



AKADEMISKA
SJUKHUSET

HLA matchade trombocyter

Torsten Eich
Klinisk immunologi och
transfusionsmedicin
Uppsala

Regionmöte Transfusionsmedicin Uppsala
170315

HLA matchade trombocyter

Vad kommer vi att ta upp idag...?

- Varför behöver vi `speciella´ trombocyter?
- Vilken roll spelar HLA?
- Vilka riktlinjer finns det?
- Hur gör vi praktiskt?



AKADEMISKA
SJUKHUSET

HLA matchade trombocyter

Varför behöver vi `speciella` trombocyter?



**AKADEMISKA
SJUKHUSET**

Trombocytopeni

- Trombocytvärde under $150 - 350 \times 10^9/L$ (= normal område)
- Spontana blödningar uppträder oftast först vid $TPK < 20-30 \times 10^9/L$
- Livshotande blödningar ses huvudsakligen vid $TPK < 5 \times 10^9/L$

Oberoende av orsak ger svår trombocytopeni karakteristiska blödningar i

- hud (petekier, hematom)
- slemhinnor (mun, näsa, tarm, urinvägar och uterus).

Blödningar i CNS, leder och muskler är ovanligt förekommande.



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Standard trombocyt enhet UAS

Trombocyter, leukocytreducerade och bestrålade/patogenreducerade

En transfusionsdos trombocyter bör höja trombocytvärdet med minst $10 \times 10^9/\text{L}$ vid prov taget 1 timme efter transfusionens slut.

En transfusionsdos trombocyter framställs från flera blodtappningar (ˆbuffy coatˆ) alternativt från en aferes.

Innehåll per enhet Trombocyter

Enhet

Volym

(anges på etikett)	200	+/- 35	
	300	+/- 25	
	100	+/- 20	mL
Trombocyter	300	+/- 30	$\times 10^9/\text{L}$
Leukocyter	<1		$\times 10^9/\text{L}$
Plasma	<40		mL
Additiv-lösning	ca 65		%



**AKADEMISKA
SJUKHUSET**

Hur definiera vi att en patient är trombocyt refraktär?



**AKADEMISKA
SJUKHUSET**

Det finns olika sett beskrivna att räkna på

HLA alloimmunization in platelet transfusion

K. Pavenski *et al.*

Table 1 Definitions of platelet refractoriness

Measure of transfusion outcome	Formula	Values suggestive of refractoriness
Absolute count increment (ACI)	(post-transfusion platelet count)-(pre-transfusion platelet count)	At 60 min, ACI <5/μl per unit of whole blood derived platelets
Corrected count increment (CCI)	(ACI × BSA)/(number of platelets transfused)	At 10–60 min, CCI <7500/μl At 18–24 h, CCI <5000/μl
Percent platelet recovery (PPR)	(100%) (ACI × TBV)/(number of platelets transfused)	At 60 min, PPR <20% At 16 h, PPR <10%

BSA, body surface area; TBV, total blood volume.

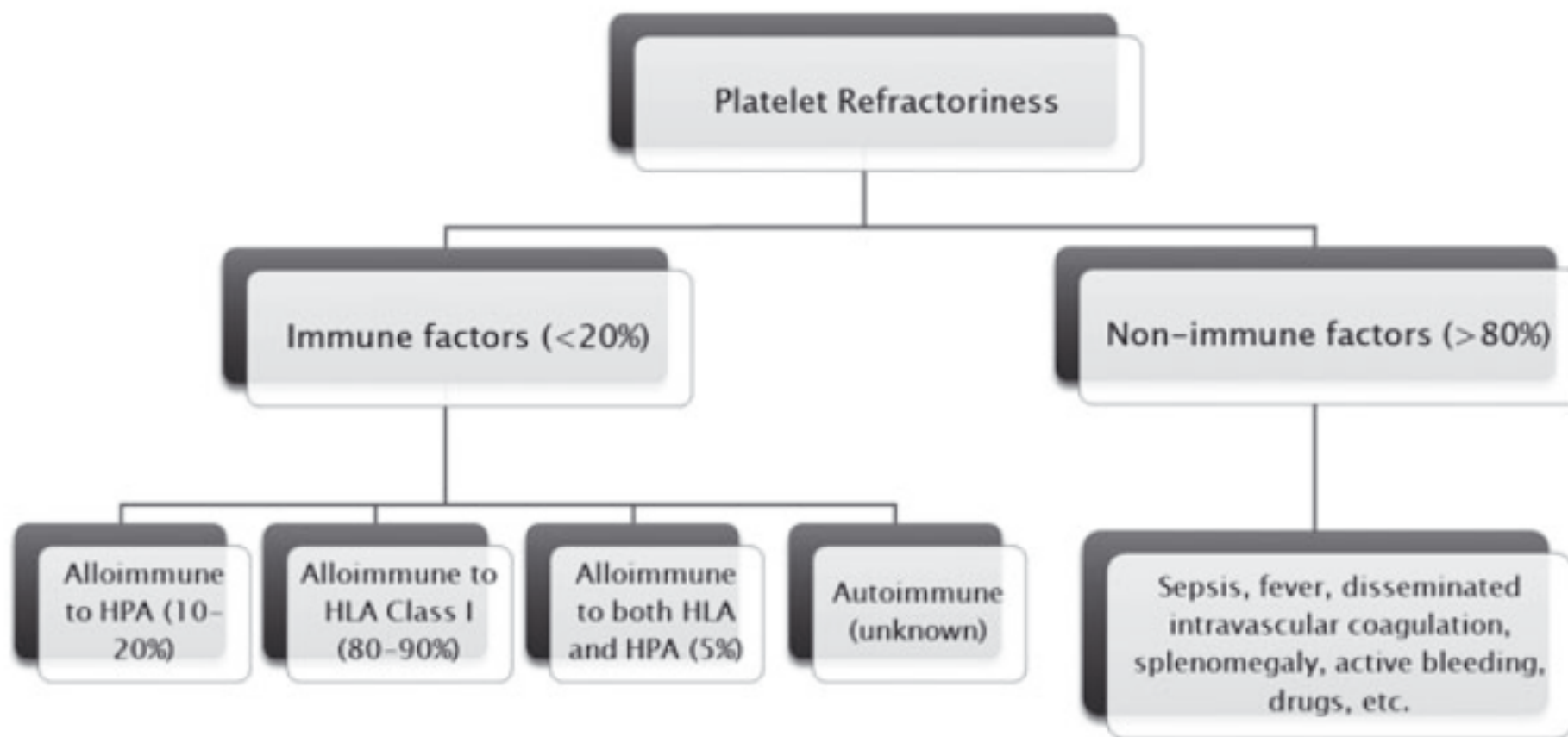
Effective Dose:

$$ED(\times 10^{11}) = \frac{(\text{desired PLT count increment per } \mu\text{L}) \times (\text{body surface area in square meters})}{\text{expected corrected count increment}}$$

Tissue Antigens, 2012, 79, 237–245



Anledningar att man inte svarar på trombocytransfusion



Tissue Antigens, 2012, 79, 237-245

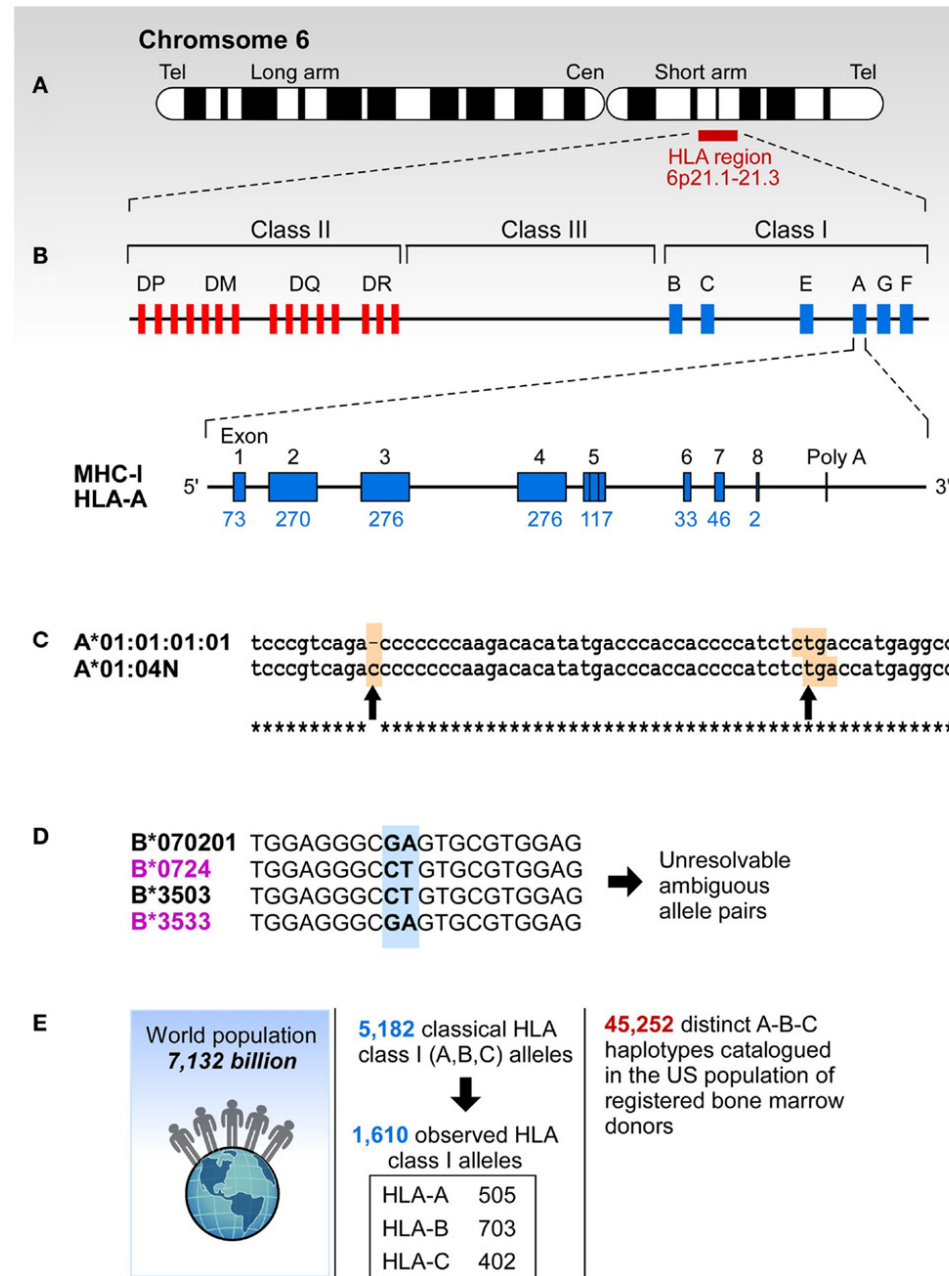


Human Leukocyte Antigen (HLA)

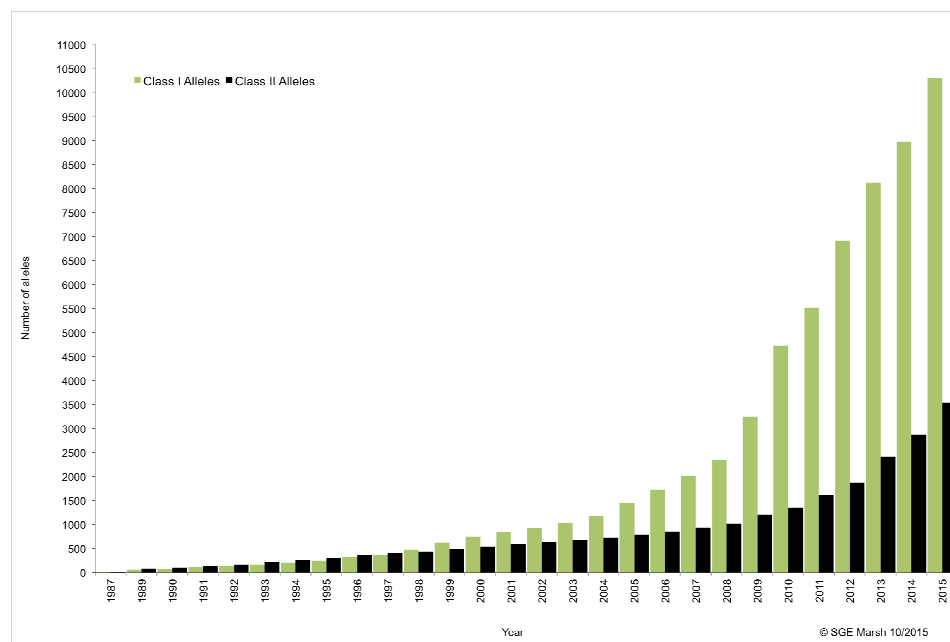
- Del av Major Histocompatibility complex (MHC)
- Generna ligger på korta armen av Chromosom 6 med över 200 gener.
 - Mer än 40 av de koderar för leukocyt antigener
- Polymorph region
- Central roll i olika immunologiska funktioner



AKADEMISKA
SJUKHUSET



Utveckling inom MHC klass I och klass II aller



HLA Class I

Gene	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>E</i>	<i>F</i>	<i>G</i>
Alleles	3,830	4,647	3,382	25	22	53



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Vilka celler uttrycker HLA?

Tissue	MHC class I	MHC class II
T cells	+++	+/-
B cells	+++	+++
Macrophages	+++	++
Other APC	+++	+++
Thymus epithelium	+	+++
Neutrophils	+++	-
Hepatocytes	+	-
Kidney	+	-
Trombocyter	+	-
Erythrocytes	-	-



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Immunisering av patienter

Det finns risk för att man blir immuniserad genom

- Transplantation
- Graviditet
- Transfusion



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Trombocyter

1 enhet trombocyter innehåller bl. a.

Trombocyter	300	+/- 30	$\times 10^9/L$
-------------	-----	--------	-----------------

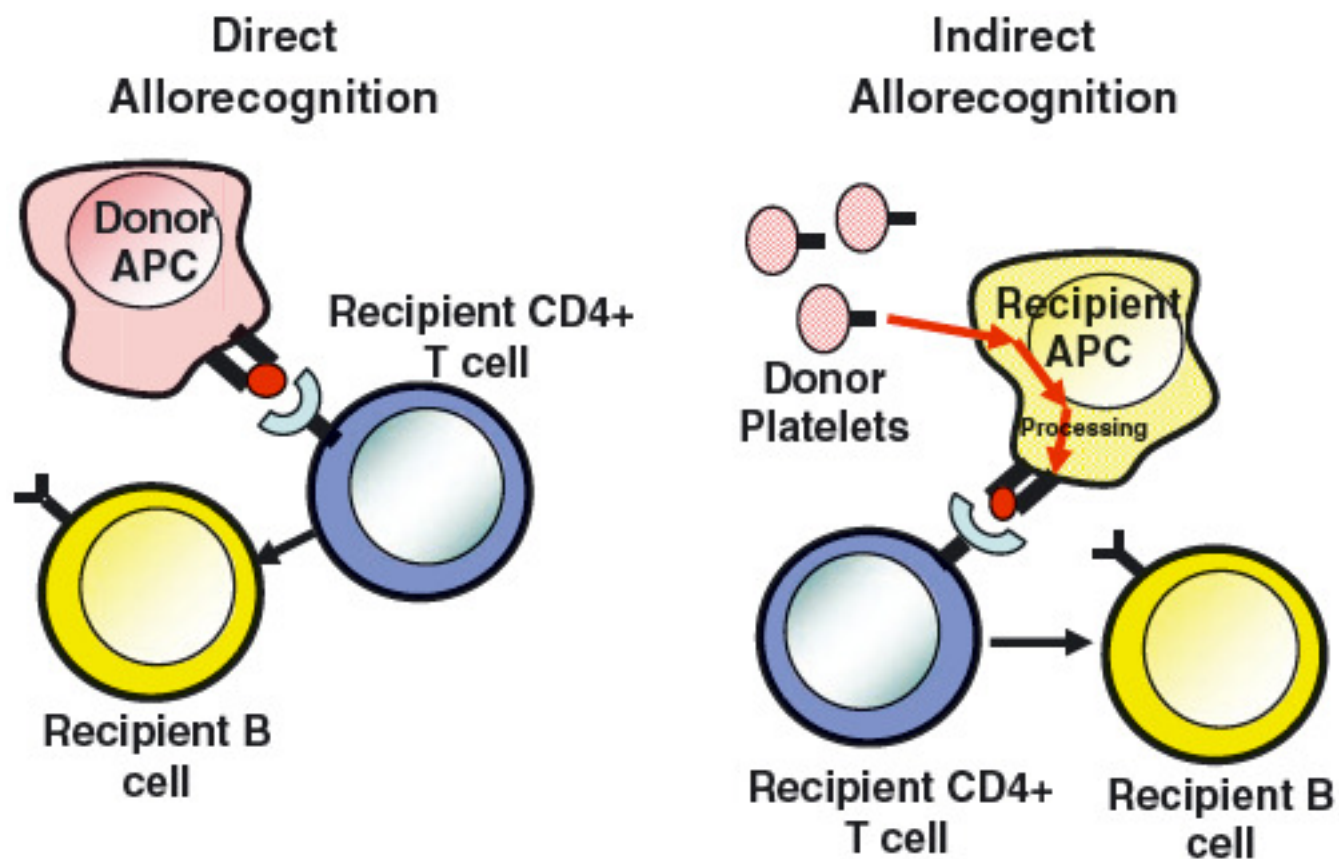
Leukocyter	<1		$\times 10^9/L$
------------	----	--	-----------------

dvs även en del HLA molekyler



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Trombocyt MHC klass I molekyler



A multicenter randomized controlled trial to reduce alloimmunization against platelets (the TRAP study)

Table 2 Summary of results of the TRAP)

	Controls: untreated pooled random donor platelets	Leukoreduced pooled random donor platelets	Leukoreduced single-donor apheresis platelets
Number of patients	131	137	132
Alloimmunization	45%	18% ($P < 0.001$)*	17% ($P < 0.001$)*
Refractoriness	16%	7% ($P = 0.03$)*	8% ($P = 0.06$)*
Alloimmunization and refractoriness	13%	3% ($P = 0.004$)*	4% ($P = 0.01$)*

Adapted from reference 40.

*as compared to control group.

dvs leukocytoreduction har effekt

Tissue Antigens, 2012, 79, 237–245



HLA antikroppsundersökning

- Olika tekniker finns:
 - Serologi (mot dagens typning)
 - enkelt och snabb svar dock ingen specifitet samt begränsningen är antalet prover man har just för tillfälle
 - Flödescytometri
 - `Solid phase`

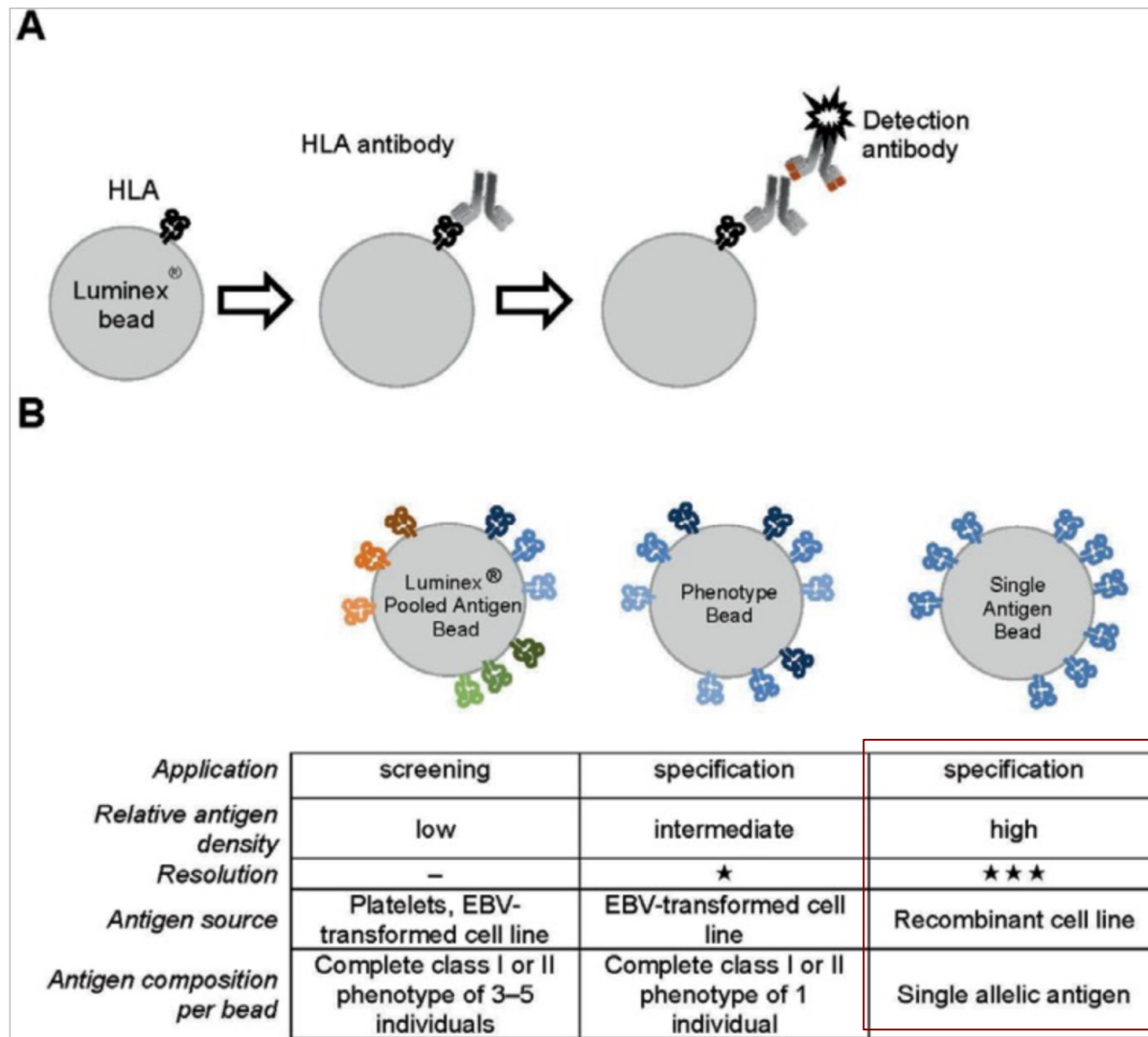
dock använder vi oftast `solid phase` tekniken (Luminex).

- Resultatet visas i % PRA (= Panel reactive antibody) och specifitet



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Solid phase teknik



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Trombocyter och HLA

- Lite bakgrundsfakta
 - HLA A 2 förekommer i ca. 58% av givarna
 - HLA B 44 förekommer i ca. 21% av givarna
- Däremot
 - HLA A 23 förekommer i ca. 2% av givarna
 - HLA B 13 förekommer i ca. 4% av givarna
- Detta understryker den centrala betydelsen av patientens vävnads typ resp. patientens HLA antikroppar



Svar från klinisk immunologi

Screentest - PRA

LID/Datum	Namn	Metod	T-celler/Klass I	B-celler/Klass II
UA-2017-TP-146 2017-01-16		Flödescytometri	positiv 25%	negativ

Biobanksval för LID: UA-2017-TP-146 Patienten samtycker till att provet sparas.

Med flöde påvisas HLA antikroppar mot
A 25,26
B 8

För undersökning ansvarar

Torsten Eich
Läkare



**AKADEMISKA
SJUKHUSET**

Riktlinjer

- Hanteras oftast lokalt (lokal blodcentralsverksamhet)
- Nerskrivna riktlinjer finns i andra länder som t.ex. England som har en nationell organisation



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Hur gör vi praktiskt?



Beställningssedel för HLA-matchade trombocyter

Formulär till: 11637

**Beställningssedel
för HLA-matchade trombocyter**

Patient namn & personnummer: _____

Diagnos: _____

Immuniserad: ja nej (om denna information saknas, vänligen
sänd ett prov för analys av HLA antikroppar och HLA typning till Cellulär immunologi,
Klinisk immunologi, UAS)

**Inkrementvärde efter 1 timme på de två senaste trombocytttransfusion-
erna:**1. Före transfusion: _____ x10⁹/l Efter transfusion: _____ x10⁹/l2. Före transfusion: _____ x10⁹/l Efter transfusion: _____ x10⁹/lAntal doser/tillfälle (1-2) _____ vuxen barn

Önskat leveransdatum: _____

Fortsatt planering:

	Mån	Tis	Ons	Tors	Fre	Lör	Sön
Antal enheter							

Beställande avdelning/mottagning & telnr: _____ Sign _____

Transportsätt: Ordinarie Omgående

Beställningssedel ifylld och faxad från blodcentral _____ Sign _____

Kontaktuppgifter till mottagande blodcentral, telnr: _____

Dagens datum: _____

Denna blankett ska faxas till: 018 - 617 13 29

Använd försättsblad som vi sedan faxar åter som bekräftelse på att beställningen gått fram.

Denna beställningssedel ska användas vid beställning, ändring och avbeställning av HLA-matchade trombocyter. Den ska vara ifylld och signerad från avdelning/mottagning och blodcentral. Blodcentralen faxar sedan denna beställningssedel till patientverksamheten på Akademiska sjukhuset i Uppsala och ska vara oss tillhanda senast **tre dagar** inför beställning, ändring och avbeställning.

**AKADEMISKA
SJUKHUSET**



		Labnummer		Personnummer och namn	
Remitterande avdelning		SMITTRISK-ETIKETT		☐ Patient ☐ Anhörig till: Relation: ☐ Syskon ☐ Förälder ☐ Make/maka ☐ Övrigt:.....	
Debiteras		Provtagning datum kl		Remitterande läkare	
SAMTYCKE Inskickandet av denna remiss bekräftar att patienten (alt vårdnadshavare/närstående) har fått information om - och samtycker till - att provet och tillhörande personuppgifter sparas för vård och behandling och därmed förenlig verksamhet. ☐ Nej, patienten samtycker inte till att provet sparas för vård och behandling och därmed förenlig verksamhet. Nej-talong bifogas. ☐ Patienten är vid tillfället oförmögen att lämna samtycke.		Diagnos/frågeställning - obligatorisk		Identitetskontroll utförd Provtagarens namn _____	

VÄVNADSTYPNING

☐ * HLA-typning inför organtransplantation Klass I+ Klass II+ antikroppsundersökning + ev. HLA korstest		1 ACD rör 2 EDTA rör 1 serumrör utan tillsats (endast patient)
☐ * HLA-typning inför stamcellstransplantation Klass I+ Klass II+ antikroppsundersökning + ev. HLA korstest		1 ACD rör 2 EDTA rör 1 serumrör utan tillsats (endast patient)
☐ * Antikroppar mot HLA-antigen		1 serumrör utan tillsats
☐ * HLA-korstest	1 ACD rör 1 EDTA rör 1 serumrör utan tillsats (endast patient)	☐ HLA A,B,C (klass I) 1 ACD rör ☐ HLA DR,DQ,DP (klass II) 1 EDTA rör
☐ MLC (mixed lymphocyte culture) endast efter överenskommelse	3 heparinrör	☐ Övrigt
☐ HLA B27	1 ACD rör	
☐ Cellmedierad immunrespons PHA stimulerade CD4 T-celler (ImmuKnow®) Analyseras 1gång/vecka, kontakta lab 018- 611 41 83	1 heparinrör	

* Analyser där samtycke behövs

FLÖDESCYTOMETRI

KVANTIFIERING AV CELLER	
☐ CD34	☐ CD20
☐ CD3/CD4/CD8	☐ CD55/CD59 (PNH-diagnostik)
☐ CD19/CD16 + CD56	☐ Övrigt _____

Mer information se: www.akademiska.se/kitm

Artnr 43344 SJ 78 Version 5 090217

LANDSTINGET I UPPSALA LÄN

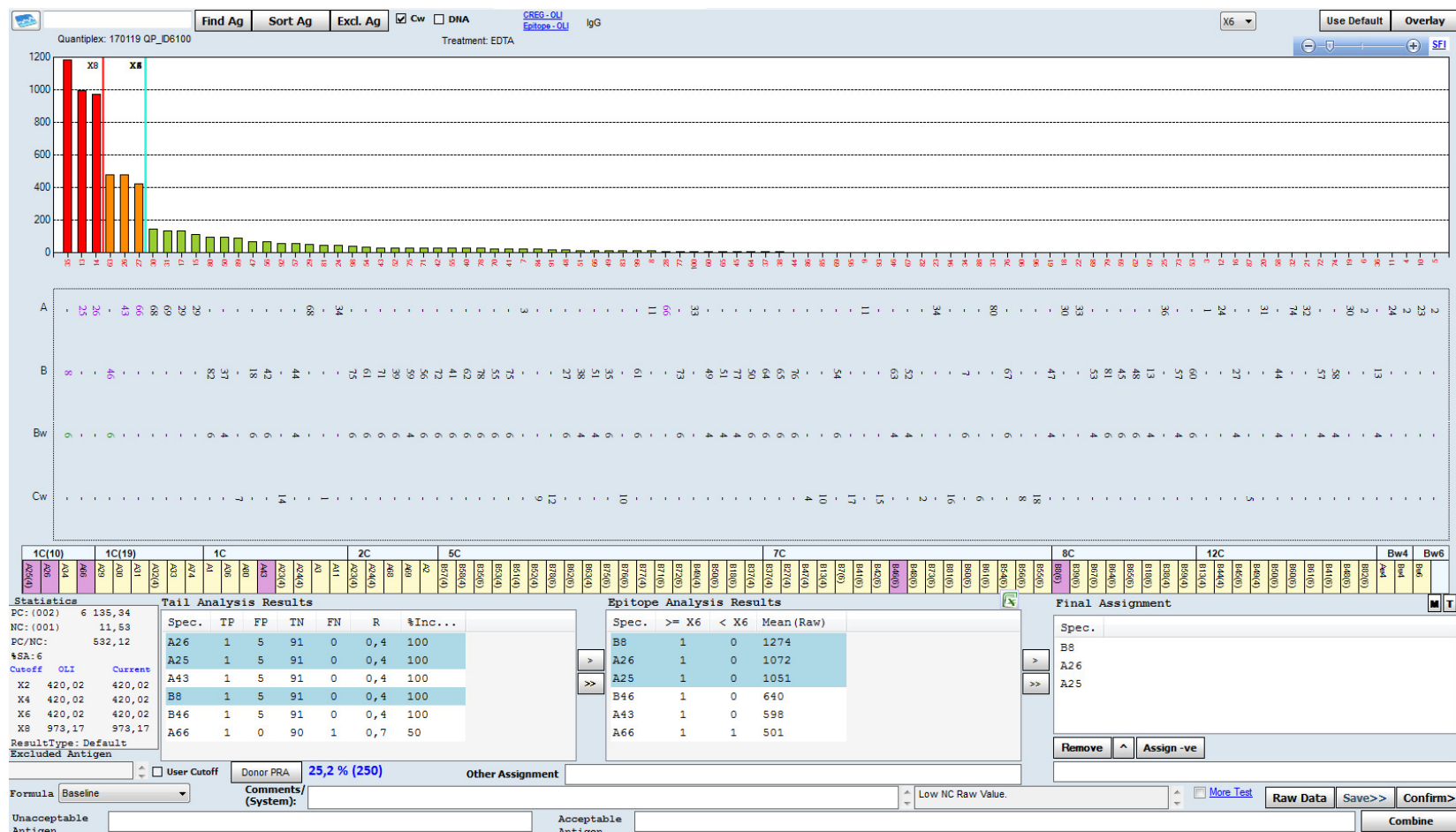
Ett exempel

- Kvinna, 58 år
- Myelofibros
- Planeras för allogen stamcellstransplantation
- Obesläktad donator
- Stamcellskälla: benmärg
- Tid till take: ca 20 dagar (genomsnitt)
- Aktuell: petechier och lätt blödande från näsan
- Behov: ca 1 enhet om dagen



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Ett exempel



Lindrig immuniserad patient inför HSCT med URD



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Svar från klinisk immunologi

Screentest - PRA

LID/Datum	Namn	Metod	T-celler/Klass I	B-celler/Klass II
UA-2017-TP-146 2017-01-16		Flödescytometri	positiv 25%	negativ

Biobanksval för LID: UA-2017-TP-146 Patienten samtycker till att provet sparas.

Med flöde påvisas HLA antikroppar mot
A 25,26
B 8

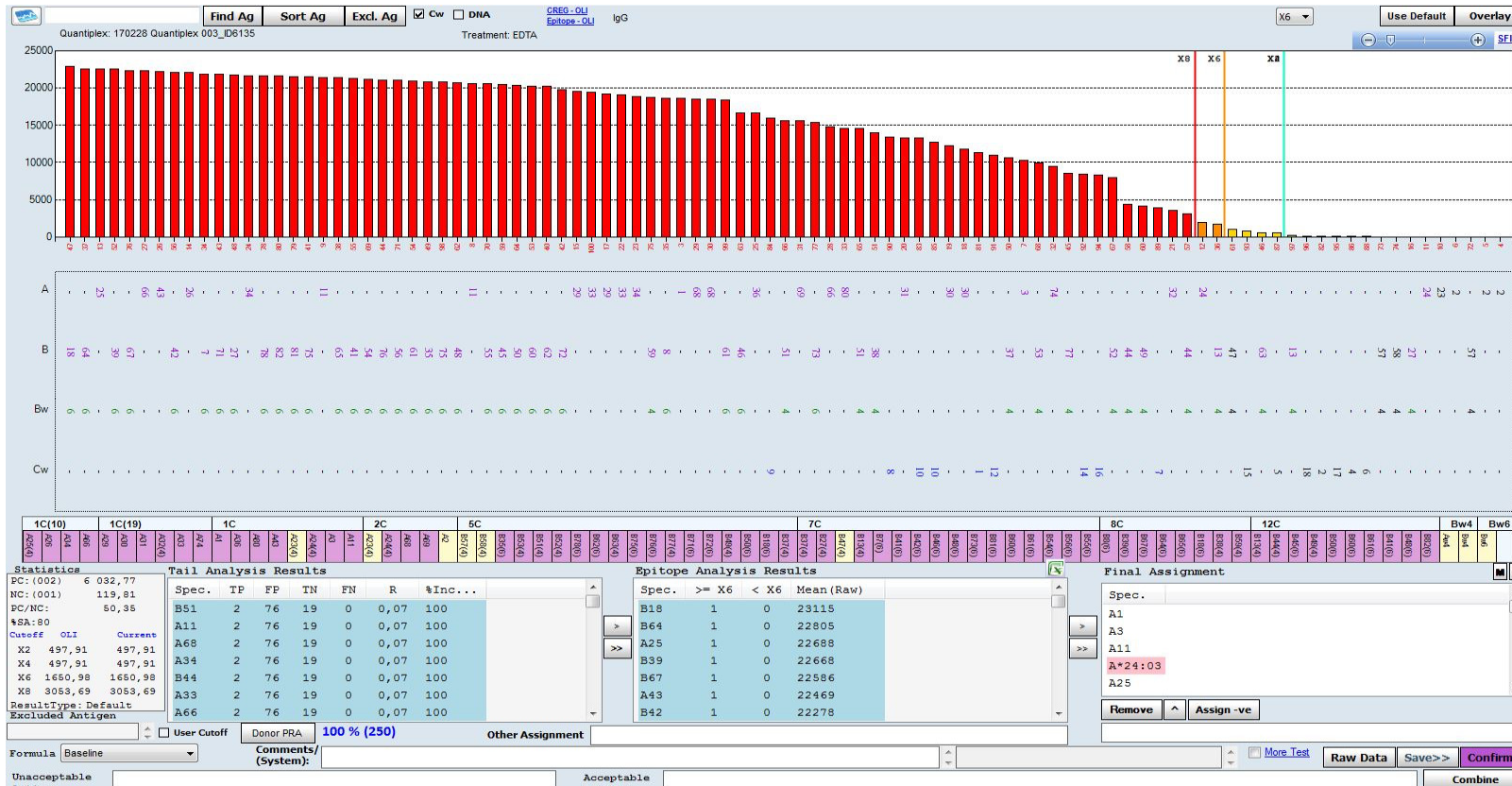
För undersökning ansvarar

Torsten Eich
Läkare



**AKADEMISKA
SJUKHUSET**

Ett exempel



HLA-antikroppar

LIDNr	Provdatum	T-celler %	B-celler %	T-celler DTT %	B-celler DTT %	Flöde klass I %	Flöde klass II %	Specificitet
UA-2017-TP-828	2017-02-25					100	EU	*
UA-2017-TP-146	2017-01-16					25	0	*
UA-2016-TP-3077	2016-09-29					25	0	*

Massiv immuniserad patient efter HCST med URD



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Svar från klinisk immunologi

Screenetest - PRA

LID/Datum	Namn	Metod	T-celler/Klass I	B-celler/Klass II
UA-2017-TP-828 2017-02-25		Flödescytometri	positiv 100%	

Biobanksval för LID: UA-2017-TP-828 Patienten samtycker till att provet sparas.

HLA antikroppssökning inför ev. sökning för HLA matchad trombocytgivare

HLA antikroppsscreening klass I: positiv, HLA antikroppar påvisade.

Specifitet:

A 1,3,11,2403,25,26,29,30,31,32,33,34,36,43,66,68,69,74,80,

B 7,8,18,2708,35,37,38,39,41,42,44,45,46,48,49,50,51,52,53,54,55,56,59,60,61,62,64,65,67,71,72,73,75,76,77,78,81,82,

Cw 1,7,8,9,10,12,14,16

Bedömning: Ovanstående patient har HLA antikroppar mot klass I som kan vara en bidragande orsak till trombocytopeni. I en första sökning hittade vi inga möjliga trombocytgivare i Uppsala pga patientens massiva immunisering. Sökning är utvidgad till övriga landet och jourhavande läkare KITM återkommer med utfallet. Om det finns möjliga givare behöver beställningsedel för HLA matchade trombocyter skickas till blodcentralens patientverksamhet (tel.: 13928). Vänligen ta kontakt med blodcentralen vid ev. behov.

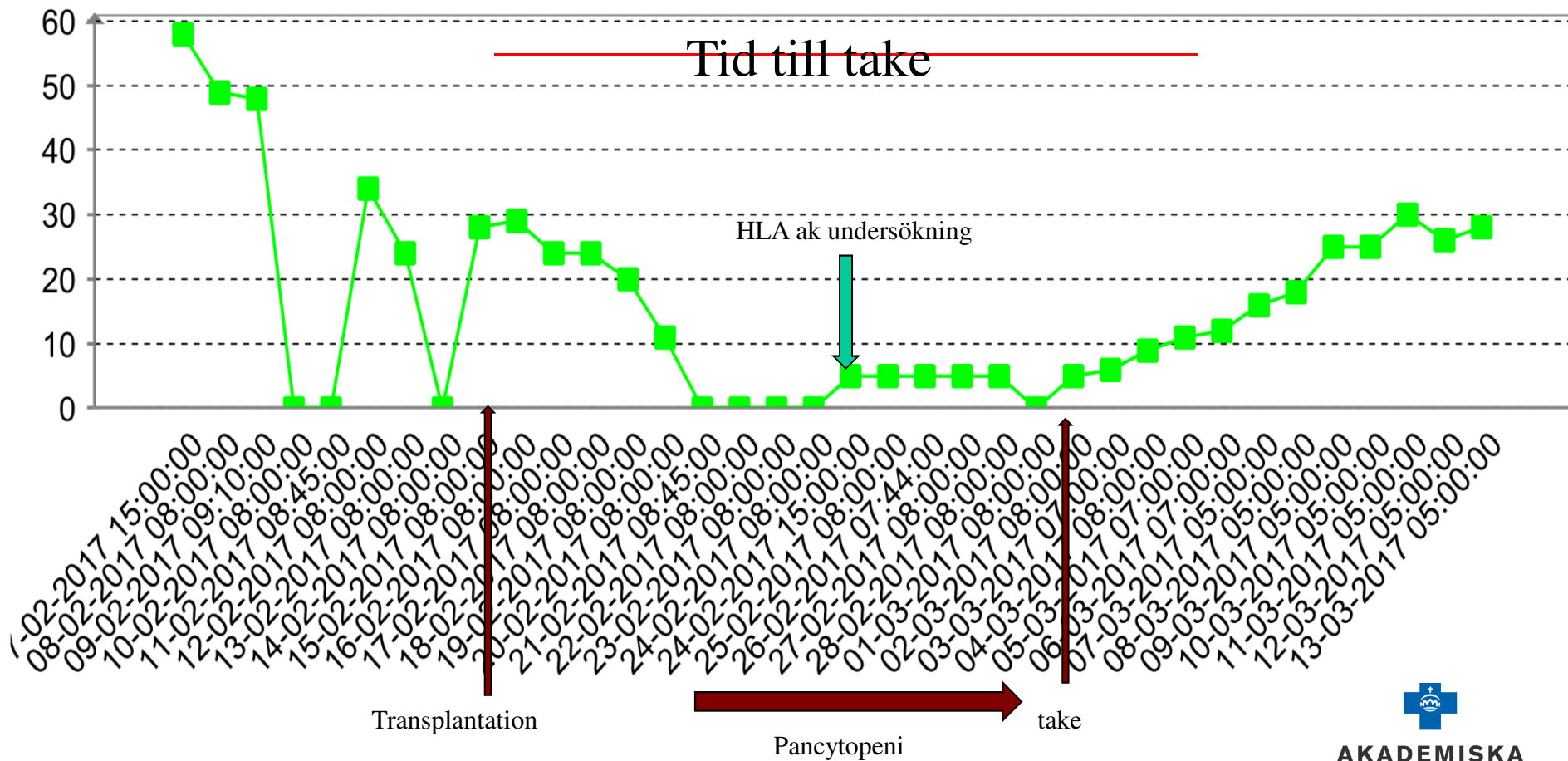


**AKADEMISKA
SJUKHUSET**

Ett exempel

B--Trombocyter

B--Trombocyter



HLA typade givare i Uppsala

- För närvarande har vi ca 350 HLA typade givare i Uppsala
- Varav den större delen är >50 år
- Vi fortsätter att utöka vår pool av HLA typade givare
- Sannolikt skulle vi behöva upp mot ca. 1000 HLA typade givare



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Sammanfattning

- HLA matchade trombocyter är ingen standard produkt på lager
- Kan ta lång tid
 - Ev. tidig kontakt i förebyggande syfte
- Resurskrävande
- Involverar många personer, lokalt och ev. i hela landet
- Joint venture mellan transfusionsmedicin och klinisk immunologi
- Kostnad (dubblerad)
- Vi behöver blodgivare/trombocytgivare som ställer upp
- Kräver uppföljning av patienten
 - Viktig att komma ihåg att det kan finnas trombocytantikroppar
- Bra och direkt kommunikation är underlättande



AKADEMISKA
SJUKHUSET

Tack!



Percent Platelet Recovery (PPR)

$$\text{PPR} = \frac{\begin{array}{l} \text{(platelet increment per } \mu\text{L)} \\ \times \text{ (weight in kg)} \\ \times \text{ (blood volume as 75 mL/kg)} \\ \times 100 \text{ (for percent)} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{(platelet count of transfused} \\ \text{product per } \mu\text{L)} \\ \times \text{ (volume of product in mL)} \end{array}}$$

Herman J: Platelet transfusion therapy, in Mintz PD (ed): Transfusion Therapy: Clinical Principles and Practice. Bethesda, MD, AABB Press, 1999, pp 65-79



**AKADEMISKA
SJUKHUSET**

Corrected Count Increment

$$\text{CCI} = \frac{\begin{array}{l} \text{(Platelet increment per } \mu\text{L)} \\ \times \text{ (body surface area in square meters)} \end{array}}{\text{Number of platelets transfused } (\times 10^{11})}$$

Herman J: Platelet transfusion therapy, in Mintz PD (ed): Transfusion Therapy: Clinical Principles and Practice. Bethesda, MD, AABB Press, 1999, pp 65-79



**AKADEMISKA
SJUKHUSET**

Effective Dose

$$\text{ED}(\times 10^{11}) = \frac{(\text{desired PLT count increment per } \mu\text{L}) \times (\text{body surface area in square meters})}{\text{expected corrected count increment}}$$

Herman J: Platelet transfusion therapy, in Mintz PD (ed): Transfusion Therapy: Clinical Principles and Practice. Bethesda, MD, AABB Press, 1999, pp 65-79



**AKADEMISKA
SJUKHUSET**