



# RHD-NIPD update

## Nicht-invasive pränatale RHD-Diagnostik

Genetische Bestimmung des kindlichen RHD-Faktors aus mütterlichem Blut

Christof Jungbauer, 34. Informationsgespräch der Blutspendezentrale, 20. November 2010

# RhD Morbus haemolyticus neonatorum

## Erfolg der Einführung der Rhesusprophylaxe

Situation in GB vor 1969<sup>1</sup>

RhD-MHN: 1/ 100 Geburten

Todesfälle durch RhD-MHN: 1/ 2.200 Geburten

Situation in GB 1990<sup>2</sup>

Todesfälle durch RhD-MHN: 1/ 62.000 Geburten

<sup>1</sup> Walker W. J. Obstet Gynaecol Br Emp 1957

<sup>2</sup> Kumar S. BMJ 2005

# Immunisierungsrate

## Immunisierung RhD-negativer Individuen

Die Immunisierung erfolgt in Abhängigkeit von der übertragenen Menge RhD-positiver Erys<sup>2</sup>:

0,1 ml	3%
1,0 ml	15%
200 ml	80%

<sup>2</sup> Pollak et al. Transfusion 1971

# Immunisierungsrate

## Immunisierung RhD-negativer Schwangeren

### Sensibilisierungsrate RhD negativer Schwangerer<sup>1</sup>:

ohne Prophylaxe:	8%
bei postpartaler Prophylaxe:	0,8%
bei kombinierter Prophylaxe:	0,08%

300µg Anti-D Immunglobulin verhindern die Sensibilisierung durch bis zu 25 ml RhD-positives Blut

<sup>1</sup> Deutinger J et al. Pränatale Bestimmung des fetalen Rhesusfaktors – klinische Konsequenzen. Speculum 2009

# Rhesusprophylaxe

## Entwicklung zum Standard

- 1963 Erste postpartale Rhesusprophylaxe J. Schneider, Freiburg
- 1980er Einführung der präpartalen Prophylaxe in den USA
- 1992 Einführung der präpartalen Prophylaxe in Deutschland
- 2000 Einführung der präpartalen Prophylaxe in Österreich

<sup>1</sup> Deutinger J et al. Pränatale Bestimmung des fetalen Rhesusfaktors – klinische Konsequenzen. Speculum 2009

# Rhesusprophylaxe

## International uneinheitliche Standards

### Österreich<sup>1</sup>

- 28. bis 30. SSW
- RhD-positive Neugeborene  
< 72 h post partum
- bei Situationen mit erhöhten Sensibilisierungsrisiko

<sup>1</sup>ÖGfPPM

### GB<sup>2</sup>

- 28. SSW
- 34. SSW
- RhD-positive Neugeborene  
< 72 h post partum
- bei Situationen mit erhöhten Sensibilisierungsrisiko

<sup>2</sup> Royal College of O&G, 2002  
National Institute for Clinical Excellence, 2002

# Rhesusprophylaxe

## Anti-D-Immunglobulin

humanes Plasmaderivat

- historische HCV-Transmissionen<sup>1</sup>
- knappe Ressource

<sup>1</sup> Kenny-Walish E. NEJM 1999

# Rhesusprophylaxe

Ausbleibender Erfolg monoklonaler Antikörper

Kumpel BM

Efficacy of RhD monoclonal antibodies in clinical trials as replacement therapy for prophylactic anti-D immunoglobulin: **more questions than answers**

Vox Sang 2007;93:99-111.



## Rhesusprophylaxe

In 38 % der Schwangerschaften ist der Fetus RhD-negativ

Daniels G, Finning K, Martin P, Summers J

**Fetal RHD genotyping:**

**A more efficient use of anti-D immunoglobulin**

Transfus Clin Biol. 2007;14:568-71.

## RHD-NIPD

Nachweis fetaler DNA im mütterlichen Blut

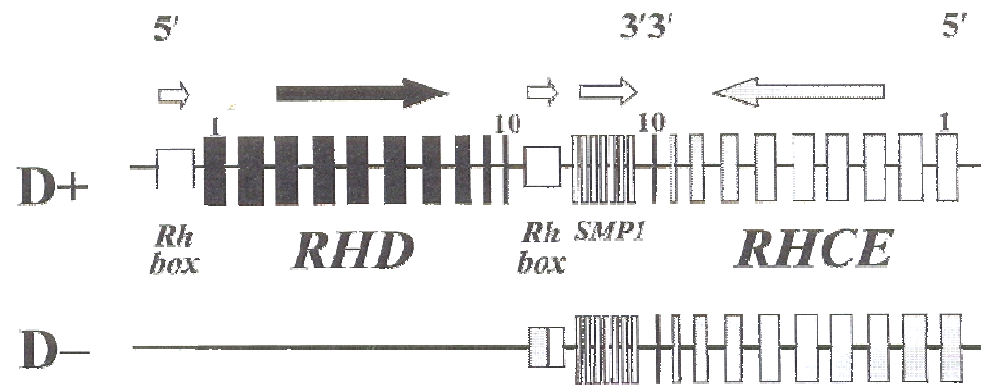
LO, Y.M.D. et al.

**Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum.**

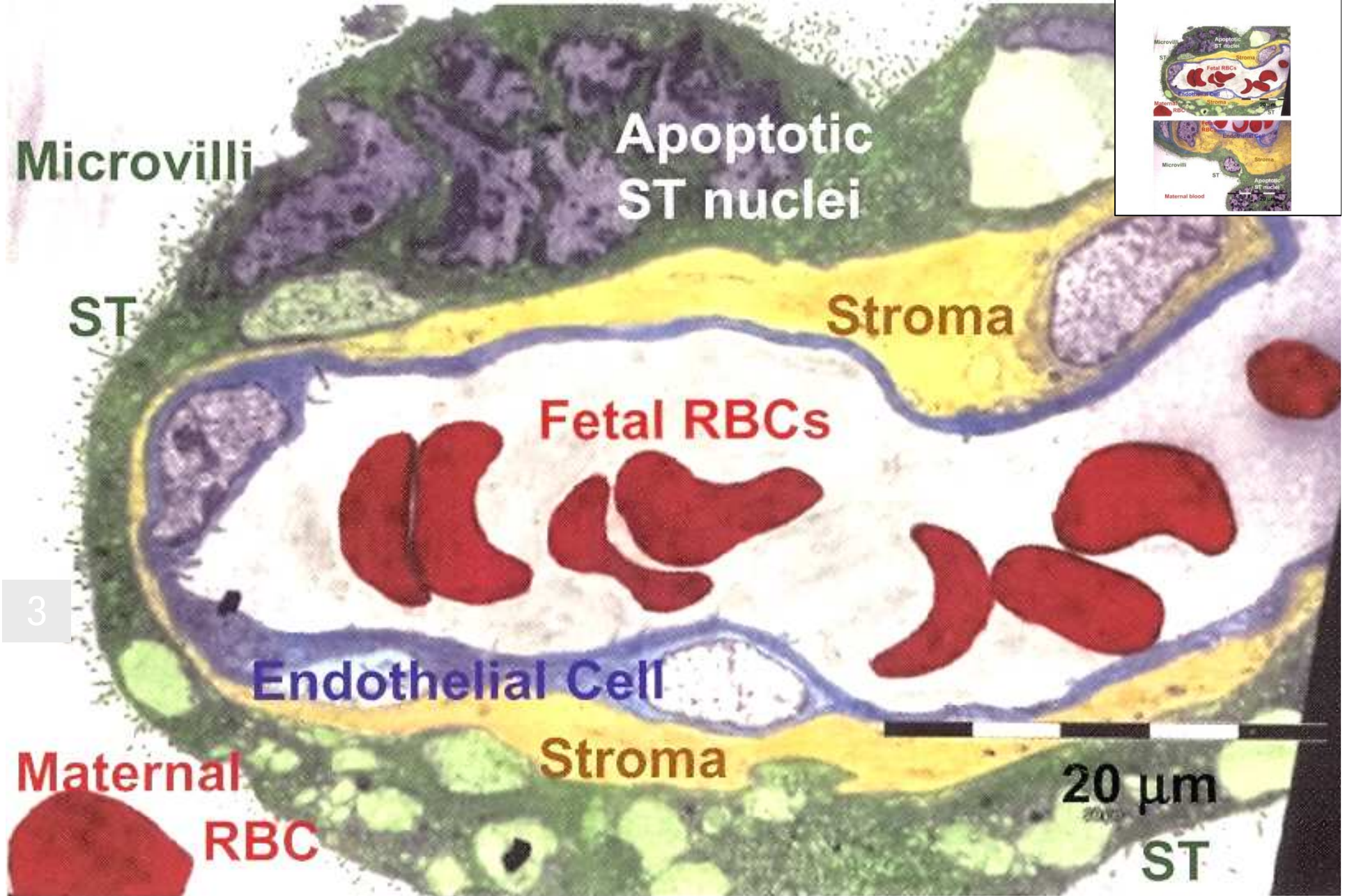
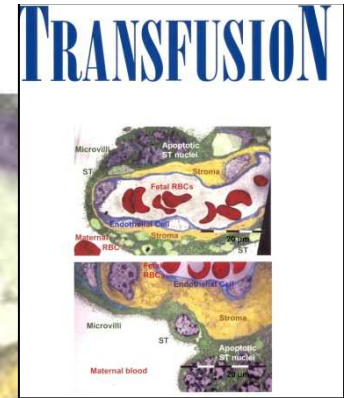
Lancet 1997;350: 485–487.

# RHD-NIPD

## Das RHD- und RHCE-Gen



# Ursprung der zellfreien fetalen DNA im mütterlichen Blut



## zellfreie fetale DNA

geringste Mengen, starker Hintergrund, schlechte Qualität

cffDNA-Menge abhängig vom Gestationsalter des Feten gering:  
einige Geq/ml

maternale cfDNA : fetale cfDNA = 20:1

Fetus hat 1 n maternale Gene

starke Fragmentierung

# Kontrolle für fetaler DNA

Absicherung gegen falsch-negative Testergebnisse

## Y-chromosomale Marker

Lo et al.	1998	SYR
Chin and Lo	2003	SYR
Rijnders et al.	2004	SYR
Avent and Chitty	2006	SYR

## Genetische Polymorphismen

Lee et al.	2002	HLA-DQ
Legler et al.	2002	RHCE, C, E, c
Van der Schoot et al.	2003	insertion/deletion
Brojer et al.	2005	insertion/deletion

## DNA-Methylierung

Chan et al.	2006	RAASF1A
-------------	------	---------

## RHD-NIPD

Arbeitsgruppen und Evaluierung

## SAFE NoE - Gruppe

Special Non-Invasive Advances in Fetal and Neonatal Evaluation Network of Excellence  
6<sup>th</sup> EC Framework Program

Gemeinsame Protokolle, Multizentrische Evaluierung, Standardisierung der Prozesse

## ISBT-Workshop

ISBT Working Party on Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology  
Workshop on Blood Group Molecular Genotyping 2010

# RHD-NIPD

Indikationsgruppen

## **RhD-negative Schwangere**

zur gezielten Anwendung der Rhesusprophylaxe

## **Schwangere mit Anti-D-Immunsierung**

zur Bestimmung eines etwaigen MHN-Risikos



# Pränatale Ultraschall – Diagnostik

## Nachweis von Ascites, Ödemen und Hepatosplenomegalie



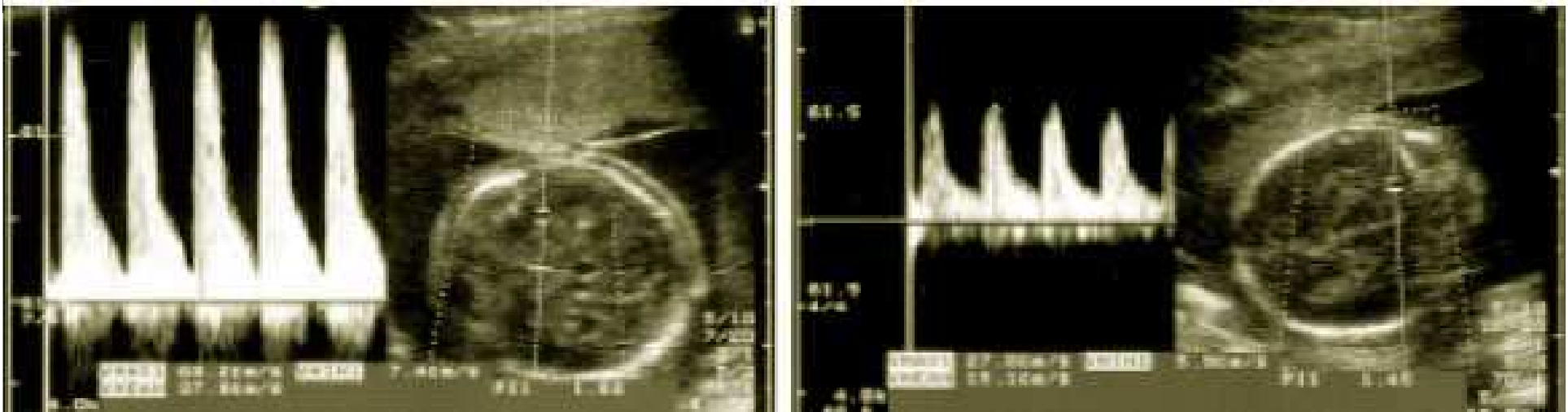
J. Deutinger  
Universitätsklinik für Frauenheilkunde  
Medizinische Universität Wien

Hydrops fetalis, 11. – 14. SSW



# Doppler Ultraschalldiagnostik

## A. cerebri media flow (MCA-PSV)



Flow velocity waveform in the fetal middle cerebral artery in a severely anemic fetus at 22 weeks (left) and in a normal fetus (right). In fetal anemia, blood velocity is increased

Bei einer schweren fetalen Anämie (Hb <6g/dl) ist die Flussgeschwindigkeit in der A. cerebri media signifikant erhöht.

[Scheier M](#), Prediction of severe fetal anemia in red blood cell alloimmunization after previous intrauterine transfusions. Am J Obstet Gynecol. 2006 Dec;195(6):1550-6. Epub 2006 Jun 21

[Collins CY](#), Evaluating suspected fetal anemia with Doppler ultrasound. J Reprod Med. 2005 Jun;50(6):379-82

# NIPD-RHD an der Medizinischen Universität Wien

## Evaluierung des zweijährigen Testzeitraums

Seit Dezember 2008 werden alle RhD-negative Schwangeren der Universitätsfrauenklinik mittels NIPD getestet.

Die Testung erfolgt durch die Blutgruppenserologie

Bei RHD-negativen Feten wird keine Rhesusprophylaxe gegeben

<sup>1</sup> Deutinger J et al. Pränatale Bestimmung des fetalen Rhesusfaktors – klinische Konsequenzen. Speculum 2009

# NIPD-RHD Ergebnisse

MUW, Klinische Abteilung für Blutgruppenserologie

Beobachtungszeitraum	09.12.2008 – 17.11.2010 23,6 Monate
Schwangerschaften mit RHD-NIPD Testresultaten	<b>489</b>
Schwangerschaften mit mehrfachen NIPD Testresultaten	<b>141</b> (28,8 %)
Anzahl der durchgeführten Tests	<b>645</b>
Beendete Schwangerschaften mit Daten des Neugeborenen	<b>345</b>
Überfällige Schwangerschaften	<b>58</b> (14,4 %)
falsch-positive RHD-Ergebnisse	<b>2</b> (0,57 %)
falsch-negative RHD-Ergebnisse	<b>0</b>

# NIPD-RHD Testung

MUW, Klinische Abteilung für Blutgruppenserologie

## Falschbestimmungen von RHD

falsch-positiv                      2/345 (0,57 %)

1. operator contamination
2. mütterliches RHD  $\Psi$

falsch-negativ                      0/345

# NIPD-RHD Ergebnisse

MUW, Klinische Abteilung für Blutgruppenserologie

## Neue Entwicklungen und Anforderungen aus der Klinik

verbessertes Protokoll für SRY wird derzeit validiert;  
Danach Anwendung für Sex-linked disorders (AGS, X-Chrom rez)

Etablierung von Protokollen f. weitere erythrozytäre Antigene  
(C,c,E,e,K,...)

# NIPD-Geschlechtsbestimmung

Richtungsweiser bei positiver Familienanamnese

## X-chromosomal-rezessive Erbkrankheiten

Hämophilie A und B

Lesch-Nyhan-Syndrom

Morbus Fabry

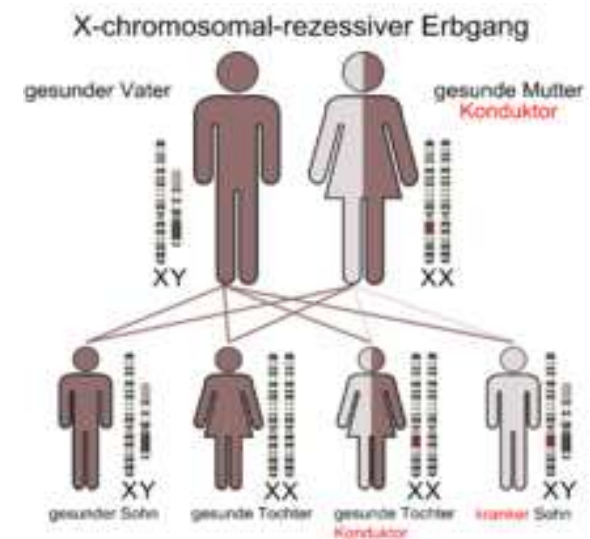
Mukopolysaccharidose Typ II

Muskeldystrophie (Duchenne, Becker-Kiener)

Norrie-Syndrom

Septische Granulomatose

X-SCID





# NIPD-Spezifischer Nachweis von Erbkrankheiten

Welche Möglichkeiten bietet die NIPD derzeit?

autosomal-dominante (paternale) Erbkrankheiten

## Chorea Huntington

>36 Kopien eines 3 Basen repetitiven Motivs im HD-Gen, Chromosom 4  
Gonzalez-Gonzalez et al., 2003

## Achondroplasie

FGFR3-Gen, Chromosom 4  
Saito et al., 2000; Li et al., 2004, 2007

## Myotone Dystrophie

>50 Kopien eines 3 Basen repetitiven Motivs im DMPK-Gen, Chromosom 19  
Amicucci et al., 2000

# NIPD-Nachweis autosomal rezessiver Erbkrankheiten?

Fetale und maternale Allele sind nicht unterscheidbar

autosomal-rezessive Erbkrankheiten

z.B.: Sichelzellanämie (SZA), Cystische Fibrose (CF)

Wenn Vater und Mutter identische Krankheitsallele haben,  
ist keine Aussage möglich (SZA)

Wenn Vater und Mutter unterschiedliche Krankheitsallele haben,  
ist nur die paternale Vererbung nachweisbar (CF)

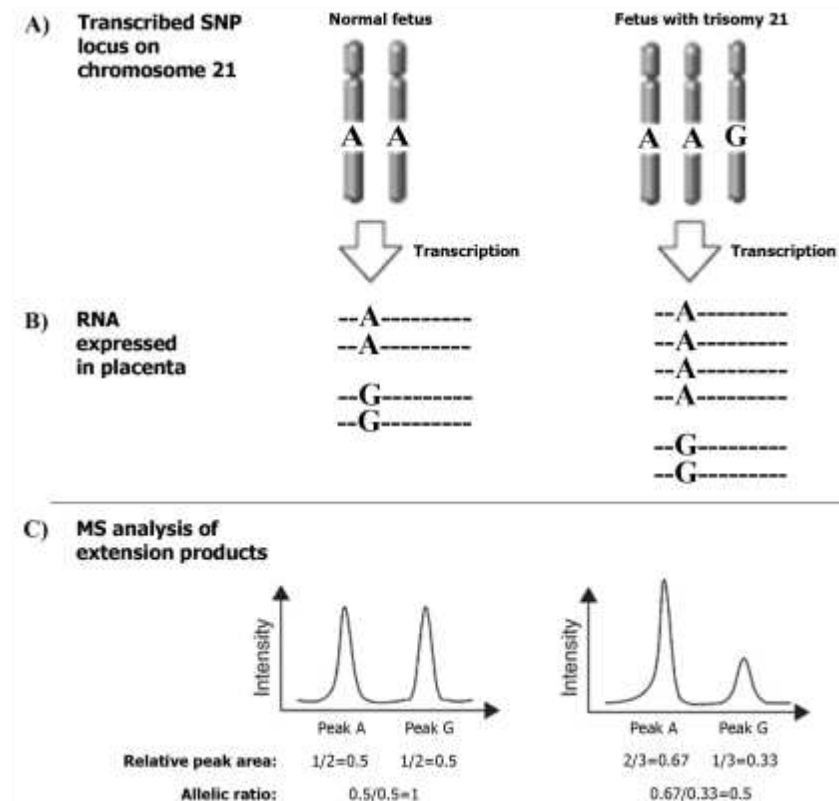
# NIPD-fetales Aneuploidiescreening

## Trisomiescreening als Fokus der pränatalen Diagnostik

Die meisten Methoden erfordern eine **Differenzierung zwischen mütterlicher und fetaler DNA**.

Beim **Shotgun-Sequencing** ist das nicht nötig. Im zweiten und dritten Trimester konnten Trisomien damit bereits nachgewiesen werden.

Fan et al., 2008



# Zusammenfassung

## RHD-NIPD

38 % D-negative Kinder bei D-negativen Schwangerschaften

*„[for] a more efficient use of anti-D immunoglobulin“*

Antikörperträgerinnen mit D-negativen Feten

keine engmaschigen Kontrollen oder invasive Diagnostik

*Aus Liebe zum Menschen.*



ÖSTERREICHISCHES ROTES KREUZ

## RHD-NIPD Arbeitsgruppe

Elisabeth Schwartz-Jungl<sup>1</sup>

Claudia Hobel<sup>2</sup>

Josef Deutinger<sup>3</sup>

Dieter Schwartz<sup>1</sup>

Christof Jungbauer<sup>2</sup>

Peter W. Husslein<sup>3</sup>

Wolfgang R. Mayr<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universitätsklinik für Blutgruppenserologie und Transfusionsmedizin, Medizinische Universität Wien

<sup>2</sup> Österreichisches Rotes Kreuz, Blutspendezentrale für Wien, Niederösterreich und Burgenland

<sup>3</sup> Universitätsklinik für Frauenheilkunde, Medizinische Universität Wien



*Aus Liebe zum Menschen.*

**ÖSTERREICHISCHES ROTES KREUZ**

Österreichisches Rotes Kreuz  
Blutspendezentrale für Wien, Niederösterreich und Burgenland

[www.blut.at](http://www.blut.at)

[www.rotekreuz.at](http://www.rotekreuz.at)