





Screeninguntersuchungen auf Hämoglobinopathien

Dr. med. Claudia Frömmel

Labor Berlin – Charité – Vivantes GmbH

Charité – Universitätsmedizin Berlin Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie





Warum Screening auf Hämoglobinopathien?

The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden

David J. Weatherall

'Weatherall Institute of Molecular Medicine, John Radcliffe Hospital, Oxford, United Kingdom

It is estimated that in excess of 300 000 children are born each year with a severe inherited disorder of hemoglo-bin and that approximately 80% of these births occur in low- or middle-income countries. As these countries go through an epidemiologic transition, with a reduction in childhood and infant mortality due to improved public health measures, babies who would have previously died of these diseases before they were recog-

nized are now surviving to present for diagnosis and treatment. Hence, they are presenting an increasing global health burden. Because of their uneven distribution in high-frequency populations, reflecting their complex population genetics, the true magnitude of this burden is still unknown. In many poor countries there are virtually no facilities for the diagnosis and management of these conditions, and even in richer countries there are limited data about their frequency, clinical course, or mortality. Without this information, it will be impossible to persuade governments about the increasing importance of these diseases. The situation will only be improved by concerted action on the part of the hematology community of the richer countries together with input from the major international health organizations and funding agencies. (Blood. 2010;115(22):4331-4336)

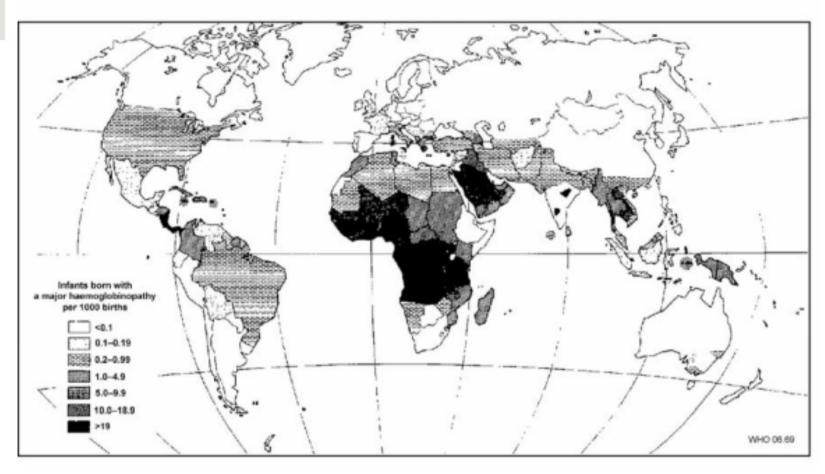








Global distribution of haemoglobinopathies (thalassaemia and sickle-cell disease): number of affected infants per 1000 births



WHO 2006









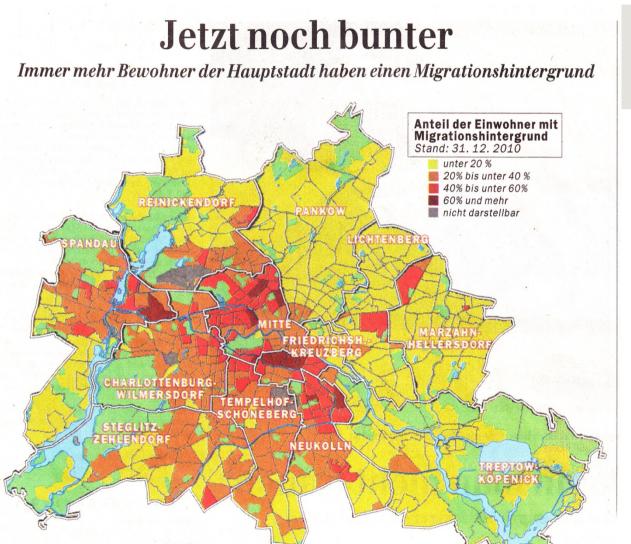
Karneval der Kulturen



III Labor Berlin















Übersicht

Screeninguntersuchungen auf Hämoglobinopathien

- 1 Indikation zur Diagnostik
- 2 Was ist Screening?
- 3 Was, wie screenen?
- 4 Fazit







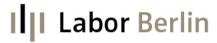


Warum Screening auf Hämoglobinopathien?

zunehmend Betroffene in Mittel- und Nordeuropa durch Migration

- klassische Einwanderungsländer wie USA, UK, Niederlande Belgien und Frankreich haben bereits seit Jahren Screeningprogramme auf Hämoglobinoapthie, respektive Sichelzellerkrankung erfolgreich aufgesetzt
- Auch Länder mit hoher Prävalenz, wie Zypern, Italien, Staaten des Nahen und Mittleren Ostens, Sri Lanka, Honkong u.a. verfügen über Präventionsprogramme









Ziel des Screening auf Hämoglobinopathien ist:

- durch Prävention die Morbidität, die Mortalität und damit entscheidend die Kosten und Folgekosten zu senken
- Verbesserung der Information und Versorgung betroffener Patienten









Warum Screening auf Hämoglobinopathien?

Clinical outcomes in children with sickle cell disease living in England: a neonatal cohort in East London

Paul Telfer, Pietro Coen, Subarna Chakravorty, Olu Wilkey, Jane Evans, Heather Newell, Beverley Smalling, Roger Amos, Adrian Stephens, David Rogers, Fenella Kirkham

Mortality in childhood SCD can virtually be eliminated in a well-resourced health service setting linking community-based care with a specialized, hospital-based center. SCD continues to cause substantial morbidity from acute complications and chronic organ damage. We recommend setting up of clinical networks to optimize the management of SCD.

Haematologica 2007; 92:905-912 ©2007 Ferrata Storti Foundation





Was ist Screening?

• Eingangsuntersuchung bei klinischem Verdacht auf Hämoglobinopathien (z.B. Sichelzellerkrankung oder Thalassämia intermedia oder major) bzw. zur Abklärung hämatologischer Auffälligkeiten (z.B. Anämie, bzw. Mikrozytose und Hypochromie)



- Früherkennung von Patienten in der präsymptomatischen Phase:
 - Neugeborenenscreening (auf Sichelzellerkrankungen)
 - Ungeborene mit dem Risiko eine schweren Hämoglobinopathie erkennen und den Eltern informierte Entscheidungsmöglichkeiten an die Hand geben (informed choice, *Pränatalscrenning* von Schwangeren und deren Partner)



- genetische Beratung im Vorfeld für potentielle Eltern anbieten
 - prämaritales Screeening (z.B. Zypern, Iran)
 - Schulscreeningprogramme (z.B. Italien)











Screening-Programme auf Hämoglobinopathie in Deutschland?

- Eingangsuntersuchung bei klinischem Verdacht auf Hämoglobinopathien (z.B. Sichelzellerkrankung oder Thalassämia intermedia oder major) bzw. zur Abklärung hämatologischer Auffälligkeiten (z.B. Anämie, bzw. Mikrozytose und Hypochromie)
- Früherkennung von Patienten in der präsymptomatischen Phase:
 - Neugeborenenscreening (auf Sichelzellerkrankungen)
 - Ungeborene mit dem Risiko eine schweren Hämoglobinopathie erkennen und den Eltern informierte Entscheidungsmöglichkeiten an die Hand geben (informed choice, Pränatalscrenning von Schwangeren und deren Partner)
- genetische Beratung im Vorfeld für potentielle Eltern anbieten
 - prämaritales Screeening (z.B. Zypern, Iran)
 - Schulscreeningprogramme (z.B. Italien)





persistierer vtäre Anämie unklare Anämie hne Begleitsymptomen) Polyglobulie unklare. Hämolyse horte, Risikoscu.

V. a. Thalassämie, abnormales Hb, instabiles Hb, hochaffine Hb-Varianten

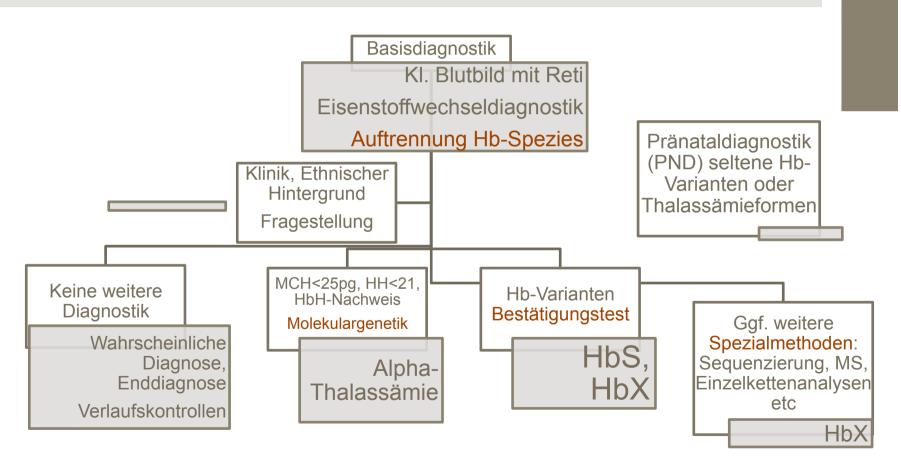








Diagnostik Algorithmus



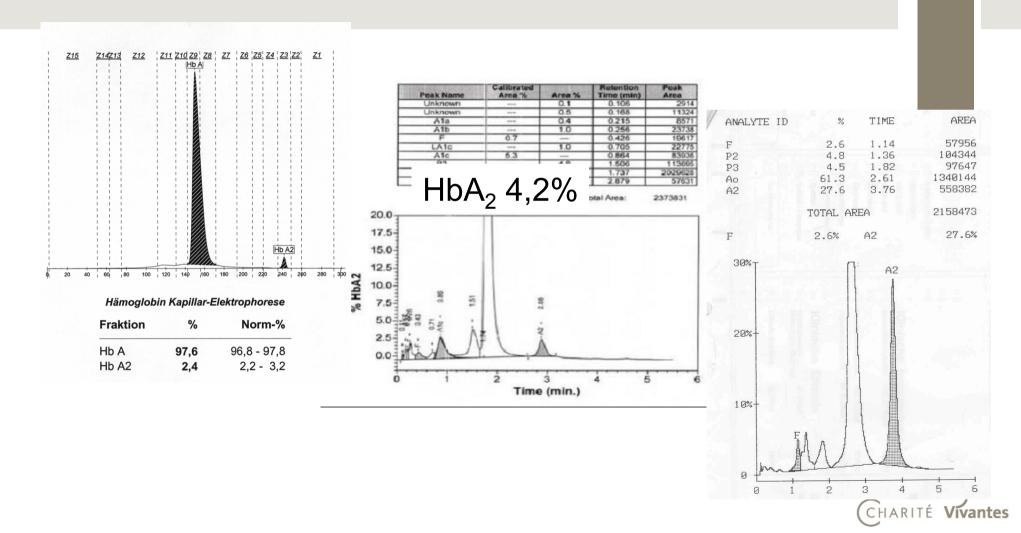


III Labor Berlin





Methoden – mikrozytäre Anämie









Methoden – mikrozytäre Anämie

ANALYTE	ID	1 %	TIME	AREA
F Unknown Ao A2	1	9.2 0.9 1.6 4.9	1.18 2.24 2.43 3.76	168462 16175 27939 72052
Unknown	2	83.3	4.54	1440371
		TOTAL AR	EA .	1724999
F		9.2%	A2	4.9%
30% _T				п
0.00				
20%+				
	F			
10%				
			A2	
			A	
111	\	m	132	
0 th	\			

III Labor Berlin

...das darf uns nicht passieren!





III Labor Berlin

Diagnostische Schwierigkeiten der Eingangsuntersuchung

- jede Methode hat ihre Limitationen und diese sollten dem Untersucher bekannt sein!
 - z.B. Überlagerung verschiedener Hb-Spezies in HPLC und Elektrophorese ggf. Zweitmethode verwenden
 - z.B. Kalibration der Kapillarelektrophores auf HbA d.h. wenn kein HbA vorhanden bei homozygoten Varianten -Fehlkalibration und Fehlinterpretation mgl.
 - einzelne Hb-Varianten werden nicht erfasst
 - Erkrankungen bilden sich durch bestimmte Regulationseffekte ab: z.B. beta-Thalassämie
 - alpha-Thalassämien werden in der Quantifizierung nicht erfasst, wenn kein HbH (β²+β²) gebildet wird









Allgemeine Screeningkriterien

(zusammengefasst nach UK National Screening Comittee)

- Zielerkrankung ist ein bedeutendes Gesundheitsproblem
- Epidemiologische Daten und Daten zum Verlauf der Erkrankung liegen vor
- Präventionsmaßnahmen sollten bereits etabliert / praktikabel sein
- Wenn Träger identifiziert werden, müssen diese über den Verlauf aufgeklärt werden
- Der Test muss einfach, sicher, präzise und validiert sein
- Verteilung der Testresultate sollte für die Zielpopulation bekannt sein
- Testpositive müssen diagnostisch abgeklärt werden
- Eine effektive Therapie oder Intervention muss vorhanden sein
- Das Verfahren zur Therapie muss mit den beteiligten Anbietern im Gesundheitswesen abgestimmt sein
- Eine effektive Senkung von Mortalität und Morbidität sollte evidenzbasiert gezeigt worden sein
- Verfahren muss f
 ür die Zielpopulation akzeptabel sein
- Die Kosten m

 üssen vertretbar sein



III Labor Berlin

Einführung des Screenings auf Hämoglobinopathien in Deutschland

Voraussetzung:

Verlässliche Prävalenzdaten.

- → Unterscheidung in Regionen hoher Prävalenz und geringer Prävalenz und daraus ableitend das Vorgehen als gerichtetes oder ungerichtetes Screening
- → Strategien der Prävention erarbeiten: z.B. als Antenatales Screening oder Neugeborenenscreening oder kombinierte Programme
- und Einbettung in vorhandene Präventionsstrukturen









Studien zur Epidemiologie von Hämoglobinopathien in Deutschland

 Modell et al. Epidemiology of haemoglobin disorders in Europe Scand J Clin Lab Invest 2007

Betke K (1980) IV. Bedeutung und Vorkommen anomaler Hamoglobinvarianten im europaischbn Raum. Monatsschr Kinderheilkd 128:7-8

Betke K. Kleihauer E (1962) Hamoglobinanomallen in der deutschen Bevolkerung. Schweiz Med Wochen 92:131G-1318

Cario H, Stahnke K, Sander S, Kohne E. Epidemiological situation and treatment of patients with thalassemia major in Germany: results of the German multicenter beta-thalassemia study. Ann Hematol 2000; 79: 7-12.

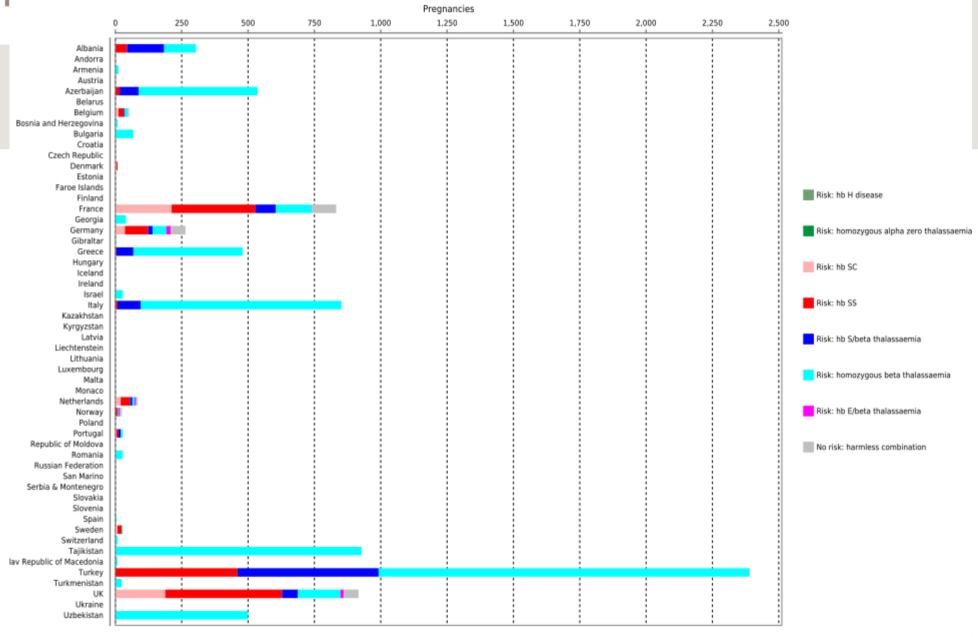
Dickerhoff R, von Rucker A, Kohne E. 1998. Sichelzellerkrankungen in Deutschland: Verlaufsveobachtungen über zehn Jahre. Deutsches Artzteblatt 95: A1675-A1679 Kohne E, Kleihauer E (1974) Haufigkett und Formen von anomalen Hamoglobinen und Thalassamie-Syndromen in der deutschen Bevolkerung. Klin Wschr 52:1003-1010

Vetter B, Schwarz C, Kohne E, Kulozik AE. Beta-thalassaemia in the immigrant and non-immigrant German populations. Br J Haematol. 1997:266-72

- Holger Cario et al., Ann Hematology, 2000
 - Ca. 300 Thalassämie-Patienten aktuell
- Prof. Elisabeth Kohne et al., Ärzteblatt, 2010
 - Berechnungen ca. 400 000 Hämoglobinopathie-Genträger
- Roswitha Dickerhoff et al., Ärzteblatt, 2000
 - Ca. 150 000-200 000 Träger der HbS-Anlage



Chart 9: Annual pregnancies where both parents carry a significant variant









Studien zur Epidemiologie – Berliner Neugeborenenscreening auf Hämoglobinopathie

In Berlin:
 Stephan Lobitz, Oliver Blankenstein, Claudia Frömmel



- ca. 30 000 Berliner Neugeborene werden retrospektiv anonym auf das Vorliegen von Hämoglobinopathien untersucht
- Sollte ein signifikante Anzahl an Erkrankten (Sichelzellerkrankung und Major bzw. intermedia-Formen der Thalassämie >7) identifiziert werden, wird die Studie prospektiv fortgesetzt, um die tatsächlichen Erfordernisse und Strukturen eines Neugeborenen-Screenings zu untersuchen









Etablierte Vorsorgeprogramme Deutschland:

- **Früherkennung** von Patienten in der präsymptomatischen Phase:
 - Neugeborenenscreening: Adrenogenitales Syndrom, Ahornsirupkrankheit, Biotinidasemangel, Carnitinstoffwechseldefekte, Galaktosämie, Glutaracidurie Typ I, Hypothyreose, Isovalerianacidämie, LCHAD-, VLCAD-Mangel, MCAD-Mangel, Phenylketonurie
 - = seltene bis sehr Erkrankungen
 - Schwangerenvorsorge (Pränatalscreening von Schwangeren) umfasst Hämoglobinkonzentration (nicht MCV bzw. MCH),
 sowie infektionsserologische und immunhämatologische Untersuchungen





Neugeborenenscreening in Deutschland

- ca. 665 000 Geburten/Jahr in D (500 bestät. Diagnosen, 5600 recalls)
- Blutentnahme am 3. Lebenstag, Trockenblutkarten



- Screening
 - Zweituntersuchungen (<36 h, transfundiert, zu wenig Material etc.)
 - Recall (auffälliges Ergebnis zur Bestätigung)









Neugeborenenscreening auf Hämoglobinopathien

- Zielerkrankungen (nach NHS, UK)
 - Sichelzellerkrankung
 - Sichelzellanämie (HbSS)
 - HbS/ β-Thalassämie
 - HbS/C
 - HbS/ D
 - HbS/ O
 - HbS/ Lepore
 - HbS/ δβ-Thalassämie
 - HbS/E
 - HbS/ HPFH

- Andere signifikante Hämoglobinopathien
 - β-Thalassaemia major
 - β- Thalassaemia intermedia
 - HbH-Erkrankung
 - HbE/β-Thalassämie









Neugeborenenscreening

- Methoden:
 - HPLC
 - IEF
 - Kapillarelektrophorese
 - Klassische Elektrophorese
 - Mikrosäulen
 - Alkalidenaturierung (HbF)
 - Molekularbiologische Methoden (α-Thalassämien und Bestätigung seltener Hämoglobinvarianten)

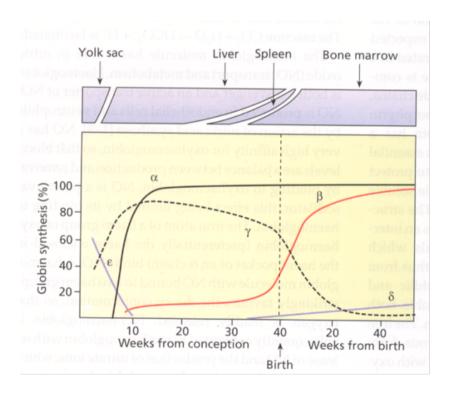


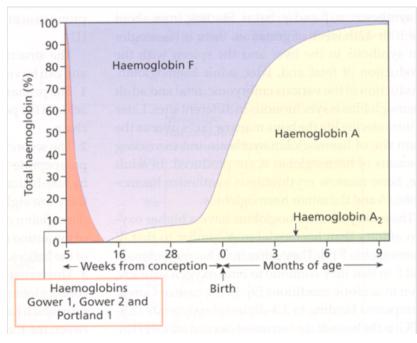






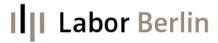
Normales Hämoglobin





B.Bain



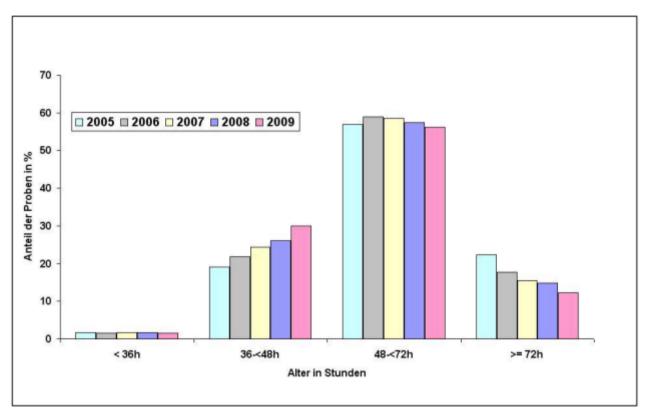






Neugeborenenscreening in Deutschland

Abbildung 2: Vergleich: Alter bei Blutentnahme 2005 bis 2009

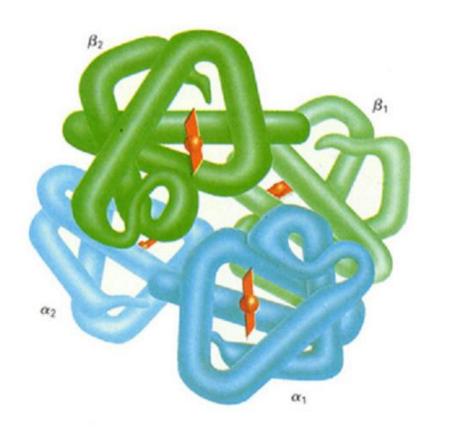


Screeningreport DGNS 2009





Normales Hämoglobin



HbA ₀	α2 β2	
HbA ₂	$\alpha_2 \delta_2$	
HbF	α2 γ2	

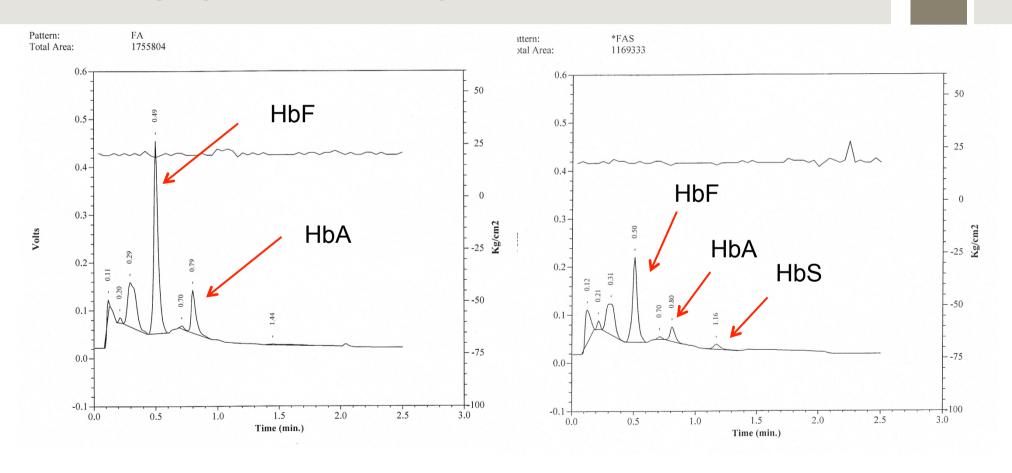






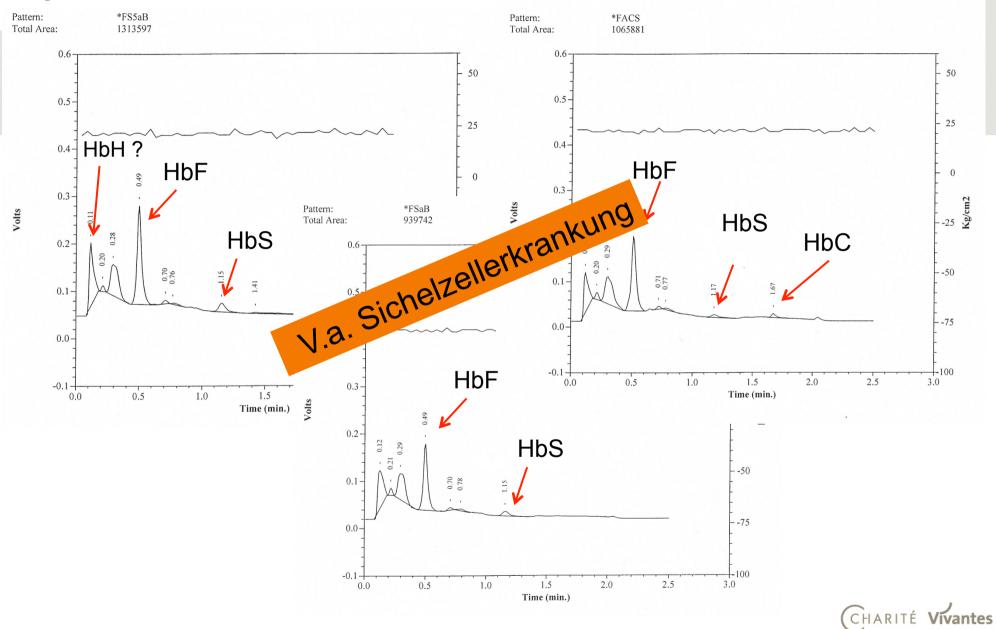
Berliner Neugeborenenscreening-Studie

vorläufige Ergebnisse aus ca. 7000 analysierten Trockenblutkarten





III Labor Berlin





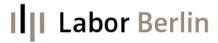




Limitationen Neugeborenenscreening

- Identifizierung bereits Betroffener, keine Primärprävention
- β-Thalassämie- und α-Thalassämie- Träger werden i.d.R. nicht erfasst
- aber auch schwerere Formen der Thalassämie können, wenn auch selten, dem Screening entgehen (falsch-negative)
- sog. stumme Hämoglobinvarianten verursachen unnötige Recalls (falsch positive)
- Träger von Hämoglobinvarianten wie HbS werden identifiziert, strittig ist, ob dies berichtet werden soll oder nicht
- Qualität der Probe
 - Abnahmezeitpunkt der Proben ,
 - (Gestations-) Alter der Kinder,
 - Transfusion
- Immer Bestätigungsdiagnostik nötig,
- z.T. hochaufwendige Methodik zur Enddiagnostik









8 Jahre Neugeborenenscreening in California/USA

	Gesamt	auffällig	Inzidenz	
	Geburten 530 000/Jahr	2118 in 8 Jahren =265/Jahr	SCD 15,2/100 000 = 60/Jahr, heterozygote HbS 825/100 000	alle Hb-Varianten ca. 1340/100 000
Methode	(HPLC)			
Besonder- heiten	113 Fälle vom i Screening abw bestätigte Diag	eichende,	57 schwer → benigne 37 benigne → benigne/selten 18 Verdacht Erkrankung →andere signifikante Diagnose	Insgesamt 25 seltene Genotypen
	563 transfundie Träger HbVaria	•	2 übersehen: 1beta-Thal major und 1HbSC+HbH unter Transfusion	

Pediatr Blood Cancer, Michlitsch et al. 2009









8 Jahre Neugeborenenscreening in California/USA

seltene Genotypen

TABLE II. Rare or Previously Undescribed Genotypes Discovered on Confirmatory Testing*

Heterozygous/homozygous alpha chain variants

Hb AS/G-Philadelphia

Hb Hasharon (4)

Hb Ogi/Queens

alpha deletion/Q-Thailand point mutation

Alpha 9 (A7) Asn-Lys substitution

Compound heterozygotes for Hb S and rare beta-chain variants:

Hb S/Austin

Hb S/Fannin-Lubock

Hb S/G-San Jose

Hb S/Hofu

Hb S/J-Kaohsiung

Hb S/N-Baltimore

Compound heterozygotes for beta-thalassemia and rare beta-chain

variants

Beta thalassemia/Hb E-Saskatoon

Other compound heterozygous beta-chain variants

Hb C/G-Galveston

Hb E/Hope

Homozygous beta chain variants

Homozygous Hb J-Honolulu

Homozygous Hb Riadh

Heterozygous beta chain variants

Hb J-Honolulu

Hb J-Kaohsiung

Hb Khartoum

Gamma chain variants^a

Other variants

Hb Bart's/Portlandb

^{*}With the exception of Hb Bart's/Portland, these rare genotypes are associated with benign phenotypes; aGamma variants are not further characterized as they are not clinically significant; bAn embryonic hemoglobin, ζ₂γ₂.









Screening der Träger von Hämoglobinopathien

Antenatales Screening:

- integriert in Schwangerenvorsorge,
- Untersuchung erfolgt bei Feststellung der Schwangerschaft und in niedrig-Prävalenz-Regionen nach Herkunft aus Risikoländern als gerichtetes Screening
- Genetische Beratung der Paare und Angebot der PND (informed choice)
- Daher zeitnahe abschließenden Diagnostik nötig (<12. Wo)

Präkonzeptionelles Screening (Prämaritales oder Schul-Screening)

- Zeitdruck für die Diagnostik geringer
- Information und Aufklärung ohne unmittelbaren Zeitdruck für Entscheidung
- jedoch hoher organisatorischer Aufwand, in Deutschland keine etablierten Strukturen und soziokulturelle Voraussetzungen







Family Origin Questionnaire



Screening Programmes

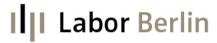
f	using a pre-printed label please attach one to each copy	Sickle Cell & Thalassae		
	Hospital Name	declined? Yes	declined	
	Post Code	No 🗆		
	REPORT DESTINATION (eg Community Midwife, GP, Antenatal Clinic, Obstetrician)			
	hat are your family origins?			
	ease tick all boxes in ALL sections that apply to the woman and the AFRICAN OR AFRICAN-CARIBBEAN (BLACK) Caribbean Islands Africa (excluding North Africa)	ne baby's father Woman	Baby's father	
	Any other African or African-Caribbean family origins (please write in)			
3.	SOUTH ASIAN (ASIAN) India or African-Indian Pakistan Bangladesh	Woman	Baby's father	
Ξ.	SOUTH EAST ASIAN (ASIAN) China including Hong Kong, Taiwan, Singapore Thailand, Indonesia, Burma Malaysia, Vietnam, Philippines, Cambodia, Laos	Woman # # # #	Baby's father	
	Any other Asian family origins (please write in) (e.g. Caribbean-Asian)			
٥.	OTHER NON-EUROPEAN (OTHER) North Africa, South America etc Middle East (Saudi Arabia, Iran etc) Any other Non-European family origins	Woman	Baby's father	
	(please write in) SOUTHERN & OTHER EUROPEAN (WHITE)	Woman	Baby's father	
	Greece, Turkey, Cyprus Italy, Portugal, Spain Any other Mediterranean country Albania, Czech Republic, Poland, Romania, Russia etc	# # # # # # # # # # # # # # # # # # #	# # # 	
	UNITED KINGDOM (WHITE) refer to chart at the back England, Scotland, N Ireland, Wales	Woman	Baby's father	
3.	NORTHERN EUROPEAN (WHITE) refer to chart at the back Austria, Belgium, Ireland, France, Germany, Netherlands Scandinavia, Switzerland etc	Woman	Baby's father	
	Any other European family origins, refer to chart (please write in) (e.g. Australia, N America, S Africa)			
	Hb Variant Screening Requested by (F) and/ or (G) Higher risk for alpha zero thalassaemia			
١.	DON'T KNOW (incl. pregnancies with donor egg/sperm) DECLINED TO ANSWER ESTIMATED DELIVERY DATE (please write in if not above) GESTATION AT TIME OF TEST	Woman	Baby's father	





- Fragebogen des Screeningprogramms in Großbritannien
- Entscheidungsgrundlage für gerichtetes Screening in Niedrig-Prävalenz-Regionen









Screeninguntersuchung - bei klinischem Verdacht

Screening mittels

- Blutbild (ggf. mit Retikulozyten),
- Auftrennung von Hämoglobinspezies (Elektrophorese, Isoelektrische Fokussierung, HPLC und Kapillarelektrophorese u.a.),
- Eisenstoffwechseldiagnostik,

Weitere Diagnostik

- Bestätigungstest bei Nachweis von Hämoglobinvarianten
 - Zweit-Methode
- Genetische Diagnostik
- Zusatzuntersuchungen:
 - HbH-Innenkörper (alpha-Thalassämie)
 - P50 (Hb-Varianten mit veränderter Sauerstoffaffinität)
 - Isopropanoltest (instabile Hb-Varianten) und weitere
 - Massenspektrometrie
 - Proteinsequenzierung









Quo vadis? Screening auf Hämoglobinopathien in Deutschland

- Epidemiologische Daten gewinnen
- Patienteninitiativen stärken und Betreuung verbessern
- Screeningstrategien auf Evidenz gründen
 - Neugeborenenscreening
 - Antenatales Screening
 - Optimierung der Diagnostik bei klinischem Verdacht bzw. hämatologischen Auffälligkeiten
 - Vermeidung der Kostenexplosion durch unnötige molekulargenetische Untersuchungen
 - Entwicklung von Leitlinien auch für die Diagnostik





Dr. med. Claudia Frömmel

Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH Charité – Universitätsmedizin Berlin Institut f. Labormedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin

Tel. 030-450-669161 claudia.froemmel@laborberlin.com claudia.froemmel@charite.de

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!



III Labor Berlin





Quo vadis? Screening auf Hämoglobinopathien in Deutschland

- Epidemiologische Daten gewinnen
- Patienteninitiativen stärken und Betreuung verbessern



















Warum Screening auf Hämoglobinopathien?

- Mortalität durch Infektionen und Sepsis in den ersten 5 Lebensjahren kann durch Penicillinprophylaxe und Pneumokokkenimpfung gesenkt werden
- Morbidität durch Patienteninformation ggf. transkranielle Doppleruntersuchungen zur Vermeidung von Hirninfarkten, Infektionen. Milzsequestration, Thrombosen,









Kostenzusammensetzung

- Kostenfaktoren
 - regelmäßige Transfusionen und
 - Chelattherapie zur Vermeidung einer Eisenüberladung
 - Behandlung von Folgeerkrankungen einer Eisenüberladung
 - Behandlung von Komplikationen bei Sichelzellanämie
 - Hirninfarkte
 - · Z.n. Sepsis
 - Splenektomie
 - Hospitalisierung bei Krisen
- Kostenschätzung UK i. J. 2000 (?):
 - Ca. 6000 € SCD und 10 000€ β-Thal. major pro Jahr
 - Screeningkosten ca.3000€ /Fall

