

Granulocyttransfusion bör övervägas vid neutropeni och allvarlig infektion

Efter cytostatikabehandling av patienter med hematologiska maligniteter och efter stamcellstransplantation får patienten under en period en uttalad benmärgsvikt. Detta innebär risk för allvarliga, livshotande infektioner/sepsis på grund av brist på vita blodkroppar/granulocyter. Då man fick tillgång till moderna cellseparatorer i slutet av 1960-talet knöts därför stora förhoppningar till att man skulle ta fram granulocyt-koncentrat för transfusion.

En stor utmaning är att kunna skörda tillräckligt antal celler från en frisk givare, eftersom granulocyter är svåra att separera från övriga blodceller vid centrifugering. Det behövs också täta transfusioner med ett stort antal celler, eftersom granulocyter även hos friska individer har kort överlevnad i cirkulationen (halveringstid 4–9 timmar har rapporterats i de flesta studier) [1]. Vid infektion ökar åtgången av celler ytterligare.

Historik och kliniska erfarenheter

Genom att använda stärkelselösning eller dextran som sedimentationshjälp kan man förbättra separationen av granulocyter vid centrifugering av blod, och

Gösta Berlin, professor, överläkare, Linköpings universitet; klinisk immunologi och transfusionsmedicin, Universitetssjukhuset, Linköping
 ● gosta.berlin@regionostergotland.se

Honar Cherif, docent, överläkare, Uppsala universitet; hematologiska kliniken, Akademiska sjukhuset, Uppsala

Folke Knutson, med dr, överläkare, Uppsala universitet; klinisk immunologi och transfusionsmedicin, Akademiska sjukhuset, Uppsala

Jonas Mattsson, professor, överläkare

Ulla Axdorph Nygell, docent, överläkare, institutionen för klinisk vetenskap, intervention och teknik; klinisk immunologi och transfusionsmedicin; de båda sistnämnda Karolinska universitetssjukhuset, Stockholm

HUVUDBUDSKAP

- Granulocyttransfusion bör övervägas till patient med uttalad neutropeni och allvarlig infektion som inte svarat på antibiotika eller antimykotisk behandling.
- Man bör transfundera en hög dos granulocyter, vilket normalt innebär att granulocytgivaren stimuleras med steroider och granulocyt-kolonistimulerande faktor (G-CSF).
- Både blodgivare och anhöriga kan användas som granulocytgivare efter information om processen.
- Granulocyttransfusion ges dagligen så länge indikationen kvarstår.
- Daglig bedömning av transfusionseffekten ska göras.

»Förhoppningar har åter väckts om att man med framgång kan ge granulocyttransfusioner till patienter med uttalad neutropeni och livshotande infektion ...«

genom stimulering av givaren med en engångsdos kortison kan man fördubbla antalet cirkulerande granulocyter och därmed öka antalet celler i granulocyt-koncentrat. Med dessa medel framställdes granulocyt-koncentrat på 1970–1980-talen, men granulocyt-koncentratet innehöll endast ca 10 procent av antalet celler som normalt omsätts per dygn.

De kliniska resultaten var ofta nedslående, varför användningen av granulocyttransfusioner minskade påtagligt i hela världen i slutet av 1980-talet [2]. Med hjälp av den granulocyt-kolonistimulerande faktorn G-CSF har man sedan 20 år kunnat flerdubbla utbytet av granulocyter från en givare.

Förhoppningar har åter väckts om att man med framgång ska kunna ge granulocyttransfusioner till patienter med uttalad neutropeni och livshotande infektion som inte svarat på adekvat antibiotikabehandling eller antimykotisk terapi. Omkring 25 kliniska studier har publicerats sedan införandet av G-CSF, vanligen fallserier med eller utan kontroller. Resultaten har varit varierande, men i flera rapporter framhålls att effekten tycks vara bättre om ett stort antal granulocyter transfunderas [2–5].

Förväntningarna var därför stora på resultaten av den s k RING-studien [6], en ambitiöst upplagd prospektiv randomiserad kontrollerad multicenterstudie i USA som avsåg att besvara frågan huruvida transfusion av hög dos granulocyter har positiv effekt. För att uppnå 80 procents statistisk styrka att kunna påvisa 20 procents skillnad i framgång (definierat som överlevnad och mikrobiologiskt infektionssvar dag 42) planerades inklusion av 236 patienter, 118 i vardera arm.

Då man avbröt studien efter 5 år hade endast 114 patienter inkluderats, varav 97 hade fullföljt studien men endast 74 på planerat sätt. Man kunde inte påvisa någon effekt av granulocyttransfusioner på överlevnad eller infektionssvar.

Avsikten var att varje transfusion skulle innehålla minst 40×10^9 granulocyter (motsvarande $>0,6 \times 10^9$ kg till vuxen patient), men 30 procent av patienterna fick transfusion med ett lägre antal celler. Analys visade att de patienter som hade fått den planerade högre dosen hade signifikant bättre resultat vad gällde både infektionssvar och överlevnad än de patienter som hade fått lägre dos.

Med tanke på det låga antalet inkluderade och bedömbara patienter framhöll författarna att studieresultaten ska tolkas med stor försiktighet på grund av låg statistisk styrka att upptäcka skillnader (47 procent mot planerat 80 procent), risk för selektion av

patienter och ändrade behandlingsrutiner under den långa studietiden.

Författarna konkluderade att »the study failed to provide the definitive answer on the efficacy of high-dose granulocyte therapy, although secondary analyses do provide suggestive evidence that there may be efficacy if higher doses are actually delivered to the patient«.

I Sverige har granulocyttransfusioner använts mycket sparsamt under senare år. Vid den senaste nationella genomgången framkom att totalt 218 granulocyt koncentrat hade transfunderats vid landets universitetskliniker under treårsperioden 2011-2013. Celldosen var i medeltal 55×10^9 , vilket motsvarar en hög dos i RING-studien.

Den senaste svenska studien publicerades år 2013 [7] och beskriver retrospektivt erfarenheterna av granulocyttransfusioner till 30 patienter under åren 1994-2006. Patienterna fick daglig transfusion i 1-14 dagar (median 3 transfusioner). Författarna ansåg att en »betydande andel« av patienterna tycks ha haft nytta av granulocyttransfusionerna. En svensk retrospektiv rapport som visar positiv effekt av granulocyttransfusioner vid mukositis är under bearbetning.

En randomiserad studie (GRANITE-1) pågår i Tyskland med målet att inkludera 200 patienter med neutropen feber.

Det vetenskapliga underlaget för granulocyttransfusioner är således fortfarande oklart.

I en Cochrane-rapport från år 2016 [8] analyserades sammanlagt 10 randomiserade kontrollerade studier från 1975-2015, således studier såväl med som utan G-CSF-stimulering av givarna och därmed varierande celldos. Man fann ingen säkerställd positiv effekt av granulocyttransfusioner men konkluderade att den vetenskapliga evidensnivån i studierna är låg. Man angav att det skulle behövas minst 2748 patienter i en randomiserad kontrollerad studie för att visa minskad dödlighet från 35 procent till 30 procent med 80 procents statistisk säkerhet.

Med tanke på de svårigheter man hade att inkludera patienter i RING-studien torde en sådan studie aldrig kunna genomföras.

För att ta ställning till granulocyttransfusioner är vi därför tvungna att använda oss av »beprövad erfarenhet«. Det finns ett stort antal fallstudier [2-5] som rapporterat positiv effekt vid allvarliga infektioner hos patienter med uttalad neutropeni.

Våra egna erfarenheter är att vi i flera fall sett påfal-

lande förbättring av infektionssymtom i direkt tids samband med granulocyttransfusioner. Det har gällt patienter med uttalade hud- och mjukdelinfektioner, svår mukositis, pneumonier och sepsis. Vanligen har det behövts daglig transfusion i minst 4-6 dagar för att uppnå effekt, ibland betydligt längre behandlingstid. Granulocyttransfusionerna har då använts i livshotande situationer för att brygga över en tids begränsad period av benmärgssvikt, vilket vanligen är fallet vid neutropeni efter cytostatikabehandling eller stamcellstransplantation.

Val av givare

Eftersom granulocyt skörd inför transfusion innebär att friska givare stimuleras med steroider och G-CSF, är det av stor vikt att eventuella risker utvärderas och följs upp. En jämförelse med friska stamcellsdonatorer är logisk. Man har sedan många år skördat hematopoetiska stamceller efter stimulering med G-CSF, och uppskattningsvis har betydligt fler än 100 000 donatorer stimulerats med denna tillväxtfaktor. Man ger då dubbel dos och i fler dagar än vid granulocyt skörd, varför totaldosen blir flerdubbelt högre.

Kända biverkningar av G-CSF är övergående trötthet, influensaliknande symtom och skelettsmärter. Enstaka fall av mjältförstoring och -ruptur har rapporterats [9] liksom misstänkt oklar feberperiod [10].

I tidigare uppföljningar har man inte funnit hållpunkter för långsiktiga biverkningar av G-CSF efter stamcellsskörd eller granulocytgivning [11-14], något som inte heller kunde påvisas i en långtidsuppföljning av nordiska stamcellsdonatorer [15]. I en svensk långtidsuppföljning av granulocytgivare som fått G-CSF fann man inte några allvarliga omedelbara eller långsiktiga biverkningar [16].

I ett debattinlägg har framförts att vi i Sverige inte ska använda blodgivare vid granulocyt skörd, eftersom givaren då utsätts för steroider och G-CSF [17]. I en internationell genomgång [18, 19] framgår att man i de flesta länder använder både blodgivare och anhöriga. I vissa länder tilläts inte stimulering med steroider och/eller G-CSF till blodgivare, varför endast anhöriga används. I andra länder används i första hand blodgivare och endast i undantagsfall anhöriga.

I Sverige används både blodgivare och anhöriga som granulocytgivare. En nackdel med att använda anhöriga är att den potentiella givaren oundvikligen utsätts för press att »ställa upp« som givare, inte minst om man vet att det är den enda möjligheten för att patienten ska kunna få den önskade transfusionen. Det finns då en risk att man förtiger omständigheter som kan ge ökad risk för transfusionssmitta. Användning av enbart anhöriga som granulocytgivare fördröjer också start av transfusionerna om inte den anhörige är blodgivare sedan tidigare. Om patienten saknar anhörig är enda möjligheten att få celler från en blodgivare.

Då blodgivare använts för granulocyt skörd har man ofta tillfrågat trombocytgivare som har goda kärl och vana vid aferesgivning. En nackdel är då att antalet tillgängliga trombocytgivare minskar genom den karens som sätts efter granulocytgivning. Genom att upprätta en granulocytgivarbank kan man bredda utbudet av givare. Potentiella granulocytgivare tillfrå-

»Våra egna erfarenheter är att vi i flera fall sett påfallande förbättring av infektionssymtom i direkt tidssamband med granulocyttransfusioner.«

gas genom skriftlig information i samband med vanlig blodtappning.

För givare som ställer sig positiva görs bedömning av kärl samt läkarundersökning och provtagning för att klargöra om givaren är lämplig för granulocyt-skörd. I samband med detta får givaren ytterligare skriftlig och muntlig information grundad på vetenskap och beprövad erfarenhet, inklusive information om möjliga biverkningar före ställningstagande till att vara granulocytgivare.

Antalet tillåtna granulocytgivningar efter G-CSF-stimulering varierar påtagligt mellan olika länder från 1-2 givningar totalt i livet till mer än 40 givningar [12, 18, 19]. De flesta länder har liksom Sverige satt en gräns vid totalt 2-4 givningar per givare [18].

I en studie följdes under 10 år 83 granulocytgivare som skördats i medeltal 13,5 gånger efter stimulering med G-CSF och steroider och jämfördes med trombocytgivare. Man fann ingen skillnad mellan grupperna vad gäller blodstatus, CRP eller sjukdomar såsom maligniteter, hjärt-kärlsjukdom eller trombos [12].

Ett annat sätt att framställa granulocyt koncentrat kan vara att föra samman lättcellsskiktet med granulocyter (buffy coat) från ett antal blodenheter. Man har visat att granulocyter från buffy coat har god funktion in vitro [20], men det saknas erfarenheter avseende klinisk effekt av sådana transfusioner.

Ett stort problem är att kunna transfundera tillräckligt stort antal celler. Om man sammanför buffy coat från 10 blodenheter får man ett koncentrat med ca 10×10^9 granulocyter. För att uppnå samma antal som man får med aferesteknik från en givare fordras således att man sammanför buffy coat från 40-50 blodenheter, vilket är praktiskt svårt att genomföra vid behov av dagliga transfusioner. Ett mycket stort antal givare innebär också ökad risk för immunisering och smittöverföring.

Biverkningar av granulocyttransfusioner

Transfusion av granulocyter tolereras vanligen väl. Övergående febrila reaktioner och andningsbesvär av varierande grad har rapporterats [2-5]. Transfusionsrelaterad akut lungskada (TRALI) är en känd men ovanlig komplikation vid granulocyttransfusion [21], liksom vid transfusion av andra blodkomponenter. Granulocyttransfusion kan också orsaka alloimmunisering med bildning av antikroppar mot bl a HLA, med risk för försämrat resultat vid framtida trombocyttransfusioner [22].

Rekommendationer

Sammanfattningsvis saknas studier för att med säkerhet avgöra om granulocyttransfusioner påverkar patientöverlevnad. Klinisk erfarenhet och ett flertal fallstudier talar dock för att så är fallet.

Vår åsikt är att granulocyttransfusioner kan vara livräddande i situationer då patienter har uttalad neutropeni och allvarlig infektion som inte svarat på antibiotika eller antimykotisk behandling. Transfusion kan också bli aktuell till en patient med uttalad granulocytdefekt och allvarlig infektion [22, 23].

Våra rekommendationer är:

»Sammanfattningsvis saknas studier för att med säkerhet avgöra om granulocyttransfusioner påverkar patientöverlevnad. Klinisk erfarenhet och ett flertal fallstudier talar dock för att så är fallet.«

- Granulocyttransfusion bör övervägas då en patient har uttalad neutropeni ($<0,5 \times 10^9/l$) och allvarlig (om möjligt odlings- eller röntgenverifierad) bakterie- eller svampinfektion som inte svarat på adekvat antibiotikabehandling eller antimykotisk terapi. Behandlingen ska föregås av bedömning av risk och nytta i varje enskilt fall.
- Granulocyttransfusion kan också övervägas till patient med uttalad granulocyt dysfunktion och allvarlig infektion.
- Neutropeni ska bedömas vara tidsbegränsad/övergående.
- Granulocyttransfusioner ska inte ges profylaktiskt till patient med neutropeni utan infektion.
- Både blodgivare och anhörig/vän till patienten kan användas som granulocytgivare. Givaren ska få full information om skördeprocessen, stimulering och möjliga biverkningar före ställningstagande till granulocyt skörd.
- En givarbank bör upprättas vid transfusionsmedicinska enheter där granulocyt koncentrat framställs. Ett nationellt informationsmaterial ska tas fram.
- Man bör eftersträva hög celldos ($>40 \times 10^9$ granulocyter till vuxen patient eller motsvarande $>0,6 \times 10^9$ granulocyter/kg patientvikt). Det innebär normalt att givare ska stimuleras med steroider (peroralt prednisolon 40-60 mg eller motsvarande dos dexametason 12 timmar före skörd) och injektion G-CSF (vanligen 5 $\mu g/kg$ kroppsvikt 12 timmar före skörd). B-glukos kontrolleras före administration av kortison. I de fall granulocyttransfusion bedöms vara så akut att man inte kan vänta på G-CSF-stimulering dagen före givning kan steroider i form av hydrokortison 100 mg ges intravenöst 15-30 minuter före givning.
- Om dextran används som sedimentationshjälp under skörd ska såväl givaren som patienten förbehandlas med Promiten för att undvika överkänslighetsreaktion.
- Granulocyt koncentratet ska bestrålas för att undvika transfusionsutlöst transplantat kontra värdreaktion.
- Granulocyt koncentratet transfunderas så snart som möjligt efter skörd och ska ges under 1-2 timmar.
- Om granulocyt koncentratet inte ges omedelbart ska det förvaras vilande i rumstemperatur (högst 24 timmar). ▶

- Granulocyttransfusion ges dagligen så länge indikationen kvarstår.
- Daglig bedömning av transfusionseffekten ska göras.
- En granulocytgivare som stimuleras med G-CSF kan ge celler 2 dagar i följd och enligt nuvarande svensk rutin högst 2 sådana skördeomgångar.

(SNBMTG) (en undergrupp till Svensk hematologisk förening) och i Svensk aferesgrupp (SAG) (en undergrupp till Svensk förening för klinisk immunologi och transfusionsmedicin). ○

- Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Citera som: *Läkartidningen*. 2018;115:EXUU

Dessa rekommendationer har förankrats i Svenska BMT-gruppen (benmärgstransplantation)

REFERENSER

1. Tak T, Tesselar K, Pillay J, et al. What's your age again? Determination of human neutrophil half-lives revisited. *J Leukoc Biol*. 2013;94(4):595-601.
2. Robinson SP, Marks DI. Granulocyte transfusions in the G-CSF era. Where do we stand? *Bone Marrow Transplant*. 2004;34(10):839-46.
3. Marfin AA, Price TH. Granulocyte transfusion therapy. *J Intensive Care Med*. 2015;30(2):79-88.
4. UpToDate. Goldfinger D, Lu Q. Granulocyte transfusions. 25 apr 2016. <https://www.uptodate.com/contents/granulocyte-transfusions>
5. West KA, Gea-Banacloche J, Stroncek D, et al. Granulocyte transfusions in the management of invasive fungal infections. *Br J Haematol*. 2017;177(3):357-74.
6. Price TH, Boeckh M, Harrison RW, et al. Efficacy of transfusion with granulocytes from G-CSF/dexamethasone-treated donors in neutropenic patients with infection. *Blood*. 2015;126(18):2153-61.
7. Cherif H, Axdorph U, Kalin M, et al. Clinical experience of granulocyte transfusion in the management of neutropenic patients with haematological malignancies and severe infection. *Scand J Infect Dis*. 2013;45(2):112-6.
8. Estcourt LJ, Stanworth SJ, Hopewell S, et al. Granulocyte transfusions for treating infections in people with neutropenia or neutrophil dysfunction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;(4):CD005339.
9. Falzetti F, Aversa F, Minelli O, et al. Spontaneous rupture of spleen during peripheral blood stem cell mobilisation in a healthy donor. *Lancet*. 1999;353(9152):555.
10. Pedersen HP, Hastrup EK, Helweg-Larsen J, et al. Severely elevated C-reactive protein accompanied by prolonged high fever and leukocytosis in a healthy peripheral blood stem cell donor: an atypical granulocyte-colony-stimulating factor reaction? *Transfusion*. 2015;55(11):2771-2.
11. Tassi C, Tazzari PL, Bonifazi F, et al. Short- and long-term haematological surveillance of healthy donors of allogeneic peripheral haematopoietic progenitors mobilized with G-CSF: a single institution prospective study. *Bone Marrow Transplant*. 2005;36(4):289-94.
12. Quillen K, Byrne P, Yau YY, et al. Ten-year follow-up of unrelated volunteer granulocyte donors who have received multiple cycles of granulocyte-colony-stimulating factor and dexamethasone. *Transfusion*. 2009;49(3):513-8.
13. Halter J, Kodera Y, Ispizua AU, et al. Severe events in donors after allogeneic hematopoietic stem cell donation. *Haematologica*. 2009;94(1):94-101.
14. Shaw BE, Confer DL, Hwang W, et al. A review of the genetic and long-term effects of G-CSF injections in healthy donors: a reassuring lack of evidence for the development of haematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(3):334-40.
15. Pahnke S, Larfors G, Axdorph-Nygell U, et al. Short-term side effects and attitudes towards second donation: a comparison of related and unrelated haematopoietic stem cell donors. *J Clin Apher*. Epub 18 aug 2017. doi: 10.1002/jca.21576.
16. Axdorph Nygell U, Sollén-Nilsson A, Lundahl J. Eighteen years experience of granulocyte donations - acceptable donor safety? *J Clin Apher*. 2015;30(5):265-72.
17. Ekermo B. Blodgivares altruism missbrukas. *Läkartidningen*. 2016;113:DW3.
18. Leitner G, Panzer S, Reesink HW, et al. Preparation of granulocyte concentrates by apheresis. *Vox Sang*. 2010;98(4):567-75.
19. Strauss RG, Klein HG, Leitman SF, et al. Preparation of granulocyte concentrates by apheresis: collection modalities in the USA. *Vox Sang*. 2011;100(4):426-33.
20. van de Geer A, Gazendam RP, Tool AT, et al. Characterization of buffy coat-derived granulocytes for clinical use: a comparison with granulocyte colony-stimulating factor/dexamethasone-pre-treated donor-derived products. *Vox Sang*. 2017;112(2):173-82.
21. Sachs UJ, Bux J. TRALI after the transfusion of cross-match-positive granulocytes. *Transfusion*. 2003;43(12):1683-6.
22. Heim KF, Fleisher TA, Stroncek DF, et al. The relationship between alloimmunization and posttransfusion granulocyte survival: experience in a chronic granulomatous disease cohort. *Transfusion*. 2011;51(6):1154-62.
23. Marciano BE, Allen ES, Conry-Cantilena C, et al. Granulocyte transfusions in patients with chronic granulomatous disease and refractory infections: the NIH experience. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(2):622-5.

SUMMARY

Granulocyte transfusion – when and how should it be used?

There are no randomized controlled trials proving the clinical benefit of granulocyte transfusions. However, clinical experience and a number of case studies suggest that granulocyte transfusions may be life-saving in certain situations. In our opinion granulocyte transfusions should be considered for patients with profound neutropenia and severe, life-threatening infection not responding to antibiotic or antifungal therapy. Since the clinical effect seems to be dose-dependent, the granulocyte concentrate should contain a large number of cells, which usually means that the donor should be mobilized with steroids and G-CSF. Regular blood donors as well as relatives to the patient can be used for granulocyte donations with apheresis technique after information of the process. Granulocyte transfusion should be given daily as long as the indication remains. The clinical efficacy of the transfusions should be evaluated daily.