

Vážená pani doktorka / vážený pán doktor,

dovoľujeme si Vám týmto oznámiť uvedenie nového vyšetrenia spoločnosti **KLINICKÁ BIOCHÉMIA s.r.o.** :

Molekulárno-biologické neinvazívne stanovenie statusu *RHD* génu plodu z krvi matky

V belošskej populácii je prevalencia RhD-negatívnych žien približne 15%, pričom takýto fenotyp je najčastejšie spôsobený homozygotnou deléciou génu *RHD*. U RhD inkompatibilných tehotenstiev sa môže vyskytnúť aloimunizácia, t.j. vývoj materských anti-D protilátok. Aj keď aloimunizácia počas gravidity len zriedkavo ovplyvňuje prvé tehotenstvo, v ďalších graviditách môžu protilátky prechádzať cez placentu k plodu, čo predstavuje riziko hemolýzy a hemolytického ochorenia plodu a novorodenca (HDFN). Tomuto javu je možné predchádzať profylaxiou v podobe podávania anti-D imunoglobulínov u RhD negatívnych žien. Kombináciou antenatálneho a postnatálneho podávania anti-D sa výrazne znížila aloimunizácia RhD negatívnych žien zo 16% na 0,3%⁴.

Celoplošná prevencia RhD aloimunizácie sa uskutočňuje bez ohľadu na znalosť *RHD* statusu plodu. Na určenie statusu krvnej skupiny RhD u plodu sa môže použiť neinvazívne prenatálne testovanie voľnej fetálnej DNA (cffDNA) v krvi matky počas tehotenstva. Toto molekulárno-genetické skriningové testovanie umožňuje prejsť zo systematickej profylaxie na cieľnú profylaxiu v prevencii RhD fetomaternálnej inkompatibility – slúži na identifikáciu žien, ktoré budú profitovať z profylaxie. Tým sa zabráni zbytočnej liečbe RhD-negatívnych žien, ktoré nesú RhD-negatívne plody, a teda nie sú vystavené riziku aloimunizácie.

Test je určený pre RhD-negatívne tehotné ženy, u ktorých je možnosť RhD inkompatibilného tehotenstva. Kit sa zameriava na sekvencie špecifické pre viaceré exóny génu *RHD*, čím sa minimalizuje riziko falošne negatívnych výsledkov v dôsledku variantov *RHD*.

Metóda stanovenia

Stanovenie statusu *RHD* génu plodu z krvi matky, ktorá je RhD negatívna, prostredníctvom izolácie voľnej fetálnej DNA a real-time PCR technik sledujúcich prítomnosť exónov 5, 7 a 10 *RHD* génu a zároveň prítomnosť ľudského génu pre HGH ako internej kontroly. Real-time PCR techniky sa využívajú aj na špecifickú kontrolu prítomnosti voľnej fetálnej DNA.

Indikácia vyšetrenia

Toto vyšetrenie môžu indikovať lekári so špecializáciou:

- 009 gynekológia
- 031 hematológia a a transfuziológia
- 062 lekárska genetika

Vyšetrenie je momentálne dostupné poistenkyniam VšZP a Union, prípadne pre samoplátkyne.

Indikačné obmedzenia:

- viacpočetné tehotenstvo
- syndróm miznúceho dvojčaťa
- prítomnosť cudzorodej DNA v krvi matky mimo fetálnej DNA (napr. po transfúzii, transplantácii, onkologickom ochorení)

Predanalytické informácie

Odber biologického materiálu

Odber sa vykonáva u matky, ktorá je RhD negatívna, od 20. týždni tehotenstva. Odber nie je nutné vykonať nalačno.

Na vyšetrenie sa odoberá 6 alebo 9 ml periférnej krvi do samostatnej sterilnej skúmavky s K₂EDTA/K₃EDTA (na požiadanie dodá laboratórium). Bezprostredne po odobratí sa obsah skúmavky šetrne premieša. Po odbere krvi sa skúmavka nesmie otvárať. Vzorka biologického materiálu musí byť jednoznačne označená a určená len na toto vyšetrenie. Vzorku je potrebné uchovávať do transportu pri teplote 2-8°C.

Na žiadanku prosíme uviesť gestačný týždeň.

Odber nesmie byť uskutočnený do skúmavky s heparínom a vzorka samotná nesmie byť hemolyzovaná.

Transport biologického materiálu

Vzorky na toto vyšetrenie je potrebné transportovať v termotaške pri teplote 2-8°C.

Vzorky je nutné doručiť do Medicínskeho laboratória Žilina najneskôr do 36 hodín od odberu v čase 7:00 až 14:00 v pracovné dni mimo piatku.

Dostupnosť vyšetrenia: Vyšetrenie sa vykonáva v Laboratóriu molekulárnej genetiky, Medicínske laboratórium v Žiline.

Výsledok vyšetrenia: do 15 pracovných dní - v závislosti od doručenia a prijatia vzorky do Laboratória molekulárnej genetiky v Žiline

Forma výsledku

- **pozitívne** - bola detekovaná prítomnosť sledovaných exónov génu *RHD*, čo svedčí pre RhD pozitívny status
- **negatívne** - nebola detekovaná prítomnosť sledovaných exónov génu *RHD*, čo svedčí pre RhD negatívny status
- **nezhodnotiteľné** – matka pravdepodobne s *RHD*-variantným, weak alebo silent genotypom, *RHD* genotyp plodu nie je možné určiť, doporučuje sa zistiť *RHD* genotyp matky (vyšetrenie poskytujeme)
- **nejednoznačné** – hybridný genotyp u dieťaťa alebo matky, prípadne prítomnosť PSI-pozitívnej vzorky. Doporučuje sa zistiť *RHD* genotyp matky (vyšetrenie poskytujeme)

V prípade negatívneho výsledku sa vykonáva špecifická kontrolná PCR na potvrdenie prítomnosti voľnej cirkulujúcej fetálnej DNA.

Literatúra

1. Londero D. a De Angelis V. Non-invasive fetal *RHD* genotyping: validation of the test and implementation of a screening program to guide anti-D prophylaxis. *Ann Blood* 2020;5:29 <http://dx.doi.org/10.21037/aob-20-43>.
2. Uzunel M. a kol. Single-exon approach to non-invasive fetal *RHD* screening in early pregnancy: An update after 10 years' experience. *Vox Sanguinis*. 2022;117:1296–1301.
3. NHS, Blood and Transplant. Fetal *RHD* screening test: questions & answers. 2019. Online: <https://nhsbt.dbe.blob.core.windows.net/umbraco-assets-corp/16585/fetal-rhd-screening-test-questions-and-answers.pdf>
4. Clausen F.B. a kol. Non-invasive foetal *RHD* genotyping to guide anti-D prophylaxis: an external quality assurance workshop. *Blood Transfus* 2018; 16: 359-62.

V prípade akýchkoľvek otázok, prosím, **kontaktujte:**

RNDr. Jana Čamajová, PhD., camajova@klinickabiochemia.sk, 0905 338 859

Monika Dupkalová, dupkalova@klinickabiochemia.sk, 0918 423 237

Mgr. Ardian Ameti, ameti@klinickabiochemia.sk, 0918 210 678

Call Centrum, 041/ 2000 999