

## Uit de laboratoriumpraktijk

# Dragerschapdiagnostiek en preventie van sikkelcelziekte en thalassemia major; aanbevelingen van de werkgroep Hemoglobinopathieën

P.C. GIORDANO, J.W. SMIT, M. HERRUER, W. HUISMAN, J.G.J. POWELS, N. VERHOEF, R.N. IDEMA en P. WIJERMANS\*

Informatie, dragerschapdiagnostiek en verwijzing van risicoparen naar genetische centra zijn de drie elementen aan de basis van de primaire preventie van de ernstige vormen van hemoglobinopathie (sikkelcelziekte en  $\beta$ -thalassemia major).

Ter verbetering van dragerschapdiagnostiek en informatie is in 2001 een werkgroep gevormd, die een inventarisatie naar het specifieke analytische potentieel in de Nederlandse laboratoria heeft verricht. Vanuit die inventarisatie is het duidelijk geworden dat laboratoriumdiagnostiek verbeterd moest worden.

Hiervoor is een standaard basisprotocol afgesproken binnen de VHL en geïntroduceerd, waarbij het uitwisselen van resultaten tussen de laboratoria onderling en/of de verwijzing naar ervaren laboratoria en referentiecentra werd gestimuleerd.

Tijdens een screeningonderzoek in 1998 was reeds geconstateerd dat waardevolle laboratoriumdiagnostiek vaak niet benut werd voor preventie, maar zonder partner- of familieonderzoek werd gearchiveerd.<sup>1</sup> In maart 2002 is een rapport uitgekomen waarin, naast de toepassing van een basisanalyseprotocol, het gebruik van informatieteksten bij positieve uitslagen van dragerschap werd geadviseerd. Dit om zowel de aanvragende arts als de patiënt op de hoogte te kunnen stellen van het eventuele erfelijkheidsrisico en de preventiemogelijkheden.

Drie jaar later zien wij dat vele laboratoria de aanbevelingen van de werkgroep volgen, met als merkbaar resultaat niet alleen een verbeterde diagnostiek op landelijk niveau, maar ook een toename van de aanmeldingen voor prenatale diagnostiek.

De werkgroep zal binnenkort in het kader van een Zon-Mw-project, toegekend aan het Referentie Laboratorium van het LUMC, opnieuw de stand van zaken inventariseren, om aanbevelingen aan de laboratoria en aan de Nederlandse Gezondheidszorg te

kunnen doen. Het doel is de verdere verbetering van preventie, met daarin een centrale rol voor basislaboratoriumdiagnostiek, waarmee alle significante hemoglobinopathievormen gediagnosticeerd kunnen worden op landelijk niveau.

Hemoglobinopathieën (HbP) zijn de meest voorkomende autosomaal recessieve ziekten bij de mens (1). Hoewel de structuur van de hemoglobinegenen al meer dan 20 jaar bekend is, heeft deze kennis nog niet tot een afdoende therapie geleid. Wel heeft de moleculaire kennis en de ontwikkeling van DNA-technieken prenatale diagnostiek en preventie mogelijk gemaakt. In dit traject is basislaboratoriumdiagnostiek, ter identificatie van dragers en het vervolg van risicoparen, een essentieel element (1, 2). Meer dan 20 jaar preventie heeft in landen aan de Middellandse Zee de geboorte van kinderen met een ernstige HbP tot aan eind jaren '90 sterk doen dalen (3-10). In de immigratielanden van Noord-Europa heeft de eerste lijn van de gezondheidszorg aan dit probleem onvoldoende aandacht besteed (11-24). Een uitzondering is Groot-Brittannië waar een actief beleid tot circa 50% preventie heeft geleid (25, 26). De ernstige vormen van HbP's (sikkelcelziekte en  $\beta$ -thalassemia major) zijn in Nederland inmiddels meer prevalent geworden dan bijvoorbeeld cystische fibrose (27).

### De meest voorkomende HbP's en hun genetisch risico

Storingen in de aanmaak (thalassemieën) of in de structuur (abnormale hemoglobines) van de verschillende globineketens veroorzaken hemoglobinopathie (HbP).

Het meest voorkomende structuurdefect is de HbS-mutant, de veroorzaker van sikkelcelziekte. Bij HbS is het glutaminezuur op positie 6 van de  $\beta$ -globineketen vervangen door een valine. Door deze aminozuursubstitutie, die vooral in Afrikaanse en Aziatische mensen voorkomt, ontstaat bij een lage zuurstofspanning polymerisatie van de Hb-moleculen, waardoor vormverandering van de erythrocyten optreedt tot zogenaamde sikkelcellen.

Vervanging van glutaminezuur op positie 6 in de  $\beta$ -keten door het aminozuur lysine leidt tot de vorming van HbC. Dit vaak voorkomende abnormale Hb is

Correspondentie: dr. P. C. Giordano, Klinisch Biochemisch Moleculair Geneticus, Hoofd Hemoglobinopathieën Laboratorium, LUMC, Leiden  
E-mail: p.c.giordano@lumc.nl

\*De Landelijke Werkgroep Hemoglobinopathieën van de Vereniging van Hematologisch Laboratoriumonderzoek. Website: [www.hbpinfo.com](http://www.hbpinfo.com)

typisch voor West-Afrikaanse bevolkingsgroepen en kan samen met HbS sikkelcelziekte veroorzaken.

Een andere frequent voorkomende mutant is HbE, die ontstaat door de aminozuursubstitutie glutamine → lysine op positie 26 van de β-globineketen. HbE, een typisch Aziatische mutant, kan zowel sikkelcelziekte als β-thalassaemia major veroorzaken in combinatie met respectievelijk HbS of β-thalassaemie.

Een andere belangrijke mutant is HbD<sup>Punjab</sup>, een variant die ontstaat door een glutamine → glutaminezuursubstitutie op positie 121 van de β-globineketen en die in combinatie met HbS sikkelcelziekte veroorzaakt. Dit abnormale Hb is heel frequent in Noord-India en komt vaak voor in vele populaties langs de zijderoute maar kan, vanwege de 'hot spot'-status van positie β121, ook onverwacht in Europeanen voorkomen.

HbO<sup>Arab</sup>, ook een mutatie op positie β121 maar dan een glutamine → lysinesubstitutie, kan in combinatie met HbS sikkelcelziekte veroorzaken, maar deze mutant is in Nederland zeldzaam.

Aanmaakdefecten, ofwel de thalassaemieën, zijn hoofdzakelijk verdeeld in β- en α-thalassaemie, al naar gelang het gen dat niet functioneert.

Heterozygotie voor β-thalassaemie (thalassaemia minor) veroorzaakt doorgaans alleen een milde microcytaire anemie. Bij β-thalassaemia major (homozygoot of dubbelheterozygoot) bestaat er vanaf 6 maanden na de geboorte een ernstige hemolytische anemie, extramedulaire erythropoëse en toenemende hepatosplenomegalie. Op den duur treedt door de intensieve transfusetherapie ernstige ijzerstapeling op. Orgaanbelasting leidt tot portale fibrose, endocriene insufficiëntie en decompensatio cordis.

Bij α-thalassaemie kan er sprake zijn van verstoorde expressie van een, twee, drie of vier α-genen, meestal veroorzaakt door deletiedefecten. Defecten van een of twee α-genen zijn zeer mild. Bij patiënten met drie defecte α-genen (HbH-ziekte) kan een matige tot intermediaire hemolytische anemie ontstaan, waarbij behoefte kan zijn aan bloedtransfusies.

Een α-thalassaemiedefect aan vier α-genen leidt tot perinatale sterfte (Hb-Bart's hydrops foetalis). Evenals in het geval van β-thalassaemie kan er ook bij α-thalassaemie sprake zijn van een combinatie met andere hemoglobinopathieën.

**Tabel 1.** Vaak voorkomende vormen van HbP en genetisch risico voor kinderen van ouders die beiden dragers zijn (risicoparen)

Genotype	Ziekte
β-thal / β-thal	β-thal. major of 'intermediate'
β-thal / HbE	β-thal. major of 'intermediate'
HbS / HbS	SCD
HbS / β-thal	SCD
HbS / HbD <sup>Punjab</sup>	SCD
HbS / HbC	SCD (milder)
HbS / HbE	SCD
HbS / HbO <sup>Arab</sup>	SCD
α <sup>0</sup> -thal / α <sup>0</sup> -thal	Hb-Bart's HF
α <sup>0</sup> -thal / α <sup>+</sup> -thal	HbH-ziekte

De behandeling van ernstige HbP is, met uitzondering van een geslaagde BMT, uitsluitend ondersteunend en zonder vooruitzicht op genezing (tabel 1) (28).

### Preventie van HbP in Nederland

Auto- en allochtonen samengeteld heeft Nederland minstens 180.000 dragers van HbP. De dragerschap-frequentie is laag bij de eerste groep (≈1:1.000) en hoog bij de tweede (≈1:15). De jonge allochtone populatie kiest doorgaans een partner binnen de eigen etnische groep en krijgt meer kinderen dan de gemiddelde autochtone populatie. Hierdoor zal in de twee komende decennia het allochtone aandeel van Nederland 20% van de totale populatie uitmaken (29).

Met name deze jonge populatie heeft recht op een preventiekeuze. Afgezien van het leed dat door patiënten en ouders wordt geleden, is de financiële belasting van de ondersteunende behandeling veel hoger dan de kosten van een preventiestrategie (30).

De voornaamste oorzaken van ontoereikende preventie zijn het gebrek aan informatie bij zowel de risicopopulatie als de eerste linie van de gezondheidszorg en onvoldoende basis voor dragersdiagnostiek. Vandaar ook deze publicatie.

### Totstandkoming van basisdiagnostiek

In 2001 is het initiatief in Leiden ontstaan om een landelijke werkgroep Hemoglobinopathieën (LWH) binnen de Vereniging voor Hematologische Laboratoriumdiagnostiek (VHL) te vormen.

Deze werkgroep had als doel het bevorderen van diagnostiek en preventie d.m.v. een aantal initiatieven:

- Landelijke inventarisatie van de basale laboratoriumdiagnostiek.
- Verbetering van specifieke laboratoriumdiagnostiek d.m.v. de introductie van een algemeen basaal protocol.
- Introductie van informatie bij positieve uitslagen van dragerschap, om de aanvragende arts over de daaropvolgende preventiestappen te informeren.
- Aanbevelingen t.b.v. preventie.

### Enquête

Het eerste initiatief van de werkgroep is een schriftelijke enquête geweest gericht aan alle laboratoria die in de almanak van de NVKC zijn vermeld.

De hoofddoelen van deze enquête waren het in kaart brengen van de analytische methoden die bij de diagnostiek van hemoglobinopathieën in Nederland werden gebruikt en het toetsen van de bereidheid om korte informatieteksten toe te voegen aan positieve uitslagen t.b.v. preventie.

De gestelde vragen waren:

- Wordt er in uw lab wel of geen basis-HbP-diagnostiek verricht?
- Zo ja, met welke methodiek?
- Hoe vaak per maand of per week met vermelding van het gemiddelde aantal?
- Is er belangstelling voor het toevoegen van informatie bij positieve uitslagen t.b.v. preventie, of wordt dit reeds toegepast?

## Resultaten van de enquête

*Respons.* Het enquêteformulier werd aan 119 laboratoria toegestuurd en na een tweede mailing hebben 108 laboratoria het formulier ingevuld geretourneerd. De respons op de enquête was dus 90,7%.

*Protocol.* Slechts 44 van de 108 laboratoria (40,7%) maakten melding van een diagnostisch protocol voor de basale dragerschapdiagnostiek.

Acht laboratoria (7,4%) deden geen dragerschapdiagnostiek en verwezen ook niet door; 48 (44,4%) deden geen dragerschapdiagnostiek maar verwezen de eventuele aanvragen door naar andere laboratoria.

*Specialistisch laboratoria.* Acht laboratoria meldden voldoende kennis en technologie te hebben om specialistische status te kunnen claimen. Subjectiviteit speelde hierbij echter een rol. De mate van specialisme kent verschillende gradaties, waarbij beoordeeld kan worden op basis van kennis, ervaring en wetenschappelijke output. Deze beoordeling werd niet gedaan.

*Informatie.* De belangstelling voor de toevoeging van informatieve teksten aan positieve dragerschapuitslagen bleek groot te zijn. Ruim 32% van de laboratoria die basisdiagnostiek deed bleek de teksten, die door het Hemoglobinepathieën Laboratorium van het LUMC reeds eerder waren aanbevolen, ofwel te gebruiken, of te willen implementeren. Ruim 66% vroeg om deze teksten en/of overwoog de toevoeging. Een laboratorium wees dit voorstel af (tabel 2).

## Interpretatie van de resultaten en aanbevelingen

*Wel of niet.* De keuzevraag "Ons laboratorium vericht WEL / NIET basis hemoglobinepathie-analyse d.m.v.:....." werd door de geënquêteerden op verschillende wijze geïnterpreteerd.

Sommige geënquêteerden beantwoordden deze vraag met 'wel', zij vermeldden vervolgens echter alleen de sikkeltest. Dit werd echter onvoldoende geacht m.b.t. hetgeen de werkgroep onder basisdiagnostiek verstond. Daarom is bij de verwerking van de resultaten alleen 'WEL' meegerekend, indien die technieken waren vermeld waarmee tenminste  $\beta$ -thalassemie en HbS-dragerschap konden worden vastgesteld.

**Tabel 2.** Inventarisatie van het analysepotentieel anno 2001 voor dragerschapdiagnostiek van Hb-pathie in Nederland

	Aantal
Geënquêteerde laboratoria	119
Onbeantwoorde formulieren	9
Beantwoorde formulieren	108
Specialistische HbP-analyse aanwezig	8
Basis-HbP-analyse aanwezig	44
Geen HbP-analyse aanwezig, doorverwijzend	48
Geen HbP-analyse aanwezig, niet doorverwijzend	8
Totaal	108
Laboratoria die de informatieteksten:	
Niet kennen en verzoeken om inlichtingen	62
Reeds toepassen of zullen toepassen	35
Willen overwegen	10
Niet willen toepassen	1
Totaal	108

*Ervaring.* De interpretatie van de resultaten die met een basisanalyseprotocol worden verkregen, wordt niet alleen door technische elementen bepaald. Van ervaring kan alleen sprake zijn indien er voldoende geschoold personeel aanwezig is, de leiding specifieke kennis heeft en er voldoende verrichtingen per jaar worden gedaan. De enquête stelde geen vragen over de specifieke ervaring op het gebied van de hemoglobinepathieën. Aan de verbetering van kennis en ervaring is in de jaren na de enquête veel aandacht gegeven d.m.v. (na)scholing en kwaliteitsbewaking (SKML).

*Onderzoeksaanvragen.* In de grote Nederlandse steden vindt men een aanzienlijke concentratie aan recente allochtonen. Binnen deze populatie kan worden verwacht dat gemiddeld 1 op de 15 mensen drager is van een vorm van hemoglobinepathie. Door laboratoria uit deze steden werden in 2001 echter onrealistisch lage onderzoeksaanvragen vermeld. De oorzaak hiervan kon worden gezocht in twee feiten. 1) Huisartsen en specialisten deden toen in onvoldoende mate specifieke onderzoeksaanvragen; 2) laboratoria, bij niet-specifieke aanvragen, namen onvoldoende initiatief om, al of niet in overleg met huisarts of specialist, alsnog na constatering van HbP-dragerschap, onderzoek te doen. De werkgroep stelde de toepassing van een strategie voor, waarbij de laboratoria een meer stimulerende rol spelen.

*Indicatie.* Er vanuit gaande dat laboratoriumonderzoek op indicatie wordt aangevraagd, kan deze indicatie variëren. Ten tijde van deze enquête was de indicatie vrijwel uitsluitend 'persisterende microcytaire anemie, niet reagerend op ijzer suppletie'. Vandaag is deze indicatie uitgebreid met: microcytaire hypochroom bloedbeeld zonder anemie, vermoeidheidsklachten, familieanamnese, of simpelweg verdenking vanwege etnische afkomst uit hogefrequentiegebieden.

*Algoritme.* De werkgroep stelde vervolgens voor om een algoritme toe te passen dat, tijdens de routinebloedanalyse en bij een microcytaire hypochrome anemie, een differentiatie tussen ijzergebreksanemie en thalassemie mogelijk maakt. Met dit initiatief kan het laboratorium aan de onderzoeksaanvrager de mogelijkheid van hemoglobinepathiedragerschap suggereren en een gericht onderzoek voorstellen.

Anderzijds zou het laboratorium rechtstreeks de uitvoering van hemoglobinepathieonderzoek kunnen overwegen op basis van het algoritme. Voor deze zogenaamde 'reflex testing' zijn echter lokale of landelijke afspraken nodig. Zonder deze twee initiatieven zouden vele dragers uit de jonge risicopopulatie, het recht op een goede diagnose en dus op preventie missen.

*Standaard protocol.* De werkgroep stelde aan alle laboratoria de toepassing van een standaardprotocol voor. Dit protocol bestond uit technieken die de vaststelling van dragerschap van de meest voorkomende vormen van hemoglobinepathie mogelijk maakt. De voorgestelde basisanalyse bestaat uit scheiding van de hemoglobines d.m.v. chromatografie (HPLC) of elektroforese met kwantificering van de fracties. Hiermee kunnen de meest voorkomende hemoglobinepathieën (HbS, HbC, HbE, HbD en  $\beta$ -thalassemie)

worden gediagnosticeerd. Het protocol is inmiddels in detail op website <http://www.de-vhl.nl> van de VHL (Vereniging voor Hematologisch Laboratoriumonderzoek) gepubliceerd onder de naam "Aanbevelingen HbP-onderzoek in de praktijk" en wordt door steeds meer laboratoria toegepast.

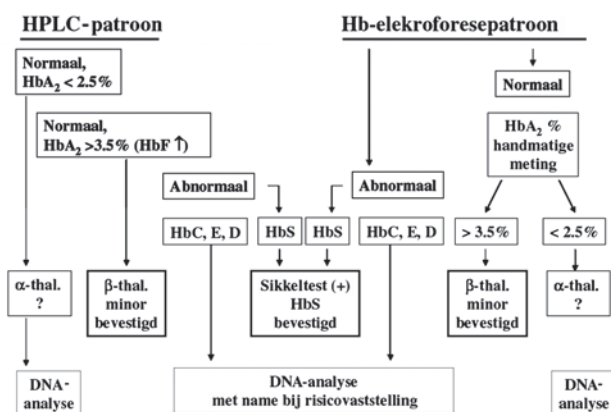
Figuur 1 toont schematisch het diagnostisch traject van dit protocol, waarbij hetzij handmatig (elektroforese) of automatisch (HPLC) de diagnose  $\beta$ -thalassemie, HbS, HbC, HbE en HbD met 100% zekerheid (rode kaders) of met een hoge mate van waarschijnlijkheid kan worden vastgesteld. In tegenstelling tot de kwalitatieve en kwantitatieve HPLC-methode, die normale patronen op procentuele afwijkingen beoordeelt, zijn normale patronen met procentuele afwijkingen op elektroforese doorgaans niet herkenbaar.

**Doorverwijzingen.** De werkgroep stelde het volgende verwijzingsprotocol voor.

Bij het ontbreken van basisdiagnostiek in het eigen laboratorium, dient bij verdenking verwezen te worden naar laboratoria die HbP-diagnostiek wel uitvoeren en tevens voldoende analytische ervaring hebben. Bij complexere dragerschapdiagnostiek, zoals bij  $\alpha$ -thalassemie en/of zeldzame mutanten is verwijzing geïndiceerd naar laboratoria die specialistische ervaring hebben betreffende de moleculairbiologische diagnostiek van deze aandoeningen.

Verwijzing naar of raadpleging van het referentielaboratorium te Leiden, verbonden aan het Centrum voor Humane en Klinische Genetica aldaar, is aan te bevelen bij dragerschapdiagnostiek t.b.v. risicobepaling. Tevens is dit laboratorium nationaal en internationaal erkend als referentiecentrum op het gebied van hemoglobinoopathiediagnostiek, genotype/fenotypecorrelatie, en de aangewezen locatie voor prenatale diagnostiek voor hemoglobinoopathieën.

**Informatieteksten.** Door de grote belangstelling stelde de werkgroep in haar rapport de besturen van de VHL en NVKC voor om de toepassing van deze teksten (tabel 3) (of aanpassingen daarvan) standaard toe te voegen aan een positieve dragerschapuitslag. Het ontbreken hiervan heeft in de regel tot gevolg dat partner- en familieonderzoek niet worden verricht en bruikbare informatie niet wordt benut voor preventie.



**Figuur 1.** Na hematologische (microcytaire hypochrome parameters) of etnische indicatie of 'reflex testing' volgt scheiding van de Hb-fracties en eventueel moleculaire analyse.

**Tabel 3.** Korte teksten ter informatie van de onderzoeksanvrager ter begeleiding van een positieve hemoglobinoopathiedragerschapuitslag voor de HbS, HbC, HbE, HbD,  $\alpha$ - en  $\beta$ -thalassemie defecten

*Bij een kind*

Patiënt is drager bevonden van..... I.v.m. het mogelijk aanwezige risico van ernstige vormen van hemoglobinoopathie, is het geïndiceerd (bij kinderwens) de beide ouders (en naaste familie) te informeren en op dragerschap te laten onderzoeken.

*Bij een jongvolwassene*

Patiënt is drager bevonden van..... I.v.m. het mogelijk aanwezige risico van ernstige vormen van hemoglobinoopathie in het nageslacht, is het geïndiceerd de patiënt te informeren en de eventuele partner en naaste familie (broers en zusters) op hemoglobinoopathiedragerschap te laten onderzoeken.

*Bij ouderen*

Patiënt is drager bevonden van..... I.v.m. het mogelijk aanwezige risico van ernstige vormen van hemoglobinoopathie, is het geïndiceerd de patiënt en nageslacht te informeren en op hemoglobinoopathiedragerschap te laten onderzoeken. Voor alle jonge hemoglobinoopathiedragers is partneronderzoek geïndiceerd.

**Tot slot**

Tussen 2001 en nu is er veel op het gebied van diagnostiek en preventie van de HbP's gebeurd. De werkgroep zal binnenkort in het kader van een Zon-Mw-deelproject, toegekend aan het referentielaboratorium van het LUMC, meewerken aan de inventarisatie van de huidige stand van zaken om verdere aanbevelingen aan de laboratoria en aan de Nederlandse gezondheidszorg te kunnen doen, met als doel de verdere bevordering van preventie en met daarin een centrale rol voor landelijke basislaboratoriumdiagnostiek.

Opnieuw zal worden gekeken naar de mate van implementatie van het voorgestelde protocol en de aanvullende informatie/adviesverstrekking, waarbij ook zal worden geïnventariseerd in hoeverre het labadvies door de onderzoeksanvrager wordt opgevolgd. Ook zal worden bekeken met welke methode (elektroforese of HPLC) wordt gewerkt en in welke interventiefase (op verzoek van aanvrager, na 'reflex testing', bij neonatale screening, bij vroege zwangeren).

**Dankwoord**

De landelijke werkgroep Hemoglobinoopathieën van de VHL is alle collegae van de vele diagnostische laboratoria die aan de enquête hebben bijgedragen en de aanbevelingen hebben gevolgd, zeer erkentelijk.

**Literatuur**

- Giordano PC. Hemoglobinoopathieën in Nederland. Diagnostiek, epidemiologie en preventie. Dissertatie 1998. ISBN nummer 90-9011949-3
- Losekoot M, Fodde R, Harteveld CL, Heeren H van, Giordano PC, Bernini LF. Denaturing gradient gel electrophoresis and direct sequencing of amplified genomic DNA: a rapid and reliable diagnostic approach to beta thalassemia. British J Haematol 1990; 76: 269-276.
- Silvestroni E, Bianco I. Screening for microcytemia in Italy: analysis of data collected in the past 30 years. Am J Hum Genet. 1975; 27: 198-212.

4. Kuliev AM. The WHO control program for hereditary anemias. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1988; 23: 383-394.
5. Cao A, Furbetta M, Galanello R, Melis MA, Angius A, Ximenes A, Rosatelli C, Ruggeri R, Addis M, Tuveri T, Falchi AM, Paglietti E, Scalas MT. Prevention of homozygous beta-thalassemia by carrier screening and prenatal diagnosis in Sardinia. *Am J Hum Genet* 1981; 33: 592-605.
6. Lena-Russo D, Erny N, Serradimigni F, Badens C, Aubinaud M, Merono F, Paolasso C, Mattei JF, Giraud F. Genetic hemoglobin diseases. Prevention at centers for family planning and education of maternal-child protection in Marseille. *Presse Med.* 1996; 25: 151-153.
7. Angastiniotis M, Kyriakidou S, Hadjiminias M. The Cyprus Thalassemia Control Program. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1988; 23: 417-432.
8. Longinotti M, Pistidda P, Oggiano L, Guiso L, Frogheri L, Dore F, Pardini S, Bonfigli S, Rimini E, Angioni S, et al. A 12-year preventive program for beta-thalassemia in Northern Sardinia. *Clin Genet* 1994; 46: 238-243.
9. Lipkin M Jr, Fisher L, Rowley PT, Loader S, Iker HP. Genetic counseling of asymptomatic carriers in a primary care setting. The effectiveness of screening and counseling for beta-thalassemia trait. *Ann Intern Med* 1986; 105: 115-123.
10. Keskin A, Turk T, Polat A, Koyuncu H, Saracoglu B. Pre-marital screening of beta-thalassemia trait in the province of Denizli, Turkey. *Acta Haematol* 2000; 104: 31-33.
11. Koren A, Zalman L, Palmor H, Ekstein E, Schneour Y, Schneour A, Shalev S, Rachmilewitz EA, Filon D, Openheim A. The prevention programs for beta thalassemia in the Jezreel and Eiron valleys: results of fifteen years experience Harefuah. 2002; 141: 938-943, 1210. Hebrew.
12. Lorey F, Cunningham G, Vichinsky EP, Lubin BH, Witkowska HE, Matsunaga A, Azimi M, Sherwin J, Eastman J, Farina F, Wayne JS, Chui DH. Universal newborn screening for Hb H disease in California. *Genet Test* 2001; 5: 93-100.
13. Henty J. Prevention of thalassemia in Australia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999; 30 Suppl 2: 94-6.
14. Jaovisidha A, Ajjimarkorn S, Panburana P, Somboonsub O, Herabutya Y, Rungsiprakarn R. Prevention and control of thalassemia in Ramathibodi Hospital, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2000; 31: 561-565.
15. Perera DM, Gunasekara D, Wijekoon A, Petrou M. Thalassemia control in developing countries--the Sri Lankan perspective. *Ceylon Med J* 2000; 45: 12-16. Review.
16. Kor-anantakul O, Suwanrath CT, Leetanaporn R, Suntharasaj T, Liabsuetrakul T, Rattanaprueksachart R. Prenatal diagnosis of thalassemia in Songklanagarind Hospital in southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1998; 29: 795-800.
17. Setianingsih I I, Williamson R, Marzuk S, Harahap A, Tamam M, Forrest S. Molecular Basis of beta-Thalassemia in Indonesia: Application to Prenatal Diagnosis. *Mol Diagn* 1998; 3: 11-19.
18. Capua A. The Montreal Thalassemia Screening program. Response of the high school students. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 401-403.
19. Wanapirak C, Tongsong T, Sirivatanapa P, Sa-nguansermisri T, Sekararithi R, Tuggapichitti A. Prenatal strategies for reducing severe thalassemia in pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet* 1998; 60: 239-244.
20. Ko TM, Xu X. Molecular study and prenatal diagnosis of alpha- and beta-thalassemias in Chinese. *J Formos Med Assoc* 1998; 97: 5-15. Review.
21. Ghanei M, Adibi P, Movahedi M, Khami MA, Ghasemi RL, Azarm T, Zolfaghari B, Jamshidi HR, Sadri R. Pre-marriage prevention of thalassaemia: report of a 100,000 case experience in Isfahan. *Public Health* 1997; 111: 153-156.
22. Shafer FE, Lorey F, Cunningham GC, Klumpp C, Vichinsky E, Lubin B. Newborn screening for sickle cell disease: 4 years of experience from California's newborn screening program. *J Pediatr Hematol Oncol* 1996; 18: 36-41.
23. Pravatmuang P, Tiloklurs M, Suannum M, Chaipat C. Phitsanulok population: the highest incidence of hemoglobin E in the northern provinces of Thailand and PND counseling. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1995; 26 Suppl 1: 266-270.
24. Giordano PC, Hartevelde CL. Hemoglobinopathies in immigrant populations: setting up prevention strategies in The Netherlands. Proceedings from the 7th meeting of the European Haematological Association. Monduzzi Editore, ISBN 88-323-2606-X.
25. Modell B, Harris R, Lane B, Khan M, Darlison M, Petrou M, Old J, Layton M, Varnavides L. Informed choice in genetic screening for thalassemia during pregnancy: audit from a national confidential inquiry. *Brit Med J* 2000; 320: 337-341.
26. Clark BE, Thein SL. Molecular diagnosis of haemoglobin disorders. *Clin Lab Hematol* 2004; 26: 159-176.
27. Giordano PC. Preventie van Cystische Fibrose en hemoglobinopathie in de huisartspraktijk. Hoofdstuk in *Vorderingen en praktijk onder redactie van M.P. Springer*. Boerhaave editie ISBN 90-6767-510-5.
28. Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL. Disorders of Hemoglobin. Cambridge University Press. 2001.
29. Giordano PC, Breuning MH. Van gen naar ziekte; van hemoglobinegenen naar thalassaemie en sikkelcelanemie. *Ned Tijdschr Geneesk* 2000; 144: 1910-1913.
30. Karnon J, Zeuner D, Brown J, Ades AE, Wonke B, Modell B. Lifetime treatment costs of beta-thalassaemia major. *Clin Lab Haematol* 1999; 21: 377-385.

---

## Summary

*P.C. Giordano, J.W. Smit, M. Herruer, W. Huisman, J.G.J. Pouwels, N. Verhoef, R.N. Idema en P. Wijermans. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2006; 31: 301-305.*

Information, carrier diagnostics and referral of couples at risk to genetic centers are the key elements for primary prevention of the severe form of hemoglobinopathies, such as sickle cell disease and  $\beta$ -thalassaemia major.

To improve carrier diagnostics and information we have started an enquiry among all clinical laboratories to estimate the specific diagnostic potential in the country. This enquiry revealed that in 2001 laboratory diagnostics was insufficient and that improvement was needed.

Consequently, a standard diagnostic protocol was developed and introduced to all laboratories, while exchange of results and experience among laboratories and referral to the reference labs were encouraged.

During a molecular study in 1998, it became evident that carrier diagnostics was not always used for primary prevention, but was archived without partner or family analysis. In March 2002 a report was published together with an analytical protocol to be used for basic diagnostics. Moreover, to inform the clinician as well as the patient about genetic risk and the possibilities of prevention, the use of additional information was proposed in case of a positive laboratory result.

Meanwhile, more and more laboratories are gradually adopting the standard-diagnostic protocols, delivering information in case of positive results. As a consequence of these changes, carrier diagnostics has improved and demands for prenatal diagnosis are increasing.

The same working party will soon undertake a new initiative in collaboration with a prevention project (Zon-Mw), granted to the Reference Laboratory at Leiden University Medical Center. New efforts will be made for further improvement of basic laboratory diagnostics throughout the country and for training Dutch public-health structures in better strategies for primary prevention of the hemoglobinopathies.