

Welche Relevanz haben Isohämolsine in Pool-Thrombozytenkonzentraten?

Dr. med. Detlev Nagl

Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes
gemeinnützige GmbH
Institut für Transfusionsmedizin Augsburg
Westheimer Straße 80
D-86156 Augsburg

Zusammenfassung

Bei ABO-ungleicher Transfusion von Thrombozytenkonzentraten (TK) werden dem Patienten mit dem Spenderplasma gegebenenfalls relevante Antikörper (z. B. mit einem TK der Blutgruppe O Anti-A und Anti-B) übertragen. Wenn es sich dabei um immune Formen von Anti-A und/oder Anti-B (Isohämolsine) handelt, kann dies unter Umständen zu einer hämolytischen Transfusionsreaktion führen. Gefährdet sind hier vor allem pädiatrische Patienten mit einem geringen Körpergewicht (unter 25 kg).

Wenn bei der Herstellung von Pool-TK das Plasma durch Additivlösung ersetzt wird, sind in den Präparaten zumeist keine Hämolsine mehr nachweisbar bzw. von so niedrigem Titer, dass sie keine Relevanz im Sinne einer möglichen Patientengefährdung haben.

Summary

In case of non-ABO-identical transfusion of platelet concentrates possibly relevant antibodies are transferred in to the patient with the donor plasma (e.g. anti-A and anti-B with a platelet concentrate of blood group O). If this concerns the immune forms of anti-A and anti-B (isohemolysins), it may in some cases lead to a hemolytic transfusion reaction. At risk are especially pediatric patients with a low body weight (less than 25 kg).

If during the preparation of pooled platelet concentrates the plasma is replaced by additive solution, in most cases hemolysins are no longer detectable in the products or of such a low titer so that they have no relevance to a potential safety hazard for the recipient.

Blutprodukte sind mitunter rar. Daher lässt sich der Idealfall einer ABO-gleichen Transfusion nicht immer realisieren.

Will man Erythrozytenkonzentrate (EK) ABO-ungleich, aber ABO-kompatibel transfundieren, so muss man die „Majorkompatibilität“ zwischen Spendererythrozyten und Empfängerenserum beachten (beispielsweise EK der Blutgruppe O für Patient mit Blutgruppe A: „passt“). Eine **Minor**-kompatibilität bzw. -inkompatibilität zwischen „Konservenplasma“ und Patientenerythrozyten spielt heutzutage, da Erythrozytenkonzentrate (zumindest in Deutschland) ausnahmslos mit Additivlösung und daher praktisch plasmafrei zur Verfügung gestellt werden, keine Rolle mehr.

Anders sieht es bei der Transfusion von Thrombozytenkonzentraten (TK) aus. Mehrheitlich enthalten Thrombozytenkonzentrate derzeit noch neben dem Wirkstoff Thrombozyten auch eine relativ große Menge an Plasma. Daher muss bei diesen Präparaten sowohl die Major- wie auch die Minorkompatibilität zumindest bedacht und möglichst berücksichtigt werden.

Thrombozyten besitzen ABH-Antigene auf ihrer Membran – wenn auch

nicht in der Dichte und Ausprägung wie sie Erythrozyten aufweisen. Eine majorinkompatible TK-Transfusion führt zwar nicht zu einer mit der Transfusion von inkompatiblen Erythrozyten vergleichbaren Reaktion, aber zumindest muss mit einem forcierten Abbau der ABO-inkompatiblen Thrombozyten und damit einer Minderung bzw. Verkürzung des Transfusionserfolgs gerechnet werden.

Was die „Minor-Seite“ betrifft: Hier werden bei ABO-ungleicher Transfusion dem Patienten mit dem Spenderplasma gegebenenfalls relevante Antikörper „passiv“ übertragen (z. B. mit einem TK der Blutgruppe O Anti-A und Anti-B). Insbesondere wenn es sich dabei um immune Formen von Anti-A und/oder Anti-B handelt (also nicht nur um Isoagglutinine, sondern um **Isohämolsine**), kann dies unter Umständen zu unerwünschten Wirkungen im Sinne einer hämolytischen Transfusionsreaktion führen. Bei normalgewichtigen, erwachsenen Patienten ist dies zwar äußerst selten. Deutlich gefährdeter sind aber pädiatrische Transfusionspatienten. Dementsprechend raten auch die Hämotherapie-Richtlinien der Bundesärztekammer: „Bei Kindern mit einem Körpergewicht unter 25 kg sollte eine Transfusion von Plasma(minor)-inkompatiblen Thrombozyten (z. B. O → A) vermieden werden.“

Daher werden plasmahaltige TK in der Pädiatrie praktisch ausschließlich AB0-gleich transfundiert.

Im nicht-pädiatrischen Bereich schafft man dieser „Hämolsin-Problematik“ dadurch Abhilfe, dass man den Hämolsintiter der Thrombozytenkonzentrate bzw. ihrer Spender jeweils aktuell bestimmt und Präparate mit riskant höheren Hämolsin-Titern (dazu später!) entsprechend auf dem Etikett ausweist bzw. für AB0-ungleiche Transfusionen nicht zur Verfügung stellt.

Oder man reduziert die Menge an passiv übertragbaren Isohämolsinen auf ein vernachlässigenswertes Minimum, indem man das Plasma aus dem TK weitgehend entfernt und durch eine Plasmaersatzlösung (offizielle Bezeichnung für Additivlösung) ersetzt.

Der Blutspendedienst des BRK änderte nicht zuletzt deswegen Mitte 2012 die Herstellung seiner Pool-TK (Thrombozytenkonzentrate aus den sog. buffy coats von 4 AB0-gleichen Vollblutspenden): Während bis dahin plasmahaltige Pool-TK (unter Verwendung einer Einheit Plasma von 1 der 4 Vollblutspenden) hergestellt wurden, werden mittlerweile ausschließlich Pool-TK mit Additivlösung (PAS-IIIM-Plasmaersatzlösung) **(1)** produziert.

Bei der Vorbereitung dieser Herstellungsänderung wurde intern auch die Frage aufgeworfen, inwiefern dadurch tatsächlich und **belegbar** der Hämolsingehalt der Präparate in unkritische Bereiche erniedrigt wird und ob dadurch auf eine Bestimmung des Hämolsintiters bei diesen „neuen“ Präparaten verzichtet werden kann.

Zu konstatieren ist nämlich, dass die Literatur zu dieser Fragestellung relativ wenig hergibt. Mit am ergiebigsten ist hier noch eine im Jahr 2005 in Vox Sanguinis **(2)** veröffentlichte Umfrage („International Forum“) unter zahlreichen europäischen Blutspendezentren sowie Einrichtungen in USA, Australien und Japan.

Stark verkürzt sehen die Informationen, die man dieser Umfrage entnehmen kann, so aus:

- Grundsätzlich ist die Definition eines (wissenschaftlich fundierten) Grenzwertes, ab dem ein Hämolsintiter als riskant bezeichnet werden kann, schwierig.
- In etlichen Zentren gibt es diesbezüglich eigene (eher empirisch-pragmatisch abgeleitete) Festlegungen auf Titerbereiche zwischen 1 : 64 und 1 : 128.
- Titer unterhalb von 1 : 64 werden allgemein als unkritisch angesehen.
- Zentren, die den Plasmagehalt von Thrombozytenkonzentraten durch „Einengen“ oder mittels Plasmaersatzlösung verringern, thematisieren einen möglicherweise kritischen Hämolsintiter gar nicht.

Eine neuere Studie (2012 veröffentlicht in Transfusion) **(3)** belegt, dass



es **den** kritischen Titer von Anti-A und Anti-B bei der plasmainkompatiblen Thrombozytentransfusion nicht gibt. Die Titerhöhe erlaubt keine Vorhersage, ob es bei einem Patienten zu einer transfusionsbedingten Hämolyse kommt oder nicht. Im Gegenteil: Thrombozytenkonzentrate ein und desselben Spenders mit gleichbleibend hohem Titer, die bei einem Patienten zu einer hämolytischen Reaktion geführt haben, wurden von mehreren anderen Patienten problemlos vertragen.

Und umgekehrt: Thrombozytenkonzentrate eines Spenders mit einem Antikörper-Titer, der sich bei vielen Patienten als unproblematisch zeigte, riefen plötzlich und unerwartet bei einem anderen (entsprechend disponierten?) Patienten eine Hämolyse hervor. Kurzum: „ABO antibody titers are not predictive of hemolytic reactions due to plasma-incompatible platelet transfusions“ (so der Titel des besagten Beitrags).

Zu bedenken ist bei der Diskussion eines „kritischen Titers“ auch noch, dass es keinen „Goldstandard“ für die „Hämolsinbestimmung“ gibt. Allenfalls finden unterschiedliche Methoden Anwendung: die Palette reicht von relativ simplen und wenig empfindlichen hin zu hochartefiziellen mit hoher Sensitivität und/oder Spe-



zifität. Da je nach verwendeter Methode die Ergebnisse mehr oder weniger differieren können, sind Hämolsintiter aus verschiedenen Laboren bzw. auf der Basis von unterschiedlichen Methoden nur bedingt vergleichbar.

All diese Prämissen berücksichtigend wurde im BSD/BRK folgende Studie entworfen, organisiert und durchgeführt:

Studienziel

Es sollte untersucht werden, ob gepoolte TK mit Additivlösung noch relevante Titer von Anti-A und Anti-B aufweisen bzw. diesbezüglich tatsächlich unproblematisch sind („unter 1 : 64“) und eine „Hämolsintestung“ bei diesen Präparaten daher obsolet ist. In diesem Zusammen-

hang wollten wir auch überprüfen, inwieweit der Hämolsintiter der jeweiligen zu einem 4er-Pool zusammengeführten Spender Auswirkungen auf den Hämolsintiter des Endpräparates hat.

Außerdem sollte ein Vergleich der bisherigen Produkte (Pool-TK in Plasma) mit den neuen Produkten ermöglicht werden.

Studiendesign

Bei 22 Pool-TK mit Plasma sowie den zugehörigen 88 Spendern wurden die Titer der gegebenenfalls vorhandenen Hämolsine gegen A und B bestimmt und zum Vergleich bei 20 Pool-TK mit Additivlösung und den jeweiligen 80 Spendern.

Untersuchungsmethode

Für die insgesamt 210 Hämolysinbestimmungen wurde eine -im Vergleich zu den verbreiteten (manchmal eher grobschlächtigen) Tests- recht ausgeklügelte, aber effektive Methode unter Verwendung von Neutr-AB II (Medion Diagnostics) eingesetzt:

Der Test basiert auf dem Umstand, dass Anti-A und Anti-B, welches nicht durch Blutgruppensubstanzen neutralisiert werden kann, zumeist IgG ist. Dementsprechend besteht das Reagenz Neutr-AB II aus wasserlöslichen A- und B-Antigenen (extrahiert aus Schweine- und Pferde-Magenschleimhäuten). Diese werden dem Serum der Blutspender bzw. dem Plasma der Präparate zugesetzt



und neutralisieren die Isoagglutinine (IgM) gegen A(1) und B. Anschließend wird das Serum (bzw. Plasma) im indirekten Coombstest gegen A(1) und B- Testerythrozyten auf vorhandene (nicht neutralisierte = IgG) Isohämolysine gegen A(1) und B ge-

prüft. Im indirekten Coombstest aufgetretene Agglutinationen (positive Reaktion) weisen auf das Vorhandensein immuner Antikörper hin. In diesem Falle schließen sich Verdünnungsansätze zur Titration an.

Ergebnisse

In **Tabelle 1** sind die Untersuchungsergebnisse der beiden Pool-TK-Arten – mit Plasma und mit Additivlösung – einander gegenübergestellt. Es zeigt sich eine deutliche Reduzierung der Hämolysinbelastung in den Pool-TK mit Additivlösung im Vergleich mit den plasmahaltigen Pool-TK : In 16 von 20 TK mit Additivlösung konnten überhaupt keine Hämolysine gegen A und in 15 Fällen keine gegen B festgestellt werden, während dies bei den TK mit

Vergleich der beiden Pool-TK-Produkte

Titerstufe	Pool-TK mit Plasma (n=22)		Pool-TK mit Additivlösung (n=20)	
	Häufigkeit Anti-A	Häufigkeit Anti-B	Häufigkeit Anti-A	Häufigkeit Anti-B
negativ	1	2	16	15
1:2	3	3	2	4
1:4	5	7	-	1
1:8	5	3	2	-
1:16	4	3	-	-
1:32	1	2	-	-
1:64	3	2	-	-

Tabelle 1

Plasma nur für 1 (bezogen auf Anti-A) bzw. 2 (bezogen auf Anti-B) zutrifft.

Während zwei (für Anti-A) bzw. drei (für Anti-B) der plasmahaltigen TK einen Titer von 1: 64 aufwiesen und damit zumindest in den Grenzbereich der Kritikalität kamen, war der höchste Titer bei den TK mit Additivlösung bei 1: 8 (zwei Präparate).

Daraus ist zu folgern, dass Isohämolysine in Pool-TK mit Additivlösung keine Relevanz haben.

Die Einzelbetrachtung der untersuchten Präparate, bei der neben dem Hämolysingehalt des Präparates auch die Hämolysintiter der zugrundeliegenden Blutspender bestimmt wurden, ergibt weitere, zumindest nicht ganz uninteressante Aspekte. Hier ist vorzuschicken, dass es sich bei den Spendern 1 bis 4 in den **Tabellen 2 bis 7** um die Spender der verwendeten buffy coats handelt; zusätzlich wurde bei den TK mit Plasma (**Tabellen 2, 3 und 4**) das Plasma von Spender 1 als „Trägerflüssigkeit“ für das Thrombozytenkonzentrat verwendet.

Tabelle 2 zeigt, dass sich (erwartungsgemäß) die Hämolysintiter des Spenders, dessen Plasma verwendet wird, am meisten auf den Hämolysintiter des Präparates auswirken.

Einzelbetrachtung Pool-TK Nr. 1

PLASMA (von Spender 1)	Titerstufe Anti-A(1)	Titerstufe Anti-B
Pool-TK #1	1:4	1:16
Spender 1	1:4	1:16
Spender 2	1:2	negativ
Spender 3	1:64	1:64
Spender 4	1:16	1:2

Tabelle 2

Einzelbetrachtung Pool-TK Nr. 13

PLASMA (von Spender 1)	Titerstufe Anti-A(1)	Titerstufe Anti-B
Pool-TK #13	1:16	1:8
Spender 1	1:64	1:8
Spender 2	negativ	negativ
Spender 3	1:16	1:8
Spender 4	1:8	1:32

Tabelle 3

Einzelbetrachtung Pool-TK Nr. 22

PLASMA (von Spender 1)	Titerstufe Anti-A(1)	Titerstufe Anti-B
Pool-TK #22	1:64	1:16
Spender 1	1:64	negativ
Spender 2	1:64	negativ
Spender 3	1:8	1:32
Spender 4	1:16	1:64

Tabelle 4

Einzelbetrachtung Pool-TK Nr. 28

ADDITIV	Titerstufe Anti-A(1)	Titerstufe Anti-B
Pool-TK #28	negativ	negativ
Spender 1	1:16	1:4
Spender 2	1:16	1:32
Spender 3	1:16	negativ
Spender 4	1:32	1:32

Tabelle 5

Einzelbetrachtung Pool-TK Nr. 32

ADDITIV	Titerstufe Anti-A(1)	Titerstufe Anti-B
Pool-TK #32	1:2	1:4
Spender 1	1:64	1:32
Spender 2	1:4	1:2
Spender 3	negativ	1:4
Spender 4	> 1:64	> 1:64

Tabelle 6

Einzelbetrachtung Pool-TK Nr. 35

ADDITIV	Titerstufe Anti-A(1)	Titerstufe Anti-B
Pool-TK #35	1:8	negativ
Spender 1	1:64	1:8
Spender 2	> 1:64	1:8
Spender 3	> 1:64	1:4
Spender 4	1:64	1:32

Tabelle 7

Tabelle 3 zeigt aber, dass trotz eines relativ hohen Hämolsintiters (1 : 64 bei Anti-A(1)) des „maßgeblichen“ Spenders 1 auch bei Pool-TK mit Plasma eine Reduzierung des Hämolsingehalts im Präparat erreicht wird, wenn die übrigen drei Spender vergleichsweise niedrige Titer aufweisen.

Demgegenüber macht **Tabelle 4** deutlich (siehe Anti-B), dass hohe Titer von zwei „buffy coat-Spendern“ sich auf den Titer des Präparates auswirken, selbst wenn der „Plas-

maspender“ und ein weiter buffy coat-Spender „hämolsinfrei“ sind.

Die **Tabellen 5, 6** und **7** zeigen Pool-TK mit Additivlösung in der Einzelbetrachtung. Ist die Hämolsinbelastung nur mittelgradig (**Tabelle 5**), sind im Endpräparat keine Hämolsine mehr nachzuweisen bzw. zu erwarten. Auch einzelne Spender mit relativ hohen Titern (**Tabelle 6**) belasten das Präparat kaum. Und selbst mehrere Spender mit hohem Titer (**Tabelle 7**) stellen keine kritische Größe für das Endpräparat dar.

Zusammenfassung

Ischämolsine gegen A und/ oder B haben keine Relevanz in Pool-Thrombozytenkonzentraten mit Plasmaersatzlösung (Additivlösung). Bei diesen Präparaten erübrigt sich daher auch die sog. Hämolsintestung (Bestimmung der Anti-A und Anti-B-Titer), die eine Weitergabe von diesbezüglich riskanten Präparaten v. a. an pädiatrische Patienten verhindern soll. Generell ist bei diesen Thrombozytenkonzentraten eine Berücksichtigung des Hämolsintiters bei AB0-ungleicher Transfusion nicht notwendig.

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz herzlich bedanken bei:
Frau Brigitte Hoffmann für die Konzeption und Organisation der „Hämolsin-Studie“, Frau Anke Liebhart und Frau Anna-Maria Ritter für die Durchführung und Auswertung der Laboruntersuchungen, Herrn Dr. Thomas Willemsen für die Bewertung der Ergebnisse und die Zusammenfassung in einer Präsentation als Basis für den vorliegenden Artikel.

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