

IWONA HAŃCZAK<sup>1</sup>, MAŁGORZATA WĄSEWICZ-SZCZOCZARZ<sup>2</sup>,  
LIDIA PROKOPOWICZ<sup>1</sup>, EWA STANISZEWSKA<sup>1</sup>, JUSTYNA KORZENECKA<sup>1</sup>,  
APOLONIA RYBCZYŃSKA<sup>3</sup>

**DYNAMIKA ZMIAN BADAŃ SEROLOGICZNYCH I BIOCHEMICZNYCH  
OBSERWOWANYCH W KONFLIKCIE SEROLOGICZNYM ANTY-RH(D)  
MIĘDZY MATKĄ A PŁODEM – WPLYW STOSOWANEGO SYSTEMU  
PROFILAKTYKI. OPIS PRZYPADKU**

THE DYNAMICS OF CHANGES IN SEROLOGICAL AND BIOCHEMICAL  
INVESTIGATIONS OBSERVED IN ANTI-RHD SEROLOGICAL CONFLICT  
BETWEEN MOTHER AND FOETUS – EFFECT OF APPLIED  
PROPHYLAXIS SYSTEM. CASE STUDY

<sup>1</sup> Pracownia Serologiczna Badań Konsultacyjnych,  
Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa Gdańsk  
dyrektor RCKiK: lek. Małgorzata Szafran

<sup>2</sup> Uniwersyteckie Centrum Medycyny Laboratoryjnej,  
Gdański Uniwersytet Medyczny,  
kierownik: dr n. med. Krzysztof Lewandowski

<sup>3</sup> Katedra i Zakład Patofizjologii Farmaceutycznej,  
Gdański Uniwersytet Medyczny,  
kierownik: prof. dr hab. Apolonia Rybczyńska

W pracy, w oparciu o wyniki badań laboratoryjnych, przedstawiono przebieg konfliktu serologicznego między matką a płodem, wywołanego znacznym wzrostem miana przeciwciał anti-RhD wytworzonych przez matkę podczas II ciąży. Przedstawiono wyniki szerokiego zakresu diagnostycznych badań serologicznych wykonanych u matki, dziecka oraz ojca dziecka. Przedstawiono również dynamikę zmian stężenia bilirubiny oraz parametrów hematologicznych, obserwowanych u dziecka, w ciągu 12 dni po urodzeniu. Ponadto, przedyskutowano wpływ stosowanego systemu immunoprofilaktyki anti-RhD.

WPROWADZENIE

Obecność przeciwciał IgG wytworzonych przez układ odpornościowy matki, skierowanych do antygenów krwinek, które płód odziedziczył od ojca, potwierdza istnienie konfliktu sero-

logicznego między matką a płodem [17, 24, 25]. Wytwarzanie przeciwciał odpornościowych przez układ immunologiczny matki jest inicjowane przez przedostanie się krwinek płodu do krążenia matki na skutek krwawienia płodowo-matczynego, najczęściej podczas porodu [4, 10, 12, 13]. Stwierdzono, że immunizację matki może wywołać tak niewielka ilość krwinek płodu jak 0,1-0,5 mL [7]. Skutkiem pojawienia się przeciwciał odpornościowych, skierowanych do krwinek czerwonych płodu, może być choroba hemolityczna płodu/novorodka (ChHP/N), wywołana niszczeniem opłaszczonych przeciwciałami krwinek płodu. ChHP/N może wystąpić w różnym nasileniu, od postaci łagodnej, znajdującej potwierdzenie tylko w badaniach laboratoryjnych, do ciężkiej postaci klinicznej włącznie [1, 21, 24].

Najbardziej immunogennym antygenem krwinek czerwonych jest antygen D z układu Rh, który występuje w 85% populacji rasy kaukaskiej [22, 25]. Pomimo wieloletniego stosowania systemu profilaktyki konfliktu RhD polegającego na podawaniu kobietom RhD ujemnym immunoglobuliny anti-RhD po poronieniu, po porodzie RhD dodatniego dziecka, lub po zabiegach inwazyjnych w trakcie ciąży, nadal dochodzi do immunizacji antygenem D, która może doprowadzić do ChHP/N [17, 26]. Wyniki prowadzonych obserwacji wskazują, że immunizacja wywołana I ciążą, której skutkiem jest wytworzenie przeciwciał anti-D u matki, może wystąpić u około 1% kobiet RhD ujemnych [17].

Ostatnio, coraz częściej pojawiają się publikacje, w których opisywana profilaktyka konfliktu Rh obejmuje nie tylko systematyczną diagnostykę serologiczną kobiet w okresie ciąży oraz podawanie kobietom RhD-ujemnym immunoglobuliny anti-RhD po porodzie lecz także profilaktyczne podawanie immunoglobuliny anti-D kobietom RhD-ujemnym w czasie ciąży [5, 7, 16].

## OPIS PRZYPADKU

30-letnia kobieta, A RhD-(ujemny) dccc K-(ujemny), będąca w II ciąży, zgłosiła się w 2011 r. do Pracowni Serologicznej Badań Konsultacyjnych RCKiK w Gdańsku w celu zbadania obecności przeciwciał odpornościowych. Pacjentka nie była leczona krwią. Grupa krwi męża kobiety O RhD+(dodatni) DCCee Cw-K-. Badania serologiczne surowicy krwi kobiety, w trakcie I ciąży w 2009 r., nie wykazały obecności przeciwciał odpornościowych. W zgodzie z tą obserwacją pozostawał ujemny wynik bezpośredniego testu antyglobulinowego (BTA), wykonany bezpośrednio po porodzie noworodka o grupie krwi A RhD+(dodatni) DCceeCw-K-. Przeciwciała odpornościowe anti-Rh D w surowicy krwi matki zostały wykryte po raz pierwszy dopiero podczas badań kwalifikacyjnych do podania immunoglobuliny anti-RhD, czyli w okresie nie dłuższym aniżeli 72 godz. po porodzie. Badania te wykazały obecność przeciwciał anti-RhD aktywnych w teście enzymatycznym oraz w pośrednim teście antyglobulinowym. Z powodu obecności tych przeciwciał pacjentka nie otrzymała immunoglobuliny anti-RhD po I porodzie. Natomiast badania surowicy krwi kobiety, wykonywane podczas II ciąży potwierdziły obecność przeciwciał odpornościowych anti-RhD oraz wykryły dodatkowe przeciwciała odpornościowe o swoistości anti-RhC. Monitorowane, począwszy od 15 tygodnia ciąży, miano przeciwciał anti-RhD znacznie wzrastało i w 35 tygodniu osiągnęło wartość 512. Grupa krwi dziecka oznaczona po II porodzie: O RhD+(dodatni) DCcee Cw-K-, dodatni BTA oraz wyodrębnione z eluatu krwinek dziecka przeciwciała anti-RhD oraz anti-RhC, potwierdziły istnienie konfliktu serologicznego. W wyniku oceny stanu klinicznego, wyników badań

serologicznych oraz badań biochemicznych, wykonanych w laboratorium Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Gdańsku, takich jak stężenie bilirubiny, liczba erytrocytów, noworodek otrzymał 2 transfuzje wymienne, w pierwszej i drugiej dobie po urodzeniu. Dziecko zostało wypisane ze szpitala w dwunastej dobie życia.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły próbki krwi: matki, ojca dziecka oraz dziecka.

### Badania immunoematologiczne

Wszystkie badania immunoematologiczne zostały wykonane w Pracowni Serologicznej Badań Konsultacyjnych RCKiK w Gdańsku, zgodnie z obowiązującymi metodami [19]. Grupy krwi układu ABO oraz fenotyp Rh i antygen K z układu Kell oznaczano metodą probówkową za pomocą odczynników monoklonalnych firmy Millipore Bioscot. Przeciwciała odpornościowe wykrywano i identyfikowano w teście enzymatycznym oraz pośrednim teście antyglobulinowym (PTA) przy zastosowaniu mikrometody kolumnowej DIA MED (Szwajcaria). Ilościowo poziom przeciwciał oceniano wyznaczając miano przeciwciał, czyli największe rozcieńczenie badanej surowicy, wywołujące dodatnią reakcję z krwinkami wzorcowymi, w PTA metodą klasyczną. Bezpośredni test antyglobulinowy (BTA) krwinek wykonano stosując mikrometodę kolumnową na karcie DC-screening II DIA MED. Eluat z krwinek otrzymano metodą DIA CIDEL DIA MED, natomiast identyfikację odeluowanych przeciwciał przeprowadzono mikrometodą kolumnową DIA MED, w teście enzymatycznym oraz w PTA IgG.

### Badania biochemiczne

Badania biochemiczne zostały wykonane w laboratorium Uniwersyteckiego Centrum Medycyny Laboratoryjnej w Gdańsku, przy pomocy analizatorów: stężenie bilirubiny – ARCHITECT firmy ABBOTT; stężenie hemoglobiny, liczba krwinek czerwonych, liczba krwinek białych, hematokryt – SYSMEX XE 2100.

## WYNIKI BADAŃ IMMUNOHEMATOLOGICZNYCH

### 1. Badania krwi ojca

Oznaczono grupę krwi ojca dziecka: O RhD+(dodatni)DCCeeCw-K-.

### 2. Badania krwi matki wykonane podczas II ciąży

Badania identyfikujące swoistość przeciwciał odpornościowych w surowicy matki, poczynszy od 15 do 35 tygodnia ciąży, zebrano w tabeli I. Identyfikację przeciwciał przeprowadzono w oparciu o reakcję surowicy matki z panelem krwinek wzorowych oraz reakcję z krwinkami ojca dziecka. Wykazano obecność przeciwciał odpornościowych o swoistości anty-RhD oraz

anty-RhC. Przeciwciała anty-RhD reagowały z krwinkami wzorcowymi, zawierającymi antygen D, z nasileniem 2,5+ do 3+ w teście PTA, natomiast w teście enzymatycznym nasilenie reakcji było wyższe i wynosiło od 3,5+ do 4+. Obecność przeciwciał anty-RhC wykazano jedynie w teście enzymatycznym, z nasileniem reakcji od 2+ do 4+. Reakcja surowicy matki wobec krwinek ojca dziecka w teście PTA wystąpiła z nasileniem 3+.

Tabela I. Badanie swoistości przeciwciał w surowicy matki

Table I. The research of specificity of antibodies in the mother's serum

Fenotyp krwinek wzorcowych Phenotype of standard erythrocytes	Test PTA – AHG DIA MED Indirect antiglobulin test – AHG DIA MED						Test enzymatyczny DIA MED Enzyme test DIA MED					
	Tydzień ciąży Week of gestation						Tydzień ciąży Week of gestation					
	17	21	26	28	31	35	17	21	26	28	31	35
DCwCee	2,5											
DccEE	2,5											
dccee	0	0					0	0	0	0	0	0
dccee KK	0	0	0	0	0	0						
dCcee	0	0	0	0	0	0	2	3	3	3	3,5	4
Dccee	2,5	2,5	3	3	3	3	3,5	4	4	4	4	4
dccEe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
autokontrola autocontrol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
krwinki ojca father's erythrocytes O Rh+DCCe- eCw-K-	3											

Kolejnym rodzajem badań immunohematologicznych wykonywanych w surowicy matki dziecka była ilościowa kontrola wytworzonych przeciwciał anty-RhD za pomocą określania miana przeciwciał wobec krwinek wzorcowych zawierających antygen D (tabela II). Badania wykazały znaczny wzrost miana przeciwciał anty-RhD, które z wartości 2 w 15 tygodniu ciąży wzrosło do 512 w 33 i 35 tygodniu ciąży. Określono również miano przeciwciał anty-RhD w surowicy pacjentki wobec krwinek ojca dziecka, które, w 17 tygodniu ciąży, było identyczne jak wobec krwinek wzorcowych .

### 3. Badanie krwi dziecka

Krew dziecka do badań została pobrana po wykonaniu cięcia cesarskiego u matki, w 35 tygodniu ciąży. Badanie grupy krwi dziecka: O RhD+(dodatni) DCcee Cw- K- . Wykonano również ocenę bezpośredniego testu antyglobulinowego (BTA), który był dodatni i z odczyn-

Tabela II. Miano przeciwciał anty-RhD w surowicy matki w kolejnych tygodniach ciąży  
 Table II. The titer of antibody anti-RhD in the mother's serum in the successive weeks of pregnancy

Tydzień ciąży Week of gestation	Miano anty-RhD w PTA-NaCl Titre of anti-RhD in IAT-NaCl	
	krwinki wzorcowe standard erythrocytes Dccee	krwinki ojca dziecka father's erythrocytes
15	2	
17	2	2
21	4	
26	32	
28	128	
31	256	
33	512	
35	512	

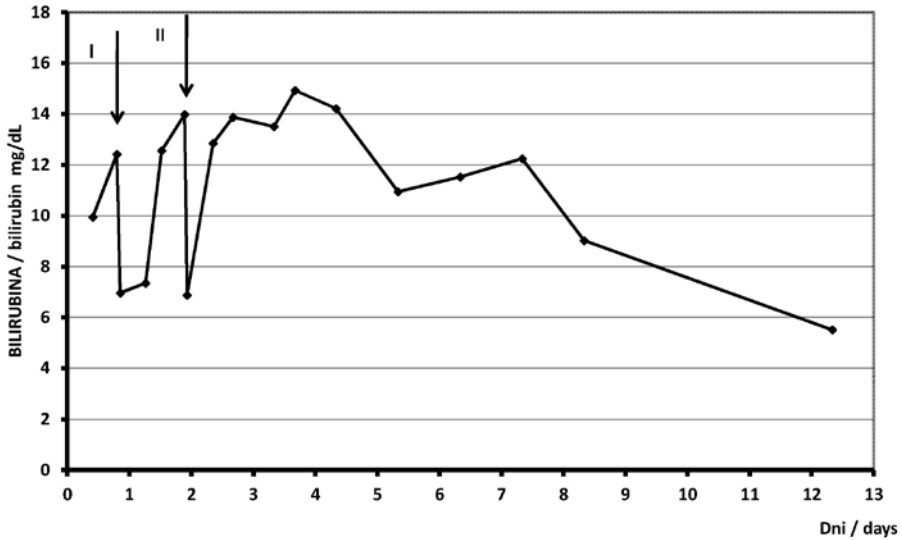
Tabela III. Badanie swoistości przeciwciał w osoczu krwi dziecka oraz w eluacie z krwinek dziecka  
 Table III. The research of antibody specificity in plasma and in the eluate of the child's red blood cells

Fenotyp krwinek wzorcowych Phenotype of standard erythrocytes	PTA AHG DIA MED Indirect antiglobulin test – AHG DIA MED		Test enzymatyczny DIA MED Enzyme test DIA MED	
	osocze plasma	eluat eluate	osocze plasma	eluat eluate
dCCee	0	0	2,5+	2+
Dccee	3+	4+	4+	4+
dccEe	0	0	0	0
dccee KK	0	0	0	0
dCcee	0	0	2+	2+

nikiem anty-IgG wynosił 4+. Stwierdzenie dodatniego BTA było powodem identyfikacji swoistości biernych przeciwciał pochodzenia matczynego w osoczu krwi oraz w eluacie z krwinek dziecka (tabela III). Wykazano obecność przeciwciał anty-RhD, aktywnych w testach: PTA i enzymatycznym, oraz anty-RhC, które były wykrywalne tylko w teście enzymatycznym, o zbliżonym nasileniu reakcji aglutynacji w obu przypadkach.

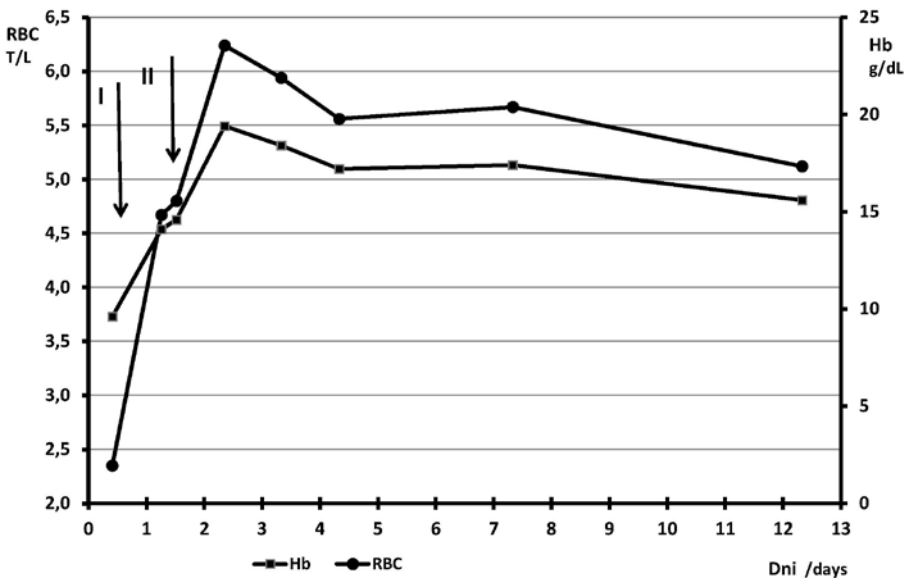
## WYNIKI BADAŃ BIOCHEMICZNYCH

Zmiany stężenia bilirubiny w surowicy krwi noworodka przedstawiono na ryc. 1. Bezpośrednio po cięciu cesarskim stężenie bilirubiny wynosiło 9,95 mg/dL i wzrosło w ciągu kilku



Ryc. 1. Wpływ transfuzji wymiennych, wykonanych w ciągu pierwszej I i drugiej II doby po urodzeniu, na dynamikę zmian stężenia bilirubiny w surowicy krwi dziecka

Fig. 1. The influence of the exchange transfusions performed within 24 and 48 hours of life on the dynamics of changes of bilirubin concentration in the child's serum



Ryc. 2. Wpływ transfuzji wymiennych, wykonanych w ciągu pierwszej I i drugiej II doby po urodzeniu, na dynamikę zmian stężenia hemoglobiny (Hb) oraz liczby krwinek czerwonych we krwi dziecka

Fig. 2. The influence of the exchange transfusions performed within 24 and 48 hours of life on the dynamics of changes of haemoglobin concentration and on the count of red blood cells of the child

godzin do wartości 12,42 mg/dL. Wykonanie I transfuzji wymiennej doprowadziło do spadku stężenia bilirubiny do wartości 6,92 mg/dL. II transfuzja wymienna, w czasie drugiej doby życia dziecka, spowodowała obniżenie bilirubiny z 13,98 do 6,88 mg/dL. Począwszy od czwartej doby – stężenie bilirubiny systematycznie obniżało się i po 12 dniach osiągnęło wartość 5,51 mg/dL.

Rycina 2 przedstawia dynamikę zmian stężenia hemoglobiny oraz liczby erytrocytów noworodka. Bezpośrednio po urodzeniu wartości te były bardzo niskie i wynosiły odpowiednio 9,6 g/dL oraz 2,35 T/L. Przeprowadzenie dwóch transfuzji wymiennych doprowadziło do wzrostu stężenia hemoglobiny do 18,4 g/dL oraz erytrocytów do 5,94 T/L. W dniu wypisu ze szpitala wartości te wynosiły odpowiednio 15,6 g/dL oraz 5,12 T/L.

## DYSKUSJA

Antygen D z układu Rh jest najbardziej immunogennym antygenem krwinek czerwonych i w związku z tym najczęściej wywołuje odpowiedź immunologiczną w postaci stymulacji wytwarzania przeciwciał anty-RhD [17, 22, 24, 25].

W wyniku wielu obserwacji stwierdzono, że na częstość wytwarzania przeciwciał anty-RhD, przez kobiety RhD-ujemne w okresie ciąży mają wpływ również grupy krwi układu ABO matki oraz dziecka. Przeprowadzone wielośrodkowe badania pacjentek, które z różnych powodów nie otrzymały immunoglobuliny anty-RhD wykazały, że około 16% kobiet RhD-(ujemnych) po urodzeniu RhD+(dodatniego) dziecka wytwarza przeciwciała anty-RhD, jeśli dziecko jest zgodne serologicznie z matką w układzie ABO; natomiast jeśli grupy krwi matki i dziecka w układzie ABO nie są zgodne serologicznie, wówczas tylko około 2% kobiet wytworzy przeciwciała anty-RhD, gdyż przeciwciała układu ABO matki niszczą niezgodne krwinki płodu zmniejszając możliwość immunizacji [10]. W opisywanym przypadku nie zachodziło zjawisko neutralizacji krwinek płodu, gdyż podczas I ciąży grupy krwi matki i dziecka były zgodne (grupa krwi A), natomiast w II ciąży, regularne przeciwciała anty-B matki nie neutralizowały krwinek grupy O płodu, zatem nie wystąpiła tego rodzaju bariera immunizacji.

Przyjęty w Polsce w 1973 r. system profilaktyki konfliktu RhD obejmuje wszystkie kobiety RhD-(ujemne), które po urodzeniu dziecka RhD+(dodatniego) nie wytworzyły przeciwciał anty RhD, które poroniły a także te, które były w ciąży zagrożonej wzmożonym krwawieniem płodowo-matczynym przez łożysko [17, 24]. Nadal jednak, mimo stosowania immunoprofilaktyki alloimmunizacja antygenem D jest przyczyną choroby hemolitycznej płodu/novorodka (CHHP/N) [17]. Stwierdzono, że około 1% kobiet RhD-(ujemnych) ulega immunizacji jeszcze przed porodem, w ostatnim trymestrze pierwszej ciąży [17, 26]. Podobne zjawisko wystąpiło u opisywanej pacjentki, u której przeciwciała anty-RhD klasy IgG wykryto dopiero po porodzie RhD+(dodatniego) dziecka z pierwszej ciąży, w związku z czym nie otrzymała ona immunoglobuliny anty-D po pierwszym porodzie. Ponadto, badania przedstawione w pracy B. Lenkiewicz i wsp [17] wykazały możliwość występowania immunizacji antygenem D, pomimo podania matce immunoglobuliny anty-RhD po porodzie. Potwierdziła to obserwacja 131 RhD-(ujemnych) pacjentek, które po porodzie otrzymały immunoglobulinę anty-RhD, ale, pomimo zastosowanej immunoprofilaktyki, 39 z nich wytworzyło odpornościowe przeciwciała anty-RhD w kolejnej ciąży [17].

Krwinki RhD+(dodatniego) płodu mogą dostać się do krążenia matki na skutek przecieku płodowo-matczynego FMH (feto-maternal haemorrhage), który może wystąpić w końcowym

trymestrze ciąży, a szczególnie podczas porodu [4, 10, 12, 13]. W opisywanym przypadku, w trakcie I ciąży, najprawdopodobniej miał miejsce niewielki przeciek krwinek płodu do krążenia matki, który nie doprowadził do immunizacji pacjentki w stopniu umożliwiającym wykrycie przeciwciał anti-RhD w trakcie tej ciąży. Immunizacja matki, wyrażająca się obecnością przeciwciał anti-RhD, ujawniła się dopiero po porodzie. Niewątpliwie przeciek płodowo-matczyny miał miejsce także podczas II ciąży. W zgodzie z takim założeniem pozostaje obserwacja dynamicznego wzrostu miana przeciwciał anti-RhD, które w 15 tygodniu II ciąży wynosiło 2, a w 35 tygodniu osiągnęło wartość 512. Badania oceniające wielkość krwawienia płodowo-matczynego można przeprowadzać za pomocą testu mikroskopowego Kleihauera-Betke, metodą serologiczną (DIA MED) oraz metodą cytometrii przepływowej [10, 12, 13]. Wymienione metody pozwalają na określenie przybliżonej objętości krwinek płodu w krążeniu matki. Jak podkreślają J. Fabijańska-Mitek i A. Gieleżyńska w swoich badaniach nad FMH [10, 12, 13], opracowanie standardowej metody oceny przecieku płodowo-matczynego i wprowadzenie jako obowiązkowej procedury pozwoliłoby na dokładne obliczanie objętości krwinek płodu w krążeniu matki i ustalanie indywidualnej dawki immunoglobuliny anti-D potrzebnej dla pacjentki w celu zapobiegania immunizacji antygenem D. Procedury te dotyczą pacjentek RhD-(ujemnych), które nie wytworzyły odpornościowych przeciwciał anti-RhD.

Od 2000 r. w Stanach Zjednoczonych i niektórych krajach Europy Zachodniej, wprowadzono przedporodową profilaktykę konfliktu RhD, która polega na podawaniu immunoglobuliny anti-RhD w dwóch dawkach po 500 i.u. w 28 i 34 tygodniu ciąży lub w jednej dawce 1500 i.u. (300  $\mu$ g) w 28 tygodniu ciąży [5, 7, 16, 18]. Celem prowadzonej przedporodowej profilaktyki konfliktu RhD było zwiększenie skuteczności w zapobieganiu konfliktom RhD dzięki czemu uzyskano spadek ilości uczuleń kobiet RhD-(ujemnych) do 0,2-0,3% [5]. Ostatnio ukazały się również prace bardziej szczegółowo oceniające efekty profilaktyki podczas ciąży. Badania przeprowadzone w Australii oceniały wpływ profilaktyki RhD, w latach 2002-2008, na wyniki oznaczeń BTA u noworodków RhD+(dodatnich), których matki RhD-(ujemne) otrzymywały immunoglobulinę anti-RhD. Badania te wykazały wzrost liczby dodatnich wyników BTA u noworodków z 1,5%, przed wprowadzeniem profilaktyki, do 2,3% po wprowadzeniu tej profilaktyki [8]. Skutkiem wzrostu liczby noworodków z dodatnim BTA jest wzrost ilości wykonywanych fototerapii jako niezamierzonej konsekwencji przedporodowej immunoprofilaktyki [1, 8]. Ukazały się również opracowania badające zależność między nasileniem BTA a przewidywaniem konieczności przeprowadzenia fototerapii [8, 9]. Dinesh w swojej pracy [9] dokonała przeglądu wyników BTA przeprowadzonych w krwi pępowinowej noworodków urodzonych w I półroczu 2001 r. w Wellington. Na 1724 próbki, dodatni wynik BTA uzyskano w próbkach 94 noworodków, spośród których 22 wymagały fototerapii. Analiza nasilenia BTA od słabej reakcji dodatniej poprzez 1+, 2+, 3+ do maksymalnego nasilenia 4+ wykazała, że wszystkie noworodki, u których stwierdzono BTA o nasileniu 4+, miały krwinki opłaszczone przeciwciałami anti-RhD i wymagały fototerapii. Stwierdzono, że im wyższy był stopień BTA tym częściej noworodek wymagał fototerapii. Opisany w niniejszej pracy noworodek miał BTA o nasileniu 4+ i wymagał leczenia w postaci transfuzji wymiennej.

W opisywanym przypadku pacjentka, oprócz przeciwciał anti-RhD, wytworzyła w II ciąży również przeciwciała anti-RhC. Współistnienie dwóch swoistości przeciwciał odpornościowych zwiększa możliwość wystąpienia choroby hemolitycznej płodu/novorodka na skutek ich synergistycznego działania [22]. Immunizację matki antygenem C stwierdzono stosując w celu identyfikacji przeciwciał test enzymatyczny, który uważany jest za najbardziej czuły test do



wykrywania przeciwciał z układu Rh [20, 22]. Obecność przeciwciał anty-Rh C+D pozwoliła na przypuszczenie, że immunizację matki wywołały antygeny D i C płodu, odziedziczone od ojca o fenotypie DCCee. Należy dodać, że najbardziej prawdopodobnym dla fenotypu DCCee jest genotyp: DCe/DCE [25]. Prawdopodobieństwo, że dziecko będzie miało fenotyp DCcee potwierdzono w badaniach fenotypu krwi dziecka po urodzeniu. Obecnie istnieją możliwości wykrycia genu RHD płodu w osoczu matki metodami biologii molekularnej, pozwalające na wczesne diagnozowanie obecności antygeny D u dziecka i możliwej immunizacji matki, zwłaszcza, gdy ojciec jest heterozygotą pod względem RHD [2, 3, 5, 6]. Dania, jako pierwsze państwo na świecie, wprowadziła rutynowe badanie genu RHD płodu w osoczu pacjentek RhD-(ujemnych). Dzięki uzyskanej w ten sposób ocenie prawdopodobieństwa obecności antygeny D na krwinkach płodu uzyskano o 40% zmniejszenie zużycia immunoglobuliny anty-D podawanej pacjentkom RhD-(ujemnym) w profilaktyce przedporodowej [5].

Następstwem opłaszczenia RhD dodatnich krwinek dziecka przeciwciałami anty-RhD matki jest anemizacja na skutek niszczenia krwinek czerwonych płodu/novorodka w procesie hemolizy [24]. W omawianym przypadku krwinki płodu opłaszczony były również współistniejącymi przeciwciałami anty-RhC, co potwierdzono wykonując eluat z krwinek dziecka, w którym wykryto przeciwciała o swoistości anty-RhC oraz anty-RhD [14]. Wzmoczone niszczenie tych krwinek w procesie hemolizy znalazło potwierdzenie w spadku poziomu krwinek czerwonych, hemoglobiny i w obserwowanym wzroście stężenia bilirubiny w badaniach krwi dziecka po urodzeniu. W pierwszej dobie życia dziecka zarówno liczba krwinek czerwonych jak i stężenie hemoglobiny były znacznie obniżone w odniesieniu do wartości właściwych dla noworodków [11, 23]. Podobnie stężenie bilirubiny całkowitej u noworodka w I dobie znacznie przekraczało wartości prawidłowe [1, 23, 24]. Parametry te odzwierciedlały wzmoczoną anemizację dziecka i były wskazaniem do wykonania transfuzji wymiennych w I i II dobie życia noworodka [15]. Przedstawione wyniki badań biochemicznych pozostawały w zgodzie z badaniami immunohematologicznymi przeprowadzonymi u noworodka, przede wszystkim z silnie dodatnim testem BTA [8, 9].

## PODSUMOWANIE

Przedstawiony przypadek konfliktu serologicznego między matką a płodem potwierdza celowość wykonywania badań immunohematologicznych matki w trakcie ciąży w odstępach czasu umożliwiających wnikliwą obserwację zmian miana przeciwciał odpornościowych, co pozwala na podejmowanie decyzji związanych z ewentualną terapią płodu/novorodka. Okresowa kontrola miana przeciwciał anty-RhD w surowicy matki jest trafnym i wartościowym wskaźnikiem nasilenia choroby hemolitycznej płodu/novorodka i stanowi istotny parametr w monitorowaniu stanu płodu oraz dziecka po urodzeniu. Opisany przypadek uzasadnia celowość prowadzenia, również w Polsce, profilaktyki z użyciem immunoglobuliny anty-RhD w czasie ciąży.

## PIŚMIENNICTWO

1. Bhutani V. K., Johnson L.: The jaundiced newborn in the emergency department: prevention of kernicterus. Clin. Ped. Emerg. Med. 2008, 9, 3, 149. – 2. Brojer E., Orzińska A.: Metody analizy DNA w

diagnostyce laboratoryjnej konfliktów serologicznych odpowiedzialnych za chorobę hemolityczną płodów i noworodków. W: Immunologia krwinek czerwonych : niedokrwistości immunohemolityczne. Red. J. Fabijańska-Mitek. Warszawa : Ośrodek Informacji Naukowej OINPHARMA, 2008, 119-131. – 3. Cardo L., Garcia B. P., Alvarez F. V.: Non-invasive fetal RHD genotyping in the first trimester of pregnancy. Clin. Chem. Lab. Med. 2010, 48, 8, 1121. – 4. Chapman J. F., Kelsey P., Reilly J. T., Chapman J. F., Bain B. J., Bates S. C., Knowles S. M., Shwe K. H., Parker-Williams J., Robson L., Robson S. C., Bruce M., Duguid J., Murphy M. F., Williamson L., Cavill I., Wood J. K., Amos R. J., Hyde K., Matutes E.: The estimation of fetomaternal haemorrhage. Transfus. Med. 1999, 9, 1, 87. – 5. Damkjaer M. B., Perslev A., Clausen F. B., Dziegiel M. H., Jorgensen F. S.: Study of compliance with a new, targeted antenatal D immunization prevention programme in Denmark. Vox Sanguinis 2012, 103, 2, 145. – 6. Daniels G., Finning K., Martin P.: Noninvasive fetal blood grouping: present and future. Clin. Lab. Med. 2010, 30, 2, 431. – 7. Davies J., Chant R., Simpson S., Powell R.: Routine antenatal anti-D prophylaxis : is the protection adequate? Transfus. Med. 2011, 21, 6, 421. – 8. Dillon A., Chaudhari T., Crispin P., 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? J. Paediatr. Child Health 2011, 47, 1/2, 40. – 9. Dinesh D.: Review of positive direct antiglobulin test found on cord blood sampling. J. Paediatr. Child Health 2005, 41, 9/10, 504. – 10. Fabijańska-Mitek J.: Przeciek płodowo-matczyny: skutki kliniczne i metody oceny. Acta Haematol. Pol. 2011, 42, 3, 445.

11. Fabijańska-Mitek J.: Wskaźniki laboratoryjne niedokrwistości hemolitycznej. W: Immunologia krwinek czerwonych : niedokrwistości immunohemolityczne. Red. J. Fabijańska-Mitek. Warszawa : Ośrodek Informacji Naukowej OINPHARMA, 2008, 37-42. – 12. Gieleżyńska A., Fabijańska-Mitek J., Dębska M.: Obliczanie objętości krwawienia płodowo-matczynego z zastosowaniem różnych parametrów morfologicznych i różnych wzorów. Pol. Merk. Lek. 2011, 30, 177, 228. – 13. Gieleżyńska A., Fabijańska-Mitek J.: Płodowo-matczyny przeciek krwi : wykrywanie i ocena ilościowa. Pol. Merk. Lek. 2011, 30, 177, 219. – 14. Greco V. A., Byrne K. M., Procter J. L., Stroncek D. F.: Detection of antibodies in acid eluates with the gel microcolumn assay. Transfusion 2002, 42, 6, 698. – 15. Klukowska A.: Przetaczanie krwi i jej składników w neonatologii i pediatrii. W: Transfuzjologia kliniczna. Red. J. Korsak, M. Łętowska. [Bielsko-Biała] : α-medica press, 2009, 192-203. – 16. Lee D., Contreras M., Robson S. C., Rodeck C. H., Whittle M. J.: Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. Transfus. Med. 1999, 9, 1, 93. – 17. Lenkiewicz B.: Konflikt Rh po 25 latach stosowania immunoprofilaktyki. Ginekol. Pol. 2000, 71, 8, 863. – 18. Lubusky M.: Prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women. Biomed. Pap.: Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub. 2010, 154, 1, 3. – 19. Medyczne zasady pobierania krwi, oddzielania jej składników i wydawania, obowiązujące w jednostkach organizacyjnych publicznej służby krwi. Wyd. 2. Pod red. M. Łętowskiej. Warszawa : Instytut Hematologii i Transfuzjologii, 2011. – 20. Michalewska B.: Porównanie dwóch różnych systemów mikrokolumnowych w żelu w wykrywaniu alloprzeciwciał przeciw krwinkom czerwonym. Acta Haematol. Pol. 2000, 31, 2, 139.

21. Murray N. A., Roberts I. A. G.: Haemolytic disease of the newborn. Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed. 2007, 92, 2, F83. – 22. Nordvall M., Dziegiel M., Hegaard H. K., Bidstrup M., Jonsbo F., Christensen B., Hedegaard M.: Red blood cell antibodies in pregnancy and their clinical consequences: synergistic effects of multiple specificities. Transfusion 2009, 49, 10, 2070. – 23. Proytcheva M. A.: Issues in neonatal cellular analysis. Am. J. Clin. Pathol. 2009, 131, 4, 560. – 24. Seyfriedowa H.: Choroba hemolityczna płodu i noworodka. W: Immunologia krwinek czerwonych : niedokrwistości immunohemolityczne. Red. J. Fabijańska-Mitek. Warszawa : Ośrodek Informacji Naukowej OINPHARMA, 2008, 86-105. – 25. Seyfriedowa H.: Układ grupowy Rh i LW. W: Immunologia krwinek czerwonych : grupy krwi. Red. J. Fabijańska-Mitek. Warszawa : Ośrodek Informacji Naukowej OINPHARMA, 2007, 57-73. – 26. Tovey L.: Towards the conquest of haemolytic disease. Britain's contribution and the role of serendipity. Transfus. Med. 1992, 2, 2, 99.

---

I. Hańczak, M. Wąsewicz-Szczoczarz, L. Prokopowicz, E. Staniszevska, J. Korzenecka,  
A. Rybczyńska

THE DYNAMICS OF CHANGES IN SEROLOGICAL AND BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS  
OBSERVED IN ANTI-RHD SEROLOGICAL CONFLICT BETWEEN MOTHER AND FOETUS –  
INFLUENCE OF APPLIED PROPHYLAXIS SYSTEM. CASE STUDY

Summary

In the report, based on the results of the laboratory studies, the course of the serological conflict between mother and foetus, elicited by the sharp increase in titration of anti-RhD antibodies produced by the mother during the second pregnancy has been described. A wide range of serological diagnostic studies of the mother, of the child as well as of the father was performed. The dynamics of the changes in concentration of bilirubin as well as the hematological parameters during the first twelve days after birth of the child were presented. Furthermore, the influence of the applied immunoprophylaxis anti-RhD system was discussed.

Adres: Iwona Hańczak

Pracownia Serologiczna Badań Konsultacyjnych RCKK Gdańsk

ul. Hoene-Wrońskiego 4, 80-210 Gdańsk

e-mail: i.hanczak@krew.gda.pl

tel. 58 520 4020