

NEINVAZÍVNE TESTOVANIE RhD statusu plodu z krvi matky

KLINICKÝ VÝZNAM

Neinvazívna prenatálna genetická identifikácia RhD statusu plodu na základe analýzy voľnej fetálnej DNA z krvi tehotnej ženy. Rh faktor je určený skupinou 49 antigénov, ktoré sa vyskytujú na povrchu červených krviniek. Najdôležitejších je 5 antigénov C, c, E, e, D, ktoré sú uložené na 3 génoch. Najsilnejším je D, ak je prítomný, tak označujeme jedince ako RhD pozitívneho (RhD+), v opačnom prípade RhD negatívneho (RhD-). Diagnostika Rh faktora je dôležitá z hľadiska rizika inkompatibility matky a plodu. Ak je matka RhD- a plod RhD+, môže dôjsť k tzv. izoimunizácii, keď sa začnú tvoriť po vzniku červených krviniek plodu do krvi matky protilátky anti-D. Pri prvom tehotenstve väčšinou problémy nevznikajú, ale pri ďalších tehotenstvách prenikajú vytvorené protilátky anti-D placentou do krvného obehu plodu a rozkladajú červené krvinky – fetálna erytroblastóza. Metóda sa využíva na stanovenie Rh skupiny plodu u Rh negatívnych matiek. U tehotných RhD negatívnych žien sa zvyčajne pristupuje k profylaxii anti-RhD protilátkami, bez overovania prítomnosti RhD antigénu u plodu. Imunizácia proti RhD antigénu je jednou z najčastejších príčin závažných hemolytických ochorení plodu a novorodencov. Celoplošná imunizácia pacientok bez konfirmácie RhD antigénu u plodu je diskutabilná z etického dôvodu. Stanovenie RhD faktora pomocou neinvazívnej genetickej diagnostiky z krvi matky je spoľahlivým nástrojom na diagnostické stanovenie RhD statusu plodu. Výhodou je, že sa zabráni plošnej profylaxii všetkých pacientok a vďaka tomuto testu je možné imunizáciu obmedziť len na opodstatnené prípady.

INDIKAČNÉ OBMEDZENIA

Výsledok testu môžu skresliť viacplodové tehotenstvo, syndróm miznúceho dvojčata alebo cudzia DNA v krvi matky (po krvnej transfúzii, po transplantácii kmeňových buniek, po transplantácii orgánov, pri nádorovom ochorení tehotnej alebo plodu). V týchto prípadoch je potrebný odber vopred individuálne konzultovať s laboratóriom.

PREDANALYTICKÉ INFORMÁCIE

Na vyšetrenie sa používa:

- odber vzorky periférnej krvi po 15. tt.,
- odoberá sa 9 ml periférnej krvi do skúmavky s roztokom EDTA,
- uchovávať pri teplote 4 – 10 °C.

Odberové dni

Počas pracovných dní pondelok až štvrtok, po ktorých bezprostredne nasleduje deň pracovného voľna alebo pokoja, ak nie je individuálne dohovoréné inak.

Transport biologického materiálu

- Vzorky na vyšetrenie RhD plodu je potrebné doručiť do Centrálného laboratória v Bratislave najneskoršie do 36 hodín od odberu.
- Každá vzorka biologického materiálu musí byť jednoznačne identifikovateľná a sprevádzaná žiadosťou.

- Žiadanky a 10 ml odberové skúmavky EDTA je možné vyžiadať prostredníctvom laboratória, call centra, dopravného dispečingu alebo medicínskych reprezentantiek.

Transport vzorky je potrebné realizovať v termotaške pri teplote 4 – 10 °C.

INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

Identifikácia statusu RhD faktora plodu = RhD pozitívny/negatívny.

Negatívny výsledok: Pri analýze voľnej alebo nebunkovej fetálnej DNA, cirkulujúcej v periférnej krvi tehotnej ženy, neboli detegované RhD špecifické sekvencie. Potvrďuje to RhD negatívny genotyp plodu.

Pozitívny výsledok: Pri analýze voľnej alebo nebunkovej fetálnej DNA, cirkulujúcej v periférnej krvi tehotnej ženy, boli detegované RhD špecifické sekvencie. Potvrďuje to RhD pozitívny genotyp plodu.

LIMITÁCIE TESTU

Patria sem odber vykonaný pred 15. tt., nedostatok voľnej fetálnej DNA, kontaminácia maternálnou DNA, syndróm miznúceho dvojčata, vysoké BMI matky (nižšia fetálna frakcia), „silent“ alely RHD génu, transfúzia krvi, hemolýza.

Falošne pozitívny výsledok

Falošne pozitívne nálezy sú možné kvôli „tichým alelám“. Ide o prítomnosť nefunkčných aliel génu RhD. Sú zodpovedné za Rh negatívny fenotyp, napriek Rh pozitívnemu genotypu. V takejto situácii sa môže zdať, že sa profylaxia podala zbytočne, avšak v prípade netestovania Rh statusu plodu by profylaxia podaná bola. K falošne pozitívnemu výsledku dochádza približne v 0,4 % prípadov (Legler et al., 2021, Cotorruello, 2023).

Falošne negatívny výsledok

Falošne negatívne výsledky sú možné z dôvodu nedostatočného množstva voľnej fetálnej DNA v materskej krvi následkom skoro vykonaného odberu (pred 15. tt.) a kontamináciou materskou DNA (Alford et al., 2023). Celkovo je miera falošných negatívnych výsledkov približne 1 z 2 000 testov.

METÓDA

Kvalitatívna/kvantitatívna PCR zameraná na detekciu špecifických sekvencií exónov 5, 7 a 10 v géne RhD v cirkulujúcej DNA izolovanej z plazmy materskej krvi.

DOSTUPNOSŤ VYŠETRENIA

Centrálné laboratórium Bratislava
Centrálné laboratórium Košice

NEINVAZÍVNE TESTOVANIE RhD statusu plodu z krvi matky

CENA VYŠETRENIA

Poistovne VŠZP (2500) a Union (2700) hradia náklady na vyšetrenie na základe indikácie od lekára gynekológa/genetika.

Poistovňa Dôvera (2400) vyšetrenie nehradí. Vyšetrenie je pre klientov poisťovne Dôvera možné realizovať za priamu platbu pacientky, a to buď:

- v zdravotníckom zariadení u ošetrojúceho lekára gynekológa/genetika, ktorý prijatie platby potvrdí na žiadanke, alebo
- v centrálnych laboratóriách Medirex, a.s. (Bratislava, Nitra, Košice) na základe vyplnenej a podpísanej žiadanky od ošetrojúceho gynekológa/genetika v hotovosti alebo platobnou kartou.

VYPRACOVALI

Medirex, a.s.: **RNDr. Katarína Tóthová**

laboratórny diagnostik so špecializáciou

Medirex, a.s.: **RNDr. Ľubica Majerová, PhD.**

vedúca úseku molekulovej genetiky

KONTAKT

+421 2 208 29 291, lubica.majerova@medirex.sk

+421 2 208 29 272, katarina.tothova@medirex.sk

Bratislava 1. 9. 2025

Literatúra

Legler TJ, Lührig S, Korschineck I, Schwartz D. Diagnostic performance of the noninvasive prenatal FetoGnost RhD assay for the prediction of the fetal RhD blood group status. Arch Gynecol Obstet. 2021 Nov;304(5):1191–1196. doi: 10.1007/s00404-021-06055-1. Epub 2021 Apr 9. PMID: 33835210; PMCID: PMC8490250.

Cotorruelo, Carlos Miguel; Elucidation of the molecular bases of the Rh system and its contribution to transfusion and obstetric medicine – historical and current perspective: a review; AME Publishing Company; Annals of Blood; 8; 12-2023; 1–14.

Alford B., Landry B.P., Hou S. et al. Validation of a non-invasive prenatal test for fetal RhD, C, c, E, K and Fya antigens. Sci Rep 13, 12786 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39283-3>.