

UDK 618.3-097

ISSN 0350-2899, 37(2012) br.1 p.10-13

Učestalost različitih vrsta antitela kod trudnica sa pozitivnim indirektnim antiglobulinskim testom

Incidence of various types of antibodies in pregnant women with positive indirect antiglobuline test results

Tatjana Gavrančić (1), Milana Milanović (1), Brane Gavrančić (2)

(1) Zavod za transfuziju krvi Vojvodine, Novi Sad, (2) Medicinski fakultet Novi Sad

Sažetak: Različite vrste antitela u serumu mogu biti posledica aloimunizacije u trudnoći i uzrok pojave hemolitičke bolesti novorođenčeta. Cilj ovog rada bio je da se utvrdi koja su antitela bila uzrok pozitivnog Coombs-ovog testa i koja od njih su uzrokovala teži oblik aloimunizacije koji je kasnije rezultirao potrebom za primenom eksangvinotransfuzije. Materijal i metode: U retrospektivnoj studiji analizirana je pojava aloimunizacije trudnica tokom 8 godina, od januara 2003. godine do januara 2011. godine, testiranih na Zavodu za transfuziju krvi Vojvodine. Studijom je obuhvaćeno 742 trudnice sa pozitivnim Coombs-ovim testom. Prisustvo antigena utvrđeno je uz pomoć ID kartica na aparatu Swing TwinSampler proizvođača DiaMed. Nakon toga određena je vrsta i titar antitela u serumu trudnice. Rezultati: Pozitivan indirektni antiglobulinski test zbog prisustva pasivnih antitela nakon profilakse Rhogamom nađen je kod 76,01% (564) trudnica. 22,24% trudnica (165 trudnica) od svih koje su imale pozitivan Coombs-ov test bilo senzibilisano, sa sledećom distribucijom antitela: 44,85% anti-D (74), 1,12% anti-D+C (20), 9,69% anti-M (16), 2,42% anti-E (4), 1,82% anti-C (3), 0,61% anti-D+E (1), 1,82% anti-K (3), 0,61% anti-S+K (1), 1,1% anti-S (2), 3,03% anti-Lea(5) i 1,1% iregularnih antitela (35). Zaključak: U većini slučajeva aloimunizacije u trudnoći najznačajniju ulogu, uprkos profilaktičke primene Rhogama, i dalje ima RhD krvno grupni sistem, mada i druga antitela koja su ređe prisutna imaju veliki pojedinačni značaj.

Ključne reči: aloimunizacija, trudnoća, RhD antitela

Summary: Various types of serum antibodies can be found as a consequence of alloimmunization in pregnancy and a cause of hemolytic disease of newborn. The aim of this study was to determine what types of antibodies were the cause of positive Coombs test results and which of them had caused severe alloimmunization which led to the need for exsanguinotransfusion administration. Material and methods: occurrence of alloimmunization in pregnancy was analysed in the retrospective study performed in an 8 year period, from January 2003 to January 2011 at Blood Transfusion Institute in Vojvodina. The study included 742 pregnant women with positive Coombs test results. The presence of antigens was determined by use of ID cards on DiaMed's Swing TwinSampler Instrument. Afterwards the type and titer of antibody in serum of pregnant women were determined. Results: positive indirect antiglobuline test due to presence of passive antibodies after prophylaxis with Rhogam was found in 76.01% (564) pregnant women. 22.24% of all pregnant women with positive Coombs test results were sensibilised with the following antibody distribution: 44.85% anti-D (74), 1.12% anti-D+C (20), 9.69% anti-M (16), 2.42% anti-E (4), 1.82% anti-C (3), 0.61% anti-D+E (1), 1.82% anti-K (3), 0.61% anti-S+K (1), 1.1% anti-S (2), 3.03% anti-Lea(5) and 1.1% irregular antibodies (35). Conclusion: in most cases of alloimmunization in pregnancy the most important role, in spite of prophylaxis with Rhogam, still plays RhD blood group system; nevertheless other less frequent antibodies have huge individual significance as well.

Key words: alloimmunization, pregnancy, RhD antibodies

UVOD

Aloimunizacija u trudnoći je i dalje značajna tema u transfuzijskoj medicini. Rizici za maternalnu aloimunizaciju su: fetomaternalna hemoragija u trudnoći i tokom porođaja, invazivne procedure u trudnoći kao što su biopsija horionskih čupica i amniocenteza, subklinička i klinička ablacija placente, drugi razlozi prenatalnog krvarenja, blant

trauma, manuelna placentalna ekstakcija, prethodne transfuzije krvnih produkata, spontani i indukovani abortusi. Samo 0.01 ml fetomaternalnog krvarenja je dovoljno uz potentnu Rh antigenost, i za aloimunizaciju. [1] Nakon prve senzibilizacije dolazi do stvaranja imunoglobulina M (IgM) antitela. IgM antitela su hladna antitela i ona ne mogu proći kroz placentu u krv fetusa, niti izazvati hemolitičku

bolest novorođenčeta (HBN). U sledećoj trudnoći dolazi do stvaranja IgG antitela koja mogu proći kroz placentu [1]. Kada serum trudnica sadrži klinički značajnu količinu IgG antitela usmerenog protiv antigena na površini crvenih krvnih zrnaca fetusa, transfer antitela kroz placentu u krv fetusa može izazvati destrukciju fetalnih crvenih krvnih zrnaca i prouzrokovati HBN[2]. Hemolitička bolest novorođenčeta može biti različitog stepena, od subkliničkog oblika bolesti do najtežeg oblika ove bolesti - hydrops fetalisa koji podrazumeva srčanu insuficijenciju i genralizovani edem, pa i sledstvenu smrt fetusa [1]. Dokazano prisustvo antitela u krvi trudnice zahteva dalje testiranje ostalih krvno grupnih sistema majke kao i tipa antitela. Identifikacija tipa i titra antitela pomaže da se utvrdi rizik za HBN i da li je neophodan pažljiv monitoring nivoa ovih antitela[1]. Cilj ove studije bio je da se utvrdi zastupljenost različitih antitela koja su uzrokovala pozitivan nalaz indirektnog Coombs-ovog testa kod trudnica, kao i to koja od njih su bila razlog primene eksangvinotransfuzije kod novorođenčadi ispitivanih trudnica.

MATERIJAL I METODE

Sprovedena je retrospektivna studija analize aloimunizacije trudnica tokom 8 godina, od januara 2003. godine do januara 2011. godine, testiranih na Zavodu za transfuziju krvi Vojvodine. Na Zavodu za transfuziju krvi Vojvodine testiraju se trudnice sa regiona Vojvodine, koji obuhvata oko 2 miliona stanovnika, kojima je bio utvrđen pozitivan indirektni Coombs-ov test. Skrining program je podrazumevao testiranje prisustva antigena različitih krvnih grupa, titra i tipa antitela kod RhD negativnih trudnica gestacijske starosti od 10 do 34 nedelje gestacije sa pozitivnim indirektnim antiglobulinskim testom (IAT). Nije obuhvaćena analiza ABO inkompatibilije. U nekim slučajevima zahtevala se i analiza krvne grupe oca deteta. Prisustvo antigena rađeno je uz pomoć ID kartica na aparatu Swing TwinSampler proizvođača DiaMed. Trudnice kod kojih je utvrđeno prisustvo antitela praćene su jednom mesečno do 7 meseca trudnoće, a zatim dva puta mesečno.

REZULTATI

Od svih testiranih trudnica izdvajaju se trudnice koje su RhD negativne. Ukupan broj RhD negativnih trudnica sa pozitivnim IAT testom po godinama bio je: 2003. godine- 96, 2004. godine 72, 2005. godine 96, 2006. godine 101, 2007. godine 97, 2008. godine 89, 2009. godine 92, 2010. godine 99,

što ukupno iznosi 742 trudnice u posmatranom osmogodišnjem periodu. Nakon izvršene analize tipa antitela prisutnih kod ovih trudnica kao i titra tih antitela, utvrđeno je da je pozitivan IAT zbog prisustva pasivnih antitela nakon profilakse Rhogamom nađen: u 2003. godini kod 68 trudnica (70,83%), u 2004. godini kod 58 trudnica (80,55%), u 2005. godini kod 75 trudnica (78,12%), u 2006. godini kod 81 trudnice (80,19%), u 2007. godini kod 68 trudnica (70,1%), u 2008. godini kod 66 trudnica (74,15%), u 2009. godini kod 75 trudnica (81,52%) i u 2010. godini kod 73 trudnice (73,73%), što je ukupno 564 trudnica i kod prosečno 76,01% nađena antitela su posledica primljena profilakse Rhogamom .

Pozitivan IAT zbog prisutne aktivne imunizacije anti RhD antitelima imao je sledeću distribuciju: u 2003 kod 15 trudnica (15,6%), u 2004 godini kod 7 trudnica (9,72%), u 2005 godini kod 10 trudnica (10,41%), u 2006 godini kod 10 trudnica (9,9%), u 2007 godini kod 7 trudnica (7,22%), u 2008 godini kod 12 trudnica (13,48%), u 2009 godini kod 7 trudnica (7,6%) i u 2010 godini kod 6 trudnica (6,06%). Ređa antitela pronađena kod ispitivanih trudnica u 2003 godini su: 2 anti D+C (2,08%) i 11 iregularnih antitela (11,45%); u 2004 godini su: 3 anti D+C (4,16%), 2 anti Lea (2,77%) i 2 iregularna antitela (2,77%); u 2005 godini su: 5 anti D+C (5,2%), 3 anti-M (3,12%), 1 anti D+E(1,04%), i 2 iregularna antitela (2,08%); u 2006 godini su: 3 anti D+C (2,97%), 3 anti-M(2,97%), 1 anti-c (0,99%), 1 anti-Lea (0,99%) i 2 iregularna antitela (1,98%); u 2007 godini su: 4 anti-M (4,12%), 1 anti-C (1,03%), 1 anti-E (1,03%), 1 anti Lea (1,03%), 2 anti K (2,06%), 1 anti S + anti K (1,03%) i 5 iregularnih antitela (5,15%); u 2008 godini su: 3 anti D+C (3,37%), 3 anti-M(3,37%), 1 anti-E(1,12%), 1 anti Lea (1,12%), 1 anti-S (1,12%), 1 anti K+D (1,12%) i 5 iregularnih antitela (5,61%); u 2009 godini su: 3 anti D+C (3,6%), 2 anti-M (2,17%), 1 anti-S (1,08%), 1 anti K (1,08%), i 6 iregularnih antitela (6,52%); i u 2010 godini su: 1 anti D+C (1,01%), 1 anti-M (1,01%), 1 anti-c (1,01%), 2 anti-E (2,02%) i 2 iregularna antitela (2,02%).

Nakon toga je ispitivano koja vrsta antitela su bila najčešći razlog primenjene eksangvinotransfuzije zbog aloimunizacije majke u trudnoći, gde je nađeno da je zbog RhD (D) aloimunizacije 54,16%, RhD (D+C) aloimunizacije 41,66% i MN (M) aloimunizacija 4,16% svih eksangvinotransfuzija primenjenih nakon porođaja kod novorođenčadi ispitivanih trudnica.

DISKUSIJA

Rh D aloimunizacija je najznačajnija i najozbiljnija forma aloimunizacije, uprkos profilaktičkoj primeni od 1970 godine. RhD krvno grupni sistem je značajan iz više razloga: veliki procenat RhD negativnih trudnica, potentna imunogenost, rana ekspresija antigena u gestaciji, značajna uloga u načinu nastanka HBN. Profilaktička primena RhD imunoglobulina je značajno smanjila incidencu i težinu HBN[3]. Ipak se još uvek dešava da dođe do aloimunizacije, a razlozi mogu biti sledeći: nedijagnostikovani spontani pobačaj nakon koga profilaksa nije primenjena; kvalitativne greške u profikaktičkom sistemu, gde profilaksa ili nije primljena ili je neadekvatna; nakon transfuzije Rh inkompatibilne krvne grupe ženi u generativnom periodu; nepristupačna zdravstvena zaštita [1]. Imunoprofilaksa sa 500 UI (ekvivalentno 100 μ g) anti-D IgG je dovoljno da neutrališe 4ml koncentrovanih eritrocita (sa hematokritom oko 100%) i da je ta doza od 100 μ g dokazano dovoljna za protekciju nastanka svih oblika HBN u većini slučajeva [4]. Na teritoriji USA vrši se antenatalna profilaksa sa 300 μ g Rh-IG svih Rh negativnih žena u 26 do 28 nedelji gestacije (najkasnije do 34 nedelje gestacije)[1,5]. Nakon porođaja, kada ove žene urade klasični skrining antitela i crossmatch, dobijeni rezultati pokazuju prisustvo antitela što je posledica primene imunoprofilakse u trećem trimestru [5]. Dobijeni rezultati ove studije su u skladu sa navedenom tvrdnjom jer je prosečno 76% trudnica u posmatranom osmogodišnjem periodu, nakon primljene profilakse imalo pozitivan Coombs-ov test kao posledica primljenog Rhogama. Rutinska RhD imunoprofilaksa trudnica povećala je broj DAT pozitivnih rezultata kod novorođenčadi, što je rezultiralo nepotrebno većem broju uzetih uzoraka krvi radi praćenja nivoa bilirubina u krvi novorođenčeta, kao i broj fototerapija[6].

Antitela protiv drugih krvno grupnih sistema na površini eritrocita ploda se dešavaju i u najvećem broju slučajeva ne dovode do težeg oblika hemolize. Više od 45 različitih antigena na površini eritrocita može biti povezano sa nastankom HBN [1]. Antitela za koje se zna da mogu dovesti do HBN su najčešće: anti-D, anti-K, anti-C i anti-Fya (kanti-K dovodi do hemolize i istovremeno vrši supresiju eritropoeze). Ređa antitela koja mogu dovesti do HBN su: anti- k, anti- Kpa, anti- Kpb, anti- Ku, anti- Jsa, anti- Jsb, anti- Jka, anti- Fyb, anti- M, and anti- U [7]. Antitela koja su povezana sa nastankom težeg oblika HBN uključuju RhD, Rhc i Kell sistem (K1). Kell sistem obuhvata 24 različita antigena, a najmanje 8 od njih (Penny (Kpa, K3), Rautenberg (Kpb, K4), Peltz (Ku, K5), Sutter (Jsa, K6), Matthews (Jsb, K7) i Karhula (Ula, K10)) može da

izazove HBN, od kojih su najčešći Kell(K,K1) i cellano(k,K2) [8]. MNS sistem obuhvata 40 različitih antigena, od kojih su: M,N, S,s i U povezani sa nastankom HBN. Anti-M antitelo je obično klase IgM odnosno pripada hladnim aglutininima, dok se retko javlja u IgG formi kada može izazvati HBN. Anti-U se javlja samo kad crnaca. Duffy sistem ima dva antigena Fya i Fyb, od kojih Fyb ne izaziva HBN [9]. Titar veći od 1:16 obično zahteva pažljiviji monitoring. Najčešće anti-K i anti-c uzrokuju teži oblik HBN[2].U sprovedenoj retrospektivnoj studiji na Zavodu za transfuziju krvi Vojvodine u posmatranom osmogodišnjem periodu nađeno je da je ukupno 22,24% trudnica (165 trudnica) od svih koje su imale pozitivan Coombs-ov test bilo senzibilisano. Distribucija antitela koja su uzrokovala ovu senzibilizaciju u toku posmatranih 8 godina bila je sledeća: 44,85% anti-D (74), 1,12% anti-D+C (20), 9,69% anti-M (16), 2,42% anti-E (4), 1,82% anti- C (3), 0,61% anti-D+E (1), 1,82% anti- K (3), 0,61% anti-S+K (1), 1,1% anti-S (2), 3,03% anti Lea(5) i 1,1% iregularnih antitela (35). Rezultati ove studije su u skladu sa drugim studijama koje tvrde da posle RhD sistema, koji je odgovoran za više od pola aloimunizacija u trudnoći, sledeći po učestalosti su: Kell (29%), Duffy (7%), MNS 6%, Kidd, Lutheran i anti-U. Bez profilakse, aloimunizacija bi se dogodila kod 16% svih RhD negativnih majki koje nose RhD pozitivan plod [10]. Uz profilaksu koja se primenjuje širom sveta, trenutno je incidenca aloimunizacije RhD negativnih majki oko 1,5%, a profilaksa u trećem trimestru smanjuje incidencu na 0,1% do 0,2%[5]. Incidenca aloimunizacije drugim krvno grupnim sistemima je u porastu[1].Iako su generalno IgG antitela povezana sa nastankom hemolize eritrocita ploda, neka IgG antitela ne dovode do HBN kao što su IgG antitela protiv Knops and Chido/Rodgers ili Cromer (CD 55 na placentalnom trofoblastu) antigenog sistema, i IgM antitela klase anti-P, anti-Lea, and anti-Leb. Osim detekcije vrste antitela, radi se i određivanje titra tih antitela u serumu trudnice. Klinički značajan titar je onaj titar povezan sa visokim rizikom za nastanak hydrops foetalis-a i u svakoj laboratoriji je različit za svaku klasu antitela. Predviđanje kliničkog ishoda se ne može obaviti na osnovu titra majčinih antitela u serumu [1]. Indirektni Coombs test (IAT) i kada je pozitivan ne može na osnovu kvantitativnih karakteristika biti reprezentativan za predikciju težine HBN [1]. U nekim slučajevima, vreme potrebno za detekciju i identifikaciju ovih antitela može odložiti dostupnost krvnih produkata za transfuziju krvi, ili urgentnim slučajevima može doći do transfuzije krvnih produ-

kata bez prethodne izrade Crossmatch O- negativnom krvnom grupom [5].

ZAKLJUČAK

Najznačajniju ulogu u aloimunizaciji trudnica i dalje ima RhD krvno grupni sistem. U većini slučajeva pozitivan IAT dokazuje prisustvo antitela kao posledica prethodne profilaktičke administracije anti-D antitela u obliku Rhogam-a, što ima malu kliničku značajnost, iako u retkim slučajevima može zahtevati primenu krvnih produkata kasnije u trudnoći. U nešto manje od polovine slučajeva gde je nađen pozitivan Coombs-ov test određivanje tipa i titra antitela ima veliki klinički značaj radi praćenja toka i jačine senzibilizacije. Iako su ređi antigeni isto odgovorni za aloimunizaciju u malom broju slučajeva, takođe je značajno odrediti ih i vršiti pažljiv monitoring tih trudnica zbog toga što oni isto mogu biti odgovorni za nastanak HBN, kao i zbog toga što je u nekim slučajevima potrebno primeniti odgovarajuće krvne produkte za intrauterinu transfuziju u toku trudnoće ili eksangvinotransfuziju nakon porođaja.

LITERATURA

1. Geaghan M.Sh.Diagnostic Laboratory Technologies for the Fetus and Neonate with Isoimmunization. Seminars in Perinatology Volume 35, Issue 3, June 2011, Pages 148-154.
2. Dinesh D. Review of positive direct antiglobulin tests found on cord blood sampling.J. Paediatr. Child Health (2005) 41, 504-507.
3. Clausen F.B, Risum Krog G, Rieneck K, Råsmark E.E.F, Hanefeld D, Ziegler M. Evaluation of Two Real-Time Multiplex PCR Screening Assays Detecting Fetal RHD in Plasma from RhD Negative Women to Ascertain the Requirement for Antenatal RhD Prophylaxis. Fetal Diagn Ther. 2011;29:155-163.
4. Vecchio S, La Scala P, Perri L, et al. Anti-D immunisation with permanent biological damage following inadequate post-amniocentesis prophylaxis. Blood Transfusion. 2008;2:112-3. [PMC free article] [PubMed]
5. Cambic C.R, Scavone B, McCarthy R.J, Eisenberg P, Sanchez E.M, Sullivan J et al. A retrospective study of positive antibody screens at delivery in Rh-negative parturients.Can J Anesth/J Can Anesth. 2010; 57:811-816.
6. Dillon A, Chaudhari T, Crispin Ph, Shadbolt B, Kent A. Has anti-D prophylaxis increased the rate of positive direct antiglobulin test results and can the direct antiglobulin test predict need for phototherapy in Rh/ABO incompatibility? Journal of Paediatrics and Child Health Volume 47, Issue 1-2, pages 40-43, January/February 2011
7. Gottvall T, Filbey D. Alloimmunization in pregnancy during the years 1992-2005 in the central west region of Sweden. Acta Obstetrica et Gynecologica. 2008; 87: 843-848.
8. Hughes L, Rossi K.Q, Krugh D, and Richard W. O'Shaughnessy. Management of pregnancies complicated by anti-Fya alloimmunization. TRANSFUSION 2007;47:1858-1861.
9. Koelewijn J,Vrijkotte T.G.M, van der Schoot C, Bonsel G.J, de Haas M. Effect of screening for red cell antibodies, other than anti-D, to detect hemolytic disease of the fetus and newborn: a population study in the Netherlands. TRANSFUSION 2008;48:941-952.
10. Kenneth J. Moise Jr.. Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 92 (2000) 75-81.

Adresa autora:

Tatjana Gavrančić, 1983,
 Danila Kiša 38, Novi Sad,
 fax: 021/427-252;
 tel: 062300810

e-mail: tatjanadr@yahoo.com

Rad primljen:

17. 01. 2012.

Rad prihvaćen:

03. 02. 2012.

Elektronska verzija objavljena:

10. 06. 2012.