

# Važnost osjetljivosti testa Rh(D) i direktnog antiglobulinskog testa kod novorođenčeta

---

**De Marchi, Paola**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split / Sveučilište u Splitu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:976204>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-07**



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija  
SVEUČILIŠTE U SPLITU

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Paola De Marchi**

**VAŽNOST OSJETLJIVOSTI TESTA RH(D) I  
DIREKTOG ANTIGLOBULINSKOG TESTA KOD  
NOVOROĐENČETA**

**Završni rad**

Split, 2016.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Paola De Marchi**

**VAŽNOST OSJETLJIVOSTI TESTA RH(D) I  
DIREKTOG ANTIGLOBULINSKOG TESTA KOD  
NOVOROĐENČETA**

***THE IMPORTANCE OF SENSITIVITY OF THE RH(D)  
TEST AND THE DIRECT ANTIGLOBULIN TEST IN  
NEWBORNS***

***Završni rad/ Bachelor's thesis***

Mentor:

**univ. mag. med. dipl. ing. Mirela Zec**

Split, 2016.

## Sadržaj:

1. UVOD.....	1
1.1. Povijest transfuzijskog liječenja .....	1
1.2 Eritrocitne krvne grupe i AB0 sustav .....	2
1.3 Rh sustav krvnih grupa .....	3
1.4 Određivanje Rh(D) antigena .....	5
1.5 Trudnoća .....	6
1.6 Hemolitička bolest novorođenčadi .....	7
2. CILJ RADA.....	8
3. IZVORI PODATAKA I METODE.....	9
3.1 Postupci i preporuke za određivanje Rh(D) antigena i DAT.....	9
3.2 Uzorci.....	10
3.3 Reagensi.....	11
3.4 Oprema.....	12
3.5 DEFINICIJA I IZVORI PODATAKA .....	13
3.5.1 RH(D) ANTIGEN .....	13
3.5.2. DIRETNI ANTIGLOBULINSKI TEST .....	14
3.5.3 OSTALI ERITROCITNI ANTIGENI .....	14
3.6 METODE.....	15
3.6.1 Metode određivanja Rh(D) antigena .....	15
3.6.2 Metode određivanja direktnog Coombsovog testa.....	17
3.7 Hemolitička bolest novorođenčadi .....	19
3.7.1. Rh(D) faktor .....	20
3.7.2. Postupak kod Rh negativne nesenzibilizirane trudnice.....	21
3.7.3 Postupak kod Rh negativne senzibilizirane trudnice.....	21
3.7.4. Klinička slika.....	22

3.7.5 Terapija.....	23
3.7.6. Prevencija.....	24
4. RASPRAVA.....	25
5. ZAKLJUČAK.....	27
6. LITERATURA.....	28
7. SAŽETAK.....	29
8. SUMMARY.....	31
9. ŽIVOTOPIS.....	33

# 1. UVOD

## 1.1. Povijest transfuzijskog liječenja

Već od antičkog vremena se vjerovalo da je krv sinonim za život, zdravlje i snagu. Napretkom medicine u 17. stoljeću Harvey W. je u uglednom časopisu objavio rad u kojem opisuje krvni optok i srčani rad. Sve do prvih godina 20. stoljeća transfuzijsko je liječenje pokušavano transfuzijama životinjske i vlastite ili tuđe ljudske krvi<sup>(1)</sup>. Do 1900. godine zbog nepoznavanja krvnih grupa liječenje nije bilo djelotvorno, dapače više od polovine transfuzija je završavalo smrću. Prekretnica je Landsteinerovo otkriće sustava ABO krvnih grupa.<sup>(4)</sup>

Tijekom Prvog svjetskog rata vojnicima su transfudirane velike količine krvi. Naravno, krv se brzo zgrušava, pa ju je prije bilo gotovo nemoguće dopremiti na bojno polje. No početkom 20. stoljeća uspio je eksperiment s natrijskim citratom, jednom vrstom antikoagulansa, kojeg je izveo dr. Richard Lewisohn.

Tablica 1. Važni datumi u povijesti transfuzijske medicine<sup>(4)</sup>

Godina	Autori i pronalazak
1628.	Harvey W. Otkriće funkcije krvotoka i rada srca objavljeno u „De Motu Cordis“
1667.	Dennis J. Heterologne transfuzije krvi
1818.	Blundell J. Autologne transfuzije krvi u liječenju postpartalnih krvarenja
1900.	Landsteiner K. Otkriće ABO krvnih grupa
1908.	Ottenberg R. Transfuzije krvi prema ABO krvnim grupama
1914.	Hustin A, Agote L, Lewisohn R. Konzerviranje krvi s natrijevim citratom
1923.	Prva transfuzija u Hrvatskoj primijenjena je u klinici za ženske bolesti i porode u Zagrebu
1940.	Landsteiner K, Wiener AS. Rh krvne grupe
1945.	Coombs RRA, Mourant AE, Race RR, Antiglobulinski test (Coombsov test)
1952.	Walter CW, Plastične vrećice i sistemi za jednokratnu upotrebu
1966.	Freireich EJ, Judson G, Levine RH. Stanični separator za odvajanje plazme i krvnih stanica

## 1.2 Eritrocitne krvne grupe i AB0 sustav

Krvne grupe su nasljedne karakteristike koje se nalaze na krvnim stanicama-eritrocitima, leukocitima, trombocitima i proteinima u plazmi.<sup>(4)</sup> Sustav krvnih grupa obuhvaća antigene i odgovarajuća protutijela. S obzirom da su eritrociti najznačajniji za transfuzijsku medicinu u ovom radu ćemo se fokusirati upravo na eritrocitnim antigenima i protutijelima.

Eritrocitna membrana je polupropusni lipidni dvosloj, a antigeni su sastavni dijelovi molekula te membrane ili submembranskih struktura. Na eritrocitnoj membrani se nalazi više od 650 različitih antigena koji se klasificiraju u 23 sustava krvnih grupa.

Svi antigeni krvnih grupa nemaju jednako kliničko značenje.<sup>(10)</sup>

Nama najvažniji sustavi krvnih grupa su AB0 i Rh.

ABO sustav je prvi otkriveni sustav krvnih grupa i najvažniji sustav u transfuzijskoj medicini. Osim na membrani eritrocita AB0 antigeni se nalaze i na stanicama drugih tkiva te otopljeni u plazmi i u tjelesnim tekućinama.<sup>(6)</sup> U oko 80 % slučajeva također se nalaze i u slini. Fenotip AB0 sustava je, za razliku od drugih, određen prisutnošću antigena na membrani eritrocita i protutijela u serumu.

Geni se nasljeđuju prema Mendelovom zakonu. Geni A i B su kodominantni dok je gen 0 recesivan. U nasljeđivanje i strukturu krvnih grupa uključeni su geni ABO i Hh. Gen H je zaslužan za nastajanje ugljikohidratnog lanca (antigen H) na eritrocitnoj membrani. Antigen H se dodavanjem šećera mijenja u antigene A,B ili AB. Šećer koji karakterizira krvnu grupu A je N-acetilgalaktozamin dok je D-galaktoza specifična za krvnu grupu B. Jedan od ovih šećera se nalaze na krajevima ugljikohidratnih lanaca krvne grupe AB. 0 gen ne može proizvoditi enzim koji katalizira vezanje šećera zbog čega se ne mijenja antigen H što posljedično dovodi do velike prisutnosti H antigena kod krvne grupe 0.

Učestalost fenotipa AB0 sustava ovisi o etničkoj skupini. Ipak, najčešće su krvne grupe A i 0. Najčešća krvna podgrupa, u 80% osoba, je A1 ili A1B. Antigen A1 je jači od A2 antigena te lakše i brže izaziva imunizaciju. Također lakše reagira s protutijelima zbog dugih i razgranatih ugljikohidratnih lanaca i velikog broja antigena na eritrocitima.

Antigeni ABO sustava krvnih grupa razvijaju se rano tijekom fetalnog života. Ali nakon rođenja antigeni na eritrocitnoj membrani još nisu potpuno razvijeni, posebice antigen A. Također je i broj antigenskih mjesta manji nego na eritrocitima odrasle osobe. U potpunosti se razvijaju kroz prve dvije godine života.

Takozvana prirodna protutijela, koja se pojavljuju u serumu nekoliko mjeseci nakon rođenja, su protutijela anti-A i anti-B. Mješavina su IgG i IgM protutijela koja aktiviraju komplement i uzrokuju hemolitičku transfuzijsku reakciju.<sup>(6)</sup> Stvaranje prirodnih protutijela u djece započinje u dobi od 3 do 6 mjeseci. Do tada se u serumu mogu dokazati samo majčina protutijela. Kod osobe krvne grupe 0 nalaze se pretežno IgG protutijela koja imaju sposobnost prolaska kroz posteljicu i mogu uzrokovati hemolitičku bolest novorođenčadi.

Tablica 2- ABO antigeni i protutijela<sup>(6)</sup>

ABO krvna grupa	ABO antigeni	ABO protutijela	Učestalost (%)
A	A	anti-B	41,8
B	B	anti-A	17,7
0	-	anti-A i anti-B	34,0
AB	A i B	-	6,5

### 1.3 Rh sustav krvnih grupa

Rh sustav je najveći i najkompleksniji sustav krvnih grupa. U Rh sustavu je najimunogeničniji RhD antigen, a zatim slijede antigeni sustava Kell, Kidd i Duffy.<sup>(10)</sup> Učestalost anti-K kao uzorka hemolitičke bolesti novorođenčeta slijedi odmah iza anti-D.<sup>(5)</sup>

Do sada je poznato više od 50 antigena iz Rh sustava ali se u rutini najčešće danas koristi pet antigena – C, c, D, E, e. Antigeni su produkti gena s dva lokusa. Gen D se nalazi na prvom lokusu dok na se na drugom lokusu nalazi jedan od četiri alela (ce, Ce, cE i CE). Antigeni koji određuju Rh geni se nalaze na eritrocitnoj membrani i nasljeđuju se kodominantno kao kompleks dvaju haplotipova (jedan od oca i jedan od majke).



S toga možemo zaključiti da se na eritrocitima uvijek nalaze antigeni C i/ili c, odnosno E i/ili e. D- antigen nema svojeg para kojeg smo nazvali d.

Rh(D) negativna osoba nema ni jedan Rh(D) gen. Osoba koja je od roditelja naslijedila jedan ili dva Rh(D) gena je uvijek Rh(D) pozitivna. Učestalost Rh negativnih osoba je 16%, a Rh pozitivnih 84%. Antigeni A, B i D su najvažniji u transfuziji.

Antigeni D su proteini u membrani eritrocita koji određuju je li osoba Rh(D) pozitivna ili negativna. Ostali antigeni iz Rh sustava nemaju utjecaj na određivanje.

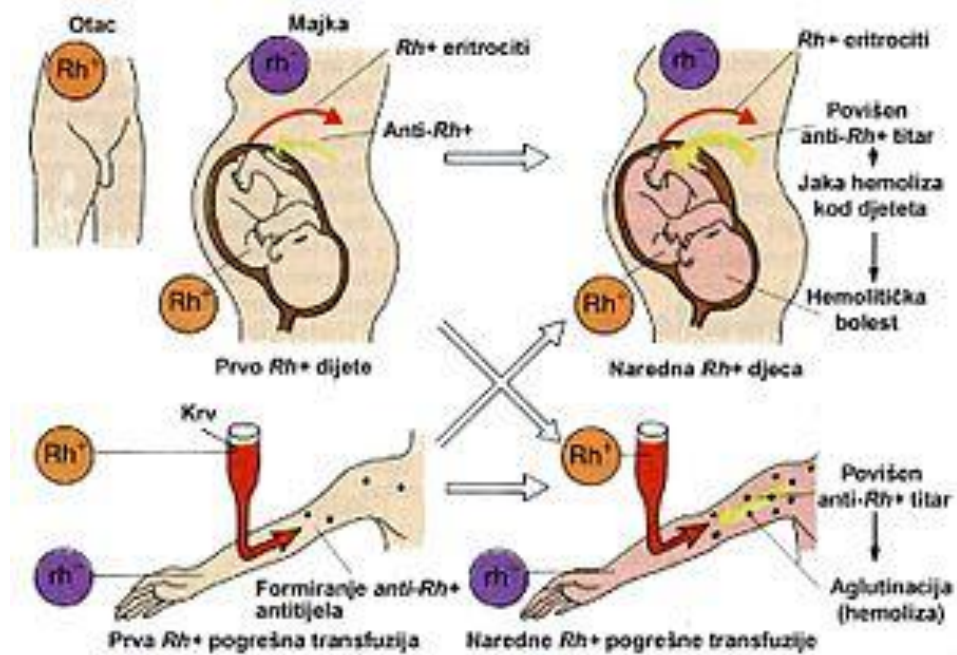
Slabi D ili D<sup>u</sup> je posljedica nepotpunog izražaja D antigena. Posljedica je manjeg broja D antigena na eritrocitima ili nedostatka dijela molekule. Osobe koje imaju slabi D mogu stvoriti anti-D protutijela.

Imunizacije Rh protutijelima najčešće su tijekom transfuzija i trudnoće. Protutijela su IgG klase i uzrokuju hemolitičku transfuzijsku reakciju i hemolitičku bolest novorođenčadi. Više od 80 % Rh negativnih osoba će stvoriti protutijela ako prime Rh pozitivnu krv. Protutijela u ovom sustavu imuna su protutijela koja nastaju kada je osoba bila transfundirana eritrocitima na kojima su se nalazili antigeni koje ona nema ili je žena u trudnoći imunizirana djetetovim eritrocitima koji su ušli u njezin krvotok.

Imunizacija ostaje za cijeli život. Najčešća pretraga koju koristimo je titar protutijela u serumu, međutim moramo bit oprezniji jer titar s vremenom može postati toliko nizak da ga ne možemo otkriti rutinskim testovima. Sekundarni imunološki odgovor nastaje tek kada osoba ponovno dođe u doticaj s antigenima u tijeku druge transfuzije ili trudnoće. Tijekom deset dana nakon transfuzije koncentracija protutijela raste što uzrokuje kasnu poslijetransfuzijsku hemolitičku reakciju (PTHR).<sup>(4)</sup>

Protutijela u Rh sustavu krvnih grupa:

- su gotovo uvijek imuna
- ne aktiviraju komplement
- najčešće su klase IgG
- nastaju u trudnoći ili nakon transfuzije
- uzrokuju ekstravaskularnu hemolizu i hemolitičku bolest novorođenčadi (HBN)



Slika 1. Načini nastanka Rh-D imunizacije (preuzeto s:

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/bs/thumb/c/c4/Rh-transfuzija.jpg/300px-Rh-transfuzija.jpg>)

## 1.4 Određivanje Rh(D) antigena

Određivanje Rh(D) antigena se vrši pomoću tehnika na pločici i u epruveti s monoklonskim testnim reagensima ili poliklonskim testnim serumima. Monoklonski reagensi mogu sadržavati protutijela klase IgM- najčešće i IgG. Poliklonski testni serum pripremljeni su od seruma imuniziranih davatelja s visokim titrom anti-D protutijela. Najčešće su to protutijela IgG klase. <sup>(4)</sup>

### INDIRETNI ANTIGLOBULINSKI TEST (IAT), INDIREKTNI COOMBSOV TEST

Ispituje se serum pacijenta s eritrocitima krvne grupe 0 jer se na njima nalaze najčešći antigeni koji uzrokuju aloimunizaciju. Otkriva *in vitro* senzibilizaciju tj. prisutnost iregularnih protutijela u serumu pacijenta.

## DIREKTNI ANTIGLOBULINSKI TEST (DAT), DIREKTNI COOMBSOV TEST

Princip ovog testa je isti. Također otkriva protutijela ili komplement vezan za eritrocite. Pozitivan je kada su eritrociti pacijenta senzibilirani *in vivo*, tj. otkriva prisutnost protutijela. Izvodi se iz uzorka krvi sa EDTA antikoagulansom.

Koristi se u dijagnozi:

- poslijetransfuzijske reakcije (PTR)
- autoimune hemolitičke anemije (AIHA)
- hemolitičke bolesti novorođenčadi (HBN)

## 1.5 Trudnoća

Trudnoća ili drugo stanje nastaje implantacijom oplodene jajne stanice u endometriju maternice. Oplodnja nastaje spajanjem zrele jajne stanice i spermija u drugoj trećini jajovoda. Razvoj embrija započinje nakon oplodnje i implantacije. Odvija se u četiri faze: brazdanje, formiranje zametnih listića, osnivanje organa i njihova diferencijacija. Trudnoća je stanje koje traje 9 mjeseci i koje možemo podijeliti na tri tromjesečja.

Tijekom trudnoće majka doživljava niz promjena koje omogućavaju njenom tijelu prilagodbu. Uobičajeni prvi znak trudnoće jest izostanak mjesečnice. Dijagnoza se postavlja na osnovu anamnestičkih podataka i objektivnog pregleda. U sigurne znakove trudnoće ubrajamo pozitivan ultrazvučni nalaz, slušanje otkucaja srca i prisutnost hormona trudnoće u urinu i krvi koji se počinju pojavljivati 7-10 dana nakon oplodnje.

Porodaj je prekid trudnoće nakon 28 tjedna, a prekid trudnoće prije tog perioda nazivamo pobačajem.

## 1.6 Hemolitička bolest novorođenčadi

Na djetetovim krvnim stanicama nalaze se majčini i očevi antigeni. Tijekom trudnoće posteljica je barijera između krvi majke i fetusa zbog koje ne dolazi do miješanja krvi. Ipak, pojedine fetalne krvne stanice prolaze i ulaze u majčinu krv tijekom trudnoće i poroda. Također majčina IgG protutijela prolaze placentarnu barijeru i ulaze u djetetov krvotok te ga štite tijekom trudnoće i nakon porođaja od infekcija. <sup>(4)</sup>

Hemolitička bolest u novorođenčadi nastaje zbog ubrzane razgradnje fetalnih eritrocita majčanim protutijelima. Majčina protutijela se vežu za djetetove eritrocite ubrzavajući time njihovu razgradnju u slezeni i jetri dok fetalni eritrociti kod majke potiču stvaranje protutijela protiv očevih antigena. Hemolitičku bolest mogu uzrokovati sva protutijela klase IgG. Preduvjet je vezivanje majčinih protutijela na fetalne antigene. Najčešća imunizacija je Rh(D) koja može imati vrlo tešku kliničku sliku kod novorođenčadi.

Hemolitička bolest novorođenčadi također može biti uzrokovana i drugim protutijelima npr. anti-A i anti-B.

Fetalni eritrociti mogu se dokazati u majčinom krvotoku vrlo rano u trudnoći. <sup>(4)</sup> U posljednjem tromjesečju trudnoće transplacentarno krvarenje je znatnije izraženo kao i tijekom samog porođaja. Hemolitička bolest novorođenčadi neće se razviti ako majka nije bila prije imunizirana. Najčešće imunizacija nastaje u tijeku porođaja zbog ulaska djetetovih eritrocita u majčin krvotok.

Za hemolitičku bolest novorođenčadi najvažniji nalaz je pozitivni direktni antiglobulinski test koji ukazuje da majčina protutijela oblažu djetetove eritrocite.

Imunizacija se može spriječiti ispitivanjem zdravstvene povijesti majke i davanjem Rh(D) profilakse tj. hiperimunog gamaglobulina unutar 72 sata od porođaja.

## **2. CILJ RADA**

Cilj ovog rada je ukazati na važnost točnog, preciznog i reproducibilnog određivanja Rh faktora i direktnog antiglobulinskog testa kod novorođenčadi. Pretrage se izvode kako bi se spriječila hemolitička bolest novorođenčadi koja nastaje kao uzročno posljedična veza između Rh negativne majke i Rh pozitivnog djeteta.

### 3. IZVORI PODATAKA I METODE

#### 3.1 Postupci i preporuke za određivanje Rh(D) antigena i DAT

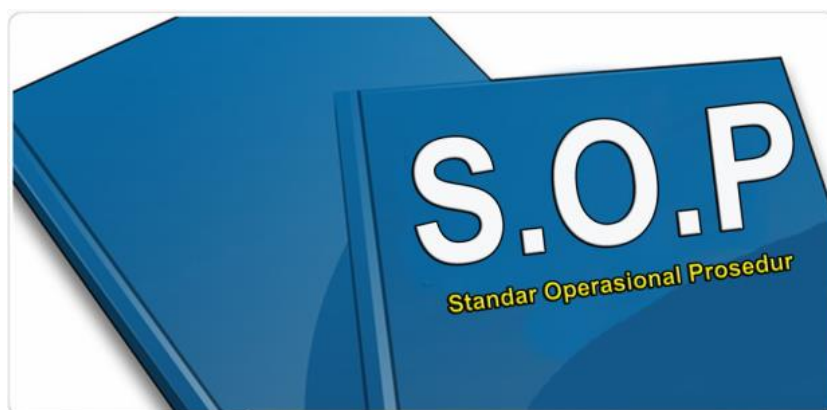
Svi postupci, preporuke, kontrole kvalitete, vođenje dokumentacije i zapisa moraju biti detaljno opisani u vidu radnih uputa i/ili standardnih operativnih postupaka. One moraju biti dostupne svim djelatnicima koje provode i nadziru izvođenje testa.

Svaka medicinska ustanova koja provodi ova testiranja mora se podvrgnuti kontinuiranim programima unutarnje i vanjske kontrole kvalitete.

Ako rezultati kontrole nisu uredni pokreće se postupak provjere opreme i procesa koji su uključeni u izvođenje testa. Svi postupci provjere, rezultati, zaključci i korektivne mjere moraju biti dokumentirane i pohranjene.

Pogreške moraju biti detaljno obrazložene i opisane zadovoljavajući pritom ove uvijete:

1. jasno dokumentiran razlog zbog kojeg je došlo do pogreške
2. detaljno opisan postupak po kojem se pogreška uklonila
3. naznačene moguće posljedice promjena



Slika 2. Dokumenti i zapisi opisani u vidu standardnih operacijskih postupaka (preuzeto s: [http://file.mic.ac.id/sop-d5f0a-2084\\_1680.png](http://file.mic.ac.id/sop-d5f0a-2084_1680.png))

## 3.2 Uzorci

Za određivanje Rh(D) antigena i DAT se koriste epruvete s antikoagulantnom otopinom etilendiamintetraoctenom kiselinom tj. EDTA.

U pisanim uputama treba biti opisan<sup>(9)</sup>:

- način čuvanja uzoraka prije početka testiranja
- obavezni vizualni pregled uzorka kojim se utvrđuje prikladnost uzorka za testiranje
- nesukladan uzorak i način postupka s istim

Uzorci za određivanje moraju biti obilježeni „barkodom“ i njegovim odgovarajućim alfanumeričkim brojem. Takav način obilježavanja je uveden s namjerom da se broj pogrešaka svede na minimum.

Pravilno obilježavanje uzoraka je temelj dobre laboratorijske prakse.

Uzorci koje možemo koristiti za određivanje Rh faktora i DAT su:

1. krv iz pupkovine
2. krv iz epruvete s EDTA

U nesukladne uzorke koje ne idu na daljnju analizu ubrajamo:

- uzorke s ugrušcima
- hemolitične uzorke
- uzorke s nedovoljnom količinom krvi
- uzorke s nezadovoljavajućim omjerom količine eritrocita i plazme

### 3.3 Reagensi

Svi reagensi koji se koriste u ovlaštenim medicinskim ustanovama moraju imati zapise o podacima koji potvrđuju njihovu prikladnost pri testiranju uzoraka.

Označeni su lotom te prije upotrebe moraju se podvrgnuti propisanoj kontroli. Bilo kakva druga njihova primjena bez početne provjere nije dozvoljena. Reagensi se moraju skladištiti i koristiti u skladu s uputama proizvođača.

Za reagensne koji laboratorij proizvede sam moraju postojati pisani postupci koji uključuju<sup>(9)</sup>:

- kontrolu ulaznog materijala
- kontrolu opreme
- način proizvodnje
- procesne kontrole reagensa
- završne kontrole reagensa
- validiranje

Zapisi moraju sadržavati evidentirane postupke od početka proizvodnje do izdavanja reagensa za korištenje.



Slika 3: Reagensi za određivanje Rh D faktora (slikano u bolničkoj transfuzijskoj jedinici KBC-a Split, odsjek za imunohematologiju)



### 3.4 Oprema

Svaki uređaj mora biti provjeren odnosno validiran, sukladno pisanim normama, kako bi se mogao koristiti u rutinskoj upotrebi. Svaki aparat mora imati validacijski plan u kojem su detaljno opisani postupci koji se moraju provesti kako bi se utvrdili pouzdano dobiveni rezultati.

U pisanim uputama moraju biti opisani načini korištenja, čišćenja i kalibriranja aparata koji su u skladu s preporukama proizvođača. Ukoliko tijekom korištenja aparata se odstupi od uputa proizvođača, svaki postupak se treba zabilježiti i potvrditi validacijom.

Uređaji također moraju posjedovati dnevnik opreme u kojem obavezno moraju biti zabilježeni podaci<sup>(9)</sup>:

- naziv servisne ustanove i/ili ime i prezime servisera i njegov telefonski broj
- datum prekida u radu
- datum i vrsta kvara
- datum čišćenja
- datum kalibracije i/ili popravka

Ako dođe do pogrešnih rezultata u određivanju antigena, pomoću sačuvanih zapisa će se moći utvrditi zbog čega je i kada došlo do pogreške.



Slika 4: Centrifuga (slikano u bolničkoj transfuzijskoj jedinici KBC-a Split, odsjek za imunoematologiju)

## **3.5 DEFINICIJA I IZVORI PODATAKA**

### **3.5.1 RH(D) ANTIGEN**

Rh(D) antigen je transcelularni proteinski antigen koji prolazi kroz membranu i ima najmanje 30 epitopa. Broj antigenskim mjesta na eritrocitu varira od 20 do 200 000. Upravo zbog te varijabilnosti u određivanju Rh(D) antigena koriste se reagensi koji sadrže različite klonove anti-Rh(D) protutijela (najmanje 2).

Rh(D) antigen je u potpunosti razvijen u vrijeme poroda. Kod 1-2 % osoba, uključujući novorođenčadi, je slabije izražen (kvantitativno i kvalitativno). Kod takvih osoba se nakon inkubacije eritrocita s anti-Rh(D) reagensom na sobnoj temperaturi kroz 10 minuta ne dobiva pozitivni rezultat direktne aglutinacije.

Neki Rh(D) pozitivni eritrociti zahtijevaju produženu inkubaciju s anti-Rh(D), a neki se prikazuju pozitivni nakon dodavanja AHG-a (određivanje Rh(D) antigena u IAT-u) pri čemu se obavezno koristi neki od anti-Rh(D) reagensa koji mogu detektirati VI kategoriju parcijalnog Rh(D) antigena.

Anti-Rh(D) protutijela IgG razreda oblažu eritrocita pacijenta, a kod slabije izraženog Rh(D) antigena ne uzrokuju izravnu aglutinaciju. Anti-humani globulinski reagens omogućuje vezanje i aglutinaciju obloženih eritrocita. Ovom metodom se mogu otkriti i vrlo male količine Rh(D) antigena na eritrocitima što je izrazito važno pri procjeni davanja imunoprofilakse u trudnica koje su Rh(D) negativne.

### **3.5.2. DIRETNI ANTIGLOBULINSKI TEST**

Direktni antiglobulinski test (DAT) se izvodi kod novorođenčadi i dojenčadi do 4. mjeseca života, zbog mogućeg transplacentarnog prijelaza majčinih IgG protutijela i mogućeg razvoja hemolitičke bolesti novorođenčadi i hemolize djetetovih eritrocita.

### **3.5.3 OSTALI ERITROCITNI ANTIGENI**

Određivanje drugih eritrocitnih antigena kod novorođenčadi i dojenčadi do 4. mjeseca života nije potrebno jer je imunološki sustav djeteta nezreo i ne može stvarati iregularna antieritrocitna protutijela. Iznimka su novorođenčad i dojenčad imuniziranih majki s identificiranim antieritrocitnim protutijelima u trudnoći ili nakon poroda. Njima je potrebno odrediti komplementarne eritrocitne antigene. U dojenčadi nakon 4. mjeseca života potrebno je odrediti Rh fenotip i Kell antigen pridržavajući se transfuziološkog pravila u slučaju eventualnog ranijeg transfuzijskog liječenja eritrocitnim krvnim pripravcima. Ukoliko je dojenče unutar 3 mjeseca primilo eritrocitni krvni pripravak kontraindicirano je određivanje Rh fenotipa.

## **3.6 METODE**

### **3.6.1 Metode određivanja Rh(D) antigena**

Uzorci krvi: 1. uzorak krvi majke u epruveti s EDTA antikoagulansom,

2. krv pupkovine djeteta u epruveti s EDTA antikoagulansom.

Uz uzorke obavezno moramo imati i zahtjevnice za imunohematološko testiranje.

#### **Određivanje Rh-D antigena:**

Kad određujemo Rh-D antigen obavezno radimo isti test s istim reagensima, ali različitim klonovima: Novaklon i Monognost.

Reagensi su namijenjeni brzom određivanju krvne grupe D metodom hemaglutinacije u epruveti ili na pločici. Monognost stavljamo u epruvetu, a Novaklon na predmetno stakalce.

#### **Metoda za brzo određivanje u epruveti:**

1. U epruvetu stavimo jednu kap 2-5%-tne suspenzije (10 µl koncentrata eritrocita + 240 µl fiziološke otopine).
2. U epruvetu se kapnu 1-2 kapi Monognost reagensa.
3. Epruveta koja sadrži mješavinu reagensa i eritrocita se protrese i centrifugira 1 minutu na 1000 okretaja.
4. Epruveta se lagano protrese i rezultat očita.

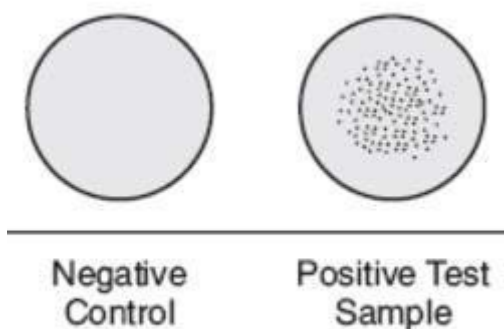
#### **Metoda za brzo određivanje na pločici:**

1. Na predmetno stakalce stavimo jednu kap Novaklon reagensa
2. Dodaju se dvije kapi 40-60%-tne suspenzije eritrocita u vlastitom serumu ili plazmi
3. Uz daljnje miješanje, pomicanjem pločice, rezultat se očita unutar 2 minute

### Interpretacija rezultata:

1. Aglutinacija eritrocita s reagensom pozitivan je rezultat i znači da eritrociti imaju D antigen.
2. Izostanak aglutinacije eritrocita s reagensom negativan je rezultat i znači da eritrociti nemaju D antigen, uključujući većinu slabih varijanti D antigena ali ne i D<sup>IV</sup> kategoriju.

Rh D antigen je kod nekih osoba (1-2%) slabije izražen, te nakon inkubacije eritrocita s anti-D reagensom ne pokazuje direktnu aglutinaciju. Neki Rh D pozitivni eritrociti zahtijevaju produženu inkubaciju s anti-D, a neki se prikazuju pozitivnima nakon dodavanja AHG-a. Određivanje slabog Rh D antigena rutinski se izvodi u ispitanika čiji eritrociti mogu imunizirati druge osobe, poput davatelja krvi i novorođenčadi, a koji su u direktnoj aglutinaciji negativni.



Slika 5: Prikaz negativnog i pozitivnog rezultata (preuzeto s:  
<http://2.imimg.com/data2/YA/DD/MY-2478375/medox-bio-ra-test-teaching-kit-250x250.jpg>)

### 3.6.2 Metode određivanja direktnog Coombsovog testa

Pomoću direktnog antiglobulinskog testa detektiramo antigene na površini eritrocita *in vivo*. Specifično IgG antitijela koja se vežu na površine membrana eritrocita, te povezani sustav komplementa.<sup>(9)</sup>

#### 1. Određivanje direktnog antiglobulinskog testa klasično u epruveti

Uzorak: krv iz epruvete s EDTA antikoagulansom

Pribor: epruvete, pipete, stalci, plastični nastavci za pipete

Reagensi: fiziološka otopina i polispecifični antihumani globulin AHG (prethodno ugrijan na sobnoj temperaturi)

Oprema: centrifuga za epruvete, aglutinoskop

Izvođenje testa:

1. Pripremiti 3-5%-tnu suspenziju opranih eritrocita (4-6 puta) u fiziološkoj otopini.
2. U obilježenu epruvetu ukapati jednu kap suspenzije eritrocita.
3. Dodati 2 kapi AHG (sobne temperature).
4. Centrifugirati na 1000 okretaja po minuti.
5. Test odmah očitati nakon centrifugiranja.
6. Negativan rezultat provjeriti dodavanjem eritrocita obloženih anti-IgG (Coombs kontrola) i ponavljanjem postupaka centrifugiranja i očitavanja.

Tumačenje rezultata:

Rezultat je negativan ako aglutinacija eritrocita nije vidljiva ni pod aglutinoskopom, a Coombs kontrola je pozitivna.

Rezultat je pozitivan ako je prisutna aglutinacija različitog stupnja izraženosti.

Označavamo ga kao:

+4 – eritrociti formiraju jedan veliki aglutinat

+3 – aglutinirani eritrociti formiraju 2-3 veća aglutinata

+2 – aglutinirani eritrociti formiraju više manjih aglutinata uz po koji veći aglutinat

+1 – aglutinirani eritrociti formiraju više nježnijih aglutinata bez slobodnih eritrocita

+/- - uz nježne aglutinate vidljive bez i/ili sa aglutinoskopom vidljivi i slobodni eritrociti

Negativan rezultat se ne smije tumačiti ako je Coombs kontrola negativna.

## **2. Određivanje DAT u mikrometodi sa polispecifičnim antihumanim globulinom**

Uzorak: krv u epruveti s EDTA antikoagulansom

Pribor: epruvete, mikropipete, plastični nastavci za pipete i mikrokartice

Reagensi: fiziološka otopina, AHG

Oprema: centrifuga

Izvođenje testa:

1. Pripremiti 3-5%-tnu suspenziju eritrocita u fiziološkoj otopini (240 $\mu$ l fiziološke otopine + 10 $\mu$ l gustih eritrocita).
2. Eritrocite pupkovine potrebno je prije izvođenja testa oprati.
3. Mikrokarticu treba pregledati prije upotrebe.
4. Označiti odgovarajuće mjesto na mikrokartici.
5. Dodati 10 $\mu$ l suspenzije eritrocita.
6. Centrifugirati 5 min.

Rezultat je negativan ako su svi eritrociti na dnu stupca i čine ravan rub prema gelu ili mikrokuglicama.

Rezultat je pozitivan ako eritrociti nisu na dnu stupca.

Označavamo ga sa:

+4 – aglutinirani eritrociti se kao ravna crta na vrhu stupca

+3 – aglutinirani eritrociti su zadržani u gornjoj polovici stupca

+2 – aglutinirani eritrociti su vidljivi duž cijelog stupca, a manji broj eritrocita može bit vidljiv i na dnu

+1 – većina aglutiniranih eritrocita se nalazi u donjoj polovici stupca

+/- - ili slabo pozitivan većina eritrocita je na dnu stupca, ali ne formiraju ravan rub

Pozitivan DAT ukazuje na vezanje antitijela ili proteina sustava komplementa na površini djetetovih eritrocita.

### **3.7 Hemolitička bolest novorođenčadi**

Iako je simptome hemolitičke bolesti opisao još Hipokrat, tek je 1940 g. otkrićem Rh faktora spoznata prava etiologija ove bolesti. Rh pozitivni fetus senzibilizira Rh negativnu majku koja kao posljedicu toga počinje stvarati protutijela. Protutijela prolaze posteljicu i vežu se na fetalne eritrocite te ih uništavaju aglutinacijom i hemolizom pritom uzrokujući anemiju i hidrops fetusa.

U proteklih 25 godina poduzete su mjere kako bi se riješili problemi vezani uz Rh imunizaciju: otkrivanje senzibiliziranih majki Coombsovim testom, amniocenteza i analiza plodne vode mjerenjem razine bilirubina i daljnji postupak prema Lileyevom dijagramu, liječenje u trudnoći kortikosteroidima i invazivno intraperitonealnom transfuzijom te profilaksa protiv najčešćeg D antigena. <sup>(2)</sup>

Spomenute se metode većinom i danas koriste. Neki određeni nedostaci su ubrzano korigirani, a metode su se usavršile.

Danas se koriste:

- modificirana Lileyeva krivulja od 16. do 28. tjedna trudnoće
- analiza fetalne krvi dobivene kordocentezom
- intravaskularna transfuzija pod kontrolom ultrazvuka, omogućena kordocentezom



### 3.7.1. Rh(D) faktor

Kao što smo već spomenuli D antigen je najčešći i klinički najznačajniji Rh antigen. Ako ga ima dovoljno u kontaktu s primaoceom započinje stvaranje Rh aglutinata koji dosežu svoj maksimalni titar dva do četiri mjeseca od primarne senzibilizacije. Ako dođe do ponovnog kontakta to razdoblje je skraćeno na 10 do 14 dana. <sup>(2)</sup>

Postoje kompletna Rh antitijela koja spadaju u skupinu imunoglobulina M i koja zbog svoje mase većim dijelom ne uzrokuju hemolitičku bolest.

Za nju su odgovorna inkompletna Rh protutijela. To su imunoglobulini G koji imaju manju molekularnu masu, termostabilni su i prolaze posteljicu pri tom se vezujući za Rh pozitivne eritrocite fetusa.

Njihovo vezanje dovodi do aglutinacije. Aglutinirani eritrociti se uništavaju pomoću retikuloendotelnog sustava i komplemenata što konačno dovodi do hemolize eritrocita.

Rh(D) imunizacije je moguća već od 6 tjedna trudnoće jer fetus vrlo rano razvija Rh antigene. Mogućnost senzibilizacije se značajno povećava tijekom trudnoće.

Iako fetalni eritrociti prelaze u majčinu cirkulaciju već u prvoj trudnoći, njihova količina je premala da bi potaknula reakciju. U prilog tome ide i činjenica da se ponajprije stvaraju IgM protutijela, koja ne prolaze posteljicu, a tek poslije IgG protutijela. <sup>(2)</sup>

Najčešće najveća količina fetalne krvi prijeđe tek u trećem tromjesečju tako da trudnice obično nemaju problema u prvoj trudnoći. Razlog tome je nemogućnost majke da razvije protutijela na fetalne eritrocite.

Ako i dođe do stvaranja protutijela, stvaraju se male količine koje uzrokuju blagi oblik bolesti. Takvo stanje nema ozbiljne posljedice za dijete.

Nastanak teške Rh(D) imunizacije u prvoj trudnoći može biti posljedica ranije transfuzije Rh(D) pozitivne krvi zbog koje već postoje D antitijela u trudnice.

### **3.7.2. Postupak kod Rh negativne nesenzibilizirane trudnice**

Trudnici se na prvom pregledu određuje krvna grupa i Rh faktor. U slučaju da je trudnica Rh negativna po mogućnosti se određuje krvna grupa i Rh faktor i ocu. Razlog tome leži u činjenici da se Rh imunizacija neće dogoditi ako su oba roditelja Rh negativna.

Ako je otac Rh pozitivan, oko 18-20. tjedna trudnoće te 28-30. i 34-36 tjedna trudnoće se radi indirektni Coombsov test kako bi se utvrdilo odsustvo antitijela.

Zadnja provjera je određivanje krvne grupe i Rh faktora iz krvi djetetove pupkovine. Ako se antitijela još nisu stvorila, a dijete je Rh pozitivno, majka dobiva preventivno anti D. <sup>(2)</sup>

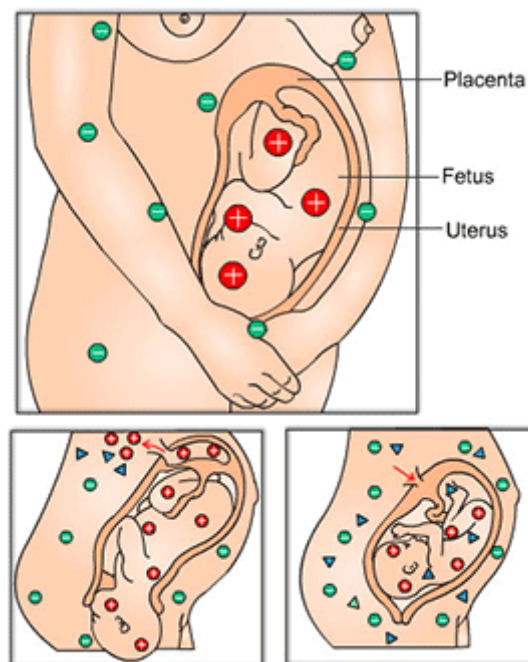
### **3.7.3 Postupak kod Rh negativne senzibilizirane trudnice**

Rh imunizaciji dokazujemo pozitivnim testovima senzibilizacije bez obzira na titar tj. količinu protutijela. Ako je dijete Rh negativno stvorena protutijela mu neće naštetiti jer nema antigena na koje bi se vezali. Zbog toga Rh negativno dijete neće razviti hemolitičku bolest novorođenčeta.

Ako trudnica nosi Rh pozitivno dijete najvažniji postupak je utvrditi stanje djeteta, odnosno intenzitet promjena i potrebu za terapijom. Ove trudnice su podvrgnute posebnim nadzorom u trudnoći. <sup>(2)</sup>

Metode otkrivanja stanja fetusa:

1. anamneza
2. titar antitijela
3. amniocenteza (razina bilirubina u plodnoj vodi, određivanje D antigena)
4. kordocenteza (razina hemoglobina i hematokrita te ostalih laboratorijskih pretraga dobivenih iz fetalne krvi)
5. ultrazvučno praćenje morfologije fetusa i posteljice
6. kardiotokografija i biofizički profil



Slika 6: Prikaz nastanka hemolitičke bolesti novorođenčadi (preuzeto s: <http://dremeilkamel.com.au/wp-content/uploads/2016/03/anti-d-injection.png>)

### 3.7.4. Klinička slika

Klinička slika može biti izuzetno različita. Od blagih oblika koji se zamjećuju tek poslije poroda i kod kojih nema potrebe za ikakvom terapijom do intrauterine smrti hidropsičnog djeteta već u 17. tjednu trudnoće. U dijagnostici bolesti prvo se pogoršanje stanja djeteta u okviru hemolitičke bolesti novorođenčeta vidi po povećanju količine plodne vode.<sup>(7)</sup>

Ako majka ne prima terapiju 45-50% djece razvit će ili vrlo blagu anemiju ili čak normalnu krvnu sliku, 25-30% umjerenu anemiju i žuticu poslije poroda te umjerenu hepatosplenomegaliju. Preostalih 20-25% djece razvit će tešku anemiju i kod njih polovice razvit će se hidrops.<sup>(2)</sup>

### 3.7.5 Terapija

Pokušaji u liječenju hemolitičke bolesti novorođenčadi su započeli već prije 50 godina. Cilj svake terapije je spriječiti tešku anemiju i hidrops fetusa kao i održati razvoj fetusa do zrelosti za porod.<sup>(2)</sup>

Metode koje pokušavaju spriječiti hemolizu i smanjiti količina antitijela su:

- terapija imunosupresivnim kortikosteroidima
- plazmafereza
- davanje posebno pripremljenih Rh pozitivnih eritrocita
- intravenozna primjena imunoglobulina
- intrauterina transfuzija

Najvažnija metoda je intrauterina transfuzija u kojoj se djetetu izravno daju eritrociti kako bi se nadoknadili.

Indikacije za intrauterinu transfuziju:

- fetalni hemoglobin niži od 100-110g/l
- hematokrit ispod 0,30
- znakovi hidropsa

Ova metoda omogućuje rađanje velikog broja djece blizu ili u samom terminu. Takav ishod znatno smanjuje perinatalni morbiditet i mortalitet.

### 3.7.6. Prevencija

U današnje vrijeme provodi se uspješna prevencija u razvoju Rh imunizacije. Vrlo važnu ulogu u nastanku imunizacije ima profilaksa.

Kao što smo već dosad spomenuli do imunizacije dolazi kada Rh negativna majka nosi Rh pozitivno dijete. Do kontakta s djetetovim eritrocitima može doći prilikom pobačaja, krvarenja u trudnoći zbog hematoma, abrupcije posteljice, zahvata u trudnoći poput aminocenteze, kordocenteze...

Kordocentoza u trudnoći daje točne podatke o težini bolesti te omogućuje izvođenje intravaskularne transfuzije kod fetusa. <sup>(8)</sup>

U trudnoći koja je prošla bez ikakvih intervencija i komplikacija također dolazi do prijelaza fetalnih eritrocita u majčin krvotok što dovodi do senzibilizacije majke. <sup>(2)</sup>

U svim prijašnjim navedenim situacijama majci se daje anti D uz prethodno dobiveni negativni Coombsov test koji dokazuje odsustvo antitijela. U slučaju pozitivnom Coombsovog testa, majci se ne daje anti D jer je majka već senzibilizirana.

Uobičajeni razmak u kojem se daje anti D nakon poroda je 72 sata. Ako slučajno trudnice ne dobiju prevenciju u ovom roku prakticira se davanje prevencije i do 14 dana nakon poroda.

Standardna doza sadrži od 250-300 ugi.m. ili 125- 250  $\mu$ g i.v. Jačina preparata se određuje prema količini protutijela u mikrogramima na 1 ml. <sup>(2)</sup>

Potrebno je naglasiti da će nakon profilakse indirektni Coombsov test biti jedno vrijeme pozitivan. Takav rezultat ne ukazuje na senzibilizaciju majke.

Žene kojima je određen slabi D ne smiju primiti anti-D. <sup>(3)</sup>

Prije uvođenja profilakse učestalost imunizacije je iznosila 1%. U 1980. godini se smanjila na 0,2%.

## 4. RASPRAVA

Dana 5.11.2015 godine na Bolničkoj transfuzijskoj jedinici KBC-a Split, odsjek za imunohematologiju, zaprimljena je trudnica koja je došla na redovna testiranja.

Pacijentica je rođena 18.02.1993. godine i ovo joj je prva trudnoća. Na odjel je došla sa zahtjevnicom za imunohematološko testiranje. Uzet joj je uzorak krvi iz vene u epruvetu s EDTA antikoagulansom te joj je određena krvna grupa, Rh D faktor i indirektni antiglobulinski test.

Rezultati testiranja su pokazali da se radi o trudnici krvne grupe B koja je Rh D negativna i čiji je indirektni antiglobulinski test također negativan što znači da u plazmi nisu pronađena antieritrocitna protutijela. Na temelju nalaza naručena je za sljedeću kontrolu u 28. tjednu trudnoće.

Na sljedećoj kontroli 11.04.2016. godine trudnici je napravljena pretraga za indirektni antiglobulinski test. S obzirom da je rezultat bio negativan tj. u plazmi nisu pronađena antieritrocitna protutijela sljedeća kontrola je zakazana u 34. tjednu trudnoće.

Trudnica je rodila 27.05.2016. godine.

Sljedeći dan je uzeta krv iz djetetove pupkovine u epruvetu s EDTA antikoagulansom. Nalazi su pokazali da je dijete Rh D pozitivno te je napravljen i direktni antiglobulinski test koji je bio negativan.

Isti dan majci smo ponovno odredili indirektni globulinski test koji je bio negativan.

S obzirom da u majčinoj plazmi nisu pronađena antieritrocitna protutijela a novorođenče je Rh D pozitivno obavezna je postpartalna imunoprofilaksa majke hiperimunim anti D gama globulinom.

Djelatnici koji su izvodili testove su odgovorni za točno i dosljedno izvođenje aktivnosti dok su liječnici koji ovjeravaju nalaze odgovorni za interpretaciju rezultata tih testova. Svi rezultati testova uz preporuku za imunoprofilaksu trebaju biti napisani u protokol na dežurnom mjestu ili imunohematološkom laboratoriju na Firulama, te ovjereni od odgovornog liječnika.

### **Interpretacija mogućih rezultata:**

Ako je dijete Rh D pozitivno, a:

1. IAT majke je negativan – majka treba primiti profilaksu
2. IAT majke je pozitivan – identifikacijom nisu potvrđena antitijela specifičnosti anti-D. Majka treba primiti imunoprofilaksu.
3. IAT majke je pozitivan – identifikacijom su potvrđena antitijela specifičnosti anti-D. Majka ne treba primiti imunoprofilaksu.

Ako je dijete je Rh D negativno – majka ne treba primiti imunoprofilaksu.

## 5. ZAKLJUČAK

Određivanje Rh faktora i direktnog antiglobulinskog testa je od iznimne važnosti za novorođenčad. Testiranje se stoga mora izvoditi pravilno i s oprezom jer pogrešno tumačenje i dobiveni lažni rezultati mogu imati fatalne posljedice.

Iako se danas ove pretrage u Republici Hrvatskoj izvode rutinski ne smijemo zaboraviti njihovu važnost. Stoga je naša zadaća dobiti točne, precizne i reproducibilne rezultate kako bi sa sigurnošću mogli izdavati vjerodostojne nalaze. U tom procesu ključnu ulogu ima kontinuirano provođenje unutarnje i vanjske kontrole. Drugi aspekt koji pridonosi takvim rezultatima je napredak u razvoju analitičkih metoda, uređaja, organizacije u laboratoriju, informatičkog sustava, a posljedično time i uvođenje automatizacije koja je skratila vrijeme za izvođenje pretraga i smanjila mogućnost grešaka.

S obzirom na vrijeme u kojem živimo kao i činjenice da je testiranje obavezno, bezopasno i na trošak Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje nedopustivi su smrtni slučajevi kod novorođenčadi.

Svaka trudnica bi trebala biti odgovorna i odlaziti redovito na kontrole kako bi osigurala sebi i svom djetetu odgovarajuću zdravstvenu zaštitu i smanjila mogućnost komplikacija koje uključuju i najgori mogući ishod - smrt djeteta.



## 6. LITERATURA

1. Čvorišćec D., Čepelal I.: Štrausova medicinska biokemija, Medicinska naklada, Zagreb, 2009; 2: 8-18.
2. Dražančić A., Kuvačić I., Grizelj V., Latin-Milković V.: Porodništvo, Školska knjiga, Zagreb, 1999.
3. Fung Kee Fung K, Eason E, Crane J, Armson A, De La Ronde S, Farine D, Keenan-Lindsay L, Leduc L, Reid GJ, Aerde JV, Wilson RD, Davies G, Desilets VA, Summers A, Wyatt P, Young DC. :Prevention of Rh alloimmunization. Maternal- Fetal Medicine Committee, Genetics Committee, J Obstet Gynaecol Can. 2003 Sep;25(9):765-73.
4. Grgičević D., Vuk T.: Imunohematologija i transfuzijska medicina, Medicinska naklada,Zagreb, 2000.
5. Grgičević D i suradnici:Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi, Medicinska naklada, Zagreb, 2006:235-253
6. Labar B., Hauptmann E.: Hematologija, Školska knjiga, Zagreb, 2007.
7. Matijević R., Grgić O., Klobučar A., Misković B.: Diagnosis and management of Rh alloimmunization. A retrospective analysis of a 5 year period. Fetal diagnosis and therapy, 2005; 20:391- 401.
8. Nicolaidis KH., Rodeck CH.: Maternal serum anti- D antibody concentration and assessment of rhesus isoimmunisation BMJ. 1992; 304(6835):1155–1156.
9. Radić D. (2015): Važnost određivanja Rh(D) antigena kod trudnica
10. Starčević M., Sović D., Dodig J., Zah-Mataković V., Zakanj Z.: Teška hemolitička bolest novorođenčeta uzrokovana anti-k protutijelom, Paediatr Croat 2008;52:249-252

## 7. SAŽETAK

### Uvod

Kroz povijest, napretkom medicine, se razvila iznimna svijest o važnosti određivanja eritrocitnih antigena i njihovih protutijela. Dva najvažnija sustava krvnih grupa su ABO i Rh. Rh sustav je najveći i najkompleksniji sustav krvnih grupa. Danas iz tog sustava u rutini najčešće određujemo pet antigena- C, c, D, E, e. Antigen D je protein koji se nalazi u membrani eritrocita i čije prisustvo određuje je li osoba Rh-D pozitivna ili negativna. Ako je majka Rh-D negativna, a dijete Rh-D pozitivno može doći do razvoja hemolitičke bolesti novorođenčadi. Ona nastaje zbog ubrzane razgradnje fetalnih eritrocita majčinim protutijelima i kod njenog određivanja najvažniju ulogu ima određivanje Rh-D antigena i direktnog antiglobulinskog testa.

### Cilj

Cilj rada je ukazati na važnost točnog, pravilnog i reproducibilnog određivanja Rh faktora i direktnog antiglobulinskog testa kod novorođenčadi.

### Izvori podataka i metode

Pravilno vođenje dokumentacije je temelj dobre laboratorijske prakse. Laboratoriji kontinuirano provode unutarnje i vanjske kontrole kako bi održali kvalitetu svog rada na najboljoj mogućoj razini. Uzorci iz kojih se izvode pretrage za određivanje Rh-D antigena i DAT mogu biti: krv iz pupkovine i krv iz epruvete s EDTA antikoagulansom. Metode koje koristimo se temelju na dokazivanju antigena na membranama eritrocita. Kod određivanja Rh-D antigena anti-D testni serum aglutinira eritrocite ako se na njima nalaze antigeni. Pozitivna reakcija se očitava prisustvom aglutinata i za tog pacijenta kažemo da je Rh-D pozitivan. Kod direktnog Coombsovog testa pozitivna reakcija ukazuje na vezanje antitijela ili proteina sustava komplemenata na površini djetetovih eritrocita. Izvođenje ovih testova je od iznimne važnosti za sprječavanje nastanka hemolitičke bolesti novorođenčadi koja može nastati kao uzročno posljedična veza između Rh-D negativne majke i Rh-D pozitivnog djeteta. U tom slučaju prethodno imunizirana trudnica stvara protutijela na djetetove eritrocitne antigene koje prolaze posteljicu i razaraju fetalne eritrocite. Oslobađa se velika količina

hemoglobina koja se ne može izlučiti pri tom izazivajući anemiju i hidrops fetusa. Klinička slika može biti različita i od iznimne je važnosti prevencija tj. dobivanje profilakse u roku od 72 sata nakon poroda.

### **Rasprava**

U raspravi je prikazan slučaj trudnice koja je zaprimljena na odjelu za transfuzijsku medicinu.

### **Zaključak**

Točno, precizno i reproducibilno određivanje Rh-D faktora i direktnog antiglobulinskog testa je od iznimne važnosti kod novorođenčadi. Testiranja su obavezna, bezbolna i besplatna stoga je zadaća svake trudnice odlaziti redovito na kontrole i testiranja kako bi osigurala sebi i svom djetetu najbolju moguću zdravstvenu skrb.

## **8. SUMMARY**

### **Introduction**

Throughout history, with the advance of medicine, extraordinary amount of awareness was developed about the importance of assessing erythrocyte antigens and their antibodies. Two most important systems of blood groups are ABO and Rh. The Rh system is the biggest and most complex system of blood groups. Today, from that system, five antigens- C, c, D, E, e, are by routine most frequently determined. Antigen D is a protein which is located within the membrane of the erythrocyte, and the presence of which determines whether a person is Rh-D positive or negative. If the mother is Rh-D negative, and the child Rh-D positive, hemolytic disease of the newborn may develop. It occurs because of accelerated decomposition of fetal erythrocytes caused by the mother's antibodies. For determination of hemolytic disease, the most important tests are: the test for Rh-D antigen and the direct antiglobulin test.

### **Objective**

The objective of this paper is to point out the importance of precise, correct and reproducible determination of Rh factors and direct antiglobulin test for the newborn.

### **Data sources and methods**

Correct record keeping is the foundation of good laboratory practice. Laboratories continuously conduct internal and external controls to keep the quality of their work on the best possible level. Samples from which the tests are derived for determining Rh-D antigens and DAT can be: the blood from the umbilical cord and the blood from test tubes with EDTA anticoagulant. Methods used are based on determining antigens on the membranes of erythrocytes. With assessing Rh-D antigen, anti-D test serum agglutinates erythrocytes if there are antigens on them. Positive reaction is established with the presence of the agglutinate, which means that the patient is Rh-D positive. With the direct Coombs test, positive reaction points to binding of antibodies or proteins of the complement system on the surface of the child's erythrocytes. Conducting of these tests is of exceptional importance for the prevention of occurrence of hemolytic disease of the newborn, which can develop as a causal-consequential link between the

Rh-D negative mother and the Rh-D positive child. In that case, the previously immunized expectant mother creates antibodies as a reaction to the child's erythrocyte antigens which pass through the placenta and destroy fetal erythrocytes. A great amount of hemoglobin is released, which cannot be excreted, inducing anemia and hydrops of the fetus. The clinical picture can differ and prevention is of great importance by means of getting prophylaxis within 72 hours after birth.

### **Discussion**

In the discussion, the case of an expectant mother who is received at the department of transfusion medicine is presented.

### **Conclusion**

Precise, correct and reproducible assessments of Rh factor and direct antiglobulin tests are of extreme importance to newborns. Tests are mandatory, painless and free of charge so the obligation of every expectant mother is to go regularly for controls and tests, to assure herself and her child of the best possible healthcare.

## 9. ŽIVOTOPIS

**IME I PREZIME:** Paola De Marchi

**DATUM ROĐENJA:** 07. 02. 1995.

**MJESTO ROĐENJA:** Split, Republika Hrvatska

**OIB:** 16859159804

**ADRESA I KONTAKT:** Gajeva 2  
21 000 Split  
mob: 091/152 2843

**OBRAZOVANJE:**

- 1. Opća gimnazija „Marko Marulić“**  
Maturirala sa odličnim uspjehom
- 2. Studentica Sveučilišnog odjela zdravstvenih studija**  
Smjer: **Medicinsko laboratorijska dijagnostika 3.god.**

**DODATNO OBRAZOVANJE:** Škola (Centar) za strane jezike (engleski, talijanski)

**POSEBNA ZNANJA, VJEŠTINE I POHAĐANI SEMINARI:**

1. Aktivno znanje engleskog jezika
2. Rad na računalu
3. Položeni vozački ispit B kategorije

**RADNO ISKUSTVO I ISKUSTVO U ORGANIZACIJSKIM POSLOVIMA:**  
aktivna sam u turističkoj djelatnosti. Organiziram i vodim kompletan apartmanski smještaj privatnog stana. Glavna mi je zadaća afirmirati goste, pružiti im sve relevantne

podatke, voditi kompletnu smještajnu uslugu, gostima biti na raspolaganju kod dolaska i odlaska, kao i kod svih upita, voditi rezervacije, naplate, dokumentaciju... Iznimnu pažnju poklanjam promoviranju Splita, ali i ostalih turističkih destinacija Splitsko-dalmatinske županije.

Trenutno radim u agencijama „ In Vida“ i „Spot“ kao hostesa. Radeći ovaj posao usavršila sam svoje komunikacijske vještine koja će mi sigurno pomoći u interakciji s pacijentima. Tijekom treće godine studija angažirana sam od strane Medicinskog fakulteta u Splitu kao vanjski suradnik odsjeka Mikrobiologije. Pomagala sam gosp. Ivani Gracin u pripremi materijala i vježbi za turnus koji su pohađali farmaceuti. Time sam stekla neprocjenjivo iskustvo u laboratoriju i izvrsnu praksu za svoju daljnju budućnost.

**AKTIVNOSTI I SKLONOSTI:** bila sam član planinarskog društva „Malačka“. I dalje sam aktivni planinar i izletnik. Kroz svoja mnogobrojna putovanja sam upoznala hrvatske i europske najatraktivnije turističke destinacije (npr. Rim, Pariz, London, Madrid...Zagreb), ali i one manje poznate, a također veoma zanimljive. Na svakom putovanju oplemenjujem se kulturom mjesta i tradicijom stanovništva. Iznimnu pažnju posvećujem prirodnim ljepotama, kulturnim znamenitostima i muzejima. To proizlazi i iz ljubavi prema našim tradicijskim vrijednostima. Završila sam školu folkloru kulturno umjetničkog društva „Jedinstvo“, poslije koje sam bila član mačevalačkog kluba „MK Split“. Među važnijim medaljama mi je osvojena brončana medalja sa državnog natjecanja. Ovaj državni rezultat, kao i visoki prosjek ocjena (5.0) mi je omogućio prvo mjesto na listi gradskih sportskih stipendija za nadarene učenike. I danas, premda se više ne bavim mačevanjem, zbog svojih ocjena na fakultetu primam gradsku stipendiju za nadarene učenike.

Uvijek rado stečem nova znanja i iskustva. Volim koristiti svoju kreativnost i ostvarivati vrhunske rezultate.