

Janine Reichenbach¹, Jana Pachlopnik Schmid¹, Matthias Baumgartner², Ralph Fingerhut³

Neugeborenen-Screening für schwere angeborene Immundefekte

In der Schweiz wurde am 1.1.2019 das Neugeborenen-Screening (NGS) auf schwere angeborene Immundefekte (schwerer kombinierter Immundefekt [SCID] und schwere T-Zell-Lymphopenie) eingeführt. Nachfolgend eine Übersicht über die Untersuchungen und das Vorgehen.

Screening-Methode

Das Screening auf diese Krankheiten erfolgt in der Schweiz durch eine Quantifizierung von T-cell receptor excision circles (TREC, s.u.) [1] und Kappa-deleting recombination excision circles (KREC) [2] aus den Trockenblutkarten des NGS mittels quantitativer Polymerase-Kettenreaktion. TREC sind kleine ringförmige DNA-Fragmente, die bei der somatischen Rekombination der Gensegmente des T-Zell-Rezeptor-Genlocus als Abfallprodukt entstehen. TREC werden von der Zelle nicht repliziert; somit erhält bei der Zellteilung nur eine der beiden Tochterzellen einen TREC.

Die Zahl der TREC im Blut korreliert sehr gut mit der Zahl der frisch entstehenden, naiven T-Lymphozyten. Damit sind sie geeignet, Defekte der T-Lymphozyten-Entstehung zu erkennen. Bei gesunden Neugeborenen werden TREC in grosser Zahl gebildet, bei Säuglingen mit SCID oder schwerer T-Zell-Lymphopenie sind TREC dagegen nicht oder kaum nachweisbar.

Analog zur Bildung von TREC entstehen KREC während der Reifung von B-Zellen durch somatische Rekombination des B-Zell-Rezeptor-Locus. Die KREC-Kopienzahl korreliert mit der Anzahl naiver B-Zellen. Mithilfe des Qualitätsmarkers Beta-Actin wird der methodische Erfolg der Messung von TREC/KREC-Kopien evaluiert und sichergestellt (Abb. 1).

Seit 1.1.2019 wurden im Schweizer Neugeborenen-Screening bereits 3 Kinder mit SCID, 2 Kinder mit DiGeorge-Syndrom (Mikrodeletion 22q11.2) und 2 Kinder mit anderen schweren Immundefekten detektiert.

Vorgehen bei abnormalen Screening-Resultaten

Abnormale TREC/KREC Befunde (TREC <10, KREC <6) werden vom Neugeborenen-Screening-(NGS)-Labor an die Ärzte des HSM-Zentrums Pädiatrische Immunologie des Universitäts-Kinderspitals Zürich gemeldet, die die Eltern des betroffenen Kindes sofort telefonisch informieren. Bei abnormalem TREC-Befund wird ein erster ambulan-

ter Kontrolltermin in der Abteilung für Immunologie innerhalb von max. 72 h nach abnormalem Testresultat vereinbart. Bei isoliert abnormalem KREC-Befund wird zunächst eine zweite Screening-Karte (Abnahme 14 Tage nach dem Erstbefund) angefordert. Folgende Fragen werden beim ersten Telefonat geklärt: mütterliche Medikation, mögliche Ursachen für sekundäre Lymphopenie (Sepsis, Fehlbildungen, Chylothorax, Syndrome).

Bei sogenannten dringend Positiven, d.h. Neugeborenen ohne TREC und damit hochgradigem v.a. SCID sollte die Erstkonsultation wenn immer möglich innerhalb von 24 bis 48 Stunden erfolgen. Für diese Neugeborenen wird im

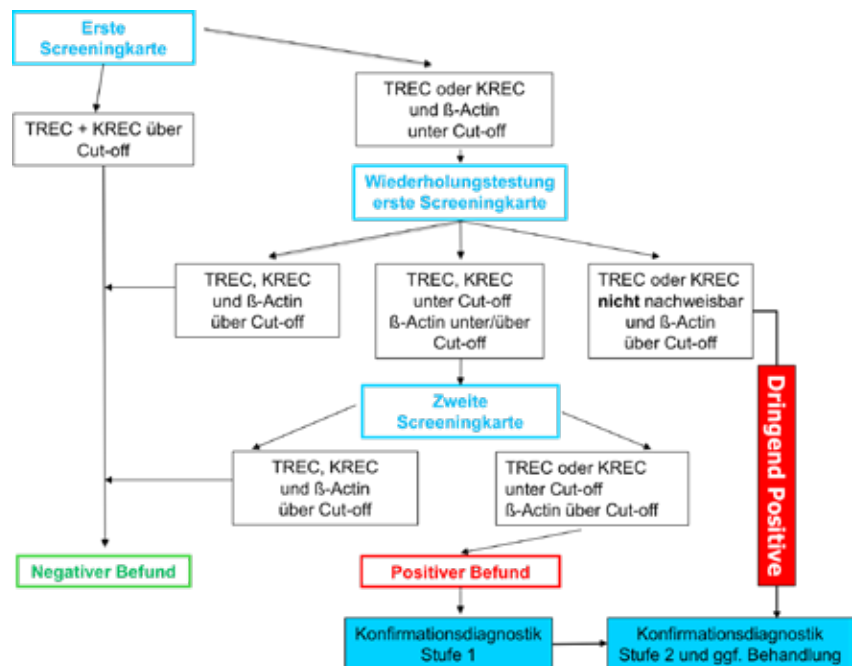


Abbildung 1. Entscheidungsbaum über den Ablauf der Reihenuntersuchung.

Definition «unter Cut-off»: TREC <10 Kopien/Stanzling, KREC <6 Kopien/Stanzling, beta-Actin <1000 Kopien/Stanzling (Qualitätskontrolle).

1 Abteilung für Immunologie,

Universitäts-Kinderspital Zürich

2 Abteilung Stoffwechsel, Universitäts-Kinderspital Zürich

3 Neugeborenen-Screening Schweiz



Spital eine protektive Isolation durchgeführt.

Bei abnormalem TREC-Resultat sollte der CMV-Status der Mutter (IgG und IgM im letzten Schwangerschafts-Trimenon) erfragt bzw. eine dringliche serologische Untersuchung bei der Mutter durchgeführt werden. Bei CMV-positiver Mutter sollte zunächst bis zum Erhalt der Ergebnisse aus der immunologischen Labor-Erstuntersuchung des Kindes (s. Konfirmationsdiagnostik, Tab. 1) nicht mehr gestillt werden, um eine CMV-Übertragung zu verhindern. Bei Kindern mit bestätigtem SCID oder bestätigter schwerer T-Zell-Lymphopenie darf generell die CMV-seropositive Mutter nicht mehr stillen. Es kann in Einzelfällen eine Hitzeinaktivierung der Muttermilch in Erwägung gezogen werden. Die CMV-seronegativen Mütter dürfen unabhängig vom CMV-Status des Kindes stillen.

In manchen Fällen kann ein abnormales TREC-Resultat erklärt werden durch andere Krankheiten wie z.B. Mikrodeletion 22q11.2 (DiGeorge-Syndrom), CHARGE-Syndrom, Down-Syndrom oder andere angeborene Krankheiten. Daher ist parallel die genetische Diagnostik (s. u.) wichtig, und die Erstuntersuchung der Patienten sollte wo immer möglich gemeinsam mit Ärzten für medizinische Genetik erfolgen. Sekundäre Ursachen für ab-

normale TREC-Resultate sind z.B. schwere Herzfehler mit herzchirurgischen Eingriffen oder Chylothorax [3, 4]. In allen anderen Fällen wird zur Folgediagnostik und Therapie der betroffenen Säuglinge das unten stehende Schema befolgt.

Bei isoliert abnormalem KREC-Befund werden die Eltern des betroffenen Kindes ebenfalls sofort über das HSM-Zentrum Zürich telefonisch kontaktiert, und es wird allfällige mütterliche Medikation erfragt, da bei mütterlicher Immunsuppression KREC erniedrigt sein können. Ein Kontrolltermin im nächstgelegenen Spital oder in der Kinderarztpraxis soll nach ca. 14 Tagen erfolgen, um eine zweite Guthrie-Karte zur Kontrolle der KREC-Werte abzunehmen. Bei erneut abnormalem KREC-Befund ist eine ambulante Kontrolle inkl. Blutentnahme im HSM-Zentrum vorgesehen.

Klinische Erstevaluation

Wenn immer möglich erfolgt die klinische Erstbeurteilung durch einen pädiatrischen Immunologen. Ausnahmen sind hospitalisierte termin- und frühgeborene Säuglinge, die nicht transportfähig sind. Hier kann in Rücksprache mit dem HSM-Zentrum Zürich die Erstbeurteilung durch einen erfahrenen Neonatologen erfolgen. Frühgeborene mit fehlenden TREC sind bis zum Beweis des Gegenteils (d. h. Ausschluss

Dépistage des immunodéficiences congénitales sévères chez le nouveau-né

La Suisse a mis en place au 1^{er} janvier 2019 le dépistage néonatal des immunodéficiences congénitales sévères (déficit immunitaire combiné sévère (DICS) et lymphopénie T sévère).

Le DICS et la lymphopénie T sévère provoquent un trouble de formation des lymphocytes T, qui peut être à l'origine d'infections menaçant rapidement le pronostic vital et d'une perturbation marquée de la croissance. En l'absence de traitement, le DICS et la lymphopénie T sévère peuvent conduire au décès. La transplantation de cellules souches permet de les traiter.

anderer Ursachen für fehlende TREC) als SCID zu betrachten und entsprechend zu behandeln. Bei Frühgeborenen mit erniedrigten, aber nachweisbaren TREC soll das SCID-NGS alle 14 Tage wiederholt werden bis zur korrigierten SSW 37, in der dann die Diagnostik laut Tabelle 1 durchgeführt wird. Falls beim Neugeborenen anamnestisch syndromale Auffälligkeiten bestehen, soll bereits die immunologische Erstkonsultation zusammen mit einem Arzt für klinische Genetik erfolgen. Zusätzlich zur klinischen Beurteilung wird bei der Erstkonsultation eine frische Blutprobe für die Lymphozytenphänotypisierung entnommen. Diese wird zur stabilen Vergleichbarkeit der Ergebnisse wo immer möglich im Immunologie-Diagnostik-Labor des Universitäts-Kinderspitals Zürich durchgeführt und analysiert (siehe auch Fig. 2 in [5]).

Genetische Diagnostik: SCID-Gen-Panel und Agammaglobulinämie-Gen-Panel

Im Falle fehlender oder erniedrigter/abnormaler T-Zellen erfolgt über die medizinische Genetik ein Whole-Exome Sequencing (WES), um die zugrunde liegende Mutation zu identifizieren. Für die initiale Analyse wird dazu ein Panel mit aus der aktuellen Literatur bekannten Mutationen für SCID und schwere T-Zell- (und B-Zell-)Lymphopenien herangezogen. Resultate liegen innert 2–3 Wochen vor. Im Falle des klinischen V.a. DiGeorge-Syndrom (Mikrodeletion 22q11.2) bei Dysmorphien oder kardialen Anomalien wird zusätzlich ein SNP-Array durchgeführt. Werden dort keine Deletionen gefunden, wird zu-

Tabelle 1. Parameter Erste Labordiagnostik (Konfirmationsdiagnostik Stufe 1)

Folgende Parameter werden im ersten Schritt analysiert:	Bemerkungen	
Abnahme 2. Guthrie-Karte für: – Wiederholung TREC/KREC – CMV PCR Kind bei CMV pos. Mutter Abnahme von 1–2 ml EDTA Blut für: – Blutbild mit Differenzierung – Lymphozytenphänotypisierung: CD3+ T-Zellen, CD4+ und CD8+ T-Zellen, CD3/CD56/CD16+ NK Zellen und CD19+ B-Zellen T-Zell-Subpopulationen, inkl. CD45RA/CD45RO (%) naive T-Zellen – Gamma-H2AX-Test (z.A. Ataxia Teleangiëktatika) Abnahme von 0,5–1 ml Serum für: – IgG, IgA, IgM, IgE Urin für: – CMV PCR	Fehlende T-Zellen	≤ 200 naive CD4+ T-Zellen/µl Blut
	Niedrige oder abnormale T-Zellen	≤ 1500 CD3+ positive T-Zellen/µl Blut > 200 CD4+ naive T-Zellen /µl Blut
	Vorhandene und normale T-Zellen	> 1500 CD3+ positive T-Zellen/µl Blut > 200 CD4 naive T-Zellen/µl Blut

Abkürzungen: CD: cluster of differentiation; CMV: Cytomegalovirus; Ig: Immunglobulin.



sätzlich das TBX1-Gen im WES analysiert. Zusätzlich werden bekannte Mutationen in Genen untersucht, die zu sonstiger schwerer T-Zell-(oder B-Zell-) Lymphopenie führen können [4, 5]. Bei isoliert erniedrigtem KREC und daher postuliertem isoliertem B-Zell-Mangel kann die zusätzliche Untersuchung von Genen sinnvoll sein, die als Auslöser von Agammaglobulinämie oder Hypogammaglobulinämie bekannt sind.

Fehlende T-Zellen (SCID): Work-up, Prophylaxen und protektive Massnahmen

Im Falle fehlender T-Zellen (d.h. hochgradigen V.a. SCID) werden in einem zweiten Schritt zusätzliche diagnostische Tests durchgeführt (Konfirmationsdiagnostik Stufe 2), die auf standardisierten Protokollen beruhen [5–7]. Während der Vorbereitung auf die HSZT (Hämatopoetische Stammzell-Transplantation) werden protektive Massnahmen ergriffen (Tabelle 2). Einige dieser zusätzlichen diagnostischen Tests und protektiven Massnahmen können in Rücksprache mit der HSZT-Einheit des Universitäts-Kinderspitals Zürich durch die lokalen akademischen Zentren initiiert werden.

Korrespondenz
janine.reichenbach@kispi.uzh.ch

Tabelle 2. Empfohlene Prophylaxe und protektive Massnahmen bei erhärtetem V.a. SCID

Behandlung	Medikament oder Massnahme	Bemerkungen
PJP-Prophylaxe	Cotrimoxazol Leukovorin	Start ca. 14. Lebenstag (≤ 1 Monat), vor Start Bilirubin Bestimmung (muss $< 2 \times$ des oberen Normwertes sein). Nach Start: 1-2 wöchentliche Leberwert-Bestimmung (ASAT, ALAT, Bilirubin direkt)
Pilz-Prophylaxe	Amphotericin B p.o. (3×100 mg/Tag) oder Fluconazol 6 mg/kg (< 1 Mo: alle 48h, > 1 Mo: alle 24h)	Start Alter ≤ 1 Monat Nach Start: 1-2 wöchentliche Leberwert-Bestimmung (ASAT, ALAT, Bilirubin)
RSV-Prophylaxe	Palivizumab (15 mg/kg i.m.) alle 4 Wochen	Start Alter ≤ 1 Monat Während RSV-Saison
Generelle (antibakterielle) Prophylaxe	Immunglobulin-Substitution (IVIG oder SCIG) Alle 3–4 Wochen bei IVIG, wöchentlich bei SCIG	Start je nach IgG-Spiegel (ca. 1. Monat). Monitorisierung IgG Spiegel während Erstuntersuchung und unter Therapie Ziel: Erhalt IgG-Spiegel im altersentsprechenden Normbereich
Isolation	Protektive Isolation (bei Aufnahme ins Spital)	Einzelzimmer, Besucher und Personal tragen Maske/Überschürze, restriktive Besucherregelung
Stillempfehlungen s. Text		
Verbot aller Lebendvaccine	Kein/e Rotavirus, MMR, BCG, Varizellen, Gelbfieber oder orale Typusvaccine	
Blutprodukte	Blutprodukte immer bestrahlen	
Impfungen bei Angehörigen und Kontakten	Inaktivierte Influenza-Impfung (während Saison) Überprüfen der Immunität gegenüber MMR, Varizellen und Pertussis: Impfungen bei Angehörigen und Kontakten nachholen, wenn sie fehlen (und dokumentieren).	

Referenzen

- 1 Y. Morinishi et al., Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards. *J Pediatr* 155, 829-833 (2009).
- 2 N. Nakagawa et al., Quantification of kappa-deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation defects. *J Allergy Clin Immunol* 128, 223–225 e222 (2011).
- 3 A. Kwan et al., Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. *JAMA* 312, 729-738 (2014).
- 4 A. A. Mauracher et al., Causes of low neonatal T-cell receptor excision circles: A systematic review. *J Allergy Clin Immunol Pract* 5, 1457-1460 e1422 (2017).
- 5 M. J. Dorsey, J. M. Puck, Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in the United States: Lessons Learned. *Immunol Allergy Clin North Am* 39, 1-11 (2019).
- 6 L. M. Griffith et al., Improving cellular therapy for primary immune deficiency diseases: recognition, diagnosis, and management. *J Allergy Clin Immunol* 124, 1152-1160 e1112 (2009).
- 7 M. S. Thakar, M. K. Hintermeyer, M. G. Gries, J. M. Routes, J. W. Verbsky, A Practical Approach to Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency Using the T Cell Receptor Excision Circle Assay. *Front Immunol* 8, 1470 (2017).