

## Artikelen

### Ernstige hemolyse door auto-antistoffen type IgA: een diagnostische valkuil

E.A.M. BECKERS<sup>1</sup>, W.H. VAN HOUTUM<sup>2</sup>, C.R.W. KORVER<sup>3</sup>, M.A.M. OVERBEEKE<sup>4</sup> en D.J. VAN RHENEN<sup>5</sup>

Drie patiënten, respectievelijk 21, 66 en 2,5 jaar oud, vertoonden tekenen van ernstige intravasale hemolyse: geelzucht, anemie, hemolytisch plasma en hemoglobinurie. In eerste instantie werd bij de eerste twee patiënten de diagnose warmte auto-immuun-hemolytische anemie gemist, doordat de directe antiglobulinetest met polyspecifiek antihumaan serum een negatieve uitslag had laten zien. Het klinische beeld van voortdurende, onverklaarde hemolyse noodzaakte aanvullend immunohepatologisch onderzoek in een referentielaboratorium. Alleen auto-antistoffen type IgA bleken aanwezig te zijn in het serum en op de erythrocyten. In dergelijke gevallen is de routinematig verrichte directe antiglobulinetest negatief, omdat er geen anti-IgA in het antihumaan serum aanwezig is. Deze valkuil leidde tot uitgebreide diagnostiek met als gevolg dat de toepassing van adequate therapie onnodig werd vertraagd. In de derde patiënt leidden deze ervaringen tot onmiddellijke toepassing van het monospecifieke anti-IgA-reagens, waarna de diagnose snel werd verkregen en de juiste behandeling werd gestart. Overigens was in alle gevallen een opvallende sferocytose in het perifere bloedbeeld aanwezig, die pathognomisch is voor immuungemedieerde hemolyse indien de congenitale vorm is uitgesloten. Hoe IgA-auto-antistoffen in staat zijn om zonder complementactivatie intravasculaire hemolyse te veroorzaken staat ter discussie. Als pathofysiologische mechanismen, die hierbij een rol kunnen spelen, worden genoemd de complement-onafhankelijke interactie tussen IgA-beladen erythrocyten en mononucleaire leucocyten en het hypothetische concept van reactieve lysis. Zodra de diagnose warmte auto-immuun hemolytische anemie kon worden gesteld, werd gestart met hoge dosis corticosteroiden, waarna alledrie de patiënten volledig herstelden. Deze casussen ondersteunen de aanbeveling voor het

gebruik van polyspecifiek antihumaan serum in combinatie met monospecifieke reagentia (anti-IgA, anti-IgM en anti-complement) in de laboratoriumdiagnostiek van auto-immuun-hemolytische anemie.

*Trefwoorden: auto-immuun hemolyse; IgA-antistoffen; anemie; directe antiglobulinetest*

Bij een patiënt met hemolyse wordt differentiaal-diagnostisch altijd gedacht aan een mogelijke immuungemedieerde oorzaak. Voor het aantonen van antistoffen is het verrichten van een directe antiglobulinetest, ofwel de 'directe Coombs', van essentieel belang. In het algemeen bevestigt een positieve directe antiglobulinetest de aanwezigheid van antistoffen, gebonden aan erythrocyten. Een negatieve directe antiglobulinetest leidt in de meeste gevallen tot de (correcte) conclusie dat een immuungemedieerde hemolyse onwaarschijnlijk is. Vaak volgt dan een uitgebreid diagnostisch traject om de oorzaak van de hemolyse vast te stellen. Het starten van de juiste therapie loopt dan vertraging op. Aan de hand van een drietal gevallen laten wij zien hoe een negatieve directe antiglobulinetest tot de onjuiste diagnose niet-auto-immuun-hemolytische anemie kan leiden.

#### Casus 1

Patiënt A, een 21 jarige man, had sedert 2 dagen een pijnloze roodverkleuring van de urine bemerkt. Er was geen trauma aan voorafgegaan. Patiënt was twee jaar voor de huidige presentatie chemotherapeutisch behandeld voor de ziekte van Hodgkin, nodulair scleroserende type stadium IIa. Hij gebruikte thans geen medicatie. De evaluatie na 12 kuren combinatie chemotherapie liet een complete remissie zien. Het lichamelijke onderzoek toonde een lichte icterische verkleuring van de sclerae. Lymfadenopathie of tekenen van hepatosplenomegalie werden niet aangetroffen. De uitslagen van het bloedonderzoek pasten bij een hemolytische anemie (tabel 1). Kwalitatief urineonderzoek liet hemoglobinurie zien. In het urinesediment werden echter geen erythrocyten aangetoond. Bij immunohepatologisch onderzoek was de directe antiglobulinetest (directe Coombs) uitgevoerd met polyspecifiek antihumaan globuline, bevattend anti-IgG en anti-C3d, bij herhaling negatief. Met de indirecte antiglobulinetest (indirecte Coombs) uitgevoerd met

Bloedbank ZWN Rotterdam<sup>1</sup>, internist; MCA, Alkmaar<sup>2</sup>, assistent interne geneeskunde; Kennemer Gasthuis, Haarlem<sup>3</sup>, kinderarts; Stichting Sanquin, divisie CLB-Diagnostiek, Amsterdam<sup>4</sup>, biologie; Bloedbank ZWN Rotterdam<sup>5</sup>, internist-hematoloog

Correspondentie: Dr. E.A.M. Beckers, Bloedbank ZWN Rotterdam, Wyttemaweg 10, 3015 CN Rotterdam.  
e-mail: erik.beckers@bloodrtd.nl

**Tabel 1.** Laboratoriumwaarden bij opname

Parameter	Patiënt A	Patiënt B	Patiënt C
Hb (mmol/l)	4,6	2,9	3,4
Ht (l/l)	0,20	0,14	0,16
MCV (fl)	92	131	111
Leucocyten (10 <sup>9</sup> /l)	16,7	17,2	12,3
Trombocyten (10 <sup>9</sup> /l)	326	280	294
Reticulocyten (%)	87	550	950
Differentiatie			
Sferocytose	++	++	++
Erytroblastosis	++	++	++
Bilirubine (µmol/l)	87	103	66
onconjugueerd	92%	85%	98%
LD (U/l)	1272	4480	1620
Haptoglobine (g/l)	<0,01	<0,06	<0,06
Bloedgroep	B	0	0
Rhesus-fenotype	ccdde	CCDee	ccDee
Directe antiglobulinetest:			
Polyspecifiek	Negatief	Negatief	Positief
Anti-IgG	Negatief	Negatief	Positief
Anti-IgM	Negatief	Negatief	Negatief
Anti-C3c	Negatief	Negatief	Negatief
Anti-C3d	Negatief	Negatief	Negatief
Anti-IgA	Positief	Positief	Positief

anti-IgG en anti-C3d in de bovine albumine en polyethyleenglycoltechniek werden in het serum geen vrij circulerende antistoffen tegen erythrocyten aangetroffen. Door de negatieve uitslagen van het immunohematologisch onderzoek, werd verdere analyse ingezet naar de niet-auto-immune oorzaken van de hemolytische anemie. Beenmergmorfologie toonde een versterkte erythropoïese, maligne cellen waren niet aanwezig. De Acid-Ham test was negatief, waarmee de diagnose paroxysmale nachtelijke hemoglobinurie zeer onwaarschijnlijk werd gemaakt. Cytomegalievirus, Epstein-Barr virus, HIV en Mycoplasma-serologie bleken eveneens negatief. Mechanische oorzaken voor de hemolyse waren niet aanwezig. In de perifere bloeditstrijk werden geen fragmentocyten gezien, waardoor een micro-angiopathische origine kon worden uitgesloten. Erfelijke oorzaken (enzymdeficiënties, hemoglobinopathiën, membraanafwijkingen) werden niet waarschijnlijk geacht, omdat deze tijdens de eerdere behandeling reeds opgevallen zouden moeten zijn. In verband met de onverklaarde, progressieve hemolyse werd aanvullende immunohematologische diagnostiek verricht bij de divisie CLB-Diagnostiek, afdeling Erythrocytenserologie. Met behulp van de monospecifieke reagentia anti-IgG, anti-IgM en anti-complement (anti-C3c en anti-C3d) bleek de directe antiglobulinetest negatief. Echter, wanneer monospecifiek anti-IgA-reagens werd toegepast, bleek de directe antiglobulinetest sterk positief. In het serum en in het eluaat konden IgA-auto-antistoffen met de relatieve specificiteit anti-e worden geïdentificeerd. Om uit te sluiten dat er sprake was van een recidief van M. Hodgkin werd stageringsonderzoek ingezet. Echter röntgenonderzoek van de thorax, echografisch onderzoek van het abdomen en een Galliumscan, die in het verleden een verhoogde

activiteit vertoonde, bleken alle negatief. Ook beenmergcytologie liet geen maligne of leukemische cellen zien. De diagnose idiopathische IgA-gemedieerde auto-immun hemolytische anemie, AIHA, werd gesteld. Behandeling werd ingesteld op basis van de symptomatologie en bij opname kreeg patiënt 4 eenheden buffycoat-vrije erythrocytenconcentraten. Op dag 7, toen de correcte diagnose was gesteld, was het hemoglobine gedaald tot 2,1 mmol/l. Een behandeling met hoge doses prednison (80 mg/dag) werd gestart. Twee getypeerde (e-negatief) eenheden werden aanvullend getransfundeerd in verband met optredende kortademigheidsklachten. Binnen 2 maanden werd een normaal hemoglobine bereikt zonder tekenen van hemolyse en kon de prednison langzaam worden afgebouwd. Na acht maanden kon volstaan worden met een onderhoudsdosis van 5 mg per dag.

## Casus 2

Patiënt B, een 66-jarige man met een blanco voor geschiedenis, werd vanwege progressieve dyspnoe d'effort opgenomen. Zes weken voor opname begon hij te klagen over pijnlijke spierkrampen in beide onderbenen na een griepachtig beeld. Er was sprake van een opvallend gewichtsverlies van 6 kg. De laatste 2 weken had hij een kleurverandering van de urine van normaal naar donkerbruin bemerkt. De laatste dagen namen de kortademigheidsklachten toe, met name bij inspanning. Er waren geen andere cardiopulmonale klachten. Koorts was afwezig. Bij opname was patiënt bleek en icterisch. De bloeddruk was 130/70 mmHg, pols 110/min, temperatuur 37,2 °C. Er waren geen palpabele lymfeklieren. Behoudens een ejectiongeruis waren er bij onderzoek van hart en longen geen bijzonderheden. De lever en milt waren niet palpabel. Het laboratoriumonderzoek in het ziekenhuis toonde een ernstige hemolyse (tabel). De directe antiglobulinetest, uitgevoerd met behulp van polyspecifiek antihumaan globuline, bevattend anti-IgG en anti-C3d, was bij herhaling negatief. In het serum werden met de indirecte antiglobulinetest geen vrij circulerende antistoffen aangetroffen. Naar aanleiding van de negatieve directe antiglobulinetest werd uitgebreide aanvullende diagnostiek ingezet naar een niet-immuungemedieerde oorzaak van de intravasale hemolyse. Beenmergcytologie liet een duidelijke dyserythropoïese, passend bij een ernstige perifere hemolyse, zien. Er was geen paraproteïnemie. Het röntgenonderzoek van de thorax en het echo-onderzoek van het abdomen waren normaal. Een Mycoplasma- of EBV-geassocieerde hemolyse werd serologisch uitgesloten. Er was een normale Acid-Ham test. Inmiddels werd patiënt behandeld met buffycoat-vrije erythrocytenconcentraten. In de eerste week werden 9 eenheden toegediend. Hierna werd aanvullende immunohematologische diagnostiek verricht bij de divisie CLB-Diagnostiek, afdeling Erythrocytenserologie. Met monospecifiek anti-IgA-reagens bleek ook in dit geval de directe antiglobulinetest sterk positief. In het serum en in het eluaat konden specifieke IgA-auto-antistoffen en IgA-auto-antistoffen met de relatieve specificiteit anti-e worden geïsoleerd. De diagnose AIHA op basis van IgA-auto-antistoffen kon worden

gesteld. De patiënt werd behandeld met hoge doses prednison (60mg/dag). Vanwege de ernst van de hemolyse werden getypeerde (e-negatieve) erythrocytenconcentraten toegediend. Gedurende de tweede en derde week van de opname werden nog eens 9 eenheden getransfundeerd. Er volgde een ongecompliceerd klinisch beloop. Drie weken na het starten van de prednisonbehandeling was de directe antiglobulinetest negatief geworden. Na stapsgewijze dosisverlaging, kon de prednison na drie maanden geheel worden gestaakt. Drie jaar na de diagnose zijn er geen tekenen van recidief.

### Casus 3

Patiënt C, een 2 jaar en 9 maanden oude jongen, werd op de spoedeisende hulp gepresenteerd in verband met geelzucht. Hij is de eerste van twee kinderen van gezonde ouders. Graviditeit en partus verliepen probleemloos. Groei en ontwikkeling waren tot nu toe voorspoedig verlopen. Twee weken voor opname was hij gedurende enkele dagen ziek geweest met misselijkheid, braken en diarree, gepaard gaande met temperatuursverhoging tot maximaal 38,1°C. Enige dagen later was hij volgens de ouders lichtgeel geworden met daarnaast uitgesproken malaise en vermoeidheidsklachten. De mictie verliep ongestoord, wel zou de kleur van de urine steeds donkerder worden zijn. Er waren geen ziektegevallen in de omgeving. Recent waren geen reizen naar het buitenland gemaakt. Bij opname werd een bleke en icterische peuter gezien met een gewicht van 16,4 kg bij een lengte van 101 cm, temperatuur 37,4°C. De harttonen waren scherp met een 2/6 vroegsystolische hoogfrequente decrescendosouffle, punctum maximum aan de apex. Lever en milt waren niet palpabel. Bij immunohematologisch onderzoek werd een positieve directe antiglobulinetest gevonden. Er werd niet alleen getest met polyspecifiek antihumaan globuline (dus: met anti-IgG en anti-complement), maar ook met monospecifiek anti-IgA- en anti-IgM-reagens. Hierbij werden positieve reacties met het anti-IgG-, maar voornamelijk met het anti-IgA-reagens gevonden. Met de indirecte antiglobulinetest werden vrij circulerende auto-antistoffen met de specificiteiten anti-e en anti-Ce aangetoond, voornamelijk van de IgA-klasse. Ook het onderzoek naar erythrocytgebonden antistoffen in het eluaat was positief voor (auto-)antistoffen van de IgA-klasse, naast enig IgG. De specificiteit hiervan kon niet worden vastgesteld. Overig laboratoriumonderzoek (stollingsonderzoek, Hb-electroforese, leverfuncties, uitvoerige serologie, glucose-6-fosfaatdehydrogenase- en pyruvaatkinase-enzymactiviteit en spectrinegehalte van erythrocyten) was zonder duidelijke afwijkingen. De diagnose AIHA op basis van circulerende en erythrocytgebonden antistoffen, voornamelijk van de IgA-klasse werd gesteld. Twee maal werd een (C-negatief, e-negatief) gefiltreerd erythrocytenconcentraat toegediend. Veertien dagen na de laatste transfusie was het Hb opnieuw gedaald van 9,3 naar 6,3 mmol/l en werd alsnog gestart met prednison 20 mg/dag. Twee weken nadien bedroeg het Hb 7,1 mmol/l. Klachten hebben zich niet meer voorgedaan. Twee maanden nadien werd de prednison stapsgewijs

afgebouwd in 12 dagen tijd en vervolgens gestaakt. Van laboratoriumonderzoek werd door de ouders op dat moment afgezien. Bij telefonische navraag zes maanden na opname bleek dat patiënt het nog steeds uitstekend maakte.

### Beschouwing

De auto-immuun-hemolytische anemieën worden op basis van de temperatureigenschappen van de aangetroffen auto-antistoffen onderverdeeld in koude, warmte of gemengde AIHA (1, 2). Het koude-agglutinatiesyndroom en de paroxysmaal koude hemoglobinurie zijn klinische uitingen van de koude AIHA. Intra- of extravasale hemolyse wordt gezien bij de warmte AIHA. Daarnaast zijn er gemengde AIHA, waarbij zowel koude als warmte auto-antistoffen worden aangetroffen met de bijbehorende klinische uitingen. De warmte AIHA komt het meeste voor (2,3). In de overgrote meerderheid van de gevallen zijn dan warmte auto-antistoffen van het type IgG, al of niet in combinatie met complement, op de rode cel aantoonbaar. Warmte auto-antistoffen van het type IgG leiden bijna altijd tot extravasale hemolyse, voornamelijk in de milt, door interactie tussen de erythrocytgebonden IgG en de Fc $\gamma$ -receptoren op de macrofagen. Intravasale hemolyse treedt alleen op indien complement wordt geactiveerd en het membraan-attackcomplex wordt gevormd. In de regel zijn hiervoor IgM antistoffen nodig. Het bekendste voorbeeld is de hemolyse die optreedt na transfusie van ABO-incompatibele erythrocyten. De IgM-auto-antistoffen die bij AIHA worden aangetroffen, reageren, op grote uitzondering na, bij lagere temperaturen (< 20 °C), zodat in vivo geen belangrijke complementactivatie en hemolyse optreden. In de bovenbeschreven drie casus is er sprake van een ernstige auto-immuun-gemedieerde hemolyse. Bij de eerste twee patiënten waren er alleen auto-antistoffen van het type IgA aantoonbaar. In deze situatie treedt een diagnostische valkuil op. De directe antiglobulinetest was negatief, omdat het in de routine gebruikte polyspecifiek antihumaan globulinereagens geen anti-IgA bevatte, maar alleen anti-IgG en anti-C3d. De diagnose warmte AIHA werd vervolgens in eerste instantie ten onrechte verworpen. Na aanvullende immunohematologische diagnostiek werd pas door het gebruik van monospecifiek anti-IgA-reagens duidelijk dat er sprake was van een hemolytische anemie op basis van warmte auto-antistoffen. In beide gevallen liep het stellen van de correcte diagnose 7 dagen vertraging op en bleef de juiste behandeling onnodig lang uit. Bij patiënt C werd ondanks de positieve directe antiglobulinetest ook getest op het voorkomen van auto-antistoffen van de IgA-klasse, waardoor de diagnose snel gesteld kon worden. Een andere aanwijzing dat er sprake was van een AIHA, was de opvallende sferocytose in het perifere bloedbeeld, die pathognomisch is voor immuungemedieerde hemolyse, als een congenitale sferocytose is uitgesloten (4). Het verrichten van een bloeduitstrijkje is essentieel in de diagnose van hemolytische anemie. Een juiste interpretatie van het bloeduitstrijkje had het diagnostische traject sterk kunnen beperken. Hoe

IgA-auto-antistoffen in staat zijn om hemolyse te veroorzaken staat ter discussie (5). Door interactie tussen de erythrocytegebonden IgA- en de Fc $\gamma$ -receptoren op de macrofagen treedt extravasale hemolyse (in de milt) op, zoals dit ook is aangetoond bij IgG-auto-antistoffen met de corresponderende Fc-gamma-receptoren (6). Of IgA, net als IgM, in staat is om complement te activeren en daardoor intravasale hemolyse kan veroorzaken, is omstreden (7-11). Toch lijkt er bij alledrie de patiënten ook intravasale hemolyse op te treden door de aangetoonde hemoglobulinurie en het vrij hemoglobine in het plasma. In afwezigheid van IgM-antistoffen en zonder aantoonbare complementactivatie (met immunohematologische technieken) is het optreden van een intravasale hemolyse door IgA-antistoffen een onverklaard fenomeen. Mogelijk treedt intravasale hemolyse op door een directe interactie tussen de met IgA-beladen erythrocyten en de mononucleaire leucocyten van de patiënt (fagocyten of 'killer'lymfocyten), waarbij complementactivatie niet noodzakelijk is (8). Een alternatieve hypothese is het concept van de 'reactieve lysis' (12, 13). Bij 'reactieve lysis' wordt het C5b6-complex in de vloeibare fase, dat gedurende een eerdere immuunrespons werd gevormd maar niet werd geneutraliseerd, gebonden aan de celmembraan, i.c. erythrocytenmembraan. Dit proces gebeurt onafhankelijk van C3-activatie, waarmee de negatieve directe antiglobulinetest met anticomplementreagentia (anti-C3c en anti-C3d) kan worden verklaard (14). Na de binding van de (auto)antistof aan het antigeen wordt de complementcascade met de vorming van het membraan-attackcomplex voltooid, met als gevolg intravasale hemolyse. Of dergelijke mechanismen een rol hebben gespeeld bij de beschreven patiënten, blijft speculatief. Laboratoriumonderzoek gericht op antistof-antigeen-interactie (zoals antibody-dependent-cytotoxicity-test, ADCC) of complementactivatie werd niet verricht. De behandeling van warmte AIHA bestaat uit corticosteroïden en bloedtransfusie. Corticosteroïden verminderen de hemolytische activiteit door de productie van auto-antistoffen te verminderen en door de afbraak van de erythrocyten te vertragen door de affiniteit van de Fc-receptor voor de auto-antistof te beïnvloeden en daarmee de miltsequestratie te verminderen (4). Bij een bloedtransfusie kunnen buffycoat-vrije erythrocytenconcentraten worden gebruikt. Het toedienen van bloedproducten dient beperkt te worden tot die gevallen waarbij de (chronische) anemie symptomatisch wordt. Een Hb-grens wordt in dit restrictieve transfusie advies niet gesteld. De auto-antistoffen bij de gepresenteerde patiënten vertoonden een relatieve anti-e-specificiteit. In warmte AIHA worden frequent auto-antistoffen met een Rh-specificiteit aangetroffen (15). Omdat het gaat om auto-antistoffen is het in het algemeen niet noodzakelijk dat e-negatieve (EE-homozygote) eenheden worden getransfundeerd. Om vorming van allo-antistoffen te voorkomen kunnen het beste erythrocyten worden getransfundeerd die compatibel zijn voor het rhesusfenotype en het K-antigeen van de patiënt. In dit geval werden wel e-negatieve eenheden toegediend, vanwege de hoge titer auto-antistoffen en de

ernst van de hemolyse. Het risico van allo-immunisatie (de vorming van allo-anti-E) moet dan worden afgewogen. Er bestaan overigens geen harde gegevens dat patiënten met auto-antistoffen vaker irregulaire allo-antistoffen vormen na een transfusie dan andere patiënten (15).

### Conclusie

Een negatieve directe antiglobulinetest bij een ernstige hemolyse kan leiden tot een diagnostische valkuil. Het serologisch onderzoek leidt dan tot de foutieve conclusie dat de hemolyse niet-immuungemedieerd is. Een noodzakelijke diagnostische stap is de juiste beoordeling van een perifeer bloeditstrijkje. Sferocytose is pathognomisch voor immuungemedieerde hemolyse, indien congenitale sferocytose is uitgesloten. Het immunohematologisch onderzoek kan worden uitgebreid, indien de hemolytische kenmerken van het klinische beeld hiertoe aanleiding geven. Het is reeds aanbevolen om naast het polyspecifieke antihumaanserum ook gebruik te maken van monospecifieke anti-IgA-, anti-IgM- en anti-complementreagentia voor de diagnostiek van auto-immuun-hemolytische anemie. Hiermee kan de diagnostische valkuil worden ontlopen, wordt een onnodig lang diagnostisch traject vermeden en de instelling van een juiste therapie versneld.

### Mededeling omtrent dubbelpublicatie

Casus 2 werd eerder beschreven: Beckers EAM, Guldener C van, Overbeeke MAM, Rhenen DJ van. Intravascular hemolysis by IgA red cell autoantibodies. *Neth J Med* 2001; 58: 204-207.

### Literatuur

1. Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. The pathology of autoimmune haemolytic anaemia. *J Clin Pathol* 1992; 45: 1047-1052.
2. Dacie J. The auto-immune hemolytic anaemias, volume 3. In: *The haemolytic anaemias* 3rd ed. London: Churchill Livingstone; 1992.
3. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps BK. Autoimmune haemolysis: an 18-year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. *Br Med J* 1981; 282: 2023-2027.
4. Packman CH. Acquired hemolytic anemia due to warm-reacting autoantibodies (chapter 55). In: *Williams Hematology*, 6th edition. Beutler E, Lichtman M, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U eds. London: McGraw-Hill; 2001.
5. Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R, Booth JR, Hook V. IgA red cell autoantibodies and autoimmune hemolysis. *Transfusion* 1997; 37: 175-181.
6. Maliszewski CR, March CJ, Schoenborn MA, Gimpel S, Shen L. Expression cloning of a human Fc receptor for IgA. *J Exp Med* 1990; 172: 1665-1672.
7. Von dem Borne AEGKr. De wijze van afbraak van erythrocyten bij patiënten met AIHA, bestudeerd met <sup>51</sup>Cr (Hoofdstuk IV). In: *Autoimmuun haemolytische anaemie*, academisch proefschrift, Universiteit van Amsterdam. Amsterdam; 1971.
8. Clark DA, Dessypris EN, Jenkins DE Jr, Krantz SB. Acquired immune hemolytic anemia associated with IgA erythrocyte coating: investigation of hemolytic mechanisms. *Blood* 1984; 64: 1000-1005.
9. Suzuki S, Amano T, Mitsunaga M, Yagyu F, Ofuji T. Auto-immune hemolytic anemia associated with IgA autoantibody. *Clin Immunol Immunopathol* 1981; 21: 247-256.

10. Salama A, Bhakdi S, Mueller-Eckhardt C, Kayser W. Deposition of the terminal C5b-9 complement complex on erythrocytes by human red cell autoantibodies. *Br J Haematol* 1983; 55: 161-169.
11. Pfaffenbach G, Lamm ME, Gigli I. Activation of the guinea pig alternative complement pathway by mouse IgA immune complexes. *J Exp Med* 1982; 155: 231-247.
12. Thompson RA, Rowe DS. Reactive haemolysis - a distinctive form of red cell lysis. *Immunology* 1968; 14: 745-762.
13. Lachmann PJ, Thompson RA. Reactive lysis: the complement-mediated lysis of unsensitized cells. II. The characterization of activated reactor as C56 and the participation of C8 and C9. *J Exp Med* 1970; 131: 643-657.
14. Salama A, Bhakdi S, Mueller-Eckhardt C. Evidence suggesting the occurrence of C3-independent intravascular immune hemolysis. *Reactive hemolysis in vivo*. *Transfusion* 1987; 27: 49-53.
15. Petz LD, Swisher SN, Kleinman S, Spence RK, Strauss RG eds. *Clinical practice of transfusion medicine*. 3rd edition. London:Churchill Livingstone; 1996.

---

### Summary

*Severe hemolysis due to auto antibodies type IgA: a diagnostic pitfall. Beckers EAM, Houtum WH van, Korver CRW, Overbeeke MAM en Rhenen DJ van. Ned Tijdschr Klin Chem 2002; 27: 131-135.*

Three patients, aged 21, 66 and 2.5 years respectively, presented with signs of severe intravascular hemolysis: jaundice, anemia, hemolytic plasma and hemoglobinuria. At first the diagnosis of warm autoimmune hemolytic anemia was over-

looked in the first two patients, because the direct antiglobulin test with polyspecific antihuman serum was repeatedly negative. Because of ongoing and unexplained hemolysis, additional immunohematologic tests were performed in a reference laboratory. Only autoantibodies type IgA appeared to be present in the serum and on the red cells. In the IgA-only induced warm autoimmune hemolytic anemia, the routinely applied direct antiglobulin test fails to demonstrate these autoantibodies by the lack of anti-IgA in the polyspecific antihuman serum. This pitfall led to an extensive diagnostic work-up and resulted in an unnecessary delay of appropriate treatment. In the case of the third patient, based on these experiences, also monospecific anti-IgA was applied in the direct antiglobulin test. Prompt diagnosis and treatment were achieved. All three patients had marked spherocytosis in the peripheral blood smear, which is considered pathognomic for immune-mediated hemolysis. How IgA autoantibodies are capable of inducing intravascular hemolysis without complement activation is a matter of debate. Possible pathophysiological mechanisms include complement-independent interaction between IgA-coated red blood cells and mononuclear leucocytes and the hypothetical concept of reactive lysis. Once the diagnosis of warm autoimmune hemolytic anemia was made and treatment with high dose glucocorticoids was instituted, all of the three patients recovered uneventfully. Apart from the routinely applied polyspecific antihuman serum, the use of monospecific reagents (anti-IgA, anti-IgM and anti-complement) in the diagnostic work-up of autoimmune hemolytic anemia is recommended.

*Key-words: autoimmune hemolysis; IgA antibodies; anemia; direct antiglobulin test*