

Molekulares *RHD*-Screening von serologisch RhD-negativen Spendern

Zusammenfassung

Aktuell schreiben die schweizerischen Vorschriften des Blutspendedienstes BSD SRK Schweiz vor, dass bei der ersten Spende das Screening mit zwei unterschiedlichen anti-D-Testseren durchgeführt werden muss. Zudem müssen bei der ersten und zweiten Spende alle RhD-negativen Resultate mit einem Anti-D-IgG-Testserum im indirekten Antiglobulintest überprüft werden (unter Mitführung einer entsprechenden Kontrolle), damit ein schwaches RhD-Antigen ausgeschlossen werden kann.

Im Blutspendedienst Bern wurde in Zusammenarbeit mit elf regionalen Blutspendediensten zwei Studien zum *RHD*-Screening durchgeführt. Auf der Basis der erhobenen Daten wurden die Vorgehensweise und die Vorschriften angepasst. Ab dem 1. Januar 2013 müssen alle Spender (Mehrfach- und Erstspender) molekulargenetisch einmal auf das Vorliegen eines *RHD*-Allels gescreent werden.

Mit dem molekularen Screening werden serologisch RhD-negative Spenderinnen und Spender erfasst, bei denen das RhD-Antigen auf der Erythrozytenoberfläche so schwach ausgeprägt ist, dass es nur genetisch nachgewiesen werden kann. Das Ziel der Einführung des molekulargenetischen *RHD*-Screenings ist es, möglichst viele potentielle Immunisierungen bei Empfängern von Blutprodukten zu verhindern.

Nicht alle "Weak D"-Individuen werden erfasst

In den letzten Jahren wurden viele neue *RHD*-Allele entdeckt. So sind heute über 100 verschiedene Mutationen im *RHD*-Gen beschrieben. Diese Mutationen führen dazu, dass das RhD-Antigen auf der Erythrozytenoberfläche schwächer oder nur partiell exprimiert wird.

Die heute routinemässig eingesetzten serologischen Tests können diese abgeschwächten oder veränderten RhD-Antigene nicht in allen Fällen detektieren. Zurzeit ist gemäss den Richtlinien BSD SRK auch ein indirekter Antiglobulintest notwendig, um gewisse "weak D"-Phänotypen nachweisen zu können. Ob "weak D"-Erythrozyten im Screening gefunden werden, ist abhängig von den verwendeten anti-D-Testseren. In der kaukasischen Völkergruppe kommen 0.2–1% "Weak D"-Individuen vor, in der Schweiz sind es vorwiegend die Typen 1 und 2. Ist das D-Antigen so stark abgeschwächt, dass es lediglich mit Adsorptions/Elutionsverfahren nachgewiesen werden kann, spricht man vom DEL-Phänotyp. DEL-Erythrozyten können auch mit dem indirekten Antiglobulintest nicht erfasst werden.

Ein Risiko für Empfänger von Blutprodukten

Daten, die in ausländischen Studien erarbeitet worden sind, deuten darauf hin, dass bei gewissen Rhesus-Haplotypen anteilmässig vermehrt serologisch negative, aber molekulargenetisch positive Spender vorkommen. Erythrozytenkonzentrate von solchen Spendern haben das Potential, bei Empfängern zur Bildung von Alloantikörpern gegen das RhD Antigen zu führen. Die Exposition von RhD-negativen Individuen mit RhD+-Erythrozytenkonzentraten sollte deshalb mit Hilfe von entsprechenden Transfusions-Test-Strategien möglichst vermieden werden, um Immunisierungen zu verhindern, denn diese können für den Empfänger gefährliche klinische Konsequenzen haben. In der Literatur sind solche Immunisierungen beschrieben – sie sind vor allem für Mädchen und Frauen vor dem oder im gebärfähigen Alter von Bedeutung.

Mit Hilfe des molekularen Screenings auf das Gen, welches für das RhD-Antigen kodiert, sollten serologisch weak D und DEL-Erythrozytenkonzentrate aus dem RhD-Blutspenderpool heraus selektioniert werden können. Dadurch lassen sich potentielle Immunisierungen bei Empfängern von Blutprodukten vermeiden.

Aktuelle Daten für die Schweiz

In einer internationalen multizentrischen Studie konnte festgestellt werden, dass die Häufigkeit der gefundenen RhD-Allele sogar zwischen eng benachbarten geographischen Regionen stark variiert. Es ist daher nachvollziehbar, dass jedes Land oder sogar jede grössere Region eigenen Daten dazu erheben sollte.

In zwei Studien, die in den Jahren 2006 und 2007/2008 im BSD Bern durchgeführt wurden, wurden die grundlegenden Daten für die Schweiz erhoben. Insgesamt wurden mehr als 18'000 serologisch RhD-negative Blutspender in Minipools von 24 Spenden auf die drei *RHD*-Exone 3, 5 und 10 molekulargenetisch gescreent. Von diesen serologisch RhD-negativen Spendern wurden 45 entdeckt, die genetisch *RHD*-positiv waren (Tabelle 1). Sieben von diesen 45 Spendern mussten als RhD-positiv umdeklariert werden. Die restlichen 38 Spender konnten bei ihrem RhD-negativen Status belassen werden, da bekannt ist, dass deren Varianten nicht zur Bildung von Alloantikörpern führen.

Neue Vorschriften erhöhen die Sicherheit

Auf der Basis der erhobenen Daten wurden die Vorgehensweise und die Vorschriften beim RhD-Screening angepasst. Ab dem 1. Januar 2013 müssen alle Spenderinnen und Spender (Mehrfach- und Erstspender) molekulargenetisch auf *RHD* gescreent werden. Im Gegenzug dazu kann auf den indirekten Antiglobulintest verzichtet werden. Mit der Umsetzung dieser Massnahme soll die oben beschriebene Bildung von Alloantikörpern gegen das RhD Antigen vermindert und die Sicherheit von Transfusionen mit Erythrozytenkonzentraten verbessert werden.

Tabelle 1: Serologisch RhD-negative, molekular-RHD positive Spender

RhD-Varianten	Anzahl	Serologisch positiv	RhD-Status	Phänotyp
weak D 11 (M295I)	4	1	positiv	Ccddee
weak D 31	1		positiv	CCddee
DEL RHD (IVS3+1G>A)	3	1	positiv	CCddee Ccddee
DEL RHD (IVS5-38del4)	2		positiv	Ccddee
DVL-2	2	2	positiv	Ccddee
Weak D 38	1	1	positiv	Ccddee
RHD (IVS3+5G>A)	3	1	positiv	Ccddee
RHD Psi	3		negativ	Ccddee ccddee
Ccde ^s	2		negativ	Ccddee
RHD-CE(2-9)-D	7		negativ	Ccddee
RHD-CE(4-9)-D	2		negativ	ccddEe
RHD-CE(3-7)-D	3		negativ	Ccddee
RHD-CE(3-9)-D	3		negativ	Ccddee
RHD544(del4)	1		negativ	ccddee
Keine Mutation gefunden	5		negativ	Ccddee
Nicht spezifizierbar	3		negativ	Ccddee ccddee
Total	45	6		