pasienten har anti-HLA antistoffer og / eller anti-HPA antistoff kan vi gjøre forlik evt. med givere som er funnet HLA-forlikelege med pasienten.

Til HPA typing trenges 5 ml EDTA-blod av giver. Til forlik trenges 5 ml EDTA-blod av giver og plasma fra 5 ml EDTA-blod av pasienten.

AUTOIMMUN TROMBOCYTOPENISK PURPURA (ITP / ATP)

Idiopatisk trombocytopenisk purpura (ITP) er en diagnose som vanligvis stilles når man ikke finner andre årsaker til trombocytopeni, f.eks bakteriell sepsis, akutt leukemi, trombotisk trombocytopenisk purpura, hemolytisk uremisk syndrom, SLE eller medikamentindusert trombocytopeni.

Ved ITP kan man hos inntil 80% av pasientene finne antistoffer på deres egne blodplater, det vil si autoantistoffer mot blodplater.

Påvisning av autoantistoff hos en pasient med trombocytopeni har konsekvens for diagnose og behandling.

Diagnostikk ved autoimmun trombocytopenisk purpura

Relevante undersøkelser:

Direkte trombocyt antistoff test.
Indirekte trombocyt antistoff test

Konklusjon:

Dersom en pasient med trombocytopeni har autoantistoff (IgG og / eller IgA) mot blodplater, og

ikke har andre årsaker til trombocytopenien,

er diagnosen AUTOIMMUN TROMBOCYTOPENISK PURPURA.

Konsekvens:

Trombocytopenien ved autoimmun trombocytopenisk purpura kan være alvorlig, spesielt ved den akutte formen som oftest rammer barn ($\text{trc.} < 20 \times 10^9 / \text{L}$). Det kan kreves klinisk intervensjon, f.eks Kortikosteroider, IVIG (Intravenøst gammaglobulin), eller splenektomi. Etersom pasienten har autoantistoffer mot blodplater, finner man ikke forlidelige blodplater til transfusjon. Profylaktiske transfusjoner er derfor ikke indiserte. Pasientene observeres nøye og kan transfunderes ved blødning (23). Kronisk ITP kan i perioder gi alvorlig trombocytopeni og være behandlingskrevende. Anti-CD20 (rituximab) har vist seg å være effektiv behandling hos noen pasienter (24).

MEDIKAMENTAVHENGIG TROMBOCYTOPENI

En rekke medikamenter kan være årsak til immunbetinget trombocytopeni (24,25). Akutt og alvorlig trombocytopeni (vanligvis $< 10 \times 10^9/L$) kan opptre etter inntak av medikamentet. Etter seponering, og når medikamentet er borte fra sirkulasjonen, normaliseres blodplatetallet.

Kinidin og kinin induserte antistoffer reagerer med komplekser av medikament og overflatemolekyler på blodplatene. Gullindusert trombocytopeni skyldes dannelse av regulære autoantistoffer som reagerer med blodplatene uavhengig av gull. Det er mulig å teste for en rekke medikamentavhengige blodplate-antistoffer med flowcytometrisk teknikk.

Ved mistanke om medikamentavhengig trombocytopeni er det viktig å notere hvilke medikamenter og hvor store doser pasienten har fått, samt tidspunkt for siste dose av medikamentet.

Diagnostikk ved medikamentavhengig trombocytopeni

Relevante undersøkelser:

Direkte trombocyttest (gull).
Indirekte trombocyttest med og uten medikament.
Gelkort teknikk (ved spørsmål om HIT)

Konklusjon:

Dersom en pasient mistenkes for å ha medikamentutløst immunbetinget trombocytopeni, og blodplatetallet normaliseres ved seponering, og eventuelt faller igjen ved nytt medikament inntak, bør man undersøke for medikamentavhengige antistoffer.

Dersom man påviser blodplate-assosierte antistoffer når medikament er tilstede i serum, men

ikke i rekonvalesent-serum,

er diagnosen **MEDIKAMENTAVHENGIG IMMUN TROMBOCYTOPENI**.

Ved bruk av kolloidalt gull vil man finne blodplate auto-antistoff.

Konsekvens:

Medikamentet må seponeres, og man må behandle med alternativt preparat (25,26).

Referanser

1. Skogen B, Christiansen D, Husebekk A. Flowcytometric analysis in platelet crossmatching using a platelet suspension immunofluorescence test. *Transfusion* 1995;35:832-836.
2. Skogen B, Bellissimo DB, Hessner MJ, Santoso S, Aster RH, Newman PJ, McFarland JG. Rapid determination of platelet alloantigen genotypes by polymerase chain reaction using allele-specific primers. *Transfusion* 1994;34:955-960.
3. Randen I, Sørensen K, Killie MK, Kjeldsen-Kragh J. Rapid and reliable genotyping of the human platelet alloantigens HPA-1, -2, -3, -4, -5, a/b and Gov a/b by melting curve analysis. *Transfusion* 2003. 43: 445-50.
4. Kjaer MK, Jaegtvik S, Husebekk A, Skogen B. Human platelet antigen 1 (HPA 1) genotyping with 5' nuclease assay and sequence specific primers reveals a single nucleotide deletion in intron 2 of the HPA 1a allele of platelet glycoprotein IIIa. *Br. J. Haematol* 2002. 117:405-408.
5. Killie MK, Kjeldsen-Kragh J, Randen I, Skogen B, Husebekk A. Evaluation of a new flow cytometric HPA 1a screening method. A rapid and reliable tool for HPA 1a screening of blood donors and pregnant women. *Transfusion and Apheresis Science*. 2004. 30:89-92
6. Metcalfe P, Watkins NA, Ouwehand WH, Kaplan C, Newman P, Kekomari R, de Haas M, Aster RH, Shibata Y, Smith J, Kiefel V, Santoso S. Nomenclature of human platelet antigens. *Vox Sang*. 2003.85;240-245.
7. Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, Mueller-Eckhardt C. Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for identification of platelet-reactive antibodies. *Blood* 1987;70:1722-6.
8. Kiefel V. The MAIPA assay and its applications in immunohaematology-. *Transfusion Medicine* 1992;2:181-188.
9. Bertrand G, Jallu V, Gouet M, Killie MK, Lambin P, Husebekk A, Kaplan C. Quantification of anti-HPA 1a antibodies using MAIPA procedure. Manuscript in preparation.
10. Killie MK, Kjeldsen-Kragh J, Husebekk A, Skogen B. Anti-HPA 1a antibody levels in consecutive pregnancies and development of Neonatal Alloimmune Thrombocytopenic Purpura (NAITP). Manuscript in preparation
11. Meyer O, Salama A, Pittet N, Schwind P. Rapid detection of heparin-induced platelet antibodies using the new Particle Gel Immuno Assay (ID-HPF4). *The Lancet*. 1999. 354:1525-1526
12. Kjeldsen-Kragh J, Killie MK, Aune B, Øian P, Dahl LB, Pirhonen J, Svenningsen L, Wergeland H, Lindemann R, Husby H, Haugen G, Grønn M, Skogen B, Husebekk A, An intervention program for reducing morbidity and mortality associated with allo-immune thrombocytopenic purpura. Manuscript in preparation.
13. Williamson L,M, Hackett G, Rennie J, Palmer CR, Maciver C, Hadfield R, Hughes D, Jobson S, Ouwehand WH. The natural history of foetomaternal alloimmunization to the platelet-specific antigen HPA-1a (Pl^{A1},Zw^a) as determined by antenatal screening. *Blood* 1998.92:2280-2287.
14. Burrows RF, Kelton JG. Fetal thrombocytopenia and its relation to maternal thrombocytopenia. *The NEJH* 1993. 329:1463-1466.
15. Kaplan C, Daffos E, Forestier F, Morel MC, Chesnel N, Tchernia G. Current trends in neonatal alloimmune thrombocytopenia: diagnosis and therapy. In: *Platelet immunology: Fundamental and*

Clinical aspects (eds Kaplan-Gouet C. Schlegel N. Salmon C.H and McGregor J.) 1991. 206: 267-278. John Libby Eurotext, Colloque Inserm, Paris.

16. Spencer JA, Burrows RF. Feto-maternal alloimmune thrombocytopenia: A literature review and statistical analysis. *Aust NZJ Obstet Gynaecol.* 2001. 41 (1) 45-55
17. Husebekk A, Skogen B, Christiansen D, Ellingsen L.. Neonatal alloimmun trombocytopeni; Diagnostikk, og oppfølging i svangerskapet. *Tidsskr Nor Lægeforen* nr. 10, 1996; 116: 1219-22.
18. Allen DL, Samol J, Benjamin S, Verjee S, Tusold A, Murphy MF. Survey of the use and clinical effectiveness of HPA-1a/5b-negative platelet concentrates in proven or suspected platelet immunization. *Transfus Med.* 2004. 14 (6)409-17
19. Aster RH, George JN. Thrombocytopenia due to enhanced platelet destruction by immunologic mechanisms. In: Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman MA. Eds: Hematology. New York etc. McGraw-Hill Publishing Company, 1990. p. 1370-1398.
20. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Eds. Blood transfusion in clinical medicine. London etc. Blackwell Scientific Publications, 1993. p. 686-689.
21. King E, Kao KJ, Bray PF, Casella JF, Blakemore K, Callen NA, Kennedy SD, Kickler TS. The role of <hla antibodies in neonatal thrombocytopenia: a prospective study. *Tissue Antigens* 1996. 47:206-211
22. Slichter SJ. Alloimmune refractoriness to transfused platelets. In: Garratty G, Ed: Immunobiology of transfusion medicine. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, Inc., 1994. p. 597-627.
23. Sandler SG. Review: immune trombocytopenic purpura: an update for immunhematologists. *Immunoheematol.* 2004. 20(2) 112-7
24. Sandler SG. Tutuncuoglu SO. Immune Thrombocytopenic Purpura – current management practices. *Expert Opin Pharmacother.* 2004. 5:2515-27
25. Picker SM, Gathof BS. Pathophysiology, epidemiology, diagnosis and treatment of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Eur J Med Res.* 2004. 9 (4) 180-5
26. van den Bemt PM, Meyboom RH, Egberts AC. Drug-induced thrombocytopenia. *Drug Saf.* 2004. 27 (15)1243-52