

Aino Alahäivälä

**ID-DIASCREEN PROPHYLAX -SEULONTASOLUPANEELI  
ANTI-D-VASTA-AINEEN TUNNISTUKSESSA**

**ID-DIASCREEN PROPHYLAX -SEULONTASOLUPANEELI  
ANTI-D-VASTA-AINEEN TUNNISTUKSESSA**

Aino Alahäivälä  
Opinnäytetyö  
Kevät 2015  
Bioanalytiikan koulutusohjelma  
Oulun ammattikorkeakoulu

## TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan koulutusohjelma

---

Tekijä(t): Aino Alahäivälä

Opinnäytetyön nimi: ID-DiaScreen Prophylax -seulontasolupaneeli anti-D-vasta-  
aineen tunnistuksessa

Työn ohjaaja(t): Erikoislääkäri Minna Hannuksela, osastonylilääkäri Eeva-Riitta  
Savolainen ja erikoistuva lääkäri Irina Nagy, NordLab Oulu, Verikeskus. Ohjaavat  
opettajat Outi Mäkitalo ja Irja Parkkinen.

Työn valmistumislukukausi- ja vuosi: Kevät 2015 Sivumäärä: 40 + 10 liitesivua

---

Raskauden tai synnytyksen aikana sikiön punasoluja voi kulkeutua istukan kautta äidin elimistöön. Jos sikiö on perinyt isältään äidille vieraita veriryhmä-antigeeneja, äidin elimistö tunnistaa ne ja saattaa aloittaa niitä vastaan vasta-ainetuotannon. Vuosittain noin 300–500 odottavalta äidiltä 65 000 äidistä todetaan sellainen veriryhmävasta-aine, joka voi aiheuttaa vastasyntyneen hemolyyttisen taudin. Yleisin raskaudenaikainen veriryhmäimmunisaatio on RhD-immunisaatio. RhD-immunisaatiossa RhD-negatiivisen äidin elimistö tuottaa anti-D-vasta-ainetta RhD-positiivisen sikiön punasoluja vastaan. Tämä on yleisin vastasyntyneen hemolyyttisen taudin aiheuttaja. Äidin anti-D-vasta-ainetuotannon estämiseksi on kehitetty anti-D-immunoglobuliinisuojaus, joka vähentää immunisaation syntymistä merkittävästi.

ID-DiaScreen Prophylax -seulontasolupaneeli (BioRad) on suunniteltu tunnistamaan anti-D-vasta-aine immunisoitumattomilta RhD-negatiivisilta raskaana olevilta naisilta, jotka ovat saaneet anti-D-immunoglobuliinisuojauksen meneillään olevan raskauden aikana. Tämä opinnäytetyö oli projektiluontoinen tutkimus, jonka tarkoitus oli validoida ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin käyttö anti-D-vasta-aineen seulonnassa. Solupaneelin käyttöä ja soveltuvuutta testattiin myös lisäpaneelina muiden veriryhmävasta-aineiden tunnistuksessa.

Bio-Rad:n kehittämä ID-DiaScreen Prophylax on uusi 6 punasolun paneeli, jonka menetelmä on samanlainen kuin käytössä olevissa serologisissa vasta-aineseulonta- ja vasta-ainetunnistusmenetelmissä. Tutkimus suoritettiin Pohjois-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä NordLab:n verikeskuksessa Oulun yliopistollisessa sairaalassa loppuvuodesta 2013. Tutkimukseen valittiin potilaat, joiden vasta-aineseulonta (3 seulontasolun paneeli, BioRad) oli positiivinen. Kaikille tehtiin sekä vasta-ainetunnistus (11 punasolun paneeli, BioRad) että anti-D-vasta-aineen seulonta ID-DiaScreen Prophylax -paneelilla. Lisäksi määritettiin ABO- ja RhD-veriryhmät ja tehtiin suora antiglobuliinikoe. ID-DiaScreen Prophylax -paneelin tuloksia verrattiin seulonta- ja tunnistuspaneelien tuloksiin.

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli sopii RhD-negatiivisten äitien anti-D-suojauksen jälkeiseen anti-D-vasta-aineen tunnistukseen. Solupaneeli otettiin käyttöön NordLab:n Oulun verikeskuksessa 21.3.2014 ja NordLab:n Kemin aluelaboratoriossa keväällä 2014.

---

Asiasanat: anti-D-vasta-aine, anti-D-immunoglobuliinisuojaus, raskausimmunisaatio, vasta-aineseulontapaneeli, RhD-immunisaatio

## ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences  
Degree programme in Biomedical Laboratory Science

---

Author(s): Aino Alahäivälä

Title of thesis: Screening of antibody anti-D with ID-DiaScreen Prophylax screening panel

Supervisor(s): Erikoislääkäri Minna Hannuksela, osastonylilääkäri Eeva-Riitta Savolainen ja erikoistuva lääkäri Irina Nagy, NordLab Oulu, Verikeskus. Ohjaavat opettajat Outi Mäkitalo ja Irja Parkkinen.

Term and year when the thesis was submitted: Spring 2015

Number of pages: 40 + 10 appendix pages

---

During pregnancy or delivery fetal red blood cells may cross placenta and enter the maternal circulation. If the fetus has inherited blood group antigens from the father that are different from those of the mother, the mother may produce antibodies against the red cells of the fetus. The most common immunization during pregnancy is RhD immunization. RhD immunization is a condition where antibody anti-D is produced against RhD-positive fetus's red cells by RhD-negative mother. RhD immunization is the most common cause for haemolytic disease of the newborn. Maternal antibody anti-D production can be prevented with anti-D immunoglobulin prophylaxis which reduces the risk for immunization significantly.

ID-DiaScreen Prophylax screening panel (BioRad) is designed for fast recognition of antibody anti-D in RhD-negative pregnant women who have received anti-D immunoglobulin prophylaxis. The purpose of this thesis was to validate and test ID-DiaScreen Prophylax screening panel in the Blood Center of NordLab Oulu at Oulu University Hospital. The project was performed in the end of the year 2013.

ID-DiaScreen Prophylax (Bio-Rad) is a new blood group antibody screening panel with 6 red blood cells. It uses the same method as the previous serological blood group antibody screening and recognition panels.

The patients were from the Oulu University Hospital. Patients who had positive antibody screening (3 red cell panel, BioRad) were included in the study. The antibodies were identified with an 11-cell panel (BioRad). Anti-D antibodies were screened with the ID-DiaScreen Prophylax panel. ABO and RhD blood groups were determined and direct antiglobulin test was performed.

The results of the ID-DiaScreen Prophylax panel were compared with those of the screening panel and identification panel. The results suggested that the ID-DiaScreen Prophylax panel is reliable in recognition of antibody anti-D in RhD-negative mothers that have received anti-D immunoglobulin prophylaxis.

The ID-DiaScreen Prophylax panel was taken into use in the NordLab laboratory in Oulu on the 21st of March 2014 and in the NordLab laboratory in Kemi later in the spring of 2014.

---

Keywords: antibody anti-D, anti-D prophylaxis, immunization during pregnancy, antibody screening panel , RhD immunization

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	8
2	VERIRYHMÄJÄRJESTELMÄT .....	10
2.1	Veriryhmäjärjestelmien luokittelu .....	10
2.2	Antigeenit .....	11
2.3	Vasta-aineet .....	11
2.4	Veriryhmävasta-aineet .....	12
2.5	Rh-veriryhmäjärjestelmä .....	12
3	RASKAUSIMMUNISAATIO .....	14
3.1	RhD-raskausimmunisaatio .....	14
3.1.1	Muut raskausimmunisaatiot .....	15
3.2	Raskaudenaikaiset veriryhmä- ja vasta-ainetutkimukset .....	16
3.3	Anti-D-immunoglobuliinisuojaus .....	19
3.4	Vastasyntyneen hemolyyttinen tauti .....	21
4	TUTKIMUKSEN TOTEUTUS .....	24
4.1	Tutkimuksen suunnittelu ja tavoitteet .....	24
4.2	ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli .....	25
4.3	Tutkimusaineisto .....	27
4.4	Tutkimuksen suoritus .....	27
5	OPINNÄYTETYÖN TULOKSET .....	30
5.1	Tutkittavan solupaneelin toistettavuus .....	32
6	POHDINTA .....	34
	LÄHTEET .....	36
	LIITTEET .....	40

# 1 JOHDANTO

RhD-raskausimmunisaatio on tila, jossa punasolujen veriryhmätekijältään RhD-negatiivisen äidin elimistö tuottaa vasta-aineita RhD-positiivista sikiötä kohtaan. RhD-negatiivisen (RhD-) äidin vereen pääsee poikkeuksellisesti sikiön RhD-positiivisia (RhD+) punasoluja esimerkiksi lapsivesipunktiossa, keskenmenossa tai synnytyksen yhteydessä (Verensiirto-opas 2006, 74). Useimmin tämä sikiön punasolujen määrä äidin elimistössä on niin pieni, ettei sitä havaita, mutta määrän ollessa yli 0,1 ml äidin elimistö tunnistaa vieraan RhD-veriryhmätekijän ja alkaa tuottaa vasta-aineita sitä kohtaan (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015). Äidin plasmassa olevat veriryhmävasta-aineet läpäisevät istukan, jolloin sikiön verenkiertoon pääsee vasta-aineita sen omia punasoluja kohtaan. Tämä johtaa sikiön punasolujen hajoamiseen (Vilpo 2005, 91). Sikiön tai vastasyntyneen hemolyyttinen tauti aiheuttaa oireita lievästä tilasta vakavaan: esimerkiksi anemiaa, sydämen vajaatoimintaa, turvotusta, maksan tai pernan suurenemista, kohdunsisäisen kuoleman tai syntymän jälkeen kohonneesta bilirubiinin määrästä johtuvaan ihon keltaisuuteen ja hermostollisiin vammoihin tai kuolemaan pian syntymän jälkeen (Sainio & Kuosmanen 2012, 151, hakupäivä 14.05.2015).

RhD-raskausimmunisaatio on ainoa veriryhmäimmunisaatio, joka on ennalta ehkäistävässä. Jos epäillään RhD-positiivisen sikiön punasolujen pääsyä RhD-negatiivisen äidin verenkiertoon, äidille annetaan anti-D-immunoglobuliinipistos, joka sisältää anti-D-vasta-ainetta (Verensiirto-opas 2006, 75). Immunoglobuliinisuojauksen avulla sikiön punasolujen tuhoutuminen tapahtuu ennen kuin äidin elimistö tunnistaa ne ja aloittaa oman vasta-ainetuotantonsa (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015). Immunoglobuliinisuojaus on ollut käytössä kehittyneissä maissa 1960-luvulta lähtien (Clausen ym. 2012, 757). Suomessa synnytyksen jälkeinen anti-D-immunoglobuliinisuojaus otettiin käyttöön ensimmäisten maiden joukossa vuonna 1969 (Sainio & Kuosmanen 2012, 151, hakupäivä 14.05.2015).

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli on uusi 6-seulontasolupaneeli, joka menettelmältään vastaa edeltäviä vasta-ainesoluseulontapaneeleja. ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli on kehitetty anti-D-vasta-aineen pikatunnistukseen ja herkästi reagoimaan anti-D-vasta-aineen läsnäoloon näytteessä. Solupaneeli on kohdennettu tunnistamaan anti-D-vasta-aine immunisoitumattomilta RhD-negatiivisilta anti-D-immunoglobuliinisuojauksen saaneilta raskaana olevilta naisilta, mutta sillä voidaan lisäksi seuloa muita äidille ja sikiölle vaarallisia vasta-aineita. NordLab:n verikeskuksessa Oulun yliopistollisessa sairaalassa ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelia on testattu myös tietyillä potilailla 11-solupaneelin apuna tunnistettaessa muita verensiirrolle merkityksellisiä veriryhmävasta-aineita.

Opinnäytetyöni tarkoitus oli testata ja validoida ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin käyttö anti-D-vasta-aineen seulonnassa NordLab:n verikeskuksessa Oulussa. ID-DiaScreen Prophylax -paneeli otettiin käyttöön Oulussa 21.3.2014 ja NordLab:n Kemin aluelaboratoriossa keväällä 2014.

## 2 VERIRYHMÄJÄRJESTELMÄT

Ensimmäiset verensiirrot tehtiin siirtämällä eläinten verta ihmisiin ja myöhemmin aloitettiin verensiirrot ihmisten välillä (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015). Varsinainen verensiirtojen historia alkoi vuonna 1900 Karl Landsteinerin havaitessa eri veriryhmien olemassa olon (Verensiirto-opas 2006, 15). RhD-veriryhmää ovat tutkineet muun muassa Philip Levine ja Rufus Stetson vuonna 1939 sekä Karl Landsteiner ja Alexander S. Wiener julkaisten artikkelin 1940 (Levine & Stetson 1939; Landsteiner & Wiener 1940, hakupäivä 1.5.2015). Yhteys veriryhmäimmunisaatioihin löydettiin ja myöhemmin Rh-veriryhmäjärjestelmä ja sen noin 50 eri antigeeniä tunnistettiin (Verensiirto-opas 2006, 18).

### 2.1 Veriryhmäjärjestelmien luokittelu

Veriryhmäjärjestelmät ovat punasolujen pinnan antigeenirakenteisiin ja plasman vasta-aineisiin perustuvaa veriryhmien erottelua. Eri veriryhmät on löydetty niiden vasta-ainemuodostuksen kautta. Samaan veriryhmäjärjestelmään luetaan ne antigeenit, jotka periytyvät toisiinsa kytkeytyneitä (esimerkiksi Rh-ryhmän C ja c) tai joiden määräävät geenit ovat suhteessa toisiinsa alleelisiä eli geenin vaihtoehtoisia muotoja samassa kromosomipaikassa. Veriryhmät ovat periytyviä ominaisuuksia (Verensiirto-opas 2006, 11).

Nykyään tunnetaan 29 eri veriryhmäjärjestelmää, joissa on yhteensä yli 270 erilaista veriryhmäantigeenia (Verensiirto-opas 2006, 11). Osa näistä antigeeneista on hyvin harvinaisia ja Suomen Punaisen Ristin Veripalvelulla on harvinaisia punasoluja jäädytettynä. Jos tarvittavaa harvinaisuutta ei löydy, sen saatavuutta tiedustellaan ulkomaisista veripankeista (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 16.5.2015). Suomalaisilla esiintyy varsin paljon muualla maailmassa harvinaisia punasoluantigeenejä (Verensiirto-opas 2006, 12).

## 2.2 Antigeenit

Antigeeni on molekyyli, joka aiheuttaa elimistössä immuunivasteen. Veriryhmäjärjestelmissä antigeenit ovat punasolun pinnan rakenteita: proteiineja, glykoproteiineja ja glykolipidejä (Verensiirto-opas 2006, 11).

Elimistö tunnistaa vieraat solut antigeenien avulla. Antigeeni aiheuttaa elimistössä immuunireaktion eli vasteen, joka on joko vasta-aine- tai soluvälitteinen. Primaarissa vasteessa on kyse luonnollisen immuniteetin toiminnasta ja antigeeni on elimistölle tällöin tuntematon. Elimistö tuhoaa antigeenin muodostamalla vasta-aineita sitä kohtaan, jolloin immunologisen muistin B-”muistisoluihin” jää jälki tästä tietyistä antigeenistä. Kun antigeeni seuraavan kerran tunnistetaan elimistössä, opittu eli adaptiivinen immuniteetti tunnistaa antigeenin ja käynnistää sekundäärisen vasteen. Antigeeni tunnistetaan näin nopeammin ja tuhotaan vasta-ainereaktiossa (Hedman 2011, 149-152).

## 2.3 Vasta-aineet

Vasta-aineet eli immunoglobuliinit (Ig) kuuluvat elimistön humoraaliseen immuunijärjestelmään eli solunulkoisten nesteiden välityksellä toimivaan immuunijärjestelmään. Ne muodostavat 20 % plasman kokonaisproteiinipainosta eli ovat veren runsaimpia proteiineja (Solunetti 2006, hakupäivä 15.5.2015). Vasta-aineet ovat plasmasoluiksi muuttuneiden B-lymfosyyttien erittämiä liukoisia glykoproteiineja ja ovat spesifisiä antigeeneille eli molekyyलेille, jotka saavat aikaan elimistön immuunivasteen. Vasta-aineet kiinnittyvät B-lymfosyyttien solukalvolle, missä ne toimivat antigeenireseptoreina B-lymfosyyttien kypsyessä luuytimessä. B-lymfosyytit aktivoituvat antigeenin sitouduttua reseptoriin imukudoksissa, jolloin B-lymfosyytit erikoistuvat ”muistisoluiksi” tai aloittavat vasta-ainetuotannon (Hedman 2011, 149-152). Vasta-aineet jaetaan immunoglobuliiniluokkiin IgG, IgA, IgM, IgD ja IgE niiden molekyyliarakenteen mukaan (Leikola 1987, 1-6).

## 2.4 Veriryhmävasta-aineet

Veriryhmävasta-aineet ovat punasolujen veriryhmäominaisuuksia vastaan muodostuneita vasta-aineita. Tyypillisesti kliinisesti merkittävät vasta-aineet ovat muodostuneet henkilön immunisoiduttua vieraan veren punasoluantigeeneille esimerkiksi verensiirrossa tai raskauden aikana. Näitä kutsutaan immuunivasta-aineiksi. Niin sanotut luonnolliset vasta-aineet ovat muodostuneet varhaislapsuuden aikana ruuansulatuskanavan kautta altistuksesta bakteerien pintarakenteisiin, jotka ovat veriryhmäantigeeneja muistuttavia hiilihydraatteja (Verensiirto-opas 2006, 14).

Veriryhmävasta-aineet kuuluvat immunoglobuliiniluokkiin IgG ja IgM sekä joskus myös luokkaan IgA. ABO-veriryhmäjärjestelmän vasta-aineet ovat luonnollisia vasta-aineita ja kuuluvat yleensä IgM-luokkaan. Niitä kutsutaan isoagglutiniineiksi ja ne ovat aina merkityksellisiä verensiirrossa. Muuten suurin osa IgM-luokan vasta-aineista ei aiheuta verensiirtoreaktiota ja ne ovat yleensä merkityksettömiä (Verensiirto-opas 2006, 14-15).

Rh-veriryhmän vasta-aineet ovat yleensä IgG-luokan immuunivasta-aineita (kuuluvat toisinaan myös IgM-luokkaan) (Verensiirto-opas 2006, 18; Leikola, J. 1987). Yleisin Rh-vasta-aine on anti-D. Se esiintyy usein yhdessä anti-C:n ja anti-E:n kanssa. Anti-E on usein luonnollinen vasta-aine (poiketen muista Rh-vasta-aineista), mutta koska anti-E voi olla myös immuunivasta-aine, se on aina otettava huomioon verensiirroissa (Verensiirto-opas 2006, 14, 18-19). Anti-D:n ja anti-E:n jälkeen seuraavaksi yleisin Rh-vasta-aine on anti-c. Anti-c ja muut Rh-vasta-aineet ovat aina kliinisesti merkityksellisiä (Verensiirto-opas 2006, 18).

## 2.5 Rh-veriryhmäjärjestelmä

Ihmisellä on tunnistettu 29 veriryhmäjärjestelmää, joista Rh- eli Rhesus-veriryhmäjärjestelmä on ABO-ryhmän jälkeen merkittävin (Verensiirto-opas 2006, 11). RhD-antigeeni on hydrofobinen proteiini punasolun kalvolla (Leikola 1987, 1-6). Anti-D-vasta-aine voi immuunivasta-aineena syntyä vain D-antigeenin suhteen

negatiivisille henkilöille, jos he ovat saaneet D-positiivisia punasoluja verensiirrossa tai raskauden aikana (Suomen Punainen Risti. Veripalvelu 2015. Hakupäivä 15.5.2015).

Rh-antigeeneja on tunnistettu noin 50 erilaista. Niistä merkityksellisimpiä ovat D, C, c, E ja e antigeenit. RhD- ja RhCE-geenit ovat tiiviisti sidoksissa (Verensiirto-opas 2006, 18: Hedman 2011, 149-152). RhD-antigeenin immunogeenisuus on muihin ryhmän antigeeneihin verrattuna suuri. Sen antigeenideterminantteja voi olla punasolun pinnalla kymmeniä tuhansia ja D-antigeenin määrä punasolun pinnalla voi vaihdella (Hedman 2011, 149-152).

Jos D-antigeenin määrä on alhainen, käytetään nimitystä heikko D-antigeeni (aikaisemmin D<sup>u</sup>). Noin 0,5 %:lla suomalaisista on hyvin heikko D-antigeeni, jonka toteaminen voi olla vaikeaa. Heikko D-antigeeni tulee verenluovuttajien kohdalla määrittää luotettavasti. Verenluovuttajan tietoihin ja punasoluyksikköön merkitään RhD-positiivinen, jos D-antigeeni todetaan. Verensaajaa on taas turvallisempi pitää RhD-negatiivisena, kuin yrittää todeta erittäin heikkoa D-antigeenia. Määritystulosten ollessa epäselviä siirretään aina RhD-negatiivisia punasoluja (Verensiirto-opas 2006, 18).

### 3 RASKAUSIMMUNISAATIO

Raskauden aikana sikiön punasoluja voi siirtyä istukan läpi äidin verenkiertoon. Tämän transplantaalisen vuodon määrä voi lisääntyä merkittävästi synnytyksen tai istukan irtoamisen yhteydessä, jolloin äidin immuunijärjestelmä tunnistaa sikiön vieraat punasoluantigeenit ja aloittaa vasta-ainetuotannon niitä vastaan (Eklund ym. 1995, 265-266). Nämä IgG-luokan vasta-aineet ovat tarpeeksi pieniä läpäistääkseen istukan ja kulkeutuvat sikiön verenkiertoon tarttuen sikiön punasolujen pintaan. Tämä aiheuttaa sikiön punasolujen tuhoutumisen johtaen anemiaan ja vastasyntyneen hemolyyttiseen tautiin (Verensiirto-opas 2006, 74).

#### 3.1 RhD-raskausimmunisaatio

RhD-raskausimmunisaatio on yleisin ja merkittävin raskausimmunisaatio. Siinä RhD-negatiivisen (RhD- eli D-antigeeni puuttuu) äidin vereen pääsee poikkeuksellisesti sikiön RhD-positiivisia (RhD+) punasoluja. Tämä voi tapahtua istukan kautta keskenmenossa tai synnytyksen yhteydessä, oireettomasti raskauden aikana, raskaudenkeskeytyksessä, kohdunulkoisessa raskaudessa, lapsivesipunktiossa, kohdun alueen traumassa, istukanäytteenotossa tai perätilan ulkokäännöksessä.

Anti-D-immunoglobuliinisuojaus synnytyksen jälkeen on tärkein RhD-raskausimmunisaatiota ja sikiön ja vastasyntyneen hemolyyttistä tautia ehkäisevä toimenpide RhD-negatiivisille äideille. Silti 1,8 %:lla näistä äideistä todetaan anti-D-vasta-aine myöhemmin raskauden aikana. Tämän arvellaan johtuvan suurimmalla osalla sikiön punasolujen oireettomasta vuodosta (Sainio & Kuosmanen 2012, 151, hakupäivä 14.5.2015). Näin RhD-negatiivisen äidin jokainen raskaus kasvattaa immunisaation riskiä sikiön ollessa RhD-positiivinen (Eklund ym. 1995, 268; Strohm 2005, 424). RhD-antigeeni on todettavissa sikiön punasoluissa jo 7. raskausviikolla, joten se kykenee immunisoimaan jo hyvin varhaisessa vaiheessa raskautta joutuessaan istukan kautta äidin verenkiertoon (Liumbruno ym. 2010,

8-16, hakupäivä 15.5.2015). Keskenmeno tai raskauden keskeytys voivat näin aiheuttaa RhD-immunisaation jo alkuraskaudessa.

Suomessa aloitettiin vuonna 2013 rutiininomainen anti-D-immunoglobuliinisuojaus RhD-negatiivisille äideille raskausviikoilla 28-30 synnytyksen jälkeisen suojauksen lisäksi (Äitiysneuvolaopas 2013, 118).

### **3.1.1 Muut raskausimmunisaatiot**

Myös Rh-veriryhmäjärjestelmän vasta-aineet anti-c ja anti-E, Kell-ryhmän anti-K sekä Duffy- ja Kidd-ryhmien vasta-aineet ovat sikiön kannalta merkityksellisiä ja voivat aiheuttaa RhD-antigeenin lisäksi sikiön tai vastasyntyneen hemolyyttistä tautia (Porkka ym. 2015, 635). Vuonna 2010 yhteensä 895 äidillä todettiin veriryhmävasta-aine (1,3 % kaikista seulotuista). Näistä 531 äidillä oli raskauden kannalta merkityksellisiä vasta-aineita. Eniten oli anti-D-, anti-DC-, anti-DE- tai anti-DCE-vasta-aineita (162 äidillä), anti-E-vasta-aineita (133 äidillä), anti-c- tai anti-cE-vasta-aineita (86 äidillä) ja muita Rh-vasta-aineita (71 äidillä). Anti-K (Kell) löytyi 32 äidiltä, anti-Jk<sup>a</sup> (Kidd) 29 äidiltä ja anti-Fy<sup>a</sup> (Duffy) 15 äidiltä.

Veriryhmävasta-aineiden pitoisuudet ovat usein kuitenkin niin pieniä, että hoitoa annetaan yleensä vasta synnytyksen jälkeen. Keskimäärin 150 lasta tarvitsee hoitoa sikiön ja vastasyntyneen hemolyyttisen taudin takia Suomessa vuosittain; näistä 50% liittyy ABO-immunisaatioihin, 40% RhD-immunisaatioihin ja loput muihin vasta-aineimmunisaatioihin (Sainio & Kuosmanen 2012, hakupäivä 14.05.2015). Anti-K- ja anti-c-raskausimmunisaatiot voivat vaatia kohdunsisäisiä punasolusiirtoja 0-4 raskaudessa vuodessa ja anti-D-raskausimmunisaatiot noin 9 raskaudessa (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015).

Anti-c vasta-aine on kliinisesti hyvin merkittävä ja voi aiheuttaa vakavan tautimuodon. Anti-c- tai anti-cE-vasta-aineita todettiin 86 äidillä seulotuista 67 854 äidistä Suomessa vuonna 2010 (Sainio & Kuosmanen 2012, hakupäivä 14.05.2015).

Kozlowski, Lee, Shwe ja Love tekivät kvantifoinnin anti-c-vasta-aineen aiheuttamasta sikiön tai vastasyntyneen hemolyyttisestä taudista Britanniassa vuonna 1995. Tutkimuksissa oli mukana 120 raskaana olevaa naista, joilla oli anti-c-vasta-aine. Heidän synnyttämistään lapsista 100 oli c-positiivisia. Näistä 14 lasta vaati välitöntä veren vaihtoa vakavan hemolyyttisen taudin vuoksi. Lisäksi 15 vastasyntynyttä tarvitsi valohoitoa heti syntymän jälkeen (Kozlowski ym. 1995. 37-38).

### **3.2 Raskaudenaikaiset veriryhmä- ja vasta-ainetutkimukset**

Raskaana olevilta naisilta otetaan äitiysneuvolassa verinäytteet ABO - ja RhD-veriryhmämääritystä varten sekä veriryhmävasta-aineiden seulontaan ja tunnistukseen. Tarkoituksena on seuloa näytteistä ne äidit, joiden lapsella on riski sairastua sikiön tai vastasyntyneen hemolyyttiseen tautiin (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015: NordLab Oulu tutkimusohjekirja, hakupäivä 15.5.2015.). Jos näytteistä löydetään vasta-aineita, vasta-aineet tunnistetaan ja äidin punasoluista tehdään fenotyypitys. Vasta-aineiden pitoisuutta seurataan säännöllisesti 1-2 viikon välein raskauden puolivälin jälkeen. Jos äidillä on anti-D-vasta-aine, vasta-aineen pitoisuuden seuranta aloitetaan jo aiemmin, koska punasolusiirtoja voidaan tarvita jo 20 raskausviikolta alkaen (Sainio & Kuosmanen 2012, 151-157, hakupäivä 14.5.2015).

Suomen Punaisen Ristin Veripalvelu on tehnyt koko Suomen raskaudenaikaiset veriryhmävasta-ainetutkimukset vuodesta 1990 alkaen. Vuosittain seulotaan noin 65 000 äidin näytteet. Vasta-aineiden seurannassa on 250-500 äitiä vuosittain. Anti-D-vasta-aine on vakavin raskausimmunisaation aiheuttaja. Anti-D löytyi 162 äidiltä vuonna 2010 (Sainio & Kuosmanen 2012, hakupäivä 14.5.2015). Noin kymmenessä raskaudessa kehittyy vakava immunisaatio, jolloin sikiölle täytyy siirtää punasoluja jo kohdussa (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015: Sainio & Kuosmanen 2012, 153, hakupäivä 15.5.2015).

Kaikilta äitiysneuvolan raskaana olevilta naisilta otetaan raskausviikolla 8-12 ensimmäinen verinäyte, josta tutkitaan ABO- ja RhD-veriryhmät ja veriryhmävasta-

aineet (TAULUKKO 1. Raskaudenaikaiset veriryhmä- ja veriryhmävasta-ainetutkimukset).

RhD-negatiiviset äidit pidetään tarkemmassa seurannassa, koska heillä on tavallista suurempi riski muodostaa veriryhmävasta-aineita. Heiltä otetaan lisäksi verinäytteet raskausviikoilla 24-26 sekä raskausviikolla 36.

RhD-positiiviselta äidiltä otetaan lisänäyte raskausviikolla 36, jos hän on saanut verensiirtoja tai hänen aiempaa lastaan on hoidettu vastasyntyneenä keltaisuuden vuoksi. Isän näyte voidaan myös tutkia, jos äidiltä löydetään merkityksellisiä vasta-aineita.

Sikiön RhD-veriryhmä voidaan määrittää PCR-tekniikalla äidin plasmasta raskausviikoilla 24-26, jotta anti-D-suojaus (viikoilla 28-30) voidaan kohdentaa niihin raskauksiin, joissa sikiö on RhD-positiivinen. Lisäksi vaikeissa veriryhmäimmunitaatioissa hoidon suunnittelu aloitetaan raskausviikolta 16 lähtien, jolloin sikiön Kell- ja Rh-ryhmät voidaan määrittää lapsivedestä ja sikiön RhD-ryhmä äidin plasmasta (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015.).

*TAULUKKO 1. Raskaudenaikaiset veriryhmä- ja veriryhmävasta-ainetutkimukset. Suomen seulontaohjelma. (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015. Hakupäivä 15.5.2015). Taulukko jatkuu seuraavalla sivulla.*

<b>RhD-negatiivinen äiti</b>	<b>RhD-positiivinen äiti</b>
<b>8.-12. raskausviikko</b> Verinäytteestä tutkitaan ABO- ja RhD-veriryhmät sekä veriryhmävasta-aineet.	<b>8.-12. raskausviikko</b> Verinäytteestä tutkitaan ABO- ja RhD-veriryhmät sekä veriryhmävasta-aineet.

RhD-negatiivinen äiti	RhD-positiivinen äiti
<p><b>24.-26. raskausviikko</b></p> <p>Verinäytteestä tutkitaan veriryhmä-vasta-aineet, sillä RhD-negatiivisilla äideillä on tavallista suurempi riski muodostaa niitä.</p> <p>Sikiön RhD-veriryhmä voidaan tutkia äidin verinäytteestä anti-D-suojauksen kohdentamiseksi.</p>	
<p><b>28.-30. raskausviikko</b></p> <p>Rutiininomainen raskaudenaikainen anti-D-immunoglobuliinisuojaus annetaan kaikille immunisoitumattomille RhD-negatiivisille äideille, mikäli sikiön RhD-veriryhmää ei ole tutkittu.</p> <p>Jos sikiön RhD-veriryhmä on tutkittu äidin verinäytteestä, anti-D-immunoglobuliinisuojaus annetaan vain niille immunisoitumattomille RhD-negatiivisille äideille, joiden sikiö on RhD-positiivinen. Mikäli sikiö on RhD-negatiivinen, suojausta ei anneta (koska ei ole riskiä immunisoitua).</p> <p>Jos äiti on immunisoitunut eli hänellä on anti-D-vasta-aine, anti-D-immunoglobuliinisuojausta ei anneta.</p>	

<b>RhD-negatiivinen äiti</b>	<b>RhD-positiivinen äiti</b>
<p><b>36. raskausviikko</b></p> <p>Verinäytteestä tutkitaan veriryhmä-vasta-aineet.</p>	<p><b>36. raskausviikko</b></p> <p>Lisänäyte, joka otetaan, jos RhD-positiivinen äiti on saanut verensiirtoja tai hänen aiempaa lastaan on hoidettu vastasyntyneenä keltaisuuden vuoksi.</p> <p>Verinäytteestä tutkitaan veriryhmävasta-aineet.</p>
<p><b>Synnytyksen jälkeen</b></p> <p>Määritetään vastasyntyneen RhD-veriryhmä.</p> <p>Jos vastasyntynyt on RhD-positiivinen, RhD-negatiiviselle äidille annetaan anti-D-immunoglobuliinisuojaus 72 tunnin kuluessa synnytyksestä.</p> <p>Mikäli vastasyntynyt on RhD-negatiivinen, suojausta ei anneta.</p>	

### 3.3 Anti-D-immunoglobuliinisuojaus

Postnataalinen eli synnytyksen jälkeinen anti-D-immunoglobuliinisuojaus kehitettiin 1960-luvun lopulla (Clausen ym. 2012, 572). Suomessa se otettiin käyttöön vuonna 1969 ensimmäisten maiden joukossa (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015.). Postnataalinen immunoglobuliinisuojaus on laskenut RhD-raskausimmunisaation kehittymisen riskiä 16 %:sta 2 %:iin (Clausen ym. 2012, 572).

1970-luvun lopulla huomattiin, että postnataalisen ja antenataalisen eli raskaudenaikaisen immunoglobuliinisuojaus-kombinaation käyttö on vielä paljon tehokkaampi kuin pelkän postnataalisen suojauksen käyttö yksinään. Tämän jälkeen myös antenataalinen immunoglobuliinisuojaus raskausviikoilla 28-30 otettiin useissa maissa käyttöön. Ensin se otettiin käyttöön kaikille raskaana oleville

RhD-negatiivisille immunisoitumattomille äideille, mutta myöhemmin spesifisti vain niille RhD-negatiivisille äideille, joiden sikiö on RhD-positiivinen. Näin raskaana oleville vältetään turhaa altistusta vasta-aineille (Clausen ym. 2012, 572-573: Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015).

RhD-raskausimmunisaatio on ainoa veriryhmäimmunisaatio, joka on ennaltaehkäistävässä. Immunisaation järjestelmälliseksi ehkäisemiseksi Suomessa aloitettiin vuonna 2013 raskaudenaikainen anti-D-immunoglobuliinisuojaus raskausviikoilla 28-30 kaikille RhD-negatiivisille äideille. Jos mahdollista, sikiön veriryhmä määritetään raskausviikoilla 24-26 ja suojaus annetaan raskausviikoilla 28-30 vain niille äideille, joiden sikiö on RhD-positiivinen. Suomessa RhD-negatiivisten raskaana olevien naisten sikiöistä 60 % on RhD-positiivisia (Äitiysneuvolaopas 2013, 117-118).

RhD-negatiiviselle äidille annetaan anti-D-immunoglobuliinisuojaus raskaudenaikaisen suojauksen lisäksi 72 tunnin sisällä synnytyksestä silloin, kun vastasyntynyt on RhD-positiivinen. Pistos sisältää 250-300 µg anti-D-immunoglobuliinia (Lääkeinfo 2015, hakupäivä 15.5.2015).

Anti-D-suojaus annetaan raskauden aikana RhD-negatiiviselle äidille myös, jos verenvuodon vaara sikiöstä äitiin on olemassa esimerkiksi lapsivesipunktion tai ulkokäännöksen aikana (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015).

Anti-D-suojauksessa käytettävä anti-D-immunoglobuliini eli anti-D-vasta-aine tuhoaa sikiöstä peräisin olevat punasolut, ennen kuin äidin elimistö tunnistaa ne vieriksi ja aloittaa vasta-ainetuotannon niitä kohtaan (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015.). Suojaus useimmiten estää immunisoinnin, mutta vasta-aineiden jo synnyttyä se on hyödytön (Eklund ym. 1995, 274). Anti-D-immunoglobuliinisuojausta ei näin ollen anneta aikaisemmin D-antigeenia vastaan immunisoituneelle RhD-negatiivisille äidille, jolla on todettavissa immuuni-anti-D-vasta-aine.

Veriryhmävasta-aineseulonnessa anti-D-immunoglobuliinisuojauksesta johtuvan anti-D-vasta-aineen voi nähdä jopa puolen vuoden ajan suojauksen jälkeen (Verensiirto-opas 2006, 75).

### 3.4 Vastasyntyneen hemolyyttinen tauti

RhD-negatiiviselta äidiltä puuttuu RhD-antigeeni, joten sikiön isältä perimä RhD-antigeeni tunnistetaan äidin elimistössä vieraaksi (*KUVIO 1. RhD-veriryhmän periytyminen silloin, kun äiti on RhD-negatiivinen (dd) ja isä RhD-positiivinen*). Näin äidin elimistö alkaa tuottaa vasta-aineita sikiön RhD-positiivisia punasoluja kohtaan. Immunisaation seurauksena äidin tuottamat vasta-aineet ovat IgG –luokan immunoglobuliineja, jotka kykenevät pienen molekyylikokonsa vuoksi läpäisemään istukan (Eklund ym. 1995, 265-266).

	Isä		Isä	
	D	D	D	d
Äiti	d	Dd	Dd	dd
	d	Dd	Dd	dd

Kaikki lapset ovat RhD-positiivisia

50 % lapsista on RhD-positiivisia

*KUVIO 1. RhD-veriryhmän periytyminen silloin, kun äiti on RhD-negatiivinen (dd) ja isä RhD-positiivinen. Jos isä on homotsygootti (DD), kaikki lapset ovat RhD-positiivisia (Dd). Jos isä on heterotsygootti (Dd), puolet lapsista on RhD-negatiivisia (dd) ja puolet RhD-positiivisia (Dd).*

Äidin elimistön tuottamat anti-D-vasta-aineet sitoutuvat sikiön punasolujen pinnalla oleviin D-antigeeneihin. Sikiön pernassa ja maksassa fagosyytit tunnistavat vasta-aineilla päällystetyt punasolut ja tuhoavat ne verenkierrosta, mikä johtaa sikiön anemisoitumiseen (Eklund ym. 1995, 265-266).

Sikiön ja vastasyntyneen hemolyyttisen taudin (Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn, HDN, erythroblastosis fetalis) kliininen kuva riippuu hemolyysin voimakkuudesta suhteessa sikiön kompensatoriseen punasolutuotantoon. Taudin kuva voi vaihdella lievästä anemiasta kohdunsisäiseen kuolemaan. Lievässä anemiassa hemoglobiinin taso ei vähäisestä punasolujen hajoamisesta muutu, mutta hajoamisen ollessa voimakasta sikiö tai lapsi anemisoituu. Hematopoieesi ei kiihtyneenkään riitä korvaamaan punasolujen lyhentynyttä elinikää.

Vaikeimmissa taudinkuvissa sikiö yrittää kompensoida anemisoitumista kasvatamalla nestetilavuuttaan, jolloin oireina voi olla muun muassa turvotuksia, askitesta sekä pernan ja maksan suurenemista. Tätä kutsutaan hydrops fetalis-tilaksi, joka on hengenvaarallinen (Porkka ym. 2015, 635-636). Jos sikiön hemoglobiinitaso on alle 40 g/l, tämä johtaa sikiön menehtymiseen ilman hoitoa (Eklund ym. 1995, 265-266).

Immunisoitumisen seurauksena ja punasolujen hajotessa sikiölle ja vastasyntyneelle aiheutuvia ongelmia on anemia, hyperbilirubinemia ja keltaisuus (vastasyntyneellä). Hyperbilirubinemia aiheuttaa keltaisuuden lisäksi bilirubiinin kertymistä aivoihin. Bilirubiini on neurotoksinen ja voi aiheuttaa aivovaurion (kernikterus). IgG-tyyppisten vasta-aineiden säilyessä verenkierrossa viikkoja, sikiön ja lapsen hemolyysi jatkuu syntymän jälkeen. Lieväkin hemolyysi voi johtaa pernan ja maksan suurentumiseen. Hemolyysin ollessa voimakasta sikiö anemisoituu ja hänelle kehittyy sydämen vajaatoiminta. Tämä voi johtaa hydrops fetalis-tilaan (Porkka ym. 2015, 635-636).

Hemoglobiilin hajoamistuote bilirubiini ja sen kohonnut määrä veressä aiheuttavat ihon keltaisuutta, eikä vastasyntyneen vielä kehittymätön maksa pysty poistamaan bilirubiinia tarpeeksi tehokkaasti. Tätä hoidetaan yleensä sinivalohoidolla

1-3 päivää, kunnes bilirubiinin määrä on laskenut riittävästi, mutta voimakas keltaisuus vaati nopeampaa hoitoa. Tällöin vauvalle on tehtävä verenvaihto bilirubiinin poistamiseksi. Verenvaihdon tarve on kuitenkin hyvin harvinainen (HUS Vasta-syntyneen keltaisuus, hakupäivä 10.05.2015). Aiemmin immunisaation vuoksi verenvaihto tehtiin keskimäärin 25 lapselle vuodessa, nykyään se tehdään noin kymmenelle lapselle vuodessa (Sainio & Kuosmanen 2012, 153, hakupäivä 14.5.2015).

Vastasyntyneen hemolyyttisen taudin vakavin pitkäaikaisseuraus on kernikterus eli vastasyntyneen keltataudin aiheuttama aivorungon vaurio. Tässä bilirubiinin määrän ollessa veressä hyvin suuri veri-aivoeste ylittyy kerryttäen bilirubiinia keskushermostoon. Riskiä tähän lisäävät keskosuus, asidoosi ja infektiot. Vastasyntyneellä kernikterus voi aiheuttaa spastisuutta eli jäykkähalvausta, opistotonusta eli selkälihakouristusta ja kimeää itkua. Aivoverenvuodot ja hengitystoiminnan häiriintyminen voivat johtaa kuolemaan (Porkka ym. 2015. 635-636: Eklund ym. 1995, 265-266).

Raskauden aikana vaikeaa immunisaatiota voidaan hoitaa kohdunsisäisillä punasolusiiroilla ja näin korjata anemiaa. Vastasyntyntä hoidetaan immunoglobuliinilla, valohoidolla tai veren vaihdolla, jolloin vasta-aineet ja bilirubiini poistuvat verestä. Lievemmissä immunisaatioissa synnytys voidaan käynnistää muutamaa viikkoa ennen laskettua aikaa (Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015, hakupäivä 15.5.2015).

Sikiön ja vastasyntyneen hemolyyttinen tauti on aiheuttanut vuosina 2000-2009 viisi kuolleena syntyntä lasta ja viisi ensimmäisen elinviikon aikana kuollutta. Viimeisen vuosikymmenen aikana kuolleisuus on ollut 0-2 lasta vuodessa, 1,6 / 100 000 vastasyntyntä (Sainio & Kuosmanen 2012, hakupäivä 14.05.2015).

## 4 TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

Opinnäytetyössä tutkittiin ja validoitiin ID-DiaScreen Prophylax -seulontasolupaneelin käyttö anti-D-suojauksen jälkeisen anti-D-vasta-aineen tunnistuksessa RhD-negatiivisilla immunisoitumattomilla äideillä, jotka olivat saaneet anti-D-immunoglobuliinisuojauksen meneillään olevan raskauden aikana. Solupaneelin soveltuvuutta testattiin myös lisäpaneelina muiden veriryhmävasta-aineiden tunnistuksessa. Tutkimus toteutettiin vertaamalla ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin (6 solun paneeli) tuloksia veriryhmävasta-aineiden seulonnan (3 solun paneeli) ja veriryhmävasta-aineiden tunnistuksen (11 solun paneeli) tuloksiin.

### 4.1 Tutkimuksen suunnittelu ja tavoitteet

Opinnäytetyö toteutettiin Pohjois-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän NordLab:n laboratorion verikeskuksessa Oulun yliopistollisessa sairaalassa. NordLab:iin kuuluvat seuraavat aluelaboratoriot: Oulu, Kajaani, Kokkola, Kemi ja Rovaniemi. NordLab:n Oulun aluelaboratorioon tuli loppuvuodesta 2013 uusi ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli, jonka toiminta testattiin ja validoitiin käyttöön ennen sen virallista käyttöönottoa 21.3.2014 NordLab:ssa Oulussa.

Tutkimuksen suoritusohje oli verikeskuksessa valmiina, joten opinnäytetyö keskittyi juuri uuden solupaneelin toimivuuden testaukseen. ID-DiaScreen Prophylax -seulontasolupaneeli tulee toimimaan anti-D-immunoglobuliinisuojauksesta johtuvan anti-D-vasta-aineen tunnistuksessa anti-D-immunoglobuliinisuojauksen saaneilla RhD-negatiivisilla äideillä NordLab:ssa Oulussa.

ID-DiaScreen Prophylax soveltuu hyvin sairaaloiden käyttöön, jossa näytteitä tulee vuorokaudessa paljon; 6-solupaneeli on anti-D:n tunnistuksessa nopeampi verrattuna veriryhmävasta-aineiden tunnistukseen 11-solupaneelilla. Se ei vaadi käyttäjältään samanlaista asiantuntijuutta kuin 11-solupaneelin käyttö.

Opinnäytetyössä kartoitettiin lisäksi ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin mahdollinen käyttötarve selvittämällä NordLab:n aluelaboratorioiden RhD-negatiivisten synnyttäjien lukumäärä (TAULUKKO 1. Arvio ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin mahdollisesta käyttötarpeesta.), jotta nähtiin, onko tutkimus tarpeen ottaa käyttöön jokaisessa aluelaboratoriossa. Potilaita NordLab:n alueella oli kuitenkin pienemmissä aluelaboratorioissa varsin vähän, joten nämä näytteet päädytään todennäköisesti lähettämään tutkittavaksi NordLab:in Oulun aluelaboratorioon Oulun yliopistolliseen sairaalaan.

TAULUKKO 2. Arvio ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin mahdollisesta käyttötarpeesta. RhD-negatiivisten synnyttäjien lukumäärä NordLab:n aluelaboratorioiden alueella (Hannuksela, Savolainen, Rapo, Ikonen-Toivanen & Ahlskog).

NordLab:n aluelaboratorio	RhD-negatiiviset synnyttäjät / viikko
Oulu	1-7 (max 11)
Oulaskangas	4-6
Kemi	Noin 1
Kokkola	1-4
Rovaniemi	Ei tilastoja
Kajaani	Ei tilastoja

## 4.2 ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelia käytetään RhD-negatiivisilla immunisoitumattomilla äideillä, jotka ovat saaneet anti-D-immunoglobuliinisuojausmenneillään olevan raskauden aikana. ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin avulla selvitetään, onko plasmassa anti-D-suojauksesta peräisin olevaa anti-D-vastaainetta. Mikäli ID-DiaScreen Prophylax -paneelin tulos viittaa siihen, että äidin

plasmassa voisi olla merkittäviä vasta-aineita (muita kuin anti-D-suojauksesta johtuva anti-D), tehdään 11-solun vasta-ainetunnistus. ID-DiaScreen Prophylax -paneelissa verrataan potilaan plasman ja solupaneelin kuuden seulontapunasolun välistä reaktiota Liss/Coombs -geelikortilla.

Bio-Rad:n ja Diamed:n kehittämä ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli on tarkoitettu RhD-negatiivisten äitien anti-D-immunoglobuliinisuojauksen jälkeiseksi anti-D-vasta-aineiden tunnistajaksi. Sen menetelmä on samanlainen kuin aiemmissa veriryhmävasta-ainetunnistussolupaneeleissa (Bio-Rad Laboratories 2015, hakupäivä 15.05.2015).

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelissa on kuusi pulloa humaniperäisiä seulontapunasoluja, joiden antigeenit on kartoitettu. Seulontapunasoluissa on yksi RhD-positiivinen solu ja viisi RhD-negatiivista solua. Solut ovat homotsygootteja Fy<sup>a-</sup>, Fy<sup>b-</sup>, Jk<sup>a-</sup>, Jk<sup>b-</sup>, M-, S- ja s-antigeenien suhteen. Lisäksi paneelin soluista ainakin yksi on positiivinen K-, Le<sup>a-</sup>, Le<sup>b-</sup>, P<sub>1</sub>- ja N-antigeenien suhteen (Bio-Rad Laboratories, hakupäivä 15.05.2015).

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli on tarkoitettu käytettäväksi, kun laboratoriossa saadaan positiivinen tulos vasta-aineseulonnessa ja näyte on RhD-negatiiviselta naiselta esimerkiksi neuvolasta tai synnytysosastolta (raskaana olevalta). Tällöin selvitetään, onko potilas saanut anti-D-immunoglobuliinisuojauksen ja milloin. Lisäksi tarkistetaan, onko verikeskuksen tiedoissa tai neuvolanäytetiedoissa aikaisempia vasta-aineita. Jos on, tehdään suoraan 11 solun vasta-ainetunnistus.

Mikäli kyseessä on RhD-negatiivinen äiti, jolla ei ole aikaisempia veriryhmävasta-aineita ja hän on saanut anti-D-suojauksen meneillään olevan raskauden aikana ja 3 solun vasta-aineseulonnan tulos sopii anti-D-vasta-aineeseen, tehdään ID-DiaScreen Prophylax -paneeli. Jos sekä vasta-aineseulonnan että ID-DiaScreen Prophylax -paneelin tulos sopivat anti-D-vasta-aineeseen, potilaalla on todennäköisesti anti-D-immunoglobuliinisuojauksesta johtuva anti-D-vasta-aine. Solupaneelin reaktion perusteella ei voida erottaa suojauksesta johtuvaa ja immuuni-anti-D-vasta-ainetta. Esitiedot ovat siis ratkaisevia.

### 4.3 Tutkimusaineisto

Tutkimusaineistona toimivat plasmanäytteet olivat Oulun yliopistollisen sairaalan verensiirtoa tarvitsevien potilaiden näytteitä. Tutkimukseen valittiin potilaat, joiden vasta-aineseulonta oli positiivinen. ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin testauksessa ja validoinnissa käytetyt näytteet olivat sattumanvaraisesti kerättyjä kaikenikäisiltä miehiltä, ei-raskaana olevilta ja raskaana olevilta naisilta ja lapsilta.

Jatkossa ID-DiaScreen Prophylax -paneelia käytetään anti-D-immunoglobuliini-suojauksesta johtuvan anti-D-vasta-aineen seulonnassa RhD-negatiivisilla raskaana olevilla naisilla, jotka ovat saaneet anti-D-suojauksen. Kaikille tutkimuspotilaille tehtiin vasta-aineseulonta (3 solun paneelilla), vasta-ainetunnistus (11 solun paneelilla) ja vasta-aineiden seulonta uudella ID-DiaScreen Prophylax -paneelilla (6 solun paneeli). Lisäksi määritettiin ABO- ja RhD-veriryhmä ja tehtiin suora antiglobuliinikoe.

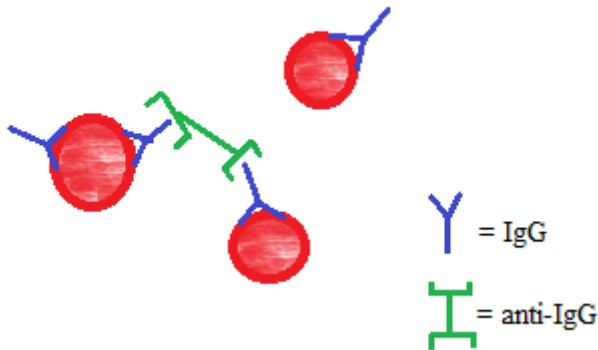
### 4.4 Tutkimuksen suoritus

Työ suoritettiin pipetoimalla Liss/Coombs -geelikortin 1-6 kyvetteihin 25 µl tutkitavan potilaan plasmaa sekä 50 µl kutakin ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin seulontasolua I-VI. Seulontasolut ja plasma pipetoitiin ripeästi ja vältettiin turhaa näytteiden seisottamista. Liitteessä 1 on ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin täydellinen suoritusohje.

Näytteiden pipetoinnin jälkeen korttia inkuboitiin +37 °C 15 minuuttia. Inkuboinnin tavoitteena on luoda näytteille kehon normaalilämpötila, jolloin näytteiden mahdolliset vasta-aineet reagoivat seulontasolujen antigeenien kanssa. Tämän jälkeen geelikortteja sentrifugoidaan 10 minuuttia. Sentrifugoinnin aikana agglutinoitumattomat seulontasolut kulkeutuvat geelin läpi kyvetin pohjalle.

Jos potilaan plasmanäytteessä on vasta-aineita, ne sitoutuvat seulontasolujen pinnoilla oleviin antigeeneihin. Liss/Coombs -kortin kyvettien geeli sisältää immu-

noglobuliini IgG:n vasta-ainetta anti-IgG:tä, joka sitoutuu punasoluihin kiinnittyneisiin IgG-vasta-aineisiin aiheuttaen agglutinaation (*KUVIO 2. IgG - punasoluagglutinaatio Liss/Coombs -geelikortissa*). Agglutinaatiossa seulontapunasolut ovat sitoutuneet yhteen, eivätkä pääse vaeltamaan sentrifuugauksen aikana geelin läpi. Agglutinoituneet punasolut ovat nähtävissä geelissä sakkana.

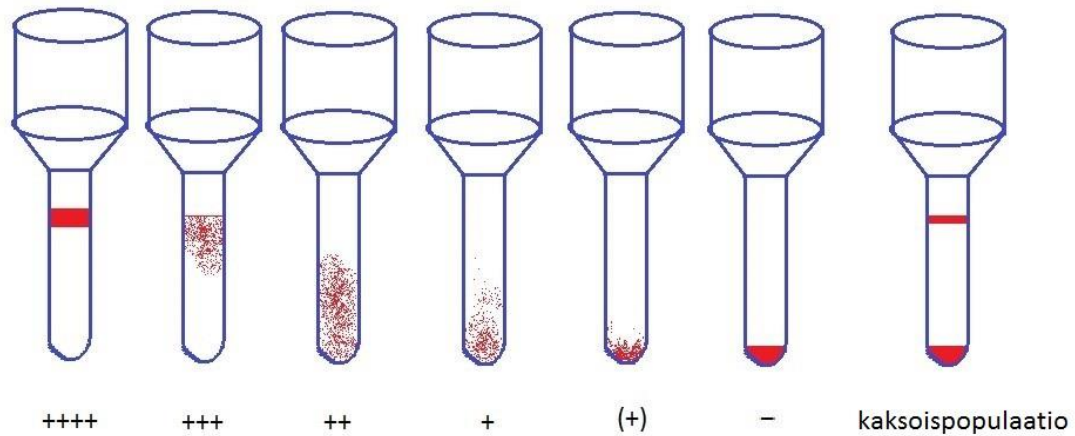


*KUVIO 2. IgG – punasoluagglutinaatio Liss/Coombs -geelikortissa. Jos potilaan plasmanäytteessä on vasta-aineita, ne sitoutuvat seulontasolujen pinnoilla oleviin antigeeneihin. Liss/Coombs -kortin kyvetien geeli sisältää immunoglobuliini IgG:n vasta-ainetta anti-IgG:tä, joka sitoutuu punasoluihin kiinnittyneisiin IgG-vasta-aineisiin aiheuttaen agglutinaation.*

Agglutinaatio näkyy positiivisena laskevana reaktiona kyvetin yläosassa. Mikäli potilaan plasmassa ei ole veriryhmävasta-aineita, agglutinaatiota ei tapahdu. Agglutinoitumattomat seulontapunasolut näkyvät tasaisena solunappina kyvetin pohjalla (negatiivinen reaktio). Agglutinaatiot jaetaan silmämääräisesti niiden reaktiivoimakkuuden perusteella (+), +, ++, +++, +++++, missä heikko positiivinen (+) on vaikeasti havaittava nouseva agglutinaatio kyvetin pohjalla ja +++++ tasainen solukerros kyvetissä geelin päällä (*KUVIO 3. Reaktiivoimakkuuden tulkinta Liss/Coombs -geelikortista*).

Joskus näytteessä esiintyy kaksoispopulaatio, jossa sekä kyvetin päällä että pohjalla näkyy soluja. Jos reaktio on heikko ja agglutinaatiokerros geelin päällä, pipetin kärjellä se on kokeiltaessa hatara ja helposti poistettavissa. Tämä johtuu

plasmaan jääneistä proteiineista, eikä se ole todellista veriryhmävasta-aineesta johtuvaa agglutinaatiota. Jos reaktio on vahvempi, mikä näkyy solujen selvänä agglutinaationa toisten ollessa täysin reagoimatta, tämä vastataan KP:nä eli kaksoispopulaationa. Kaksoispopulaatio voi johtua esimerkiksi verensiirrosta.



*KUVIO 3. Reaktivoimakkuuden tulkinta Liss/Coombs -geelikortista.*

## 5 OPINNÄYTETYÖN TULOKSET

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin todettiin sopivan RhD-negatiivisten äitien anti-D-suojauksen jälkeiseen vasta-aineseulontaan. ID-DiaScreen Prophylax -paneelia voitaisiin käyttää myös tietyissä tilanteissa lisäpaneelina muiden veriryhmävasta-aineiden tunnistuksessa.

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelilla analysoitiin 59 plasmanäytettä, joista 17 oli RhD-positiivisia ja 42 RhD-negatiivisia. Näytteistä tehtiin taulukko (TAULUKKO 3), jossa analysoidut näytteet on lueteltu niissä esiintyvien vasta-aineiden mukaan. Taulukosta käy ilmi vasta-aineiden määrä ja prosentuaalinen osuus. Liitteessä 2 on esimerkki ID-DiaScreen Prophylax:lla seulotuista näytteistä: potilaalla nro 24 on anti-D-vasta-aine ja potilaalla nro 55 on Kidd-ryhmään kuuluva anti-Jk<sup>a</sup>-vasta-aine.

*TAULUKKO 3. ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin testauksen veriryhmävasta-aineet. Taulukko jatkuu seuraavalla sivulla.*

<b>Veriryhmä-järjestelmä</b>	<b>Vasta-aine</b>	<b>Vasta-aineiden lukumäärä kpl</b>	<b>Vasta-aineiden prosentuaalinen osuus %</b>
Rh	Anti-D	11	19
	Anti-D + anti-C	4	7
	Anti-D + anti-E	1	2
	Anti-D + anti-S	1	2
	Anti-C + tuntematon	2	3
	Anti-E	3	5
	Anti-E + tuntematon	1	2

<b>Veriryhmä-järjestelmä</b>	<b>Vasta-aine</b>	<b>Vasta-aineiden lukumäärä kpl</b>	<b>Vasta-aineiden prosentuaalinen osuus %</b>
	Anti-E + anti-c	2	3
	Anti-E + anti-c + tuntematon	1	2
	Anti-E + anti-c + anti-C <sup>w</sup>	1	2
	Anti-C + anti-e	1	2
	Anti-C + anti-e + anti-C <sup>w</sup>	1	2
	Anti-C <sup>w</sup>	2	3
	Anti-C <sup>w</sup> + tuntematon	2	3
	Anti-C <sup>w</sup> + anti-K	1	2
	Anti-E + anti-C <sup>w</sup> + anti-LW <sup>b</sup> + tuntematon	1	2
	Anti-G	1	2
Kell	Anti-K	2	3
Duffy	Anti-Fy <sup>a</sup>	2	3
	Anti-Fy <sup>a</sup> + tuntematon	2	3
	Anti-Fy <sup>a</sup> + anti-C + anti-K + tuntematon	1	2
Kidd	Anti-Jk <sup>a</sup>	3	5
	Anti-Jk <sup>3</sup>	2	3
MNS	Anti-M	3	5
Lutheran	Anti-Lu <sup>a</sup>	2	3

<b>Veriryhmä-järjestelmä</b>	<b>Vasta-aine</b>	<b>Vasta-aineiden lukumäärä kpl</b>	<b>Vasta-aineiden prosentuaalinen osuus %</b>
Tunnistamattomat		6	10
Yhteensä		59	100

Oulussa NordLab:n verikeskuksessa otettiin ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli käyttöön anti-D-vasta-aineen seulonnassa RhD-negatiivisilla immunisoitumattomilla odottavilla äideillä, jotka ovat saaneet anti-D-immunoglobuliinisuojauksen. Lisäksi paneelia voitaisiin tarvittaessa käyttää tietyissä tilanteissa lisäpaneelina muiden veriryhmävasta-aineiden tunnistuksessa. ID-DiaScreen Prophylax -paneeli on suunniteltu nimenomaan anti-D-vasta-aineen seulomiseen. Se ei sovellu useamman eri veriryhmävasta-aineen erottamiseen toisistaan (esimerkkinä Näyte 34, Liite 2). Tällöin on tehtävä veriryhmävasta-ainetunnistus 11 solun paneelilla.

Oulun NordLab:n verikeskuksen erikoislääkäri Minna Hannuksela kävi läpi solupaneelin testauksesta saadut tulokset 7.2.2014. Solupaneeli on näiden tulosten perusteella otettu käyttöön NordLab:ssa Oulussa 21.3.2014 ja NordLab:ssa Kemissä keväällä 2014.

### **5.1 Tutkittavan solupaneelin toistettavuus**

Solupaneelista saadut tulokset ovat luotettavia, kun ne oli suoritettu vakioidusti työohjeen mukaisesti. Pipetointi, inkubointi ja sentrifuugaus tehtiin aina samalla tavalla ja käyttäen samoja aikamääriä kuhunkin työvaiheeseen. Pipetointi suoritettiin epäsuoralla menetelmällä pienien näytemäärien takia (50 µl ja 25 µl). Näin mahdolliset käytännön työstä johtuvat virhelähteet olivat suljettavissa pois.

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin toistettavuus tarkoittaa saatujen tulosten yhtäpitävyyttä, vertailukelpoisuutta ja Liss/Coombs - geelikorttien reaktioiden samaa voimakkuutta. Toistettavuus testattiin potilaan plasmanäytteellä, jossa oli Kell-ryhmän vasta-aine anti-K (Näyte 27, Liite 3) sekä sellaisen potilaan plasmanäytteellä, jossa ei ollut veriryhmävasta-aineita (tästä ei ole valokuvaa liitteessä 3). Näytteistä tehtiin vasta-aineseulonta ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelilla viitenä peräkkäisenä päivänä ja tulokset valokuvattiin. Solupaneeli antoi aina samat tulokset. Soluista erotetut plasmanäytteet säilyvät +4 °C lämpötilassa viisi vuorokautta (NordLab Oulu, tutkimusohjekirja. Hakupäivä 15.05.2015). Solupaneelin toistettavuus todettiin luotettavaksi. Reaktiotuloksissa ja voimakkuudessa ei ollut merkittäviä eroja.

## 6 POHDINTA

Opinnäytetyön päätavoitteena oli testata ja validoida ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin käyttö anti-D-vasta-aineen seulonnassa RhD-negatiivisilla immuni-soitumattomilla raskaana olevilla naisilla, jotka ovat saaneet anti-D-immunoglobuliinisuojaus. Lisäksi tutkittiin sen toimivuutta mahdollisena lisäpaneelina apuna muiden veriryhmävasta-aineiden tunnistuksessa. Oppimistavoitteenani oli perehtyä verensiirtotoimintaan, sen erilaisiin tutkimusmenetelmiin, immunisatiotiloihin sekä suunnitella ja toteuttaa tutkimusluonteinen projekti solupaneelin validoinnista.

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin toimintaa testattiin sellaisilla Oulun yliopistollisen sairaalan potilaiden plasmanäytteillä, joiden vasta-aineseulonta oli positiivinen ja joista oli jo tehty veriryhmävasta-aineiden tunnistus. ID-DiaScreen Prophylax -paneelin tuloksia verrattiin 11 solun tunnistuspaneelin tuloksiin.

Tarkasteltaessa näytteiden tuloksia huomattiin, että ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli sopii spesifisti juuri anti-D-vasta-aineen seulontaan, mutta mikäli potilaalla on useampia veriryhmävasta-aineita, niitä ei pysty tunnistamaan pelkästään ID-DiaScreen Prophylax -paneelilla. Tällöin tarvitaan 11 solun tunnistuspaneelia. Liitteessä 2 näyte 34 on esimerkki näytteestä, jossa on kahta eri vastaainetta. ID-DiaScreen Prophylax -paneelilla tehdyssä vasta-aineseulonnassa Rh-ryhmän anti-c-vasta-aine näkyy, mutta anti-E-vasta-ainetta ei voida todeta tällä solupaneelilla. Anti-c vasta-aineen reaktiot solupaneelissa peittävät anti-E-vasta-aineen reaktiot.

Opinnäytetyötä suunniteltaessa selvitettiin solupaneelin luotettavuuteen liittyvät kysymykset; mihin kiinnitetään erityishuomiota ja millä eri tavoin voidaan solupaneelin luotettavuutta testata. Opinnäytetyössä testattiin toistettavuutta tekemällä vasta-aineseulonta ID-DiaScreen Prophylax -paneelilla viitenä päivänä peräkkäin plasmanäytteellä, jossa oli anti-K (Kell) sekä plasmanäytteellä, jossa ei ollut

vasta-aineita. Tulokset olivat toistettavia. Lisäksi tarkasteltiin solupaneelin reaktiivomakkuutta. Myös reaktiivomakkuus pysyi samana toistettaessa soluseulontaa.

ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin tulokset käytiin läpi kiinnittäen huomio mahdollisiin virheisiin tuloksissa. Jos virheitä ilmeni, pohdittiin niiden johtumista näytteestä, solupaneelistä, reagensseista tai työskentelystä. Solupaneelin käytöstä todettiin, että se toimii hyvin anti-D-suojauksesta johtuvan anti-D-vasta-aineen seulonnassa, mutta ei pysty tunnistamaan useampaa vasta-ainetta samanaikaisesti eikä se löydä kaikkia merkityksellisiä vasta-aineita. Tällaisissa tilanteissa on käytettävä 11 solun veriryhmävasta-ainetunnistuspaneelia.

Tämä opinnäytetyö toimii hyvänä pohjana arvioitaessa ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin käyttöä anti-D-immunoglobuliinisuojauksesta johtuvan anti-D-vasta-aineen seulonnassa RhD-negatiivisilla odottavilla äideillä. Solupaneelin toimintaa tutkittiin marras-joulukuussa 2013 NordLab:n verikeskuksessa Oulussa ja solupaneeli otettiin siellä käyttöön 21.3.2014.

Koen saavuttaneeni sekä omat henkilökohtaiset että opinnäytetyön tavoitteet ja oppineeni prosessin aikana paljon. Ammatillisesti opin paljon verensiirtotoiminnasta, sen tutkimuksista ja näiden eri käyttömahdollisuuksista. Henkilökohtaisena tavoitteenani opin tutkimusluonteisen projektin toteuttamisen. Opinnäytetyöprojektin suunnittelu ja sen toteutus oli haastavaa ja mielenkiintoista ja se on merkittävästi edistänyt osaamistani ja ammatillista kasvua. Olen todella tyytyväinen opinnäytetyöni lopputuloksiin ja työn toteutumistapaan. Opinnäytetyö on täysin hyödynnettävissä solupaneelin ollessa nyt käytössä NordLab:n aluelaboratorioissa.

## LÄHTEET

Ahlskog, C. 2013. Sähköposti RhD-negatiivisten synnyttäjien kartoitus NordLab:n alueella. NordLab, Kokkola. 1.11.2013.

Clausen, B.F., Christiansen, M., Steffensen, R., Jorgensen, S., Nielsen, C., Jakobsen, M., Madsen, R., Jensen, K., Krog, G., Rieneck, K., Sprogøe, U., Homberg, K., Grønnet, N. & Dziegiel. 2012. Report of the first nationally implemented clinical routine screening for the fetal RHD in D – pregnant women to ascertain the requirement for antenatal RhD prophylaxis. *Transfusion*. Volume 52: 752-758. Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21995641>

Bio-Rad Laboratories. ID-DiaCell I-II-III seulontasolut.

Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.bio-rad.com/en-uk/product/id-diacell-i-ii-iii>

Bio-Rad Laboratories. ID-DiaScreen Prophylax. Test Cells for Antibody Screening. Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.bio-rad.com/es-es/product/test-cells-for-antibody-screening/id-diascreen-prophylax>

Eklund, J., Kuosmanen, M., Renlund, M. & Teramo, K. 1995. Raskauden aikainen veriryhmäimmunisaatio ja vastasyntyneen hemolyyttinen tauti. Teos: Leikola, J. & Myllylä, G. (toim.). *Verensiirrot*. Kustannus Oy Duodecim. 265-275.

Hannuksela, M.L., Savolainen, E-R., Rapo, R., Ikonen-Toivanen, J. & Ahlskog, C. 2013. RhD-negatiivisten synnyttäjien kartoitus NordLab:n alueella. 6.11.2013

Halmesmäki, E. 2009. Rh-immunisaatio. *Terveyskirjasto Duodecim*.

Hakupäivä 15.5.2015.

[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=seh00130&p\\_haku=rhesus-immunisaatio](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=seh00130&p_haku=rhesus-immunisaatio)

Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., Vaara, M., (toim.). 2011. Immunologia: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kustannus Oy Duodecim. 149-152.

HUS, Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri. Vastasyntyneen keltaisuus.

Hakupäivä 10.05.2015.

[http://www.hus.fi/sairaanhoito/lasten-sairaanhoito/kun-lapsi-sairastuu/Vastasyntyneen\\_keltaisuus/Sivut/default.aspx](http://www.hus.fi/sairaanhoito/lasten-sairaanhoito/kun-lapsi-sairastuu/Vastasyntyneen_keltaisuus/Sivut/default.aspx)

HUS, Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri, Ohjekirja. Sikiön RhD-veriryhmä suojausta varten, verestä. HUS. Hakupäivä 14.04.2015.

<http://huslab.fi/ohjekirja/5250.html>

Kozlowski, C., Lee, D., Shwe, K. & Love, E. 1995. Quantification of anti-c in haemolytic disease of the newborn. Transfusion medicine. Volume 5: 37-42. Hakupäivä 1.4.2015.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=kozlowski+anti-c>

Landsteiner, K. & Wiener, A. 1940. An Agglutinable Factor in Human Blood Recognized by Immune Sera for Rhesus blood. Experimental Biology and Medicine. Volume 43: 223. Hakupäivä 1.5.2015.

<http://ebm.sagepub.com/content/43/1/223.extract>

Leikola, J. 1987. Verensiirtojen immunologia. Suomen Punainen Risti. Veripalvelu. 1-6.

Levine, P. & Stetson, R.E. 1939. An unusual case of intra-group agglutination. The Journal of the American Medical Association. Volume 113: 126-127.

Hakupäivä 1.5.2015.

<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=290521>

Liumbruno, G., D'Alessandro, A., Rea, F., Piccinini, V., Catalano, L., Calizzani, G., Pupella, S. & Grazzini, G. 2010. The role of antenatal immunoprophylaxis in the prevention of the maternal-foetal anti-Rh(D) alloimmunisation. *Blood Transfusion*. Volume 8: 8-16. Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2809506/>

Lääkeinfo 2014. Rhophylac 1500 IU (300 µg) / 2 ml. Ihmisen anti-D-immunoglobuliini. Hakupäivä 15.5.2015.

[http://www.laakeinfo.fi/Medicine.aspx?m=10716&i=CSL+BEH-RING\\_RHOPHYLAC](http://www.laakeinfo.fi/Medicine.aspx?m=10716&i=CSL+BEH-RING_RHOPHYLAC)

Lääkeinfo 2015. Rhesonativ 625 IU/ml (250 µg / 2 ml) injektioneste, liuos. Hakupäivä 15.5.2015.

[http://www.laakeinfo.fi/Medicine.aspx?m=24680&i=OCTAPHARMA\\_RHESONATIV](http://www.laakeinfo.fi/Medicine.aspx?m=24680&i=OCTAPHARMA_RHESONATIV)

NordLab Oulu. Tutkimusohjekirja. Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.oyslab.fi/>

NordLab Oulu. Ohjekirja. Veriryhmävasta-aineet, seulonta, plasmasta. Hakupäivä 15.05.2015.

[http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=4577&terms=p-vrab](http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=4577&terms=p-vrab)

Porkka, K., Lassila, R., Remes, K. & Savolainen E-R. Veritaudit. 4. uudistettu painos 2015. 203-205. 635-642. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Sainio, S. & Kuosmanen, M. 2012. Vastasyntyneen hemolyyttinen tauti ei ole hävinnyt Suomesta. *Duodecim*. Volume 128: 151-157. Hakupäivä 14.05.2015.

[http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p\\_p\\_id=Article\\_WAR\\_DL6\\_Articleportlet&p\\_p\\_action=1&p\\_p\\_state=maximized&viewType=viewArticle&tunnus=duo10041](http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&p_p_action=1&p_p_state=maximized&viewType=viewArticle&tunnus=duo10041)

Solunetti. 2006. Histologia, B-solut. Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.solunetti.fi/fi/histologia/b-solut/2/>

Strohm, P. 2005. Hemolytic disease of the fetus and newborn. Teos: Rudmann, S. (toim.). Textbook of blood banking and transfusion medicine. Philadelphia: E. B. Saunders Company. 420-445.

Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015. Harvinaiset punasolut.

Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.veripalvelu.fi/www/2862>

Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015. Veripalvelu 60 vuotta 2008.

Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.veripalvelu.fi/www/42>

Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015. Raskaudenaikaiset veriryhmä- ja vasta-ainetutkimukset. Neuvolanäytetutkimukset. Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.veripalvelu.fi/www/neuvoloille>

Suomen Punainen Risti, Veripalvelu 2015. Raskaudenaikaiset veriryhmä- ja veriryhmävasta-ainetutkimukset. Näytteenotto-ohje 27.6.2014.

Hakupäivä 15.5.2015.

<http://www.veripalvelu.fi/www/3239>

Verensiirto-opas 2006. Hellstén, S. (toim.). Suomen kuntaliitto. 11-12, 14-15, 18-19, 74.

Vilpo, J., (toim). 2005. Ilmari Palvan veritaudit. Medivil Oy Helsinki. 91.

Äitiysneuvolaopas. Suosituksia äitiysneuvolatoimintaan. 2013.

Kansallinen äitiyshuollon asiantuntijaryhmä (kirj.) Klemetti, R. & Hakulinen-Viitanen, T. (toim.) Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. Juvenes Print – Suomen Yliopistopaino Oy. Tampere 2013. 117-118.

## **LIITTEET**

LIITE 1. ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin suoritusohje

LIITE 2. ID-DiaScreen Prophylax -solupaneeli eri vasta-aineiden tunnistuksessa.

LIITE 3. ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin toistettavuus.

## LIITE 1. ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin suoritusohje

### Seulontapunasolut:

Kuusi pulloa (I-VI), joista jokaisessa on 5 ml humaniperäisiä seulontasoluja. Seulontasolujen säilyvyys on seitsemän viikkoa.

Yksi seulontasolu on RhD-positiivinen ja viisi seulontasolua RhD-negatiivisia. Solut ovat homotsygootteja Fy<sup>a-</sup>, Fy<sup>b-</sup>, Jk<sup>a-</sup>, Jk<sup>b-</sup>, M-, S- ja s-antigeenien suhteen. Ainakin yksi soluista on positiivinen K- Le<sup>a-</sup>, Le<sup>b-</sup>, P<sub>1</sub>- ja N-antigeenien suhteen.

### Työohje:

1. Pipetoidaan 25 µl tutkittavan potilaan plasmaa jokaiseen Liss/Coombs -geelikortin kyvetiin 1-6
2. Pipetoidaan 50 µl jokaista ID-DiaScreen Prophylax -seulontasolua I-VI kukin omiin kyvetteihinsä
3. Inkuboidaan 15 minuuttia 37 °C:ssa
4. Sentrifugoidaan 10 minuuttia
5. Luetaan kortin reaktiot ja merkitään ne paneelin lomakkeelle

(Bio-Rad Laboratories. Hakupäivä 15.05.2015)

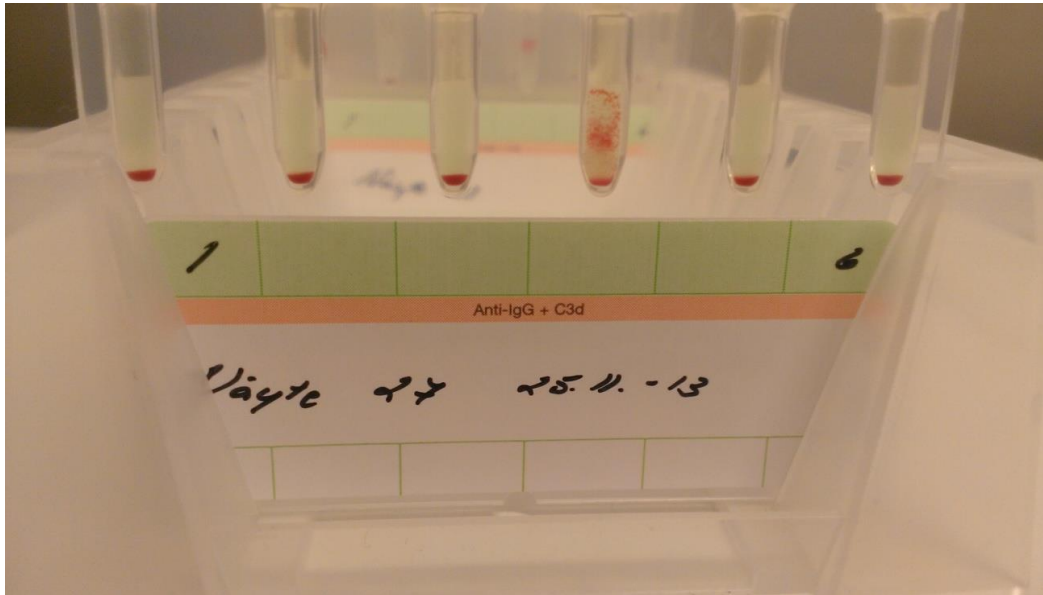




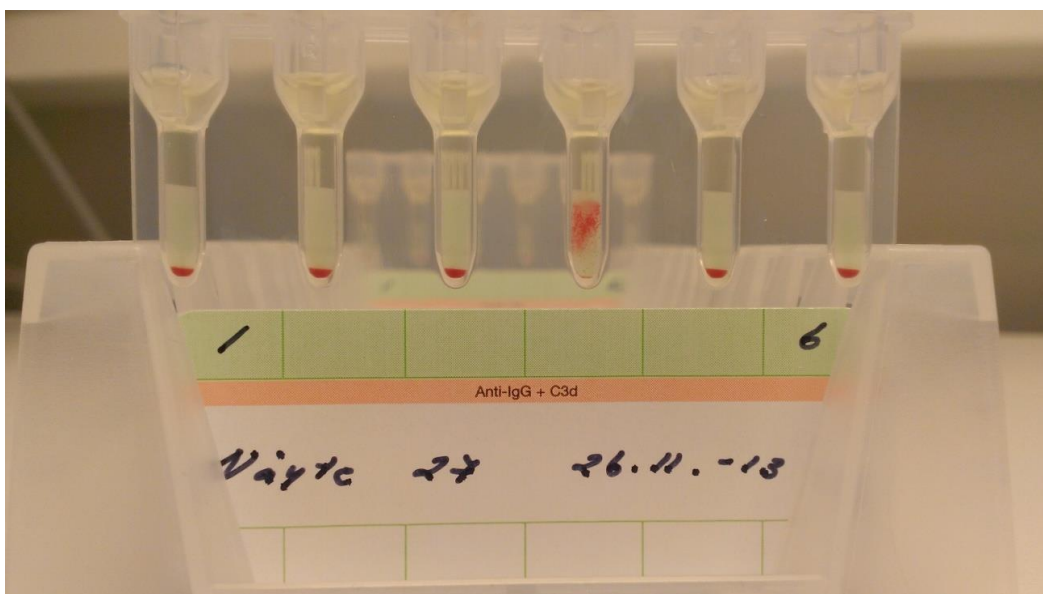


### LIITE 3. ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelin toistettavuus.

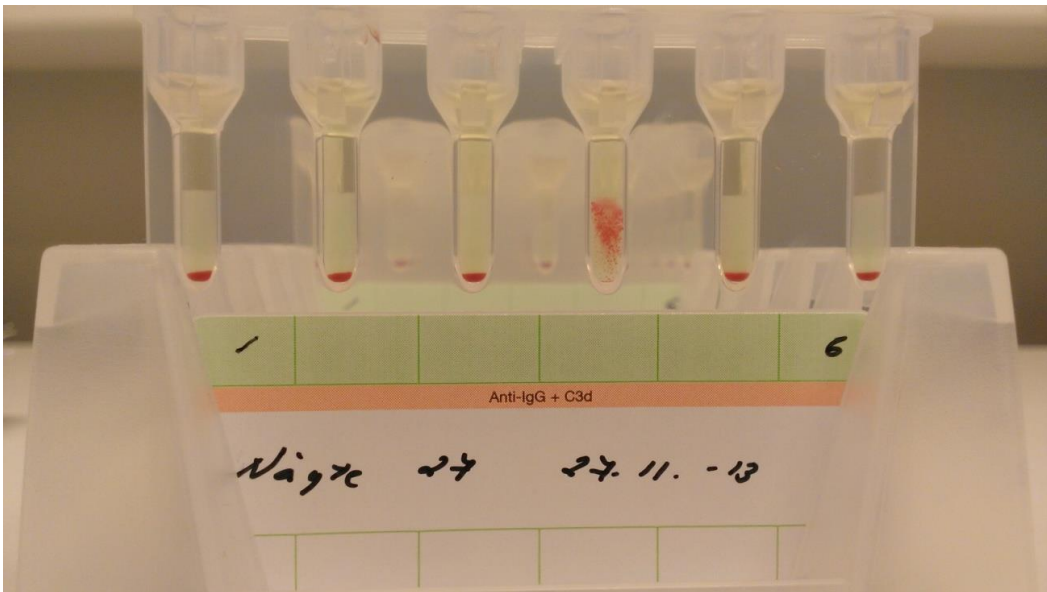
Solupaneelin toistettavuus testattiin 25.11.2013 alkaen tekemällä näytteestä 27 vasta-aineseulontaa 5 päivän ajan ID-DiaScreen Prophylax -solupaneelilla. Kaikista saatiin sama tulos (anti-K (Kell)) sekä nähtiin sama reaktiivoimakkuus (++).



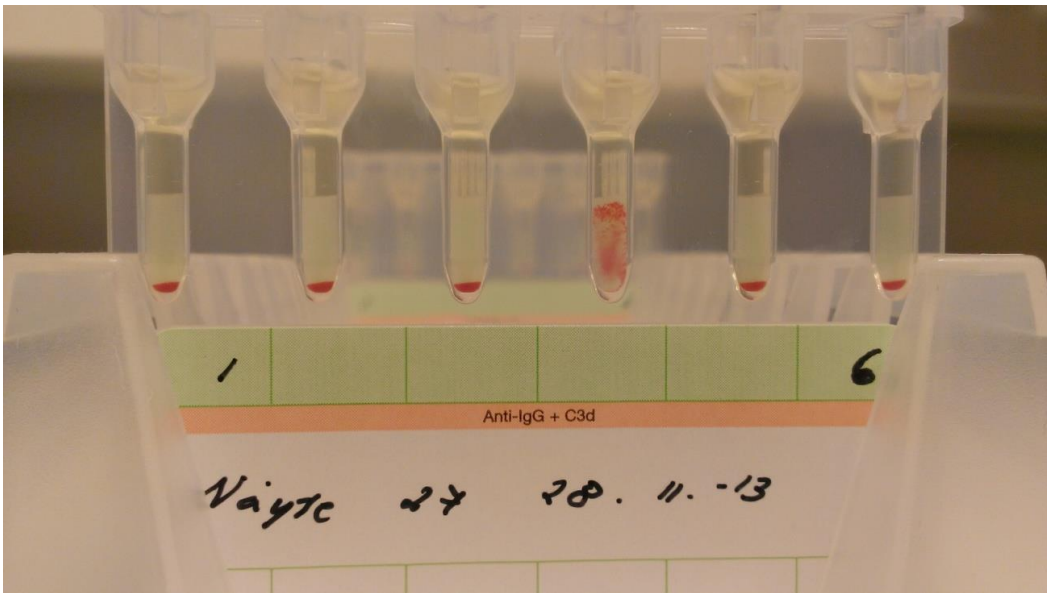
Näytteen 27 ensimmäinen määrittäminen 25.11.2013.



Näytteen 27 toinen määrittäminen.



Näytteen 27 kolmas määrittys.



Näytteen 27 neljäs määrittys.







20.11.2013 9:56

**Rekisteritiedot**

E-ABO-Rh: A RhD pos 29.4.2010  
P-VMAb-O: FcOI 09.11.2013

**Lausunto**

VERIRYHMÄVASTA-AINEET  
Anti-K (Kell)

**PUNASOLUSIIRROISSA HUOMIOITAVAA**

Sopiavuuskokeisiin suositellaan ABO RhD veriryhmältään sopivia punasoluja, jotka ovat K-neg.

Suora antiglobuliinikoe (suora Coombs) on negatiivinen.

Oulu 20.11.2013 9:55  
Paikka ja aika

*Minna Hannuksela*  
HANNUKSELA MINNA, Erikoislääkäri

Erikoislääkäri Minna Hannukselan lausunto näytteestä 27 (NordLab Verikeskus Oulu.)