

# Važnost određivanja Rh(D) antigena kod trudnica

---

**Radić, Doris**

**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:176:179041>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Doris Radić**

**VAŽNOST ODREĐIVANJA RH(D) ANTIGENA KOD  
TRUDNICA**

**Završni rad**

Split, 2015.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Doris Radić**

**VAŽNOST ODREĐIVANJA RH(D) ANTIGENA KOD  
TRUDNICA**

***THE IMPORTANCE OF IDENTIFYING RH (D) ANTIGEN  
IN PREGNANT WOMEN***

***Završni rad / Bachelor thesis***

Mentor:

**Mirela Zec, mag. med. lab. dijagn.**

Split, 2015.

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Eritrocitne krvne grupe .....	1
1.2. Rh sustav eritrocitnih krvnih grupa .....	2
1.3. Parcijalni (nepotpuni) D.....	4
1.4. Protutijela u Rh sustavu krvnih grupa.....	5
1.5. Nasljeđivanje Rh sustava krvnih grupa.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>2. CILJ RADA</b> .....	7
<b>3. IZVORI PODATAKA I METODE</b> .....	8
3.1. Preporuke za određivanje Rh(D) antigena.....	8
3.1.1. Uzorci.....	9
3.1.2. Reagensi .....	10
3.1.3. Oprema .....	11
3.1.4. Kontrola kvalitete određivanja AB0, Rh i IAT-a .....	12
3.2. Metode određivanja Rh(D) antigena .....	13
3.2.1. Testni serumi i reagensi za određivanje krvnih grupa.....	14
3.2.2. Coombsov test.....	15
3.3. Rh imunizacija kod trudnica .....	16
3.3.1. Patofiziologija Rh imunizacije .....	16
3.3.2. Dijagnostika Rh imunizacije .....	18
3.3.3. Određivanje titra anti-D antitijela .....	18
3.3.4. Određivanje očevog i fetalnog Rh(D) statusa .....	19
3.3.5. Amniocenteza .....	20

3.4. Terapija Rh imunizacije .....	22
3.5. Hemolitička bolest novorođenčeta .....	24
3.5.1 Prevencija HBN u Rh negativnih trudnica- profilaksa.....	25
3.5.2. Anti-D imunoglobulin, Rh0(D) .....	26
4.1. Prikaz kliničkog slučaja.....	26
<b>4. RASPRAVA .....</b>	<b>27</b>
<b>5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>29</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>30</b>
<b>7. SAŽETAK .....</b>	<b>31</b>
<b>8. SUMMARY .....</b>	<b>33</b>
<b>9. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>35</b>

# 1. UVOD

## 1.1. Eritrocitne krvne grupe <sup>(1)</sup>

Krvne grupe možemo opisati kao nasljedne osobine na krvnim stanicama: eritrocitima, leukocitima, trombocitima i proteinima u plazmi, a kodirane su genima nasljeđenim od roditelja.

Ovaj rad posvećen je Rh (D) antigenima koji se nalaze na membrani eritrocita pa ćemo se zadržati upravo na krvnim grupama koji se nalaze u sklopu eritrocita.

Eritrocitna membrana je polupropusni lipidni dvosloj, a antigeni su sastavni dijelovi molekula te membrane ili submembranskih struktura. <sup>(5)</sup>

Na samoj membrani nalazi se više od 650 različitih eritrocitno krvno grupnih obilježja-antigena, a sa napredkom medicine svakim danom se otkrivaju novi antigeni i dobivamo nova saznanja o onim već otkrivenima.

Eritrocitne krvne grupe imaju važne biološke funkcije za organizam:

- One su mjesta za koja se vežu različite supstance koje se nalaze u krvi
- Služe kao transportni proteini za važne kemijske molekule
- Vezna su mjesta za određene citokine
- Sudjeluju u regulaciji aktivacije komplementa

Prema kemijskoj građi, biološkim značajkama i načinu nasljeđivanja antigeni su klasificirani u 23 sustava eritrocitnih krvnih grupa, imenima : ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNSs, P, Ii, Lewis, Lutheran...

Zbog velike težine posljedica koje nastaju nakon transfuzije inkompatibilnih eritrocita, upravo ABO i Rh sustavi krvnih grupa najvažniji su od svih sustava krvnih grupa.

Zbog toga inkompatibilne transfuzije u ovom sustavu krvnih grupa uzrokuju brzo razaranje eritrocita unutar krvnih žila, a takva stanja mogu trajno narušiti zdravlje pacijenta ili čak u najgorem slučaju završiti smrtnim ishodom.

Anti-Rh protutijela nisu prisutna u krvi neimuniziranih osoba i po tome se razlikuju od ABO sustava krvnih grupa.

Antigeni iz Rh sustava jaki su imunogeni, a to znači da potiču reakciju imunog sustava. Zbog tog svojstva snažne imunogenosti, osobe koje nemaju te antigene (Rh negativne osobe) potiču imunološki odgovor i stvaranje iregularnih protutijela.

Poznavanje antigena i protutijela eritrocitnih krvnih grupa važno je za:

- Provođenje sigurnog transfuzijskog liječenja
- Prevenciju Rh(D) senzibilizacije u žena
- Prevenciju hemolitičke bolesti u novorođenčeta (HBN)
- Dijagnozu i liječenje autoimunih

## **1.2. Rh sustav eritrocitnih krvnih grupa <sup>(1)</sup>**

Rhesus sustav krvnih grupa dobio je naziv po vrsti rezus makaki majmuna. Upravo zahvaljujući toj vrsti majmuna zabilježena je prva reakcija antigen – antitijelo u ovom sustavu. Otkriće se dogodilo 1940te godine, kada su Landsteiner i Wiener injicirali krv rezus makaki majmuna (*Macaca rhesa* = *Macacus rhesus* = *Macacus mulattus*) u cirkulacijski sistem kunića. Tako imunizirani kunići razvili su protutijelo koje je reagiralo sa 80% eritrocita. <sup>(4)</sup>

To otkriće dovelo je do podjele među ljudima, na one rhesus pozitivne i rhesus negativne. Prisustvo rezus antigena na eritrocitima označava se kao Rh+, a njegovo odsustvo kao Rh-. Procjenjuje se da je kod 85% svjetskog stanovništva prisutan rhesus antigen, a njegovo prisustvo/odsustvo uvjetovano je genetskim nasljeđem. Također uočena je geografska rasprostranjenost i predispozicija određenih populacija da budu rhesus negativne ili pozitivne.

**Tablica 1. Relativne frekvencija Rh- krvne grupe u odabranim populacijama(%)<sup>(4)</sup>**

<b>Populacija</b>	<b>Rh-(%)</b>
Australija	19
Austrija	18
Bosna i Hercegovina	15
Danska	16
Finska	13
Hong Kong	< 1,5
Južna Koreja	0,35
Kanada	4,9
Njemačka	15
SAD	15
Europski prosjek	15

Kao jedan od najsloženijih sustava krvnih grupa, u rhesus sustavu do danas je otkriveno 51 antigen iz tog sustava, ali za rutinski rad dovoljno poznavanje pet antigena iz tog sustava. To su antigeni: C,c,D,E,e.

Kada govorimo o strukturnom ustroju, Rh antigeni su proteini. Njihov smještaj na eritrocitnoj membrani nalazi se u sklopu ostalih proteina te ti antigeni čine grupu proteina koje nazivamo Rh kompleksom. Antigeni D su proteini u membrani koji samo djelomično ističu iznad nje, a prisutnost ili odsutnost antigena D na eritrocitima određuje je li osoba Rh(D)pozitivna ili Rh(D)negativna. <sup>(4)</sup>



### 1.3. Parcijalni (nepotpuni) D

Parcijalni D je nepotpuno izražen antigen D. On može nastati kao posljedica smanjenog broja antigena D na eritrocitnim membranama ili kao nedostatka dijela molekule antigena D. Osobe u kojih nedostaje dio molekule D antigena mogu stvoriti anti-D protutijela protiv dijela antigena D koji im nedostaje, iako je riječ o Rh(D) pozitivnim osobama. Važno je prepoznati pacijente sa nepotpunim D jer se kod njih transfuzijsko liječenje provodi Rh(D) negativnom krvi, upravo kako bi se izbjeglo stvaranje protutijela i imunizacija. Kod trudnica koje imaju parcijalni D primjenjuje se Rh(D) profilaksa. <sup>(7)</sup>

### 1.4. Protutijela u Rh sustavu krvnih grupa <sup>(4)</sup>

Ono što je specifično za protutijela iz Rh sustava krvnih grupa jest to da se ona gotovo nikad ne nalaze u serumu zdravih osoba koje nikad nisu bile liječene transfuzijom ili nisu bile trudne. Protutijela u ovom sustavu imuna su protutijela koja nastaju kada je osoba bila transfundirana eritrocitima na kojima se nalaze antigeni koje ona sama nema, ili je žena u trudnoći imunizirana djetetovim eritrocitima koji su ušli u njen krvotok, a dijete je te antigene naslijedilo od oca. Prema tome na membrani fetalnih eritrocita se nalaze antigeni koje majka nema na svojim eritrocitima ali otac djeteta ima.

Rh protutijela	
<b>Klinička značajnost</b> <b>Da</b>	<b>Razred protutijela</b> <b>IgG</b>
<b>Temperaturni raspon</b> <b>4 - 37°C</b>	<b>HBFN</b> <b>Da</b>
<b>Transfuzijske reakcije</b>	
<b>Ekstravaskularna</b>	<b>Intravaskularna</b>
<b>Da</b>	<b>Ne</b>

Slika1. Značajke Rh protutijela<sup>(4)</sup>

Jednom imunizirana osoba ostaje imunizirana tokom čitavog života. U većini slučajeva to se može dokazati nalazom protutijela u serumu, ali njihov titar s vremenom opada. Nakon određenog vremena titar može postati toliko nizak da se protutijela ne mogu otkriti pomoću rutinskih testova. Tek kada imunizirana osoba dođe u ponovni dodir s antigenima na inkompatibilnim eritrocitima nastaje sekundarni imunološki odgovor u kojem nastaje brzi porast protutijela. To se događa u tijeku ponovne trudnoće ili kod inkompatibilnog liječenja transfuzijom.

U serumu imuniziranih osoba najčešće se otkrivaju anti-D protutijela, a zatim s opadajućom učestalošću anti-E, anti-c i anti-e.

Kada govorimo o protutijelima u Rh sustavu krvnih grupa uočene su neke zajedničke osobine:

- Gotovo su uvijek imuna protutijela
- Većinom su u klasi IgG, a rijetko u klasi IgM
- Mogu nastati imunizacijom u trudnoći ili nakon transfuzije Rh(D) pozitivne krvi kod Rh(D) negativnih pacijenata
- Ona ne mogu aktivirati komplement
- Sposobna su uzrokovati ekstravaskularnu hemolizu
- Uzrokuju hemolitičku bolest u novorođenčadi (HBN)

## 1.5. Nasljeđivanje Rh sustava krvnih grupa <sup>(1)</sup>

Rh antigeni su produkti gena s dva blisko smještena lokusa (D i CcEe).

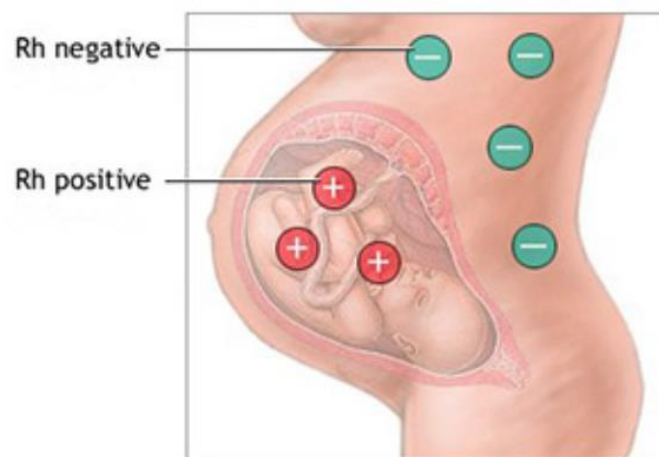
Na prvom lokusu se nalazi gen D, RhD gen. Na drugom lokusu se nalazi jedan od četiri alela (ce, Ce, cE i CE), RhCE gen. Nasljeđivanje ovih gena prati Mendelov model nasljeđivanja gena s 2 alela. Rh geni pripadaju seriji multiplih alela budući da se imunološkim testovima mogu detektirati mnoge podvrste ova dva glavna tipa alela.

Rh haplotipovi	Prevalencija (%)		
	Bjelci	Afrikanci	Azijati
DCe	42	17	70
DcE	14	11	21
Dce	4	44	3
DCE	<0,01	<0,01	1
ce	37	26	3
Ce	2	2	2
cE	1	<0,01	<0,01
CE	<0,01	<0,01	<0,01

Slika 2. Prevalencija Rh haplotipova među rasama<sup>(4)</sup>

Rh geni nasljeđuju se kao kompleksi dvaju haplotipova, jedan od oca i jedan od majke. Haplotip možemo opisat kao set svih alela različitih lokusa jednog kromosoma, koji su odgovorni za ekspresiju promatranog svojstva, u ovom slučaju prisutstvo ili odsutstvo Rh(D) antigena. Rh geni su kodominantni i antigeni koje oni određuju nalaze se na eritrocitnoj membrani.

Na eritrocitima se, prema tome, uvijek nalaze antigeni C i/ili c , odnosno E i/ili e. D-antigen nema svojeg para, Radi pojednostavljenog shvaćanja nasljeđivanja, taj antigen koji nedostaje u stručnoj se literaturi označava samo d. Rh(D) pozitivna osoba uvijek je od roditelja nasljedila jedan ili dva Rh(D) gena. Rh(D) negativna osoba nema ni jedan Rh(D) gen, a samim time nema ni Rh(D) antigen na eritrocitima.



Slika 3. Rh negativna majka nosi Rh pozitivno dijete<sup>(10)</sup>

## **2. CILJ RADA**

Cilj ovog rada je ukazati na važnost određivanja Rh(D) antigena kod trudnica u svrhu izbjegavanja stvaranja protutijela kod trudnica te nastanka hemolitičke bolesti novorođenčeta. Općenito govoreći, određivanje Rh(D) antigena je rutinski test čija je korisnost od vitalne važnosti za majku i za dijete. Uzorak za analizu je venska krv, te samo uzorkovanje nije ni približno riskantno i invazivno koliko je velika korist od samog provođenja testa.

Svaka trudnoća trebala bi biti praćena određivanjem AB0 krvne grupe i Rh(D) faktora majke, a ukoliko je riječ o rhesus negativnoj pacijentici, onda je potrebno nastaviti praćenje u narednim mjesecima trudnoće. Tako uočavamo da li je došlo do pojave razvitka protutijela kod majke. Ukoliko se razviju protutijela tada je potrebno u redovnim vremenskim razmacima uzorkovati majčinu krv i pratiti titar protutijela. Ovisno o visini titra određuje se daljnji slijed trudnoće, a po potrebi se intervenira intrauterinim transfuzijama ili se čak primijenjuje prijevremeni porod. Kvalitetno i pouzdano određena prisutnost ili odsutnost Rh(D) antigena jedan je od imperativa za urednu prenatalnu skrb trudnica i sigurno iznošenje trudnoće.

### **3. IZVORI PODATAKA I METODE**

#### **3.1. Preporuke za određivanje Rh(D) antigena <sup>(6)</sup>**

Svi postupci određivanja, način provođenja osiguranja i kontrole kvalitete testiranja, vođenje dokumentacije i zapisa moraju biti detaljno opisani u slijedu postupaka, radnim uputama i/ili standardnim operativnim postupcima.

Preporuke i radne upute moraju biti dostupne i pri ruci svim djelatnicima koji provode i nadziru provođenje određivanja Rh(D) antigena.

Sve medicinske ustanove koje izvode ova testiranja moraju sudjelovati u programima vanjske kontrole kvalitete. Ukoliko rezultati kontrole nisu uredni mora se pokrenuti postupak provjere opreme i svih procesa uključenih u izvođenje testa. Postupak provjere, rezultati, zaključak i korektivne mjere moraju biti dokumentirani i pohranjeni. Kao i kod svih drugih laboratorijskih testova, mora se provoditi kontinuirana kontrola kvalitete rada.

Svaka pogreška mora biti detaljno obrazložena i opisana na sljedeći način:

- mora biti jasno dokumentiran razlog zbog kojeg je došlo do pogreške
- u pisanom obliku mora biti detaljno opisan postupak kojim se pogreška uklonila
- moraju biti jasno naznačene moguće posljedice promjena

### 3.1.1. Uzorci <sup>(6)</sup>

Uzorci za određivanje Rh(D) antigena moraju biti uzeti u epruvete s antikoagulantnom otopinom (etilen tetra-octenom kiselinom/EDTA uzorak).

U pisanim uputama treba biti:

- opisan način čuvanja uzoraka prije početka testiranja
- opisan način obaveznog vizualnog pregleda uzorka kojim se utvrđuje prikladnost uzorka za testiranje
- jasno definirana nesukladan uzorak
- opisan točan način postupka s nesukladnim uzorcima

Nesukladni uzorci su:

- hemolitični uzorci
- lipemični uzorci
- uzorci s ugrušcima
- uzorci s nedovoljnom količinom krvi
- uzorci u kojima je nezadovoljavajući omjer količine eritrocita i plazme

Uzorci za određivanje Rh(D) antigena moraju biti obilježeni „barkod brojem“ i odgovarajućim mu alfanumeričkim brojem koji se jasno može pročitati. Uloga takvog obilježavanja uzorka je svodenje postanalitičkih grešaka (greške kao što su npr. Krivo izdavanje nalaza, zamjena pacijenta...) na minimum. Pravilno obilježavanje uzorka te njegova sljedivost je temelj dobre laboratorijske prakse.

### 3.1.2. Reagensi <sup>(6)</sup>

Za sve reagense koji se koriste u testiranju ovlaštena medicinska ustanova mora voditi zapise o podacima koji potvrđuju prikladnost svakog korištenog reagensa upotrijebljenog pri testiranju uzoraka.

Svaki lot i/ili pošiljka reagensa prije upotrebe mora proći propisanu ulaznu kontrolu. Rutinska upotreba reagensa bez provedene i zapisom ovjerene ulazne kontrole nije dozvoljena.

Skladištenje i način upotrebe reagensa moraju biti u skladu s uputama proizvođača. Za reagense proizvedene unutar samog laboratorija moraju postojati pisani postupci o kontroli ulaznog materijala, validiranju i kontroli opreme, načinu proizvodnje, procesne i završne kontrole reagensa. Moraju postojati zapisi u kojima se evidentiraju postupci od početka proizvodnje do izdavanja reagense za korištenje.

Pisanim postupcima mora biti:

- izraženi najmanje sljedeći elementi vezani uz reagense:
  1. broj serije(lot) reagensa
  2. datum isteka roka valjanosti reagensa
  3. naziv proizvođača i/ili dobavljača i količina reagensau skladištu
- osigurana jasna sljedljivost tijekom uporabe svake serije reagensa korištenih u testiranju svakog uzorka
- opisan način upravljanje zalihama reagensa na način „first in first out“ uz naglasak da se prvo koriste reagensi s najkraćim rokom uporabe

### 3.1.3. Oprema <sup>(6)</sup>

Prije uvođenja u rutinsku upotrebu ispravnost rada svakog aparata mora biti provjerena (validirana) sukladno pisanim normama. Za svaki aparat potrebno je posjedovati validacijski plan unutar kojega su detaljno opisani postupci koji se moraju provesti da bi se utvrdilo da se s opremom pouzdano dobivaju ispravni rezultati. Način korištenja, čišćenja i kalibriranja aparata moraju biti opisan u pisanim uputama koje u potpunosti moraju biti u skladu s preporukama proizvođača.

Nakon završetka popravka i/ili kalibriranja aparata, te prije početka puštanja u rutinski rad, mora biti opisan postupak načina kontrole aparata. Ukoliko se tijekom korištenja aparata odstupa od uputa proizvođača, svaki postupak treba biti opisan i potvrđen validacijskim postupkom.

Za svaki uređaj čija upotreba može utjecati na rezultat testova mora postojati Dnevnik opreme u kojem moraju biti zabilježeni najmanje sljedeći podaci:

- 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

Ovi zapisi moraju se čuvati kako bi se u slučaju pogrešnog rezultata u određivanju antigena moglo točno utvrditi zbog čega je i kada došlo do pogreške.



### 3.1.4. Kontrola kvalitete određivanje AB0, Rh i IAT-a <sup>(6)</sup>

Postupci kontrole kvalitete moraju biti u potpunosti u suglasju s preporukama proizvođača reagensa i opreme.

Potrebno je pridržavati se sljedećeg minimuma:

- Kontrola reagensa i testnih stanica za određivanje ABO i RhD krvnih grupa mora se provoditi najmanje jedan puta dnevno i/ili obavezno kada se počinje koristiti nova serija reagensija
- Anti-A, anti-B, anti-AB moraju dati odgovarajuće reakcije s A1, B i O testnim eritrocitima.
- Eritrociti poznate ABO krvne grupe moraju dati odgovarajuće rezultate s anti-A, anti-B, anti-AB testnim reagensima.
- Anti-D reagens mora dati odgovarajuće reakcije s jednim RhD negativnim i jednim RhD pozitivnim testnim eritrocitima.
- Kontrola izvođenja IAT-a izvodi se kontrolnim reagensom koji sadrži  $\leq 0,5$  IU/mL anti-D protutijela
- Kontrola reagensa za određivanje Rhesus fenotipa na potpuno automatskim sustavima mora se provoditi jedan puta dnevno i/ili obavezno kada se počinje koristiti nova serija reagensa
- Kontrola reagensa za određivanje Rhesus fenotipa na poluautomatskim sustavima ili ručnim metodama mora se provoditi tijekom izvođenja svake serije zbog opasnosti od kontaminacije i/ili zamjene reagensa

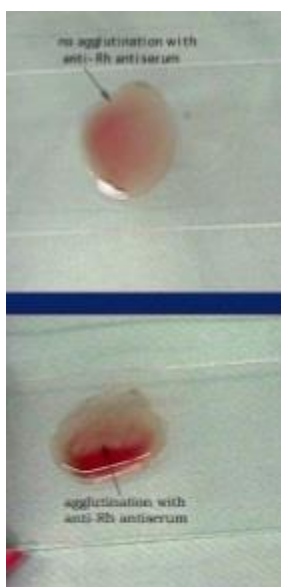
### 3.2. Metode određivanja Rh(D) antigena <sup>(4)</sup>

Rh(D) krvna grupa određuje se isključivo dokazom antigena na membrani eritrocita.

Anti-D testni serum aglutinira Rh(D) eritrocite, tj one eritrocite na čijoj je membrani prisutan Rh(D)antigen. Prisutstvo aglutinata označava pozitivnu reakciju, koja određuje da je ta osoba Rh(D) pozitivna.

Kada je direktnom metodom određivanja s anti-D testnim serumom koji se sastoji od IgG protutijela reakcija bude negativna (izostanak aglutinata) tada je potrebno test završiti u IAT-u da se dokaže je li riješ o parcijalnom D ili D negativnim eritrocitima.

Određivanje prisutstva parcijalnog D obavezno je u trudnica i novorođenčadi radi procijene mogućnosti nastanka i prevencije hemolitičke bolesti novorođenčadi.



Slika 4. Određivanje krvne grupe na pločici <sup>(4)</sup>



Slika 5. Određivanje krvne grupe u epruveti <sup>(4)</sup>

### 3.2.1. Testni serumi i reagensi za određivanje krvnih grupa

Eritrocitne krvne grupe određujemo iz uzorka krvi dokazom prisutstva antigena na eritrocitnoj membrani. Krvne se grupe mogu određivati monoklonski ili poliklonski testnim serumima.

Monoklonske testne reagencije dobivaju se in vitro u kulturi stanica koje su bile podvrgnute genskom inženjerstvu. Sva protutijela napravljena su umjetnim putem u laboratoriju i prema tome imaju istu specifičnost koja nam je već unaprijed poznata, i ona je usmjerena spram jedne antigenske determinante. <sup>(1)</sup>

Poliklonski testni serumi dobiveni su imunizacijom ljudi poznatog zdravstvenog statusa ili imunizacijom laboratorijskih životinja. Oni su za razliku od monoklonskih testnih seruma, mješavina protutijela iste specifičnosti, ali protiv različitih antigenskih determinanti istog antigena. <sup>(5)</sup>



Slika 6. ,7. Serumi za određivanje eritrocitnih krvnih grupa <sup>(9)</sup>

### **3.2.2. Coombsov test**

Naziv Coombsov test ili antiglobulinski test (AGT) odnosi se na dvije kliničke krvne pretrage upotrebljavane u imunohematologiji i imunologiji. Postoje dva podtipa - direktni i indirektni Coombsov test. <sup>(2)</sup>

#### **Direktni Coombsov test**

Direktni antiglobulinski test je detekciju antigena na površini eritrocita *in vivo*. On detektira IgG antitijela koja se mogu specifično vezati na površinu membrane eritrocita, te povezani sustav komplementa. Kod direktnog Coombsovog testa uzima se uzorak krvi, ispiru se eritrociti (otklanja se plazma pacijenta) i zatim se eritrociti inkubiraju s vrstom globulina nazvanom *Coombsov reagens*. Ako dođe do reakcije s Coombsovim reagensom stvara se aglutinacija eritrocita, i onda kažemo da je direktni Coombsov test pozitivan, tj. vizualna su indikacija da su se antitijela ili proteini sustava komplementa vezali za površinu eritrocita. <sup>(2)</sup>

#### **Indirektni Coombsov test**

Indirektni antiglobulinski test koristi se za prenatalno testiranje trudnih žena, te pri testiranju krvi prije transfuzije. Također detektira antieritrocitna protutijela koja su nevezana prisutna u serumu pacijenata. Dakle, u ovom testu se serum inkubira s eritrocitima, i ako dođe do aglutinacije, indirektni Coombsov test je pozitivan.

Indirektni Coombsov test koristi se također za detekciju antitijela u pripremi krvi za transfuziju krvi, zato što donorova i primateljeva krv mora biti kompatibilna po ABO odnosno po Rh(D)antigenu kako ne bi došlo do akutne hemolitičke reakcije, te se koristi za procjenu rizika hemolitičke bolesti novorođenčadi. <sup>(2)</sup>

**Tablica 2. Rizici za trudnoću s obzirom Rh faktor roditelja <sup>(2)</sup>**

Majka	Otac	Dijete	Rezultat
-	-	-	Nema opasnosti za dijete
+	+	+	Nema opasnosti za dijete
+	+	-	Nema opasnosti za dijete
+	-	-	Nema opasnosti za dijete
+	-	+	Nema opasnosti za dijete
• (majka nije senzibilirana)	+	+	Nema rizika, ali je nakon poroda potrebno majci dat Rh-imunoglobulin
• (majka je senzibilirana)	+	+	Tijekom trudnoće treba dodatno pratiti stanje majke i djeteta
-	+	-	Nema opasnosti za dijete

### 3.3. Rh imunizacija kod trudnica

#### 3.3.1. Patofiziologija Rh imunizacije

Rh imunizacija u trudnoći pojavljuje se kao imunološki odgovor majke na kontakt sa eritrocitnim antigenima djeteta koje je naslijedio od oca. Najčešći uzročnici Rh imunizacije su tzv. regularni Rhesus (Rh) eritrocitni antigeni skupine D, C/c, i E/e. Od spomenutih antigena, samo dva antigena RhD i RhC, te neuobičajeni Kell antigen mogu uzrokovati fetalnu anemiju koja zahtijeva liječenje tokom trudnoći.<sup>(3)</sup>

Prelazak plodovih eritrocita u majčin krvotok je normalna pojava koje se pojačava kako odmiče trudnoće.

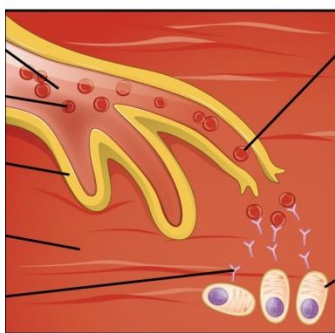
**Tablica 3. 0,01ml fetalne krvi kod trudnica po tromjesečjima (%) <sup>(6)</sup>**

1.trimjesečje	2.trimjesečje	3.trimjesečje
0,01 ml fetalne krvi kod 3% trudnica	0,01 ml fetalne krvi kod 12% trudnica	0,01 ml fetalne krvi kod 46% trudnica

Imunološki odgovor majčinog organizma može potaknuti samo dovoljno velika količina fetalnih eritrocita koji sadrže antigene koje majka nema, a rizik od imunizacije proporcionalan je jačini fetomaternalnog krvarenja. Najčešći uzročnici Rh imunizacije su vidljiva i nevidljiva krvarenja nepoznatog uzroka, pobačaji, prenatalni invazivni zahvati, normalni i operativno dovršeni porođaj, opstrukcija posteljice, ektopična trudnoća, transfuzija Rh inkompatibilne krvi itd.

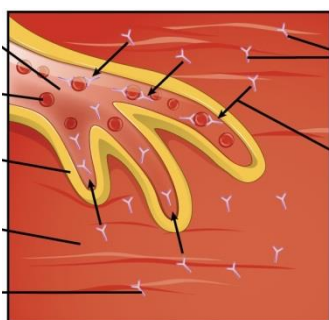
Proces imunizacije odvija se u dvije faze:

1. Pri prvom susretu s kritičnom količinom djetetova Rh(D) antigena, majčin imunološki sustav posredstvom B limfocitnog klona stvara antitijela iz klase imunoglobulina M (IgM) i priprema se za stvaranje antitijela iz klase imunoglobulina G (IgG).



Slika 8. Prva trudnoća Rh negativne žene koja nosi Rh pozitivan plod<sup>(10)</sup>

2. Ponovni susret fetalnog RhD antigena s memorijskim B limfocitima uzrokuje drugačiji imunološki odgovor majke: ubrzano i pojačano stvaranje IgG antitijela i proliferaciju plazma stanica.



Slika 9. Druga trudnoća Rh negativne žene koja nosi Rh pozitivan plod<sup>(10)</sup>

IgM antitijela su kratkog roka trajanja, a zbog velike molekularne mase ne prelaze placentnu barijeru, a s toga ni nemogu izazvati imunizaciju.

IgG antitijela zbog male molekularne mase lako prelaze posteljličnu barijeru, hemoliziraju RhD pozitivne fetalne eritrocite i uzrokuju hemolitičku bolest fetusa i novorođenčeta.

Težina bolesti je različita: od posve lakih oblika koji se uoče tek nakon porođaja blagim simptomima, pa do najtežih formi koje mogu završiti čak i intrauterinom smrću polda. <sup>(3)</sup>

### **3.3.2. Dijagnostika Rh imunizacije**

Dijagnostički postupak podrazumijeva otkriće bolesti i procjenu stupnja težine fetalne anemije. Dijagnoza Rh imunizacije se postavlja pomoću određivanja titra anti-D antitijela, a potreban nam je i očeva Rh(D) status, a ponekad i RhD status fetusa. Za procjenu težine fetalne anemije koristi se kombinacija titra antiD antitijela, amniocenteza i dopler. <sup>(3)</sup>

### **3.3.3. Određivanje titra anti-D antitijela**

Vrijednost titra možemo odrediti pomoću različitih laboratorijskih testova. Vrijednost izražavamo kao najveći stupanj razrjeđenja s pozitivnom aglutinacijskom reakcijom. Za određivanje nazočnosti i koncentracije IgG antitijela u kliničkoj praksi najčešće se koristi humani indirektni antiglobulinski test (IAT), poznat i kao Indirektni Coombsov test (ICT) o kojem smo već govorili u ovom radu.

Slani i albuminski test su manje pouzdani i koriste se tek sporadično. Slanim testom se određuju nazočnost i koncentracija IgM antitijela, a albuminskim testom nazočnost i koncentracija IgM i IgG antitijela. <sup>(1)</sup>

Granični ili kritički titar IAT za tešku fetalnu anemiju razlikuje se i ovisno o laboratoriju jer ne koriste svi laboratoriji jednake reagense i aparate, a može varirati od 1:8 do 1:32. U Hrvatskoj se kao granični titar za primoimunizaciju uglavnom rabi vrijednost od 1:32, a rjeđe 1:16.

Kod primoimunizacije se preporuča određivanje IAT jedan put mjesečno do 24 ili 28 tjedna, a poslije toga u dvotjednim intervalima.

Možemo reći da pozitivan IAT ukazuje na prisutnost Rh imunizacije kod pacjente, a porast titra na pogoršanje fetalne anemije uglavnom kada govorimo o primoimunizaciju. Kod trudnica koje su već ranije imale teške oblike Rh imunizaciju procjena fetalne anemije na osnovu titra i dinamike antitijela nije pouzdana parametar pa se treba usredotočiti na neke druge i pouzdanije dijagnostičke metode. Takve trudnice zahtijevaju posebno i pojačano prćenje tokom trudnoće. <sup>(3)</sup>

Također treba voditi računa i o tome da prethodno imunizirane trudnice koje nose Rh(D) negativno djete u aktualnoj trudnoći mogu imati porast titra anti-D antitijela čak i iznad kritičnih vrijednosti.

Kliničar treba voditi računa o takvim mogućnostima jer je svaka trudnoća različita i treba dobro proučiti anamnezu pacjente kada je riječ o RhD antigenima i imunološkom odgovoru majčinog organizma. S obzirom da laboratoriji u Hrvatskoj nisu standardizirani nalaze titra antitijela iz različitih laboratorija treba kritički interpretirati, a što se tiče nalaza unutar jednog laboratorija oni ne bi trebali varirati više od jednog razrjeđenja. <sup>(4)</sup>

### **3.3.4. Određivanje očevog i fetalnog RhD statusa**

Kada određujemo očev Rh(D) status trebmo provjeriti podatak o očinstvu. Ukoliko je taj podatak pouzdan i ako je otac RhD negativan, dalje kontrole nisu potrebne jer će dijete biti RhD negativno. Ako je otac RhD pozitivan treba odrediti očev zigocitet jer postoji 50% vjerojatnost da je otac RhD pozitivni homozigot odnosno 50% RhD pozitivni heterozigot.



Očev zigocitet tradicionalno određujemo serološkom metodom, a u novije vrijeme određuje se i metodom lančane reakcije polimerazom (PCR metodom). Kod izračuna vjerojatnosti očeva zigociteta serološkom metodom koriste se gotove tablice, podatke o očevim RhC/c i E/e antigenima, Rh statusu njegove prethodno rođene djece te podatak o rasnoj pripadnosti oca.

Serološkom metodom se postavlja dijagnoza očeva Rh(D) fenotipa, a točnost ove metode u određivanju Rh(D) statusa oca doseže do 97%.

PCR metodom se dijagnosticira očev Rh(D) genotip, a točnost u određivanju očeva zigociteta na ovaj način je čak 100%. Ako se pokaže da je otac Rh(D) pozitivni homozigot potreban je daljnji nadzor jer će tada i djeteta biti Rh(D) pozitivno.

U slučaju da je otac Rh(D) pozitivni heterozigot potrebna je daljnja dijagnostika. Treba odrediti Rh(D) status fetusa jer postoje 50% šansi da je fetus Rh negativan.

Ukoliko se ne postavi pravovremena dijagnoza Rh(D) negativnog fetusa posljedice su brojni dijagnostički postupci te nepotrebni stres za trudnicu.

U nekim zapadnim zemljama koristi se neinvazivna metoda određivanja fetalnog Rh(D) statusa izravno iz majčine plazme. Metoda se temelji se na izolaciji, umnažanju i analizi fetalne izvanstanične (cell-free) DNA "real-time" PCR metodom. Na ovaj način moguće je odrediti fetalni Rh(D) genotip već od prvog tromjesečja trudnoće, a točnost metode iznosi 100%. Metoda ima brojne prednosti jer osim što je neinvazivna a timr potpuno bezopasna za plod i zadržavanje trudnoće (nema opasnosti od pobačaja), ova metoda također omogućava i ciljanu profilaksu Rh imunizacije.<sup>(3)</sup>

### **3.3.5. Amniocenteza**

Kod amniocenteze dijagnostički princip se temelji na činjenici da jačina fetalne anemije izravno kolerira s razinom bilirubina u plodovoj vodi. Taj bilirubin nastaje iz hemoliziranih fetalnih eritrocita, te što je ta anemija snažnija to će biti viša koncentracija bilirubina u plodovoj vodi.

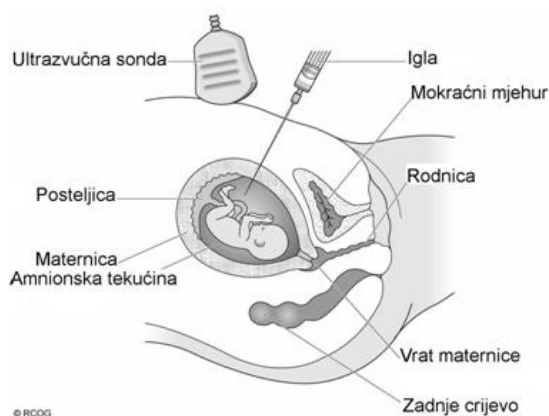
Koncentracija bilirubina u plodovoj vodi određuje se spektrofotometrijskom metodom na valnoj duljini od 450nm.

Dobivena vrijednost uspoređujemo s koncentracijom bilirubina u normalnim trudnoćama. U tu svrhu najčešće se koristi Lileyev dijagram koji ima ograničenu pouzdanost u predviđanju fetalne anemije prije 27 tjedna. Zbog toga postoji i alternativni dijagram s definiranim vrijednostima bilirubina između 14. i 40. Tjedna trudnoće.

Sve do prije desetak godina upravo je amniocenteza bila glavna i najkorištenija dijagnostička metoda kojom se procjenjivala težine fetalne anemije.

Glavni nedostatak amniocenteze je invazivnost i opasnost od pobačaja pa se danas sve za procijenu težine fetalne anemije koristi određivanje iz majčine krvi. Također, zabilježena su fetomaternalna krvarenja koja mogu uzrokovati pogoršanje bolesti kada se promjenjuje amnioceteza.

Invazivnost amniocenteze je osobito neprihvatljiva ako postoji mogućnost intrauterinih transfuzija tijekom trudnoće. Danas se amniocenteza uglavnom koristi za prenatalnu Rh(D) genotipizaciju fetusa. <sup>(8)</sup>



Slika 10. Provođenje postupaka amniocenteze<sup>(9)</sup>

### 3.4. Terapija Rh imunizacije

Srednje teški i teški oblici Rh imunizacije se danas isključivo liječe intrauterinom transfuzijom (IUT). Svrha zahvata je izbjegavanje ekstremnog prematuriteta, a radi se najdalje do 35. tjedna.

Ekstremno teški oblici iziskuju liječenje prije 20. tjedna, a u tu skupinu se ubrajaju trudnice koje su u prethodnoj trudnoći imale fetalnu smrt u ranom drugom trimestru i/ili iznimno visoki titar antitijela. Za liječenje u obzir dolazi intraperitonealna transfuzija, plazmafereza i davanje imunoglobulina.

Svrha ove terapije je preživljavanje fetusa nakon 20. tjedna trudnoće nakon čega je tehnički moguće učiniti intravaskularnu IUT. Istovremeno treba imati na umu da je rizik od gubitka ploda 10 puta veći ukoliko se kordocenteza radi prije 22. tjedna.

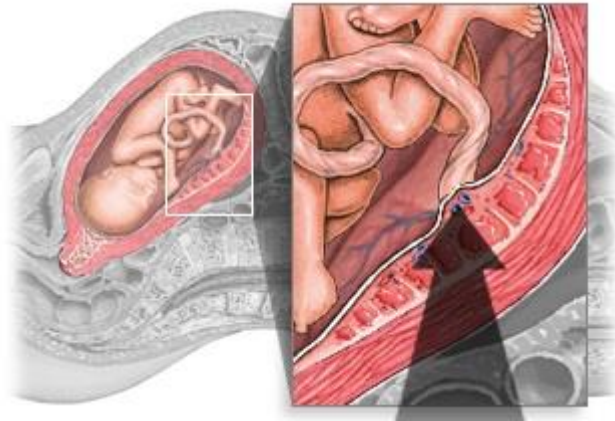
Krv koja se daje fetusu treba biti:

- "0" Rh (D) negativna s hematokritom 75–85%
- Svježe donirana
- Testirana na najvažnije zarazne bolesti. <sup>(6)</sup>

Visoki hematokrit omogućuje željeni terapijski efekt s malim volumenom krvi.

Odabir mjesta punkcije treba pažljivo unaprijed isplanirati, a prvenstveno ovisi o smještaju posteljice i samog ploda unutar maternice. Najbolji način primjene je ako se može izbjeći posteljica i punktirati pupkovina uz posteljicu. Kao alternativa ostaje punkcija slobodne pupkovine. Odabir igle ovisi o gestacijskoj dobi i konstituciji same trudnice, a najčešće se koriste promjeri od 18 do 22 G. Također, ukoliko se pokaže potreba za time, plod se može privremeno anestetizirati davanjem neuromuskularnih blokatora pankuronija 0,3mg/kg ili vekuronija u dozi od 0,1 mg/kg ultrazvučno procijenjene težine.

Kod primjene intrauterine transfuzije potrebno punktirati venu ploda jer se za razliku od arterije zbog šireg promjera lakše punktira i omogućuje bržu IUT.



Slika 11. mjesto uvođenja igle tokom primjene intrauterine transfuzije<sup>(11)</sup>

Protok krvi koja se vidi za vrijeme transfuzije pouzdan je pokazatelj da je vrh igle uspješno postavljen unutar lumena krvne žile. Zbog straha od pojave bradikardije i asistolije IUT se prije davala izrazito sporo, brzinom 1 do 3 ml/min. Iskustvo je pokazalo da se može bez opasnosti davati brzinom od 10mL/min.

Prije transfudiranja krvi obavezno treba uzeti prvo uzorak za određivanje fetalne crvene krvne slike, a isto treba ponoviti na kraju samog zahvata. Količina krvi koju treba dati ovisi o početnom hematokritu, gestacijskoj dobi i hematokritu donorske krvi. Cilj IUT je postići hematokrit od 40–50%.

Nakon jedne, a pogotovo nakon višekratnih IUT povećava se viskoznost plodove krvi zbog visokog hematokrita donorske krvi i osobina adultnih eritrocita koji imaju manju čvrstoću, pojačanu agregaciju i smanjeni afinitet hemoglobina za kisik za razliku od fetalnih eritrocita. <sup>(8)</sup>

### 3.5. Hemolitička bolest novorođenčeta (HBN) <sup>(2)</sup>

Kod hemolitičke bolesti novorođenčeta (HBN) skraćen je vjek života eritrocita ploda i to zbog prisutstva majčinih protutijela u fetalnom krvotoku.

Patofiziologija nastanka bolesti:

- Trudnica mora biti predhodno izložena Rh(D)antigenima koji se ne nalaze na njenim eritrocitima
- Izloženost antigenu uzrokuje imunizaciju i stvaranje antitijela
- Antitijela moraju imati svojstvo transplacentarne difuzije ( supklase IgG1 i IgG3)
- Na eritrocitima ploda moraju se nalaziti antigeni na koje je trudnica imunizirana
- Retikulo endotelni sustav fetusa mora biti sposoban razgraditi vlastite eritrocite obložene majčinim protutijelima

Izgled novorođenčeta koji upućuje na hemolitičku bolest je prisutstvo žutice ili se žutica javi uskoro posle porođaja i brzo se pojačava. Također kada se dijete rodi izrazito blijedo i kada se blijedilo pojačava bez ikakvih znakova krvarenja. Moguće je i da su prisutni edemi i da je plodova voda žutozelene, a posteljica izrazito tamne boje.

Tada je potrebno uzorkovati krv novorođenčeta. Pregledom krvi ustanovi se visok postotak bilirubina (20 mg %, pa i više), izražena eritroblastoza sa retikulocitozom, smanjen broj zrelih oblika eritrocita i hemoglobina.

U slučaju Rh inkompatibilne krvi, odnosno serumu novorođenčeta, potrebno je provesti laboratorijske testove (direktan Coomb-sov test) kojima se lako može dokazati prisutstvo odgovarajućeg antitijela. Zbog velike važnosti pravovremenog početka liječenja, u svim sumnjivim slučajevima odmah po rođenju treba uzorkovati 15-20 ml krvi iz pupkovine ploda. Nakon rođenja djeteta imuna razgradnja eritrocita može se očitovati raznim kliničkim slikama, ovisno o težini bolesti:

1. Blaga anemija
2. Teža anemija popraćena žuticom kao posljedicom prekomjerne koncentracije hemoglobina nastale razgradnjom eritrocita
3. Icterus gravis neonatorum
4. Hydrops fetus universalis

### 3.5.1. Prevencija HBN u Rh negativnih trudnica- profilaksa <sup>(7)</sup>

Profilaksa je riječ za lijek koji se koristi da bi se spriječila imunizacija trudnice. Rhesus ili anti-D profilaksa znači davanje lijeka koji se zove anti-D imunoglobulin da bi se spriječilo da žena stvara antitijela protiv RhD-pozitivnih krvnih zrnaca i da bi se spriječila hemolitička bolest novorođenčeta.

Za potpuno uspješnu imunoprofilaksu Rh(D) imunoglobulin mora biti primljen nakon svakog mogućeg imunizacijskog poticaja i to:

- Unutar 72 sata od imunizacijskog poticaja

- Ako RhD imunoglobulin nije primljen unutar 72 sata, a primjeni se do 10 dana može se postići određeni postotak zaštite

Zaštitno svojstvo anti-D imunoglobulina traje samo nekoliko mjeseci, tako da se tretman mora ponoviti tokom i poslije svake trudnoće. Anti-D imunoglobulin se daje kao injekcija ili u mišić (intramuskularna injekcija) ili u venu (intravenozna injekcija).

Upravo zahvaljujući rhesus profilaksi sa anti-D imunoglobulinom, imunizacija tokom trudnoće i poslije rođenja djeteta može se sada u velikoj mjeri spriječiti.

Tokom trudnoće:

- Svim trudnim ženama koje su RhD-negativne i koje nemaju antitijela protiv D-antigena se preporučuje da prime profilaksu sa anti-D imunoglobulinom. To će biti ili kao jedna injekcija između 28. i 30. tjedna trudnoće ili kao dvije injekcije 28. i 34. tjedna trudnoće. Ovo je poznato kao 'rutinska prenatalna profilaksa'.

Poslije poroda

- Poslije poroda, potrebno je testirati krv djeteta. Ako se otkrije da je beba Rh(D)-pozitivna, majka će dobiti još jednu injekciju anti-D imunoglobulina, obično u roku od 3 dana od porođaja. Ovo je poznato kao 'postnatalna profilaksa'.

## Komplikacije tokom trudnoće

- Ponekad tokom trudnoće može doći do mješanja majčine krvi sa krvlju ploda. Tada je također postoji opasnost od imunizacije Rh negativne majke plodovim antigenima. Dodatne injekcije anti-D imunoglobulina mogu biti potrebne poslije događaja koji potencijalno mogu izazovati imunizaciju poput:
  - Prijetećeg pobačaja ili pobačaja koji je u toku
  - Vanmaterične trudnoće
  - Prekida trudnoće
  - Vaginalnog krvarenja
  - Ozljede na području abdomena, poslije pada ili prometne nesreće

### 3.5.2. Anti-D imunoglobulin, Rh0(D)

Anti-D imunoglobulin se izrađuje od plazma koji se prikuplja od davaoca poznatog i višestruko provjerenog zdravstvenog statusa. Kako bi se u potpunosti izbjegao prijenos virusa i mnogih zaraznih bolesti od davaoca na osobu koja prima anti-D imunoglobulin, provode se brojna testiranja i nadtestiranja. <sup>(1)</sup>

## 4.1. Prikaz kliničkog slučaja

11.11.2015. godine primili smo krv trudnice u kojoj smo nakon testiranja primjetili slabije izražen Rh(D) antigen. U plazmi nisu pronađena antieritrocitna protutijela. Indirektni i direktni antiglobulinski test pokazali su se negativni.

Nakon pronalaska slabo izraženog Rh(D) antigena, trudnicu smo vodili kao Rh(D) negativnu, te je krv poslana na genotipizaciju u Zagreb.

Nalaz genotipizacije pokazao je prisutnost slabog D tip 1. Kod osoba nositelja slabog D antigena tip 1,2 ili 3 ne dolazi do imunizacije, te zbog toga nije bilo potrebno da ova trudnica primi anti-D imunoprofilaksu. Nakon što smo Rh(D) genotipizacijom potvrdili da je trudnica slabi D tip 1 počeli smo je voditi kao Rh(D) pozitivnu. Nije bilo straha od imunizacije trudnice, te je trudnoća uspješno iznešena bez potrebe za primjenom imunoprofilakse.

## 4. RASPRAVA

Pravilno i pravovremeno određivanje Rh(D) antigena kod trudnica obavezan je dio natalne skrbi svih razvijenih zemalja. Međutim, sustavi za otkrivanje Rh(D) antigena ponekad znaju zakazati, ili može doći po pogreške uzrokovane ljudskim faktorom medicinskog osoblja, i onda se javljaju problemi. Laboratorijsko testiranje krvi trudnice ima ključnu ulogu u određivanju Rh(D) antigena, i zato je bitno da se to testiranje provede na najispravniji mogući način. Potrebno je striktno se pridržavati protokola, uporabljivat isključivo ispravne i prikladne reagense, pratiti najpreciznije dijagnostičke metode, a sve to u svrhu pravovremene dijagnostike i uklanjanja potencionalno opasnih stanja za trudnicu i novorođenče. Komunikacija između laboratorija i kliničara, u ovom slučaju ginekologa, je također jako važna. Moguće su pogreške zamjena uzorka pacjenta pa je potrebno svaku sumnju na moguću nepravilnost i pogrešku prijaviti i izvršiti provjeru na svim razinama testiranja. Na ginekologu je da uzme detaljnu anamnezu trudnice i da sve klinički relevantne podatke prosljedi laboratoriju, upravo u svrhu suzbijanja broja potencionalnih pogrešaka i da se omogući pružanja kvalitetne medicinske skrbi. Značajan napredak analitičkih tehnika, laboratorijskih uređaja, informacijskih tehnologija, automatizacije i organizacije omogućio je postizanje visokoga stupnja analitičke kvalitete tokom određivanja Rh(D) antigena kod trudnica i uz sve te povlastice nedopustivo je da dođe do pogreške zbog nepotpune anamneze ili zamjene uzoraka.

Potrebno je, međutim napomenuti da Rh(D) negativne trudnice ponekad ostanu ne prepoznate. Razlog tomu je što neke žene ne posjećuju redovito ginekologa tokom trudnoće. Kod takvih pacjenta velike su šanse za Rh(D) imunizaciju, pogotovo jer se često radi o ženama višerotkinjama koje ne primaju adekvatnu lječničku skrb. Ovakvi prizori su nažalost vrlo česti u nerazvijenim zemljama svijeta i njihovi ishodi nerijetko rezultiraju imunizacijom majke i oboljenjem djeteta od hemolitičke bolesti novorođenčeta. Uprava zbog toga u Hrvatskoj od obvezatnih laboratorijskih pretraga već pri prvom pregledu radimo: kompletnu krvnu sliku (KKS), seroreakcije na lues, krvnu grupu i Rh faktor, te testove senzibilizacije u Rh negativnih trudnica.



Ovakvim programo rane dijagnostike omogućeno je sigurno praćenje svake trudnoće i u slučaju prisutstva bilo kakvih anomalija, liječnički tim ovakvom ranom dijagnostikom ima vremena osmisliti plan liječenja koji će sigurno provesti kada za to dođe vrijeme. Zahvaljujući programu ranog određivanja Rh(D) antigena kod trudnica u Hrvatskoj se postotak imuniziranih trudnica iz godine u godinu smanjuje. U razdoblju od 1991. do 1999. iznosilo je 0,46% , dok je od 2000. do 2006. tek 0,38% imuniziranih trudnica. <sup>(3)</sup>

Rođenje zdravog djeteta i uredno iznošenje trudnoće nije posljedica sretnog spleta okolnosti već je rezultat usklađenog rada odjela i laboratorija. Također kada se dogodi imunizacija zadatak laboratorija je da brzom intervencijom uoči prisutstvo razvijenih protutijela i omogući pacijentici da primi profilaksu.

## 5. ZAKLJUČAK

Svaka medicinski obrazovana osoba upoznata je s ozbiljnim posljedicama koje imunizacija donosi sa sobom. U radu su bili opisani brojni mogući ishodi za majku i plod ukoliko dođe do imunizacije, a onaj najgori mogući ishod je upravo smrt novorođenčeta. Nedopustivo je da u 21.stoljeću uz svu izmišljenu tehnologiju koja se koristi u medicinsko laboratorijskoj dijagnostici neko dijete umre zbog izostanka određivanja Rhesus faktora kod majke.

Zadaća je svih nas koji smo uključeni u proces dijagnostike da taj posao radimo precizno i ispravno, jer posljedice naših pogrešaka mogu biti doslovno fatalne. Određivanje Rh(D) antigena kod trudnica danas je u Hrvatskoj pretraga koja se obavlja rutinski, no nasmijemo u toj svojoj rutini zaboraviti na snagu važnosti koju ta pretraga nosi sa sobom.

Jedna od brojnih pogodnosti ove važne pretrage je ta da je testiranje potpuno bezopasno za plod, kao uzorak se koristi majčina venska krv, i sa toga stajališta nema razloga da se Rh testiranje izbjegne kao što je slučaj kod vrlo invazivne amneocenteze koju majke često odbijaju upravo u strahu za sigurnost ploda. Samo testiranje obavlja se u 12.tjednu trudnoće preko uputnice i besplatno je za trudnicu, nema potrebe da se testiranje izbjegne zbog lošeg financijskog statusa. Obveza svake odgovorne trudnice je da se podvrgne određivanju Rh(D) antigena, tim više što je testiranje u Hrvatskoj besplatno i time dostupno svima.

## 6. LITERATURA

1. Grgičević, Damir ; Vuk, Tomislav. Imunohematologija i transfuzijska medicina, Zagreb: Medicinska naklada, 2000.
2. Grgičević, Damir ; Skodlar, Jasna. Odabrana poglavlja iz transfuzijske medicine, Zagreb: 1992..
3. Hundrić Hašpl, Željka. Imunohematološka dijagnostika i prevencija RhD imunizacije, Hrvatski zavod za transfuziju
4. Golubič Čepulić, Branka. Rh sustav krvnih grupa, Split: 2014.
5. Štraus, Božidar; Petrik, József. Štrausova medicinska biokemija / Čvorišćec, Dubravka ; Čepelak, Ivana (ur.). Zagreb : Medicinska naklada, 2009; 2: 8-18.
6. Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Preporuke za imunohematološko testiranje darivatelja krvi u transfuzijskoj djelatnosti RH, Zagreb: 2015
7. The use of anti-D immunoglobulin for Rhesus D prophylaxis. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists – Medical Specialty Society Guideline 2011.
8. Bowman JM. Treatment options for the fetus with alloimmune hemolytic disease. Transfus Med Rev 1990;4:191–207
9. Serumi za određivanje eritrocitnih krvnih grupa i provođenje postupka amniocenteze];  
preuzeto s: [www.hdgo.zr](http://www.hdgo.zr) portal Hrvatskog društva za ginekologiju
10. Prikaz stvaranja majčinih antitijela tokom trudnoće  
Preuzeto s: [m.ufhealth.org](http://m.ufhealth.org)
11. Slika mjesto uvođenja igle tokom primjene intrauterine transfuzije  
Preuzeto s: <http://www.eurogentest.org/index.php?id=160>

## 7. SAŽETAK

### Uvod

U uvodu se objašnjava da krvne grupe predstavljaju nepromjenljive biološke karakteristike koje se po Mendelovim zakonima, faktorima naslijeđa, genima, prenose sa generacije na generaciju (nalaze se na: eritrocitima, leukocitima, trombocitima i na proteinima plazme). Suština podjele na krvne grupe sastoji se u tome što eritrociti pokazuju izoantigenske osobine, sadržeći mnoge antigene koje se pomoću antitijela mogu dokazati. Pored podjele na ABO grupe, postoji i rhesus faktor (Rh faktor), koji je dobio naziv po Rhesus majmunu kod koga je i prvi put otkriven. Svi ljudi se dijele na Rh+ (rh pozitivne) i Rh- (rh negativne). Ljudi sa Rh+ krvlju stvaraju rhesus protein, dok ga ljudi sa Rh- krvlju ne stvaraju. Kod trudnoće, Rh faktor se nasljeđuje. Ako je majka Rh-, postoji šansa od 50% do 100% da će dijete biti Rh+ (pod uvjetom da je otac Rh+). Tokom poroda, plodova krv može doći u kontakt sa krvlju iz posteljice te se može pokrenut stvaranje imunog odgovora kod majke. Majka će poslje poroda stvoriti antitijela i trajno će biti imunizirana.

### Cilj

Cilj ovog rada je ukazati na važnost određivanja Rh(D) antigena kod trudnica u svrhu izbjegavanja ozbiljnih zdravstvenih posljedica za majku i plod.

### Izvori podataka i metode

U svakom laboratoriju postoji točno određeni protokol koji se mora slijediti kod određivanja Rh(D) antigena, a važno je pravilno i potpun pridržavati se pravila. Da bi se izbjegla imunizacija trudnica testiranja se moraju provoditi u propisanim vremenskim razmacima sukladno navedenom protokolu. Ukoliko se ipak razvi imunizacija, na laboratoriju je da istu pravovremeno dijagnosticira a kada dođe vrijeme za intervenciju da poduzmu potrebne korake u daljnjem liječenju. U dijagnostici se moramo služiti najboljom dostupnom opremom i metodama a sve u svrhu uspješnog praćenja i liječenja trudnica i novorođenčadi.

## **Zaključak**

Određivanje Rh(D) antigena jedan je od imperativa prenatalne dijagnostike. Samo testiranje je neinvazivno i potpuno sigurno za plod, a koristi od testiranja su mnogobrojne i velike. Bolesti koje uzrokuje Rh(D) imunizacija majke ozbiljne su sa čak potencionalno smrtnim ishodom za plod i zato je bitno da se Rh(D)antigen majke odredi na vrijeme i da se daljnja trudnoća vodi u skladu sa Rhesus faktorom majke. Jedino tako možemo pravovremeno reagirati ako dođe do porasta titra antitijela tokom trudnoće, a tako možda i spasiti život djeteta i omogućiti sigurne naredne trudnoće pacjente.

## **8. SUMMARY**

### **Introduction**

The introduction explains that blood types are immutable biological characteristics which, according to Mendel's laws, heritage factors, genes, passed from generation to generation (found at: erythrocytes, leukocytes, platelets and plasma proteins). The essence of the division of the blood is to show that the erythrocytes isogenese properties, comprising, many antigens using the antibodies can be demonstrated. In addition to the division of the ABO groups, there is Rhesus factor (Rh factor), which is named after the Rhesus monkey with whom he first discovered. All people are divided into Rh + (Rh positive) and Rh (Rh negative). People with Rh + blood created rhesus protein, while people with Rh blood does not create. In pregnancy, Rh factor is inherited. If the mother is Rh, there is a chance of 50% to 100% that the baby will be Rh + (providing that the father Rh +). During childbirth, the blood of mother may come in contact with blood from the placenta and can be initiated the creation of an immune response in the mother. Mother after giving birth can create antibodies and will be permanent immunized.

### **Objective**

The objective of this paper is to point out the importance of determining the Rh (D) antigen in pregnant women to prevent serious health consequences for the mother and fetus.

### **Sources of information and methods**

In each laboratory there is a specific protocol that must be followed in determining the Rh (D) antigen, and it is important to properly and fully comply with the rules. To avoid immunization of pregnant women testing must be carried out at prescribed intervals in accordance with said protocol. If, however, spread immunization, the laboratory is that the same timely diagnosed and when the time comes for the intervention to take the necessary steps to further treatment. The diagnostics have to use the best available equipment and methods all in favour of successful monitoring and treatment of pregnant women and newborns.

## **Conclusion**

Determination of Rh (D) antigen is one of the imperatives of prenatal diagnosis. The testing is non-invasive and completely safe for the fetus, and the benefits of testing are numerous and large. Diseases caused by Rh (D) immunization of mothers are serious with even potentially fatal to the fetus, and therefore it is important that the Rh (D) antigen mothers determine the time and that further pregnancies are conducted in accordance with the Rhesus factor mother. The only way we can react if there is an increase in the antibody during pregnancy, and so you might as well save the life of a child and enable secure subsequent pregnancies of the patient.