



Karolinska  
Institutet

# Immunologisk diagnostik av trombocytopeni och neutropeni

Petter Höglund, professor och överläkare

Klinisk Immunologi och Transfusionsmedicin, Karolinska Universitetssjukhuset

Centrum för Hematologi och Regenerativ Medicin, Institutionen för Medicin

Huddinge, Karolinska Institutet

[petter.hoglund@ki.se](mailto:petter.hoglund@ki.se); [petter.hoglund@regionstockholm.se](mailto:petter.hoglund@regionstockholm.se)

+46 70 559 62 01

# Trombocytopenidiagnostik

1. Diagnoser och frågeställningar
2. FNAIT – patogenes, epidemiologi, uppföljning, prevention
3. Metoder för antikroppsidentifiering
4. Praktiska aspekter

# Frågeställningar Trombocyt- och Granulocytlaboratoriet (TRoLL)

## Trombocyter

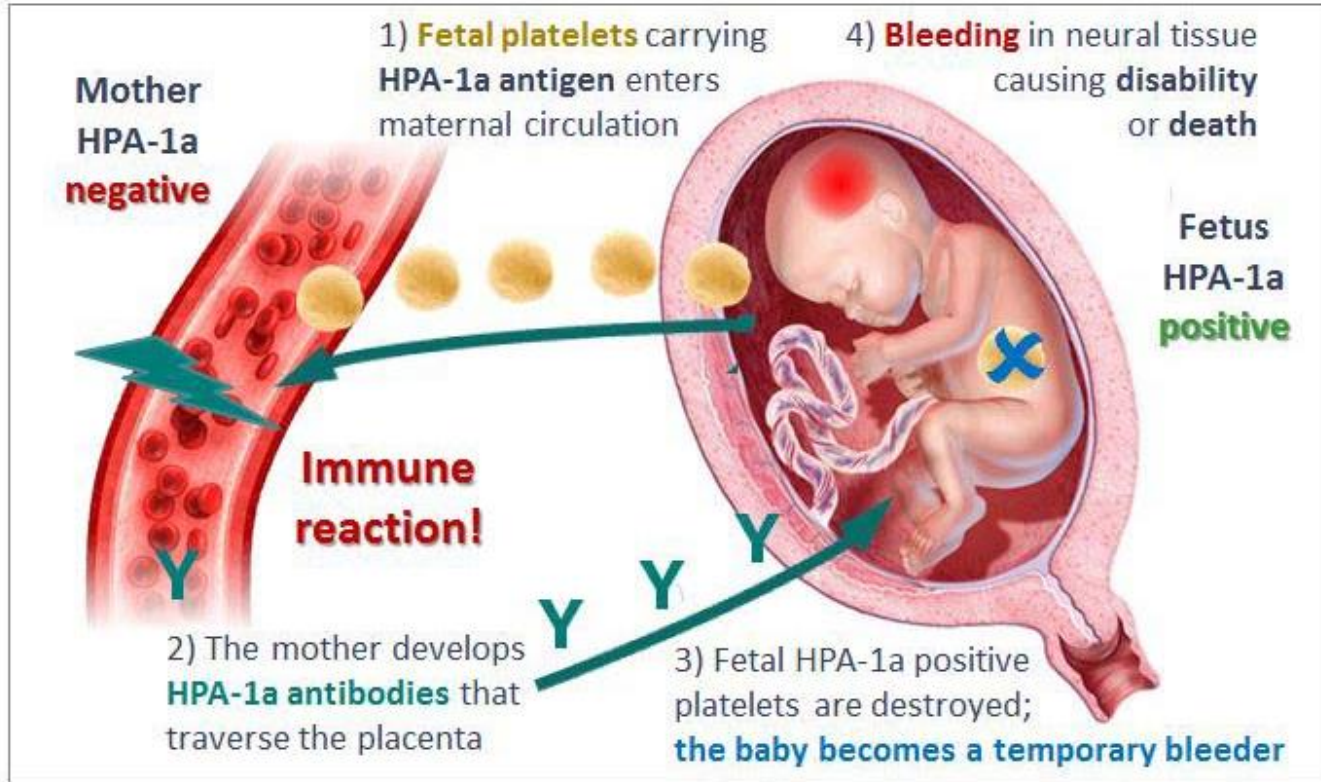
- Trombocytopeni
  - Fetal Neonatal Alloimmun Trombocytopeni (FNAIT)
  - Immunologisk trombocytopeni (ITP)
- Trombocytrefraktäritet
  - Dåligt svar på trombocyttransfusioner

## Granulocyter

- Neutropeni
  - Neonatal alloimmun neutropeni (NAIN)
  - Autoimmun neutropeni (AIN)
  - Etnisk neutropeni (ENP – ADAN)
  - Påverkad myelopoies (kongenital neutropeni)
- Blodgivarscreening för leukocytantikroppar
  - HNA- och HLA-antikroppar

*Misstanke på trombocytfunktionsdefekt och kongenital neutropeni diskuteras med klinisk immunologi (helgenomsekvensering) och barnkoagulation (trombocytfunktionstest)*

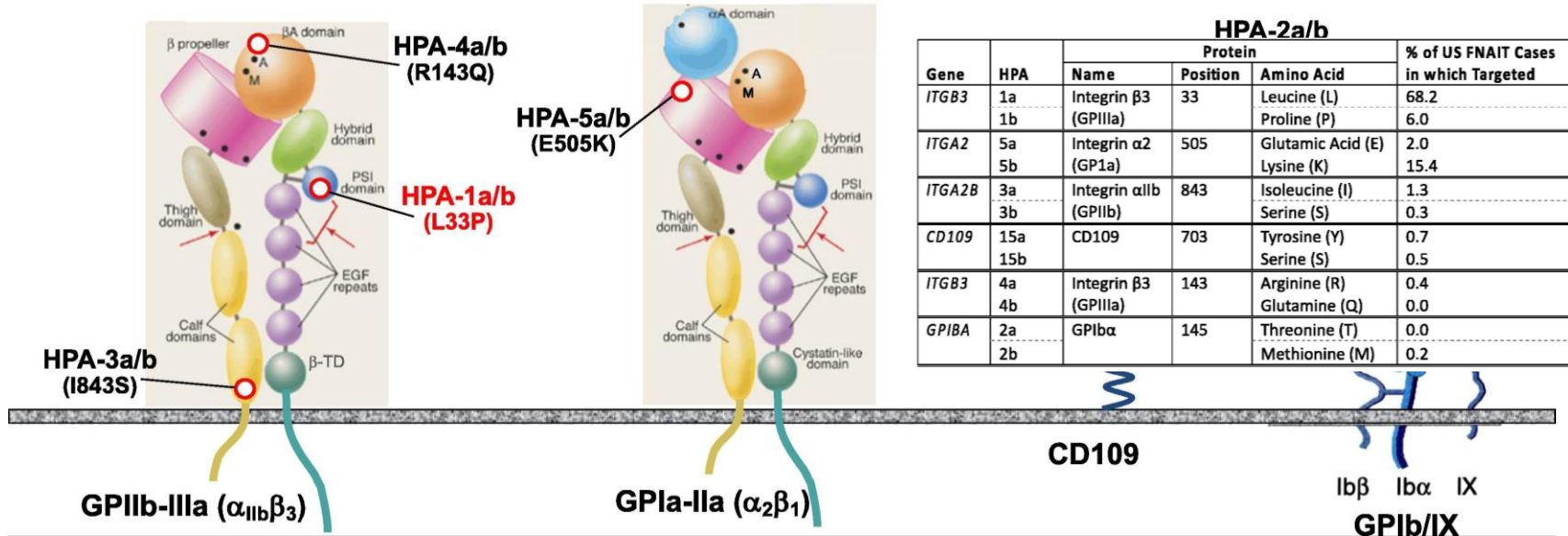
# Fetal Neonatal Alloimmune Thrombocytopeni (FNAIT)



# FNAIT jämfört med HDN

|                            | FNAIT                    | HDN                      |
|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Påverkade celler           | Trombocyter              | Erytrocyter              |
| Vanligaste antigen         | HPA-1a                   | RhD                      |
| Uppstår i graviditet nr    | Första och uppåt         | Andra och uppåt          |
| Immunisering               | Från 16 veckor           | Partus. Kan ske tidigare |
| Symptom                    | Trombocytopeni, blödning | Hemolys, ikterus         |
| Allvarligaste konsekvens   | Intrakraniell blödning   | Hydrops Fetalis          |
| Största riskfaktor         | Tidigare barn med FNAIT  | RhD-negativ mamma        |
| Behandling                 | Transfusion              | Transfusion              |
| Prevention                 | IVIG                     | Anti-D                   |
| Effektivitet av prevention | ?                        | 99 %                     |

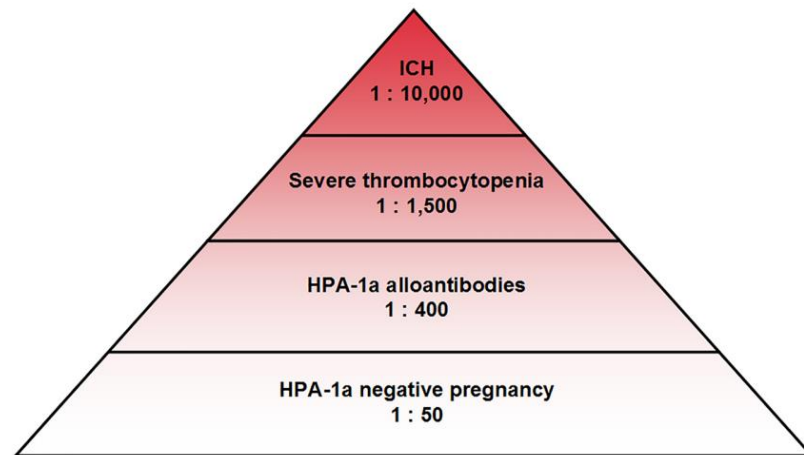
# Målstrukturer för alloantikroppar i FNAIT



# FNAIT epidemiologi

- KomPLICerar 1/350 födslar.
- 1/1000 leder till svår trombocytopeni.
- 11500 fall av FNAIT i USA varav 4000 svåra.
- 10–20 procent av fall med svår trombocytopeni drabbas av intrakraniell blödning.

*Newman and Newman, Hum Immunol, 85, 2024*

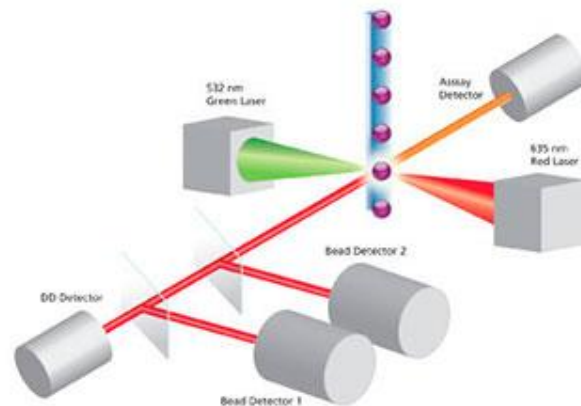
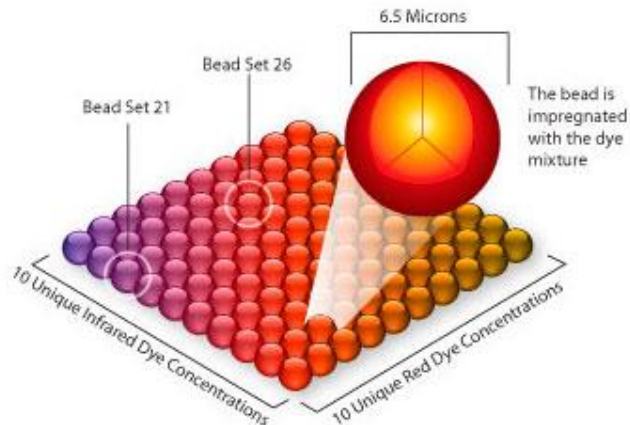


*De Vos et al., Trans Aph Sci, 59, 2020*

# Trombocytantikroppsanalyser

- Immunfluorescens med testtrombocyter från blodgivare (PIFT).
  - Tidigare första analys men används inte längre på TRoLL.
- Luminexbaserade kit: Pak Lx och Pak Plus
  - High-throughputanalys med isolerade HPA-antigen på beads.
  - Analyserar antikroppar mot HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5, GPIV och HLA klass I, i samma körning.
- Monoclonal specific antibody immobilization of platelet antigen (MAIPA).
  - Används parallellt med luminexanalysen.
  - Används för att undersöka specificitet mot pappans trombocyter.

# Luminexbaserad teknik

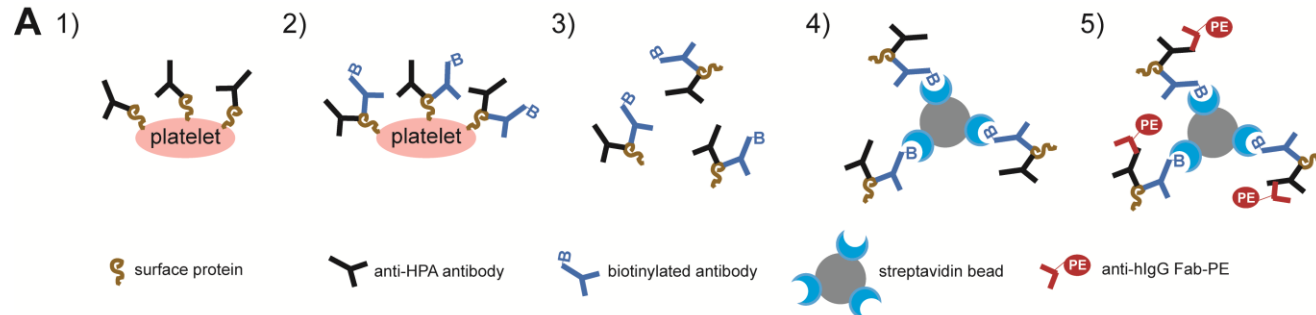


- High throughput som ej kräver specialtränad personal
- Standardiserad och CE-märkt
- Kräver mycket lite material

# Resultat positiv PakLx luminexanalys

| PAK Lx SAMPLE ANALYSIS AND RESULTS                                                                     |                    |                  |                        | Batch Name: 3014917-PLX_250121_8v0h |                  | Assay Date: 01.21.25     |                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|------------------|------------------------|-------------------------------------|------------------|--------------------------|------------------|
| PAK Lx Kit Lot #: 3014917-PLX                                                                          |                    |                  | Assay Tech:            |                                     |                  | Analysis Date: 1/21/2025 |                  |
| SAMPLE ID: 1001040750PP                                                                                |                    |                  | <b>Antibody Target</b> | GPIV                                | HLA              | GPIIbIIIa (HPA-1,-3,-4)  | GPIbIX (HPA-2)   |
| Minimum Cutoff (MC). If the MFI of the Con beads is < MC, the Adjusted Ratios are calculated using MC. |                    |                  | 114                    | <b>Result</b>                       | Neg              | Neg                      | Reactive         |
|                                                                                                        |                    |                  |                        |                                     |                  | Neg                      | Neg              |
| Bead Region                                                                                            | Glycoprotein Group | Antigen          | MFI                    | Bead Reactivity                     | Adjusted Ratio 1 | Adjusted Ratio 2         | Adjusted Ratio 3 |
| 13                                                                                                     | Con1               | Con1             | 78                     |                                     |                  |                          |                  |
| 14                                                                                                     | Con2               | Con2             | 101                    |                                     |                  |                          |                  |
| 18                                                                                                     | Con3               | Con3             | 119                    |                                     |                  |                          |                  |
| 11                                                                                                     | POS                | POS              | 21291                  |                                     |                  |                          |                  |
| 6                                                                                                      | GPIV               | GPIV             | 91                     | Negative                            | -2.33            | -3.04                    | -2.41            |
| 10                                                                                                     | HLA Class I        | HLA Class I      | 68                     | Negative                            | -2.09            | -2.77                    | -2.18            |
| 21                                                                                                     | GPIIb-IIIa         | HPA - 1a-3a-4a   | 14064                  | Positive                            | 119.6            | 118.7                    | 114.01           |
| 22                                                                                                     | GPIIb-IIIa         | HPA - 1a-3b-4a   | 13021                  | Positive                            | 110.18           | 109.59                   | 105.36           |
| 23                                                                                                     | GPIIb-IIIa         | HPA - 1b-3a-4a   | 163                    | Negative                            | -2.21            | -3.01                    | -2.25            |
| 24                                                                                                     | GPIIb-IIIa         | HPA - 1b-3b-4a   | 182                    | Negative                            | -2.72            | -3.73                    | -3.3             |
| 25                                                                                                     | GPIIb-IIIa         | HPA - 1ab-3ab-4a | 7460                   | Positive                            | 61.44            | 60.84                    | 58.87            |
| 26                                                                                                     | GPIIb-IIIa         | HPA - 1a-3ab-4b  | 13736                  | Positive                            | 116.04           | 115.13                   | 110.85           |
| 27                                                                                                     | GPIb/IX            | HPA - 2a         | 123                    | Negative                            | -2.03            | -2.51                    | -2.09            |
| 28                                                                                                     | GPIb/IX            | HPA - 2a         | 118                    | Negative                            | -2.36            | -2.89                    | -2.38            |
| 29                                                                                                     | GPIb/IX            | HPA - 2ab        | 96                     | Negative                            | -2.29            | -2.82                    | -2.34            |
| 30                                                                                                     | GPIb/IX            | HPA - 2b         | 121                    | Negative                            | -1.97            | -2.55                    | -2.11            |
| 32                                                                                                     | GPIb/IX            | HPA - 2b         | 103                    | Negative                            | -2.07            | -2.54                    | -2.12            |
| 33                                                                                                     | GPIa-IIa           | HPA - 5a         | 138                    | Negative                            | -2.46            | -3.34                    | -2.88            |
| 42                                                                                                     | GPIa-IIa           | HPA - 5a         | 178                    | Negative                            | -2.46            | -3.49                    | -3.13            |
| 48                                                                                                     | GPIa-IIa           | HPA - 5ab        | 143                    | Negative                            | -2.39            | -3.27                    | -2.92            |
| 51                                                                                                     | GPIa-IIa           | HPA - 5b         | 122                    | Negative                            | -2.68            | -3.29                    | -2.99            |
| 54                                                                                                     | GPIa-IIa           | HPA - 5b         | 128                    | Negative                            | -2.61            | -3.55                    | -2.97            |
| Tech/Supervisor/Physician/Lab Director :                                                               |                    |                  |                        | Date:                               |                  |                          |                  |
| USER COMMENTS                                                                                          |                    |                  |                        |                                     |                  |                          |                  |

# Monoclonal antibody immobilization of platelet antigens (MAIPA)



# Mor till barn med FNAIT

ProSang 9.9.3

Arkiv Redigera Visa Fönster Verktyg Hjälp

Instrumentpanelen x Patientadministration (P000) x

[Avvakter bedömning](#) [Relation till annan patient](#)

Översikt

**Analys**

Förenlighetsprovning

Reservation

Kommentarer

Personuppgifter

InterInfo

Historik

Blagor

TROLL Alla analysresultat Provlista Remissregistrering

| Status | Analysnamn | Namn        | Resultat      | Mottagare                | Prov-ID      | Prov taget          | Kommentar? |
|--------|------------|-------------|---------------|--------------------------|--------------|---------------------|------------|
| ✓      | TRCAK      | Blankt fält |               | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      | PakLx      | GPIV        | NEG           | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | HLA1        | NEG           | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | GP2B3A      | POS           | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | KHPA1A      | 19 608        | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | GPIBIX      | NEG           | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | GPIA2A      | NEG           | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      | HPA1AA     | P1AF        | Negativ       | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      | MAIPA      | GPIIb/IIIa  | POS           | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | GPIa/IIa    | NEG           | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | CD109       | NEG           | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | HLA klassI  | Svagt positiv | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      | GENHPA     | HPA-1       |               | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | HPA-2       |               | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | HPA-3       |               | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | HPA-4       |               | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      |            | HPA-5       |               | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      | PakLx Akut | PakLx Akut  | BLANKT FÄLT   | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |
| ✓      | DRB3*01:01 | DRB3*01:01  | POS           | Barn avd 1, Neonatal (1) | 100104110IPP | 2025-01-17 19:00:00 |            |

Lägg till analys...

Provinfo...

Analysinfo...

Elementinfo...

Makulera...

Svarsrapport...

Skriv ut lista...

Visa: Alla analyser Visa endast testelement Filtrera lista:

OK Avbryt Hjälp

Petter Höglund (3QMX) inloggad från KULPC19YBQE@TROLL i Huddinge blodcentral sedan 2025-01-26 14:37:46

Citrix Applikationer

4°C Molnigt

14:39  
2025-01-26

# Handläggning och behandling av immuniserad mor

- Graviditetsövervakning på specialistmödravården
- IVIG +/- steroider (standard of care)
- Potentiella riktade terapier (under utveckling)
  - Blockera bindning av HPA-1a-antikroppar med effektor-inerta antikroppar
  - Slå ut B-celler som producerar HPA-1a-specifika antikroppar
    - Målriktade fusionsproteiner med HPA-1a-epitopen kopplad till Fc-delen på Ig
    - CAAR-T med HPA-1a-epitopen som målsökande sekvens
  - Antikropp mot FcRn (blockerar placentapassage av antikroppar)
- Profylax (jämför anti-D vid RhD-immunisering)
  - Studier pågår med monoklonal anti-HPA-1a-antikropp
  - Kräver screening

# Prov till TRoLL för utredning av trombocytopeni

- FNAIT
  - Alltid prov från mor och far. Gärna prov från barnet, men diagnos ställs på mor.
  - Antikroppsutredning och HPA-genotypning på mor och barn.
  - Genotypning på far och framtagande av testtrombocyter till MAIPA.
    - Ett EDTA-rör (lila kork) räcker. Gärna 4 ml från föräldrarna och 1 ml från barnet.
- ITP
  - Antikroppsutredning.
    - EDTA-rör (lila kork).
    - Upprepade prover kan vara nödvändigt.
- Misstanke på trombocytfunktionsdefekt
  - Helgenomsekvensering (KITM)
  - Funktionstest (koagulation/klinisk kemi)

- <https://www.karolinska.se/pta/klinisk-immunologitransfusionsmedicin/trombocytopeniutredning/>

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 100%;"></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  | <div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 100%;"></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |
| Kombikod<br><div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 20px;"></div> </div>                                                                                                                                                                                                                               |  | P Personnummer/reservnummer<br><div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 20px;"></div> </div> |  |
| Remitterande läkare<br><div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px;"></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  | Läkarkod<br><div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></div> </div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |
| Provtagningstid<br><div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px;"></div> </div> |  | <input type="checkbox"/> Blodsmitta<br>Provtagarens namnunderskrift/identitetskontroll<br><div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 40px;"></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |  |
| Proverna skickas till:<br>Karolinska<br>Universitetssjukhuset, Huddinge<br>Klinisk immunologi P79<br>141 86 STOCKHOLM                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  | Patientens uttycke<br><small>Meddelandet ska skrivas utifrån patientens eget påstående och underskriften ska vara identisk med den som skrivs på underskriftsblankett. Om patienten inte kan skriva eller inte kan skriva på underskriftsblankett ska patienten skrivas ut som "patient som inte kan skriva".</small>                                                                                                                                                                                                                               |  |
| Kliniska uppgifter, frågeställning, meddelande<br>(vid FNAIT-frågeställning ange <b>TPK-nadir</b> och kliniska <b>symptom</b> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  | Plats för laboratoriets etikett<br><div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 40px;"></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |
| <div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 100%;"></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <b>Trombocytopeniutredning</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> ITP (immunmedierad trombocytopeni)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Trombocytrefraktäritet                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> FNAIT (fetal neonatal alloimmun trombocytopeni)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Prov från (patient/moder/fader):                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Samhörig med:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> DRB3*01:01 typning (Ingår vid diagnos av FNAIT)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Anti-HPA-1a kvantifiering                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <b>Neutropeniutredning</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Autoimmun neutropeni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> NAIN (neonatal alloimmun neutropeni)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Pro-LL-37                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Etnisk neutropeni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Analyser enligt laboratoriets bedömning (kräver att kliniska uppgifter anges)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <b>Övrigt</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Transfusionskomplikationsutredning                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Prov från komponent                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Prov från patient                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <input type="checkbox"/> Leukocytantikroppsscreening blodgivare                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| För indikationer och provtagning se Provtagningsansvinnings (www.karolinska.se/provtagningsansvinnings)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |

# Neutropenidiagnostik

1. Frågeställningar
2. Metoder för antikroppsidentifiering
3. Autoimmun neutropeni – typfall
4. Övriga metoder
5. Forskning

# Frågeställningar neutropeni TRoLL

- Autoimmun neutropeni (AIN).
  - Vanligaste frågeställningen!
- Etnisk neutropeni/ADAN (mutation i Fy\*B\_GATA-genen).
  - Afrika och Mellanöstern. Normalvariant. ANC runt 1.0 men med stor variabilitet.
- Kongenital neutropeni (nivåer av Pro-LL-37).
- Neonatal alloimmun neutropeni (NAIN).
  - Motsvarande patogenes som vid HDN och FNAIT.
- Transfusionskomplikationer och TRALI.

# Humana neutrofilantigen (HNA)

**Table 1** The HNA antigen system, consisting of five systems carrying nine HNAs

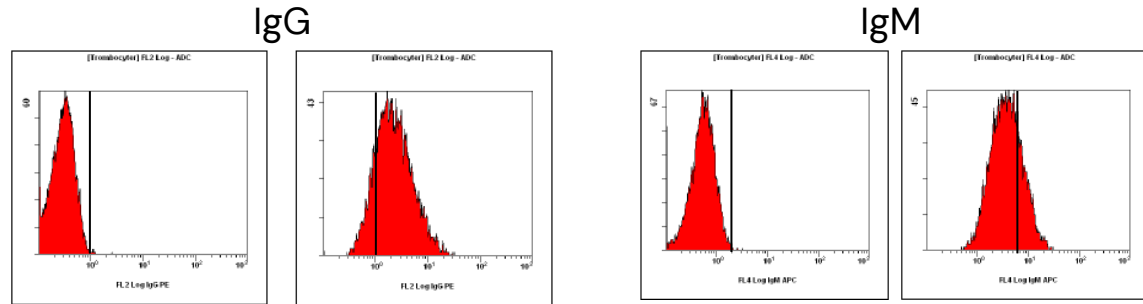
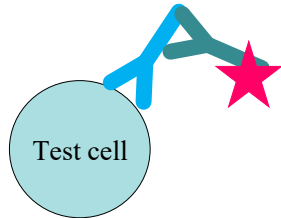
| Antigen system             | Carrier glycoprotein                      | CD    | Antigen  | Allele               | Allele frequency caucasians |
|----------------------------|-------------------------------------------|-------|----------|----------------------|-----------------------------|
| HNA-1                      | FC $\gamma$ RIIIb                         | CD16b | HNA-1a   | <i>FCGR3B*01</i>     | 0.35                        |
|                            |                                           |       | HNA-1b1d | <i>FCGR3B*02</i>     | 0.65                        |
|                            |                                           |       | HNA-1b1c | <i>FCGR3B*03</i>     | 0.025                       |
| FC $\gamma$ RIIIb negative |                                           |       |          | <i>Gene deletion</i> | 0.03                        |
| HNA-2                      | CD177 glycoprotein                        | CD177 | HNA-2    | <i>CD177*01</i>      | 90 <sup>†</sup>             |
| HNA-2 negative             |                                           |       |          | <i>mRNA splicing</i> | 10 <sup>†</sup>             |
| HNA-3                      | CTL2                                      |       | HNA-3a   | <i>SLC44A2*01</i>    | 0.79                        |
|                            |                                           |       | HNA-3b   | <i>SLC44A2*02</i>    | 0.21                        |
| HNA-4                      | MAC-1; CR3; $\alpha$ m $\beta$ 2 integrin | CD11b | HNA-4a   | <i>ITGAM*01</i>      | 0.9                         |
|                            |                                           |       |          | <i>ITGAM*02</i>      | 0.1                         |
| HNA-5                      | LFA-1; $\alpha$ L $\beta$ 2 integrin      | CD11a | HNA-5a   | <i>ITGAL*01</i>      | 0.66                        |
|                            |                                           |       |          | <i>ITGAL*02</i>      | 0.34                        |

<sup>†</sup>Antigen frequencies (%).

van den Tooren-de Groot, *Acta Paediatrica*, 2014

# GIFT (granulocyte immunofluorescence test)

- Patientplasma blandas med HNA-genotypade testceller (framrenade neutrofiler från blodgivare) i 37°C under 30 minuter.
- Tvätt x 3.
- Tillsats av fluorescensmärkta anti-IgG- och anti-IgM-antikroppar under 30 minuter.
- Läs av inbunden fluorescens i flödescytometer



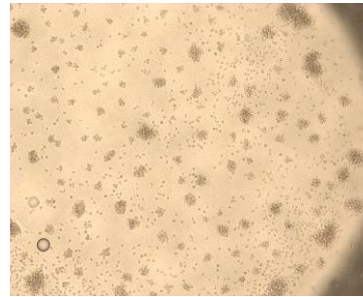
- Tolkning: positiv/negativ.
- Förekomst av antikroppar mot HLA klass I i provet försvårar tolkningen.

# Granulocyte Agglutination Test (GAT)

- Neutrofilsuspension inkuberas med patientplasma i mikrotiterplatta
- Inkubera i 30°C över natt
- Läses i mikroskop och procent agglutination uppskattas



Negativ

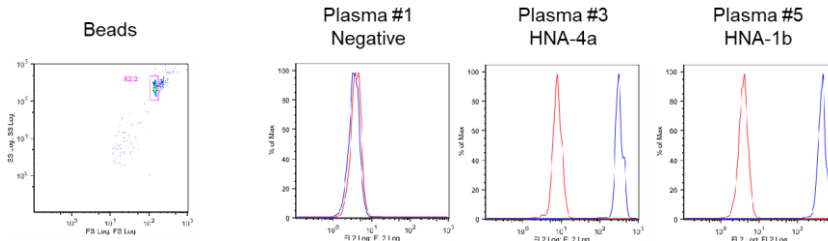
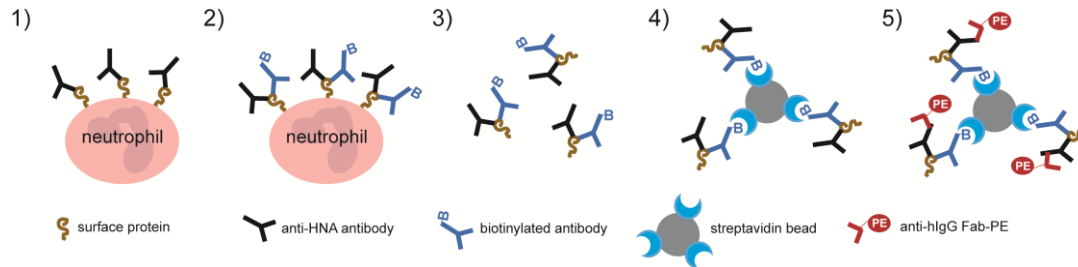


Positiv

*Antikroppar mot HNA-3 påvisas bäst i GAT.  
Viktigaste TRALI-antikroppen!*

# Monoclonal antibody immobilization of platelet antigens (MAIPA)

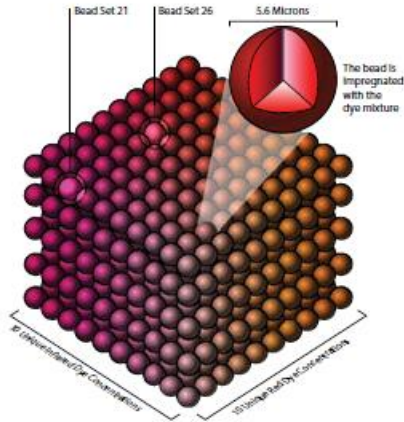
- 1) Patientplasma blandas med testneutrofiler
- 2+3) Biotinylerad monoklonal antikropp tillsätts och cellerna lyseras
- 4) Magnetiska streptavidin-kopplade kulor fångar upp de fria antikropp-antigen komplexen
- 5) Anti-human-IgG tillsätts som bildar antikroppen i patientplasman
- 6) Läs av kulor med inbunden fluorescens i flödescytometer



Ratcliffe et al., opublicerat  
Adapterat från Mörtberg et al., J. Immunol.  
Meth., 434, 9-16, 2016

# Luminexbaserad teknik (LabScreen Multi)

## LUMINEX-technique



Kulor infärgade med två fluorescerande färger i olika blandning, vilket ger varje kula en unik identitet.

### HLA class I

12 kulor med olika kombinationer av alleler

### HLA class II

5 kulor med olika kombinationer av alleler

### HNA

9 kulor, var och en specifik för ett enskilt antigen: HNA-1a, HNA-1b, HNA-1c, HNA-2, HNA-3a, HNA-3b, HNA-4a, HNA-5a, HNA-5b

### Hur?

1. 20 µL prov blandas med kulorna
2. Inkubation med anti-IgG-PE

### Resultat

$$\text{NBG ratio} = \frac{\text{S\#N} - \text{SNC bead}}{\text{BG\#N} - \text{BGNC bead}}$$

**S#N**

**SNC bead**

**BG#N**

**BGNC bead**

Sample-specific fluorescent value for bead #N

Sample-specific fluorescent value for Negative Control bead

Background NC Serum fluorescent value for bead #N

Background NC Serum fluorescent value for Negative Control bead

# Autoimmun Neutropeni – typfall

- Högst incidens mellan 7–9 månader
- Läker ut före 4–5 års ålder
- 90% av fallen löses inom 2 år – god prognos
- Många har antikroppar mot neutrofilantigenet FcγRIIb/CD16 (vi hittar antikroppar i ca 30% av de prov som remitteras till oss)

[illegible]

Pathlog 9.5  
 Aktiv Redigera Visa Fönster Verktyg Hjälp

Instrumentpanelen x Information om prov (P130) x

Översikt  
 Analys  
 Färdighetsutvärdering  
 Reservation  
 Kommentarer  
 Personuppgifter  
 InterInfo  
 Historik

Granulocyt- och trombocyttel. Alla analysresultat: Provdata Remissregistrering: 2000438304PH x

Anskaffad sedan 2020-07-26 23:20:56

Analys/Sammanfattning Isoforminformation Remiss Anamnes Svar Blaggr Kundinformation Prestationer Mödellbild Medgiftsdokument

| Status | Analysnamn | Namn   | Resultat      | Resultat              | Meritgare |
|--------|------------|--------|---------------|-----------------------|-----------|
| ✓      | GRANUC     | GRANUC | Resultat färd | Barn vän Dag-förd (1) |           |
| ✓      | LS HbA1c   | HLA1   | Svagt positiv | Barn vän Dag-förd (1) |           |
| ✓      |            | HLA2   | Negativ       | Barn vän Dag-förd (1) |           |
| ✓      | HbA1c      | HbA1c  | Positiv       | Barn vän Dag-förd (1) |           |
| ✓      | MAJGA      | CD16   | Negativ       | Barn vän Dag-förd (1) |           |
| ✓      |            | CD17   | Negativ       | Barn vän Dag-förd (1) |           |
| ✓      |            | CD18b  | Ej utförd     | Barn vän Dag-förd (1) |           |
| ✓      |            | CD11a  | Ej utförd     | Barn vän Dag-förd (1) |           |

Lägg till analys  
 Analysinfo...  
 Elementinfo...  
 Redigera...  
 Måtkulera...  
 Svarrapport...  
 Återkoppla analys

Utläsnings  
 Granulocytantikroppar med följande specificitet har påvisats: CD16  
 Fyndet är förenligt med autoimmun neutropeni.  
 Resultatet bör verifieras i upprepat prov om 4-6 veckor.  
 Granulocytopenisbedömning:  
 HLA, klass II: Svagt positiv  
 HLA klass II: Negativ  
 HbA1c: Positiv  
 HbA1c, HbA1c POSITIV  
 CD16: Negativ  
 Sammanfatta resultat

|     |   |         |       |     |       |
|-----|---|---------|-------|-----|-------|
| 026 | 8 | 2972,43 | 23,41 | 122 | HNA1A |
| 027 | 8 | 1389,26 | 20,89 | 140 | HNA1B |
| 028 | 1 | 403,09  | 1,16  | 120 | HNA1C |
| 029 | 1 | 258,18  | 0     | 100 | HNA2  |
| 031 | 1 | 454,18  | 1,23  | 124 | HNA3A |
| 032 | 1 | 440,95  | 0,44  | 133 | HNA3B |
| 033 | 1 | 111,95  | 0     | 128 | HNA4A |
| 034 | 1 | 218,64  | 0     | 145 | HNA5A |
| 036 | 1 | 270,02  | 0     | 113 | HNA5B |

Historik...

Återbyt  
 Hjälp

Immunoologi i Huddinge Medcentral sedan 2021-02-17 23:14:44  
 2120  
 2021-02-17

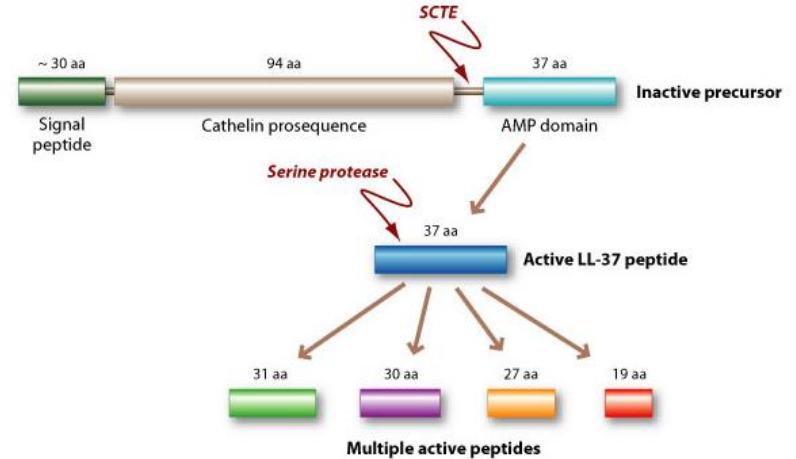
2025-03-01

# Andra tester

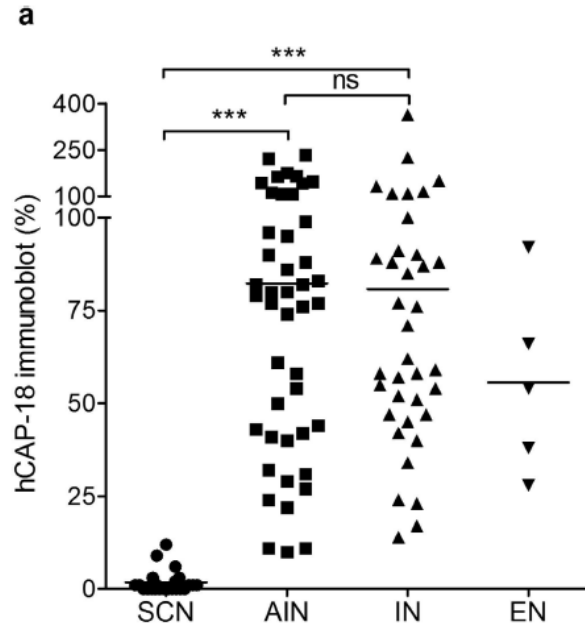
- PCR för Fy\*B\_GATA-mutationen = Duffy<sup>null</sup>-fenotyp
  - Etnisk neutropeni (ADAN)
  - Avsaknad av Fy\*B selektivt på erythrocyter
  - Resistens mot Vivaxmalaria
- ELISA för mätning av Pro-LL-37-nivåer
  - Låga nivåer vid kongential neutropeni
  - Oftast normala nivåer vid autoimmun neutropeni

# Pro-LL-37 ELISA

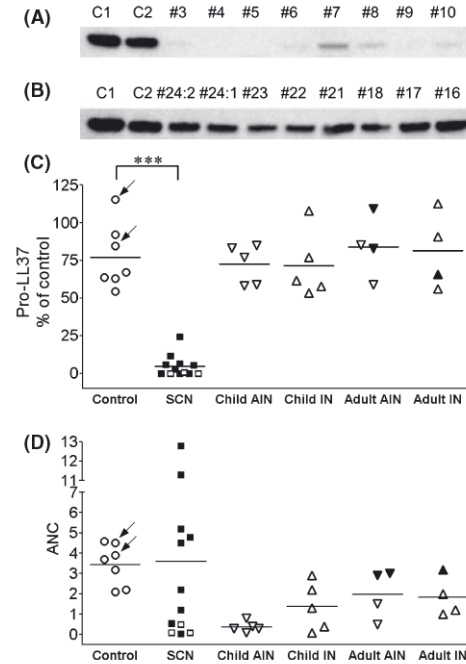
- Förstadium till den antibakteriella peptiden LL-37, vilken spelar stor roll för kroppens motstånd mot bakterier.
- Vid avsaknad av granulocyter (t.ex. vid SCN) saknas Pro-LL-37 i plasma.
- Analys av Pro-LL-37 utförs som del i utredningen av kongenitala neutropenier.
- ELISA på TRoLL sedan 2018/2019



# Pro-LL-37 (hCAP-18) saknas i patienter med SCN

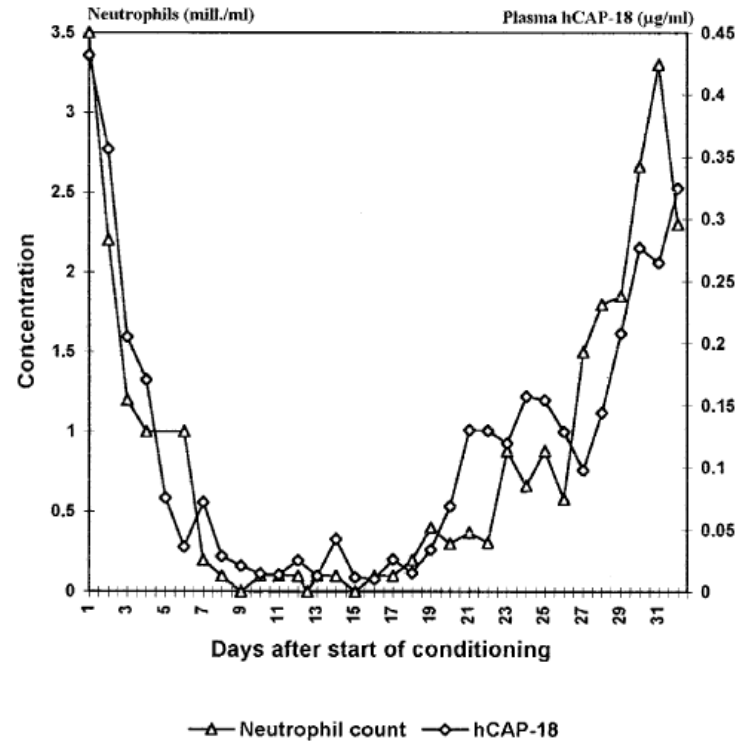


Ye et al., Sci Rep, 2015

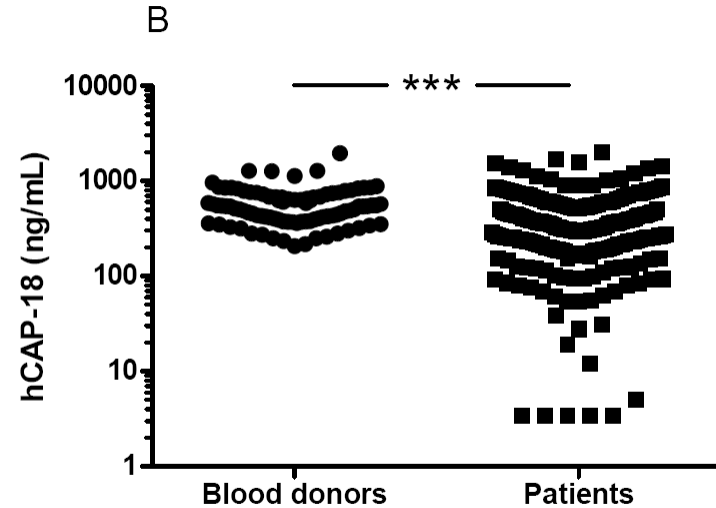
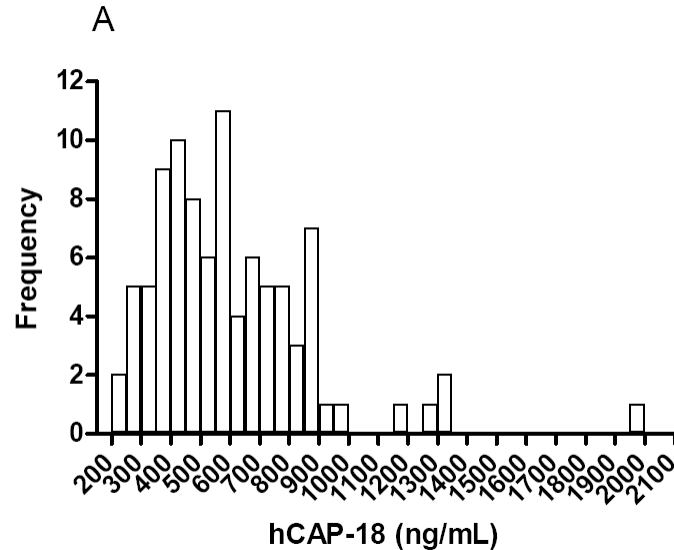


Karlsson, BJH, 2007

# Pro-LL-37 vid allotransplantation



# Pro-LL-37 i patienter och (vuxna) kontroller



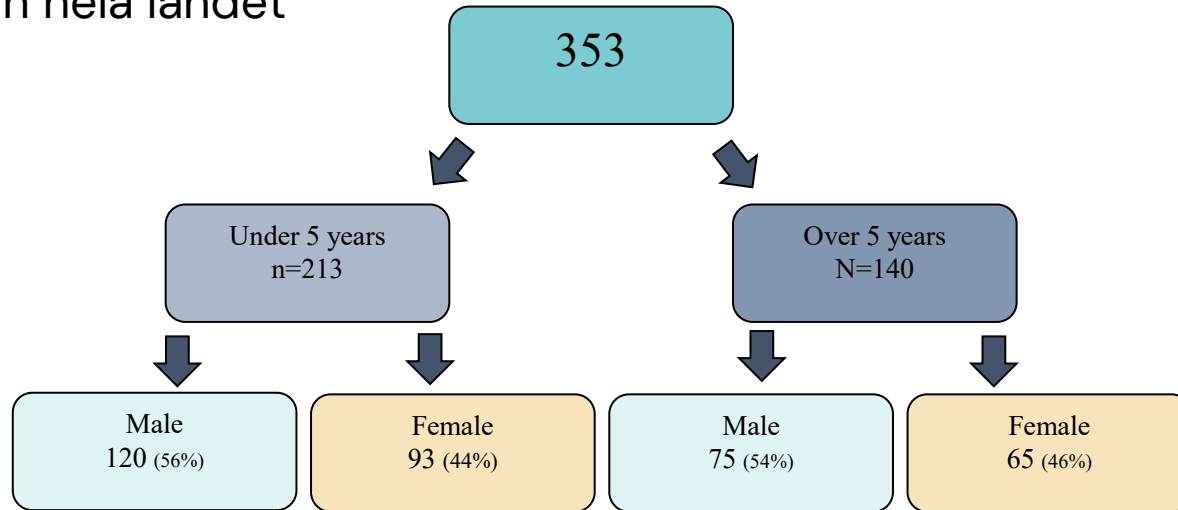
Mörtberg, Pütsep, Höglund, *Scand J Immunol*, 2021

# Characteristics of patients found in routine diagnosis of neutropenia with blood plasma hCAP-18 concentration < 22 ng/mL

| Sex | Age (year) | hCAP-18 (ng/mL) † | Information in referral                                      | Laboratory findings other than hCAP-18                            | Diagnosis       |
|-----|------------|-------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-----------------|
| F   | 1          | <3,4              | None                                                         | <i>HAX1</i> mutation identified by WGS.<br>Neutrophil antibodies  | SCN             |
| F   | 2          | <3,4              | Repeated neutropenia in conjunction with otitis media        | <i>ELANE</i> mutation identified by WGS.<br>Neutrophil antibodies | SCN/CN          |
| M   | 7          | <3,4              | Neutropenia in conjunction with infections<br>Thrombocytosis | No known mutations identified so far by WGS                       |                 |
| F   | 54         | <3,4              | None                                                         |                                                                   |                 |
| F   | 59         | 19                | None                                                         |                                                                   | Aplastic anemia |
| F   | 62         | <3,4              | None                                                         |                                                                   | T-LGL           |
| F   | 72         | 12                | Unclear neutropenia                                          |                                                                   |                 |
| M   | 88         | 5                 | None                                                         | Neutrophil antibodies                                             | B-cell lymphoma |

# Pågående forskningsstudie: Autoantikroppar och klinisk bild hos barn med AIN

- 353 prov från patienter under 18 år med misstänkt AIN
- 213 prov från patienter under 5 år
- Prover från hela landet



# Frågeställningar

- Hur många av patienterna under 5 år har antikroppar i luminexanalysen?  
→ Svar: 43/213 = 20 % (alla är specifika mot CD16)
- Hur väl fungerar luminexanalysen jämfört med övriga tester?
- Hur ser den kliniska bilden ut hos patienter med och utan antikroppar?  
→ Labdata, infektioner, ärftlighet etc.
- Finns det en koppling mellan förekomst av antikroppar mot CD16 och antikroppar mot olika luftvägsvirus?  
→ Samarbete med företaget Infinity Bio.

*För att vår forskning ska bli så bra som möjligt behöver vi ibland hjälp av er, våra kollegor, i landet med kliniska data. En del av er har i dagarna fått brev av oss om detta! 😊*

# Provtagningsinfo + remiss

- <https://www.karolinska.se/pta/klinisk-immunologitransfusionsmedicin/neutropeniutredning/>
- <https://www.karolinska.se/pta/klinisk-immunologitransfusionsmedicin/pro-ll-37/>

**KAROLINSKA**  
UNIVERSITETSLABORATORIET

112 SOS Alarm 1177 Vårdinformation

Vård Forskning och Utbildning Jobb Om oss

Sök på webbplatsen

Start > Vård > Funktion Medicin Diagnostik Karolinska > Karolinska Universitetslaboratoriet >

### Neutropeniutredning

Klinisk immunologi/transfusionsmedicin

Alternativt sökord: Granulocyttäktningsapparat

Indikationer / kompletterande analys: Neutropeni, Autoimmun neutropeni, Neutropeni hos nyligt barn, Transfusionskomplikation, TRALI (Transfusion Related Acute Lung Injury), Färdiga reaktioner

Metod: Luminescensbaserad assay, antikroppsscreening mot granulocyttantigen.

Remiss: Klinisk immunologi/transfusionsmedicin alternativt Remiss vid trombocytopeni och neutropeni

Adress och kontaktuppgifter ska anges på remissen. Klinisk anamnes krävs. Prover kan komma att sparas i biobank, samtycke krävs.

**KAROLINSKA**  
UNIVERSITETSLABORATORIET

112 SOS Alarm 1177 Vårdinformation

Vård Forskning och Utbildning Jobb Om oss

Sök på webbplatsen

Start > Vård > Funktion Medicin Diagnostik Karolinska > Karolinska Universitetslaboratoriet >

### Pro-LL-37

Klinisk immunologi/transfusionsmedicin

Alternativt sökord: Neutropeniutredning

Indikationer / kompletterande analys: Neutropeni, Kongenital neutropeni, Neutropeni hos nyligt barn

Metod: Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Remiss: Klinisk immunologi/transfusionsmedicin alternativt

**KAROLINSKA**  
UNIVERSITETSLABORATORIET

112 SOS Alarm 1177 Vårdinformation

Vård Forskning och Utbildning Jobb Om oss

Sök på webbplatsen

Start > Vård > Funktion Medicin Diagnostik Karolinska > Karolinska Universitetslaboratoriet >

### Spara inte på information!

Klinisk immunologi/transfusionsmedicin

Alternativt sökord: Neutropeniutredning

Indikationer / kompletterande analys: Neutropeni, Kongenital neutropeni, Neutropeni hos nyligt barn, Transfusionskomplikation, TRALI (Transfusion Related Acute Lung Injury), Färdiga reaktioner

Metod: Luminescensbaserad assay, antikroppsscreening mot granulocyttantigen.

Remiss: Klinisk immunologi/transfusionsmedicin alternativt Remiss vid trombocytopeni och neutropeni

# Medarbetare och samarbetspartners

## Klinisk immunologi och Transfusionsmedicin Karolinska Universitetssjukhuset

Anette Heinerud  
Anette Johnson  
Anette Mörtberg  
Agneta Wikman

## EuNet – Innochron

Helen Papadaki  
Irène Mavroudi

## Kliniska samarbetspartners

Mikael Sundin  
Alexandra Haara Löfstedt  
Ulf Tedgård  
Annika Mårtensson  
Kirtine Klove Mogensen  
Kasper René Nielsen

## Centrum för Hematologi och Regenerativ Medicin Institution för Medicin Huddinge Karolinska Institutet

Petter Höglund  
Roland Fiskesund  
Stephan Meinke  
Maaïke Jongen  
Peter Norris  
Magdalena Lourda



**Karolinska  
Institutet**