

RhD-Positief of RhD-negatief?

Auteurs S.J.M. Rouwette, R.J.M.H.E. Straat, E.A.M. Beckers, Y.M.C. Henskens

Trefwoorden RhD discrepantie, RhD variant DFR

Samenvatting

Een zwangere vrouw meldt aan haar gynaecoloog in het Maastricht Universitair Medisch Centrum⁺ (MUMC⁺) dat het resultaat van haar bloedgroep-typering, O RhD-negatief niet juist is. Haar bloedgroep is elders, meerdere malen, O RhD-positief bepaald en zij heeft RhD-positieve bloedproducten ontvangen.

De RhD-bepaling bij het MUMC⁺ (Bio-rad, kolomtechniek) laat een negatief resultaat zien, terwijl

de RhD-bepaling elders (Ortho, kolomtechniek) een positief testresultaat (3+) liet zien. Uit vervolgonderzoek blijkt het hier te gaan om een RhD-DFR variant. Deze vrouw dient als zwangere en als ontvanger van bloedproducten als RhD-negatief beschouwd te worden. De patiënte heeft ondanks transfusie van zeven RhD-positieve erythrocytenconcentraten en drie RhD-positieve trombocytenconcentraten, geen anti-D gevormd.

(Tijdschr Bloedtransfusie 2012;5;85-89)

Inleiding

Bij de RhD-bloedgroepbepaling van ontvangers van bloedproducten en zwangeren kan volgens geldende richtlijnen volstaan worden met het gebruik van één anti-D reagens, mits de RhD VI-variant als RhD-negatief wordt aangetoond.¹

De discrepantie tussen de laboratoria van het RhD-antigeen kan veroorzaakt worden door een kwantitatieve of kwalitatieve variatie van het RhD-antigeen en verschillen in gevoeligheid van de gebruikte reagentia. Bij een kwantitatieve variatie is er sprake van een verminderd aantal RhD-antigenen op de cel, terwijl bij een kwalitatieve variatie het RhD-antigeen een of meer epitopen mist.

Het transfusiëlelaboratorium van het MUMC⁺ werd in 2010 geconfronteerd met een RhD-discrepantie. Een zwangere vrouw meldt dat haar bloedgroep (O RhD-negatief, MUMC⁺) niet juist is. Haar RhD-factor is elders positief bepaald en de patiënte heeft verschillende RhD-positieve bloedproducten ontvangen. Er wordt hier een casus gepresenteerd waarbij een RhD-discrepantie ontdekt wordt door een oplettende patiënte. Het verrichte laboratoriumonderzoek naar de kwantitatieve en kwalitatieve variatie van het RhD-antigeen wordt verder toegelicht.

Materiaal en methoden

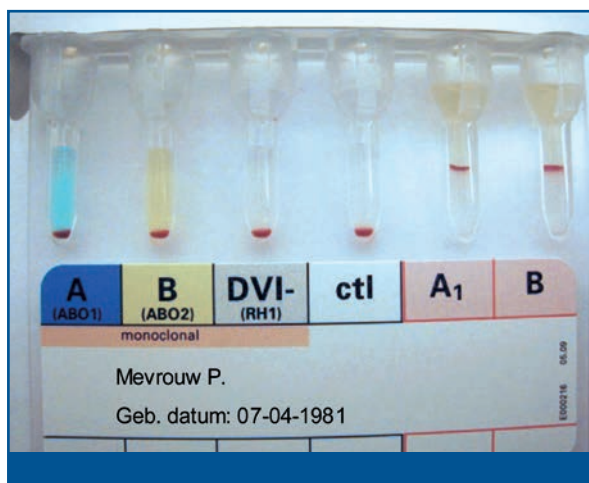
MUMC⁺

Het MUMC⁺ gebruikt als standaard methode de 'Type en Screen'-procedure met de Diaclon ABO/

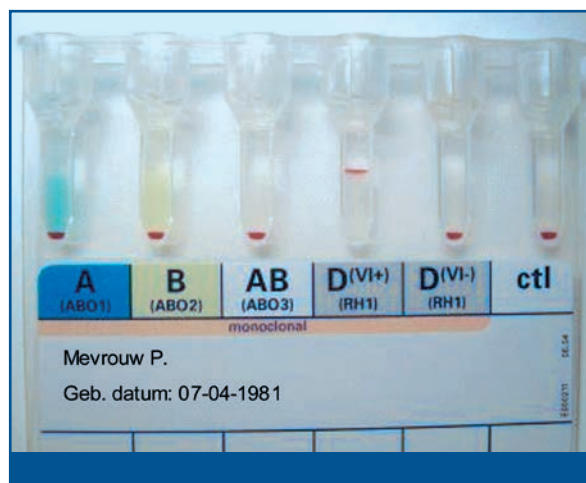
D-kaart en 'reversing groups' van Bio-rad uitgevoerd door de bloedgroepenanalyse WA-Diana. Het onderzoek naar RhD-varianten wordt alleen uitgevoerd indien: RhD-positieve patiënten een anti-D gevormd hebben, de reactiesterkte van de RhD-bepaling zwak-positief, 1+, 2+ is, of indien er een discrepantie wordt gevonden tussen antisera of testresultaten (binnen het laboratorium of tussen laboratoria).

Het onderzoek bestaat dan uit de volgende bepalingen:

1. De Diaclon ABO/D-kaart van Bio-rad (Zwitserland), deze bevat een extra monoclonaal anti-D (DVI+) die onder andere de RhD VI-variant aantoont.
2. De ABO-Bloedgroep en RhD-bepaling wordt ingezet met de buisjesmethode. De volgende antisera van Sanquin Reagentia worden ingezet: monoclonaal anti-A, anti-B, anti-D, anti-D enhanced, enhanced controle, A1- en B-cellen. Het monoclonaal anti-D serum (IgM) detecteert alle normale RhD-antigenen, de meeste zwakke RhD-antigenen, maar niet de RhD VI-varianten. Het enhanced anti-D serum is een monoclonaal antisera (combinatie van IgM en IgG) welke alle normale RhD-antigenen, alle zwakke RhD-antigenen en de meeste RhD VI-varianten aantoont.
3. De 'Extended partial RhD Typing set' van Bio-rad. Dit panel bestaat uit 12 verschillende monoclonale anti-D sera, die getest worden in de indirecte antiglobulinetest (Bio-rad LISS-kolomtechniek). Met deze kit kunnen veel bekende RhD-varianten



Figuur 1. De standaard ABO- en RhD-bepaling in het MUMC⁺ met behulp van een Diaclon ABO/D en een 'reversing groups'-kaart bij een 29-jarige zwangere vrouw, waarbij een negatief testresultaat waarneembaar is met het monoonaal RhD-VI-.



Figuur 2. ABO- en RhD-bepaling in het MUMC⁺ met behulp van een Diaclon ABO/D-kaart bij een 29-jarige zwangere vrouw, waarbij een positief testresultaat waarneembaar is met het monoonaal RhD-VI+ en een negatief testresultaat waarneembaar is met het monoonaal RhD-VI-.

als ook zwakke RhD-antigenen getypeerd worden. 4. Indien er in bovenstaande geen duidelijk patroon wordt gevonden of het gevonden patroon komt overeen met een RhD-variant, stuurt het MUMC⁺ materiaal ter bevestiging naar Sanquin Diagnostiek.² Indien het patroon overeenkomt met een zwak RhD-antigeen, wordt de RhD-

bepaling geïnterpreteerd als RhD-positief en wordt indien nodig RhD-positief bloed getransfundeerd. Een uitzondering bij een gevonden zwak RhD-antigeen wordt gemaakt bij vrouwen jonger dan 45 jaar. Materiaal wordt ter bevestiging ingestuurd naar Sanquin Diagnostiek. Dit om ook genotypisch een RhD-variant uit te sluiten.

DiaMed-ID Micro Typing System **Extended Partial RhD Typing Set** CE

Interpretationstabelle / Interpretation table / Tableau d'interprétation
Tabella di interpretazione / Tabla de interpretación / Tabela de interpretação

| Anti-D ALBAclone® | Nr. | DII/ DNU | DIII | DIV (1) | DV (2) | DCS | DVI | DVII | DOL | DFR | DAR (3, 5) | DAR-E (3) | DHK / DAU-4 (4) | DBT | DHAR | Weak D (5, 6) | Reaktionen Réactions Reazioni Reacciones Reacções |
|----------------------|-----|-------------|------|------------|-----------|-----|-----|------|-----|-----|---------------|--------------|-----------------------|-----|--------|------------------|---|
| LHM76/58 | 1 | + | + | + | +/- | + | - | + | + | + | + | - | - | - | weak/- | + | 4+ |
| LHM76/59 | 2 | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + | 4+ |
| LHM174/102 | 3 | + | + | +/- | +/- | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| LHM50/2B | 4 | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + | 4+ |
| LHM169/81 | 5 | + | + | - | +/- | + | - | + | + | + | - | - | - | - | - | + | 4+ |
| ESD1 | 6 | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + | 4+ |
| LHM76/55 | 7 | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + | 4+ |
| LHM77/64 | 8 | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | +/- | - | - | + | 4+ |
| LHM70/45 | 9 | + | + | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | weak/- | - |
| LHM59/19 | 10 | + | + | + | + | +/- | - | - | - | - | - | + | + | + | - | + | (+) |
| LHM169/80 | 11 | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | - | - | - | - | + | 4+ |
| LHM57/17 | 12 | + | + | + | +/- | - | - | + | + | - | + | - | - | + | - | + | - |

Anmerkingen siehe umseitig / Remarks see overleaf / Voir les remarques au verso
Per le note consultare il retro / Ver observaciones en el reverso / Ver observações no verso

Figuur 3. Het gevonden reactiepatroon van de 'Extended Partial' D-kit bij een 29-jarige zwangere vrouw, waarbij het gevonden patroon met de twaalf monoonaal anti-D sera niet overeenkomt met de aantoonbare varianten.

Tabel 1. Reacties van erythrocyten met monoclonale antistoffen gedefinieerd met het negen epitopenmodel uit Human Blood Groups (Geoff Daniels).

| | Detecteerbare D-epitopen | | | | | | | |
|------|--------------------------|------|------|------|------|--------|------|------|
| | epD1 | epD2 | epD3 | epD4 | epD5 | epD6/7 | epD8 | epD9 |
| II | + | + | + | 0 | + | + | + | 0 |
| IIIa | + | + | + | + | + | + | + | + |
| IIIb | + | + | + | + | + | + | + | + |
| IIIc | + | + | + | + | + | + | + | + |
| IVa | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | 0 |
| Ivb | 0 | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + |
| Va | 0 | + | + | + | 0 | + | + | + |
| VI | 0 | 0 | + | + | 0 | 0 | 0 | + |
| VII | + | + | + | + | + | + | 0 | + |
| DFR | * | * | + | + | * | * | 0 | + |
| DBT | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | * | + | 0 |
| Dhar | 0 | 0 | 0 | 0 | * | * | 0 | 0 |

*=Cellen positief (+) met sommige antistoffen, negatief (0) met andere.

Ander Ziekenhuis

Bloedgroep wordt standaard bepaald met de ABO-Rh/ 'Reverse grouping cassette' (Ortho BioVue systeem, Verenigde Staten).

Historische gegevens van de patiënt

Een 29-jarige vrouw met in de voorgeschiedenis meerdere transfusies ten gevolge van cardio thoracale chirurgie, presenteert zich nu als zwangere (gravida 1, para 0) in het MUMC⁺. Bij deze patiënte werd in 2010 tweemaal een bloedgroep aangevraagd en uitgevoerd in het MUMC⁺ welke beide keren in de uitslag O RhD-negatief resulteerden. Om een patiëntenverwisseling uit te sluiten en nader onderzoek (variatie in RhD-antigeen) te verrichten, wordt een nieuw bloedmonster van de patiënte afgenomen. Daarnaast worden de gegevens van het andere ziekenhuislaboratorium opgevraagd.

Uit informatie van het ziekenhuis elders blijkt dat zij in de periode 1987-2010 meerdere malen getypeerd is als bloedgroep O RhD-positief. De reactiesterkte van het RhD-antigeen in 2010 elders bepaald was 3+, van voorgaande analyses is dit niet achterhaald. Vanaf 1998 zijn zeven RhD-positieve erythrocytenconcentraten (EC) en drie RhD-positieve trombocytenconcentraten (TC) getransfundeerd. De screening op irregulaire antistoffen was zowel voor als na transfusie negatief.

Resultaten

De ABO-bloedgroep en RhD-bepaling in het MUMC⁺ van het nieuwe materiaal laat opnieuw een patroon zien dat past bij bloedgroep O RhD-negatief (zie *Figuur 1*, op pagina 86). Ook de screening op irregulaire antistoffen is wederom negatief. Het vervolgonderzoek naar een variant RhD laat de volgende resultaten zien:

1. Het monoclonale anti-D serum (Bio-rad, DVI+) laat een positief testresultaat zien (zie *Figuur 2*, op pagina 86).
2. De buisjesmethode (Sanquin) laat met monoclonale anti-D serum een negatief testresultaat zien. Het enhanced anti-D serum laat een 1+ reactie bij kamertemperatuur zien.
3. Het gevonden patroon van uitgebreide typering kit van Bio-rad duidt op een RhD-variant. Het gevonden patroon komt echter niet goed overeen met de bijbehorende varianten waardoor er nog geen variant benoemd kan worden (zie *Figuur 3*, op pagina 86).
4. Sanquin Diagnostiek bevestigt dat het hier om een RhD-variant gaat en typeert deze serologisch en genotypisch als een RhD-variant DFR.

De patiënt kan antistoffen vormen tegen de epitopen die op haar RhD-antigeen ontbreken en dient als zwangere en als ontvanger van bloedproducten als RhD-negatief beschouwd te worden. In de 30e week



Aanwijzingen voor de praktijk

Onderzoek naar RhD-varianten zou door de laboratoria uitgevoerd dienen te worden bij:

1. RhD-positieve patiënten die een anti-D gevormd hebben.
2. De reactiesterkte van de RhD-bepaling zwak-positief, 1+, 2+ is.
3. Er een discrepantie wordt gevonden tussen antisera of testresultaten (binnen het laboratorium of tussen laboratoria).

van de zwangerschap werd onderzoek naar de aanwezigheid van RhD-antistoffen (screening was wederom negatief) verricht en werd een ampul anti-D toegediend. De patiënte bevalt van een gezonde dochter welke getypeerd wordt als A RhD-positief, de 'Extended partial RhD Typing set' van Bio-rad laat een patroon passend bij volledig RhD-antigeen zien. De patiënt ontvangt de postnatale anti-D profylaxe.

Beschouwing

De geldende richtlijn geeft aan dat in verband met de kans op vorming van anti-D, men dient te voorkomen dat patiënten die RhD-negatief zijn ten onrechte RhD-positief worden genoemd.¹ In het ziekenhuis wordt hierbij onderscheid gemaakt tussen ontvangers van bloed en pasgeborenen. Voor de RhD-bloedgroepbepaling van ontvangers van bloed kan volstaan worden met één anti-D reagens mits de RhD VI-variant als RhD-negatief wordt aangetoond. Dit geldt ook voor zwangeren in het geval van RhD-bepaling in het kader van het preventie programma van hemolytische ziekte van de pasgeborene. In deze casus werd toch een RhD DFR-variant aangetoond (reagentia Bio-rad) bij een zwangere patiënte die voorheen meerdere malen RhD-positief was bevonden in een ander ziekenhuis (reagentia Ortho). Het monoclonaal anti-D Rh-DVI dat gebruikt wordt bij de standaard bloedgroepbepaling van Bio-rad en Ortho, bevat een antistof gericht tegen epitoom 6/7 van het RhD-antigeen. Dit epitoom bestaat uit verschillende epitopen, waarvan een deel wel aanwezig is bij DFR en een deel niet (zie *Tabel 1*, op pagina 87).^{3,4} Navraag bij Bio-rad leerde dat de gebruikte cellijnen een negatief testresultaat laat zien bij een RhD DFR-variant, dit in tegenstelling tot de gebruikte cellijnen van Ortho. Aangezien er antistoffen gevormd kunnen worden tegen het ontbrekende deel van het RhD-antigeen, dienen bij voorkeur alle RhD-varianten bij ontvanger

en zwangere beschouwd te worden als RhD-negatief. De richtlijn adviseert voor de laboratoriumbepaling echter alleen de RhD VI-variant als verplicht negatief bij ontvangers. Bij deze casus waarbij zeven RhD-positieve EC en drie RhD-positieve TC-getransfundeerd zijn, zijn geen antistoffen gevormd. In de literatuur wordt wel antistofvorming beschreven bij de RhD-variant DFR.⁴

De door het MUMC⁺ gehanteerde procedure bij deze patiënt in de vruchtbare leeftijd heeft geleid tot een wijziging in de RhD-bloedgroep en heeft gevolgen gehad voor het medisch handelen. Na de bloedgroep wijziging komt de patiënte in aanmerking voor RhD-profylaxe tijdens de zwangerschap.

Conclusie

In deze casus werd een RhD-variant DFR aangetoond bij een zwangere patiënte. Onderzoek naar deze variant werd ingezet nadat de patiënt zelf een discrepantie (voorheen RhD-positief nu RhD-negatief) in de bloedgroep tussen twee ziekenhuislaboratoria herkende en benoemde bij de behandelend arts. De gevonden verschillen tussen de twee ziekenhuislaboratoria worden veroorzaakt door verschillen in de monoclonale antistoffen tussen twee firma's. De richtlijn geeft aan dat het voldoende is om de RhD VI-variant negatief te bepalen en beide firma's voldoen hieraan. Ontvangers met een RhD-variant die als RhD-positief bepaald worden, lopen bij transfusie met een RhD-positief erythrocytenconcentraat het risico om antistoffen te maken tegen de bij hen ontbrekende delen van het RhD-antigeen. De kans hierop en de bijkomende kans op hemolytische ziekte van de foetus en de pasgeborene, is met name aanwezig bij ontvangers met de RhD VI-variant. De RhD VI-variant heeft een voorkomen van 1:5.000 tot 1:6.800 ten opzichte van de RhD DFR-variant van 1:60.000 in de Kaukasische bevolking. De reagentia die gebruikt worden voor de RhD-bepaling voor

ontvangers en zwangeren dienen daarom alleen de RhD VI-variant als negatief te bepalen en niet de overige RhD-varianten waaronder de DFR. Bovendien zijn er nog geen gevallen van de hemolytische ziekte van de pasgeborenen beschreven door een andere variant dan de RhD VI-variant. Deze patiënt heeft ondanks transfusie van zeven RhD-positieve EC en drie RhD-positieve TC geen anti-D gevormd. Toch zal zij vanaf nu als zwangere en als ontvanger van bloedproducten als RhD-negatief beschouwd te worden.

Referenties

1. Richtlijn Bloedtransfusie 2011, 2011:73-5. Te raadplegen op: <http://www.cbo.nl/thema/Richtlijnen/Overzicht-Richtlijnen/Bloedtransfusie> (geraadpleegd op: 03 juni 2012).
2. Nigten J, Orij Westerhof DS, Noordzij CH, et al. Zwak- of variant-RhD-antigeen: eenvoudig serologisch te bepalen in eigen laboratorium. *Tijdschr voor Bloedtransfusie*. 2011;04:127-31.
3. Daniels G. *Human blood groups*. 1995. Blackwell Science Oxford. Hoofdstuk 5.
4. Lomas C, Grässmann W, Ford D, et al. FPTT is al low-incidence Rh antigen associated with a "new" partial Rh D phenotype, DFR. *Transfusion* 1994;43(7):612-16.

Ontvangen 03 juni 2012, geaccepteerd 20 augustus 2012.

Correspondentieadres

Mw. S.J.M. Rouwette, senior speciaal analist
bloedtransfusie
Dhr. R.J.M.H.E. Straat, senior speciaal analist
bloedtransfusie
Dhr. dr. E.A.M. Beckers, internist-hematoloog
Mw. dr. ir. Y.M.C. Henskens, klinisch chemicus

Maastricht Universitair Medisch Centrum
Centraal Diagnostisch Laboratorium
Postbus 5800
6002 AZ Maastricht
Tel.: 043 38 76 713
E-mailadres: s.rouwette@mumc.nl

Correspondentie graag richten aan de eerste auteur

Belangenconflict: geen gemeld.
Financiële ondersteuning: geen gemeld.

De Nederlandse Vereniging voor Bloedtransfusie

De Nederlandse Vereniging voor Bloedtransfusie (NVB) is opgericht op 12 december 1978. De vereniging heeft ten doel het bevorderen van de kwaliteit van de bloedtransfusiegeneeskunde in Nederland.

De NVB tracht dit doel te bereiken door het verzamelen en uitwisselen van informatie op het gebied van bloedtransfusiegeneeskunde, het vastleggen en uitgeven van deze kennis voor haar leden in de vorm van een vaktijdschrift (*Tijdschrift voor Bloedtransfusie*) en het beleggen van bijeenkomsten (o.a. het jaarlijkse NVB Symposium Transfusiegeneeskunde). Zij onderhoudt tevens contacten met andere instanties en verenigingen op het gebied van de bloedtransfusiegeneeskunde in binnen- en buitenland. De NVB tracht bovendien de belangen van haar leden - zowel collectief als individueel - te behartigen.

Het lidmaatschap van de NVB staat open voor een ieder die werkzaam is op, dan wel geïnteresseerd is in het gebied van de bloedtransfusiegeneeskunde in de ruimste zin van het woord. De NVB telt op dit moment ongeveer 700 leden. Aanmelding kan bij de ledenadministratie van de NVB of via de website: www.nvbtransfusie.nl

Samenstelling van het bestuur:
Dr. J.J. Zwaginga, voorzitter
Dr. L.C.M. van Pampus, vice-voorzitter
J.A.S. Hoeks, secretaris
Drs. J.W. Smeenk, penningmeester
Dr. M. de Haas, lid
Dr. J.W.P.H. Soons, lid
Dr. P.A.W. te Boekhorst, lid

Toegevoegd aan het bestuur:
M. Smelt,
hemovigilantieplatform NL
Drs. A.G. van den Bos,
hoofdredacteur TvB
Prof. dr. A. Brand,
commissie opleidingen
Dr. M.G.J. van Kraaij,
commissie wetenschap
Dr. V.M.J. Novotný,
adviseur

Ledenadministratie:
Sanquin Bloedbank regio Noordoost
t.a.v. dhr. A. Heethuis
Postbus 1191
9701 BD Groningen
E-mail: ledenadministratie@nvbtransfusie.nl