



Detection of anti-human leukocyte antigen (HLA) class I antibodies in female blood donors

Deteksi antibodi anti-*human leukocyte antigen* (HLA) kelas I pada donor darah wanita

Eti Herani^{1*}, Ni Ken Ritchie², Heri Wibowo³

*1,2,3Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, JL Salemba Raya No.6
Jakarta 10430 Indonesia, email: eti_pmi@yahoo.com,
bowoheri04@gmail.com

INFO ARTIKEL

ARTICLE HISTORY:

Artikel diterima: 3 Juni 2022
Artikel direvisi: 26 Juni 2022
Artikel disetujui: 15 Juli 2022

KORESPONDEN

Eti Herani, eti_pmi@yahoo.com,
Orcid ID:

ORIGINAL ARTICLE

Halaman: 171-183
DOI:
<https://doi.org/10.30989/mik.v11i2.673>

Penerbit:
Universitas Jenderal Achmad Yani
Yogyakarta, Indonesia.
Artikel terbuka yang berlisensi CC-BY-SA



ABSTRACT

Background: HLA class I is very polymorphic, if it enters the body of another person it will be considered foreign so that alloimmunization can occur by producing class I anti-HLA antibodies. These antibodies are found in individuals exposed to allogeneic cells due to transfusion, problems, and pregnancy. Female blood donors who have anti-HLA class I antibodies when donating blood and transfused to patients who have the appropriate HLA can cause a transfusion reaction. This research is further to get an overview of class I anti-HLA antibodies in female blood donors.

Objective: To determine the presence of potential class I anti-HLA antibodies in female donors.

Methods: The subjects of this study were 30 female donors who had never been pregnant and 60 donors who had been pregnant and gave birth who donated their blood at UTD PMI DKI Jakarta. The collected samples were screened using the whole platelet ELISA method to detect platelet antibodies, namely anti-HPA and anti-HLA class I antibodies, followed by consulting anti-HLA class I antibodies with the MAIPA method.

Results: Sixteen samples were detected to contain anti-platelet antibodies and 74 were negative. Identification of class I anti-HLA antibodies in 16 samples showed all negative results.

Conclusion: Identification of 16 positive anti-platelet antibody samples in female donors did not show class I anti-HLA antibodies.

keywords: *Anti-HLA class I antibody, female donor, MAIPA*

ABSTRAK

Latar belakang: HLA kelas I sangat polimorfik, apabila masuk ke tubuh orang lain akan dianggap asing sehingga dapat terjadi aloimunisasi dengan memproduksi antibodi anti-HLA kelas I. Antibodi ini ditemukan pada individu yang terpapar sel allogenik karena transfusi, transplantasi, dan kehamilan. Donor darah wanita yang memiliki antibodi anti-HLA kelas I apabila mendonorkan darahnya dan ditransfusikan ke pasien yang memiliki HLA yang sesuai dapat mengakibatkan reaksi transfusi. Penelitian ini lebih lanjut untuk mendapatkan gambaran tentang antibodi anti-HLA kelas I pada donor darah wanita.

Tujuan: Mengetahui potensi keberadaan antibodi anti-HLA kelas I pada donor wanita.

Metode: Subyek penelitian ini adalah 30 donor wanita belum pernah hamil dan 60 donor sudah pernah hamil dan melahirkan yang mendonorkan darahnya di UTD PMI DKI Jakarta. Sampel yang dikumpulkan diskriming dengan metode *whole platelet* ELISA untuk mendeteksi antibodi trombosit yaitu antibodi anti-HPA dan anti-HLA kelas I dilanjutkan identifikasi antibodi anti-HLA kelas I dengan metode MAIPA.

Hasil: Enam belas sampel terdeteksi mengandung antibodi anti-platelet dan 74 negatif. Identifikasi antibodi anti-HLA kelas I pada 16 sampel menunjukkan semua hasil negatif.

Kesimpulan: Identifikasi terhadap 16 sampel antibodi anti-platelet positif pada donor wanita tidak menunjukkan adanya antibodi anti-HLA kelas I

Kata kunci: *Antibodi anti-HLA kelas I, donor wanita, MAIPA*

PENDAHULUAN

Human Leukocyte Antigen (HLA) kelas I sangat polimorfik, bahwa dua orang yang tidak terkait sangat tidak mungkin akan memiliki HLA yang identik, sehingga apabila HLA satu orang masuk ke orang lain akan dianggap asing dan bersifat antigen. HLA kelas I adalah salah satu molekul dari kelas molekul HLA yang ditemukan pada permukaan sel berinti dan trombosit pada manusia, merupakan protein membran pada ujung terminal gugus amino yang berisi celah pengikat peptida dan molekul ini terlibat pada proses penyajian antigen kepada sel limfosit T sitotoksik.¹ HLA kelas I diekspresikan secara luas pada hampir semua sel berinti pada manusia, sehingga kemungkinan besar pengenalan jaringan atau sel dari satu orang ke orang lain akan mengakibatkan penerima terpapar HLA kelas I asing, dan berpotensi terjadinya respon *alloimmune humoral* dengan memproduksi antibodi anti-HLA kelas I. Antibodi ini dapat ditemukan pada individu yang terpapar oleh paparan sel allogenik karena transplantasi, transfusi dan kehamilan.²

Janin adalah *semi-allograft*, yang merupakan benda asing yang dapat memicu terjadinya respon imun dari ibu terhadap antigen ayah yang diekspresikan dalam sel janin sehingga ketika sel janin masuk ke sirkulasi ibu melalui plasenta akan terjadi pembentukan antibodi anti-HLA kelas I.^{3,4} Sel-sel dari janin dapat keluar dari uterus dan masuk ke dalam sirkulasi ibu: pembuluh darah janin di vilus korion dipisahkan dari darah ibu

di ruang intervillus oleh lapisan sel tipis. Perdarahan fetomaternal dapat terjadi jika lapisan sel ini kehilangan integritasnya sehingga eritrosit dan leukosit janin dilepaskan ke dalam darah ibu. Respons imun ibu terhadap sel leukosit sangat efektif sehingga terbentuk antibodi terhadap antigen leukosit yaitu antibodi Anti-HLA kelas I.⁵

Beberapa literatur melaporkan prevalensi antibodi anti-HLA ini pada wanita, salah satunya De Clippel, *et al.* (2014) yang melaporkan prevalensi antibodi anti-HLA kelas I pada populasi wanita di Belgia, dengan prevalensi 31,2% pada wanita riwayat hamil dan 7,7% pada wanita tidak pernah hamil.⁶

Acute non-hemolytic transfusion reactions (ANHTRs) adalah reaksi akut non hemolitik berupa urtikaria, reaksi demam hingga cedera paru akut terkait transfusi yang paling mengancam jiwa yaitu *Transfusion-Related Acute Lung Injury* (TRALI). Antibodi terhadap (HLA) kelas I dalam darah donor dikaitkan pula dengan ANHTRs.⁷ Berdasarkan beberapa penelitian retrospektif, antibodi anti-HLA kelas I dalam donor darah dapat menimbulkan kasus TRALI sebesar 14,3–26,7%.⁸

Berdasarkan rekomendasi *American Association of Blood Bank* (AABB), disyaratkan mulai 1 April 2014 semua komponen yang mengandung plasma dan darah lengkap untuk transfusi harus dikumpulkan dari pria, wanita yang belum pernah hamil, atau wanita yang telah dites negatif untuk antibodi anti-HLA. Oleh karena itu negara seperti Amerika, Inggris, Kanada,

Belanda, Jerman dan negara-negara Eropa memberlakukan rekomendasi tersebut.⁹ Hal ini karena penelitian sebelumnya menghasilkan penurunan yang signifikan akan terjadinya TRALI dari 1 dalam 4000 menjadi 1 dalam 12.000 unit yang ditransfusikan setelah melakukan upaya mengurangi resiko tersebut.^{9,10}

Merujuk data Laporan Tahunan UTD PMI Pusat tahun 2018, jumlah donasi seluruh Indonesia 3.410.880 orang donasi, dengan prosentase donasi pria 73%, dan wanita 27%. Di Indonesia ada 224 UTD PMI dan UTD PMI DKI adalah UTD dengan jumlah donasi terbesar di Indonesia dengan jumlah donasi 312.716 orang terdiri 67% donasi pria dan 33% wanita sebanyak 211.048 orang. Rata-rata donasi wanita setiap bulan adalah 8.472 donasi dan setiap hari 282 orang. Distribusi pemakaian komponen darah di UTD PMI DKI adalah 491.433 kantong dan 56% diantaranya adalah komponen darah kaya plasma berupa *whole blood* (WB), plasma, *fresh frozen plasma* (FFP), *thrombocyte concentrate* (TC) dan *cryoprecipitate*.¹¹

Penelitian terkait antibodi anti-HLA kelas I pada donor wanita masih sangat sedikit, sementara memberikan jaminan keamanan kepada pasien penerima donor adalah suatu kewajiban setiap insan medis. Penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan gambaran potensi individu dengan antibodi anti-HLA kelas I pada donor darah wanita dengan riwayat melahirkan. Selain itu diharapkan dari penelitian ini didapatkan data

donor wanita dengan antibodi anti-HLA kelas I.

BAHAN DAN CARA PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan adalah studi deskriptif observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Penelitian dilakukan pada bulan Juli sampai Desember 2020 di UTD PMI DKI Jakarta. Populasi pada penelitian ini adalah pedonor darah wanita sukarela yang mendonorkan darahnya di UTD PMI DKI Jakarta. Sampel adalah populasi yang memenuhi kriteria pemilihan. Sejumlah 90 sampel diambil dari wanita yang belum pernah hamil, wanita yang hamil dan melahirkan 1 kali dan ≥ 2 kali masing-masing 30 sampel. Tehnik pengambilan sampel penelitian ini dilakukan secara acak. Darah berasal dari donor darah wanita di UTD PMI DKI Jakarta dalam kurun waktu penelitian, dengan kriteria inklusi; donor darah wanita sukarela, belum pernah hamil dan riwayat hamil sampai melahirkan 1 kali atau lebih pada usia 17-60 tahun. Kriteria Eksklusi: pernah transfusi, pernah transplantasi, pernah kehilangan kehamilan (keguguran, hamil diluar kandungan) dan sampel darah pendonor wanita yang mengkonsumsi obat-obatan seperti anti-histamin, aspirin dan non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) lainnya dalam dua minggu sebelum pengambilan darah. Selanjutnya diskriming antibodi anti-trombosit dan diidentifikasi antibodi anti-HLA kelas I dengan metode MAIPA.

Cara Pengambilan Sampel

Sampel darah lengkap (whole blood) dikumpulkan dari pedonor darah wanita sukarela Unit Transfusi Darah Palang Merah Indonesia DKI Jakarta yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel ditempatkan di tabung koleksi tanpa antikoagulan dengan volume sebanyak 5 ml. Darah dipisahkan dan serum digunakan untuk pemeriksaan skrining antibodi anti trombosit dan untuk identifikasi antibodi anti-HLA kelas I. Serum yang belum diperiksa disimpan beku pada suhu -20°C .

Persiapan Sampel Trombosit

Sampel trombosit diambil dari darah EDTA, diputar 800 rpm selama 25 menit, sehingga didapatkan Platelet Rich Plasma (PRP). Platelet Rich Plasma dipindahkan ke tabung baru dan diputar selama 10 menit untuk mendapatkan trombosit pada 3000 rpm. Trombosit dicuci 3 kali dengan larutan NaCl 0.9% PH 6,5 dan selanjutnya disuspensi dengan NaN₃.

Dibutuhkan 2 pool trombosit, atau kumpulan trombosit yang diambil secara acak, tanpa perlu diketahui antigen trombosit yang terdapat pada trombosit. Tiap pool terdiri dari 20 sampel darah EDTA donor darah golongan darah O, dengan volume masing-masing 3 ml. Jadi dibutuhkan 40 sampel darah EDTA dari pedonor darah bergolongan O.¹²

Pemeriksaan Skrining Antibodi Anti-Trombosit

Pemeriksaan skrining antibodi anti-trombosit untuk mendeteksi antibodi terhadap trombosit yaitu antibodi anti-HLA kelas I dan

antibodi anti-Human Platelet Antigen (HPA) pada serum sampel. Diperlukan pool trombosit yang mengandung $20 \times 10^6/\mu\text{L}$ trombosit untuk skrining antibodi. Metode untuk pemeriksaan ini digunakan metode Whole platelet pada ELISA dengan prinsip bila terdapat antibodi dalam serum sampel, akan terbentuk ikatan antigen-antibodi, kemudian ditambahkan antibodi sekunder maka akan terbentuk kompleks antigen antibodi dan antibodi sekunder. Perubahan warna yang terjadi dibaca dengan spektrofotometer.¹²

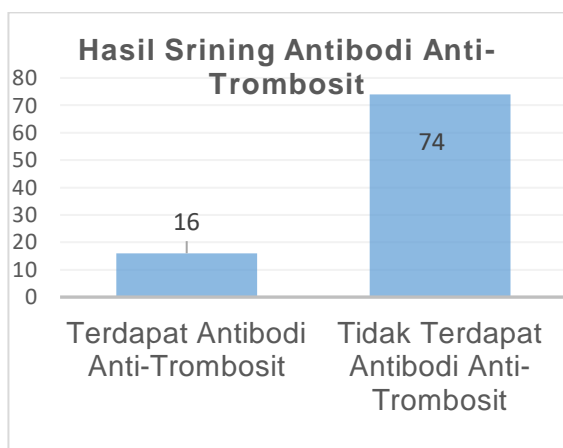
Pemeriksaan Metode MAIPA Untuk Identifikasi Antibodi anti-HLA Kelas I.

Antibodi anti-HLA kelas I dalam serum sampel darah dideteksi menggunakan metode MAIPA. Isolat trombosit dengan kadar trombosit minimal $20 \times 10^6/\mu\text{L}$ diinkubasi bersama serum sampel yang akan diperiksa dan antibodi monoklonal anti-HLA kelas I selama 30 menit pada suhu 37°C . Campuran ini kemudian dicuci dan disentrifugasi, untuk kemudian diambil supernatannya. Supernatan ditambahkan ke dalam mikroplate yang telah dilapisi antibodi terhadap Goat anti mouse (GAM) IgG, diinkubasi selama 90 menit pada suhu 4°C . Kemudian dilakukan penambahan Goat anti human (GAH) IgG yang telah berlabel HRP, dilanjutkan dengan inkubasi selama 120 menit pada suhu 4°C . Tahap selanjutnya adalah penambahan larutan substrat, diinkubasi dalam ruang gelap selama 15 menit pada suhu kamar, diikuti penambahan stop solution dan diukur

absorbansi pada panjang gelombang 429 nm.¹²

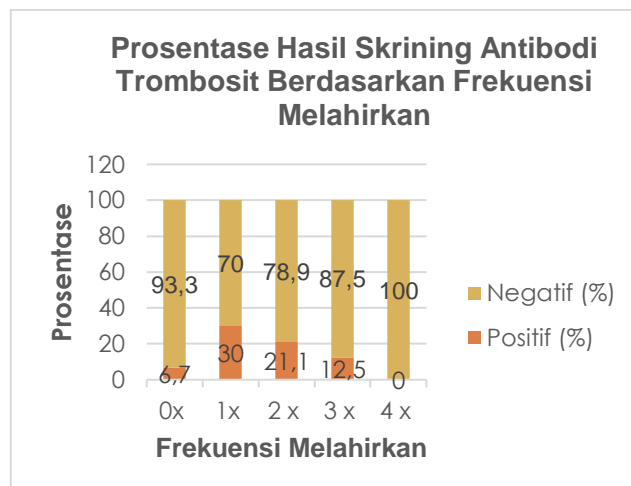
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan skrining antibodi ini untuk mendeteksi antibodi terhadap trombosit yaitu antibodi anti-HLA Kelas I dan antibodi anti-HPA (*Human Platelet Antigen*), didapatkan 16 dari 90 sampel yang positif memiliki antibodi trombosit atau sebanyak 17.79%. (Gambar 1) Dengan perincian 2 dari sampel 0 melahirkan dan 14 dari sampel yang pernah melahirkan ≥ 1 kali.



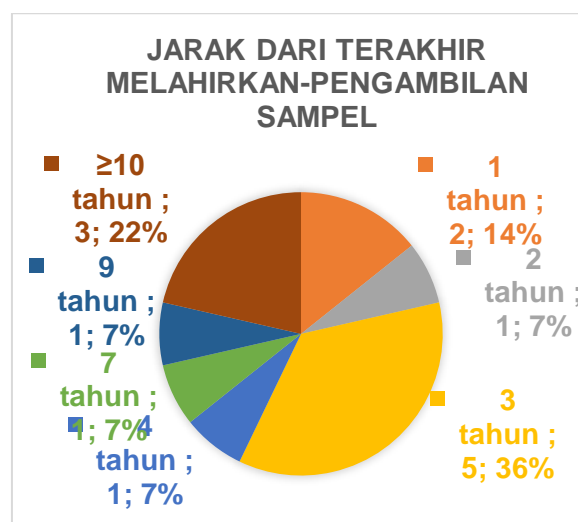
Gambar 1. Perbandingan Jumlah Hasil Skrining Antibodi Trombosit Total (antara yang positif dan negatif)

Terdapat lima kelompok berdasarkan jumlah paritas atau melahirkan subyek penelitian yaitu kelompok 0 kali sebanyak 2 dari 30 sampel, 1 kali (9 dari 30 sampel), 2 kali (4 dari 19 sampel), 3 kali (1 dari 8 sampel) dan 4 kali melahirkan (0 dari 3 sampel). Didapatkan prosentase hasil positif secara berurutan; 6,7%, 30%, 21.1%, 12.5% dan 0% sampel positif. (Gambar 2)

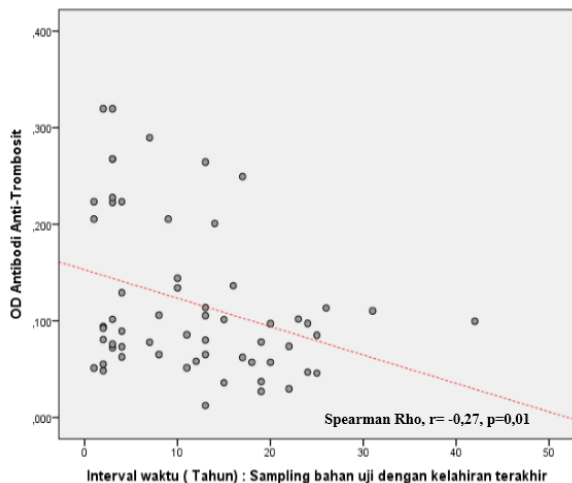


Gambar 2. Hasil Prosentase Hasil Skrining Antibodi Trombosit Berdasarkan Jumlah Melahirkan.

Waktu melahirkan anak terakhir dan waktu pengambilan sampel dicatat sehingga dapat diketahui jarak atau lama tahun dari melahirkan terakhir sampai pengambilan sampel penelitian.



Gambar 3. Hasil Skrining Antibodi Trombosit berdasarkan jarak melahirkan terakhir sampai waktu dilakukan penelitian.



Gambar 4. Grafik hubungan antara interval waktu (antara pengambilan bahan uji dengan saat terakhir ibu melahirkan) dengan OD anti trombositis

Hasil analisa menunjukkan bahwa terdapat hubungan negatif yang signifikan antara interval waktu (antara pengambilan bahan uji dengan saat terakhir ibu melahirkan) dengan OD anti trombositis (Spearman Rho, $r = -0,27$, $p = 0,01$). Hasil ini menunjukkan bahwa semakin lama interval waktu (antara pengambilan bahan uji dengan saat terakhir ibu melahirkan) kadar OD anti trombositis pada ibu semakin menurun.

Sampel yang positif antibodi trombositis dilanjutkan diperiksa dengan metode MAIPA untuk mengetahui apakah sampel tersebut memiliki antibodi anti-HLA kelas I. Hasil pemeriksaan MAIPA pada 16 sampel yang positif antibodi anti-trombositis tidak didapatkan antibodi anti-HLA kelas I.

Pada permukaan membran trombositis terdapat glikoprotein yang berperan sebagai reseptor dalam fungsi hemostasis. Enam glikoprotein terdapat pada permukaannya, yaitu GPIIb, GPIIIa, GPIIb α , GPIIb β , GPIa dan CD109. Terdapat 33 HPA diekspresikan pada

enam glikoprotein trombositis yang berbeda tersebut. Dari 33 HPA tersebut, dua belas antigen dikelompokkan menjadi enam kelompok bialel, meliputi: HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5 dan HPA-15. Penamaan berdasarkan pada urutan penemuannya, dengan antigen frekuensi tinggi yang diberi nama 'a' dan antigen frekuensi rendah diberi nama 'b'. Disebutkan juga bahwa setiap trombositis mengekspresikan molekul HLA kelas satu sekitar 20.000 molekul.¹³ Selain mengekspresikan HPA dan HLA kelas I, terdapat juga antigen golongan darah termasuk ABO dipermukaan trombositis.¹⁴⁻¹⁶

Skrining antibodi trombositis metode *whole blood* ELISA dilakukan untuk mendeteksi antibodi trombositis yaitu antibodi anti-HLA kelas I dan antibodi anti-HPA.¹² Antibodi ABO tidak dideteksi pada metode ini karena trombositis yang digunakan adalah trombositis yang bergolongan darah O.^{12,17,18} yang tidak memiliki antigen ABO di permukaan membrannya.¹⁴ Hasil penelitian ini menemukan ada 16/90 (17.79%) sampel positif antibodi trombositis (gambar 1) dengan rincian 2 sampel dari wanita yang belum pernah hamil dan 14 sampel berasal dari wanita yang pernah hamil dan melahirkan ≥ 1 (gambar 2). Jadi apabila skrining antibodi metode *whole blood* menunjukkan hasil positif berarti antibodi yang terdeteksi adalah antibodi anti HLA kelas I dan antibodi anti-HPA.

Pada penelitian ini ditemukan prosentase 30% pada kelompok satu kali

melahirkan, 21,1% pada kelompok 2 kali melahirkan, 12% pada kelompok 3 kali melahirkan dan 0% pada kelompok 4 kali melahirkan (gambar 2). Berbeda dengan penelitian Triulzi *et al.* dan Powers *et al.* yang menemukan kecenderungan peningkatan prevalensi antibodi anti-HLA kelas I seiring peningkatan jumlah melahirkan, terutama pada kelompok paritas 1 dan 2 kali.^{19,20} Hal ini terjadi mungkin dikarenakan hasil positif antibodi trombosit bukan antibodi anti-HLA kelas I tetapi diduga antibodi anti-HPA.

Antibodi hasil aloimunisasi karena kehamilan dapat bertahan bertahun-tahun bahkan sampai puluhan tahun.²¹⁻²³ Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menemukan adanya sampel antibodi anti trombosit positif 3/14 (22%) pada sampel yang memiliki jarak 13, 14 dan 17 tahun sejak terakhir melahirkan (gambar 3). Pada sisi lain antibodi dari waktu ke waktu berangsur-angsur akan menurun dan menghilang.^{1,21} Hal ini sesuai dengan penelitian ini yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan negatif yang signifikan antara interval waktu (antara pengambilan bahan uji dengan saat terakhir ibu melahirkan) dengan OD anti trombosit (Spearman Rho, $r = -0,27$, $p = 0,01$). Hasil ini menunjukkan bahwa semakin lama interval waktu (antara pengambilan bahan uji dengan saat terakhir ibu melahirkan) kadar OD anti trombosit pada ibu semakin menurun (gambar 4).

Proses identifikasi dilanjutkan pada 16 sampel positif antibodi anti-trombosit tersebut

untuk diketahui adanya antibodi anti-HLA kelas I dengan metode MAIPA.

Metode MAIPA adalah metode pemeriksaan antibodi indirek atau secara tidak langsung untuk mendeteksi antibodi anti-HPA dan anti-HLA kelas I sesuai dengan antibodi monoklonal yang digunakan. Metode ini spesifik hanya mendeteksi antibodi anti-HLA kelas I saja karena menggunakan antibodi *monoclonal $\beta 2$ Microglobulin* yang spesifik terhadap antigen HLA kelas I.¹⁶ Metode MAIPA ini dalam pengikatan antibodi (baik manusia dan tikus) untuk masing-masing antigen pada membran trombosit berlangsung dalam kondisi konformasi antigen relatif masih asli. Ini mencegah sensitivitasnya menurun karena hilangnya epitop yang penting secara klinis dan mengurangi timbulnya positif palsu karena pembentukan neoepitop yang tidak relevan secara klinis. MAIPA adalah teknik rujukan standar emas dalam imunologi trombosit.¹⁷ Metode ini digunakan dengan harapan dapat mendeteksi antibodi anti-HLA kelas I dengan valid.

Validitas dari pemeriksaan ini dapat dilihat dari kualitas reagen yang digunakan, yang dapat dilihat dari hasil kontrol positif dan negatif yang masuk *range*. Penelitian yang dilakukan oleh peneliti hasil OD kontrol positif adalah 0,92 pada *range* 3 positif 0.801-1.200, sedang kontrol negatif 0,008 yang masuk *range* negatif < 0.150 . Perlakuan terhadap sampel juga dapat mempengaruhi kualitas hasil, apabila perlakuan sampel sebelum dilakukan pemeriksaan tidak sesuai prosedur

maka dapat menyebabkan antibodi anti-HLA tidak terdeteksi. Dalam hal ini perlakuan peneliti terhadap sampel sudah sesuai prosedur dengan menyimpan serum dalam keadaan beku dibawah -20°C sebelum dilakukan pemeriksaan.²⁴ Dari sini dapat disimpulkan bahwa kondisi reagen dan sampel dalam keadaan baik.

Hasil identifikasi antibodi anti-HLA kelas I pada 16 donor wanita yang positif pada pemeriksaan skrining antibodi dengan metode *whole blood* ELISA tidak didapatkan antibodi anti-HLA kelas I setelah diidentifikasi dengan metode MAIPA. Hal ini dapat terjadi mungkin karena sampel tersebut mengandung antibodi anti-HPA,²⁵ (perlu penelitian lebih lanjut) karena skrining dengan metode ini menggunakan trombosit golongan darah O yang di permukaan membrannya terdapat antigen HPA dan HLA kelas I.^{24,26}

Dugaan tersebut berdasarkan beberapa jurnal, bahwa paparan antigen paternal dari ayah yang dibawa janin pada kehamilan selain dapat menginduksi terjadinya antibodi anti-HLA kelas I, juga dapat menginduksi terjadinya antibodi anti-HPA pada ibu.^{23,25,27} Yang *et al.* melaporkan bahwa dari 44 wanita yang pernah hamil dan melahirkan dideteksi dengan metode ELISA ditemukan antibodi anti-HLA kelas I pada 7 (15,9%) sampel dan 5 (11,4%) sampel dengan antibodi anti-HPA pada serum wanita yang diambil pada 28-26 minggu kehamilan atau 24 jam setelah melahirkan.²⁵ Jeremiah *et al.* melaporkan bahwa pada wanita hamil di Nigeria ditemukan antibodi spesifik

glikoprotein trombosit 60/144 (41,7%) dan memiliki antibodi HLA kelas I 27/144 (18,8%). Prosentase setiap subkelompok antibodi trombosit adalah: anti-HPA-1a,-3a,-4a (4,2%), anti-HPA-1b,-3b,-4a (4,2%), anti-HPA-30 5a dan anti-GP Ib/IX (masing-masing 12,5%), anti-HPA-5b (8,3%) dan anti-GP IV (6,3%). Metode yang digunakan adalah metode ELISA.²⁷ Schnait *et al.* juga melaporkan bahwa dari 500 serum donor wanita yang pernah hamil ditemukan 21 (4,2%) sampel positif antibodi anti trombosit (HPA 1,3,5); anti-HPA-1a empat sampel, anti-HPA-5a satu sampel dan anti-HPA-5b enam belas sampel. Metode pemeriksaan yang digunakan adalah metode MAIPA dan didapatkan bahwa setelah 30 tahun setelah melahirkan, antibodi ini masih ditemukan.²³ Berdasarkan hal ini maka kemungkinan hasil positif 14 donor wanita yang pernah hamil dan melahirkan pada pemeriksaan skrining antibodi adalah antibodi anti-HPA.

Menurut Van Kampen *et al.* bahwa antibodi anti HLA kelas I yang diinduksi karena kehamilan ini dapat bertahan bertahun-tahun²¹ bahkan dalam laporannya dalam jurnal lainnya Kampen *et al.* antibodi bertahan sampai 10 tahun setelah melahirkan.²² Triulzi *et al.* juga menyatakan bahwa antibodi anti-HLA kelas I dapat bertahan pada wanita dengan riwayat melahirkan sampai lebih 30 tahun. Alasan persistensi jangka panjang antibodi ini pada tingkat yang agak lebih rendah tidak diketahui, tetapi mungkin berhubungan dengan adanya *microchimeric* sel janin yang persisten pada ibu sehingga

mempertahankan tingkat alloantibodi dan karenanya dapat dideteksi.^{19,28,29}

Kampen *et al.* melaporkan bahwa sebagian sampel penelitian sudah tidak menunjukkan adanya antibodi anti-HLA kelas I setelah 1-2 tahun.²¹ Seluruh sampel donor yang pernah hamil dan melahirkan yang diteliti oleh peneliti memiliki jarak lebih dari 1 tahun (gambar 3) sejak terakhir melahirkan dengan waktu pengambilan sampel. Suciu Foca *et al.* menyatakan bahwa ada auto antibodi yang dihasilkan oleh wanita yang pernah hamil dan melahirkan, yang menjadi penyebab berkurangnya atau menghilangnya antibodi anti HLA kelas I.³⁰ Hal ini dapat digunakan untuk menjelaskan tidak ditemukannya antibodi anti-HLA kelas I pada sampel donor wanita yang pernah hamil dan melahirkan pada penelitian ini.

Menurut Dankers *et al.* bahwa mekanisme dibalik terbentuknya antibodi anti-HLA kelas I kemungkinan tergantung pada kombinasi fenotipe HLA anak dan ibu. HLA-A3, HLA-A32, dan HLA-B21 yang diekspresikan ibu, lebih memberikan insidensi alloantibodi sedangkan HLA-B13 dan HLA-B17 yang diekspresikan ibu menyebabkan alloantibodi yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan antigen HLA lainnya yang diekspresikan ibu. Ketidakcocokan HLA-A2 atau HLA-B5 pada anak menginduksi alloantibodi secara signifikan lebih sering sedangkan anak dengan HLA-A30, -A31 atau -A33 dan HLA-A28 menginduksi alloantibodi secara signifikan lebih jarang dari pada anak-anak dengan ketidakcocokan kelas I HLA

lainnya.³¹ Berdasarkan penelitian ini ada kemungkinan subjek yang diteliti dalam penelitian ini mengekspresikan HLA yang rendah imunogenitasnya demikian juga fenotip HLA anaknya sehingga antibodi anti-HLA yang terbentuk sangat rendah dan mungkin sudah hilang pada saat diperiksa.

Hal anomali dijumpai pada penelitian ini yaitu terdapat 2 sampel wanita yang belum pernah hamil akan tetapi skrining antibodi menunjukkan hasil positif. (gambar 2) Hal ini diduga karena adanya antibodi lain yang tidak diinduksi karena kehamilan yang bereaksi silang atau *cross reaction* dengan antigen trombosit pada permukaan trombosit.

Antibodi trombosit yang diduga antibodi anti-HPA pada individu-individu ini dapat secara otomatis terjadi autoantibodi karena alloantibodi yang terkait dengan kejadian imunisasi potensial seperti vaksinasi, antibodi reaksi silang terhadap antigen bakteri atau virus patogen yang membawa elemen yang mirip dalam urutan atau struktur asam amino dengan self antigen sehingga patogen bertindak sebagai *self mimic* disebut mimikri molekuler.³²

Mimikri molekuler adalah salah satu mekanisme utama di mana agen infeksius atau kimia dapat menginduksi autoimunitas.³² Sebagian besar hipotesis menunjukkan mimikri molekuler antara salah satu antigen permukaan *Helicobacter pylori* dan glikoprotein trombosit yang menyebabkan produksi autoantibodi yang bereaksi silang terhadap berbagai antigen glikoprotein (GP IIb/IIIa, GP Ib/IX, dan GP Ia/IIa) yang terdapat

pada membran trombosit.³²⁻³⁴ Prevalensi *H. Pylori* cukup tinggi dinegara berkembang dan diketahui mempengaruhi lebih dari 50% populasi dunia baik secara klinis maupun tanpa gejala,³² di Indonesia prevalensinya sebesar 22,1% dan di Jakarta prevalensinya menurut berbagai penelitian bervariasi dari 2,9-68%.³⁵

Cines *et al.* menyatakan bahwa antibodi dapat terbentuk karena infeksi bakteri dan virus yaitu bakteri *Helicobacter pylori*, *Hepatitis C virus* (HCV), *cytomegalovirus* (CMV), *varicella zoster virus* (VZV), *human immunodeficiency virus* (HIV).³⁶

Vaksinasi juga dapat menginduksi terjadinya antibody trombosit. Antibodi terhadap GP IIb/IIIa juga telah diidentifikasi pada beberapa subjek setelah vaksinasi *measles-mumps-rubella* (MMR).³⁶ Al-Samkari *et al.* melaporkan adanya autoantibodi trombosit terhadap glikoprotein trombosit IIb/IIIa, GP Ib/IX dan GP Ia/IIa yang diperiksa dengan metode ELISA setelah vaksinasi dengan vaksin vektor adenoviral COVID 19 (Ad26.Cov2.s; Johnson & Johnson).³⁷

Immune thrombocytopenic purpura (ITP) ada keterkaitan sebagai komplikasi penting dari COVID-19.³⁸⁻⁴² Ada tiga mekanisme yang mungkin terjadi pada ITP berkaitan dengan infeksi COVID 19 yaitu penurunan produksi, peningkatan konsumsi dan terbentuknya autoantibodi dan kompleks imun dengan antigen trombosit yang menyebabkan dekstruksi trombosit.^{39,43} Autoantibodi yang terbentuk diduga karena mekanisme mimikri molekuler.

Sampel yang diperiksa sudah diskriming terhadap penyakit menular lewat transfusi darah (HIV, HCV dan HBV) dengan hasilnya nonreaktif sehingga disimpulkan bahwa sampel positif anti trombosit pada donor wanita yang belum pernah hamil bukan karena infeksi virus tersebut. Pada data persetujuan donor, subjek penelitian juga tidak melakukan vaksinasi sebelumnya. Oleh karena itu, dugaan sementara bahwa sampel donor positif pada dua wanita yang belum pernah hamil mungkin mengandung antibodi terhadap bakteri atau virus lain yang bereaksi silang dengan antigen trombosit pada permukaan trombosit. Namun demikian dugaan ini perlu pembuktian dan penelitian lebih lanjut.

Kelebihan dari penelitian ini adalah bahwa penelitian terhadap antibodi anti-HLA kelas I pada pedonor wanita di Indonesia masih sedikit. Penelitian yang pernah dilakukan adalah penelitian antibodi anti-HLA pada pasien yang menerima transfusi berulang oleh Ritchie 2015. Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan pemeriksaan dengan antibodi monoklonal terhadap antigen HPA, sampel yang sedikit, tidak dilakukan typing HLA fenotip anak dan ibu dan tidak ada konfirmasi sebagian infeksi bakteri dan virus mimikri molekuler sebelumnya.

KESIMPULAN

Terdapat antibodi anti trombosit pada 16 sampel tetapi setelah diidentifikasi adanya antibodi anti-HLA kelas I, tidak ditemukan

antibodi anti-HLA kelas I pada sampel tersebut. Peneliti yang tertarik melakukan riset lebih lanjut hendaknya meneliti pada 16 sampel positif antibodi anti-trombosit terhadap keberadaan antibodi anti-HPA.

TERIMA KASIH

Unit Transfusi Darah Palang Merah Indonesia Daerah Khusus Ibukota Jakarta. Jl. Kramat Raya RT. 3 RW. 4, Kramat, Senen, Jakarta Pusat, DKI Jakarta.

KEPUSTAKAAN

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai. S. Basic Immunology Functions and Disorders the Immune system. 5th ed. St. Louis: Elsevier; 2014.
2. Dahl J. Maternal Anti-HLA Class I Antibodies in Connection with Pregnancy and Neonatal Thrombocytopenia – A Cause for Concern? UiT. University Of Norway; 2017.
3. Lee J, Romero R, Xu Y, Miranda J, Yoo W, Chaemsaitong P, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Tarca AL, Korzeniewski SJN Hassan SS, Gabor T KC. Detection of anti-HLA antibodies in maternal blood in the second trimester to identify patients at risk for antibody-mediated maternal anti-fetal rejection and spontaneous preterm delivery. NIH Public Access. 2013;70(2):162–75.
4. Jeremiah ZA, Oburu JE, Buseri FI, Harcourt P. Alloantibodies to HLA Class 1 Antigens Detected in Multiparous Women of African Descent Are Significantly Associated with Age , ABO / Rh Blood Groups and Parity. Am J Biomed Sci. 2010;2(3):289–94.
5. Weinstock C, Schnaidt M. Human Leucocyte Antigen Sensitisation and Its Impact on Transfusion Practice. Transfus Med Hemotherapy. 2019;46(5):356–68.
6. De Clippel D, Baeten M, Torfs A, Emonds MP, Feys HB, Compennolle V, et al. Screening for HLA antibodies in plateletpheresis donors with a history of transfusion or pregnancy. Transfusion. 2014;54(12):3036–42.
7. Imoto S, Kawamura K, Tokumine Y, Araki N, Akita S, Nishimura C, et al. Acute non-hemolytic transfusion reactions and HLA class I antibody: advantages of solid phase assay compared with conventional complement-dependent assay. 2019;95–103.
8. Peters AL, Van Stein D, Vlaar APJ. Antibody-mediated transfusion-related acute lung injury; from discovery to prevention. Br J Haematol. 2015;170(5):597–614.
9. Association Bulletin #14-02. TRALI Risk Mitigation for Plasma and Whole Blood for Allogeneic Transfusion. AABB [Internet]. 2014; Available from: <https://www.aabb.org/programs/publications/bulletins/documents/ab14-02.pdf>
10. Otrock ZK, Liu C, Grossman BJ. Transfusion-related acute lung injury risk mitigation : an update. VoxSanguin. 2017;694–703.
11. UTD PMI PUSAT. Laporan Tahunan UTD PMI Pusat Jakarta.pdf. Jakarta: UTD PMI Pusat; 2019.
12. Ritchie NK. Antibodi Anti-HLA Kelas 1 pada Serum Resipien Transfusi Darah Berulang sebagai Penyebab Inkompatibilitas Trombosit Pre-Transfusi. 2015.
13. Curtis BR, Mcfarland JG. Human platelet antigens - 2013. Vox Sang. 2014;106(2):93–102.
14. Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, Wethoff. CM. AABB Technical manual. 19, editor. 2014. 243–244 p.
15. Denise M. Harmening. Modern Blood Banking and Transfusion Practices. 5th ed. Philadelphia; 2001.
16. Heikal NM, Smock KJ. Laboratory testing for platelet antibodies. Am J Hematol. 2013;88(9):818–21.
17. Kaplan C, Freedman J, Foxcroft Z, Husebekk A, Metcalfe P, Muniz-Diaz E, Ouwehand W, Panzer S, Rozman P SB. Monoclonal platelet antigen capture assays (MAIPA) and reagents: A statement. Vox Sang. 2007;93(4):298–9.
18. Curtis BR. Practical Transfusion

- Medicine; Platelet and Neutrophil Antigens. 5th ed. Practical Transfusion Medicine. John Wiley & Sons Ltd; 2017. 43–52 p.
19. Triulzi DJ, Kleinman S, Kakaiya RM, Busch MP, Norris PJ, Steele WR, et al. The Effect of Previous Pregnancy and Transfusion on HLA Alloimmunization in Blood Donors: Implications for a Transfusion Related Acute Lung Injury (TRALI) Risk Reduction Strategy. NIH Public Access. 2010;49(9):1825–35.
 20. Powers A, Stowell CP, Dzik WH, Saidman SL, Lee H, Makar RS. Testing only donors with a prior history of pregnancy or transfusion is a logical and cost-effective transfusion-related acute lung injury prevention strategy. *Transfusion*. 2008;48(12):2549–58.
 21. Kampen CA V, Maarschalk MFVV, Langerak-Langerak J, Roelen DL, Claas FHJ. Kinetics of the pregnancy-induced humoral and cellular immune response against the paternal HLA class I antigens of the child. *Hum Immunol*. 2002;63(6):452–8.
 22. Kampen CA V, Maarschalk MFJVDV, Langerak-langerak J, Beelen E Van, Roelen DL, Claas FHJ. Pregnancy Can Induce Long-Persisting Primed CTLs Specific for Inherited Paternal HLA Antigens. 2001;8859(01).
 23. Schnaidt M, Wernet D. Platelet-specific antibodies in female blood donors after pregnancy. *Transfus Med*. 2000;10(1):77–80.
 24. Kiefel V, Santoso S, Weisheit M et al. Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet-reactive antibodies Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, et al. Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA. 1987;
 25. Yang WH, Cheng CS, Chang JB, Liu KT, Chang JL. Antibody formation in pregnant women with maternal-neonatal human platelet antigen mismatch from a hospital in northern Taiwan. *Kaohsiung J Med Sci* [Internet]. 2014;30(1):25–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.kjms.2013.07.005>
 26. Wang E, Adams S, Marincola FM, Stroncek DF. Blood Banking And Transfusion Medicine. Human Leukocyte and Granulocyte Antigens and Antibodies: The HLA and HNA Systems. second edi. 2007. 129–156 p.
 27. Jeremiah ZA, Atiegoba AI, Mgbere O. Alloantibodies to human platelet glycoprotein antigens (HPA) and HLA class 1 in a cross section of Nigerian antenatal women. *Hum Antibodies*. 2011;20(3–4):71–5.
 28. Nelson JL. The otherness of self: Microchimerism in health and disease. *Trends Immunol*. 2012;33(8):421–7.
 29. Maloney S, Smith A, Furst DE, Myerson D, Rupert K, Evans PC, et al. Microchimerism of maternal origin persists into adult life. *J Clin Invest*. 1999;104(1):41–7.
 30. Suci-Foca N, Reed E, Rohowsky C, Kung P, King DW. Anti-idiotypic antibodies to anti-HLA receptors induced by pregnancy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983;80(3 I):830–4.
 31. Dankers MKA, Roelen DL, Korfage N, De Lange P, Witvliet M, Sandkuijl L, et al. Differential immunogenicity of paternal HLA class I antigens in pregnant women. *Hum Immunol*. 2003;64(6):600–6.
 32. Ihtesham A, Maqbool S, Nadeem M, Janjua MBA, Sundus O, Naqqash AB, et al. Helicobacter pylori induced immune thrombocytopenic purpura and perspective role of helicobacter pylori eradication therapy for treating immune thrombocytopenic purpura. *AIMS Microbiol*. 2021;7(3):284–303.
 33. Ercolini AM, Miller SD. The role of infections in autoimmune disease. *Clin Exp Immunol*. 2009;155(1):1–15.
 34. Hasni SA. Role of helicobacter pylori infection in autoimmune diseases. *Curr Opin Rheumatol*. 2012;24(4):429–34.
 35. Syam AF, Miftahussurur M, Makmun D, Nusi IA, Zain LH, Zulkhairi, et al. Risk factors and prevalence of Helicobacter pylori in five largest islands of Indonesia: A preliminary study. *PLoS One*. 2015;10(11):1–14.
 36. Cines DB, Bussel JB, Liebman HA, Luning Prak ET. The ITP syndrome: Pathogenic and clinical diversity. *Blood*.

- 2009;113(26):6511–21.
37. Al-Samkari H, Leaf RK, Goodarzi K. Transient Thrombocytopenia With Glycoprotein-Specific Platelet Autoantibodies After Ad26.COVID.S Vaccination: A Case Report. *Ann Intern Med.* 2021;174(11):1632–3.
38. Bhattacharjee S, Banerjee M. Immune Thrombocytopenia Secondary to COVID-19: a Systematic Review. *SN Compr Clin Med.* 2020;2(11):2048–58.
39. Xu P, Zhou Q, Xu J. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. *Ann Hematol.* 2020;99(6):1205–8.
40. Deruelle E, Ben Hadj Salem O, Sep Hieng S, Pichereau C, Outin H, Jamme M. Immune thrombocytopenia in a patient with COVID-19. *Int J Hematol [Internet].* 2020;112(6):883–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12185-020-02943-5>
41. Bomhof G, Mutsaers PGNJ, Leebeek FWG, te Boekhorst PAW, Hofland J, Croles FN, et al. COVID-19-associated immune thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 2020;190(2):e61–4.
42. Ashraf S, Alsharedi M. COVID-19 induced immune thrombocytopenic purpura: case report. *Stem Cell Investig.* 2021;8:14–14.
43. Johnsen J. Pathogenesis in immune thrombocytopenia: new insights [Internet]. *American Society of Hematology*; 2012. 306–312 p. Available from: <https://scihub.wf/10.1182/asheducation-2012.1.306>