

Neues aus der Rubrik „Was tun wir bei ...?“

Positive Eigenkontrolle und/oder positiver Direkter Coombstest: Was nun?

Zusammenfassung

Die Ursachen eines positiven Direkten Coombstestes (DCT) bzw. einer positiven Eigenkontrolle sind vielfältig: sie reichen von physiologischer Immunglobulin- oder Komplement-Anlagerung über erkrankungs- und medikamentenbedingte Phänomene bis hin zu klinisch relevanten Alloantikörpern nach Transfusionen.

Als Entscheidungskriterium für eine weitere Abklärung darf nicht die Reaktionsstärke des positiven DCT dienen.

Auch hat ein alleiniger positiver DCT keine diagnostische Bedeutung, solange er nicht durch klinische und anamnestische Informationen oder zusätzliche labormedizinische Untersuchungen (Hämolyseparameter) vervollständigt ist.

Die wichtigste Frage bei einem positiven DCT ist, ob der Patient in den letzten 3–4 Wochen bis maximal 3 Monaten transfundiert wurde oder ob er Hämolysezeichen aufweist? Wenn ja, dann ist eine labormedizinische Abklärung in Form einer Elution mit anschließender Antikörperdifferenzierung erforderlich.

Summary

The reasons for a positive direct Coombstest (DCT) or a positive autocontrol are diverse. They range from the physiological binding of immunoglobulin or complement to phenomena caused by diseases or drugs to clinically relevant alloantibodies in the wake of transfusion.

The magnitude of the response of the DCT must not be a decision criterion for further evaluation.

A positive DCT is of no diagnostic relevance if not corroborated by clinical or anamnestic evidence or additional laboratory tests (for hemolysis).

The most important issue concerning a positive DCT is if the patient has been transfused during the last 3–4 weeks up to 3 months at the most or if he shows signs of hemolysis. If so, then a further evaluation in the laboratory per elution with subsequent antibody differentiation is necessary.

Als Referenzlabor und Ansprechpartner für unsere Kunden (Kliniken) werden wir täglich mit den unterschiedlichsten Problemen der einsendenden Labore konfrontiert.

Eine Frage taucht aber immer wieder auf und scheint wirklich landauf, landab Diskussionen auszulösen:

Zunächst darf man sich erst einmal freuen, denn es könnte viel schlimmer aussehen – wenn nämlich alles positiv wäre!

Aber Scherz beiseite! Ich möchte mich im Folgenden der obigen Fragestellung annehmen und diese Thematik von verschiedenen Seiten beleuchten.

Zuerst ein paar Begriffserklärungen:

- Die **Eigenkontrolle**, die hier gemeint ist, wird normalerweise bei der Kreuzprobe und/oder dem Antikörpersuchtest (AKS) im indirekten Coombstest (ICT) mitgeführt; sie setzt sich zusammen aus Patientenserum und Patientenerythrozyten.
- Für den **direkten Coombstest**, der nun im Anschluss oft durchgeführt wird oder manchmal routinemäßig bereits mitläuft, setzt man nur die Patientenerythrozyten ein (möglichst Erythrozytensuspension aus gewaschenem EDTA- oder Citratblut verwenden, um eine „in vitro-Anlagerung“ zu verhindern!).



„Was tun wir bei positiver Eigenkontrolle bzw. positivem Direktem Coombstest und gleichzeitig negativem AKS und negativer Kreuzprobe? Weiter abklären?“

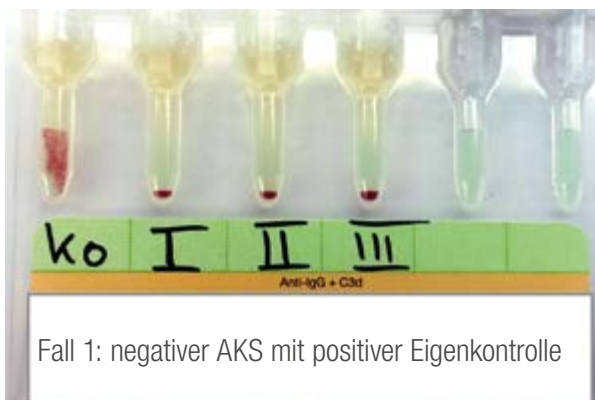


Abbildung 1

- Der **direkte Coombstest** (DCT; oft auch als DAT (Direkter Antiglobulintest) bezeichnet) dient zum Nachweis einer „**in vivo Beladung**“ der Erythrozyten mit:
 - Immunglobulinen
 - Komplement
 - oder beidem
- Bei der **Elution**, die zur Abklärung des positiven DCT durchgeführt wird, werden die Antikörper von den Patientenerthrozyten abgesprengt und anschließend differenziert.

DIE URSACHEN, WARUM EIGENKONTROLLE BZW. DIREKTER COOMBSTEST ISOLIERT POSITIV SEIN KÖNNEN, SIND VIELFÄLTIG

Ein Problem stellen die hoch sensitiven Nachweismethoden dar, die auf der einen Seite ja erwünscht sind, um niedrigtitrige Antikörper zu detektieren. Andererseits überschneiden sich aber die Normbereiche mit den Nachweisgrenzen auf Gelkarten (oder in der Capturetechnik) wie folgend dargestellt:

Normbereich (Kleinste Mengen IgG und C3d sind immer auf den Erythrozyten vorhanden, sozusagen physiologisch):

- 5–100 Moleküle IgG/Erythrozyt
- 5–500 Moleküle C3d/Erythrozyt

Nachweisgrenze auf Gelkarten:

- 100–500 Moleküle IgG/Erythrozyt
- 400–1.100 Moleküle C3d/Erythrozyt



Abbildung 2

Dies bedeutet, dass nicht jeder positive DCT eine **klinische Relevanz** (z. B. in Form einer verkürzten Überlebenszeit der Erythrozyten) **besitzt!** Bei 1 % der Blutspender und ca. 10 % aller hospitalisierten Patienten ist der DCT positiv!

Weitere Ursachen für einen positiven DCT sind Erkrankungen und/oder Therapien (Medikamente):

- **Unspezifische Bindung von Antikörpern an die Erythrozyten bei Erkrankungen mit erhöhtem Immunglobulinspiegel:**
 - Plasmozytom
 - Morbus Waldenström
 - Sichelzellanämie
 - β -Thalassämie
 - Nierenerkrankungen
 - Multiple Myelome
 - Autoimmunerkrankungen
 - Leberzirrhose
- **Hochdosierte Therapie mit Immunglobulinen**
- **Adsorptionsveränderung der Erythrozyten-Membran gegenüber körpereigenen Proteinen (IgG, Komplement),** z. B. bei Cephalosporintherapie
- **Krankheitsbedingt unspezifische Komplement-Aktivierung,** z. B. durch Bakterien bei Sepsis
- **Chimärische Antikörper nach Knochenmark- bzw. Stammzell- oder Organtransplantation** – „Empfänger gegen Spender“ oder umgekehrt
- **Passiver Transfer von Antikörpern bei Gabe von Blutprodukten,** z. B. Isoagglutinine/Isohämolyse bei der Transfusion von plasmahaltigen Thrombozytenkonzentraten (minorinkompatible Transfusion)
- **Medikamentenbedingte Anlagerung von IgG** (dieses Phänomen tritt sehr häufig auf, weshalb man den Zusammenhang noch näher erklären sollte): Das Medikament lagert sich am Erythrozyten an und bildet eine Art Antigen (Neo-Antigen), worauf das Immunsystem nun reagiert und Antikörper gegen dieses fremde Antigen produziert. Die Antikörper sind in diesem Fall nicht gegen Blutgruppenantigene gerichtet, sondern direkt gegen das Medikament, sodass man nach der Antikörperabsprengung im Eluat keine erythrozytären Antikörper nachweisen kann!
- **Medikamente können allerdings auch die Bildung von Auto-Antikörpern auslösen bzw. begünstigen.** Man geht davon aus, dass hier die Supressorzellen unterdrückt werden und so Auto-Antikörper gegen die

eigenen Blutgruppen-Antigene (meist Rh-Merkmale) gebildet werden (beispielsweise Auto-Anti-e). Dieses Phänomen kann sich je nach IgG-Subtyp und Stärke der Beladung in einer autoimmunhämolytischen Anämie (AIHA) äußern!

Womit wir nun bei den meiner Ansicht nach wirklich relevanten und eine Abklärung erfordernden Ursachen eines positiven DCT angekommen wären:

- **Autoimmunhämolytische Anämie (AIHA)** durch Wärme-Auto-Antikörper oder Kälte-Auto-Antikörper. Hier dient die Abklärung meist zur Diagnosestellung bzw. -Sicherung. Bei der Abklärung findet man mitunter eine Spezifität des Auto-Antikörpers (z.B. Auto-Anti-e). In den meisten Fällen haben Wärme-Auto-Antikörper aber eine breite Spezifität (gerichtet gegen die „Rh-Grundsubstanz“) und reagieren somit mit allen Testzellen!
- **Alloantikörper (IgG) im mütterlichen Blut**, die die Plazenta passieren, an den fötalen Erythrozyten binden und so einen MHN auslösen können. Vor einer Transfusion des Neugeborenen ist unbedingt abzuklären, warum der DCT positiv ist. Dazu kann man auch eine Antikörperdifferenzierung mit dem mütterlichen Serum durchführen, wenn man von dem Neugeborenen zu wenig Blut für eine Elution hat. Achtung: auch eine Rh-Prophylaxe verursacht meist einen schwach positiven DCT beim Neugeborenen, der nicht weiter abgeklärt werden muss, wenn die Information über die durchgeführte Prophylaxe gesichert ist und bei der Mutter keine Alloantikörper bekannt sind.
- **Alloantikörper im Plasma eines Empfängers**, die mit den Erythrozyten-Antigenen des transfundierten Blutes reagieren und dadurch hämolytische Transfusionsreaktionen verursachen können. In die-

sen Fällen ist der DCT oft nur schwach positiv, da ja nur die transfundierten, AK-beladenen, aber noch nicht abgebauten Spendererythrozyten reagieren. Gerade bei den gefährlichen transfusionsrelevanten Kidd-Antikörpern, die dafür bekannt sind, schnell unter die Nachweisgrenze zu rutschen, kann das Bild nach einer Boosterung durchaus mal so aussehen, wie es die **Abbildungen 3 und 4** zeigen. Oder es ist sogar nur C3d positiv und trotzdem können wir dann mit Hilfe einer Elution den Antikörper nachweisen, der sich momentan nur auf den transfundierten, im Kreislauf zirkulierenden, Erythrozyten befindet und im Serum noch nicht bestimmen lässt!

ENTSCHEIDUNGSKRITERIUM REAKTIONSTÄRKE?

Ob die positive Eigenkontrolle bzw. der positive DCT weiter abgeklärt werden sollte, darf also nicht von der Reaktionsstärke abhängen, sondern vielmehr muss die Anamnese des Patienten im Vordergrund stehen!

Denn, wie oben beschrieben, verbirgt sich hinter schwach positiven Reaktionen nicht selten ein geboostertes Anti-Jk(a) (Anti-Kidd a). Oder, die Entscheidung für eine weitere Abklärung davon abhängig zu machen, ob es sich um eine IgG- od. C3d -Anlagerung handelt, kann genau in diesem Fall falsch sein, denn ein niedrigtitriger Kidd-AK zeigt sich manchmal nur über die Komplementaktivierung!

Fragestellung bei positiver Eigenkontrolle bzw. positivem direkten Coombstest:

Wurde der Patient kürzlich transfundiert?

- Zeitrahmen: in den letzten 3–4 Wochen, max. 3 Monaten!

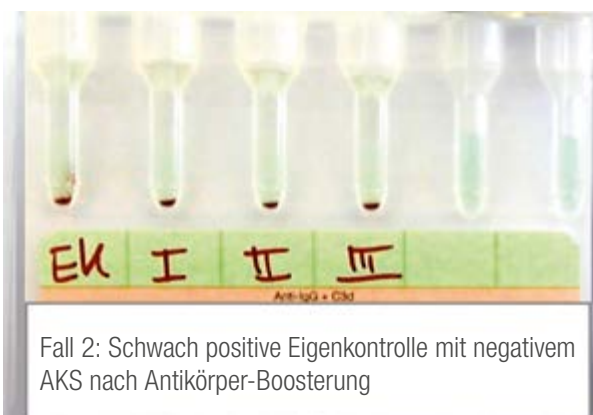


Abbildung 3



Abbildung 4

Wenn Ja, sind weitere Abklärungen notwendig (Elution)

- Nach erstmaliger Transfusion können AK in der Regel frühestens nach 1–2 Wochen (meist etwa nach 4 Wochen) nachgewiesen werden.
- Nach vorangegangenen Transfusionen oder Schwangerschaften können die AK durch eine erneute Immunisierung bereits schon nach zwei Tagen auftreten = sog. Boostereffekt! Wenn der Titer so angestiegen ist, dass die freien Antikörper im Serum nachgewiesen werden können, ist „die Gefahr gebannt“¹ und man kann kompatible (= Antigen-negative) Erythrozytenkonzentrate bereitstellen. Kritisch für die immunhämatische Laboruntersuchung sind freilich die ersten Tage nach der Boosterung, da sich die anfangs noch wenigen Antikörper an die Antigen-positiven Erythrozyten binden und der Antikörpersuchtest und die Kreuzprobe daher negativ ausfallen. Hier geben nur eine positive Eigenkontrolle und ein positiver DCT den Hinweis, dass sich „etwas entwickelt“.

Sollten die Informationen über stattgefundenere oder fehlende Vortransfusionen (Transfusionsanamnese) nur schwer abrufbar sein (Patient nicht ansprechbar, war vorher in einer anderen Klinik etc.), dann könnten folgende **Laborwerte (bzw. deren Dynamik) einen Hinweis auf hämolytische Ereignisse geben:**

- **Hb** erniedrigt bzw. gefallen
- **HCT** erniedrigt bzw. gefallen
- **Bilirubin** erhöht bzw. gestiegen
- **LDH** erhöht bzw. gestiegen
- **Haptoglobin** erniedrigt bzw. gefallen
- **Retikulozytenzahl** erhöht bzw. gestiegen

Zugegebenermaßen sind die Fälle sehr selten, bei denen der geboosterte Antikörper nur auf den transfundierten Erythrozyten zu finden und nicht im Plasma/Serum des Patienten nachweisbar ist. Aber sie kommen eben vor und sind einer der Hauptgründe, warum man die isoliert positive Eigenkontrolle bzw. den positiven DCT überhaupt abklären sollte.

In den allermeisten Fällen allerdings laufen die Abklärungen ins Leere, da es sich entweder um physiologische Anlagerungen (s. Normbereiche und Nachweisgrenze) oder um krankheits- bzw. medikamentenbedingte Phänomene handelt (wie bereits beschrieben)! **Tabelle 1** zeigt einige der Medikamente auf, die für einen positiven DCT verantwortlich sein können.

Nun stellt sich noch die Frage: Was machen wir bei Patienten mit einem bereits bekannten, abgeklärten positiven DCT, die regelmäßig transfundiert werden (z. B. in der Onkologie) und somit unter die Rubrik „vortransfundiert“ fallen? Ist hier der DCT jedes Mal erneut abzuklären? Das würde in manchen Fällen bedeuten, alle 2–3 Tage eine Elution mit anschließender Differenzierung durchzuführen. Das kann nicht sinnvoll sein und verbietet sich in der heutigen von Sparmaßnahmen geprägten Zeit ohnehin!

Wir haben in unserem Labor aufgrund langjähriger Erfahrung folgende Vorgehensweise festgelegt: Sofern sich die Untersuchungsergebnisse von AKS und Kreuzprobe nicht verändern, also negativ bleiben, und auch die Reaktionsstärke des DCT nicht groß variiert, klären wir den DCT nach ca. 3 Monaten erneut ab. Natürlich sollte man hier immer die Hämolyseparameter im Blick haben.

KÖNNEN UNS DIE HÄMOTHERAPIE- RICHTLINIEN HELFEN?

Bei immunhämatischen Fragestellungen sucht man gerne und oft Rat und Hilfe im Abschnitt „Blutgruppenserologische Untersuchungen bei Patienten“ der Richtlinien².

Die Ausführungen zum direkten Coombstest (4.2.5.7.2 Direkter AHG-Test) sind allerdings recht knapp gefasst und helfen meist nicht viel weiter:

„Der direkte AHG-Test dient dem Nachweis von Antikörpern und Komplementfaktoren, die sich in vivo an die Probanden-Erythrozyten gebunden haben (z. B. Auto-

Medikamente, die einen positiven DCT verursachen können

Alpha-Methyldopa	Erythromycin	Penicilline
Aldomet	Fluoracil	Probenezid
Carbimazol	Ibuprofen	Procainamid
Chinin	Insulin	Rifampicin
Cephalosporine	Levodopa	Streptomycin
Cisplatin	Metamizol	Sulfonamide
Diclofenac	Methadon	Tetracycline
Doxepin	Methotrexat	...

Tabelle 1

antikörper, Antikörper der Mutter bei Morbus haemolyticus neonatorum, Alloantikörper gegen Erythrozyten bei Transfusionsreaktionen). Der direkte AHG-Test sollte mit mindestens zwei verschiedenen polyspezifischen AHG-Reagenzien durchgeführt werden. Bei positivem Ausfall sind weitere Untersuchungen zur Klärung durchzuführen.“

Ich würde mir wünschen, dass in der nächsten Gesamtnovelle der Richtlinien, die wohl für 2016 zu erwarten ist, die Ausführungen zum DCT etwas modifiziert bzw. erweitert werden. So sollte statt der Festlegung auf zwei verschiedene polyspezifische Reagenzien auch die Option für den Einsatz monospezifischer Antiseren offen gelassen werden.

Auch die Formulierung „weitere Untersuchungen zur Abklärung“ sollte überdacht werden. Die Ansicht ist nämlich weit verbreitet, dass die Richtlinien hier weitere labortechnische Untersuchungen fordern oder empfehlen. Tatsächlich aber gehört zu dem sich anschließenden Untersuchungsgang – wie oben von mir dargestellt – unbedingt und oftmals vorrangig die anamnestiche Abklärung, die nicht selten weitere aufwendige Laboruntersuchungen unnötig erscheinen lässt.

Wünschenswert wäre auch, wenn auf die von mir dargestellte Problematik der Patienten mit dauerhaft positiven DCT eingegangen würde. Hier sollte richtlinienseitig der Spielraum gegeben (und damit auch durch die Richtlinien als „Instanz“ gestützt) werden, Einzelfallentscheidungen zu treffen, wie häufig der positive DCT immer wieder abgeklärt werden muss.

ABSCHLIESSEND EIN FALLBEISPIEL ZU DIESER THEMATIK:

Eine Klinik ließ bei einem transfusionsbedürftigen Neugeborenen den positiven DCT nicht abklären und orderte ohne Vorbefunde der Mutter beim Blutspendedienst ein Erythrozytenkonzentrat der Blutgruppe 0 Rh negativ ccddee („das geht ja bekanntlich immer...“). Niemand (weder das anfordernde Kliniklabor noch der Blutspendedienst) hatte zum Zeitpunkt der Bestellung Informationen über die Blutgruppe oder evtl. vorhandene Alloantikörper der Mutter und die Blutgruppe des Kindes!

In diesem Fall war nun wirklich „alles möglich“ und der positive DCT des Kindes konnte folgende Ursachen haben:

- Klinisch relevante Alloantikörper der Mutter z.B. Anti-c, Anti-e, Anti-Fy(a), Anti-Jk(a) ...
- Isohämolyse der Mutter (immunes Anti-A und/oder Anti-B)
- Rhesusprophylaxe
- Rhesusprophylaxe, Alloantikörper und Isohämolyse

Ohne eine Abklärung des DCT oder einer Antikörperdifferenzierung aus dem mütterlichen Serum darf hier nicht einfach ein Erythrozytenkonzentrat der Blutgruppe 0 Rh negativ ccddee bestellt werden.

Der positive DCT des Kindes könnte ja auf Antikörper der Mutter mit der Spezifität Anti-c zurückzuführen sein – dann wäre die Konstellation „ccddee“ eben nicht kompatibel. Und wenn bei der Mutter beispielsweise ein Anti-Fy(a) vorliegen würde, müsste man unbedingt ein entsprechend Antigen-negatives Erythrozytenkonzentrat (Fy(a)negativ) zur Verfügung stellen.

In der gleichen Nacht (gegen Mitternacht!) wollte jene Klinik aber die positive Eigenkontrolle eines älteren orthopädischen Patienten abklären lassen, bevor dieser am nächsten Tag zur OP (TEP) anstand! Dieser Patient hatte keine Vortransfusionen erhalten und zeigte auch sonst keine Auffälligkeiten in Bezug auf Hämolysezeichen. Hier war meines Erachtens nach eine Abklärung überflüssig (zumindest aber fragwürdig, und schon gar nicht so präsent, dass man den „Nachtdienst“ beschäftigen müsste). Der positive DCT war mit Sicherheit durch die Medikation (Schmerzmittel) verursacht. Die Liste der Medikamente, die einen positiven DCT verursachen können, ist mittlerweile sehr lang und wächst stetig weiter!

Die Autorin



Manuela Krause

Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes
Institut für Transfusionsmedizin Augsburg
Westheimer Straße 80
86156 Augsburg
m.krause@blutspendedienst.com

Die Literaturhinweise zu diesem Artikel finden Sie im Internet zum Download unter: www.drk-haemotherapie.de