proLékaře.cz | 7.9.2025

Doporučené postupy

Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP
č. STL2010_06 ze dne 1. 3. 2010 verze 2 (2010_04)

proLékaře.cz | 7.9.2025

IMUNOHEMATOLOGICKÁ VYŠETŘENÍ V TĚHOTENSTVÍ A PO PORODU

Pracovní skupina STL: Dušková D., Kubánková H., Masopust J., Pejchalová A., Písačka M.

Souhrn doporučení

1. Účel testování

Důvodem je určení potenciálně rizikových těhotných z hlediska hemolytického onemocnění novorozence (HON). Jasnou rizikovou skupinou jsou D-negativní ženy. Dále ženy s potenciálně klinicky významnými aloprotilátkami proti erytrocytovým antigenům. Vyšetření má pomoci při diagnóze a dalším postupu u HON.

2. Doporučení pro vzorky a žádanky

Pro správný výsledek je zásadní správná identifikace těhotné, novorozence či vyšetřovaného otce, správný odběr, označení a transport vzorku, úplné a správné údaje v žádance.

Vzorek: matka = srážlivá či nesrážlivá žilní krev podle požadavku laboratoře
plod = krev z umbilikální žíly
novorozenec = pupečníková krev, event. kapilární krev

Označení vzorku: před odběrem krve
(po nalepení štítku ověřit identifikaci jedince dotazem, ze zdravotnické dokumentace)
min. požadavky: jméno a příjmení
číslo pojištěnce (obvykle rodné číslo)
datum odběru vzorku
plod: uvádí se údaje těhotné a označení „plod“
novorozenec: křestní jméno nemusí být známo
číslo pojištěnce může být vygenerováno, má být unikátní

Žádanka: Jméno a příjmení
Číslo pojištěnce
Datum požadavku
Diagnóza
Zdravotní pojišťovna
Informace, zda se jedná o první či opakované těhotenství (např. pořadí)
Týden gravidity
Transfuzní anamnéza
Informace o dříve zjištěných protilátkách (uvést specifitu) event. HON
Informace o provedené RhD profylaxi
Identifikace žadatele
Identifikace odebírajícího vzorek

3. Klinická významnost antierytrocytových protilátek

Klinický význam nepravidelných antierytrocytových protilátek v patogenezi HON se liší.

3.1 Klinicky významné protilátky

Anti-D, -c, -K, -E, -C, -e, -Ce, -cE, -Fy^a, -Jk^a, anti-A, anti-B.

3.2 Klinicky nevýznamné 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.

3.3 Zvažovat individuálně

Anti-S, -s, -M, -C^w, -ce, -C^x, -E^w, -Fy^b, -k, -$Kp^{a,b}$, -$Js^{a,b}$, -PP_1P^k, -U, -Jk^b, -Tj^a, -Yt^a, -LW, -Diego, -Gerbich, -Wr^a, -Jr^a, a další.

proLékaře.cz | 7.9.2025

4. Postup

4.1 Testování během těhotenství

4.1.1 Vyšetření těhotné

4.1.1.1 Vstupní vyšetření

Termín	Test	Metoda a diagnostika (min. požadavky)	Komentář
12. týden (10.–16.)	AB0	Aglutinogeny i aglutininy Monoklonální dg. séra anti-A, anti-B. Diagnostické erytrocyty A_1 a B.	U dalších těhotenství min. aglutinogeny, výsledek má být shodný se záznamy. *Denní kontrola s erytrocyty 0, A_1, B.*
	D	2 monoklonální dg. séra anti-D třídy IgM s různými klony, která nedetekují variantu D^{VI}. Není vhodné dg. sérum anti-CDE.	U dalších těhotenství má být výsledek shodný se záznamy. **Slabé či diskrepantní reakce:** pokud není provedeno ověření molekulárně-geneticky jako slabé D typu 1, 2, 3, přistupovat jako k D-negativní. *Denní kontrola s erytrocyty D-pozitivními a D-negativními.*
	D^w	-	Rutinní testování se nedoporučuje.
	Screening protilátek	LISS-NAT (anti-IgG+anti-C3d) či jiná srovnatelně citlivá metoda. V případě zkumavkového testu doplnit enzymovým testem. **Screenigové dg. erytrocyty:** min. 3 Zastoupení antigenů: C, C^w, c, D, E, e, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s, M, N, Le^a 1x s fenotypem DCe/DCe (R_1R_1) a 1x s fenotypem DcE/DcE (R_2R_2). V homozygotním zastoupení antigeny Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s.	Screeningové dg. erytrocyty se nesmějí používat ve směsi. U pozitivity identifikace protilátek. *Denní kontrola se sérem se známou protilátkou.*
	Identifikace protilátek	LISS-NAT (anti-IgG+anti-C3d) **Dg. erytrocyty:** min. 8 1x fenotyp R_1R_1 (DCe/DCe) a $R_1{}^wR_1$ (DCe/DCe C^w+) (u obou dg. erytrocytů antigeny K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, M, S, s) 1x fenotyp R_2R_2 (DcE/DcE), r´r (D-negativní Ccee) a r´´r (D-negativní ccEe) 2x fenotyp rr (D-negativní, ccee) U fenotypu rr fenotypy K+, K-, Jk(a+b), Jk(a-b+), S+s-, S-s+, Fy(a+b-), Fy(a-b+).	Vyšetření komplementárního antigenu. U klinicky významných protilátek stanovení titru (titrování).

Termín	Test	Metoda a diagnostika (min. požadavky)	Komentář
12. týden (10.–16.)	Titrování*	Zkumavkový test – NAT při 37 ºC. Anti-IgG nebo anti-IgG+anti-C3d.	**Klinicky významný titr** anti-D, -C, -E ≥ 32 anti-K** ≥ 4 (provádět titrování pouze u prvního záchytu protilátky) ostatní: ≥ 64
		Sloupcová aglutinace – LISS-NAT.	**Klinicky významný titr** anti-D, -C, -E ≥ 128 anti-K** ≥ 8 ostatní: nejsou jednoznačnější data; ≥ 128
		Dg. erytrocyty	anti-D = DccEE (R_2R_2) anti-c, -E = heterozygotní, pokud jsou dostupné nebo DccEE (R_2R_2) anti-C, -e = heterozygotní, pokud jsou dostupné nebo DCCee ostatní = heterozygotní
		-	Stanovení titru klinicky významných nepravidelných protilátek není užitečné pro sledování tíže fetální anémie při dalších těhotenstvích, pokud se vyskytlo HON v předchozím těhotenství.
		-	1. zkumavka či sloupec = titr 1

* Individuálně může být klinicky významná i protilátka s nižší hodnotou titru, než je uvedeno. ** Uplatňuje se efekt imunitní suprese erytropoézy. Enzymový test pouze jako doplněk pro identifikaci protilátek

proLékaře.cz | 7.9.2025

4.1.1.2 Další vyšetření

4.1.1.2.1 Screening protilátek negativní nebo průkaz klinicky nevýznamných protilátek (D-pozitivní + D-negativní těhotné)

Termín	Test	Metoda a diagnostika (min. požadavky)	Komentář
28. týden (26.–30.)	AB0	Aglutinogeny. Monoklonální dg. séra anti-A, anti-B.	Kontrolní vyšetření. Není-li k dispozici údaj o krevní skupině, pak je nezbytné provést kompletní testování v rozsahu shodném se vstupním vyšetřením. U dalších těhotenství se neprovádí, jsou-li záznamy z předchozích těhotenství.
	D	1x monoklonální dg. sérum anti-D třídy IgM, které nedetekuje variantu D^{VI}.	Kontrolní vyšetření. Není-li k dispozici údaj o krevní skupině, pak je nezbytné provést kompletní testování v rozsahu shodném se vstupním vyšetřením. U dalších těhotenství se neprovádí, jsou-li záznamy z předchozích těhotenství.
	D^w	-	Nevyšetřuje se.
	Screening protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření.	Vzorek odebrat před podáním Ig anti-D. Screeningové dg. erytrocyty se nesmějí používat ve směsi. U pozitivity identifikace protilátek.
	Identifikace protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření.	Vyšetření komplementárního antigenu. U klinicky významných protilátek stanovení titru.

4.1.1.2.2 Prokázané anti-D, -c, -K, -E a u ostatních specifit pouze v případě těžkého HON

Termín	Test	Metoda a diagnostika (min. požadavky)	Komentář
4 týdny po vstupním vyšetření	AB0	Stejné jako u 4.1.1.2.1	Stejné jako u 4.1.1.2.1
	D		
	D^w	-	Nevyšetřuje se.
	Identifikace protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření.	Může se objevit další specifická protilátka. Vyšetření dalšího komplementárního antigenu. Každé **4 týdny**, pokud není jednoznačně prokázáno, že otec je pro daný antigen negativní.
	Stanovení titru protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření. Vyšetřovat paralelně s předchozím vzorkem.	
28. týden (26.–30.)	Identifikace protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření.	Může se objevit další specifická protilátka. Vyšetření dalšího komplementárního antigenu. Každé **4 týdny.**
	Stanovení titru protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření. Vyšetřovat paralelně s předchozím vzorkem.	Každé **2 týdny**, pokud není jednoznačně prokázáno, že otec je pro daný antigen negativní.

Po dosažení klinicky významného titru již dále titrování neprovádět, pokračovat ve sledování plodu jinými metodami (podle gynekologa, např. Dopplerova metoda pro měření krevního průtoku arteria cerebri media).
Významné jsou i zvýšení titru o > 2 stupně oproti minulému vyšetření nebo náhlý pokles titru o ≥ 3 stupně (v případě provedení vyšetření ve stejné laboratoři a stejnou metodou; výjimkou je průkaz anti-D po podání imunoglobulinu anti-D).
Nutná informace o profylaktickém podání imunoglobulinu anti-D.

4.1.1.2.3 Anti-D – odlišení aktivní a pasivní imunizace

Záznam o podání IgG anti-D	Výše titru	Postup
≤ 8 týdnů	≤ 2 (Zk) ≤ 8 (SlAgl)	Kontrolní stanovení titru za **4 týdny**. Výsledek: stejný nebo nižší titr, anti-D neprokazatelné, pak další titrování neprovádět. V opačném případě opakovat každé **4 týdny**.
NS	≥ 4 (Zk) ≥ 16 (SlAgl)	Kontrolní stanovení titru každé **4 týdny**, od 28. týdne každé **2 týdny**. Při vymizení protilátek či postupném poklesu titru není nutné další titrování.
Není záznam.	NS	

Pozn.: K odhalení protilátek potenciálně „maskovaných“ protilátkou anti-D je také vhodné použití panelů screeningových diagnostických erytrocytů s homozygotní expresí dalších klinicky významných antigenů.

proLékaře.cz | 7.9.2025

4.1.1.2.4 Průkaz klinicky významných protilátek jiných než anti-D, -c, -K, -E

Termín	Test	Metoda a diagnostika (min. požadavky)	Komentář
28. týden	AB0	Stejné jako u 4.1.1.2.1	Stejné jako u 4.1.1.2.1
	D		
	D^w	-	Nevyšetřuje se.
	Identifikace protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření.	Může se objevit další specifická protilátka. Vyšetření dalšího komplementárního antigenu. Každé **4 týdny**, pokud není jednoznačně prokázáno, že otec je pro daný antigen negativní.
	Stanovení titru protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření. Vyšetřovat paralelně s předchozím vzorkem.	

4.1.1.2.5 Ostatní případy

Těhotná	Termín	Test	Metoda a diagnostika	Komentář
D-negativní	Před profylaktickým podáním Ig anti-D	Screening protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření.	Doporučuje se.
Ostatní	Pro předtransfuzní vyšetření	AB0	Stejné jako u vstupního vyšetření.	
		D		Slabé D se nevyšetřuje
		Screening protilátek		

4.1.2 Vyšetření otce

Těhotenství s průkazem klinicky významných protilátek

Fenotyp otce (podle specifity protilátek).

Genotyp – **ne**. Jen v případě, že není možné genotypování plodu či je jeho výsledek nejasný.

Je-li otec pro daný antigen negativní, pak sledovat těhotnou podle 4.1.1.2.1.

Cave: otec je nejistý!

Ve zvlášť indikovaných případech (opakované potraty, nejasná etiologie či těžké HON při nezjištěných protilátkách): vyšetřit sérum/plazmu matky s erytrocyty otce.

4.1.3 Vyšetření plodu

Těhotenství s průkazem klinicky významných protilátek při dosažení klinicky významného titru a/nebo těžké HON v anamnéze + otec heterozygot pro daný antigen (je-li výsledek vyšetření otce k dispozici)

Termín	Test	Metoda a diagnostika (min. požadavky)	Komentář
-	AB0	Aglutinogeny 2x. 2 různé klony pro každé dg. sérum	Jen v případě kordocentézy prováděné u susp. anémie způsobené HON a před IUT.
-	D	2 monoklonální dg. séra anti-D třídy IgM s různými klony, která nedetekují variantu D^{VI}. Není vhodné dg. sérum anti-CDE.	
-	D^W	-	Nevyšetřuje se.
-	PAT	Sloupcová aglutinace či srovnatelně citlivá metoda.	Jen v případě kordocentézy prováděné u susp. anémie způsobené HON, před IUT.
15.–18. týden	Genotypování	QR-PCR. Z plazmy matky. Min. 2 exony *RHD* genu. Nutná kontrola proběhlé PCR reakce (např. gen beta-globinu). Nutno použít vnitřní kontrolu – min. SRY.	U klinicky významného titru anti-D, anti-c, anti-E. *RHD* genotypování. *RHCE* genotypování. Upřesnění exonů není zatím ukončeno. Vnitřní kontrola pro ženský plod není upřesněna. Využít univerzální markery fetální DNA. **Provést pouze, je-li vyšetření reálně dostupné.**

proLékaře.cz | 7.9.2025

4.1.4 Specifické postupy
4.1.4.1 Anti-K

Termín	Test	Metoda a diagnostika (min. požadavky)	Komentář
-	Fenotyp otce	Podle návodu výrobce.	Otec heterozygot, pak genotypování plodu.
20. týden	Genotypování plodu	Přednostně z plazmy matky. QR-PCR.	**Provést pouze, je-li vyšetření reálně dostupné.**
28. týden	Genotypování plodu	Přednostně z plazmy matky. QR-PCR.	V případě negativního výsledku ve 20. týdnu. **Provést pouze, je-li vyšetření reálně dostupné.**
V případě K-pozitivity plodu monitorovat plod jinými než imunohematologickými metodami u gynekologa.			
Většina případů tvorby anti-K u těhotných je způsobena předchozí transfuzí Kell-pozitivních erytrocytů. Proto se doporučuje podávat dívkám a ženám ve fertilním věku pouze Kell-negativní erytrocyty.			

4.1.4.2 Anti-C+D

Odlišit, zda se nejedná o protilátky anti-C+G, resp. anti-G. Těhotné anti-C+G či anti-G by měly podstoupit RhD-profylaxi. Rozdílné výše titrů či adsorpční a eluční testy umožní tyto směsi rozlišit.

4.2 Testování po porodu
4.2.1 Vyšetření matky

	Test	Metoda a diagnostika (min. požadavky)	Komentář
Pokud není spolehlivý předchozí výsledek. U předtransfuzního vyšetření.	AB0 D	Stejné jako u vstupního vyšetření.	-
-	D^w	-	Nevyšetřuje se.
U předtransfuzního vyšetření. Nebyl-li proveden screening protilátek ve 3. trimestru.	Screening protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření. U předtransfuzního vyšetření podle doporučených postupů.	U pozitivity provést identifikaci protilátek. Titrování protilátek se neprovádí.
	Identifikace protilátek	Stejné jako u vstupního vyšetření.	-
	Fenotypování	Podle návodu výrobce dg. séra.	Určení antigenu komplementárního ke specifické protilátce.
U matky se známými klinicky významnými protilátkami.		**Test** Identifikace protilátek	Rutinně se neprovádí.
U matky nejsou prokázány nepravidelné protilátky, ale novorozenec má klinické známky HON a není přítomna AB0 inkompatibilita matka-otec.		**Test** sérum/plazma matky s erytrocyty otce	V případě AB0 inkompatibility nelze použít sérum/plazmu matky (přítomnost anti-A, resp. anti-B).

Při podezření na HON je vhodné do laboratoře zasílat i vzorek matky. Myslet na odebrání vzorku a transport vzorku zároveň s transportem novorozence do jiného ZZ.

proLékaře.cz | 7.9.2025

4.2.2 Vyšetření novorozence

Matka/HON	Test	Metoda a diagnostika (min. požadavky)	Komentář
Rutinní imunohematologická vyšetření u všech novorozenců se nedoporučují. Upřednostňuje se testování z pupečníkové krve.			
Matka D-negativní.	D	Stejné jako u vstupního vyšetření.	D^w se nevyšetřuje
Matka s potenciálně klinicky významnými protilátkami.	AB0	Aglutinogeny 2x. 2 různé klony pro každé dg. sérum	Kvůli případné transfuzi novorozence.
	D	Stejné jako u vstupního vyšetření.	
	PAT	Sloupcová aglutinace nebo srovnatelně citlivá metoda.	-
	Eluční test	Kyselá eluce. Tepelná eluce. Eluát: sloupcová aglutinace nebo srovnatelně citlivá metoda. Dg. erytrocyty: nesou korespondující antigen/y	V případě pozitivity PAT. Neprovádí se, je-li jednoznačně identifikována protilátka u matky. Vhodné u kombinace protilátek.
U matky nejsou prokázány nepravidelné protilátky, ale novorozenec má klinické známky HON. (susp. protilátky proti antigenu s nízkou frekvencí výskytu)	AB0	Aglutinogeny 2x. 2 různé klony pro každé dg. sérum	-
	D	Stejné jako u vstupního vyšetření.	D^w se nevyšetřuje
	PAT	Sloupcová aglutinace nebo srovnatelně citlivá metoda.	U pozitivity PAT lze provést eluční test a následně test eluátu novorozence s erytrocyty otce.
Suspektní AB0-HON (u matek s krevní skupinou 0).	AB0	Aglutinogeny 2x. 2 různé klony pro každé dg. sérum	Vhodné myslet na AB0-HON, pokud nejsou u matky s krevní skupinou 0 prokázány nepravidelné protilátky, ale novorozenec má klinické známky HON.
	D	Stejné jako u vstupního vyšetření.	Kvůli případné transfuzi novorozence.
	PAT	Sloupcová aglutinace nebo srovnatelně citlivá metoda.	-
	Eluční test	Kyselá eluce. Tepelná eluce. Eluát: sloupcová aglutinace nebo srovnatelně citlivá metoda. Dg. erytrocyty A_1, B	U pozitivity PAT. Jen v případě nedostupného či nejasného výsledku vyšetření imunních protilátek anti-A, -B
	Vyšetření imunních protilátek anti-A, -B (třídy IgG)	LISS-NAT. Sloupcová aglutinace nebo srovnatelně citlivá metoda. Dg. erytrocyty A_1, B, Kontrola: dg. erytrocyty 0	Vyšetření imunních protilátek má smysl pouze v případě AB0 inkompatibility matka-novorozenec.
U matky nebylo provedeno vyšetření krevní skupiny AB0, D nebo výsledek není znám.	AB0	Aglutinogeny 2x. 2 různé klony pro každé dg. sérum	Kvůli případné transfuzi novorozence.
	D	Stejné jako u vstupního vyšetření.	
	Vyšetření imunních protilátek anti-A, -B (třídy IgG)	U krevní skupiny novorozence A, B a AB při podezření na HON.	-
U matky nebyl proveden screening protilátek nebo výsledek není znám a novorozenec má klinické známky HON.	Screening protilátek	Stejné jako vstupní vyšetření.	U pozitivity screeningu protilátek provést identifikaci protilátek.
	Identifikace protilátek	Stejné jako vstupní vyšetření.	-
	PAT	Sloupcová aglutinace nebo srovnatelně citlivá metoda.	U pozitivity PAT provést eluční test s identifikací protilátek v eluátu.

proLékaře.cz | 7.9.2025

Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP č. STL2010_06 ze dne 1. 3. 2010 verze 2 (2010_04)

IMUNOHEMATOLOGICKÁ VYŠETŘENÍ V TĚHOTENSTVÍ A PO PORODU

Úvod

Účel doporučení

Účelem tohoto doporučení je definovat použití imunohematologických testů v těhotenství a po porodu. Cílem algoritmu testování je prevence hemolytického onemocnění plodu a novorozence (HON).

Vyhledání literatury bylo provedeno v roce 2008–2009 v databázi Medline (PubMed, Medscape) a databázi Cochrane Library za posledních 20 let podle klíčových slov anti-D, profylaxe, protilátky v těhotenství, hemolytické onemocnění novorozence.

Zahrnuty byly i práce publikované v českých časopisech a ve sbornících odborných akcí lékařských společností ČLS JEP a také znalosti a zkušenosti expertů.

Práce byly řazeny podle úrovně důkazů. Kritéria pro stanovení úrovně důkazů a stupně doporučení byla převzata z webových stránek the Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ) (http:www.ahrq.gov).

Těžkým průběhem hemolytického onemocnění plodu/novorozence (dále těžké HON) se pro účely tohoto doporučení rozumí úmrtí plodu, provedení intrauterinní transfuze plodu (IUT), výměnné transfuze novorozence a transfuze erytrocytů během prvního týdne života novorozence z důvodu anémie způsobené HON. V ČR se takových případů vyskytne v průměru 25 ročně (1).

1. Účel prenatálního a postnatálního imunohematologického vyšetření

Účelem je určení potenciálně rizikových těhotných z hlediska HON. Jasnou rizikovou skupinou jsou D-negativní ženy. Dále ženy s potenciálně klinicky významnými aloprotilátkami proti erytrocytovým antigenům. Vyšetření má pomoci při diagnóze a dalším postupu u HON.

2. Odběr krevních vzorků a vyplnění žádanky

Pro správný výsledek imunohematologických testů je zásadní správná identifikace těhotné, novorozence či vyšetřovaného otce, správný odběr, označení a transport vzorku, úplné a správné údaje v žádance.

Krevní vzorek: zkumavku je nutné označit před odběrem krevního vzorku. Po nalepení štítku se má ověřit identifikace jedince dotazem, event. ze zdravotnické dokumentace. Minimálně se vyplní jméno, příjmení a číslo pojištěnce, datum odběru vzorku. U plodu se uvedou identifikační údaje těhotné a označení „plod“. V případě, že u novorozence není známo jeho křestní jméno a/nebo číslo pojištěnce, je nutné vygenerovat číslo pojištěnce tak, aby se vždy použilo unikátní číslo.

Pro imunohematologické testy se u těhotné či matky používá srážlivá či nesrážlivá žilní krev (podle požadavku laboratoře), u plodu krev z umbilikální žíly, u novorozence pupečníková krev, event. krev kapilární.

Žádanka: má obsahovat jméno, příjmení a číslo pojištěnce; datum požadavku; diagnózu; zdravotní pojišťovnu (nejedná-li se o samoplátce, cizince a další bez pojištění); informaci, zda se jedná o první či opakované těhotenství (např. pořadí); týden těhotenství (ev. termín porodu); transfuzní anamnézu; informaci o dříve zjištěných protilátkách (uvést specifitu) event. HON; informaci o profylaktickém podání specifického imunoglobulinu anti-D (anti-D Ig) - datum aplikace a dávku; identifikaci žadatele (ISO 15189).

Doporučení 1.
Krevní vzorky by měly splňovat požadavky na správnou laboratorní práci (ISO 15189).
Doporučení 2.
Vzorky se mají odebrat až po označení zkumavky štítkem a po ověření identity odebírané osoby (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

proLékaře.cz | 7.9.2025

3. Klinická významnost antierytrocytových protilátek

HON mohou teoreticky způsobovat jakékoliv antierytrocytové alogenní 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-c (3,5 %), anti-K (10 %) a anti-E (2-7). Protilátky anti-c mohou způsobit opožděnou anémii novorozence (6).

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, Tj^a, -Yt^a, -LW, -Jr^a atd.), 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) (3, 5, 8-19).

Mezi klinicky nevýznamné protilátky z hlediska HON se řadí 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 (6, 20-23).

Protilátky stejné specifity (a/nebo síly) se nechovají in vivo vždy stejně, efektorové buňky plodu se individuálně liší, navíc u matky či plodu mohou být přítomny blokující faktory, které zmírňují destrukci erytrocytů plodu (4).

Protilátky, prokazatelné u těhotných, jsou často následkem předchozí transfuze (5), nejčastěji protilátky anti-c, -K, -Fy^a (5).

Doporučení 3.
Klinicky významné z hlediska těžkého HON jsou především protilátky specifity anti-D, -c, -K, -E, které vyžadují „přísnější“ sledování (úroveň důkazů III, stupeň doporučení B).

4. Imunohematologické testování během těhotenství

4.1 Vyšetření těhotné

4.1.1 Vstupní vyšetření

Iunohematologické vyšetření se provádí ve 12. týdnu (10.–16. týden) (4, 6, 23).

Toto vyšetření má obsahovat určení krevní skupiny v systému AB0, stanovení antigenu D, dále vyšetření nepravidelných protilátek (4–6, 23).

4.1.1.1 AB0

Stanovení krevní skupiny v systému AB0 slouží především k identifikaci těhotné. Je také součástí předtransfuzního vyšetření. Výsledek musí souhlasit se záznamy a jakékoliv diskrepance je nutné vyšetřit a vyřešit. Vyšetření podskupin není přínosné.

Metody a diagnostika

Vyšetřují se aglutinogeny i aglutininy. Minimálně se požaduje testování pomocí monoklonálních diagnostických sér anti-A a anti-B a diagnostických erytrocytů A_1 a B. Diagnostické sérum anti-B nemá reagovat se získanou krevní skupinou B (24, 25).

U opakovaných/dalších těhotenství, jsou-li k dispozici záznamy o krevní skupině těhotné, stačí jen kontrolní vyšetření aglutinogenů.

Kontroly

Provádí se minimálně denní kontrola jakosti s použitím erytrocytů se známou krevní skupinou 0, A_1 a B (25).

Doporučení 4.
Krevní skupina AB0 se vyšetřuje na začátku těhotenství u všech těhotných (úroveň důkazů III, stupeň doporučení B).
Vstupní vyšetření má být kompletní (aglutinogeny+aglutininy), u opakovaných těhotenství, je-li k dispozici záznam, stačí kontrolní vyšetření aglutinogenů (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

4.1.1.2 Antigen D

Vyšetření antigenu D určuje skupinu žen (D-negativních), které potřebují profylaxi anti-D (6).

Vyšetření slabého antigenu D (D^W) pomocí NAT se nepovažuje za přínosné (6, 23).

Metody a diagnostika

Použijí se dvě monoklonální diagnostická séra anti-D třídy IgM s různými klony, která nedetekují variantu D^{VI}. U opakovaných/dalších těhotenství, jsou-li k dispozici záznamy o krevní skupině těhotné, stačí jen kontrolní vyšetření jedním výše zmíněným diagnostickým sérem anti-D. Není vhodné používat diagnostické sérum anti-CDE (6, 24). Na slabý antigen D či D variantu je vhodné myslet u:

- slabší reakce obou anti-D diagnostik (2+ a slabší)
- zcela diskrepantních reakcí použitých diagnostických sér (pozitivní x negativní)
- z rozdílu v síle reakcí obou anti-D (o 2+)
- nečekaného nálezu anti-D imunizace bez autoreakce u osoby se zdánlivě normálním D antigenem
- diskrepance mezi anamnestickým údajem a současným vyšetřením.

V těchto případech je vhodné stanovit či vyloučit variantu antigenu D. Do té doby a ve sporných případech je vhodné klasifikovat danou těhotnou jako D-negativní. Je vhodné doporučení vyšetřující laboratoře, kdy s ohledem na varianty antigenu D či přítomnost slabého antigenu D provádět anti-D profylaxi.

Kontroly

Provádí se minimálně denní kontrola jakosti s použitím D-pozitivních a D-negativních erytrocytů (25).

V případě doporučení výrobce se provádí testování s kontrolním diagnostikem bez specifické anti-D aktivity (Rh kontrola) k vyloučení falešně pozitivních výsledků.

Doporučení 5.
Antigen D se vyšetřuje na začátku těhotenství u všech těhotných. (Úroveň důkazů III, stupeň doporučení B). Slabý antigen D (D^w) se nevyšetřuje (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

4.1.1.3 Screening nepravidelných aloimunních antierytrocytových protilátek

Přibližně u 1 % těhotných lze prokázat klinicky vý-

proLékaře.cz | 7.9.2025

znamné nepravidelné aloimunní antierytrocytové protilátky (dále jen „nepravidelné protilátky“) (26).

Screening nepravidelných protilátek umožňuje detekovat klinicky významné protilátky, které mohou ohrozit plod a/nebo novorozence (6).

Vyšetření nepravidelných protilátek má význam nejen u D-negativních žen, ale i u žen D-pozitivních, neboť se mohou u HON klinicky uplatňovat i jiné specifické protilátky než anti-D (viz výše) (8) a D-pozitivní těhotné mohou tvořit protilátky jiné než anti-D stejně pravděpodobně jako D-negativní těhotné (27).

Screening nepravidelných aloimunních protilátek je významný i vzhledem k možné transfuzi erytrocytů (6).

Metody a diagnostika

Typ testu

Screeningová metoda má obsahovat nepřímý antiglobulinový test za použití erytrocytů resuspendovaných v roztoku o nízké iontové síle (LISS-NAT anti-IgG+anti-C3d) při 37 °C (4, 6, 8) či jinou srovnatelně citlivou metodu. Za vhodné se považují zkumavkové testy, sloupcová aglutinace, testy využívající pevnou fázi (28).

Provádění enzymových testů neprokázalo jejich význam pro prognózu HON (23, 29), přesto je vhodné je provést u zkumavkových testů, které jsou oproti ostatním metodám méně citlivé.

Diagnostické erytrocyty

Doporučuje se použití panelu 3 diagnostických erytrocytů s minimálním zastoupením následujících antigenů: C, C^w, c, D, E, e, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s, M, N, Le^a (6). Antigeny Fy^b, N a Le^a jsou zařazeny spíše z důvodů možné transfuze. Jedny screeningové diagnostické erytrocyty by měly mít fenotyp DCe/DCe (R_1R_1), a jedny fenotyp DcE/DcE (R_2R_2). Měly by tu být v homozygotním zastoupení antigeny Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s (6).

Screeningové diagnostické erytrocyty se nesmějí používat ve směsi (6).

Kontroly

Provádí se denní kontrola jakosti s použitím kontrolního séra se známou aloprotilátkou (25).

Doporučení 6.
Vstupní screening nepravidelných protilátek se provádí na začátku těhotenství u všech těhotných a těhotenství (úroveň důkazů III, stupeň doporučení B). Základním testem je LISS-NAT při 37 ºC (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

4.1.1.4 Identifikace nepravidelných aloimunních antierytrocytových protilátek

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

Informace z laboratoře pro ošetřujícího lékaře by měla obsahovat vyhodnocení klinické významnosti protilátky vzhledem k HON a transfuzi (6).

Metody a diagnostika

Typ testu

Používá se LISS-NAT. Enzymové testy včetně enzymového LISS-NAT mohou být přínosné v případě obtížně určitelné specifity nepravidelné protilátky v LISS-NAT.

Diagnostické erytrocyty

Měl by se použít panel minimálně osmi diagnostických erytrocytů krevní skupiny 0. Minimálně jednou má být zastoupen fenotyp R_1R_1 (DCe/DCe) a $R_1^wR_1$ (DCe/DCe C^w+), zároveň by měly oboje tyto diagnostické erytrocyty exprimovat antigeny K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, M, S, s (6). V panelu by měly být dále zastoupeny nejméně jedny erytrocyty s fenotypem R_2R_2 (DcE/DcE), r´r (D-negativní Ccee) a r´´r (D-negativní ccEe) a nejméně dvakrát fenotyp rr (D-negativní, ccee). U fenotypu rr by měly být zastoupeny fenotypy K+, K-, Jk(a+b-), Jk(a-b+), S+s-, S-s+, Fy(a+b-), Fy(a-b+) (6).

Odlišné požadavky na panel diagnostických erytrocytů mohou být u těhotných, které před odběrem vzorku podstoupily anti-D profylaxi nebo byly v minulosti imunizovány a mají vlastní protilátky anti-D (existují panely diagnostických erytrocytů složené z většího počtu RhD negativních diagnostických erytrocytů).

4.1.1.5 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.

4.1.1.6 Stanovení titru (titrování) nepravidelných protilátek

Stanovení titru klinicky významných specifických nepravidelných protilátek proti erytrocytům u těhotných žen slouží pro identifikaci těhotenství, která jsou v riziku HON a k predikci plodů/novorozenců, které/kteří budou pravděpodobně vyžadovat léčbu HON (6).

Titrování se nejlépe uplatňuje jako screeningový test pro rozhodování, kdy začít monitorovat HON jinou než imunohematologickou metodou (23, 29-31).

Titrování klinicky významných nepravidelných protilátek není užitečné pro sledování tíže fetální anémie při dalších těhotenstvích, pokud se vyskytlo HON v předchozím těhotenství (23, 32). V těchto případech je vhodné určit genotyp plodu, není-li otec homozygot pro daný antigen a antigen-pozitivní plod sledovat jinými než imunohematologickými metodami (viz výše).

Za klinicky významný titr u nepravidelných protilátek u anti-D, -C, -E se považuje titr **≥ 32** v NAT (zkumavkovou metodou) nebo titr **≥ 128** v LISS-NAT metodou sloupcové aglutinace; u ostatních protilátek titr **≥ 64** zkumavkovou metodou (4, 6, 7, 9, 33-38), respektive **≥ 128** metodou sloupcové aglutinace. Hodnocení klinicky významného titru závisí na anamnestických údajích z předchozího těhotenství (39). Individuálně může být klinicky významná i protilátka s nižší hodnotou titru, než je uvedeno výše.

Změna titru o více než dva stupně se též považuje za signifikantní (4).

Naopak náhlý pokles titru o více než 3 stupně může být známkou těžkého postižení plodu i známkou intrauterinního exitu plodu (40).

proLékaře.cz | 7.9.2025

Titrování se neprovádí u protilátek jiné třídy než IgG, při dosažení kritického titru, při rozhodnutí monitorovat suspektní HON jinou metodou, po porodu (23).

U protilátek anti-K je význam výše titru omezený (uplatňuje se efekt imunitní suprese erytropoézy), titrování by se mělo provést minimálně při prvním záchytu protilátky anti-K (6). Za klinicky významný titr se považuje titr **4**.

U směsí klinicky významných protilátek je stanovení titru jednotlivých protilátek vhodné. Při zjištění významné hodnoty titru jedné z protilátek se pokračuje v monitorování plodu neimunohematologickými metodami. U nízkých titrů bez významné dynamiky růstu mohou invazivní vyšetření přinést zbytečná rizika.

Metody a diagnostika

Doporučuje se provádět zkumavkový NAT (bez potenciátoru) nebo LISS-NAT metodou sloupcové aglutinace. Pro srovnatelnost titrů je důležité dodržovat tato výchozí kritéria:

- hodnocení výše titru v první zkumavce či ve sloupci: titr 1,
- ředění pomocí fyziologického roztoku,
- fenotyp diagnostických erytrocytů (viz níže).

Pro sledování dynamiky titru je vhodné vyšetřovaný vzorek séra zmrazit pro další kontrolu (skladovat při teplotě minimálně -18 až -20 ºC). Následující titrování by se mělo provádět paralelně ze vzorku předchozího a současného (4).

Diagnostické erytrocyty

Ve světě není shoda v tom, zda k titrování použít diagnostické erytrocyty s heterozygotním či homozygotním zastoupením daného antigenu. Při použití obou typů se výše titru liší. Jedná se tedy o konsensuální doporučení.

Pro titrování protilátek anti-D se doporučují diagnostické erytrocyty s fenotypem DccEE (R_2R_2) vzhledem k uniformní expresi antigenu D u jedinců (23). Pro titrování anti-c, anti-E, anti-cE jsou vhodné erytrocyty s heterozygotním zastoupením daných antigenů, nejsou-li dostupné, pak erytrocyty s fenotypem DccEE (R_2R_2). Pro titrování anti-C, anti-e jsou vhodné erytrocyty s heterozygotním zastoupením daných antigenů, nejsou-li dostupné, pak erytrocyty s fenotypem DCCee.

Pro potenciálně významné protilátky jiné specifity než Rh je vhodné použít diagnostické erytrocyty s heterozygotním zastoupením daného antigenu (6, 41).

Jsou-li v séru těhotné 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.

Doporučení 7.
Stanovení titru se provádí u klinicky významných protilátek. Při dosažení klinicky významného titru nemá další sledování titru význam (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

4.1.1.7 Určování třídy a podtřídy Ig

Určování podtříd IgG není praktické s výjimkou vzácných případů protilátek proti antigenům s vysokou frekvencí výskytu (HFA), kdy se zvažuje nutnost transportu erytrocytových transfuzních přípravků ze zahraničí pro případnou transfuzi.

4.1.2 Další vyšetření

4.1.2.1 Všechny těhotné, screening protilátek negativní nebo průkaz klinicky nevýznamných protilátek

Další vzorek je vhodné imunohematologicky vyšetřit ve 28. týdnu těhotenství (26.–30. týdnu) (5, 6, 8, 23, 42, 43). Další testování není nutné (5, 6).

4.1.2.1.1 AB0, antigen D

Toto vyšetření se provádí maximálně 2x během prvního těhotenství. V dalších těhotenstvích se pak vstupní vyšetření kontrolují se záznamy.

Metody a diagnostika

Ke kontrole krevní skupiny AB0 a antigenu D stačí stanovení antigenů pomocí monoklonálních diagnostických sér anti-A, anti-B a anti-D (třídy IgM bez záchytu varianty D^{VI}) například sklíčkovou metodou, pouze v případě nesrovnalostí doplněné stanovením aglutininů. Pokud je vzorek odesílán do jiné laboratoře než vzorek předešlý, je vhodná informace gynekologa o již zjištěné krevní skupině těhotné. Není-li k dispozici údaj o krevní skupině, pak je nezbytné provést kompletní testování v rozsahu shodném se vstupním vyšetřením.

4.1.2.1.2 Screening nepravidelných protilátek

Opětovné vyšetření provést u D-negativních i u D-pozitivních těhotných. Lze tak odhalit tvořící se protilátky anti-D, ale i eventuální klinicky významné protilátky jiné specifity (6, 42). Toto vyšetření může upozornit na možné problémy při transfuzi (6).

Screening protilátek je jednoznačně vhodný u těhotných s klinicky významnými protilátkami, HON, transfuzí erytrocytů či těžkými porody v anamnéze (23).

Krevní vzorek je vhodné odebrat před případným profylaktickým podáním anti-D.

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

Metody a diagnostika

Postup je popsán v odstavci „screening nepravidelných aloimunních antierytrocytových protilátek“.

Doporučení 8.
U všech těhotných s negativním výsledkem vstupního vyšetření nepravidelných protilátek nebo s nálezem klinicky nevýznamných protilátek se provádí kontrolní vyšetření AB0, D a screening protilátek ve 28. (±2) týdnu těhotenství. Vzorek odebrat před případným profylaktickým podáním anti-D IgG (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

4.1.2.2 Průkaz klinicky významných protilátek při vstupním vyšetření

Slouží k určení případné další protilátkové specifity a k monitorování účinnosti protilátek pro identifikaci těhotenství s rizikem HON a předpovědi, které plody nebo novorozenci budou pravděpodobně potřebovat léčbu HON (6).

proLékaře.cz | 7.9.2025

Pokud není jednoznačně prokázáno, že otec je pro daný antigen negativní, provádí se kontrolní vyšetření u protilátek anti-D, -c, -K, -E a u ostatních specifit pouze v případě těžkého HON v anamnéze **za 4 týdny** od záchytu protilátky, dále se pokračuje ve vyšetřování 1x za 4 týdny, od 28. (±2) týdne 1x za 14 dní, **dokud** není dosaženo klinicky významného titru (5, 6).

Kromě výše zmíněných případů se ostatní klinicky významné specifity zkontrolují až ve **28. (±2) týdnu** včetně stanovení titru (6).

4.1.2.2.1 AB0, antigen D

Provádí se pouze jako kontrolní vyšetření (postup jako výše). Stačí provést pouze 1x.

4.1.2.2.2 Identifikace a titrování nepravidelných protilátek

Postup jako výše.

Doporučení 9.
V případě průkazu protilátek anti-D, -c, -K, -E (pokud není jednoznačně prokázáno, že otec je pro daný antigen negativní) a u ostatních klinicky významných protilátek v případě těžkého HON v anamnéze (pokud není jednoznačně prokázáno, že otec je pro daný antigen negativní) se provádí kontrolní stanovení titru protilátek za 4 týdny, opakuje se každé 4 týdny do 28.(±2) týdne a pak 1x za 14 dní (max. do dosažení klinicky významného titru). U ostatních klinicky významných protilátek a negativní anamnézy se kontrolní vyšetření provádí ve 28.(±2) týdnu (úroveň důkazů IIb, stupeň doporučení B).

4.1.2.3 Specifické postupy

Anti-K. Je vhodné vyšetřit otce. Je-li heterozygot, vyšetřit plod (nejlépe genotypování fetální DNA) a v případě K-pozitivity plodu monitorovat plod pomocí ultrazvuku, případně vyšetřit vzorek získaný kordocentézou (23). Většina případů tvorby anti-K u těhotných je způsobena předchozí transfuzí Kell-pozitivních erytrocytů. Proto se doporučuje podávat dívkám a ženám ve fertilním věku pouze Kell-negativní erytrocyty (6).

Anti-C+D. Je potřeba odlišit, zda se nejedná o protilátky anti-C+G, resp. anti-G. Těhotné anti-C+G či anti-G by měly podstoupit Rh-profylaxi (6, 23, 44, 45). Rozdílné výše titrů či adsorpční a eluční testy umožní tyto směsi rozlišit (6, 23, 45).

AB0 inkompatibilita

U AB0 inkompatibility neexistuje dostupný test k přesné prenatální předpovědi HON (5, 8). Nemá smysl identifikovat matky s vysokými titry anti-A či anti-B, nemají žádný význam v předpovědi incidence AB0 HON (5). Sledování dynamiky titrů imunních protilátek anti-A, -B se neprovádí.

Testování po profylaktickém podání imunoglobulinu anti-D

Důležitá je informace od ošetřujícího lékaře. Podání imunoglobulinu (Ig) anti-D by mělo být uváděno v dokumentaci těhotné včetně žádanky o imunohematologické vyšetření.

Po podání Ig anti-D i.m. se dosáhne sérologicky detekovatelných hladin protilátek anti-D rychle, s vrcholem za 3–7 dní po podání; poločas je zhruba 3 týdny (46). Pasivní protilátky anti-D lze pomocí NAT detekovat 8 i více týdnů, citlivějšími metodami až 12 týdnů, ve výjimečných případech několik měsíců (6).

Imunní anti-D jsou detekovatelné zhruba 4 týdny po expozici, s vrcholem po 6–10 týdnech (47). Titry či koncentrace imunní protilátky obvykle zůstávají stabilní nebo se zvyšují po další stimulaci.

Protilátky anti-D po profylaxi často nereagují se všemi diagnostickými D-pozitivními erytrocyty, jejich titry jsou obvykle nízké (titr 2 ve zkumavkovém testu), koncentrace obvykle do 1 IU/ml (6), často jsou zachytávány pouze v enzymovém testu, pokud se provádí.

Je-li záznam o podání Ig anti-D v posledních 8 týdnech a výše titru je nízká (≤ 2 ve zkumavkovém testu, ≤ 8 sloupcovou aglutinací), provést kontrolní stanovení titru za 4 týdny. V případě stejné výše titru, jeho poklesu či neprokazatelnosti protilátky další kontroly neprovádět.

Není-li záznam o profylaxi a/nebo je stanoven titr ≥ 4 ve zkumavkovém testu (≥ 16sloupcovou aglutinací), pak se doporučuje stanovovat titr anti-D každé 4 týdny do 28. týdne těhotenství a každé 2 týdny po 28. týdnu. Pokud protilátky anti-D přestanou být detekovatelné v NAT nebo titr protilátek klesá, jedná se pravděpodobně o profylaktické anti-D; stabilní či zvyšující se koncentrace indikuje imunní protilátky anti-D (6). V případě profylaktických anti-D není nutné provádět další titrování.

K odhalení protilátek potenciálně „maskovaných“ protilátkou anti-D je také vhodné použití panelů screeningových diagnostických erytrocytů s homozygotní expresí dalších klinicky významných antigenů.

4.2 Imunohematologická laboratorní testování 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, -E, se doporučuje vyšetřit přítomnost senzibilizujícího antigenu u otce a zda je otec pro daný antigen homozygot či heterozygot a tím určit pravděpodobnost, s jakou bude mít plod daný antigen (6, 48, 49, 50, 51). Je-li otec pro daný antigen negativní, pak se těhotná sleduje, jakoby neměla žádné zjištěné protilátky (viz 4.1.2.1) (6).

V případě antigenu D lze určením Rh fenotypu stanovit pouze pravděpodobnost homozygocie otce. Určení je založeno na znalostech frekvence genových komplexů v populaci, např. u DCCee fenotypu se dá z minimálně 90 % předpokládat homozygocie v genu pro antigen D, o něco méně je tomu u fenotypů DccEE a CcDEe. Naopak u fenotypu Dccee je malý předpoklad homozygocie v genu pro antigen D (52).

Přesnějším postupem je genotypování metodou PCR, které je však finančně nákladné. Význam by mohlo mít u aloimunizovaných těhotenství s protilátkou anti-D, kdy není dostupné genotypování plodu či je jeho výsledek nejasný. V tomto případě lze určit zygozitu (haplotyp), např. zda cDe fenotyp je genotyp cDe/cDe nebo cDe/cde apod. (3).

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

proLékaře.cz | 7.9.2025

Ve zvlášť indikovaných případech (opakované potraty, nejasná etiologie či těžké HON při nezjištěných protilátkách) lze provést vyšetření séra či plazmy matky a erytrocytů otce k vyloučení imunologické reakce proti vzácně se vyskytujícímu antigenu či antigenu, kde se vyšetření komplementární protilátky rutinně neprovádí (53).

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

Doporučení 10.
V případě průkazu klinicky významných protilátek se provádí u otce testování homo- či heterozygocie pro daný komplementární antigen. Doporučuje se přednostně používat sérologické testy. U anti-D aloimunizace je vhodné genotypování otce pouze v případě, je-li genotypování plodu z plazmy matky nedostupné či s nejasným výsledkem, event. v případě těžkého HON v anamnéze před rozhodnutéím o dalším těhotenství (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

4.3 Imunohematologická laboratorní testování plodu

Odběr krevního vzorku plodu (kordocentéza) přináší vysoké riziko FMH a tím další aloimunizace matky (spojené se zvýšením titru protilátek – v cca 30 %) (4, 54, 55), navíc se uvádí 1–3 % potratů (4, 56).

4.3.1 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, respektive antigenu korespondujícího se zjištěnou klinicky významnou protilátkou těhotné umožňuje průkaz inkompatibility matka-plod (9).

D^w se u HON prakticky neuplatňuje. Poslední případy byly v literatuře zaznamenány před více než 40 lety, což bylo nejspíše způsobeno horší senzitivitou tehdejších diagnostických sér (52, 57).

Metody a diagnostika

Dvojí vyšetření aglutinogenů diagnostickými séry anti-A, -B, -AB. Použít dva různé klony pro každý typ diagnostického séra. Vyšetření aglutinogenů se neprovádí. Vyšetření podskupin A1, A2 se neprovádí.

4.3.2 Přímý antiglobulinový test (PAT)

Význam vyšetření PAT u plodu je sporný. Provádění eluce a identifikace protilátky v eluátu (58) nepřináší další informaci pro diagnózu či sledování HON.

Doporučení 11.
AB0, D, PAT event. další antigeny vyšetřovat u plodu pouze v případě, že se vzorek fetální krve odebírá z jiných důvodů, např. z důvodu podezření na těžkou anémii či v rámci předtransfuzního vyšetření u IUT. D^W se nevyšetřuje (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

4.3.3 Stanovení genotypu

Stanovení genotypu lze uplatnit u systému Rh (*D*, *c*, *E*), Kell (*K*), Kidd (Jk^a) a Duffy (Fy^a) (3, 23). Největší význam má genotypování pro gen *RHD*. U specifit, kde je výskyt HON vzácný, je význam genotypování sporný.

Indikací ke genotypování plodu je těhotenství s průkazem klinicky významných protilátek a/nebo těžké HON v anamnéze a zároveň je otec heterozygot pro daný antigen (je-li výsledek vyšetření otce k dispozici) (6, 23, 50, 59–61), event. i před plánovanou invazivní metodou u RhD-negativní těhotné (59–61).

V současné době lze pro ČR doporučit genotypování RHD, RHCE v případě průkazu klinicky významného titru protilátek anti-D, anti-c, anti-E (z plazmy) a KELL (z choriových klků, amniocytů nebo plazmy) v případě průkazu protilátek anti-K.

V případě provádění genotypování vždy provést u D-negativních těhotných vyšetření slabého D. U žen se slabým D se genotypování plodu z plazmy matky neprovádí nebo po konzultaci s referenční laboratoří.

Metody a diagnostika

Genotypování plodu z fetální DNA získané ze vzorku plazmy těhotné metodou PCR v reálném čase (real-time PCR; QT-PCR) s využitím specifických primerů a hydrolizačních sond (62-66).

Vzhledem k tomu, že časný odběr vzorku je zatížen malou výtěžností DNA plodu a invazivní vyšetřovací metody či intrauterinní transfuze se provádějí nejdříve od 16.–18. týdne (58, 67-69), je smysluplné provádět první vyšetření mezi 15.–18. týdnem těhotenství (62, 63, 65, 69).

Pro stanovení **genotypu *RhD*** plodu z plazmy těhotné je nutné provést amplifikaci alespoň dvou různých oblastí *RHD* genu vzhledem k variantám *RhD* genu (61, 70, 71, 72, 73). Používá se průkaz minimálně 2 exonů, optimální kombinace není jednoznačně stanovena; např. exon 7 a 10 (50, 61, 63); 4, 5 a 10 (60, 62, 74); 5 a 10 (69); 5 a 7 (75, 76); 4 a 7 (77).

Pro ***RHCE* genotypování** plodu lze použít systém specifických primerů a hydrolizačních sond pro oblast exonu 2 (alela *C*) a exonu 5 (alela *E*) *RHCE* genu (65, 78), pro detekci alely *c* genu RHCE systém navržený pro Ser103Pro RhC/Rhc polymorfismus (66, 78).

Pro **Kell genotypování** lze použít exon 6, SNP se těžko rozlišuje, alelicky specifické primery mohou amplifikovat chybnou alelu (79). Někdy může dojít k amplifikaci mateřské alely *k* (79).

Doporučuje se provádět genotypování *Kell* ve 20. týdnu, v případě výsledku *Kell* negativní, opakovat ve 28. týdnu (79). Je nutné dostatečné množství DNA, v případě malého množství hrozí riziko falešných negativit.

Kontroly

Je nutná kontrola proběhlé PCR reakce a vnitřní kontrola testu k detekci fetální DNA.

Ke kontrole proběhlé PCR reakce lze použít gen beta-globinu (63, 64, 76).

Jako vnitřní kontrola testu slouží lokus *SRY* (specifický pro chromozom Y), avšak pouze u mužských plodů (50, 62, 80, 81). V současnosti jsou k dispozici univerzální markery fetální DNA – hypermetylovaný promotor nádorového supresorového genu RASSF1A a marker SERPINB5, prokazatelné v mateřské plazmě (82, 83).

proLékaře.cz | 7.9.2025

Pro *RHD* a *RHCE* genotypování lze použít pozitivní kontroly (pozitivní amplifikace *RHD* a *RHCE* genu u RhD, RhC a RhE pozitivního jedince) a negativní kontroly (nepřítomnost amplifikace *RHD* a *RHCE* genu na reakční směsi bez templátu a u RhD, RhC a RhE negativního jedince) (65).

Doporučení 12.
RHD, RHCE genotypování plodu je vhodné provádět z plazmy matky v 15.–18. týdnu těhotenství metodou QT-PCR v případě průkazu klinicky významného titru protilátek anti-D, anti-c, anti-E. KELL genotypování provádět přednostně z plazmy matky ve 20. týdnu a v případě negativního výsledku opakovat ve 28. týdnu v případě průkazu protilátek anti-K (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C). Doporučení platí pouze v případě reálné dostupnosti metody.

5. Testování po porodu

5.1 Vyšetření matky

5.1.1 AB0, D

Vyšetření má smysl pouze v případě, že není k dispozici spolehlivý předchozí výsledek vyšetření nebo u předtransfuzního vyšetření (6, 23).

Metody a diagnostika

Provést testování v rozsahu vstupního vyšetření (viz výše). Stejně tak v případě diskrepantních výsledků, samozřejmě zároveň se zkoumáním možné záměny vzorku.

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

5.1.2 Screening nepravidelných protilátek

Rutinní screening nepravidelných protilátek se nedoporučuje, protože nepřináší žádnou užitečnou informaci. Provádí se pouze u předtransfuzního vyšetření (6, 23) s výjimkou případů, kdy matka nebyla vyšetřena během těhotenství. Vyšetření nepravidelných protilátek v séru/plazmě matky je 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).

Metody a diagnostika

Dostatečné je použití nepřímého antiglobulinového testu (LISS-NAT). V případě předtransfuzního vyšetření postupovat podle doporučených postupů.

5.1.3 Identifikace nepravidelných protilátek

V případě pozitivního screeningu protilátek má smysl určit specifitu nepravidelné protilátky především u protilátky poprvé zjištěné po porodu, vhodné je však i potvrzení původní protilátky a případné vyloučení/průkaz nové protilátky (23).

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

Rutinní kontrola specifity protilátek, prokázaných během těhotenství, není nutná.

Metody a diagnostika

LISS-NAT, event. enzymový test.

Po podání anti-D IgG během těhotenství lze použít pouze D-negativní diagnostické erytrocyty.

5.1.4 Stanovení titru nebo koncentrace protilátek

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

Doporučení 13.
Po porodu se u matky provádí vyšetření AB0, D, screening protilátek pouze v případě, že není k dispozici žádné předchozí vyšetření nebo u předtransfuzního vyšetření (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

5.2 Vyšetření novorozence

5.2.1 AB0

Rutinní vyšetření u všech novorozenců se nedoporučuje, ani u 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 matek s potenciálně klinicky významnými protilátkami především kvůli případné transfuzi novorozence, dále u 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.

Metody a diagnostika

Dvojí vyšetření aglutinogenů diagnostickými séry anti-A, -B, -AB. Použít dva různé klony pro každý typ diagnostického séra. Vyšetření aglutinogenů se neprovádí. Vyšetření podskupin A1, A2 se neprovádí.

Doporučení 14.
Stanovení krevní skupiny AB0 u novorozence se provádí u podezření na AB0 HON, u suspektního HON, u průkazu klinicky významných protilátek u matky (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

5.2.2 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 (6, 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).

Vyšetření D^{w} či variantních antigenů D u novorozence se nedoporučuje. Prakticky není dokázáno, že by erytrocyty plodu nesoucí na svém povrchu variantu D^{VI} senzibilizovaly matku (6) a profylaktické podávání anti-D imunoglobulinu je jen velmi málo účinné (5). Navíc u pozitivity PAT nelze spolehlivě D^{w} vyšetřit. U každého případu nálezu slabě pozitivního antigenu D lze doporučit konzultaci se specializovanou nebo referenční laboratoří. Je vhodné vyjádření vyšetřující laboratoře k anti-D profylaxi.

Metody a diagnostika

Doporučuje se použít diagnostické sérum anti-D, které nezachytává variantu D^{VI}.

proLékaře.cz | 7.9.2025

Doporučení 15.
Stanovení antigenu D se provádí především u novorozenců D-negativních matek, u suspektního HON, u průkazu klinicky významnch protilátek u matky. D^w se nevyšetřuje (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

5.2.3 Screening nepravidelných protilátek

Jsou-li u novorozence přítomny známky HON, ale výsledek screeningu protilátek 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 určit často 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.

Metody a diagnostika

LISS-NAT.

Doporučení 16.
Screening protilátek u novorozence se provádí, nebylo-li provedeno toto vyšetření u matky nebo není výsledek vyšetření matky znám (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

5.2.4 Přímý antiglobulinový test

Rutinní vyšetření u všech novorozenců se nedoporučuje (6, 23), ani u D-pozitivních novorozenců D-negativních matek, především tehdy, byla-li provedena prenatální anti-D profylaxe. Pozitivní PAT pak může být přítomen až u 3–6 % vzorků (6), avšak bez klinického významu (profylaktické podání anti-D IgG nezpůsobuje destrukci fetálních či novorozeneckých erytrocytů) (84).

Provedení PAT se doporučuje v případě průkazu potenciálně klinicky významných protilátek u matky (6, 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 (6). Prediktivní hodnota pozitivity PAT se odhaduje na 23 %, naopak u negativního PAT mohou být příznaky těžkého HON, a to nejen u AB0 inkompatibility (85, 86).

Metody a diagnostika

Provádí se přednostně z pupečníkové krve.

Vhodnou metodou je sloupcová aglutinace nebo srovnatelně citlivá metoda.

Falešně negativní výsledky PAT jsou obvykle způsobeny technickými chybami při provádění testu, podobně je tomu i u falešně pozitivních výsledků, kde se navíc může uplatňovat přítomnost silných chladových autoaglutininů.

Doporučení 17.
Nedoporučuje se rutinní provádění PAT u všech novorozenců. PAT se provádí v případě průkazu potenciálně klinicky významných protilátek u matky, 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 nebo není výsledek vyšetření znám (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

5.2.5 Eluční test

Provádí se u pozitivity PAT (6). V eluátu se pak určuje specifita přítomné protilátky - testování eluátu s erytrocyty nesoucími antigen korespondující s protilátkou (6).

Eluce a vyšetření eluátu novorozence jsou vhodné v případě směsi protilátek 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), dále není-li k dispozici výsledek vyšetření protilátek u matky a zároveň nelze prokázat protilátky v séru/plazmě novorozence, v případě suspektní reakce proti antigenu s nízkou frekvencí výskytu (viz výše) pro testování eluátu s erytrocyty otce (23).

Eluce není nutná, pokud je jednoznačně identifikována protilátka u matky (23).

U AB0 HON není provádění elučního testu přínosné, protože vyšetření imunních protilátek anti-A, anti-B třídy IgG je dostatečné (viz níže) (23, 87).

Metody a diagnostika

Vlastní eluce se může povádět různými metodami (kyselá eluce, tepelná eluce).

Specifita protilátky v eluátu se určuje pomocí panelu diagnostických erytrocytů metodou LISS-NAT.

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

Provádí se u suspektního AB0 HON (23).

Metody a diagnostika

Používají se diagnostické erytrocyty krevní skupiny A_1, B, jako kontrolní erytrocyty krevní skupiny 0 (23). Za vhodnou se považuje metoda LISS-NAT (např. sloupcová aglutinace) (23).

Doporučení 18.
Vyšetření imunních protilátek anti-A, -B třídy IgG u novorozence patří mezi základní vyšetření při podezření na AB0 HON (úroveň důkazů IV, stupeň doporučení C).

5.2.8 Test kompatibility

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

Literatura

1. Masopust J, et al. Výskyt těžkého hemolytického onemocnění plodu/novorozence v ČR v letech 2005-2007. Transf Hemat dnes 2008; S2: 117 (abstrakt).
2. Van Dijk BA, Hirasing RA, Overbeeke MA. Hemolytic disease of the newborn and irregular blood group antibodies in the Netherlands:

proLékaře.cz | 7.9.2025

prevalence and morbidity. Ned Tijdschr Geneeskd 1999; 143: 1465-1469.
3. Avent ND, Finning KM, Martin PG, Soothill PW. Prenatal determination of fetal blood group status. Vox Sang 2000; 78 (Suppl. 2): 155-162.
4. De Silva M. New guidelines for pre and perinatal immunohaematology. ISBT 2003; Istanbul; S109-111.
5. 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.
6. 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
7. Joy SD, Rossi KQ, Krugh D, O'Shaughnessy RW. Management of pregnancies complicated by anti-E isoimmunization. Obstet Gynecol 2005; 105: 24-28.
8. 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.
9. Whittle MJ. Rhesus haemolytic disease. Archives of Disease in Childhood 1992; 67: 65-68.
10. Duguid JK, Bromilow IM, Entwistle GD, Wilkinson R. Haemolytic disease of the newborn due to anti-M. Vox Sang 1995; 68: 195-196.
11. De Young-Owens A, Kennedy M, Rose RL, Boyle J, O´Shoughnessy R. Anti-M isoimmunization: management and outcome at the Ohio State University from 1969-1995. Obstet Gynecol 1997; 90: 962-966.
12. 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.
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. Wagner T, Resch B, Legler TJ, et al. Severe HDN due to anti-Ce that required exchange transfusion. Transfusion 2000; 40: 571-574.
16. Kim WD, Lee YH. A fatal case of severe haemolytic disease of newborn associated with anti-Jk(b). J Korean Med Sci 2006; 21: 151-154.
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, Learn SB, Gilstad CW. Case report: moderate hemolytic disease of the newborn due to anti-G. Immunohematol 2006; 22: 166-170.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. Judd WJ. Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohematology, revisited. Transfusion 2001; 41: 1445-1452.
24. Working Party of the British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force. Guidelines for compatibility procedures on blood transfusion laboratories. Transfus Med 2004; 14: 59-73.
25. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Council of Europe Publishing 2007, 14th edition.
26. Howard, H., Martlew, V., McFaden, I., Clarke, C., Duguid, J., Bromilow,I., Eggington, J. (1998) Consequences for fetus and neonate of maternal red cell allo-immunisation. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed., 78 F62-F66.
27. Thompson S, Eggington J, Dodd A, Qureshi R, Turner E. Late developing red cell antibodies in pregnancy. Transfus Med 2003; 13 (supp): 8-9.
28. Poole G. Evaluation of six systems for the detection of red cell antibodies. Medical Devices Agency Report, HMSO 1996.
29. Pereira L, Jenkins TM, Berghella V. Conventional management of maternal red cell alloimmunization compared with management by Doppler assessment of middle cerebral artery peak systolic velocity. Am J Obstet Gynecol 2003; 189: 1002-1006.
30. Van Dongen H, Klumper FJ, Sikkel E, Vandenbussche FP, Oepkes D. Non-invasive tests to predict fetal anemmia in Kell-alloimmunized pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol 2005; 25: 341-345.
31. Oepkes D, Seaward PG, Vandenbussche FP, et al. Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. N Engl J Med 2006; 355: 156-164.
32. Moise KJ. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. Obstet Gynecol 2002; 100: 600-611.
33. Bowman JM, Pollock JM, Manning FA, Harman CR. Severe anti-C hemolytic disease of the newborn. Am J Obstet Gynecol 1992; 166: 1239-43.
34. Spinnato JA. Hemolytic disease of the fetus: a plea for restraint. Obstet Gynecol 1992; 5: 873-877.
35. Masopust J. Hemolytická nemoc novorozenců – význam kritického titru antierytrocytárních protilátek. Neonat listy 1998; 18-21.
36. Hackney DN, Knudtson EJ, Rossi KQ, Krugh D, O'Shaughnessy RW. Management of pregnancies complicated by anti-c isoimmunization. Obstet Gynecol 2004; 103: 24-30.
37. 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.
38. Novaretti MCZ, Peres Navarro S, Leao Bonifacio S, Dorhliac-Llacer PE, de Alencar Fischer Chamone D. Comparison of gel test and tube test technique for isoagglutininstitration. Vox Sang 2007; 93(Suppl. 1): 188-189.
39. Turgeon ML. Fundamentals of immunohematology: Theory and technique. Lea and Febiger, Philadelphia 1989, s.322-343.
40. Pont'uch A, Hrubiško M, Michaličková J. Hemolytická choroba novorozencov. 1. vydání Martin, Osveta 1970.
41. Masopust J, et al. Výskyt těžkého hemolytického onemocnění plodu/novorozence v ČR v letech 2005-2007. Transf Hemat dnes 2008; S2: 117 (abstrakt).
42. Fung K, Eason E, Crane J, et al. Prevention of Rh alloimmunization. J Obstet Gynaecol Can 2003; 25(9): 765-773.
43. 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.
44. Shirey RS, Mirabella DC, Lumadue JA, Ness PM. Differentiation of anti-D and –G: clinical relevance in alloimmunized pregnancies. Transfusion 1997; 37: 493-496.
45. Maley M, Babb R, Chapman CE, Fitzgerald J, Cavanagh G. Identification and qauntification of anti-D, -C and –G in alloimmunized pregnant women. Transf Med 2001; 11: 443-446.
46. Eklund J, Hermann M, Kjellman H, Pohja P. Turnover rate of anti-D IgG injected during pregnancy. BMJ 1982; 284: 854-855.
47. Klein HG, Anstee DJ. Immunology of red cells. In Mollison's blood transfusion in clinical medicine. Blackwell Publishing 2005, 11th edition, p. 48-113.
48. Reece EA, Copel JA, Scioscia AL, Grannum PAT, DeGennaro N and Hobbins JC. Diagnostic fetal umbilical blood sampling in the management of isoimmunization. Am J Obstet Gynecol 1988; 159: 1057-1062.
49. Lubenko A, Contreras M. The incidence of hemolytic disease of the newborn attributable to anti-Wra. Letter to the editor. Transfusion 1992; 32: 87-88.
50. International forum. Current status of immunoprophylaxis with anti-D immunoglobulin. Vox Sang 2003; 85: 328-337.
51. Eder AF. Update on HDFN: new information on long-standing controversies. Immunohematol 2006; 22: 188-195.
52. Daniels G. Rh blood group system. In: Daniels G. Human blood groups. 2nd edition, Blackwell Science 2002; 195-274.
53. Kuśnierz-Alejska G, Bochenek S. Haemolytic disease of the new-

proLékaře.cz | 7.9.2025

born due to anti-Dia and incidence of the Dia antigen in Poland. Vox Sang 1992; 62: 124-126.
54. Weiner CP. Use of cordocentesis in fetal hemolytic disease and autoimmune thrombocytopenia. Am J Obstet Gynecol 1990; 162: 1126-1128.
55. McGregor SN, Silver RK, Sholl JS. Enhanced sensitisation after cordocentesis in a rhesus-isoimmunized pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1991; 165: 382-383.
56. Weiner CP, Okamura K. Diagnostic fetal blood sampling-technique related looses. Fetal Diagn Ther 1996; 11: 169-175.
57. 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.
58. Weiner CP, Williamson RA, Wenstrom KD, Sipes SL, Grant SS, Widness JA. Management of fetal hemolytic disease by cordocentesis. I. Prediction of fetal anemia. Am Obstet Gynecol 1991; 165: 546-53.
59. 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.
60. 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.
61. Rouillac –Le Sciellour C. Recent developments in non-invasive fetal RhD genotyping. Vox Sang 2007; 93 (Suppl. 1): 206.
62. 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.
63. Hromadníková I, Vechetová L, Veselá K, Benešová B, Doucha J, Linhartová E, Vlk R, Kulovaný E. Neinvazivní *RHD* genotypizace plodu na DNA izolované z periferní krve RhD negativních těhotných žen. Trans Hemat Dnes 2003; 9: 152-158.
64. Hromadníková I, Benešová B, Vechetová L, et al. Neinvazivní *RHD, RHC* a *RHE* genotypizace plodu z periferní krve RhD negativních těhotných žen, Trans Hemat Dnes 2004; 10: 13-18.
65. 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.
66. Hromadníková I, Doucha J, Benešová B, et al. Neinvazivní RHc genotypizace plodu z periferní krve těhotných žen. Trans Hematol Dnes 2005; 11: 14-16.
67. Pollock JM, Bowman JM. Anti-Rh(D) subclasses and severity of Rh hemolytic disease of the newborn. Vox Sang 1990; 59: 176-179.
68. Brecher ME, et al. Technical manual. 14th edition, Bethesda, AABB 2002.
69. Christiansen MC, Maniecki MB, Sørensen BS, Nielsen KM, Grunnet N, Riisom K. Non-invasive foetal RhD determination in gestation week 15 and 25. Vox Sang 2007; 93 (Suppl. 1): 203.
70. Avent ND. Antenatal Genotyping of the Blood Groups of the Fetus. Vox Sang 1998; 74 (Suppl. 2): 365-374.
71. Chan FY, Cowley NM, Wolter L, Stone M, Carmody F, Saul A, Hyland CA. Prenatal RHD gene determination and dosage analysis by PCR: clinical evaluation. Prenat Diagn 2001; 21(4): 321-326.
72. Cotorruelo C, Biondi C, Garcia Borras S, Di Monaco R, Racca A. Early detection of RhD status in pregnancies at risk of hemolytic disease of the newborn. Clin Exp Med 2002; 2: 77-81.
73. Flegel WA, Wagner FF. Molecular Biology of partial D and weak D: Implications for Blood Bank Practise. Clin Lab 2002; 48: 53-59.
74. Minon JM, Schaaps JP, Retz MC, Dricot JF, Foidart JM, Senterre JM. Prenatal determination of fetal RHD in maternal plasma: two-years experience of routine clinical use. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2005; 448-453.
75. Grootkerk-Tax MG, Soussan AA, de Haas M, Maaskant-van Wijk PA, van der Schoot CE. Evaluation of prenatal RHD typing strategies on cell-free fetal DNA from maternal plasma. Transfusion 2006; 46: 2142-2148.
76. Legler J, Damme S, Müller S. The German feasibility study on non-invasive determination of the fetal D-status from maternal plasma for decision making on Rh-prophylaxis. Vox Sang 2007; 93 (Suppl. 1): 53.
77. Singleton BK, Green CA, Avent ND. The presence of an RhD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a nonsense mutation in Africans with the RhD-negative blood group phenotype. Blood 2000; 95: 12-18.
78. Legler TJ, Lynen R, Maas JH, Pindur G, Kulenkampff D, Suren A, Osmers R, Kohler M. Prediction of fetal RhD and Rh CcEe phenotype from maternal plasma with real-time polymerase chain reaction. Transfus Apheresis Sci 2002; 27:217-223.
79. Finning K. Fetal genotyping beyond the Rh(D) antigen. XVIIth Regional Congress, Europe, ISBT, Madrid 2007 June 23-27.
80. Randen I, Hauge R, Kjeldsen-Kragh J, Fagerhol MK. Prenatal genotyping of RhD a SRY using maternal blood. Vox Sang 2003; 85: 300-306.
81. Maugard CM, Chikh NC, Bouix OB, Coste JC, Aznar RA. Prenatal RhD genotyping using maternal plasma: it is time for automation and tracebility. Vox Sang 2007; 93 (Suppl. 1): 204-205.
82. Chan KCA, Ding CH, Gerovassili A, et al. Hypermethylated RASSFIA in maternal plasma: a universal fetal DNA marker that improves the reliability of noninvasive prenatal diagnosis. Clin Chem 2006; 52: 2211-2218.
83. Tong YK, Chiu RW, Leung TY, et al. Detection of restriction enzyme-digested target DNA by PCR amplification using a stem-loop primer: application to the detection of hypomethylated fetal DNA in maternal plasma. Clin Chem 2007; 53(11): 1906-14.
84. 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.
85. Heddle NM, Wentworth P, Anderson DR, Emmerson D, Kelton JG, Blajchamn MA. Three examples of Rh haemolytic disease of the newborn with a negative direct antiglobulin test. Transfus Med 1995; 5: 113-116.
86. Dinesh D. Review of positive direct antiglobulin tests found on cord blood sampling. J Paediatr Child Health 2005; 41: 504-507.
87. 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.

proLékaře.cz | 7.9.2025

Úrovně důkazu a stupně doporučení používané ve směrnicích (*guidelines*) a principech medicíny založené na důkazech (evidence based medicine).

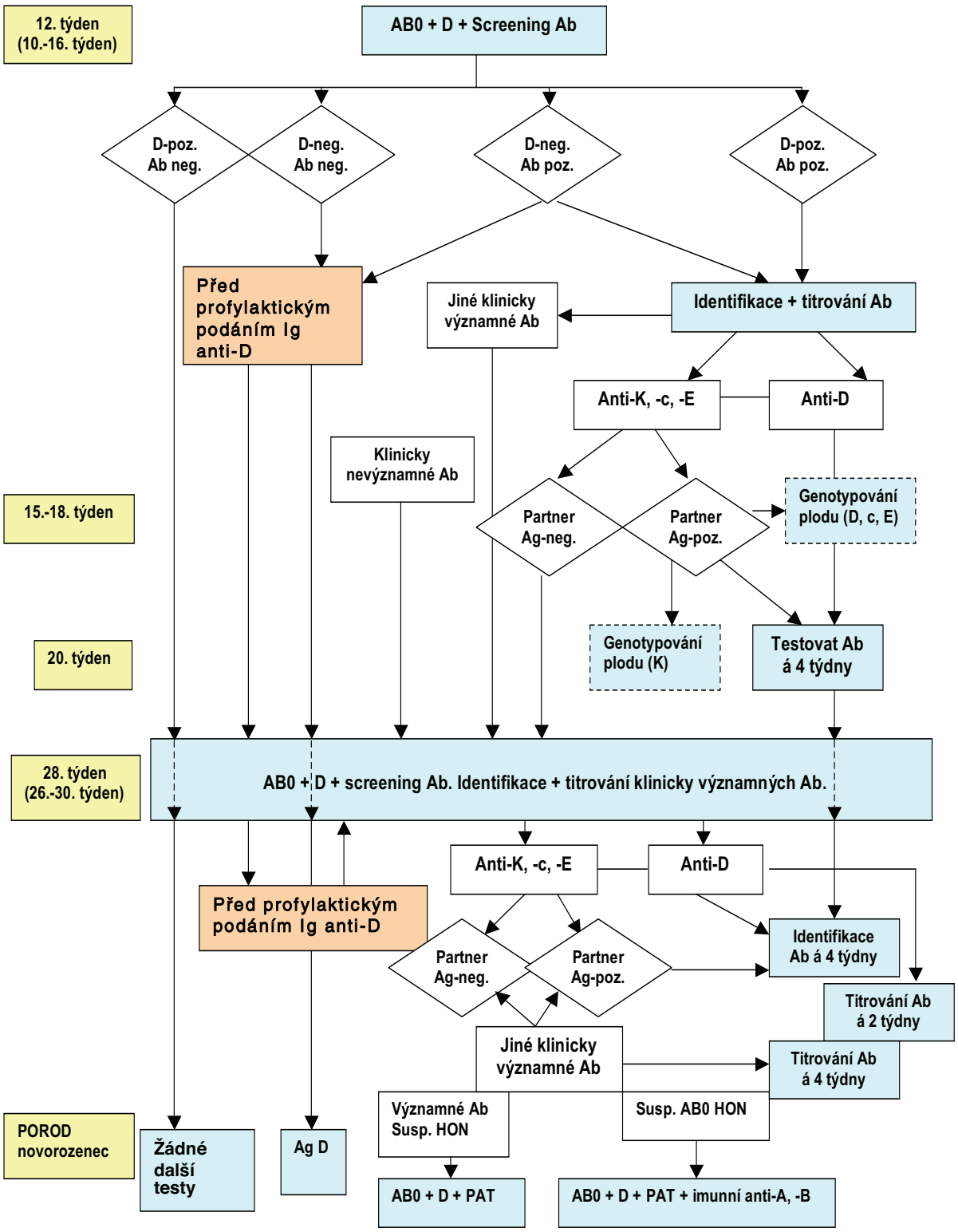
Úroveň důkazu a její definice	
Ia	Důkaz je získán z metaanalýzy randomizovaných studií.
Ib	Důkaz je získán z výsledku alespoň jedné randomizované studie.
IIa	Důkaz je získán alespoň z jedné dobře formulované, ale nerandomizované klinické studie, včetně studií II. fáze a takzvaných *„case control study“*.
IIb	Důkaz je získán alespoň z jedné, dobře formulované experimentální studie, ale i studií založených na pouhém pozorování.
III	Důkaz je získán z dobře formulované, neexperimentální popisné studie. Do této kategorie jsou zahrnuty také důkazy získané z metaanalýz a z jednotlivých randomizovaných studií, které však byly zveřejněny pouze formou abstraktu a nikoliv jako publikace *„in extenso“*.
IV	Důkazy založené na mínění skupiny expertů a / nebo na klinické zkušenosti respektovaných autorit.
Stupně doporučení a jejich definice	
A	Doporučení založeno alespoň na jedné randomizované klinické studii, tedy založené na důkazu typu Ia nebo Ib.
B	Doporučení je založeno na dobře vedené studii, která však nemá charakter randomizované studie zkoumající předmět doporučení. Doporučení je tedy založena na důkazu typu IIa, IIb, III
C	Doporučení založené na mínění kolektivu expertů, tedy na základně důkazu typu IV.

Názvosloví, zkratky

Dg. = diagnostický, -á, -é, D^w = D-weak = slabý antigen D, HFA = High Frequency Antigen (antigen s vysokou frekvencí výskytu), HON = hemolytické onemocnění novorozence/plodu, IUT = intrauterinní transfuze, LISS = roztok o nízké iontové síle, NAT = nepřímý antiglobulinový test, SlAgl = test sloupcové aglutinace, Zk = zkumavkový test, NS = není specifikováno

proLékaře.cz | 7.9.2025

Imunohematologické testování v těhotenství a po porodu



proLékaře.cz | 7.9.2025

Poznámky: