Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 7
proLékaře.cz | 24.11.2026

Prenatální a postnatální imunohematologická vyšetření

Masopust J.[1], Banzetová H.[2], Dušková D.[3], Pejchalová A.[4], Písačka M.[5], Štolba P.[1]
[1]Transfuzní oddělení, Krajská zdravotní, a.s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z., [2]Transfuzní oddělení, Nemocnice České Budějovice, a.s., [3]Fakultní transfuzní oddělení, VFN Praha, [4]Transfuzní oddělení a krevní banka, Fakultní nemocnice Brno, [5]Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Souhrn
Úvod: **Hemolytické onemocnění plodu/novorozence (HON) patří mezi závažné stavy v perinatologickém období. Mezi klinicky významné protilátky, způsobující těžké HON, patří protilátky anti-D, -K, -c a -E. Postupy pro prenatální a postnatální imunohematologická vyšetření v ČR jsou nejednotné.** ***Cílem*** **práce je diskuse vhodného algoritmu imunohematologického testování v těhotenství a po porodu. Imunohematologická laboratorní vyšetření těhotných: mezi základní vyšetření patří určení krevní skupiny AB0, antigenu D a screening nepravidelných protilátek proti erytrocytům, v případě pozitivity screeningu protilátek pak jejich identifikace, u klinicky významných protilátek stanovení jejich titru. Přesnější metodou je stanovení koncentrace protilátky. Buněčné funkční testy dobře korelují s klinickou závažností HON a je diskutováno jejich zavedení v ČR. Jsou diskutovány vhodné časové termíny, postupy a metody. Imunohematologická laboratorní testování plodu: nejvýznamnější je stanovení genotypu plodu u aloimunizovaných těhotných nejlépe za použití neinvazivní metody izolace fetální DNA z mateřské plazmy. Diskutují se postupy a úskalí této metody. Imunohematologická vyšetření po porodu: u matky se jedná spíše o kontrolní vyšetření či součást předtransfuzního vyšetření. Vyšetření imunních protilátek anti-A, resp. anti-B je sporné. Z imunohematologického vyšetření novorozence je nejvýznamnější určení krevní skupiny AB0 (především u matek s krevní skupinou 0), antigenu D (u D-negativních matek) a přímého antiglobulinového testu. V případě podezření na AB0 HON pak i vyšetření imunních protilátek anti-A, resp. anti-B. Pro správnou dávku profylaktického imunoglobulinu anti-D je vhodná kvantifikace fetomaternálního krvácení.** ***Závěr:*** **Poznatky, uvedené v této práci, by mohly být podkladem pro tvorbu jednotného postupu v rámci České republiky.**
Klíčová slova: imunohematologie, hemolytické onemocnění novorozence, protilátky proti erytrocytům, krevní skupina, přímý antiglobulinový test, genotypizace, fetomaternální krvácení, funkční testy

Summary
Masopust J., Banzetová H., Dušková D., Pejchalová A., Písačka M., Štolba P.: Prenatal and postnatal immunohematology

Introduction: **Hemolytic disease of the fetus and newborn (HDN) is serious perinatal illness. Clinically important antibodies, which are capable to cause severe HDN in the second trimester, are anti-D, -K, -c and -E. Routine prenatal and postnatal immunohematological diagnostic procedures are heterogeneous in CR. The aim of this article is discussion on suitable algorithm of immunohematological testing in pregnancy and after delivery.** ***Immunohematological laboratory testing in pregnant women:*** **basic tests are ABO and antigen D typing, screening of irregular antibodies, antibody identification and titrating of clinically important antibodies. Cell-mediated functional assays correlate with clinical seriousness of HDN and we discuss their introduction in CR. We discuss suitable timing, procedures and methods.** ***Immunohematological laboratory testing in the fetus:*** **the most important testing is fetal genotyping in alloimmunized pregnant women preferably by means of non-invasive fetal DNA isolation from maternal plasma. We discuss performance and difficulties of this technique.** ***Immunohematological laboratory testing after delivery:*** **mother - it rather serves as a control examination or pretransfusion testing. Anti-A, anti-B immune antibodies' testing is controversial. The newborn - the most important testing are ABO typing (especially in O mothers) and antigen D typing (in D-negative mothers) and direct antiglobulin test. In suspicion of ABO HDN also anti-A, anti-B immune antibodies testing in the newborn is performed. Feto-maternal haemorrhage quantification is suitable for precise dose of prophylactic anti-D immunoglobulin.** ***Conclusion:*** **information presented in this article could be a basis for guideline on immunohematological perinatal testing in the Czech Republic.**
Key words: immunohematology, hemolytic disease of the newborn, red blood cells antibodies, blood group, direct antiglobulin test, genotyping, feto-maternal haemorrhage, functional tests

Transfuze Hematol. dnes, 14, 2008, No. 1, p. 7–18.

Úvod

Hemolytické onemocnění plodu/novorozence (HON) zůstává i počátkem třetího tisíciletí jedním z kamínků pestré mozaiky perinatologických chorob. Anti-D profylaxe výrazně snížila výskyt HON způsobeného nepravidelnými antierytrocytovými protilátkami specifity anti-D (1–3), avšak nemůže ovlivnit HON s uplatněním jiných specifických protilátek, z nichž nejvýznamnější jsou, kromě protilátek anti-A, anti-B třídy IgG, protilátky anti-c, anti-K a anti-E.

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 8
proLékaře.cz | 24.11.2026

Z výše uvedeného vyplývá, že omezení pozornosti gynekologů pouze na anti-D protilátky není na místě, naopak se zavedením anti-D profylaxe se relativně zvyšuje význam ostatních protilátek. Sledování zasluhují i těhotné D-pozitivní či s některými protilátkami jiné specifity než anti-D. Některé klinicky významné protilátky jsou z hlediska významu pro HON opomíjeny, naopak někdy jsou do laboratoře zasílány k opakovaným kontrolám protilátky zcela nevýznamné.

Přes ojedinělé snahy (4) v České republice chybí mezioborový algoritmus pro pre- a postnatální imunohematologické vyšetření těhotných, plodu, respektive matek a novorozenců. Jeho součástí by mělo být i sjednocení vyšetřovacích metod. Například u stanovení titru protilátek dostávají gynekologové z laboratoří velmi variabilní informace v závislosti na použité vyšetřovací metodě.

Snahou autorů tohoto přehledného článku je diskutovat vhodné postupy pro pre- a postnatální imunohematologická vyšetření včetně použití novějších metod.

Účel prenatálního a postnatálního imunohematologického vyšetření

Cílem vyšetření je určení potenciálně rizikových těhotných z hlediska HON. Jasnou rizikovou skupinou jsou D-negativní ženy a imunizované ženy s potenciálně klinicky významnými aloprotilátkami proti erytrocytovým antigenům. Vyšetření má pomoci při diagnostikování HON, při dalším monitorování průběhu a léčbě nemoci.

Klinická významnost antierytrocytových protilátek

Ne všechny nepravidelné antierytrocytové protilátky se uplatňují v patogenezi HON.

HON mohou teoreticky způsobovat jakékoliv antierytrocytové protilátky třídy IgG. V kavkazoidní populaci jsou nejčastější příčinou těžkého HON již ve II. trimestru (s nutností intrauterinní transfuze erytrocytů) protilátky anti-D (85 %), anti-K (10 %), anti-c (3,5 %) (5–8) a anti-E (6, 7, 9). Je třeba zmínit, že protilátky anti-c mohou způsobit opožděnou anémii novorozence (5).

Za klinicky významné protilátky z hlediska možného HON se dále považují protilátky anti-A, -B, -AB, -C, -e (ev. anti- C^w, -Ce, cE, -ce, -G apod.), anti-k, -S, -s, Fy^a, -Jk^a, velmi zřídka některé další specifické protilátky (např. anti-M, -C^x, -E^w, -Fy^b, -$Kp^{a,b}$, -$Js^{a,b}$, -PP_1P^k, -U, -Jk^b, -Diego atd.), protilátky proti antigenům s vysokou četností výskytu v populaci (např. anti-En^a, -Gerbich atd.) a proti antigenům s nízkou četností výskytu v populaci (např. anti-Wr^a) (7–22).

Mezi klinicky nevýznamné protilátky z hlediska HON můžeme zařadit protilátky anti-P_1, -Le^a, -Le^b, -H, -I, -HI, -N, -Lutheran, dále protilátky reagující s celým panelem diagnostických erytrocytů a s vlastními erytrocyty (panspecifické protilátky), chladové protilátky, protilátky reagující pouze v enzymovém prostředí (5, 23–26).

Je však nutno připomenout, že protilátky stejné specifity (a/nebo síly) se nechovají in vivo vždy stejně. Také efektorové buňky plodu se individuálně liší svými vlastnostmi, navíc u matky či plodu mohou být přítomny blokující faktory, které zmírňují destrukci erytrocytů plodu (6).

Protilátky, prokazatelné u těhotných, jsou často následkem předchozí transfuze (7), nejčastěji se jedná o protilátky anti-c, -K, -Fy^a (7).

Imunohematologická laboratorní vyšetření těhotných

a) AB0

Určení krevní skupiny v systému AB0 slouží k identifikaci těhotné. U těhotných krevní skupiny 0 se dá předpokládat výrazně vyšší výskyt HON způsobený inkompatibilitou matka-plod v tomto skupinovém systému než u matek s krevní skupinou A či B, i když ani zde nelze vyloučit HON. Výpovědní hodnota prenatálního vyšetření skupin AB0 je však pro předpověď HON malá (10). Stanovení krevní skupiny AB0 je základním kamenem předtransfuzního vyšetření. Výsledek proto musí souhlasit se záznamy a jakékoliv diskrepance je nutné vyšetřit a vyřešit.

b) antigen D

Vyšetření antigenu D určuje skupinu žen D-negativních, u nichž je indikované profylaktické podání anti-D protilátky (5).

Vyšetření slabého antigenu D (D^w) pomocí antiglobulinového testu se obvykle nedoporučuje nebo nepovažuje za přínosné (5, 23), ve světě však v této problematice není jednoznačná shoda. Většina (90 %) jedinců s fenotypem D^w jsou D^w typu 1, 2 nebo 3 s expresí normálních, ale početně redukovaných antigenů D. Zbylých 10 % tvoří varianty antigenu D, v kavkazoidní populaci především varianta D^{VI} (27). V případě vyřazení testování D^w z algoritmu prenatálního imunohematologického vyšetřování těhotných podstoupí ženy s kvantitativním D^w profylaxi anti-D, kterou nepotřebují a která je spojená s riziky podání imunoglobulinu. Naopak nositelky varianty D^{VI} i některých jiných variant antigenu D jsou bez provedeného antiglobulinového testu správně zařazeny k D-negativním a je jim podaná anti-D profylaxe (28). Ve třetím trimestru či po porodu může být pozitivita D^w projevem většího fetomaternálního krvácení D-pozitivního plodu u D-negativní matky (23, 29).

Cca 98–99 % vyšetření je bezproblémových – u normální exprese antigenu D a u D-negativních. Zbývající 1–2 % představují diagnostický a rovněž i „komunikační“ problém. Jedná se o nositele atypických fenotypů D, dříve tzv. D^U varianty. Sem patří celá paleta variantních proteinů D, lišících se od normálního proteinu D jednou či více aminokyselinami, na podkladě bodových mutací nebo větších přestaveb (D-CE-D genové konverze) *RHD* genu. Lokalizace změny aminokyselin v daném variantním proteinu se projeví buďto sníženou expresí bez chybění epitopů (kvantitativně zeslabený antigen D, tzv. D weak, D^w), nebo chyběním jednoho či více epitopů (kvalitativně změněný antigen D, tzv. partial D). Navíc se mohou tyto projevy v různé míře kombinovat, takže hranice mezi D^w a partial D není zcela ostrá. Na jednom konci palety jsou D weak typy 1, 2 a 3 (představují cca 90 % všech

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 9
proLékaře.cz | 24.11.2026

atypických D expresí, nikdy u nich nebyla popsána anti-D imunizace), na druhém konci velmi změněné proteiny jako D^{VI} či D^{HAR} (s možností anti-D imunizace proti „chybějícím" epitopům), uprostřed typy dříve řazené k D weak, u nichž však byly popsány případy anti-D imunizace (D weak typ 4.2 a 15). Vzácně se vyskytuje typ DEL, kdy je protein D exprimován tak slabě, že sérologicky je prokazatelný jen adsorpčními-elučními postupy.
U všech těchto fenotypů je nutný individuální přístup.

O tom, že daná těhotná spadá do této „atypické skupiny", se dozvídáme:

- anamnesticky (záznamy minulých vyšetření, zejména u dárkyň krve, u kterých se povinně tyto atypické exprese antigenu D testují)
- z vyšetření RhD (bez testu na slabé antigeny D):
  - slabší reakce obou anti-D diagnostik
  - zcela diskrepantních reakcí (pozitivní x negativní)
  - z rozdílu v síle reakcí obou anti-D
- z nečekaného nálezu anti-D imunizace bez autoreakce u osoby se zdánlivě normálním D antigenem (D^{III}, DNB aj.).

Pokud se použijí k vyšetření RhD u těhotných 2 monoklonální anti-D nereagující s D^{VI} (event. i s DFR), budou tyto těhotné (cca 5–10 % všech atypických D expresí) zařazeny mezi D negativní (pokud zde ovšem není anamnéza diskrepance). Ze zbylých 90–95 % bude část zachycena pozitivní reakcí jednoho nebo obou diagnostik – velikost této části závisí na použité metodě a postupu (sloupcová aglutinace zachytí téměř všechny, zkumavkové testy jen silněji exprimované typy). Jen malý počet silně exprimovaných atypických D antigenů je naopak zařazen mezi D pozitivní (D^{III}, DNB).

Nejjistějším opatřením u atypických D expresí je jejich jednoznačná kategorizace pomocí kombinace sérologického vyšetření panelem monoklonálních protilátek a vyšetření DNA kity na D varianty. V podmínkách ČR se jedná o méně než 1000 vyšetření ročně. Provádění těchto „definitivních vyšetření" je doporučováno v zahraničí (Německo) a bylo hodnoceno jako ekonomicky přínosné.

V nejasných případech je vhodné zaslat vzorek do referenční laboratoře ke genetickému vyšetření. Do té doby je vhodné klasifikovat danou těhotnou jako D-negativní.

c) screening nepravidelných antierytrocytových protilátek

Přibližně u 1 % těhotných lze prokázat klinicky významné nepravidelné aloimunní protilátky proti erytrocytům (dále jen „nepravidelné protilátky") (30).

Screening nepravidelných protilátek umožňuje detekovat klinicky významné protilátky, které mohou ohrozit plod a/nebo novorozence (5).

Vyšetření nepravidelných protilátek má význam nejen u D-negativních žen, ale i u žen D-pozitivních, protože se mohou u HON klinicky uplatňovat i jiné specifické protilátky než anti-D (viz výše) (10) a D-pozitivní těhotné mohou tvořit protilátky jiné než anti-D stejně pravděpodobně jako D-negativní těhotné (31).

Informace o nálezu nepravidelných protilátek je významná i vzhledem k možné transfuzi erytrocytů (5).

Typ testu

Screeningová metoda má obsahovat nepřímý antiglobulinový test za použití erytrocytů resuspendovaných v roztoku o nízké iontové síle (LISS-NAT) při 37 °C (5, 6, 10), eventuálně test provedený jinou metodou se stejnou citlivostí.

S ohledem na potenciální transfuzi během těhotenství nebo v období porodu se domníváme, že je dobré určovat i protilátky, které obvykle HON nezpůsobují.

Enzymové testy, ať jednofázové či dvoufázové, obvykle nejsou doporučovány, neboť nemají výpovědní hodnotu (23, 24). U enzymových testů se často setkáváme s falešnými pozitivitami, s protilátkami jiné třídy než IgG a s protilátkami, které reagují pouze s erytrocyty modifikovanými enzymy. Na druhé straně tyto testy mohou pomoci k upřesnění specifity některých protilátek, např. u Rh systému. Některé klinicky významné protilátky mohou být v 1. trimestru prokazatelné pouze enzymovými testy (anti-D, -E, -c, $-C^w$), může se jednat o protilátky v časných stádiích primární imunizace, avšak v několika studiích nebyl prokázán jejich klinický význam, přestože se některé staly reaktivními v NAT ve 3. trimestru (24, 25, 26). Enzymové testy nejsou součástí vyšetřovacích algoritmů v doporučeních prenatální imunohematologické diagnostiky např. v Nizozemí, Velké Británii, USA (5, 23, 24, 32).

d) identifikace nepravidelných antierytrocytových protilátek

Provádí se v případě zjištěné pozitivity ve screeningovém vyšetření nepravidelných protilátek.

Informace z laboratoře pro ošetřujícího lékaře by měla obsahovat klinickou významnost protilátky vzhledem k HON a v souvislosti s transfuzí (5).

e) fenotyp matky

V případě zjištění specifické protilátky je vhodné provést stanovení antigenu komplementárního k dané protilátce, jednak pro potvrzení specifity, jednak k vyloučení autologní protilátky, která nemá z hlediska HON význam.

f) stanovení titru (titrace) nepravidelných protilátek

Stanovení titru klinicky významných protilátek proti erytrocytům u těhotných žen má sloužit pro identifikaci těhotenství, která jsou v riziku HON a predikovat plody/novorozence, které/kteří budou pravděpodobně vyžadovat léčbu HON (5). Přesto má titrace pro předvídání závažnosti HON jen omezený význam (6). Uvádí se 15–62 % přesnost předpovědi (23; viz funkční testy). Není totiž jednoznačná korelace mezi výší titru a biologickým chováním protilátek in vivo. Hemolýza závisí na aviditě protilátky, méně na titru (12). Protilátky s relativně nízkými titry jsou někdy schopné způsobit těžký průběh HON. Např. protilátky anti-K vedou k imunní supresi erytropoezy a výše jejich titru se závažností anémie prakticky nekoreluje (33, 34).

Titraci lze použít jako jednoduchý test při rozhodování, kdy začít monitorovat HON jinou než imunohematologickou metodou (např. Dopplerovou metodou pro mě-

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 10
proLékaře.cz | 24.11.2026

ření krevního průtoku v arteria cerebri media, event. amniocentézou, kordocentézou, pomocí ultrazvuku etc.) (23, 35, 36, 37).

Titrace není užitečná pro monitorování množství protilátek, pokud se vyskytlo HON v předchozím těhotenství (23, 38). V těchto případech je vhodné určit genotyp plodu, není-li otec homozygot pro daný antigen a antigenpozitivní plod sledovat na specializovaném gynekologicko – porodnickém pracovišti (viz výše).

V literatuře se uvádí pojem minimální kritický titr, tj. stanovení množství protilátek, které může vést ke klinicky závažným projevům HON (6). Za minimální kritický titr v NAT (zkumavkový test) se u protilátky anti-D obvykle považuje titr 16–32 (5, 6, 12, 39). Jiní autoři označují za minimální kritický titr hodnotu 8 (10), ale také 4 (40, 41). U ostatních protilátkových specifit se obvykle uvádí jako kritický titr 16–64 (7, 9, 15, 42, 43). Hodnocení kritického titru také závisí na anamnestických údajích z předchozího těhotenství (11).

Definice minimálního kritického titru je zbytečně komplikovaná a pro praxi nevhodná. Je lepší uvádět přímo hodnotu konečného titru, tj. místo výše uvedeného titru 16 titr 32, apod.

Zvýšení titru o více než dva stupně (zkumavkový test) se považuje za signifikantní (6). Náhlý pokles titru o více jak 3 stupně může být známkou těžkého postižení plodu i známkou intrauterinního exitu plodu (44).

Nevýhodou titrace je, že titr přesně neodpovídá koncentraci protilátky v séru. Odhaduje se jím pouze množství protilátky navázané na diagnostické erytrocyty v testu, nikoliv skutečně obsažené v séru. V posledních zkumavkách dochází k aglutinaci pouze s malým množstvím molekul protilátky s nejvyšší afinitou a zastoupení takovýchto molekul v séru ovlivňuje výši titru. Také diluce séra při opakovaných krocích ředění je zatížena manipulační chybou a může ovlivnit výsledný titr (45).

Nevhodná je titrace u protilátek jiné třídy než IgG, při dosažení kritického titru či při rozhodnutí monitorovat suspektní HON jinou metodou. Také titrace protilátek po porodu již není přínosná (23).

U protilátek *anti-K* nepřináší titrace vždy relevantní informaci z důvodů uvedených výše, avšak měla by se provést minimálně při prvním záchytu protilátky (5).

Podle některých autorů nemá smysl stanovovat titr jednotlivých protilátek u *směsí* klinicky významných *protilátek*, protože se zřejmě jedná o kombinovaný účinek všech protilátek, který určuje tíži HON (23). Přesto se domníváme, že stanovení titru jednotlivých protilátek ve směsi protilátek je vhodné. Při zjištění významné hodnoty titru jedné z protilátek lze jednoznačně pokračovat v monitorování plodu dalšími metodami. U nízkých titrů bez významné dynamiky růstu mohou invazivní vyšetření přinést zbytečná rizika.

V případě zjištění kombinace protilátek *anti-C+D* se může jednat o protilátky anti-C+G, resp. anti-G, tyto těhotné by pak měly podstoupit Rh-profylaxi (5, 23, 46, 47). Rozdílné výše titrů či adsorpční a eluční testy umožní tyto směsi rozlišit (6, 23, 46).

Minimální kritický titr je empirickou hodnotou závislou na typu metody.

Pro adekvátní hodnocení výsledků titrace je nutné použít srovnatelné metody. V ČR neexistuje doporučený postup titrace protilátek proti erytrocytům u těhotných žen, používají se různé metody, jejichž výsledky, pokud jde o výši titru, se liší. Obrovský rozptyl hodnot titru je zřetelně vidět u jednotlivých vzorků vyšetřovaných v rámci externího hodnocení kvality pořádaných SEKK (48).

Vzhledem k tomu, že literárně jsou empirické hodnoty uváděny pouze pro NAT, upřednostňuje se provádění tohoto testu (23). Kromě použité metody se pracoviště vzájemně liší i hodnocením výše titru v první zkumavce: titr 2 resp. 1.

Pro metodu sloupcové aglutinace - v současnosti asi nejrozšířenější - jsou k dispozici jen omezená srovnávací data se zkumavkovou metodou a nejsou pro ni stanoveny klinicky významné titry pro HON (49, 50). S využitím uvedených prací a výsledků externího hodnocení kvality (48) lze velmi hrubě použít koeficient 2,0, tj. např. titr 16 ve zkumavkovém testu odpovídá titru 64 při použití sloupcové aglutinace. Tato relace platí především pro protilátky anti-D, event. anti-C a anti-E, u ostatních specifit je koeficient spíše nižší (49).

Pro sledování dynamiky titru je vhodné vyšetřovaný vzorek séra zmrazit pro další kontrolu (skladovat při teplotě minimálně -18 až -20 °C). Následující titrace by se měla provádět paralelně ze vzorku předchozího a současného (6, 12).

Významná je samozřejmě i kvalita provedení titrace závislá na zručnosti a zkušenosti laboratorních pracovníků a dodržování zásad správné laboratorní práce. Ideální by bylo, kdyby titraci prováděl vždy tentýž pracovník.

Diagnostické erytrocyty

Ve světě není jednotnost ani v otázce diagnostických erytrocytů použitých pro titraci protilátek. Heterozygotní zastoupení daného antigenu odpovídá expresi antigenu u plodu, homozygotní zase umožňuje lepší záchyt protilátek. Pro titraci protilátek anti-D se obvykle doporučují diagnostické erytrocyty s fenotypem DccEE (R_2R_2) vzhledem k uniformní expresi antigenu D u jedinců s tímto fenotypem, stejné nebo heterozygotní diagnostické erytrocyty mohou být použité i pro titraci anti-c, anti-E, anti-cE (23). Pro titraci anti-C, anti-e jsou vzhledem k počtu antigenních míst na membráně erytrocytů a také kvůli dostupnosti vhodné diagnostické erytrocyty s fenotypem DCCee, lze použít i typ DCcee nebo DCcEe.

Pro potenciálně významné protilátky jiné specifity než Rh doporučuje Judd použít homozygotní diagnostické erytrocyty, jsou-li dostupné (23). Britové však doporučují použití erytrocytů s heterozygotním zastoupením daného antigenu (5).

Jsou-li v séru těhotné navíc přítomny protilátky bez klinického významu (např. anti-Lewis), je zapotřebí použít diagnostické erytrocyty bez korespondujícího antigenu (23). Klinicky nevýznamné protilátky z hlediska HON nemá smysl titrovat.

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 11
proLékaře.cz | 24.11.2026

Určování skóre

Určování skóre, kdy se bodově hodnotí i síla aglutinace v jednotlivých zkumavkách, se považuje za přesnější než stanovení titru protilátek (12, 51). Při stejné hodnotě titru může být i značně odlišné skóre (12). Za signifikantní se považuje změna skóre o více než 10 (12). Pro skóre však nejsou literárně-empiricky stanoveny kritické hodnoty, v praxi se paušálně nepoužívá.

g) stanovení koncentrace protilátky

Přínosnější a více vypovídající by bylo provádění kvantitativního vyšetření protilátek, tj. stanovení koncentrace protilátky v séru či plazmě.

Existuje řada metod, např. autoanalyzátor, test s antiglobulinem značeným jódem, ELISA, ELAT (enzyme-linked antiglobulin test), průtoková cytometrie, polybrenový test (52, 53).

Kvantifikace anti-D a anti-c se však nejčastěji provádí pomocí tzv. autoanalyzátoru (AutoAnalyzer), kde se využívá metoda bromelin-metylcelulózová (5, 6, 54, 55). Koncentrace protilátky se uvádí v mezinárodních jednotkách na mililitr (IU/ml) a pro její stanovení se ve Velké Británii používá národní standard anti-D a mezinárodní standard anti-c (56). Každý vzorek se testuje paralelně se vzorkem předchozím, aby se mohly zachytit významné změny v koncentraci protilátky. Zvýšení koncentrace o 50 % a více u hodnot nad 1,0 IU/ml se považuje za významný nárůst bez ohledu na stupeň těhotenství (5, 6). Při koncentraci anti-D do 4 IU/ml či anti-c do 7,5 IU/ml je HON nepravděpodobné (5, 6), i když byla prokázána HON způsobená anti-D v takto nízké koncentraci (nutnost léčby výměnnou transfuzí) (54). Hodnoty anti-D nad 15 IU/ml nebo anti-c nad 20 IU/ml jsou velmi úzce spojeny s vysokým rizikem těžkého postižení plodu resp. novorozence (např. hydrops fetalis, těžká anémie plodu) (5, 6). Mírné riziko HON se prokazuje u koncentrace anti-D 4-15 IU/ml nebo anti-c 7,5-20 IU/ml (5, 6). Pro protilátky anti-c platí výše uvedené algoritmy především v případě HON v anamnéze (55).

V České republice se kvantifikace nepravidelných protilátek neprovádí. Je vhodné uvažovat o zavedení kvantifikace protilátek anti-D resp. anti-c do praxe, a to v případech, kdy protilátka reaguje v kritickém titru (57).

h) určování třídy a podtřídy Ig

Z hlediska HON mohou být klinicky významné pouze protilátky třídy IgG, které procházejí placentou. Naopak protilátky třídy IgM vzhledem ke své veliké molekule placentární bariérou nepronikají. Tyto dvě třídy je možné od sebe odlišit pomocí různých testů (např. pomocí 2-merkaptoetanolu, dithiothreitolu, testem gelové filtrace) (12, 58–60), což se však obvykle provádí pouze po porodu u podezření na AB0 HON.

Těžkou hemolýzu mohou způsobit protilátky podtřídy IgG_1 a IgG_3 samotné nebo v kombinaci. V případě protilátky podtřídy IgG_1 nebo při kombinaci IgG_1+IgG_3 je průběh těžší než v přítomnosti protilátky pouze podtřídy IgG_3 (61, 62). IgG_1 způsobuje větší destrukci erytrocytů in utero, kdežto IgG_3 postnatálně (63). Určování podtříd IgG se běžně neprovádí, může však mít určitý prognostický význam u vysokých titrů anti-D.

ch) AB0 inkompatibilita

U AB0 inkompatibility neexistuje dostupný test k přesné prenatální předpovědi HON (7, 10). Nemá smysl identifikovat matky s vysokými titry anti-A či anti-B, titry nemají žádnou výpovědní hodnotu pro AB0 HON. Lytický potenciál AB0 protilátek je různý, často jde o protilátky podtřídy IgG_2, které neindukují destrukci erytrocytů (7). Sledování dynamiky titrů imunních protilátek anti-A, -B se proto neprovádí.

i) buněčné funkční testy

V některých zemích se v diagnostice HON uplatnily funkční testy, které stanovují biologickou účinnost protilátek a jejich výsledky dobře korelují se závažností HON (7, 64). Testy in vitro napodobují procesy, které probíhají in vivo. Patří sem například test buněčné cytotoxicity závislé na protilátkách (Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity test, ADCC test), který se např. v Nizozemí rutinně provádí u protilátek anti-D, anti-E, anti-c nebo anti-K. Další postup ve sledování těhotné včetně případného opakování buněčného funkčního testu pak závisí na výsledcích, které se srovnávají s odpovídajícími standardními kontrolními séry. Přesností předpovědi závažného HON se zabývali Engelfriet a Ouwehand v roce 1990 a zjistili 75% přesnost u ADCC testu, avšak pouze 15% přesnost u stanovení titru v NAT (64), také srovnání s kvantitativním testováním protilátek preferuje buněčné funkční testy (65, 66).

V jiných zemích přistupují k buněčným funkčním testům v následujících případech: a) v předchozím těhotenství byla tíže HON výrazně větší, než se očekávalo ze stanovení titru či koncentrace protilátek anti-D; b) při velmi rychlém nárůstu titru či koncentrace protilátek anti-D; c) u žen s hraniční koncentrací (titrem) protilátek anti-D (66, 67).

Mezi výsledkem ADCC testu a závažností hemolýzy se mohou vyskytnout diskrepance způsobené např. imunizací z minulého těhotenství, výrazně sníženou aktivitou monocytů/makrofágů plodu/novorozence vlivem matčiných protilátek blokujících Fc receptory monocytů (64, 68) nebo blokováním pasáže protilátek třídy IgG přes placentu (69).

Z dalších testů se používají chemiluminiscenční test (7, 70, 71), monocyte monolayer assay (MMA) (23, 72, 73) a jiné.

Nevýhodou buněčných funkčních testů je jejich poměrně velká pracnost a časová náročnost.

Vzhledem k výše uvedené přesnosti předpovědi závažnosti HON a vzhledem k tomu, že tyto testy jsou u nás již v experimentu ověřené, se domníváme, že by měly být zahrnuty do palety prenatálního testování HON v ČR.

Prenatální testování

Vyšetření těhotné

Vstupní vyšetření

Mělo by být provedeno co nejdříve po zjištění těhotenství, v prvním trimestru. Doporučená rozmezí ko-

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 12
proLékaře.cz | 24.11.2026

lísají mezi 10. a 16. týdnem (5, 6, 23), nejčastěji se uvádí 12. týden. Toto vyšetření by mělo obsahovat určení krevní skupiny v systému AB0, stanovení antigenu D a vyšetření nepravidelných protilátek (5, 6, 7, 11, 12, 23).

Další vyšetření

Všechny těhotné, screening protilátek negativní nebo průkaz klinicky nevýznamných protilátek

Další vzorek je vhodné imunohematologicky vyšetřit ve 28. týdnu těhotenství (event. 26.–32. týdnu) (5, 7, 10, 23, 74, 75). Po 28. týdnu již není další testování nutné (5, 7).

AB0, antigen D

Opakování vyšetření AB0 a antigenu D se zdá být zbytečné a tudíž neekonomické. Bohužel, nelze zcela vyloučit lidský omyl. Záměny vzorku, chybné předchozí vyšetření krevní skupiny, chyba při přepisování krevní skupiny v dokumentaci atd. se nevyskytují sice často, ale musí se s nimi počítat. Kontrolní vyšetření AB0 a antigenu D slouží tedy spíše k identifikaci vzorku těhotné a také k ověření správnosti předchozího určení krevní skupiny, což je důležité především u antigenu D. Smysl má provést toto vyšetření maximálně 2x během prvního těhotenství. V dalších těhotenstvích se pak vstupní vyšetření kontrolují se záznamy.

Screening nepravidelných protilátek

Opětovné vyšetření má smysl, a to jak u D-negativních, tak i u D-pozitivních těhotných. Lze tak odhalit tvořící se protilátku anti-D i jiné potenciálně klinicky významné protilátky (5, 74). Toto vyšetření může také upozornit na možné problémy při transfuzi (5).

Avšak některé studie potvrzují jen málo případů, kdy v případě negativního screeningu nepravidelných protilátek při vyšetření v I. trimestru dojde k manifestnímu HON s nutností prenatální nebo perinatální intervence (23). Dvě studie prokázaly, že jen u 0,06–0,24 % těhotenství se vytvořily nové potenciálně klinicky významné protilátky, které nebyly detekované při vstupním vyšetření. Tyto protilátky však nebyly příčinou závažného HON, tj. neprokázal se klinický význam protilátek detekovaných až ve III. trimestru (23, 76–78).

Opakovaný screening protilátek je jednoznačně indikovaný u těhotných s klinicky významnými protilátkami, s anamnézou HON, transfuzí erytrocytů nebo komplikacemi při porodu (23).

Krevní vzorek pro vyšetření protilátek je nutné odebrat před případným podáním anti-D.

Při pozitivním výsledku screeningu protilátek je zapotřebí určit specifitu a titr protilátek.

Průkaz klinicky významných protilátek při vstupním vyšetření

Monitorování množství protilátek se používá pro identifikaci těhotenství s rizikem HON a k předpovědi, které plody nebo novorozenci mohou potřebovat léčbu HON. Vyšetření má identifikovat další mateřské protilátky. Ženy, které si již jednu nebo více protilátek vytvořily, si mohou vytvářet protilátky jiné specifity (5).

U protilátek anti-D, -c, -K a u ostatních protilátek, kdy je v anamnéze těhotné informace o těžkém HON, se další vzorek imunohematologicky vyšetřuje v 18.–20. týdnu včetně určení titru protilátek. Pokud není jednoznačně prokázáno, že otec je pro daný antigen negativní, provádí se kontrolní vyšetřování 1x za 4 týdny, od 28. týdne 1x za 14 dní, dokud není dosaženo klinicky významného titru (5, 7, 23).

Kromě výše zmíněných případů se ostatní klinicky významné protilátky zkontrolují až ve 28. týdnu včetně stanovení titru (5).

V případě protilátek anti-K, je-li otec pozitivní pro antigen Kell, je vhodné monitorovat titr protilátek stejně jako u jiných klinicky významných specifit (5). Někteří autoři doporučují současně sledovat stav plodu již od 16.–17. týdne od titru 2 (79).

Identifikace a titrování nepravidelných protilátek

Postup jako výše.

Specifické postupy

Anti-K. Je vhodné vyšetřit otce, je-li heterozygot, vyšetřit plod (nejlépe genotypizací fetální DNA) a v případě K-pozitivity plodu monitorovat plod pro riziko anémie pomocí ultrazvuku či vyšetření vzorku získaného kordocentézou (23).

Většina případů tvorby anti-K u těhotných je způsobena předchozí transfuzí K-pozitivních erytrocytů. Proto se doporučuje podávat dívkám a ženám ve fertilním věku pouze K-negativní erytrocyty (5).

Anti-D+C. Je potřeba odlišit, zda se nejedná o protilátky anti-C+G, resp. anti-G.

Testování po profylaktickém podání imunoglobulinu anti-D

Důležitá je informace od ošetřujícího lékaře. Informace o podání anti-D musí být uvedena v dokumentaci těhotné včetně žádanky o imunohematologické vyšetření.

Je-li záznam o podání anti-D v posledních 8 týdnech a reakce anti-D je slabá, pak se ve vyšetření pokračuje jako u žen, které nebyly senzibilizovány (5). Není-li záznam o profylaxi, doporučuje se provádět identifikaci protilátek a stanovovat titr anti-D každé 4 týdny do 28. týdne těhotenství nebo každé 2 týdny po 28. týdnu. Pokud protilátky anti-D přestanou být detekovatelné v NAT a množství/titr protilátek klesá, jedná se pravděpodobně o profylaktické anti-D; stabilní či zvyšující se koncentrace indikuje imunní protilátky anti-D (5).

Imunohematologická laboratorní vyšetření otce

Vyšetřením otce se určuje riziko imunizace plod-matka.

V případě nálezu specifických klinicky významných protilátek v séru či plazmě těhotné, především protilátek anti-D, -c, -K, se doporučuje vyšetřit přítomnost korespondujícího antigenu u otce, zda je otec pro daný antigen homozygot či heterozygot a tím určit pravděpodobnost, s jakou plod daný antigen zdědí (5, 11, 40, 80, 81). Je-li otec pro daný antigen negativní, pak se těhotná sleduje v režimu, jakoby neměla žádné zjištěné protilátky (viz výše) (5).

V případě antigenu D lze určením Rh fenotypu stanovit pouze pravděpodobnost homozygocie otce (11). Urče-

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 13
proLékaře.cz | 24.11.2026

ní je založeno na znalostech frekvence genových komplexů v populaci, např. u DCCee fenotypu se dá z více než 90 % předpokládat homozygocie v genu pro antigen D, o něco méně je tomu u fenotypů DccEE a DCcEe. Naopak u fenotypu Dccee je malý předpoklad homozygocie v genu pro antigen D (82).

Přesnějším postupem je genotypizace metodou PCR, která je však finančně nákladná. Význam by mohla mít u aloimunizovaných těhotenství s protilátkou anti-D, kdy není dostupná genotypizace plodu či je její výsledek nejasný. V tomto případě lze určit zygozitu (haplotyp), např. zda cDe fenotyp je genotyp cDe/cDe nebo cDe/cde (16).

Otec však není vždy jistý, takže negativní výsledek feno-, genotypizace nemusí znamenat nulové riziko pro plod/novorozence.

V některých případech (opakované potraty, nejasná etiologie či těžké HON při nezjištěných protilátkách) lze provést vyšetření séra či plazmy matky a krvinek otce k vyloučení imunologické reakce proti vzácně se vyskytujícímu antigenu (83).

V případě neshody otce a matky ve skupinovém systému AB0 lze toto vyšetření provést až po vysycení přirozených aglutininů v séru/plazmě matky (opakovaná adsorpce při 4 °C i 37 °C na příslušné krvinky dárce).

Imunohematologická laboratorní testování plodu

Ne všechny potenciálně klinicky významné protilátky souvisejí s daným těhotenstvím, může se jednat o protilátky přetrvávající z předchozího těhotenství nebo po transfuzi (23).

Vyšetření krevní skupiny

Sérologické vyšetření krevní skupiny AB0 u plodu nepřináší žádnou užitečnou informaci. Někdy se používá pro průkaz odebrání fetální krve v případě neshodné krevní skupiny plod-těhotná.

Stanovení přítomnosti antigenu D, slabého antigenu D, respektive antigenu korespondujícího se zjištěnou klinicky významnou protilátkou těhotné umožňuje průkaz inkompatibility matka-plod (12, 84).

Slabý antigen D se však u HON prakticky neuplatňuje. Poslední případy byly v literatuře zaznamenány před více než 40 lety, což bylo nejspíše způsobeno horší senzitivitou tehdejších diagnostických sér (82, 86).

Odběr krevního vzorku plodu (kordocentéza) přináší kromě jiných komplikací vysoké riziko fetomaternálního krvácení (FMH) a tím další aloimunizaci matky (spojenou se zvýšením titru protilátek – v cca 30 %) (6, 87), navíc se uvádí 1–3 % potratů (6, 88).

Přímý antiglobulinový test (PAT)

Význam vyšetření PAT u plodu je sporný. Provádění eluce a identifikace protilátky v eluátu (84, 85) nepřináší další informaci pro diagnózu či sledování HON. Navíc množství vzorku bývá často tak malé, že se nedaří identifikaci protilátek provést.

Existují sice algoritmy předpovědní hodnoty výše rizika HON u pozitivity PAT nebo sestavené z výsledků vyšetření PAT, spolu s retikulocyty a koncentrací hemoglobinu včetně návrhu dalšího sledování a intrauterinních transfuzí (84, 85), ale domníváme se, že nejdůležitější z vyšetřování žilní krve plodu pro další postup je sledování tíže anémie.

Genotypizace (stanovení genotypu)

Amplifikace fetální DNA pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) se stává důležitým hráčem na poli prenatální diagnostiky HON.

Stanovení genotypu lze uplatnit u systému Rh (*D*, *c*, *E*), Kell (*K*), Kidd (Jk^a) a Duffy (Fy^a) (16, 23). Největší význam má genotypizace pro gen *RHD*. U specifit, kde je výskyt HON vzácný, je však význam genotypizace sporný.

Do popředí se jednoznačně dostává genotypizace plodu z fetální DNA získané ze vzorku plazmy těhotné. Lo a kol. (90) zjistili, že v mateřské plazmě se v 1. trimestru vyskytuje cca 3 % volné fetální DNA z celkového množství volné DNA, ve 3. trimestru až 6 %, v jiných studiích je uváděn vyšší obsah fetální DNA (91). Abnormálně vysoké hladiny jsou u patologických těhotenství (poškození placenty nebo aneuploidního plodu) (92, 93). Volná fetální DNA po porodu rychle mizí z cirkulace plazmy (za 4–30 minut po císařském řezu (94) a za 10–100 hodin po vaginálním porodu (95). Invernizzi (96) detekoval sice Y-chromozom-specifické sekvence v plazmě matek (u 22 %) až několik let po porodu mužského novorozence, ale další studie to nepotvrdily; zřejmě šlo o DNA odvozenou z buněčného materiálu, který nebyl odstraněn dostatečnou centrifugací (89).

Výhodou použití mateřské plazmy je to, že se jedná o neinvazivní vyšetření. Nevýhodou jsou falešné negativity (riziko se snižuje vyšetřením několika alikvotů mateřské plazmy) (97, 98). Komplikací je i to, že u D^W těhotných nelze určit *RHD* genotyp plodu.

Genotypizace plodu ze vzorku plazmy těhotné se v některých zemích provádí již rutinně (např. Nizozemí, Belgie, Francie, Velká Británie) (89, 99, 100, 101, 102).

Indikací ke genotypizaci plodu je těhotenství s průkazem klinicky významných protilátek a/nebo těžké HON v anamnéze a pokud je otec heterozygot pro daný antigen (je-li výsledek vyšetření otce k dispozici) (5, 23, 80, 99, 100, 103), event. i před plánovanou invazivní metodou u RhD-negativní těhotné (99, 101, 103).

V některých zemích provádějí screening D-pozitivních plodů u všech D-negativních těhotných (99), jinde tento postup zvažují (89, 100, 101). Výhodou je, že se tím dosáhne cílenější anti-D profylaxe. Těhotné s D-negativním plodem by se tak zbytečně dále invazivně nevyšetřovaly a neprováděla by se případná prenatální profylaxe (16, 89, 100, 101). Van der Schoot a spol. (91) uvádějí, že 40 % žen zbytečně podstupuje prenatální profylaxi, protože není znám D fenotyp plodu a plod je D-negativní. Náklady na genotypizaci všech žen jsou o 1/3 nižší než náklady na prenatální profylaxi (91, 100).

Pro testování fetální DNA v mateřské plazmě se dnes používá prakticky jen metoda PCR v reálném čase (real-time PCR; RQ-PCR) s využitím specifických primerů

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 14
proLékaře.cz | 24.11.2026

a hydrolizačních sond (89, 97, 98). Jedná se o kvantitativní metodu, kterou lze relativně jednoduše rozlišit fetální a mateřskou DNA (89). Odběr vzorku plazmy a vyšetření DNA plodu lze teoreticky provádět od 8. týdne, ale prakticky až po 10. týdnu (97, 104). Vzhledem k tomu, že časný odběr je zatížen malou výtěžností DNA plodu a invazivní vyšetřovací metody či intrauterinní transfuze se provádějí nejdříve od 16.–18. týdne (11, 61, 85, 105), je smysluplné první vyšetření mezi 15.–18. týdnem těhotenství (89, 97, 105).

Genotypizaci alel systému *Kell* se doporučuje provádět ve 20. týdnu, v případě negativního výsledku opakovat ve 28. týdnu (106). Je nutné dostatečné množství DNA, v případě malého množství hrozí riziko falešných negativit.

Vyšetření po porodu

Vyšetření matky

AB0, antigen D

Vyšetření má smysl pouze v případě, že nejsou k dispozici 2 předchozí výsledky vyšetření skupiny nebo jako součást předtransfuzního vyšetření (5, 23).

Slabé D se nevyšetřuje z důvodů uvedených výše (23).

Screening nepravidelných protilátek

Rutinní screening nepravidelných protilátek se nedoporučuje, protože nepřináší žádnou užitečnou informaci. Provádí se pouze u předtransfuzního vyšetření (5, 23) a v případech, kdy matka nebyla vyšetřena během těhotenství. Je zapotřebí připomenout, že vyšetření nepravidelných protilátek v séru/plazmě matky bývá součástí předtransfuzního vyšetření novorozence, neboť protilátky v séru/plazmě matky jsou jediné, které se mohou vyskytovat i v séru/plazmě novorozence.

Jsou-li u novorozence přítomny známky HON, ale výsledek screeningu protilátek je negativní, je vhodné provést testování séra/plazmy matky s erytrocyty otce (není-li přítomna AB0 inkompatibilita) k zachycení reakce proti antigenu s nízkou frekvencí výskytu (23).

Identifikace nepravidelných protilátek

Určit specifitu nepravidelné protilátky má smysl především u protilátky poprvé zjištěné po porodu, vhodné je však i potvrzení specifity původní protilátky a případné vyloučení nové protilátky (23).

Určení specifity protilátek je důležité pro výběr krve k transfuzi matky či novorozence a pro stanovení rizika pro další těhotenství.

Stanovení titru nebo koncentrace protilátek

Neprovádí se, protože vyšetření nemá klinický význam, nemá vliv na další léčbu (23).

AB0 HON

Je možné vyšetřit imunní anti-A, -B (třídy IgG) a stanovit jejich titr (7). Při použití zkumavkové metody (NAT) titr s hodnotou 500 resp. 512 a více vysoce koreluje s klinicky významnou HON (44, 60). Stejně jako u stanovení titru nepravidelných protilátek existují jen ojedinělé práce srovnávající NAT zkumavkou metodou a metodou sloupcové aglutinace (50). Novaretti a kol. navrhují pro klinicky významné hodnoty titrů u sloupcové aglutinace použít korekční faktor 2,0 ve srovnání se zkumavkovou metodou (50).

Otázkou je, zda je vyšetření imunních protilátek anti-A,B a titru těchto protilátek u matky po porodu potřebné.

Vyšetření novorozence

AB0

Rutinní vyšetření u všech novorozenců se nedoporučuje, ani u novorozenců matek s krevní skupinou 0 (AB0 inkompatibilita by neměla znamenat přísnější sledování, protože u všech novorozenců by se měl zjišťovat a následně monitorovat ikterus) (23).

Provádí se u novorozenců matek s potenciálně klinicky významnými protilátkami především kvůli případné transfuzi novorozence, dále u novorozenců matek s neprokázanými nepravidelnými protilátkami, kdy novorozenec má klinické známky HON a u suspektního AB0 HON (23). Skutečný diagnostický význam pro další postup u HON má stanovení krevní skupiny v systému AB0 pouze v posledním uvedeném případě.

Antigen D

Rutinní vyšetření u všech novorozenců se nedoporučuje. Provádí se u novorozenců D-negativních matek, aby se určily ženy vhodné pro anti-D profylaxi (5, 23), dále u matek s potenciálně klinicky významnými protilátkami především kvůli případné transfuzi novorozence, u matek s neprokázanými nepravidelnými protilátkami, kdy novorozenec má klinické známky HON (23).

Význam vyšetření D^w či variantních antigenů D je sporný. Někteří autoři doporučují vyšetřovat D^w a variantu D^{VI}, protože v případě jejich pozitivity u novorozence by se u matky měla provádět anti-D profylaxe (23, 81). Jiní autoři uvádějí, že prakticky není dokázáno, že by erytrocyty plodu nesoucí na svém povrchu variantu D^{VI} senzibilizovaly matku (5) a profylaktické podávání anti-D imunoglobulinu je jen velmi málo účinné (7). U pozitivity PAT nelze spolehlivě D^w vyšetřit.

Pro komplikace vyšetření antigenu D u novorozenců u atypicky exprimovaných (slabých a parciálních D) platí totéž, co bylo uvedeno výše u vyšetření těhotných. Současně používaná silná monoklonální diagnostika detekují v různé míře (v závislosti na použité metodě) i tyto atypické antigeny, představující cca 1–2% D-pozitivní populace. Volba nejvhodnějšího postupu naráží na nedostatek informací o potenciální imunogenicitě konstelace „D-negativní matka x plod s atypicky exprimovaným D“. U velmi slabých D expresí a minimálních fetomaternálních hemoragií bude jistě riziko velmi malé, ale možnost imunizovat matku bude narůstat jak se silou exprese antigenu D, tak i s velikostí fetomaternální hemoragie.

Protože pozitivní nález antigenu D u plodu je indikací pro podání anti-D profylaxe, nebude pravděpodobně chybou tuto profylaxi doporučit i u nálezu slabé exprese antigenu D u novorozence. Otázkou, u které je zapotřebí dosáhnout konsensu je, zda má smysl pátrat i po velmi slabých formách antigenů D (test na slabé D antiglobulinovou technikou s IgG anti-D – podobně jako u dárců krve).

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 15
proLékaře.cz | 24.11.2026

Další okolností, vyžadující pozornost, je fakt, že určení RhD u těhotné může být provedeno v jiné laboratoři, než která vyšetřuje novorozence – a z toho vyplývá, že se mohou lišit použitá diagnostika i techniky. Může tedy dojít k situaci, že těhotná je určena jako RhD negativní (např. při použití zkumavkové techniky a diagnostik poskytujících slabší reakce) a plod jako RhD pozitivní se slabým antigenem D (při použití silnějších diagnostik či systému sloupcové aglutinace). Přitom mohou být oba nositeli stejného atypického proteinu D. Podání profylaxe je tudíž zbytečné. Proto lze doporučit u každého případu nálezu slabě pozitivního antigenu D zvýšenou pozornost, event. revizi vyšetření matky a konzultaci se specializovanou nebo referenční laboratoří.

Screening nepravidelných protilátek

Jsou-li u novorozence přítomny známky HON, ale výsledek screeningu protilátek u matky je negativní a je přítomna AB0 inkompatibilita mezi matkou a otcem (tj. nelze použít sérum/plazmu matky pro přítomnost aglutininů anti-A, resp. anti-B), je vhodné provést testování séra/plazmy novorozence s erytrocyty otce k zachycení reakce proti antigenu s nízkou frekvencí výskytu (23) v LISS-NAT. Specifitu protilátky lze většinou určit pouze ve specializované laboratoři.

Důležité je provést screening protilátek u novorozence, nebylo-li provedeno toto vyšetření u matky (23) nebo není výsledek vyšetření matky znám.

Přímý antiglobulinový test

Rutinní vyšetření u všech novorozenců se nedoporučuje (5, 23), ani u D-pozitivních novorozenců D-negativních matek, především tehdy, provádí-li se rutinní prenatální anti-D profylaxe. Pozitivní PAT pak může být přítomen až u 3-6 % vzorků (5), avšak bez klinického významu (profylaktické podání anti-D IgG nezpůsobuje destrukci fetálních či novorozeneckých erytrocytů) (107).

Provedení PAT se doporučuje v případě průkazu potenciálně klinicky významných protilátek u matky (5, 23), dále u matek, u nichž nebyly prokázány nepravidelné protilátky, ale novorozenec má klinické známky HON, u suspektního AB0 HON a nebyl-li u matky proveden screening protilátek ani během těhotenství ani po porodu (23) nebo není výsledek vyšetření znám.

Pozitivita PAT nepotvrzuje diagnózu HON, je nutné vyšetření hemoglobinu a sérového bilirubinu novorozence (5). Prediktivní hodnota pozitivity PAT se odhaduje na 23 %, naopak u negativního PAT mohou být příznaky těžkého HON, a to nejen u AB0 inkompatibility (108, 109).

U AB0 inkompatibility bývá PAT často negativní či jen slabě pozitivní (až v 90 %) (110), což je zřejmě dáno nevyzrálostí aglutinogenů A a B u novorozenců – vazba protilátek je volná a protilátky se snadno uvolňují; pravděpodobně také substance A a B, přítomné ve fetálních tkáních a tekutinách, neutralizují část protilátek anti-A, anti-B předtím, než mohou reagovat s fetálními erytrocyty (10). U klinicky významných titrů imunních protilátek anti-A, -B, resp. anti-AB však bývá pozitivita PAT jednoznačná.

Eluční test

Je vhodné provést u pozitivity PAT (5). V eluátu se pak určuje specifita přítomné protilátky – testování eluátu s erytrocyty nesoucími antigen korespondující s protilátkou (5). Eluce a vyšetření eluátu novorozence nejsou nutné, pokud je jednoznačně identifikována protilátka u matky (23).

Eluční test je možné využít v případě suspektní reakce proti antigenu s nízkou frekvencí výskytu (viz výše) pro testování eluátu s erytrocyty otce (23).

U kombinace protilátek v séru matky je dobré eluci provést k určení, která specifická protilátka se podílí na HON. Ostatní IgG protilátky, které se neuplatňují u novorozence, protože nemá na svých erytrocytech přítomen korespondující antigen, mohou působit problémy při vyhledávání kompatibilní krve pro výměnnou transfuzi.

U AB0 HON není provádění elučního testu přínosné, protože vyšetření imunních protilátek anti-A, anti-B třídy IgG je dostačující (viz níže) (23, 111).

Vyšetření imunních protilátek anti-A, -B (třídy IgG)

Provádí se u suspektního AB0 HON obvykle metodou LISS-NAT (23).

Určení komplementárního antigenu

Provádí se k potvrzení specifity nepravidelných protilátek a k určení pravděpodobnosti HON (zjištění, zda se mateřská protilátka může nebo nemůže vázat na erytrocyty dítěte). Pozornost je třeba věnovat vyšetření při pozitivním PAT.

Test kompatibility

V případě potřeby transfuze erytrocytů či výměnné transfuze se provádí test kompatibility přednostně se sérem/plazmou matky. Není-li k dispozici, pak lze použít krevní vzorek novorozence (23).

Vyšetřování fetomaternálního krvácení (FMH)

FMH se v průběhu fyziologického těhotenství objevuje především ve třetím trimestru, většinou při porodu.

Je pravděpodobné, že určité množství fetálních erytrocytů by se velmi citlivými metodami dalo prokázat prakticky u všech matek po porodu. Objem fetální krve v cirkulaci matky je obvykle velmi malý (0,025 ml erytrocytů u 74 % žen po porodu) (112), FMH nad 15 ml fetálních erytrocytů se prokazuje u cca 0,1–0,3 % žen po nekomplikovaném porodu (7).

Rizikové stavy z hlediska závažného FMH jsou především protrahovaný nebo komplikovaný porod, spontánní aborty ve II. a III. trimestru, amniocentéza, odběr choriových klků, kordocentéza, mimoděložní těhotenství, mrtvý plod, břišní poranění a polytrauma, abnormality placenty (např. placentární tumor, retroplacentární hematom, abrupce placenty, placenta praevia), manuální vybavení placenty, porod císařským řezem (80). Na závažné FMH je vhodné myslet i v případě anemického novorozence bez zjevného krvácení. Až 50 % velkých FMH je však bez zjevné příčiny.

Rutinně se v ČR neprovádí.

FMH nemá smysl vyšetřovat do 20. týdne těhotenství (113). Vhodné by bylo provádět vyšetření FMH u D-ne-

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 16
proLékaře.cz | 24.11.2026

gativních těhotných/matek, pokud není prokázána protilátka anti-D u výše uvedených rizikových stavů.

Nejčastěji používaný test - metoda podle Kleihauera, Brauna a Betkeho (80, 114, 115), který vychází z principu, že fetální hemoglobin je více rezistentní vůči kyselé eluci, je poměrně pracný, obtížně standardizovatelný (interpretace je závislá na zkušenosti pracovníka), s poměrně velkou nepřesností a tendencí k nadhodnocení FMH (114–117). Lze jej použít pouze k průkazu relativně malých objemů fetálních erytrocytů (do 4 ml) (5, 113) přesto se v některých zemích používá jako kvantitativní test především v případech rizika FMH (např. USA, Francie, Nizozemí, Velká Británie, Polsko, Španělsko) (80).

Jako screeningové testy se používají i rozetový test (80) a test využívající princip gelové sloupcové aglutinace (ID-FMH) (115, 118). Použití ID-FMH v ČR hodnotila studie z let 1999-2001, která upozornila na technické nedostatky či omezení testu a na poměrně vysokou nákladnost metody, především v případě zpracování individuálních vzorků (119).

Výše uvedené testy lze považovat za semikvantitativní.

U větších objemů FMH (nad 4 ml, u ID-FMH při záchytu 0,4 % fetálních erytrocytů a více) je vhodné použít průtokovou cytometrii (5, 113, 115). Jedná se o velmi citlivou a přesnou kvantitativní metodu (5, 114, 117, 120). Místo relativně drahé průtokové cytometrie lze použít i fluorescenční mikroskopii (116).

U testování FMH se lze setkat s falešně pozitivními výsledky (118), erytrocyty s HbF lze nalézt u 1-2 % dospělých jedinců (7). U 25 % těhotných dochází během těhotenství k vzestupu množství erytrocytů s HbF až na 7 %, avšak obvykle pouze ve druhém trimestru 7, 121).

U slabého D matky nelze použít metody využívající průkazu přítomnosti D-pozitivních erytrocytů plodu/novorozence, nýbrž metody s průkazem HbF (23, 122).

Závěr

Imunohematologická vyšetření v těhotenství a po porodu jsou nepostradatelná při správném diagnostikování a léčbě hemolytického onemocnění plodu/novorozence. V naší práci jsme poukázali na úlohu běžně používaných imunohematologických metod, ale i nových či opomíjených laboratorních testů (DNA diagnostika, funkční testy, vyšetřování FMH, apod.). Poznatky, uvedené v naší práci, by mohly být podkladem pro tvorbu jednotného postupu v rámci České republiky. Přínosné pro vhodný algoritmus imunohematologických vyšetření v těhotenství a po porodu by byly statistické informace o HON v ČR a ekonomické aspekty, které nebyly v naší práci akcentovány.

Literatura

1. Clarke SC, Whitfield AGW. Deaths from rhesus haemolytic disease in England and Wales in 1977: accuracy of records and assessment of anti-D prophylaxis. BMJ 1979; i: 1665-1669.
2. Hussey R, Clarke CA. Deaths from haemolytic disease of the newborn in 1990 (Letter). BMJ 1992; 304–444.
3. National Institute for Clinical Excellence. Guidance on the use of routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative women, 2002. www.nice.org.uk
4. Masopust J. Hemolytická nemoc novorozenců – význam kritického titru antierytrocytárních protilátek. Neonat listy 1998; 18–21.
5. Gooch A, Parker J, Wray J, Qureshi H. Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy. British Committee for Standards in Haematology, 2006. www.bcshguidelines.com
6. De Silva M. New guidelines for pre and perinatal immunohaematology. ISBT 2003; Istanbul; S109–111.
7. Klein HG, Anstee DJ. Haemolytic disease of the fetus and newborn. In Mollison's blood transfusion in clinical medicine. Blackwell Publishing 2005, 11th edition, p. 496–545.
8. Van Dijk BA, Hirasing RA, Overbeeke MA. Hemolytic disease of the newborn and irregular blood group antibodies in the Netherlands: prevalence and morbidity. Ned Tijdschr Geneeskd 1999; 143: 1465–1469.
9. Joy SD, Rossi KQ, Krugh D, O'Shaughnessy RW. Management of pregnancies complicated by anti-E isoimmunization. Obstet Gynecol 2005; 105: 24–28.
10. Judd WJ, Luban NLC, Ness PM, et al. Prenatal and perinatal immunohematology: recommendations for serologic management of the fetus, newborn infant, and obstetric patient. Transfusion 1990; 30: 175–183.
11. Brecher ME, et al. Technical manual. 14th edition, Bethesda, AABB 2002.
12. Whittle MJ. Rhesus haemolytic disease. Archives of Disease in Childhood 1992; 67: 65–68.
13. Moise KJ. Non-anti-D antibodies in red cell alloimmunisation. Europ J Obstet Gynecol and Reprod Biol 2000; 92: 75–81.
14. Moran P, Robson SC, Reid MM. Anti-E in pregnancy. Br J Obstet Gynaecol 2000; 107: 1436–1438.
15. Goodrick MJ, Hadley AG, Poole G. Haemolytic disease of the fetus and newborn due to anti-Fy^a and the potential clinical value of Duffy genotyping in pregnancies at risk. Transfus Med 1997; 7: 301–304.
16. Avent ND, Finning KM, Martin PG, Soothill PW. Prenatal determination of fetal blood group status. Vox Sang 2000; 78 (Suppl. 2): 155–162.
17. May-Wewers J, Kaiser JR, Mooore EK, Blackall DP. Severe neonatal hemolysis due to a maternal antibody to the low-frequency antigen C(w). Am J Perinatol 2006; 23: 213-217.
18. Huber AR, Leonard GT, Driggers RW, et al. Case report: moderate hemolytic disease of the newborn due to anti-G. Immunohematol 2006; 22: 166–170.
19. De Young-Owens A, Kennedy M, Rose RL, et al. Anti-M isoimmunization: management and outcome at the Ohio State University from 1969–1995. Obstet Gynecol 1997; 90: 962–966.
20. Wagner T, Resch B, Legler TJ, et al. Severe HDN due to anti-Ce that required exchange transfusion. Transfusion 2000; 40: 571–574.
21. Duguid JK, Bromilow IM, Entwistle GD, Wilkinson R. Haemolytic disease of the newborn due to anti-M. Vox Sang 1995; 68: 195–196.
22. Martinez S, Luna I, Arriaga F, et al. Foetus fatal haemolytic disease by anti-Jk^b, a case report. Vox Sang 2007; 93(Suppl. 1): 8.
23. Judd WJ. Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohematology, revisited. Transfusion 2001; 41: 1445–1452.
24. Clark D, Greiss MA, Urbaniak SJ. A prospective study of routine antenatal enzyme antibody screening demonstrates lack of clinical value in predicting haemolytic disease of the newborn. Br J Haem 1999; 106: 824–826.
25. Hundrič-Haspl Z, Jurakovič-Loncar N, Grgicevič D. Evaluation of the enzyme test for detection of clinically significant red blood cell antibodies during pregnancy. Acta Med Croatica 1999; 53: 125–128.
26. Hall AR, Mason RP, Mallaband A. Survey of significant antibodies found in enzyme screen positive but antiglobulin test negative antenatal referrals. Transfus Med 1997; 7(Suppl. 1): 23.
27. Garraty G. Do we need to be more concerned about weak D antigens? Transfusion 2005; 45: 97–101.
28. Wagner FF, Kasulke D, Kerowgan M, Flegel WA. Frequencies of

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 17
proLékaře.cz | 24.11.2026

the blood groups AB0, Rhesus, D category VI, Kell, and of clinically relevant high-frequency antigens in south-western Germany. Infusionsther Transfusionsmed 1995; 22: 285–90.
29. Standards for blood banks and transfusion services. 21th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2001.
30. Howard H, Martlew V, McFaden I, et al. Consequences for fetus and neonate of maternal red cell allo-immunisation. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 1998; 78: F62–F66.
31. Thompson S, Eggington J, Dodd A, et al. Late developing red cell antibodies in pregnancy. Transfus Med 2003; 13 (Suppl.): 8–9.
32. De Vrijer, B, Harthoorn-Lasthuizen EJ, Oosterbaan HP. The incidence of irregular antibodies in pregnancy: a prospective study in the region of the's-Hertogenbosch. Ned Tijdschr Geneeskd 1999; 143: 2523–2527.
33. Vaughan JI, Warwick RM, Letsky EA, et al. Erythropoietic suppression in fetal anemia because of Kell alloimmunisation. Am J Obstet Gynecol 1994; 171: 247–252.
34. Vaughan JI, Manning M, Warwick RM, et al. Inhibition of erythroid progenitor cells by anti-Kell antibodies in fetal alloimmune anemia. New Engl J Med 1998; 338: 798–803.
35. Van Dongen H, Klumper FJ, Sikkel E, et al. Non-invasive tests to predict fetal anemia in Kell-alloimmunized pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol 2005; 25: 341–345.
36. Oepkes D, Seaward PG, Vandenbussche FP, et al. Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. N Engl J Med 2006; 355: 156–164.
37. Ľubušký M, Procházka M, Šantavý J, et al. Aktuální management těhotenství s rizikem rozvoje anémie. Česka Gynekol 2006; 71: 272–280.
38. Moise KJ. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. Obstet Gynecol 2002; 100: 600–611.
39. Filbey D, Berseus O, Sandström B, Wesström G. The evaluation of maternal anti-D concentrations during pregnancy. Early Hum Dev 1987; 15: 1–9.
40. Reece EA, Copel JA, Scioscia AL, et al. Diagnostic fetal umbilical blood sampling in the management of isoimmunization. Am J Obstet Gynecol 1988; 159: 1057–1062.
41. Gottvall T, Selbing A, Hildén JO. Evaluation of a new Swedish protocol for alloimmunization screening during pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 1993; 72: 434–438.
42. Bowman JM, Pollock JM, Manning FA, Harman CR. Severe anti-C hemolytic disease of the newborn. Am J Obstet Gynecol 1992; 166: 1239–43.
43. Hackney DN, Knudtson EJ, Rossi KQ, et al. Management of pregnancies complicated by anti-c isoimmunization. Obstet Gynecol 2004; 103: 24–30.
44. Pont'uch A, Hrubiško M, Michaličková J. Hemolytická choroba novorozencov. 1. vydání Martin, Osveta 1970.
45. Hughes-Jones NC. The estimation of the concentration and the equilibrium constant of anti-D. Immunology 1967; 12: 565.
46. Maley M, Babb R, Chapman CE, et al. Identification and quantification of anti-D, -C and -G in alloimmunized pregnant women. Transf Med 2001; 11: 443–446.
47. Shirey RS, Mirabella DC, Lumadue JA, Ness PM. Differentiation of anti-D and -G: clinical relevance in alloimmunized pregnancies. Transfusion 1997; 37: 493–496.
48. www.sekk.cz
49. Frey-Wettstein M, Katzorke S. IgG blood group antibody titers: comparison of tube test and gel test. Satellite Symposium "5 years of experience with the original gel system" during ISBT meeting, Amsterdam 1994; 8–13.
50. Novaretti MCZ, Peres Navarro S, Leao Bonifacio S, et al. Comparison of gel test and tube test technique for isoagglutininstitration. Vox Sang 2007; 93(Suppl. 1): 188–189.
51. Marsh WL. Scoring of hemagglutination reaction. Transfusion 1972; 12: 352.
52. Klein HG, Anstee DJ. Blood grouping techniques. In Mollison's blood transfusion in clinical medicine. Blackwell Publishing 2005, 11th edition, p. 299–351.
53. Austin EB, McIntosh Y, Hodson C, Lee D. Anti-D quantification by flow cytometry: an alternative to the AutoAnalyzer? Transfus Med 1995; 5: 203–208.
54. Bowell P, Wainscoat JS, Peto TEA, Gunson HH. Maternal anti-D concentrations and outcome in rhesus haemolytic disease of the newborn. BMJ 1982; 285: 327–329.
55. Kozlowski CL, Lie D, Shwe KH, et al. Quantification of anti-c in haemolytic case of the newborn. Transfus Med 1995; 5: 37–42.
56. National Institut for Biological Standards and Control. The British standard for anti-D (Rho) antibodies. Human and working reference preparation for quantitation of anti-c using AutoAnalyser, anti-c 84/628. Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3QG UK. 2003.
57. Filbey D, Garner SF, Hadley AG, Shepard SL. Quantitative and functional assessment of anti-D: a comparative study of non-invasive methods in antenatal prediction of Rh hemolytic disease. Acta Obstet Gynecol Scand 1996; 75: 102–107.
58. Graham H, Morrison M, McAndrew R. A simple method for the prediction of AB0 incompatibility using Sephadex A-50. Vox Sang 1975; 29: 371–377.
59. Webb AJ. A 30-minute preparative method for isolation of IgG from human serum. Vox Sang 1972; 23: 279–290.
60. Voak D, Bowley CC. A detailed serological study on the prediction and diagnosis of ABO haemolytic disease of the newborn (ABO HD). Vox Sang 1969; 17: 321.
61. Pollock JM, Bowman JM. Anti-Rh(D) subclasses and severity of Rh hemolytic disease of the newborn. Vox Sang 1990; 59: 176–179.
62. Alie-Daran SJ, Dugoujon JM, Fournie A. Gm typing, IgG subclasses of anti-Rh(D) and severity of hemolytic disease of the newborn. Vox Sang 1992; 62: 127–128.
63. Wong ECC. Pathogenesis of haemolytic disease of the fetus and newborn. AABB Annual meeting, Seattle 2005
64. Engelfriet CP, Ouwehand WH. ADCC and other cellular bioassays for predicting the clinical significance of red cell antibodies. Baillières. Clin Haemat 1990; 3: 321–337.
65. Garner SF, Gorick BD, Lai WYY, et al. Prediction of the severity of haemolytic disease of the newborn. Vox Sang 1995; 68: 169–176.
66. Hadley AG, Kumpel BM, Leader KA, et al. Correlation of serological, quantitative and cell-mediated functional assays of maternal alloantibodies with the severity of haemolytic disease of the newborn. Br J Haematol 1991; 77: 221–228.
67. Engelfriet CP, Reesink HW. Laboratory procedures for the prediction of the severity of haemolytic disease of the newborn. Vox Sang 1995; 69: 61–69.
68. Dooren MC, van Kamp IL, Kanhai HHH, et al. Evidence for protective effect of maternal Fc-R blocking IgG alloantibodies HLA-DR in RhD-haemolytic disease of the newborn. Vox Sang 1993; 65: 55–58.
69. Dooren MC, Engelfriet CP. Protection against RhD-haemolytic disease of the newborn by a diminished transport of maternal IgG to the fetus. Vox Sang 1993; 65: 59–61.
70. Noble AL, Poole GD, Anderson N, et al. Predicting the severity of haemolytic disease of the newborn: an assessment of the clinical usefulness of the chemiluminiscence test. Br J Haematol 1995; 90: 718–720.
71. Downing I, Bromilow IM, Templeton JG, Fraser RH. A restrospective study of red cell maternal antibodies by chemiluminiscence. Vox Sang 1996; 71: 226–232.
72. Nance SJ, Nelson JM, Horenstein J, et al. Monocyte monolayer assay: an efficient noninvasive technique for predicting the severity of haemolytic disease of the newborn. Am J Clin Path 1989; 92: 89–92.
73. Larson PJ, Thorp JM, Miller RC, Hofffman M. The monocyte monolayer assay: a non-invasive technique for predicting the severity of in utero hemolysis. Am J Perinatol 1995; 12: 157–160.
74. Fung K, Eason E, Crane J, et al. Prevention of Rh alloimmunization. J Obstet Gynaecol Can 2003; 25(9): 765–773.
75. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health / RCOG Antenatal Care: routine care of the healthy pregnant woman, 2003 (www.rcog.org.uk/resources/Public/pdf/AntentalCare).

Transfuze 1 zlom 9.4.2008 15:13 Str. 18
proLékaře.cz | 24.11.2026

76. Rothenberg JM, Weirermiller B, Dirig K, et al. Is a third-trimester antibody screen for Rh+ women necessary? Amer J Managed Care 1999; 5: 1145–1150.
77. Andersen AS, Praetorius L, Jørgensen HL, et al. Prognostic value of screening for irregular antibodies late in pregnancy in rhesus positive women. Acta Obstet Gynecol Scand 2002; 81: 407–411.
78. Adeniji AA, Fuller I, Dale T, Lindow SW. Should we continue screening rhesus D positive women for the development of atypical antibodies in late pregnancy? J Matern Fetal Neonatal Med 2007; 20: 59–61.
79. Van Wamelen DJ, Klumper FJ, de Haas M, et al. Obstetric history and antibody titer in estimating severity of Kell alloimmunization in pregnancy. Obstet Gynecol 2007; 109: 1093–1098.
80. International forum. Current status of immunoprophylaxis with anti-D immunoglobulin. Vox Sang 2003; 85: 328–337.
81. Eder AF. Update on HDFN: new information on long-standing controversies. Immunohematol 2006; 22: 188–195.
82. Daniels G. Rh blood group system. In: Daniels G. Human blood groups. 2nd edition, Blackwell Science 2002; 195–274.
83. Kuśniertz-Alejska G, Bochenek S. Haemolytic disease of the newborn due to anti-Dia and incidence of the Dia antigen in Poland. Vox Sang 1992; 62: 124–126.
84. Calda P, Žižka Z, Řežábek K, et al. Diagnostika a terapie plodu ohroženého Rh izoimunizací. Čs Gynek 1993; 58: 278–282.
85. Weiner CP, Williamson RA, Wenstrom KD, et al. Management of fetal hemolytic disease by cordocentesis. I. Prediction of fetal anemia. Am Obstet Gynecol 1991; 165: 546–53.
86. Klein HG, Anstee DJ. The Rh blood group system (and Lw). In Mollison's blood transfusion in clinical medicine. Blackwell Publishing 2005, 11th edition, p. 163–208.
87. McGregor SN, Silver RK, Sholl JS. Enhanced sensitisation after cordocentesis in a rhesus-isoimmunized pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1991; 165: 382–383.
88. Weiner CP, Okamura K. Diagnostic fetal blood sampling-technique related looses. Fetal Diagn Ther 1996; 11: 169–175.
89. Daniels G, Finning KM, Martin PG, Soothill PW. Fetal blood group genotyping from DNA from maternal plasma: an important advance in the management and prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. Vox Sang 2004; 87: 225–232.
90. Lo YMD, Coberta N, Chymberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet 1997; 350: 485–487.
91. Van der Schoot CE, Tax GHM, Rijnders RJP, et al. Prenatal typing of Rh and Kell blood group system antigens: the edge of a watershed. Transfus Med Rev 2003; 17: 31–44.
92. Poon LLM, Lo YMD. Circulating fetal DNA in maternal plasma. Clin Chim Acta 2001; 313: 151–155.
93. Shimada K, Murakami K, Shozu M, et al. Sex-determing region Y levels in maternal plasma: evaluation in abnormal pregnancy. J Obstet Gynaecol Res 2004; 30: 148–154.
94. Lo YMD, Zhanf J, Leung TN, et al. Rapid clearence of fetal DNA from maternal plasma. Am J Hum Genet 1999; 64: 218–224.
95. Nelson M, Eagle C, Langshaw M, et al. Genotyping fetal DNA by non-invasive means: extraction from maternal plasma. Vox Sang 2001; 80: 112–116.
96. Invernizzi P, Biondi ML, Battezzati PM, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma decades after pregnancy. Hum Genet 2002; 110: 587–591
97. Hromadníková I, Veselá K, Benešová B, et al. První zkušenosti s neinvazivní RH genotypizací plodu z periferní krve u aloimunizovaných těhotenství, Trans Hemat Dnes 2005; 11: 17–20.
98. Hromadníková I, Doucha J, Benešová B, et al. Neinvazivní RHc genotypizace plodu z periferní krve těhotných žen. Trans Hemat Dnes 2005; 11: 14–16.
99. Minon JM, Schaaps JP, Senterre JM, Foidart JM. Routine clinical practice of fetal RhD phenotyping using maternal plasma in Belgium: a four-year experience. Vox Sang 2007; 93 (Suppl. 1): 53.
100. Van der Schoot E. RHD fetal genotyping as a routine tool in the prevention of the haemolytic disease of the newborn. The Dutch experience. XVIIth ISBT Regional Congress, Madrid 23.-27. June 2007; 5A-S23-2.
101. Colin Y. *RHD* fetal genotyping as a routine tool in the prevention of the haemolytic disease of the newborn. The French experience. XVIIth ISBT Regional Congress, Madrid 23.-27. June 2007; 5A-S23-3.
102. Bianchi DW, Avent ND, Costa JM, van der Schoot CE. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal Rhesus D: ready for prime(r) time. Obstet Gynecol 2005; 106: 841–844.
103. Rouillac-Le Sciellour C. Recent developments in non-invasive fetal RhD genotyping. Vox Sang 2007; 93 (Suppl. 1): 206.
104. Illanes S, Denbow M, Kailasam C, et al. Early detection of cell-free DNA in maternal plasma. Early Hum Dev 2007; 83: 563–566.
105. Christiansen MC, Maniecki MB, Sørensen BS, et al. Non-invasive foetal RhD determination in gestation week 15 and 25. Vox Sang 2007; 93 (Suppl. 1): 203.
106. Finning K. Fetal genotyping beyond the Rh(D) antigen. XVIIth Regional Congress, Europe, ISBT, Madrid 2007 June 23-27.
107. Maayan-Metzger A, Schwartz T, Sulkes J, Merlob P. Maternal anti-D prophylaxis during pregnancy does not cause neonatal haemolysis. Arch Dis in Child Fetal Neonatal 2001; 84: F60-F62.
108. Dinesh D. Review of positive direct antiglobulin tests found on cord blood sampling. J Paediatr Child Health 2005; 41: 504–507.
109. Heddle NM, Wentworth P, Anderson DR, et al. Three examples of Rh haemolytic disease of the newborn with a negative direct antiglobulin test. Transfus Med 1995; 5: 113–116.
110. Kout M, Májský A, Herzog P. Vyšetřovací metody v imunohematologii. Avicenum, 1975; 24–27; 154–161.
111. Whyte J, Graham H. Prediction of the severity of AB0 haemolytic disease of the newborn by cord blood tests. Acta Paediatr Scand 1981; 70: 217–222.
112. Sebring ES, Polesky HF. Fetomaternal hemorrhage: incidence, risk factors, time of occurance, and clinical effects. Transfusion 1990; 30: 344–357.
113. Parker J, Wray J, Gooh A, et al. Guidelines for the use of prophylactic anti-D immunoglobulin. British Committee for Standards in Haematology, 2006. www.bcshguidelines.com
114. Nelson M, Zarkos K, Popp H, Gibson J. A flow-cytometric equivalent of the Kleihauer test. Vox Sang 1998; 75: 234–241.
115. Gómez-Arbonés X, Pinacho A, Ortiz P, et al. Quantification of foetomaternal haemorrhage. An analysis of two cytometric techniques and a semiquantitative gel agglutination test. Clin Lab Hamatol 2002; 24: 47–53.
116. Ochsenbein-Imhof N, Ochsenbein AF, Seifert B, et al. Quantification of fetomaternal hemorrhage by fluorescence microscopy is equivalent to flow cytometry. Transfusion 2002; 42: 947–953.
117. Chen JC, Davis BH, Wood B, Warzynski MJ. Multicenter clinical experience with flow cytometric method for fetomaternal hemorrhage detection. Cytometry 2002; 50: 285–290.
118. Salama A, David M, Wittmann G, et al. Use of the gel agglutination technique for determination of fetomaternal hemorrhage. Transfusion 1998; 38: 177–180.
119. Masopust J, Lasota Z, Biedermann P, et al. Vyšetření fetomaternálního krvácení metodou sloupcové aglutinace. Transfuze dnes 2001; 3: 99–103.
120. Janssen WC, Hoffmann JJ. Evaluation of flow cytometric enumeration of foetal erythrocytes in maternal blood. Clin Lab Haematol 2002; 24: 89–92.
121. Popat N, Wood WG, Weatherall DJ. Pattern of maternal F-cell production during pregnancy. Lancet 1977; ii: 377.
122. Prevention of RhD alloimmunization. ACOG Practice Bulletin Number 4. Washington DC 1999, American College of Obstetricians and Gynecologists.

MUDr. Jiří Masopust
Transfuzní oddělení
Krajská zdravotní, a.s.
Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.
e-mail: jiri.masopust@mnul.cz

Došlo do redakce: 14. 1. 2008
Přijato: 1. 2. 2008