

Aloimunizace Rh negativních žen v těhotenství

Klára Zselezová

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta humanitních studií

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta humanitních studií

Ústav zdravotnických věd

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Klára Zselezová
Osobní číslo:	H220226
Studijní program:	B0913P360017 Porodní asistence
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Aloimmunizace Rh negativních žen v těhotenství

Zásady pro vypracování

Rešerše literatury.

Vymezení pojmů a teoretických východisek v oblasti aloimmunizace Rh negativních žen v těhotenství.

Příprava metodiky přehledové studie.

Formulace kritérií pro výběr dokumentů k přehledové studii.

Realizace rešerše dokumentů k cíli přehledové studie.

Zpracování, vyhodnocení a interpretace získaných informací.

Prezentace výsledků výzkumu, jejich shrnutí a návrh doporučení pro praxi.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

HÁJEK, Zdeněk; ANDĚLOVÁ, Kateřina; BINDER, Tomáš; CALDA, Pavel; ČEPIČKÝ, Pavel et al. *Rizikové a patologické těhotenství*. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0418-8. [cit. 2024-10-30].
PAŘÍZEK, Antonín; BINDER, Tomáš; BLÁHA, Jan; BLATNÝ, Jan; BOUDNÝ, Jaroslav et al. *Kritické stavy v porodnictví*. Praha: Galén, 2012. ISBN 978-80-7262-949-7. [cit. 2024-10-30].
PROCHÁZKA, Martin; BARTOŠOVÁ, Petra; BODNÁR, Vojtěch; BUBENÍKOVÁ, Štěpánka; DORAZILOVÁ, Radmila et al. *Porodní asistence*. Praha: Maxdorf, 2020. ISBN 978-80-7345-618-4. [cit. 2024-10-30].
ROZTOČIL, Aleš; BÁČA, Václav; BINDER, Tomáš; CALDA, Pavel; CVRČEK, Petr et al. *Moderní porodnictví*. 2. vyd. Praha: Grada, 2017. ISBN 978-80-247-5753-7. [cit. 2024-10-30].
ZWIERS, Carolien; KAMP, Inge van; OEPKES, Dick a LOPRIORE, Enrico. Intrauterine transfusion and non-invasive treatment options for hemolytic disease of the fetus and newborn – review on current management and outcome. Online. *Expert Review of Hematology*. 2017, vol. 10, no. 4, s. 337-344. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1080/17474086.2017.1305265>. [cit. 2024-10-30].

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Lenka Vrlová**
Ústav zdravotnických věd

Datum zadání bakalářské práce: **4. listopadu 2024**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. května 2025**

L.S.

Mgr. Libor Marek, Ph.D.
děkan

Mgr. Věra Vránová, Ph.D.
ředitelka ústavu

Ve Zlíně dne 9. ledna 2025

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zaměřuje na problematiku RhD aloimunizace v těhotenství, která představuje závažný imunologický problém s možnými negativními důsledky pro plod i novorozence. Práce se zabývá vybranými krevními skupinovými systémy a imunologickými mechanismy, které mohou během těhotenství vést k tvorbě protilátek, a identifikuje související rizikové faktory. Dále popisuje možnosti prevence imunologických komplikací, význam fetomaternální interakce a strategie sledování a vedení těhotenství u rizikových pacientek. Zvláštní pozornost je věnována novorozeneckým komplikacím spojeným s imunitními reakcemi, jejich klinickým projevům, diagnostice a léčbě. V bakalářské práci je také zdůrazněna role porodní asistentky v oblasti prevence, edukace a mezioborové spolupráce. Cílem práce je poukázat na význam včasné diagnostiky a komplexní péče při zvládnutí rizika RhD aloimunizace.

Klíčová slova: aloimunizace, Rh inkompatibilita, Rh faktor, anti-D imunoglobulin, hemolytická nemoc plodu a novorozence

ABSTRACT

The bachelor thesis focuses on the issue of RhD alloimmunization in pregnancy, which represents a serious immunological problem with possible negative consequences for both the fetus and the newborn. The thesis deals with selected blood group systems and immunological mechanisms that can lead to the formation of antibodies during pregnancy and identifies related risk factors. It also describes options for preventing immunological complications, the importance of fetomaternal interaction, and strategies for monitoring and managing pregnancy in high-risk patients. Special attention is paid to neonatal complications associated with immune reactions, their clinical manifestations, diagnosis, and treatment. The bachelor thesis also emphasizes the role of midwives in prevention, education, and interdisciplinary cooperation. The aim of the thesis is to highlight the importance of early diagnosis and comprehensive care in managing the risk of RhD alloimmunization.

Keywords: alloimmunization, Rh incompatibility, Rh factor, anti-D immunoglobulin, hemolytic disease of the fetus and newborn

Ráda bych tímto poděkovala vedoucí bakalářské práce Mgr. Lence Vrlové, DiS. za odborné vedení a cenné rady při psaní a tvorbě této práce. Poděkování patří též mé rodině, příteli a kamarádům za podporu při psaní bakalářské práce i za podporu a trpělivost při mém studiu.

OBSAH

ÚVOD.....	11
1 POPIS REŠERŠNÍ STRATEGIE	12
2 ALOIMUNIZACE V TĚHOTENSTVÍ.....	14
2.1 ALOIMUNIZACE	14
2.2 RIZIKOVÉ FAKTORY	14
2.3 FETOMATERNÁLNÍ KRVÁCENÍ	16
2.3.1 Rozetový screeningový test (Rosette screen test)	16
2.3.2 Kleinhauer-Betke test.....	18
2.3.3 Průtoková cytometrie (flow cytometry)	19
3 KREVNÍ SKUPINOVÉ SYSTÉMY	22
3.1 AB0 SYSTÉM	22
3.2 RH SYSTÉM.....	23
3.3 ANTI – D PROTILÁTKY.....	24
4 PREVENCE RHD ALOIMUNIZACE.....	25
4.1 PREVENCE ALOIMUNIZACE	25
4.2 NEPŘÍMÝ ANTIGLOBULINOVÝ TEST	28
4.3 MANAGEMENT TĚHOTENSTVÍ.....	28
4.4 PRENATÁLNÍ TESTY A SCREENING PROTILÁTEK	30
4.5 SLEDOVÁNÍ SENZIBILIZOVANÝCH TĚHOTENSTVÍ	32
4.6 ROLE A PÉČE PORODNÍ ASISTENTKY	33
5 HEMOLYTICKÁ NEMOC NOVOROZENCE.....	35
5.1 KLINICKÉ PROJEVY	35
5.2 DIAGNOSTIKA	36
5.2.1 Přímý antiglobulinový test	38
5.3 FETÁLNÍ ANÉMIE	38
5.4 NEONATÁLNÍ HYPERBILIRUBINÉMIE	40
5.5 LÉČBA PLODU A NOVOROZENCE	40
ZÁVĚR	44
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	49
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	56

ÚVOD

Těhotenství představuje jedinečný biologický stav, při kterém dochází k úzkému soužití dvou geneticky odlišných organismů – matky a plodu. Ačkoli tento vztah většinou probíhá bez komplikací, v některých případech může vést k imunologickým reakcím, které ohrožují správný vývoj plodu i zdraví matky. Jedním z nejzávažnějších imunologických stavů je RhD aloimunizace, která vzniká při nekompatibilitě krevních skupin mezi RhD negativní matkou a RhD pozitivním plodem. Pokud dojde k proniknutí fetálních erytrocytů do mateřského oběhu, může si imunitní systém matky vytvořit protilátky proti antigenu D. Tyto protilátky jsou schopny přestupovat placentou a způsobit destrukci fetálních erytrocytů, což může vést k hemolytickému onemocnění plodu a novorozence (HDFN).

V současné době je díky zavedení rutinní anti-D imunoprophylaxe výskyt této komplikace významně snížen, avšak zcela nezanikl. Selhání prevence, pozdní nebo chybějící podání imunoglobulinu, a také nedostatečné sledování senzibilizovaných těhotenství stále představují aktuální klinickou výzvu. Závažnost následků RhD aloimunizace, které mohou zahrnovat anémii plodu, hydrops fetalis, intrauterinní úmrtí nebo nutnost intenzivní péče po porodu, podtrhuje význam včasné diagnostiky a správného terapeutického přístupu.

Hlavním cílem této bakalářské práce je poskytnout aktuální a ucelené informace o rizicích, která RhD aloimunizace představuje pro těhotnou ženu a její plod, a to na základě současných poznatků a doporučení. Dílčím cílem je přehledně popsat možnosti prevence vzniku aloimunizace, včetně významu anti-D imunoprophylaxe, včasné diagnostiky a správného sledování těhotenství. Práce se dále zaměřuje na patofyziologii vzniku protilátek, management senzibilizovaných těhotenství, klinický obraz hemolytického onemocnění novorozence a roli porodní asistentky v rámci mezioborové spolupráce a edukace žen.

Tato práce si klade za cíl přispět ke zvýšení povědomí o této problematice, posílit důraz na preventivní opatření a zdůraznit nutnost mezioborové spolupráce při poskytování péče těhotným ženám s rizikem RhD aloimunizace.

1 POPIS REŠERŠNÍ STRATEGIE

Při zpracování bakalářské práce byla provedena systematická rešerše odborné literatury s cílem získat relevantní a aktuální informace k problematice aloimunizace v těhotenství, zejména Rh inkompatibility a prevenci hemolytické nemoci plodu a novorozence. Vyhledávání bylo realizováno v několika mezinárodně uznávaných vědeckých databázích, konkrétně v PubMed, NCBI, ScienceDirect, Wiley Online Library, Taylor & Francis Online, BMC (BioMed Central), Cureus a dále v odborných časopisech jako BJOG, BJH, TOG, JOGC a AJOG.

Při vyhledávání byly použity kombinace klíčových slov v českém i anglickém jazyce. Mezi česká klíčová slova patřila například „aloimunizace“, „Rh inkompatibility“, „Rh faktor“, „anti-D imunoglobulin“ a „hemolytická nemoc plodu a novorozence“. Anglické ekvivalenty zahrnovaly termíny jako „alloimmunization“, „Rh incompatibility“, „Rh factor“, „anti-D immunoglobulin“ a „hemolytic disease of the fetus and newborn“.

Výběr zdrojů byl kladen na publikace z posledních deseti let, tedy období 2015 až 2025. Do rešerše byly zahrnuty pouze práce psané v češtině nebo angličtině, které splňovaly kritéria vědecké a odborné kvality, tedy především recenzované články, přehledové studie a odborné monografie.

Z celkového počtu 215 nalezených dokumentů byla na základě předem stanovených kritérií – mezi která patřily odstranění duplicit, vyřazení nerelevantních zdrojů a prací bez dostupnosti plného textu nebo s přístupem pouze za poplatek – vybrána a využita celkem 44 odborných zdrojů. Tyto zdroje odpovídaly požadavkům na vědeckou kvalitu, tematickou relevanci a aktuálnost, což umožnilo komplexní a kvalitní zpracování dané problematiky.

PICO OTÁZKA

Primární hesla česky:

P = participant: matka a plod

I = intervence: aloimunizace

C = comparison: prevence

O = outcome: aktuální poznatky

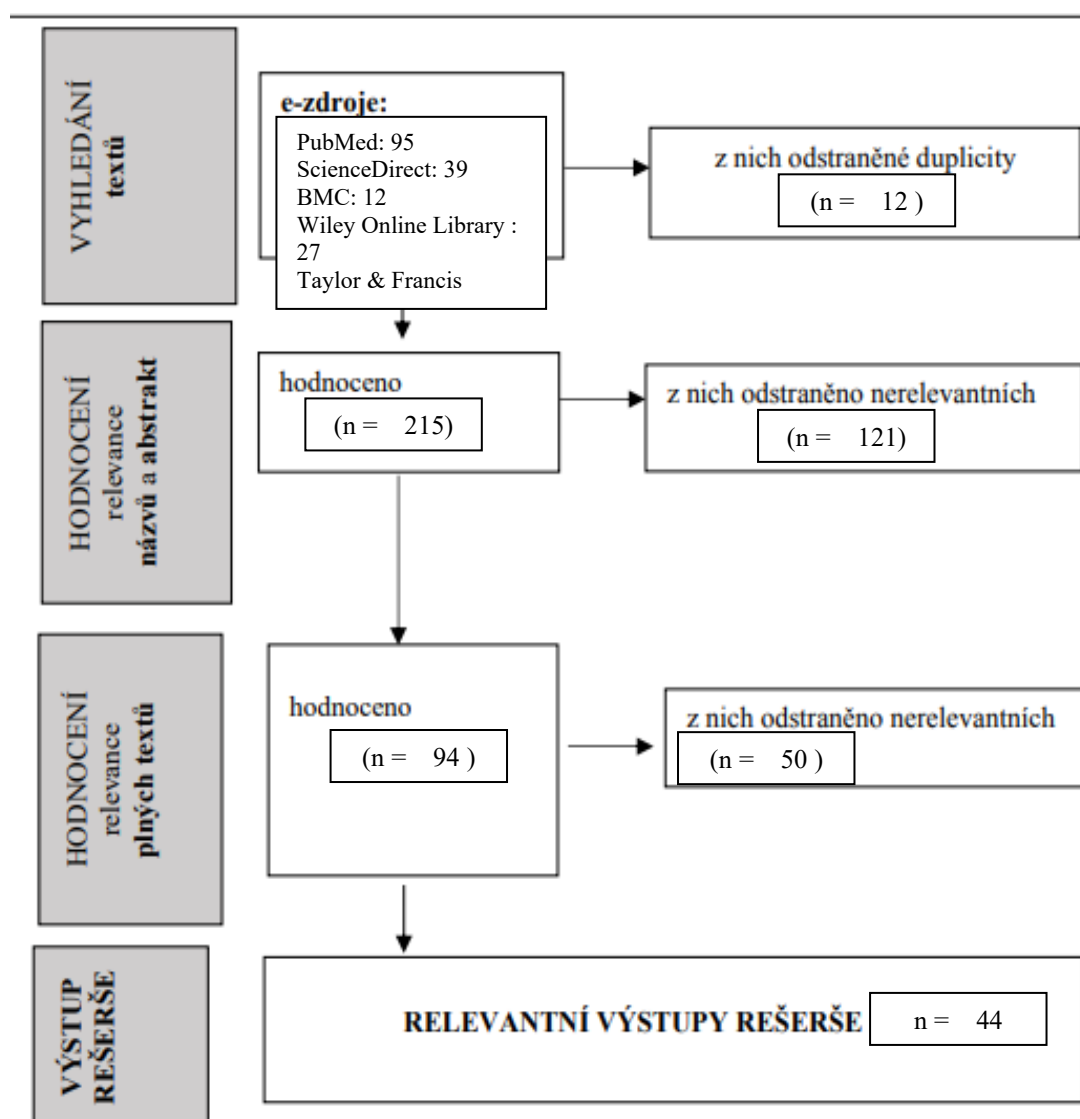
Primární hesla anglicky:

P = participant: mother and fetus

I = interence: alloimmunization

C = comparison: prevention

O = outcome: current knowledge

PRISMA DIAGRAM

2 ALOIMUNIZACE V TĚHOTENSTVÍ

2.1 Aloimunizace

Dle Holuskové (2013) aloimunizace představuje závažné onemocnění postihující plod a novorozence, které vzniká v důsledku přítomnosti mateřských protilátek specificky reagujících proti antigenům na povrchu erytrocytů plodu. Jedná se o imunologickou reakci charakterizovanou produkcí imunoglobulinů třídy IgG, jež jsou schopny procházet placentární bariérou. Po přestupu do fetálního oběhu mohou tyto protilátky indukovat hemolýzu červených krvinek plodu, což vede ke vzniku anémie. Následkem této imunitní odpovědi může být hemolytická anémie plodu, která je z klinického hlediska jedním z nejzávažnějších projevů fetální aloimunizace.

Důsledky mohou být fatální – intrauterinně se mohou projevit těžkou anémií a hydrops fetalis, zatímco v postnatálním období hrozí rozvoj těžké novorozenecké hyperbilirubinémie. V extrémních případech může dojít až k poškození centrálního nervového systému ve formě jadrového ikteru (kernikteru). (Pařízek, 2012)

Aloimunizace je reakce imunitního systému, při které dochází k tvorbě protilátek proti cizím antigenům. Tato reakce se nejčastěji týká krevních skupinových antigenů, zejména těch ze systému Rh, a nastává po expozici organismu červenými krvinkami s těmito antigeny, které daný jedinec sám nemá. Během těhotenství představuje nejčastější a nejdůležitější klinický problém Rh inkompatibilita, ta nastává, když má matka Rh negativní krevní skupinu a její organismus se setká s Rh pozitivními červenými krvinkami plodu. Imunitní systém matky na tuto situaci reaguje tvorbou protilátek namířených proti Rh antigenu. Tyto protilátky mohou proniknout placentou k plodu a napadat jeho červené krvinky, což může vést k rozvoji hemolytického onemocnění u plodu nebo novorozence. (Roztočil et al., 2015)

2.2 Rizikové faktory

Mezi nejvýznamnější rizikové faktory pro vznik aloimunizace během těhotenství patří především jakékoli krvácení v prvním či druhém trimestru, které může být důsledkem narušení integrity placentární bariéry, přičemž typickým projevem bývá vznik retroplacentárních hematomů. Tyto situace signalizují možný kontakt mezi mateřským a fetálním krevním oběhem, čímž dochází k přestupu fetálních erytrocytů do cirkulace matky a potenciálně k senzibilizaci imunitního systému. Riziko aloimunizace se dále významně

zvyšuje v souvislosti s invazivními diagnostickými a terapeutickými výkony, jako je odběr choriových klků, amniocentéza či kordocentéza, které mechanicky narušují fetoplacentární jednotku a mohou způsobit fetomaternální krvácení. Za další potenciálně senzibilizující situaci je považována vnější manipulace s plodem, například při provádění zevního obratu plodu, jelikož i tato procedura může vést k přestupu fetálních antigenů do krevního oběhu matky. (Sanusi et al., 2024)

Další skupinu rizikových faktorů představují okolnosti spojené s průběhem porodu a způsobem ukončení těhotenství, přičemž operativní vedení porodu – zejména použití porodnických kleští, provedení císařského řezu nebo ruční vybavení placenty – je spojeno se zvýšenou pravděpodobností cévního poranění a tím i vyšším rizikem fetomaternálního krvácení. Dále bylo zjištěno, že traumatické porody, stejně jako poporodní revize děložní dutiny, významně zvyšují pravděpodobnost senzibilizace. Kromě událostí v aktuálním těhotenství hraje klíčovou roli také předchozí expozice mateřského organismu cizorodým antigenům, zejména prostřednictvím transfuzí Rh-pozitivní krve Rh-negativním ženám nebo v rámci předchozího těhotenství s Rh-pozitivním plodem, a to zejména v případech, kdy nebyla podána adekvátní profylaxe pomocí anti-D imunoglobulinu. Tyto faktory vytvářejí podmínky pro rozvoj imunologické odpovědi a následnou produkci protilátek proti antigenům červených krvinek plodu. (Sanusi et al., 2024)

Jedním z nejzávažnějších důsledků aloimunizace je rozvoj hemolytické choroby plodu a novorozence, dříve označované jako erythroblastóza fetalis, která po desetiletí představuje jednu z hlavních příčin perinatální morbidity a mortality. V rámci tohoto patologického procesu procházejí mateřské IgG protilátky přes placentu, vážou se na antigeny na povrchu erytrocytů plodu a vyvolávají jejich destrukci, což vede k progresivní hemolytické anémii. V závažných případech může HDFN vést k rozvoji hydropsu plodu, poškození centrálního nervového systému v důsledku těžké hypoxie, intrauterinního úmrtí nebo narození novorozence s těžkou anémií, který vyžaduje urgentní léčbu. Mezi další projevy patří novorozenecká hyperbilirubinémie, která může v extrémních případech vést k jádrovému ikteru a neurologickému postižení. V rámci intrauterinní péče může být indikována nitroděložní transfuze erytrocytů, zatímco po porodu může být nezbytné provést výměnnou transfuzi nebo zahájit intenzivní fototerapii. (Kaiser Permanente Southern California Obstetrics and Gynecology Department, 2023)

Aloimunizace však nepředstavuje riziko pouze pro plod, ale může mít i významné důsledky pro zdraví matky. U senzibilizovaných žen se mohou vyskytnout komplikace při porodu, zvýšené riziko potratu či složitá klinická situace v případech, kdy je zapotřebí transfuze, a to zejména při vícenásobné aloimunizaci zahrnující přítomnost protilátek proti více antigenům červených krvinek. Tato situace výrazně komplikuje vyhledání kompatibilní krevní jednotky jak pro matku, tak pro plod či novorozence. Z tohoto důvodu je nezbytné provádět průběžné a systematické sledování hladin protilátek v mateřském oběhu a pravidelně hodnotit stav plodu, aby bylo možné včas identifikovat rizika a adekvátně na ně reagovat s cílem minimalizovat negativní perinatální a mateřské důsledky aloimunizace. (Ares et al., 2023)

2.3 Fetomaternální krvácení

Dle Pařízka (2012) fetomaternální hemoragie (FMH) představuje stav, při němž dochází k přestupu fetálních erytrocytů (červených krvinek plodu) do krevního oběhu matky. Tento jev nastává v situaci, kdy dojde k narušení fyziologické bariéry oddělující fetální a mateřskou cirkulaci. V důsledku pozitivního tlakového gradientu pak může docházet k pronikání fetálních krvinek do mateřského krevního řečiště. Mateřské aloprotilátky mohou způsobit HDFN.

2.3.1 Rozetový screeningový test (Rosette screen test)

Screeningový test, známý také jako Rosette (Růžový) test, je citlivá a široce používaná metoda pro kvalitativní detekci FMH, tedy přítomnosti fetálních erytrocytů v periferní krvi matky. Tato metoda byla schválena americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) pro klinické použití a je speciálně navržena k identifikaci RhD-pozitivních fetálních erytrocytů u RhD-negativních matek. Její primární význam spočívá v prevenci HDFN, zejména v souvislosti se správným dávkováním anti-D imunoglobulinu po porodu nebo invazivních zákrocích během těhotenství. (Studničková et al., 2010)

Základní princip testu je založen na schopnosti RhD-pozitivních fetálních červených krvinek reagovat s anti-D protilátkami. V počáteční fázi se vzorek periferní krve matky inkubuje

s anti-D protilátkami, které se vážou na všechny přítomné RhD-pozitivní fetální erytrocyty. Po tomto procesu se nevázané protilátky odstraní promytím. Následujícím krokem je přidání suspenze indikátorových erytrocytů do vzorku. Proces vazby těchto erytrocytů na anti-D protilátky, již vázané na fetální erytrocyty, je klíčovým faktorem zkoumaného postupu. V případě přítomnosti fetálních buněk ve vzorku mikroskopické vyšetření odhalí charakteristické „rozety“ – koncentrované shluky indikátorových erytrocytů kolem fetálních buněk, což indikuje pozitivní výsledek testu. Růžový test je jednoduchý a rychlý (1–2 hodiny) postup, který lze provést za běžných laboratorních podmínek. Vybavení potřebné pro tento proces je minimální a zahrnuje vodní lázeň, odstředivku a optický mikroskop. (Li et al., 2025)

Navzdory vysoké citlivosti testu je nutné si uvědomit jeho omezení. Jedná se o kvalitativní metodu, která neurčuje přesný objem FMH a není vhodná pro detekci fetálních buněk u novorozenců se slabě exprimovaným antigenem D (slabý fenotyp D). V případech, kdy je vyžadována kvantifikace FMH, se doporučuje potvrzující průtoková cytometrie, která umožňuje přesný výpočet objemu fetální krve v mateřském oběhu pomocí specifických markerů. V klinické praxi je běžným přístupem ke standardizaci analytického procesu použití komerčně dostupných souprav. Výsledky výzkumu prokazují vysokou míru shody mezi výsledky Rosette testu a jinými metodami, což podporuje jeho použití jako počátečního screeningového testu. V případě pozitivního nálezu by měly být následně použity kvantitativní metody. (Li et al., 2025)

Další významnou metodou pro detekci a kvantifikaci FMH je Kleihauerův-Betkeho test. Princip tohoto testu spočívá v aplikaci kyselého roztoku na krevní nátěr matky, který selektivně odstraňuje hemoglobin dospělých (HbA) z mateřských erytrocytů, zatímco fetální hemoglobin (HbF) zůstává nedotčen. Po barvení se fetální erytrocyty obsahující HbF zbarví tmavě růžově, zatímco mateřské erytrocyty jsou „fantomové“. Tento barevný rozdíl umožňuje mikroskopickou identifikaci a počítání fetálních erytrocytů a tím kvantifikaci rozsahu FMH. Kleihauerův test se tradičně využívá především v poporodní péči u RhD negativních matek s RhD pozitivními novorozenci k určení dávky anti-D imunoglobulinu, zejména při významném FMH. Test je také doporučeno zvážit při podezření na novorozeneckou anémii či intrauterinní úmrtí plodu a dále po invazivních procedurách nebo traumatech u RhD negativních žen. Nicméně je nutné brát v úvahu jeho technická omezení, jako je absence automatizace a nutnost zkušeného personálu, přítomnost

mateřských F-buněk ovlivňujících výsledky a nedokonalost vzorku reprezentujícího celkové FMH. (Athiel et al., 2025)

2.3.2 Kleinhauer-Betke test

Kleihauerův-Betkeho test, často označovaný jako Kleihauerův test, je klíčový biologický test používaný k detekci a kvantifikaci FMH. Princip testu spočívá v aplikaci kyselého roztoku na krevní nátěr matky. Tento roztok selektivně odstraňuje hemoglobin dospělých (HbA) z mateřských červených krvinek, zatímco fetální hemoglobin (HbF) v buňkách plodu zůstává nedotčen. Po následném barvení se fetální erytrocyty obsahující HbF zbarví tmavě růžově, zatímco mateřské erytrocyty s odstraněným HbA se jeví jako „fantomové“ buňky. Tento barevný rozdíl umožňuje mikroskopickou identifikaci a počítání fetálních erytrocytů ve vzorku matky a tím kvantifikaci rozsahu FMH. (Krywko, Yarrarapu a Shunkwiler, 2025)

Hlavní indikací pro Kleihauerův test je tradičně poporodní péče u RhD negativních matek s RhD pozitivními novorozenci. Výsledek testu se v těchto případech využívá k určení optimální dávky anti-D imunoglobulinu, zejména při významném FMH. Test je také doporučeno zvážit při podezření na novorozeneckou anémii. Podle novějších doporučení Národní rada pro gynekologii, porodnictví a plodnost ve Francii (CNGOF) lze test zvážit i v případě intrauterinního úmrtí plodu k objasnění příčin. Významnou FMH diagnostikovanou antenatálně zaznamenalo Národní referenční centrum pro perinatální hemobiologii (CNRHP) u 14 % případů intrauterinního úmrtí (MFIU). Mezi přetrvávající indikace patří provedení testu po transplacentární aminocentéze a při přímém abdominálním traumatu u RhD negativních žen. (Athiel et al., 2025)

Je však důležité si uvědomit, že na základě novějších analýz může být nutné některé tradiční indikace přehodnotit; například test nemusí být indikován u izolovaného snížení pohybů plodu bez dalších patologií nebo rutinně u metroragie, biopsie trofoblastu či verze zevního podání, pokud není matka RhD negativní s RhD pozitivním nebo neznámým plodem. V současné době chybí standardizovaná doporučení pro management pozitivního výsledku testu, s výjimkou úpravy dávky anti-D imunoglobulinu, a CNRHP proto navrhuje individuální přístup založený na klinických okolnostech. (Athiel et al., 2025)

Přestože je test široce používán, je nutné znát jeho technická omezení. Kleihauerův test není automatizovaný ani standardizovaný, což znamená, že pro správné provedení a vyhodnocení je nezbytný zkušený laboratorní personál. Výsledky mohou být ovlivněny přítomností mateřských F-buněk, které také obsahují HbF a zbarví se podobně jako fetální erytrocyty. Důležité je také pamatovat na to, že vzorek nemusí vždy přesně odrážet celkový rozsah FMH v celém objemu krve matky. Tato omezení poukazují na potřebu dalšího vývoje přesnějších a objektivnějších metod detekce FMH. (Li et al., 2025)

2.3.3 Průtoková cytometrie (flow cytometry)

Průtoková cytometrie je moderní analytická technika, která se používá pro kvalitativní a kvantitativní hodnocení buněk v suspenzi. Základem této technologie jsou principy rozptylu světla a emise fluorescence. Základní princip této techniky spočívá v analýze fyzikálních a chemických vlastností jednotlivých buněk, které procházejí laserovým paprskem v proudu specifické kapaliny. Díky mechanismu známému jako hydrodynamické zaostřování pomáhá okolní tekutina nasměrovat vzorek, čímž zajišťuje, že přístrojem prochází vždy pouze jedna buňka. To zase umožňuje laseru zkoumat každou buňku jednotlivě. Průtoková cytometrie je mimořádně rychlá analytická technika, která dokáže analyzovat přibližně 30 000 buněk za sekundu. (McKinnon, 2018)

Měření zahrnuje sledování dvou typů rozptylu světla. Bylo prokázáno, že dopředné rozptylování světla (FSC) souvisí s rozměry buňky a její povrchovou plochou. Naopak boční rozptyl poskytuje informace o vnitřní struktuře buňky, její zrnitosti a složitosti. Fluorescence se používá k přesnějšímu a přesnějšímu rozlišení jednotlivých typů buněk. Tento proces zahrnuje vazbu specifických protilátek, které byly označeny fluorochromy, na dané buňky. Tyto fluorochromy jsou speciální barviva, která při ozáření laserem vyzařují světlo. K zaznamenání tohoto světla se používají detektory světla, které jej následně převádějí na data. Tato technika umožňuje současné měření mnoha parametrů na jedné buňce. Existuje celá řada průtokových cytometrů, od základních modelů až po vysoce pokročilé přístroje, které jsou schopné třídit buňky. (Kala a Zubair, 2024)

Pro získání spolehlivých výsledků je nezbytné zavést systém kontroly kvality. To zahrnuje pravidelné ověřování přístrojů (kalibrace) a použitých reagentů, jakož i použití vhodných

kontrolních vzorků k ověření přesnosti měření (např. kompenzační, izotypové nebo pozitivní a negativní kontroly). Získaná data jsou zpracována specializovaným softwarem a zobrazena ve formě grafů. Použití techniky známé jako selektivní ohrazení usnadňuje identifikaci a přesnou kvantifikaci specifických buněčných populací. Vzorky pro analýzu, nejčastěji periferní krev nebo kostní dřeň, by měly být zpracovány co nejrychleji po odběru, ideálně do 18 hodin. Standardní postup přípravy vzorků zahrnuje barvení buněk, odstranění červených krvinek lýzou a následné promytí. (Peruzzi et al., 2024)

Průtoková cytometrie má široké využití v klinické praxi a výzkumu. Jednou z nejčastějších a nejvýznamnějších aplikací výše uvedeného procesu je imunofenotypizace. Tato metodika usnadňuje přesnou klasifikaci buněčných typů podle povrchových nebo intracelulárních charakteristik. To je nezbytné pro diagnostiku a klasifikaci zhoubných onemocnění krve a lymfatického systému, včetně leukémie a nádorů plazmatických buněk. Byla identifikována řada klinických aplikací, včetně detekce minimální reziduální choroby, což je proces, při kterém se identifikuje přítomnost velmi malého množství zbývajících nádorových buněk v těle po léčbě. Dále bylo zjištěno, že použití této technologie usnadňuje diagnostiku některých poruch krve, jako jsou myelodysplastické syndromy, a také stanovení počtu významných imunitních buněk, včetně CD4+ T lymfocytů, u pacientů s HIV. Konečně se tato technologie ukázala jako užitečná při analýze neobvyklých buněk v různých tělních tekutinách. (Černý a Malinská, 2025)

V souvislosti s fetomaternální hemoragií (FMH), definovanou jako vstup fetální krve do krevního řečiště matky, se průtoková cytometrie stala moderní a přesnější analytickou technikou, která postupně nahrazuje konvenční a méně spolehlivý Kleihauer-Betke test (KBT). Průtoková cytometrie je v současné době považována za zlatý standard pro odhad objemu fetální krve a pro jasné rozlišení vzorků, u kterých došlo ke krvácení, od vzorků, u kterých ke krvácení nedošlo. Klíčem k dosažení tohoto rozlišení je souběžná analýza dvou markerů za použití protilátek namířených proti fetálnímu hemoglobinu (HbF), který je přítomen v červených krvinkách plodu, a proti enzymu karboanhydráze (CA). Tato kombinace umožňuje přesné rozlišení tří různých typů červených krvinek: fetálních červených krvinek (které obsahují HbF, ale neobsahují CA), mateřských F-buněk (které obsahují jak HbF, tak CA) a normálních mateřských červených krvinek (které neobsahují HbF, ale obsahují CA). (McKinnon, 2018)

Současná metoda se ukázala jako přesnější a snáze interpretovatelná než KBT, což potvrdilo několik studií. Navzdory významným výhodám, které průtoková cytometrie nabízí z hlediska přesnosti a citlivosti, je její využití v rutinní praxi FMH omezeno několika nevýhodami. Mezi ně patří náklady na vybavení, časová náročnost procesu a omezená dostupnost technologie, protože se obvykle provádí pouze ve specializovaných laboratořích. V oblasti testování FMH je běžnou praxí používání komerčně dostupných souprav. Analytický postup zahrnuje fixaci buněk, modifikaci permeability, barvení protilátkami a získávání dat z velkého počtu buněk, obvykle přesahujícího 100 000. Množství fetomaternálního krvácení se následně vypočítá pomocí upraveného matematického vzorce (Mollisonův vzorec). Je pozoruhodné, že studie prokázaly vysokou míru shody mezi množstvím fetálního hemoglobinu stanoveným alternativní metodou, konkrétně vysokotlakou kapalinovou chromatografií, a procentem fetálních buněk detekovaných průtokovou cytometrií. (Kala a Zubair, 2024)

3 KREVŇÍ SKUPINOVÉ SYSTÉMY

Krevní skupinové systémy jsou soubory antigenů na povrchu červených krvinek, které určují krevní skupinu jedince. Tyto antigeny jsou důležité při krevních transfuzích a imunitních reakcích, například v těhotenství při aloimunizaci. Nejznámější systémy jsou AB0 a Rh, ale existuje jich více než 30.

3.1 AB0 systém

Systém AB0, spolu se systémem RhD, představuje jeden z nejvýznamnějších erytrocytárních antigenních systémů. V případě inkompatibility může systém AB0 plnit ochrannou funkci v prevenci RhD aloimunizace tím, že snižuje množství fetálních či transfuzních erytrocytů přetrvávajících v krevním oběhu matky. Tento ochranný mechanismus je založen na rychlé eliminaci erytrocytů nekompatibilních v rámci AB0 systému, což následně omezuje kontakt mateřského imunitního systému s RhD antigeny. Tím dochází ke snížení pravděpodobnosti vzniku anti-D protilátek. (Petřek, 2019)

Inkompatibilita v systému AB0 se vyskytuje přibližně u 30 % všech těhotenství. Hemolýza, která je důsledkem této inkompatibility, je vždy pouze nízkého stupně a prakticky nikdy nevede ke klinicky závažné anémii plodu. Plod je obvykle schopen tuto hemolýzu kompenzovat bez nutnosti rozvoje extramedulární erytropoézy. Koncentrace bilirubinu ve fetální krvi nebývá zvýšená, což je dáno účinným vylučováním bilirubinu placentou. (Roztočil et al., 2015)

Inkompatibilita v systému AB0 může do určité míry chránit RhD negativní matku před senzibilizací RhD pozitivními erytrocyty plodu. Těžké formy RhD senzibilizace, které se vyskytly v průběhu první gravidity u žen bez předchozích těhotenství (primigravid nebo nullipar), byly zaznamenány výhradně v případech, kdy byla těhotná žena nositelkou plodu, který byl s ní v systému AB0 kompatibilní. (Hájek et al., 2014)

Antigeny systému AB0 se nacházejí nejen na povrchu červených krvinek, ale také v dalších tkáních lidského těla, zatímco antigeny systému Rh jsou lokalizovány výhradně na červených krvinkách. Protilátky systému AB0, tzv. aglutininy, se tvoří spontánně po narození bez předchozího kontaktu s cizími krvinkami. Naproti tomu protilátky proti Rh systému, například anti-D, vznikají pouze po předchozím kontaktu s Rh pozitivní krví,

k čemuž může dojít například během těhotenství nebo při krevní transfuzi. Zatímco v systému AB0 jsou hlavními antigeny A a B, v systému Rh má největší klinický význam antigen D, který je nejsilněji imunogenní. (Cendal a Krolak-Olejnik, 2021)

3.2 Rh systém

Rh systém představuje po systému AB0 druhý nejvýznamnější krevně-skupinový systém. V jeho rámci bylo identifikováno více než 50 různých antigenů, z nichž nejdůležitější jsou antigeny D, C, c, E a e. Hlavní antigeny systému Rh – C, D a E – se nacházejí výhradně na membráně červených krvinek. Z klinického hlediska je nejvýznamnější a zároveň imunologicky nejsilnější antigen D, který hraje zásadní roli v transfuzní medicíně a v těhotenství. (Holusková, 2013)

Rh systém byl objeven Landsteinerem v roce 1939, kdy identifikoval přítomnost protilátek v séru ženy po porodu, které reagovaly proti erytrocytům dítěte. Tyto protilátky byly namířeny proti antigenu, který plod zdědil po otci. Na základě přítomnosti nebo nepřítomnosti antigenu D se populace dělí na RhD pozitivní (asi 85 %) a RhD negativní (asi 15 %) jedince. RhD pozitivní jedinci antigen D exprimují na povrchu svých erytrocytů, zatímco RhD negativním tento antigen chybí. (Petřek, 2019)

Protilátky proti antigenům systému Rh se obvykle nevyskytují přirozeně, jejich vznik je podmíněn předchozí imunologickou stimulací. Ta nastává v situacích, kdy dojde ke kontaktu s erytrocyty nesoucími odlišné Rh antigeny, například při nesprávně provedené transfúzi krve nebo v důsledku fetomaternálního krvácení během těhotenství, kdy erytrocyty plodu proniknou do mateřského oběhu. V těchto případech může u RhD negativního jedince dojít k produkci protilátek proti RhD pozitivním erytrocytům, nejčastěji anti-D. U těhotné ženy s RhD negativní krevní skupinou, která nosí RhD pozitivní plod, mohou tyto protilátky procházet placentární bariérou a indukovat hemolýzu fetálních erytrocytů, což může vést ke vzniku HDFN. Tento patofyziologický mechanismus byl poprvé popsán Levineem. (Petřek, 2019)

Zásadním pokrokem v prevenci HDFN představuje zavedení profylaktického podávání anti-D imunoglobulinu RhD negativním ženám. Tento imunoglobulin se aplikuje zejména po porodu RhD pozitivního dítěte, případně při událostech během těhotenství, které mohou

vést k fetomaternálnímu přestupu krve. Hlavním cílem této profylaxe je zabránit rozvoji mateřské aloimunizace, tedy vzniku protilátek proti RhD antigenu fetálních erytrocytů. Díky této preventivní metodě došlo v rozvinutých zemích k výraznému poklesu výskytu těžkých forem fetální anémie i hemolytického onemocnění novorozence. (Holusková, 2013)

3.3 Anti – D protilátky

Protilátky anti-D patří mezi specifické aloprotilátky reagující s antigeny červených krvinek. Vzniká jako odpověď na přítomnost antigenu „D“, který je hlavním a zároveň imunologicky nejvýznamnějším antigenem Rh systému. Tento antigen byl zároveň prvním identifikovaným prvkem tohoto krevně skupinového systému a vyznačuje se silnou schopností vyvolat imunitní odpověď. U RhD negativních osob, které postrádají RhD protein, dochází při kontaktu s RhD pozitivními erytrocyty k rozpoznání rozdílné antigenní výbavy, což může vést ke vzniku anti-D protilátek. (Masopust a Písačka, 2022)

U RhD negativních těhotných žen může dojít k tvorbě protilátek v případě, že se do jejich krevního oběhu dostane určité množství RhD pozitivních fetálních erytrocytů, nejčastěji v důsledku fetomaternálního krvácení. Množství erytrocytů potřebné k vyvolání imunitní odpovědi se liší v závislosti na individuální citlivosti, avšak k rozvoji aloimunizace může postačovat již přibližně 0,1 ml fetální krve. Bez preventivního opatření dochází k imunizaci během těhotenství přibližně v 1–2 % případů. Vzniklé anti-D protilátky mohou způsobit závažné formy HDFN, přičemž riziko a intenzita onemocnění stoupají s každou další graviditou. Pokud není aloimunizace včas odhalena a HDFN není adekvátně léčena, může dojít k vážným zdravotním komplikacím či úmrtí plodu nebo novorozence. Před zavedením preventivního podávání anti-D imunoglobulinu byla právě anti-D protilátka příčinou většiny těžkých forem tohoto onemocnění – konkrétně se podílela na přibližně 90 % případů. (Holusková, 2013)

4 PREVENCE RhD ALOIMUNIZACE

Základem prevence RhD aloimunizace je podávání anti-D imunoglobulinu RhD negativním těhotným ženám, které nejsou senzibilizované, a které nosí RhD pozitivní plod.

4.1 Prevence aloimunizace

Doporučené postupy prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen v České republice byly vypracovány na základě principů medicíny založené na důkazech a výsledků grantových projektů financovaných Interní grantovou agenturou Ministerstva zdravotnictví ČR. Tato doporučení, vydaná Českou gynekologickou a porodnickou společností (ČGPS) České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně, představují aktualizaci předchozích pokynů z roku 2010 a byla formálně schválena výborem ČGPS dne 25. ledna 2013. Podání IgG anti-D imunoglobulinu je indikováno u všech RhD negativních žen, které dosud nevykazují přítomnost anti-D protilátek, po událostech s rizikem senzibilizace. V prvním trimestru těhotenství je doporučeno aplikovat dávku 50 µg IgG anti-D po situacích, jako jsou spontánní potrat doprovázený instrumentální revizí, mimoděložní těhotenství, umělé přerušení gravidity, chorionická biopsie či evakuace molárního těhotenství. (Lubušký et al., 2013)

Ve druhém a třetím trimestru těhotenství se doporučuje podání 100 µg IgG anti-D po invazivních výkonech či událostech s rizikem fetomaternálního přestupu krve, jako jsou amniocentéza, kordocentéza, fetální terapie, trauma břicha, pokus o vnější obrat plodu, intrauterinní úmrtí či porodní krvácení. V 28. týdnu je indikována antepartální profylaxe dávkou 250 µg. Po porodu RhD pozitivního novorozence se standardně podává 100 µg IgG anti-D, i když není znám RhD fenotyp dítěte. Imunoglobulin by měl být aplikován do 72 hodin po rizikové události, v případě zpoždění lze podat až do 13 dnů, výjimečně do 28 dnů. Po 20. týdnu těhotenství se doporučuje stanovit objem fetomaternální hemoragie pro přesné určení dávky, která se upravuje podle množství fetálních erytrocytů v mateřské krvi. (Lubušký et al., 2013)

Základní preventivní strategie spočívá v podání anti-D imunoglobulinu RhD-negativním ženám, které nejsou senzibilizované. V souladu s doporučeními kanadské SOGC se doporučuje jedna dávka 300 µg (odpovídající 1500 IU) v 28. týdnu těhotenství, nebo alternativně dvě dávky 120 µg v 28. a 34. týdnu. Po porodu se podává dávka 120–300 µg do 72 hodin po porodu RhD-pozitivního dítěte. Dávka se upravuje podle objemu

fetomaternálního krvácení; například v případě transfuze 30 ml fetální krve by měla být dávka zvýšena až o 10 µg za každý mililitr nad limit. (Fung-Kee-Fung et al., 2024)

Dle australských doporučení National Blood Authority (2024) byla v roce 2024 stanovena rutinní profylaxe ve formě dvou dávek 625 IU (přibližně 125 µg) v 28. a 34. týdnu těhotenství. Pokud není dostupný neinvazivní genetický test plodu, doporučuje se univerzální profylaxe; v opačném případě je možné zvolit cílený přístup na základě výsledků NIPT (neinvazivního prenatalního testování). NIPT z mateřské krve umožňuje s vysokou přesností stanovit RhD status plodu a očekává se, že v budoucnu přispěje ke snížení podávání imunoglobulinu ženám s RhD negativními plody.

Jak uvádějí Visser et al. (2021), navzdory vysoké účinnosti anti-D profylaxe je její celosvětové využití stále nízké, jak zdůrazňují mezinárodní organizace FIGO a ICM. Ve více než 50 % případů, kdy je podání imunoglobulinu indikováno, není podáno správně. Mezi nejčastější důvody patří nedostupnost, finanční náklady, nedostatečné školení personálu nebo selhání systému. FIGO proto vyzývá k zavedení strukturovaných programů imunoprofylaxe v zemích s nízkými příjmy a k upřednostnění podávání anti-D po porodu, během invazivních zákroků a jiných senzibilizujících událostí. Pro srovnání je třeba uvést, že RhD onemocnění je každoročně příčinou více než 160 000 perinatálních úmrtí v rozvojových zemích.

Je nezbytné zajistit, aby podání léku proběhlo v nejvhodnější okamžik. Všechna doporučení se shodují, že RhIG by měl být podán nejpozději do 72 hodin po spouštěcí události (porod, potrat, invazivní zákrok, krvácení atd.). V některých případech může být podání léku možné až 28 dní po události, i když je známo, že účinnost léku s časem klesá. Kvantifikace objemu fetomaternálního krvácení se obvykle provádí pomocí zavedených metod, jako je Kleihauer-Betke test nebo průtoková cytometrie. V případech, kdy objem fetální krve přesáhne 6 ml (což odpovídá 12 ml celé krve), je nezbytné dávku upravit. Bylo stanoveno, že 100 IU RhIG odpovídá 1 ml erytrocytů. (Fung-Kee-Fung et al., 2024)

Kromě toho byly zjištěny významné rozdíly v přístupu k podávání imunoglobulinu po 12. týdnu těhotenství. V Kanadě je například 300 µg považováno za dostatečnou dávku pro všechny procedury po 12. týdnu těhotenství. V raných fázích těhotenství (např. v případě potratu do 10. týdne) se však rutinní profylaxe obecně nedoporučuje, pokud není nutný

chirurgický zákrok nebo neexistují jiné rizikové situace. Naopak v Austrálii se profylaxe doporučuje individuálně, zejména v případě opakovaného krvácení, poranění nebo bolestivých stavů. (National Blood Authority, 2024)

Kromě dávkování a načasování je důležité zohlednit fenotypové varianty antigenu RhD. Například bylo prokázáno, že slabé typy D 1, 2 a 3 nepředstavují riziko aloimunizace, takže imunoprofylaxe není nutná. Naopak u jiných variant (např. částečný D) riziko přetrvává a doporučuje se imunoglobulin. Laboratoře by proto měly být schopny tyto varianty identifikovat a výsledky správně interpretovat. (Fung-Kee-Fung et al., 2024)

Genotypizace plodu je neinvazivní metoda, která umožňuje zjistit, zda plod nese určité antigeny červených krvinek, jako jsou RhD, C, c, E, K (Kell) nebo Fya (Duffy). Provádí se prostřednictvím NIPT testu (non-invasive prenatal testing), který analyzuje volně se vyskytující fetální DNA obsaženou v krevní plazmě těhotné ženy. Vyšetření je založeno na moderních laboratorních technologiích a využívá se především u těhotných žen, které jsou RhD-negativní nebo již vytvořily protilátky proti některému z antigenů. Cílem testu je určit, zda plod daný antigen zdědil, a posoudit tak možné riziko pro těhotenství. (Alford et al., 2023)

Pokud je například těhotná žena RhD-negativní, ale plod je RhD-pozitivní, doporučuje se preventivní podání anti-D imunoglobulinu, aby se předešlo rozvoji imunizace matky. Naopak pokud test prokáže, že plod RhD antigen nenese, není třeba imunoglobulin podávat. Podobně, pokud má těhotná žena protilátky proti jinému krevnímu antigenu, test pomůže určit, zda je plod ohrožen. Pokud plod antigen nezdědil, je možné se vyhnout zbytečnému sledování, vyšetřením nebo léčbě. Vyšetření tak přispívá k bezpečnější a cílenější péči o těhotnou ženu i plod. (Rego et al., 2024)

Test je možné provést již od 10. týdne těhotenství a má vysokou míru přesnosti bez ohledu na délku těhotenství nebo množství fetální DNA v krvi matky. Oproti dříve používaným metodám, které měly často nejednoznačné výsledky, přináší nové technologie spolehlivější vyhodnocení. Významnou výhodou je také to, že test nevyžaduje vzorek krve biologického otce. Díky své jednoduchosti, bezpečnosti a přínosu pro včasné rozhodování se genotypizace krevních antigenů stává důležitým nástrojem v prenatální péči, zejména u těhotenství s rizikem imunologických komplikací. (Alford et al., 2023)

4.2 Nepřímý antiglobulinový test

Saline-indirect antiglobulinový test (Saline-IAT) představuje tradiční variantu nepřímého Coombsova testu, která je založena na jednoduchém, ale přesném imunologickém principu. Tato metoda slouží k detekci volných protilátek (obvykle typu IgG) v séru nebo plazmě pacienta, které se mohou vázat na antigeny přítomné na povrchu erytrocytů. Inkubace probíhá v izotonickém fyziologickém roztoku bez použití potencujících činidel, což snižuje citlivost, ale zvyšuje specifitu testu. Po inkubaci následuje důkladné promytí buněk, které odstraní nenavázané složky. Přidáním antiglobulinového činidla (AHG) dochází ke zviditelnění vazby ve formě aglutinace. Tento test je považován za méně senzitivní než moderní metody s LISS nebo enzymy, avšak má důležitou roli v případech, kdy výsledky běžných metod nejsou jednoznačné nebo jsou rušeny interferencemi. (Niu et al., 2023)

Saline-IAT se používá především v komplexních imunohematologických situacích, například při potvrzování chladových protilátek (např. anti-M, anti-Lea, anti-P1), které mohou vykazovat teplotní závislost reaktivity. Dále je využíván při titraci klinicky významných protilátek a při odlišení autoprotilátek od aloprotilátek. Umožňuje identifikaci i těch protilátek, které se špatně detekují pomocí běžných metod, například některých protilátek systému Kidd. Výhodou testu je jeho jednoduchost, nízká nákladnost a dostupnost, což jej činí vhodným i pro menší laboratoře bez pokročilého vybavení. Na druhou stranu vyžaduje pečlivé technické provedení – správnou délku inkubace, vhodný poměr séra a erytrocytů a přesné promytí. V kontextu prenatální péče, i když Saline-IAT není primární screeningovou metodou, může být cenným doplňkem při řešení neobvyklých nálezů v sérologii, zejména u těhotných žen s komplexní transfuzní anamnézou nebo přítomností méně běžných protilátek. (Hamilton, 2019)

4.3 Management těhotenství

V managementu RhD aloimunizace došlo k zásadnímu pokroku díky možnosti neinvazivního stanovení Rh genotypu plodu z krve matky a využití dopplerovské velocimetrie k monitoraci známek fetální anémie. Tyto metody umožňují včasnou a přesnou diagnostiku, která je klíčová pro efektivní řízení HDFN. Efektivní péče vyžaduje multidisciplinární spolupráci odborníků napříč obory – od gynekologů a porodníků,

přes pediatri, hematology, farmaceuty až po specialisty na fetomaternální medicínu. Týmová součinnost je zvláště důležitá při rozhodování o nutnosti intrauterinních intervencí, jako jsou transfuze plodu, a o načasování porodu. Farmaceuti se podílejí na hodnocení potřeby RhD imunoprophylaxe, jejíž zavedení spolu s novorozeneckým screeningem vedlo k výraznému poklesu incidence HDFN. (Hall et al., 2025)

Kvalitní péče zahrnuje také integraci nejnovějších postupů založených na důkazech a efektivní komunikaci mezi všemi odborníky zapojenými do péče o matku i plod. Tímto způsobem lze optimalizovat výsledky léčby a zvýšit bezpečnost pro oba. Nedílnou součástí péče je rovněž edukace rodičů, která se soustředí zejména na rozpoznání příznaků hyperbilirubinémie u novorozence. Písemné i ústní poučení rodičů při propuštění z porodnice představuje klíčový moment, který podporuje včasnou detekci komplikací a zajišťuje dobrou spolupráci rodiny se zdravotnickým týmem. (Hall et al., 2025)

Při první prenatalní prohlídce je standardně zjišťována přítomnost anti-D protilátek u matky a krevní skupina obou rodičů. V souladu s doporučením České gynekologické a porodnické společnosti musí být všechny těhotné ženy v České republice vyšetřeny na přítomnost abnormálních erytrocytárních protilátek do konce 14. týdne těhotenství. Screening je založen na nepřímém antiglobulinovém testu (NAT), který detekuje mateřské aloprotilátky. Pokud je výsledek pozitivní, následuje podrobná identifikace a kvantifikace klinicky významných protilátek, zejména proti antigenům RhD, Rhc a Kell, které jsou nejčastějšími původci HDFN. (Ghesquière et al., 2018)

Po potvrzení aloimunizace se zahajuje detailní hodnocení rizika fetální anémie. To zahrnuje zhodnocení anamnézy, charakteristiky mateřských protilátek, genotypu otce a určení, zda plod nese antigen, proti kterému je imunní reakce namířena. Neinvazivní stanovení fetálního genotypu z volné fetální DNA v mateřské krvi umožňuje přesné určení antigenního statusu plodu bez rizika invazivních metod. Invazivní vyšetření, jako kordocentéza, jsou indikována pouze v případech, kdy je nutné přímo zjistit hematologický stav plodu a krevní skupinu. (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2017)

Management aloimunizace se odvíjí také od pořadí těhotenství. U prvního postiženého těhotenství bývá nástup fetální anémie pozdější a riziko těžké anémie nižší. Naproti tomu u opakovaných těhotenství je onemocnění závažnější, s rychlejším rozvojem anémie, přičemž titr protilátek není dostatečně spolehlivý ukazatel rizika. Klíčovou roli tak přebírá

dopplerovská sonografie s měřením maximální systolické rychlosti ve střední mozkové tepně (MCA-PSV). Hodnota MCA-PSV nad 1,5 MoM je důležitým signálem středně těžké až těžké fetální anémie a vyžaduje pečlivé sledování. (Dumitru et al., 2021)

Pravidelné ultrazvukové vyšetření, zaměřené na MCA-PSV, je základním nástrojem pro monitoraci stavu plodu a predikci anémie ještě před vznikem hydropsu, který představuje pokročilou fetální dekompenzaci. Současně se sledují známky srdeční zátěže, například trikuspidální regurgitace, nebo počínající hydrops. V závislosti na výsledcích těchto vyšetření se rozhoduje o nutnosti terapeutických postupů, jako je plazmaferéza, podání intravenózního imunoglobulinu (IVIG) či intrauterinní transfuze, které mají za cíl zlepšit stav plodu a minimalizovat riziko trvalého poškození. (Ghesquière et al., 2018)

Bezprostředně po porodu přechází péče o novorozence do kompetence pediatra, který provádí kompletní vyšetření včetně krevního obrazu, stanovení hladiny bilirubinu, krevní skupiny a přímého antiglobulinového testu. U novorozenců s těžšími formami HDFN bývá často nutná opakovaná výměnná transfuze, která pomáhá předcházet závažným komplikacím. Lehčí případy se většinou zvládnou intenzivní fototerapií, která efektivně snižuje hladinu bilirubinu a snižuje riziko kernikteru. (Lubušký et al., 2017)

4.4 Prenatální testy a screening protilátek

Základní prenatální testy se doporučují provést do konce 14. týdne těhotenství. Tyto testy by měly zahrnovat stanovení krevní skupiny AB0 + RhD těhotné ženy. Stanovení krevní skupiny AB0 se zakládá na přítomnosti antigenů A a/nebo B na erytrocytech i na přirozeně se vyskytujících protilátkách anti-A a anti-B v séru. Pokud jde o přítomnost protilátek souvisejících s krevní skupinou AB0, zdroje výslovně uvádějí, že se nedoporučuje testovat vysoké koncentrace imunoglobulinů anti-A a/nebo anti-B u těhotných žen. Toto doporučení je založeno na dvou klíčových faktorech: za prvé, na suboptimální reprodukovatelnosti těchto testů a za druhé, na relativně nízkém výskytu závažné hemolytické nemoci AB0 v populaci. V důsledku toho zdroje standardizují stanovení krevní skupiny AB0 (včetně skupiny A) jako základní krok, ale nedoporučují specifické testování zvýšených titrů protilátek anti-A/B jako rutinní postup. (Holusková et al., 2013)

Jako součást základního prenatálního screeningu by měla být přítomnost protilátek proti erytrocytům vyšetřena na začátku těhotenství, obvykle při první konzultaci s gynekologem a nejlépe před 10. týdnem těhotenství. Tento test se provádí současně

s krevní skupinou AB0 a RhD. Je nezbytné, aby všechny těhotné ženy, bez ohledu na jejich krevní skupinu AB0 a D, podstoupily opakované krevní testy v 28. týdnu těhotenství. Účel tohoto opakovaného testu je dvojitý: za prvé potvrdit krevní skupinu a za druhé vyšetřit přítomnost aloprotilátek. U žen s krevní skupinou D negativní, které jsou kandidátkami na rutinní prenatalní profylaxi anti-D (RAADP), se doporučuje odebrat vzorek pro screening protilátek v 28. týdnu před podáním první dávky RAADP. Tím se zabrání záměně pasivního anti-D z profylaxe s potenciálně nebezpečným imunitním anti-D. (Regan et al., 2025)

Screening protilátek proti erytrocytům u těhotných žen je základní součástí prenatalní péče. Primárním cílem tohoto postupu je identifikovat protilátky klinického významu, které jsou namířeny proti červeným krvinkám matky. Přítomnost těchto protilátek může představovat ohrožení plodu nebo novorozence a vyžadovat odpovídající zásahy. Tyto testy mají zásadní význam pro identifikaci aloprotilátek, která mohou vést k rozvoji HDFN. Přítomnost klinicky významných protilátek proti červeným krvinkám byla zjištěna přibližně u 1 % těhotných žen. Protilátka anti-D je nejčastějším typem protilátky detekované v těchto případech a je důležité poznamenat, že zavedení rutinní prenatalní profylaxe anti-D imunoglobulinem vedlo ke snížení prevalence senzibilizace na antigen D, ale také ke zvýšení počtu pozitivních screeningových testů na anti-D Ig ve třetím trimestru těhotenství. (Regan et al., 2025)

Screening protilátek proti červeným krvinkám vyžaduje použití kompatibilních buněk a metodik, které jsou v souladu se zavedenými protokoly pro transfuzní laboratoře. Nedílnou součástí tohoto screeningu je NAT, který se obvykle provádí s erytrocyty v roztoku s nízkou iontovou silou při inkubační teplotě 37 °C. Účelem tohoto testu je detekovat přítomnost protilátek IgG a komplementové složky C3d. Spolehlivost testu závisí na kvalitě použitých diagnostických erytrocytů, přítomnosti odpovídajících antigenů a citlivosti metody. Doporučuje se použít panel alespoň tří diagnostických erytrocytů pokrývajících klíčové antigeny. (Hamilton, 2019)

Použití enzymové technologie v rutinních screeningových postupech může vést k identifikaci protilátek, které mají zanedbatelný klinický význam, a to může vést k nutnosti dalších testů, které mohou být pro pacienty nákladné a nepohodlné. V případě pozitivního výsledku screeningu je nutné provést další testy, aby se stanovila specifita a klinický význam detekovaných protilátek, jejich koncentrace nebo síla (titrace/kvantifikace) a aby se posoudila pravděpodobnost HDFN. Aby byla zajištěna přesnost diagnózy, je nezbytné vyloučit opakovanými testy jiné klinicky významné aloantigeny. (Holusková et al., 2013)

4.5 Sledování senzibilizovaných těhotenství

Představuje klíčový aspekt současné porodnické péče a je zásadním prvkem prenatální péče v případech, kdy existuje zvýšené riziko vzniku HDFN. K senzibilizaci mateřského organismu dochází při průniku fetálních erytrocytů do mateřského oběhu, pokud matka vykazuje nesnášenlivost s erytrocytárními antigeny plodu, což vede k tvorbě protilátek proti těmto antigenům. Tento stav se diagnostikuje pomocí pozitivního nepřímého antiglobulinového (Coombsova) testu. (Hájek et al., 2014)

Senzibilizace může nastat prostřednictvím řady mechanismů, včetně podání neslučitelných krevních transfuzí, sdílení injekčního vybavení, transplacentárního přenosu fetálních erytrocytů během porodu, potratu, mimoděložního těhotenství, ukončení gravidity, po traumatu, krvácení či poranění během těhotenství, nebo v souvislosti s invazivními diagnostickými a terapeutickými postupy, jako je amniocentéza nebo odběr choriových klků. (Hájek et al., 2014)

Následná sekundární imunitní reakce vede k produkci protilátek typu IgG, které mají schopnost procházet placentární bariérou, což v přítomnosti cílového antigenu vede k hemolýze erytrocytů a následné anémii plodu. Nejvýznamnější z klinického hlediska jsou protilátky typu anti-D, jejichž množství se standardně sleduje. Péče o senzibilizované těhotné ženy zahrnuje pravidelné sledování hladiny nebo titru těchto protilátek, zpravidla v intervalu 2 až 4 týdnů. Hladina protilátek se vyjadřuje v mezinárodních jednotkách na mililitr (IU/ml). Specializovaná perinatologická pracoviště stanovují tzv. kritické hodnoty titru či koncentrace, jejichž překročení je spojeno se zvýšeným rizikem pro plod. U protilátek anti-D se za tuto hranici obvykle považuje koncentrace 4 IU/ml nebo titr 1:16, zatímco u anti-Kell protilátek je to titr 1:8. Pokud jsou tyto hodnoty překročeny, doporučuje se provést další vyšetření k posouzení ohrožení plodu. (Hájek et al., 2018)

To zpravidla zahrnuje neinvazivní stanovení RhD statusu plodu z periferní krve matky pomocí analýzy fetální DNA. Poté lze zvážit invazivní diagnostické postupy, včetně amniocentézy a kordocentézy, kterým však vždy předchází neinvazivní měření maximální rychlosti průtoku ve střední mozkové tepně. Je důležité si uvědomit, že samotná výše titru protilátek nevypovídá plně o jejich schopnosti způsobit hemolýzu. Tento účinek závisí na řadě dalších faktorů, jako je typ a koncentrace protilátek, jejich afinita k antigenu, izotyp

IgG, míra exprese příslušného antigenu na fetálních erytrocytech, gestační stáří plodu a další individuální okolnosti. První gravidita obvykle probíhá bez komplikací, pokud nebyla žena předtím imunizována, jelikož ke stimulaci imunitní odpovědi dochází zpravidla až po porodu RhD pozitivního novorozence. Z tohoto důvodu jsou rizika spojená s aloimunizací přítomna především u následujících těhotenství. (Hájek et al., 2018)

4.6 Role a péče porodní asistentky

Dle mezinárodní definice „*Porodní asistentka je uznávána jako plně zodpovědný zdravotnický pracovník; pracuje v partnerství se ženami, aby jim poskytla potřebnou podporu, péči a radu během těhotenství, porodu a v době poporodní, vede porod na svou vlastní zodpovědnost, poskytuje péči novorozencům a dětem v kojeneckém věku.*“ Tato péče zahrnuje prevenci, podporu přirozeného průběhu porodu, včasné odhalování komplikací u matky i dítěte, zajištění přístupu k lékařské péči nebo jiné potřebné pomoci a provádění nutných zásahů v naléhavých situacích. (Ministerstvo zdravotnictví ČR, 2021)

Dle Dušové et al. (2022) porodní asistentka hraje klíčovou roli v péči o těhotnou ženu s Rh inkompatibilitou a zajišťuje komplexní podporu ve všech oblastech potřeb těhotné. V rámci podpory zdraví plánuje pravidelná lékařská vyšetření včetně odběrů krve na stanovení krevní skupiny a přítomnosti protilátek, a ve 28. týdnu těhotenství zajišťuje aplikaci anti-D imunoglobulinu. Těhotné ženě poskytuje prostor k informování lékařem, provádí aplikaci imunoglobulinu a zajišťuje řádný zápis všech údajů do těhotenské průkazky. Dále se zaměřuje na správnou výživu odpovídající potřebám těhotné ženy, sleduje příjem tekutin, doporučuje dostatek vitamínů, železa, kyseliny listové a živočišných bílkovin. V rámci prevence poruch vylučování edukuje o vhodné životosprávě, sleduje pravidelnost stolice a kontroluje barvu a množství moči. Aktivně podporuje těhotnou v přiměřeném pohybu, zajišťuje dostatek odpočinku a v případě potřeby organizuje hospitalizaci na oddělení patologického těhotenství.

Porodní asistentka rovněž poskytuje emocionální oporu, sleduje psychický stav ženy, vnímání vlastního těla a pomáhá jí porozumět možným rizikům Rh inkompatibility. Edukuje ženu v oblasti sexuality v těhotenství a spolupracuje s její rodinou, aby zajistila harmonické prostředí. Při všech invazivních výkonech dbá na dodržení aseptických podmínek a ve třetí době porodní zajišťuje odběr pupečnickové krve pro stanovení Rh faktoru novorozence. V případě, že dítě je Rh pozitivní, aplikuje matce anti-D imunoglobulin. Sleduje také ozvy

plodu, tonus dělohy a plní ordinace lékaře. Porodní asistentka vytváří atmosféru důvěry, respektuje duchovní potřeby ženy a zajišťuje následnou edukaci o důležitosti nošení těhotenské průkazky pro případ neodkladné péče. Všechny tyto činnosti vykonává s cílem zajistit bezpečí, komfort a podporu zdravého průběhu těhotenství i porodu. (Dušová et al., 2022)

5 HEMOLYTICKÁ NEMOC NOVOROZENCE

Jedná se o patologický stav známý jako HDFN, který se vyvíjí v důsledku aloimunizace matky. Vývoj tohoto onemocnění je podmíněn expozicí imunitního systému matky erytrocytárním antigenům plodu, které jsou s její krevní skupinou imunologicky nekompatibilní, čímž dochází k vyvolání aloimunitní odpovědi a může rovněž nastat v důsledku podání inkompatibilní krevní transfuze. V reakci na tuto expozici začne mateřský organismus produkovat protilátky imunoglobulin G (IgG), které jsou schopné aktivně procházet placentou. Po přenosu do fetálního oběhu bylo prokázáno, že tyto protilátky vyvolávají destrukci (tj. hemolýzu) fetálních erytrocytů, což vede k rozvoji anémie. Bez adekvátní léčby může progresivní anémie vést k rozvoji hydrops fetalis, závažného stavu, který může být život ohrožující a vést k intrauterinní smrti plodu. (de Winter et al., 2022)

V případech, kdy plod přežije, může přetrvávající hemolýza po porodu způsobit u novorozence rozvoj anémie a hyperbilirubinémie. Neléčená hyperbilirubinémie může následně vést k těžkému poškození centrálního nervového systému, známému jako kernikterus. V současné době neexistuje žádná známá kauzální léčba HDFN, a proto jsou všechny terapeutické intervence primárně zaměřeny na prevenci tohoto onemocnění a minimalizaci nežádoucích účinků a komplikací s ním spojených. (Ansong-Assoku et al., 2025)

5.1 Klinické projevy

Klinické projevy HDFN se liší v závislosti na tom, zda se onemocnění projeví v období před porodem (antenatálně), nebo až po porodu (postnatálně). V antenatálním období bývá Rh inkompatibilita často odhalena náhodně během rutinního prenatalního screeningu mateřských protilátek, například anti-D, což značí riziko rozvoje HDFN. Následuje doplňující zobrazovací vyšetření, zejména ultrazvuk, kterým lze detekovat známky fetálního postižení.

Mezi nejzávažnější projevy patří hydrops fetalis – patologické hromadění tekutiny ve dvou či více tělních kompartmentech plodu, jako jsou ascites, pleurální či perikardiální výpotek. Neinvasivní posouzení fetální anémie se provádí pomocí měření maximální systolické

rychlosti průtoku krve ve střední mozkové tepně (MCA Doppler); hodnota vyšší než 1,5 MoM značí riziko fetální anémie (Gurley a Zieve, 2023).

Dále se může v průběhu těhotenství objevit placentomegalie, polyhydramnion, hepatosplenomegalie, otok kůže přesahující tloušťku 5 mm a další známky zhoršeného fetálního stavu. Tyto změny lze mnohdy zachytit ultrazvukovým vyšetřením již kolem 20. týdne těhotenství. Tyto pokročilé projevy HDFN signalizují těžkou fetální zátěž, která vyžaduje časté monitorování a případně i intrauterinní intervenci. (Hall et al., 2025)

Po porodu se HDFN u novorozenců obvykle projevuje časným nástupem ikteru a zvýšenou hladinou nekonjugovaného bilirubinu během prvních 24 hodin, což je důsledkem zvýšené hemolýzy. Mezi další postnatální příznaky patří anémie různého stupně, letargie, hepatosplenomegalie a ikterus sklér. U těžších případů se objevují také tachykardie, tachypnoe, hypotenze, bradykardie, cyanóza končetin, metabolické abnormality a trombocytopenie. Mírné výpotky mohou způsobit respirační tíseň, zatímco závažné vedou k plicní hypoplazii a život ohrožujícím stavům, jako jsou pneumothorax nebo chylothorax. Klíčovým diagnostickým nástrojem je DAT, jehož pozitivita spolu s laboratorními známkami hemolýzy potvrzuje diagnózu HDFN. Neléčená hyperbilirubinémie může vést ke kernikteru – závažnému a často ireverzibilnímu neurologickému poškození, které může způsobit spastickou mozkovou obrnu, senzorineurální hluchotu, hypotonii, podrážděnost, slabý sací reflex, retrocolis a opisthotonos, a v krajních případech i smrt. (Krumme et al., 2025)

5.2 Diagnostika

Diagnostika HDFN zahrnuje detekci nepravidelných protilátek proti erytrocytárním antigenům. K jejich identifikaci se používá nepřímý antiglobulinový test (Coombsův test). Při vyšetření je klíčové sledování titru protilátek, přičemž významnější, než absolutní hodnota je dynamika jeho změn. Kritické hodnoty titru se pohybují v rozmezí 1:8 až 1:32. (Procházka a kol., 2020)

K objektivnímu a neinvazivnímu stanovení závažnosti fetální anémie se využívá dopplerovské vyšetření, zejména měření maximální rychlosti průtoku krve v arteria cerebri media plodu (MCA-PSV). Zavedení této metody významně vedlo ke snížení počtu invazivních diagnostických výkonů, jako jsou amniocentéza či kordocentéza, o více

než 70 %. Těhotné ženy s rizikem fetální anémie by měly být monitorovány v odborných centrech disponujících zkušeným personálem a specializovaným vybavením pro tuto diagnostiku. (Lubušký et al., 2016)

Invazivní diagnostické metody zahrnují amniocentézu, která umožňuje stanovení krevní skupiny plodu z plodové vody, a analýzu volné fetální DNA v mateřské krvi, jež umožňuje časně určení Rh genotypu plodu. Tento postup je zvláště užitečný v případě Rh imunizace, kdy umožňuje identifikaci Rh negativních plodů, kteří nejsou ohroženi a nevyžadují další monitorování. Za současný standard při diagnostice a léčbě HDFN je považována transabdominální punkce pupečníku (kordocentéza) prováděná pod ultrazvukovou kontrolou, která umožňuje přímé vyšetření krevního obrazu plodu. Nicméně díky pokroku v ultrazvukové dopplerovské diagnostice se počet kordocentéz minimalizuje, aby se omezil počet invazivních zásahů (Procházka a kol., 2020).

Postnatální diagnostika zahrnuje pečlivé sledování klinických příznaků u novorozenců s rizikem HDFN, například u dětí, jejichž matky měly pozitivní nebo neznámý screening protilátek. Klinické projevy zahrnují žloutenku v prvních 24 hodinách po porodu, symptomatickou anémii, letargii, hepatosplenomegalii, ikterus sklér, tachykardii, tachypnoe, hypotenzi či v těžkých případech známky hydrops fetalis. Monitorování hladiny bilirubinu je prováděno transkutánním měřením (TcB) nebo stanovením celkového sérového bilirubinu (TSB). Charakteristickým znakem hemolýzy je rychlý vzestup bilirubinu – více než 0,3 mg/dL za hodinu během prvních 24 hodin nebo více než 0,2 mg/dL za hodinu po uplynutí této doby, což je typické pro HDFN. (Okulu, 2023)

Dalšími vyšetřeními jsou stanovení krevní skupiny novorozence a DAT z kordové krve nebo krve odebrané novorozenci. Kompletní krevní obraz a počet retikulocytů slouží k hodnocení závažnosti anémie. Při indikaci transfuze se provádí také křížová zkouška. Pozitivní DAT u novorozenců s mateřskou krevní inkompatibilitou (Rh, non-Rh či AB0) a laboratorními známkami hemolýzy potvrzuje diagnózu HDFN. V případě negativního DAT, například u některých AB0 inkompatibilit, je doporučeno provedení nepřímého antiglobulinového testu pro podporu diagnózy, jelikož některé inkompatibility nemusí být DAT spolehlivě zachyceny. (Hall et al., 2025)

5.2.1 Přímý antiglobulinový test

Přímý Coombsův test je také známý jako DAT a je považován za základní a klíčový laboratorní test. Tento postup se obvykle provádí na vzorku krve odebraném z pupeční šňůry bezprostředně po porodu nebo během prvních 24 hodin života. Primárním cílem této analýzy je detekce imunoglobulinů (převážně IgG), komplementu nebo obou, které jsou vázány na membránu červených krvinek novorozence. Test je určen k identifikaci mateřských protilátek proti červeným krvinkám (izotyp IgG), které prošly placentou a vázaly se na erytrocyty plodu nebo novorozence, čímž zahájily jejich destrukci. Tyto vázané protilátky byly identifikovány jako primární příčina imunologicky zprostředkované HDFN. Odborné organizace doporučují, aby byl DAT prováděn současně s typizací krve AB0/RhD u novorozenců při porodu jako standardní klinická praxe. Pozitivní výsledek DAT je považován za prospěšný pro diagnostiku HDFN a je spojen se zvýšeným rizikem následné neonatální hyperbilirubinémie. U novorozenců s gestačním věkem 35 týdnů nebo více se dokonce ukázalo, že pozitivní DAT je prediktorem extrémní hyperbilirubinémie. (Mustafa et al., 2025)

Postup se zahajuje odběrem vzorku krve pacienta, obvykle do zkumavky obsahující látku EDTA, která zabraňuje srážení a fixaci komplementu in vitro. Následně se červené krvinky (RBC) promyjí fyziologickým roztokem, aby se odstranily nevázané protilátky, které by mohly interferovat s testem. K promytým červeným krvinkám se poté přidá antiglobulinové činidlo, které je často polyspecifické a schopné detekovat IgG a/nebo komplement C3. Činidlo je připraveno pro vazbu na lidské protilátky nebo složky komplementu, které jsou již přímo vázány na červené krvinky. Přítomnost těchto protilátek nebo komplementu na RBC může vést k tvorbě aglutinátů nebo shluků. Shlukování je pozitivním výsledkem testu a obvykle se projeví 5 až 10 minut po přidání činidla; hodnotí se vizuálně nebo pod mikroskopem. (Theis a Hashmi, 2022)

5.3 Fetální anémie

Jedná se o závažný klinický stav charakterizovaný výrazným poklesem počtu erytrocytů v oběhu plodu, který je nejčastěji způsoben hemolytickou nemocí plodu a novorozence (HDFN). Patogeneze onemocnění je spojena s mateřskou aloimunizací, kdy imunitní systém RhD negativní matky vytváří protilátky proti antigenům na erytrocytech RhD pozitivního plodu. Tyto protilátky, převážně třídy IgG, přecházejí přes placentu a vedou k destrukci

fetálních erytrocytů. Nejčastějšími antigeny cílenými protilátkami jsou D, c a Kell. Kromě hemolýzy může produkce anti-Kell protilátek navíc potlačovat fetální hematopoézu, což komplikuje hodnocení závažnosti onemocnění. (Castleman et al., 2024)

Z klinického hlediska lze přítomnost fetální anémie stanovit pomocí neinvazivního měření rychlosti průtoku krve mozkovými tepnami (MCA-PSV). V závažnějších případech se anémie projevuje jako hydrops fetalis, který je definován jako patologické nahromadění tekutiny v různých tělních dutinách. Léčba těžké anémie zahrnuje intrauterinní transfuze červených krvinek, které jsou velmi úspěšné, ale nesou riziko komplikací, zejména pokud jsou prováděny před 22. týdnem těhotenství. Podání intravenózního imunoglobulinu (IVIg) oddaluje nutnost krevních transfuzí a zlepšuje perinatální prognózu. Zkoumá se také účinnost monoklonálních protilátek, které blokují přenos mateřského IgG přes placentu. Včasná diagnostika a vedení těhotenství v centrech fetální medicíny jsou klíčové pro minimalizaci rizik pro matku i plod. (Castleman et al., 2020)

Cílem managementu těhotenství s rizikem fetální anémie je prodloužit těhotenství tak, aby se předešlo prematuritě, ale zároveň ochránil plod před těžkým poškozením. Důležitá je dostatečná zralost plicních a jaterních enzymatických systémů, která snižuje riziko prolongované fototerapie a potřeby výměnné transfuze po porodu. U těžkých forem anémie, které vyžadují opakované intrauterinní transfuze, se poslední výkon provádí nejpozději ve 35. týdnu a těhotenství se ukončuje do 37. týdne, většinou císařským řezem. Intrauterinní transfuze však není absolutní indikací k operačnímu porodu. Během porodu dochází k přesunu krve z placenty do plodu, což zvyšuje hematokrit novorozence, ale výměnná transfuze bývá často nutná. (Procházka et al., 2020)

U střední formy onemocnění bez nutnosti transfuze je ideální ukončit těhotenství ve 38. týdnu, pokud nejsou přítomny známky zhoršující se anémie. Pokud však dojde k nárůstu MCA-PSV $>1,5$ MoM, trikuspidální regurgitaci nebo počínajícímu hydropsu, je nutné těhotenství ukončit ihned. Lehké formy bez známek dekompenzace (MCA-PSV $<1,5$ MoM, bez regurgitace a hydropsu) umožňují plánované ukončení do 39. týdne. Po porodu přebírá péči o novorozence pediatr – u těžších forem se provádí výměnná transfuze, u lehčích postačuje fototerapie. (Procházka et al., 2020)

5.4 Neonatální hyperbilirubinémie

Neonatální hyperbilirubinémie je stav charakterizovaný zvýšenou hladinou bilirubinu u novorozenců, který se projevuje zežloutnutím kůže a bělma očí. Bilirubin vzniká rozkladem hemoglobinu z fetálního hemoglobinu. U většiny novorozenců je tento stav způsoben fyziologickou žloutenkou, která je způsobena nezralými jaterními enzymy a zvýšeným rozkladem červených krvinek. Bylo zjištěno, že tento stav ve většině případů spontánně odezní. Klinický stav známý jako „patologická žloutenka“ je charakterizován podstatným zvýšením hladiny celkového bilirubinu v séru nebo výskytem konjugované hyperbilirubinémie, což vyžaduje důkladné diagnostické vyšetření. (Chastain et al., 2024)

Toxicita bilirubinu představuje vážné riziko v případech nekonjugované hyperbilirubinémie. Může vést k akutní encefalopatii nebo kernikteru, závažnému neurologickému onemocnění způsobenému poškozením mozku bilirubinem, nejčastěji v bazálních gangliích. Kernikterus může mít trvalé následky, mimo jiné mozkovou obrnu a poškození sluchu. Ačkoli je známo, že hladiny bilirubinu nemusí vždy přesně odrážet riziko, Americká pediatriká akademie (AAP) stanovila klinické pokyny pro screening a léčbu, které byly v roce 2022 revidovány s cílem upravit prahové hodnoty a zdůraznit genetické faktory. Primární léčebnou metodou je fototerapie, která transformuje bilirubin na látky snadno vylučitelné z těla a snižuje riziko kernikteru. (Kemper et al., 2022)

5.5 Léčba plodu a novorozence

Intrauterinní transfuze

Jedná se o specializovaný invazivní prenatalní výkon, při němž je za aseptických podmínek a pod ultrazvukovou nebo Dopplerovskou kontrolou aplikována erytrocytární transfuze přímo do fetálního krevního oběhu, nejčastěji přes pupečnickovou žílu, za účelem léčby těžké fetální anémie. Premedikace plodu se obvykle zahajuje podáním paralytického činidla intramuskulárně nebo intravenózně. Vzhledem k nižšímu riziku komplikací se doporučuje rutinní použití fetální paralýzy. (Zwiers et al., 2017)

Dokumentovaná míra přežití po IUT se pohybuje od 88,9 % do 100 %, přičemž mezi možné komplikace během nebo po zákroku patří krvácení z místa vpichu, ucpání pupeční šňůry, bradykardie nebo tachykardie, předčasné prasknutí plodových obalů (PPROM), předčasný porod nebo intrauterinní infekce. Tyto komplikace mohou vést k morbiditě matky, nutnosti

urgentního císařského řezu nebo intrauterinní smrti plodu. Ve zkušených centrech je míra komplikací přímo souvisejících s procedurou relativně nízká, přibližně 1,2 % na proceduru (3,3 % na plod), zatímco míra úmrtí plodu související s procedurou je přibližně 0,6 % na proceduru (1,8 % na plod). (van 't Oever et al., 2025)

Mezi rizikové faktory nepříznivých výsledků patří neprovedení paralýzy plodu, arteriální punkce a zavedení jehly do volné smyčky pupeční šňůry. IUT se obvykle provádí na počátku druhého trimestru, konkrétně před 20–22 týdny těhotenství, a je spojeno s významně vyšším rizikem komplikací a ztráty plodu (míra přežití 76–88 %). Toto zvýšené riziko je primárně způsobeno technickými obtížemi a zvýšenou závažností onemocnění během tohoto gestačního období. Riziko perinatální úmrtí je v těchto případech čtyřikrát vyšší než u zákroků prováděných v pozdějších fázích těhotenství. (Zwiers et al., 2017)

Fototerapie představuje primární způsob léčby novorozenecké žloutenky (známé také jako neonatální hyperbilirubinémie), která se vyskytuje u více než poloviny všech donošených novorozenců. Primárním cílem této léčby je účinně a bezpečně snížit zvýšené hladiny volného (nekonjugovaného) bilirubinu v séru, a tím zmírnit jeho neurotoxické účinky a riziko vzniku bilirubinové encefalopatie nebo kernikteru, které mohou vést k trvalému poškození nervového systému. Mechanismus fototerapie spočívá v použití světla, především modrého, protože bilirubin nejvíce absorbuje světlo v této části spektra, s maximem kolem 460 nm. Po vystavení světlu se nepolární nekonjugovaný bilirubin přemění na ve vodě rozpustné izomery, které jsou následně vylučovány z těla žlučí nebo močí, čímž se snižuje jeho koncentrace v krvi. (Wang et al., 2021)

Fototerapie je obecně považována za jednoduchou, dostupnou, neinvazivní a účinnou léčebnou metodu. Tento přístup často eliminuje nutnost invazivnějších postupů, jako je výměnná transfuze. Navzdory potenciálním rizikům spojeným s touto léčbou je fototerapie považována za klíčový a převážně bezpečný přístup k prevenci závažných neurologických následků hyperbilirubinémie. Standardizace a racionální použití fototerapie mají zásadní význam pro minimalizaci nežádoucích účinků a zajištění optimální péče o pacienty. (Ansong-Assoku et al., 2025)

Intravenózní imunoglobulinová terapie (IVIG) je významnou léčebnou metodou v perinatální péči, zaměřenou především na léčbu hemolytické nemoci plodu a novorozence

(HDFN). Jedná se o koncentrovaný přípravek obsahující především protilátky IgG, získaný ze směsi plazmy od zdravých dárců a podávaný intravenózně. Účinnost této terapie byla prokázána jejími ověřenými imunomodulačními účinky. Primárním cílem podávání intravenózního imunoglobulinu během těhotenství je prevence nebo oddálení nástupu těžké anémie u plodu. Tento neinvazivní přístup má potenciál odložit nutnost invazivní intrauterinní transfuze (IUT) na pozdější gestační věk, čímž se snižují rizika spojená s těmito zákroky. Mechanismus účinku u HDFN je primárně charakterizován kompetitivní inhibicí placentárního Fc receptoru (FcRn), který hraje klíčovou roli v přenosu mateřských protilátek na plod. Mateřské protilátky jsou navíc v krevním řečišti ředěny. Bylo prokázáno, že přítomnost těchto mechanismů vede ke snížení množství patogenních protilátek, které se dostanou k plodu. Výzkum prokázal, že podání IVIG má prokazatelný účinek na oddálení nástupu fetální anémie a snížení incidence fetálního hydropsu. (Lieberman et al., 2022)

V novorozeneckém období se IVIG používá jako doplněk fototerapie u novorozenecké žloutenky způsobené dědičnými poruchami hemoglobinu (HDFN) s cílem potenciálně snížit potřebu výměnných transfuzí. Bylo prokázáno, že IVIG má schopnost snížit nutnost výměnných transfuzí (v širším smyslu včetně odložených fetálních transfuzí) a zmírnit závažnost onemocnění u HDFN. IVIG terapie může být podávána v různých dávkách a frekvencích, například jednou týdně nebo jednou za tři týdny. Přestože je považována za relativně bezpečnou metodu, je třeba zvážit možnost nežádoucích účinků. Mezi tyto příznaky mohou patřit mírné projevy, jako jsou příznaky podobné chřipce, kožní reakce, horečka nebo bolesti hlavy. Byly však hlášeny i závažnější komplikace, včetně tromboembolie, neurologických problémů nebo problémů s ledvinami. Bylo prokázáno, že IVIG terapie je spojena se značnou finanční zátěží. (Lieberman et al., 2022)

Plazmaferéza představuje alternativní léčebnou metodu používanou během těhotenství k léčbě těžké HDFN, zejména v případech, kdy je dokumentována anamnéza těžké HDFN a gestační věk je méně než 20 týdnů, což jsou okolnosti, za kterých je intrauterinní transfuze (IUT) kontraindikována. Cílem tohoto postupu je odstranit IgG protilátky, včetně aloprotilátek proti erytrocytům, z krevního řečiště matky. Toho se dosáhne snížením množství protilátek transportovaných k plodu, čímž se oddálí rozvoj fetální anémie. (Yasuda et al., 2024)

Zatímco většina studií se zaměřuje na aloimunizaci protilátkami anti-D, některé případy naznačují, že plazmaferéza může být prospěšná i při aloimunizaci anti-M. V jedné kazuistice byla úspěšně použita selektivní plazmaferéza, která pomocí membránového separátoru odstraňuje malé a střední molekuly, včetně IgG, aniž by ovlivnila velké koagulační faktory, jako je fibrinogen, čímž se snižuje riziko krvácení. Navzdory absenci standardizovaného protokolu týkajícího se frekvence a intenzity léčby a nedostatku spolehlivé korelace mezi titry protilátek anti-M a závažností HDFN je plazmaferéza obecně považována za bezpečnou. V souladu s doporučeními Americké společnosti pro výměnné krevní metody (2016) by měla být tato léčba zvážena v časném těhotenství a pokračovat až do doby, kdy bude možné bezpečně provést IUT. (Maki et al., 2020)

Monoklonální protilátky

Konkrétně Nipocalimab se objevují jako potenciální alternativní terapie k IVIG. Nipocalimab je lidská monoklonální protilátka, která se selektivně váže na neonatální Fc receptor (FcRn) a blokuje jej. Tento receptor je klíčový pro transport mateřských IgG protilátek přes placentu. Účinnost nipocalimabu při snižování hladin cirkulujících IgG protilátek je způsobena jeho schopností blokovat FcRn. Tento mechanismus účinku je zvláště významný v kontextu HDFN, protože zahrnuje potlačení protilátek, o kterých je známo, že přispívají k tomuto onemocnění. (Cordell et al., 2024)

Ve studii fáze 2 UNITY, podle Cordella et al. (2024), bylo zkoumáno použití nipokalimabu u žen s vysokým rizikem časného nástupu těžké HDFN. V rámci studie bylo celkem 13 ženám podávána intravenózní infuze nipokalimabu jednou týdně. Kromě toho 54 % žen ve studijní skupině porodilo živé dítě ve 32. týdnu těhotenství nebo později bez nutnosti intrauterinní transfuze, zatímco v kontrolní skupině to bylo 10 %. Lék byl obecně dobře snášen, i když byly hlášeny závažné nežádoucí účinky, které mohly souviset s léčbou. Nipocalimab je rovněž předmětem výzkumu s ohledem na jeho potenciál pro léčbu řady dalších autoimunitních onemocnění. V současné době probíhá multicentrická randomizovaná studie fáze 3, která zkoumá použití nipokalimabu u těhotných žen s rizikem těžké HDFN. Je nezbytné postupovat opatrně a počkat na výsledky této studie, než bude lék zaveden do běžné klinické praxe.

ZÁVĚR

Tématem této bakalářské práce byla RhD aloimunizace, závažný imunologický jev, který může v těhotenství ohrozit zdraví a život plodu či novorozence. Hlavním cílem práce bylo shromáždit, zpracovat a předložit nejnovější odborné poznatky týkající se rizik, která aloimunizace představuje pro matku, a především pro plod, a zároveň poskytnout přehled dostupných preventivních opatření. Na základě studia odborné literatury, doporučených klinických postupů a současné praxe v oblasti perinatální péče lze konstatovat, že zvolený cíl byl naplněn.

Získané poznatky potvrzují, že RhD aloimunizace je stále aktuálním a klinicky závažným problémem, i přes zavedení rutinní prenatalní profylaxe anti-D imunoglobulinem. Ukázalo se, že i dnes se můžeme setkat s případy senzibilizace, které mají původ v nedostatečně identifikovaných rizikových situacích, nedodržení preventivních postupů, nebo výjimečně v nedostatečné imunitní odpovědi na podaný imunoglobulin. Tato práce podrobně rozebrala mechanismus vzniku aloimunizace, včetně významu antigenu „D“ systému Rh a schopnosti mateřských IgG protilátek přecházet placentární bariérou a působit destruktivně na erytrocyty plodu. Dále byly popsány i další faktory ovlivňující průběh imunologické odpovědi, jako jsou gestační stáří plodu, síla exprese antigenu, typ a podtřída protilátek či předchozí imunizační epizody.

Klinické dopady RhD aloimunizace byly shrnuty v souvislosti s HDFN, která může mít široké spektrum projevů – od mírné novorozenecké hyperbilirubinémie až po těžkou intrauterinní anémii vedoucí k hydrops fetalis a intrauterinní smrti plodu. Práce poukázala na zásadní roli pravidelného sledování titru nebo koncentrace anti-D protilátek během těhotenství a význam stanovení kritických hodnot, jejichž překročení vyžaduje intenzivní sledování nebo terapeutické zásahy, včetně neinvazivního sledování MCA-PSV nebo intrauterinních transfuzí.

Dílčím cílem práce bylo rovněž poskytnout přehled možností prevence aloimunizace, což se podařilo prostřednictvím podrobného rozboru současných doporučení České gynekologické a porodnické společnosti a zahraničních odborných institucí. Prevence RhD aloimunizace spočívá zejména v rutinním podání anti-D imunoglobulinu v těhotenství – nejčastěji ve 28. týdnu a bezprostředně po porodu RhD pozitivního novorozence. Dále je imunoprofylaxe indikována při všech potenciálně senzibilizujících událostech, jako jsou amniocentéza, krvácení, úrazy břicha či invazivní zákroky. Byly

zmíněny i metody stanovení objemu fetomaternálního krvácení, na jejichž základě se upravuje dávka podávaného imunoglobulinu – především pomocí Kleihauer-Betke testu nebo průtokové cytometrie.

Přestože výskyt aloimunizace byl díky těmto preventivním opatřením výrazně snížen, je stále zapotřebí vysoké úrovně bdělosti, systematického přístupu a edukace zdravotnického personálu i samotných těhotných žen. Práce poukázala na potřebu důsledného dodržování klinických doporučení, zajištění dostupnosti laboratorní diagnostiky a zlepšení záznamů o krevní skupině, RhD fenotypu a předchozích imunizačních událostech v dokumentaci pacientky. Tyto aspekty jsou klíčové pro včasné rozpoznání senzibilizace a účinné řízení rizikového těhotenství.

Z hlediska klinického přínosu práce lze zdůraznit, že důsledné sledování a management RhD negativních těhotných žen má zásadní vliv na prevenci závažných komplikací a perinatální mortality. Včasná identifikace rizika, zajištění odpovídající imunoprofylaxe a mezioborová spolupráce – zejména mezi gynekology, hematology, transfúzními specialisty a porodními asistentkami – hrají v této oblasti klíčovou roli. Porodní asistentka má nezastupitelnou úlohu v oblasti edukace, podpory těhotné ženy a včasného rozpoznání klinických rizik, což bylo rovněž v práci zdůrazněno. Její role se týká nejen technického zajištění profylaxe, ale i komunikace, psychosociální podpory a koordinace péče.

Závěrem lze konstatovat, že práce poskytla přehledný, aktuální a odborně podložený pohled na problematiku RhD aloimunizace. Hlavní i dílčí cíle byly splněny. Téma má nejen klinický, ale i edukační význam, protože včasná informovanost a znalost rizikových faktorů u RhD negativních žen může výrazně přispět ke snížení výskytu senzibilizace a s ní spojených komplikací. Vzhledem k vývoji nových diagnostických a terapeutických možností bude problematika aloimunizace i nadále vyžadovat průběžnou aktualizaci poznatků a důraz na důslednou preventivní péči v každodenní porodnické praxi. Do budoucna je rovněž žádoucí další výzkum v oblasti individualizace profylaxe, využití neinvazivních genetických metod ke stanovení RhD statusu plodu a zvyšování informovanosti laické veřejnosti o významu krevní skupiny a prenatální péče.

Doporučení pro praxi

Základem efektivní prevence hemolytické nemoci plodu a novorozence je včasný a opakovaný screening erytrocytárních protilátek, který by měl být ideálně zahájen již

v prvním trimestru těhotenství a následně opakovan ve 28. týdnu gravidity. Tento přístup umožňuje včasnou detekci případné senzibilizace matky vůči RhD antigenu nebo jiným erytrocytárním antigenům. V případě pozitivního nálezu senzibilizace je nezbytné těhotenství důkladně sledovat a řídit, přičemž klíčovou roli hraje pravidelné měření titru protilátek a hodnocení průtoku ve střední mozkové tepně plodu pomocí Dopplerovské ultrasonografie, což slouží jako citlivý a neinvazivní ukazatel závažné fetální anémie.

Moderní prenatalní péče významně využívá také neinvazivní metody, zejména diagnostiku RhD genotypu plodu z mateřské plazmy, která umožňuje přesné určení RhD statusu plodu bez nutnosti invazivních zákroků. Tato metoda přispívá k cílené a bezpečné aplikaci anti-D imunoglobulinu, čímž se minimalizuje zbytečné podávání této profylaxe a snižuje riziko nežádoucích účinků.

Klíčovou součástí prevence senzibilizace je včasné podání anti-D imunoglobulinu po všech rizikových situacích, jako jsou porod RhD pozitivního dítěte, potratu, invazivní prenatalní diagnostika či úrazy během těhotenství. Ošetřující personál musí důsledně dbát na správné dávkování a zejména na dodržení doporučeného časového rozmezí pro aplikaci, které je ideálně do 72 hodin od rizikové události.

V komplexní péči o senzibilizované ženy je nezbytná mezioborová spolupráce gynekologů, hematologů, transfuzních specialistů a porodních asistentek. Porodní asistentky zde mají nejen podpůrnou roli vůči těhotné ženě, ale zároveň jsou klíčové při administraci profylaxe, poskytování edukace a průběžném sledování stavu těhotné. Jejich aktivní zapojení výrazně zvyšuje kvalitu péče a přispívá k účinné prevenci závažných komplikací, jakými jsou hemolytická nemoc plodu a novorozence, čímž se významně zlepšují zdravotní výsledky matek i dětí.

Při zpracování bakalářské práce byla odborná literatura vyhledávána v několika mezinárodně uznávaných vědeckých databázích, konkrétně v PubMed, NCBI, ScienceDirect, Wiley Online Library, Taylor & Francis Online, BMC (BioMed Central) a Cureus. Dále byly využity články z odborných časopisů jako BJOG, BJH, TOG, JOGC a AJOG. Tyto databáze a časopisy představují důvěryhodné a recenzované zdroje, které poskytují přístup k aktuálním poznatkům. Vyhledávání bylo provedeno pomocí klíčových slov v českém i anglickém jazyce a časově omezeno na období 2015–2025.

Do rešerše byly zahrnuty pouze odborné články, přehledové studie a monografie splňující kritéria vědecké kvality. Přesto je třeba zmínit určité limity práce, které ovlivnily rozsah dostupných zdrojů. Některé odborné články nebylo možné do práce zahrnout z důvodu omezeného přístupu – byly dostupné pouze za poplatek nebo vyžadovaly přístup prostřednictvím předplacených institucionálních databází, ke kterým autor neměl oprávnění. Tato skutečnost mohla částečně ovlivnit úplnost rešeršní části a rozsah zahrnutých nejnovějších studií.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ANSONG-ASSOKU, Betty, ADNAN, Mohammad, DALEY, Sharon F. a ANKOLA, Pratibha A. *Neonatal Jaundice*. In: StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025 [cit. 2025-05-16]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532930/>

ALFORD, Brian, LANDRY, Brian P., HOU, Sarah, BOWER, Xavier, BUENO, Anna M., et al. Validation of a non-invasive prenatal test for fetal RhD, C, c, E, K and Fya antigens. *Scientific Reports* [online]. 2023, vol. 13, no. 1, article 12786 [cit. 2025-05-18]. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39283-3>.

ALKHAIBARY, Asma, ALI, Mohannad, TULBAH, Maha, AL-NEMER, Maha, KHAN, Rubina M., et al. Complications of intravascular intrauterine transfusion for Rh alloimmunization. *Annals of Saudi Medicine* [online]. 2021, vol. 41, no. 6, pp. 313–317 [cit. 2025-05-14]. DOI: <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2021.313>.

AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS. Practice Bulletin č. 181: Prevention of Rh D Alloimmunization. *Obstetrics & Gynecology*, 2017, roč. 130, č. 2, s. e57–e70. DOI: 10.1097/AOG.0000000000002232.

ARES, Sabrina Menes, NARDOZZA, Luciano Marcondes Machado, ARAUJO JÚNIOR, Edward, a SANTANA, Eduardo Félix Martins. Non-RhD alloimmunization in pregnancy: an updated review. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 2024, roč. 46, e-rbgo22 [cit. 2024-05-17]. DOI: 10.61622/rbgo/2024AO22.

ATHIEL, Yoann, Paul MAURICE, Agnès MAILLOUX, Stéphanie HUGUET-JACQUOT, Loriane FRANCHINARD, Cécile, et al. *Place actuelle du test de Kleihauer-Betke dans la surveillance de la femme enceinte* [online]. *Gynecology, Obstetrics, Fertility & Senology*, 2025, roč. 53, č. 4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2025.01.006>

BAPTISTA-GONZÁLEZ, Héctor A., RODRÍGUEZ-ALVARADO, Amparo G., BOUCHÁN-VALENCIA, Patricia, COETO-BARONA, Georgina a CORONADO-ZARCO, Irma A. Neonatal screening of ABO/RhD blood group and direct antiglobulin Coombs test. Experience of a single institution. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México* [online]. 2024, roč. 81, č. 2, s. 97–105 [cit. 2025-05-14]. DOI: 10.24875/BMHIM.24000032

CASTLEMAN, James, GURNEY, Leo, KILBY, Mark a MORRIS, R. Katie. *Identification and management of fetal anaemia: a practical guide* [online]. The Obstetrician & Gynaecologist, 2024 [cit. 2025-05-20]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/tog.12740>

CASTLEMAN, James S., MOISE, Kenneth J. Jr. a KILBY, Mark D. Medical therapy to attenuate fetal anaemia in severe maternal red cell alloimmunisation. *British Journal of Haematology* [online]. 2020, roč. 190, č. 6, s. 775–783 [cit. 2025-05-17]. DOI: <https://doi.org/10.1111/bjh.17041>

NDAL, Izabela M. a Barbara KROLAK-OLEJNIK. *Relationship between ABO blood groups and selected pregnancy conditions and neonatal diseases*. Ginekologia Polska [online]. 2021, roč. 92, č. 11, s. 818–821 [cit. 2025-05-21]. DOI: 10.5603/GP.a2021.0133. PMID: 34907520. ISSN: 0017-0011. Dostupné z: https://journals.viamedica.pl/ginekologia_polska/article/view/GP.a2021.0133

CHASTAIN, Andrew P., GEARY, Anne L. a BOGENSCHUTZ, Kevin M. Managing neonatal hyperbilirubinemia: An updated guideline. *JAAPA: Journal of the American Academy of PAs* [online]. 2024, roč. 37, č. 10, s. 19–25 [cit. 2025-05-17]. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.JAA.0000000000000120>

CORDELL, V., SOE, A., LATHAM, T. a BILLS, V. L. The Use of Novel Therapies in the Management of Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn (HDFN). *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* [online]. 2024, roč. 132, č. 4, s. 567–574 [cit. 2025-05-14]. DOI: 10.1111/1471-0528.18008

DE WINTER, Derek P., KAMINSKI, Allysen, TJOA, May Lee a OEPKES, Dick. Hemolytic disease of the fetus and newborn: systematic literature review of the antenatal landscape. *BMC Pregnancy and Childbirth* [online]. 2022, roč. 22, čl. 53 [cit. 2025-05-14]. DOI: 10.1186/s12884-022-05329-z

DELESTRE, Christophe, LEMOINE, Louis, LACOMBE, Pierre, LEMOINE, Julie a LACOMBE, Marie. Současné postavení testu Kleihauer-Betke v monitorování hemolytického onemocnění novorozence. *Transfusion Clinique et Biologique*, 2025, roč. 32, č. 2, s. 123–127. ISSN 2468-7189. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2025.01.005>

DUMITRU, Andreea, GICA, Nicolae, BOTEZATU, Radu, PELTECU, Gheorghe, DEMETRIAN, Mihaela a PANAITESCU, Anca Maria. Prognosis and management in subsequent Rh alloimmunized pregnancies. *Mædica – a Journal of Clinical Medicine*, 2021, roč. 16, č. 4, s. 681–684. DOI: 10.26574/maedica.2021.16.4.681

DUŠOVÁ, Bohdana, MIŘÁTSKÁ, Pavla, RASZYKOVÁ, Marie a STEBELOVÁ, Petra. *Péče porodní asistentky o těhotnou ženu s rizikovým a patologickým těhotenstvím*. Vydání první. Ostrava: Ostravská univerzita, 2022. s. 67–71. ISBN 978-80-7599-344-1.

FUNG-KEE-FUNG, Karen, WONG, Karen, WALSH, Jennifer, HAMEL, Candyce a CLARKE, Gwen. Guideline No. 448: Prevention of Rh D Alloimmunization. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, 2024, roč. 46, č. 4, s. 102449, [cit. 2025-05-24]. DOI: 10.1016/j.jogc.2024.102449.

GHESQUIÈRE, Louise; GARABEDIAN, Claire; COULON, Camille; VERPILLAT, Pierre; RAKZA, Thierry, et. al. Management of red blood cell alloimmunization in pregnancy. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, 2018, vol. 47, no. 5, s. 197–204. DOI: 10.1016/j.jogoh.2018.02.001

GURLEY, Kristen a ZIEVE, David. Rh Incompatibility. In: *StatPearls* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023 [cit. 2025-05-14]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557423/>

HÁJEK, Zdeněk a kol. *Rizikové a patologické těhotenství* [online]. Praha: Maxdorf, 2018 [cit. 2025-05-17]. ISBN 978-80-7345-563-8. Dostupné z: <https://www.bookport.cz>

HÁJEK, Zdeněk, ČECH, Evžen, MARŠÁL, Karel a kol. *Porodnictví*. 3., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2014. 580 s. ISBN 978-80-247-4529-9.

HALL, Victoria, VADAKEKUT, Elizabeth S., a AVULAKUNTA, Inderpal D. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. In: *StatPearls* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025 [cit. 2025-05-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557423/>

HAMILTON, J.R. Saline-indirect antiglobulin test. *Immunohematology* [online]. 2019, roč. 35, č. 4, s. 156–158 [cit. 2025-05-17]. DOI: <https://doi.org/10.21307/immunohematology-2020-032>

HEQUET, Olivier, MIALOU, Virginie, COGNASSE, Fabrice, MAZET, Stéphanie, CHELGHOUM, Yassine, REVESZ, Daniel, et. al. Simple method to predict lymphocyte collection for chimeric antigen receptor T-cell engineering. *Transfusion Clinique et Biologique* [online]. DOI: 10.1016/j.traccli.2025.01.005

HOLUSKOVÁ, Ivana, LUBUŠKÝ, Marek, STUDNIČKOVÁ, Miroslava a PROCHÁZKA, Miroslav. Erytrocytární aloimunizace těhotných žen, klinický význam a laboratorní diagnostika. *Česká gynekologie* [online]. 2013, roč. 78, č. 1, s. 89–94 [cit. 2025-05-19]. Dostupné z: <https://www.lubusky.com/clanky/76.pdf>

KAISER PERMANENTE SOUTHERN CALIFORNIA OBSTETRICS AND GYNECOLOGY DEPARTMENT. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2023 [cit. 2025-05-16]. DOI: 10.1016/j.ajog.2023.11.001.

KRUMME, Alexis A., SURUKI, Robert Y., BLACKETER, Clair, HARDIN, Jill, SWERDEL, Joel N., TJOA, May Lee a MARKHAM, Kara B. Characterization of severity of hemolytic disease of the fetus and newborn due to Rhesus antigen alloimmunization. *AJOG Global Reports* [online]. 2025, roč. 5, č. 1, s. 100439 [cit. 2025-05-19]. ISSN 2666-5778. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.xagr.2024.100439>

LUBUŠKÝ, Marek, HOLUSKOVÁ, Ivana, PROCHÁZKA, Martin, HÁLEK, Jan a KLÁSKOVÁ, Eva. Management těhotenství s rizikem rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence: Doporučený postup České gynekologické a porodnické společnosti (ČGPS) České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně (ČLS JEP). *Česká gynekologie*, 2017, roč. 82, č. 1, s. 82–84. ISSN 1210-7832.

LI, Xinyang, LI, Changfei a LIU, Tiemei. Overview of detection methods of fetomaternal haemorrhage. *Frontiers in Physiology* [online]. 2025, roč. 16, článek č. 1445757. ISSN 1664-042X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1445757>

LIEBERMAN, Lani, LOPRIORE, Enrico, BAKER, Jillian M., BERCOVITZ, Rachel S., CHRISTENSEN, Robert D. a et. al. International guidelines regarding the role of IVIG in the management of Rh-and ABO-mediated haemolytic disease of the newborn. *British Journal of Haematology* [online]. 2022, roč. 198, č. 1, s. 183–195 [cit. 2025-05-14]. DOI: <https://doi.org/10.1111/bjh.18170>

MAKI, Yohei, USHIJIMA, Junko, FURUKAWA, Seishi, INAGAKI, Hiroko, TAKENOUCHI, Hiroyuki, et al. Plasmapheresis for the Treatment of Anti-M Alloimmunization in Pregnancy. *Case Reports in Obstetrics and Gynecology* [online]. 2020 [cit. 2025-05-17]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2020/9283438>. ISSN 2090-6684.

McKINNON, Katherine M. Flow Cytometry: An Overview. *Current Protocols in Immunology* [online]. 2018, vol. 120, č. 5.1, s. 5.1.1–5.1.11 [cit. 2025-05-14]. DOI: <https://doi.org/10.1002/cpim.40>

MUSTAFA, Hiba J., SAMBATUR, Enaja V., SHAMSHIRSAZ, Alireza A., JOHNSON, Sonia a KHALIL, Asma. Monitoring and management of hemolytic disease of the fetus and newborn based on an international expert Delphi consensus. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2025, vol. 232, no. 3, s. 280–300. DOI: 10.1016/j.ajog.2024.11.003

NATIONAL BLOOD AUTHORITY. *Guideline for the prophylactic use of Rh D immunoglobulin in pregnancy care*. Version 1.0, 6 March 2024. Canberra: National Blood Authority, 2024. ISBN 978-0-6453281-2-7. Dostupné z: <https://www.blood.gov.au/guideline-prophylactic-use-rh-d-immunoglobulin-pregnancy-care>

NIU, Shuang, VETSCH, Megan, BEAUDIN, Lynnette, BODNAR, Melanie a CLARKE, Gwen. *Comparison of automated solid phase versus manual saline indirect antiglobulin test methodology for non-ABO antibody titration: Implications for perinatal antibody monitoring* [online]. *Transfusion*, 2023 [cit. 2025-05-20]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/trf.17571>

OKULU, Emel. Neonatal jaundice: Recommendations for follow-up and treatment. *Global Pediatrics* [online]. 2024, roč. 7, s. 100131 [cit. 2025-05-19]. ISSN 2667-0097. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.gped.2023.100131>

PAŘÍZEK, Antonín. *Kritické stavy v porodnictví*. 1. vyd. Praha; Kamenice: Galén; MCC Publishing, 2012. ISBN 978-80-7262-949-7.

PERUZZI, Benedetta, GUERRIERI, Serena, BIAGIOLI, Tiziana a ANNUNZIATO, Francesco. HPLC and flow cytometry combined approach for HbF analysis in

fetomaternal haemorrhage evaluation. *Practical Laboratory Medicine* [online]. 2024, vol. 38, e00401 [cit. 2025-05-14]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2024.e00401>

PETŘEK, Josef. Základy fyziologie člověka pro nelékařské zdravotnické obory. Praha: Grada, 2019. ISBN 978-80-271-2208-0.

REGAN, Fiona, VEALE, Katy, ROBINSON, Fiona a ROBINSON, Susan E. Guideline for the investigation and management of red cell antibodies in pregnancy: A British Society for Haematology guideline. *Transfusion Medicine* [online]. 2025, roč. 35, č. 1, s. 3–23 [cit. 2025-05-17]. DOI: <https://doi.org/10.1111/tme.13098>

ROZTOČIL, Aleš a kol. *Moderní porodnictví* [online]. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Maxdorf, 2015 [cit. 2025-05-17]. ISBN 978-80-7345-460-0. Dostupné z: <https://www.bookport.cz>

SANUSI, Nurul 'Adani, MOHD ASHARI, Noor Suryani, JOHAN, Muhammad Farid, EDINUR, Hisham Atan, MOHD NOOR, Noor Haslina, et al. Red Blood Cell Alloimmunization in Pregnancy: A Review of the Pathophysiology, Prevalence, and Risk Factors. *Cureus* [online]. 2024, roč. 16, č. 5, e60158. DOI: 10.7759/cureus.60158. [cit. 2025-05-18]. Dostupné z: <https://www.cureus.com/articles/60158>

STUDNIČKOVÁ, Michaela, EUBUŠKÝ, Marek, ORDELTOVÁ, Marie, PROCHÁZKA, Miroslav. Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie. *Česká gynekologie*, 2010, roč. 75, č. 5, s. 443–446. Porodnicko-gynekologická klinika FN Olomouc; Oddělení alergologie a klinické imunologie FN Olomouc.

THEIS, Samuel R. a HASHMI, Muhammad F. Coombs Test. In: *StatPearls* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022 [cit. 2025-05-14]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547707/>

VAN 'T OEVER, Renske M., VAN DUIJN, Vera M., SLAGHEKKE, Femke, HAAK, Marcel C., DE WINTER, Dick P., et al. Comparison of intrauterine transfusion techniques in hemolytic disease of the fetus and newborn. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* [online]. 2025, roč. 65, č. 5, s. 589–596 [cit. 2025-05-21]. DOI: 10.1002/uog.29201. ISSN 0960-7692.

VISSER, Gerard H. A., THOMMESEN, Trude, DI RENZO, Gian Carlo, NASSAR, Anwar H., SPITALNIK, Steven L. FIGO Committee for Safe Motherhood & Newborn Health. FIGO/ICM guidelines for preventing Rhesus disease: A call to action.

International Journal of Gynecology & Obstetrics, 2021, roč. 152, č. 2, s. 144–147. DOI: [10.1002/ijgo.13459](https://doi.org/10.1002/ijgo.13459).

WANG, Juan, GUO, Genxin, LI, Aimin, CAI, Wen Qi a WANG, Xianwang. Challenges of phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine* [online]. 2021, roč. 21, č. 4, čl. 328 [cit. 2025-05-17]. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2021.9662>

WARRIOR, Almond a ANANDINI, Mamta. Rh incompatibility: A case study. *IP International Journal of Medical Paediatrics and Oncology* [online]. 2022, roč. 8, č. 1, s. 36–38 [cit. 2025-05-17]. ISSN 2581-4702. Dostupné z: <https://pdf.ipinnovative.com/pdf/16160>

YASUDA, Shun, ONO-OKUTSU, Miho, FUKUDA, Toma, KYOZUKA, Hyo a FUJIMORI, Keiya. Double-Filtration Plasmapheresis and High-Dose Intravenous Immunoglobulin Therapy in a Case of Anti-M Alloimmunization. *American Journal of Perinatology Reports* [online]. 2024, roč. 14, č. 2, s. e101–e105 [cit. 2025-05-21]. DOI: [10.1055/s-0043-1777995](https://doi.org/10.1055/s-0043-1777995).

ZWIERS, Carolien, VAN KAMP, Inge, OEPKES, Dick a LOPRIORE, Enrico. Intrauterine transfusion and non-invasive treatment options for hemolytic disease of the fetus and newborn – review on current management and outcome. *Expert Review of Hematology* [online]. 2017, roč. 10, č. 4, s. 337–344 [cit. 2025-05-14]. DOI: [10.1080/17474086.2017.1305265](https://doi.org/10.1080/17474086.2017.1305265)

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AHG	– antihumánní globulin (Anti-Human Globulin)
CA	– karboanhydráza (Carbonic Anhydrase)
CD4+	– klastr diferenciac 4, typ imunitní buňky (Cluster of Differentiation 4)
ČGPS	– Česká gynekologická a porodnická společnost
ČLS JEP	– Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně
CNGOF	– Národní rada pro gynekologii, porodnictví a plodnost ve Francii (Conseil National de Gynécologie Obstétrique et Fertilité)
CNRHP	– Národní referenční centrum pro perinatální hemobiologii Centre national de référence en hémobio­logie périnatale
DAT	– přímý antiglobulinový test (Direct Antiglobulin Test)
EDTA	– kyselina ethylendiamintetraoctová, chelatační činidlo (Ethylenediaminetetraacetic Acid)
FcRn	– novorozenecký Fc receptor (Neonatal Fc Receptor)
FDA	– Úřad pro kontrolu potravin a léčiv USA (Food and Drug Administration)
FMH	– fetomaternální krvácení (Fetomaternal Hemorrhage)
FSC	– dopředný rozptyl světla (Forward Scatter)
HbA	– hemoglobin dospělého typu (Adult Hemoglobin)
HbF	– fetální hemoglobin (Fetal Hemoglobin)
HDFN	– hemolytická nemoc plodu a novorozence (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn)
HPLC	– vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High-Performance Liquid Chromatography)
IFIU	– nitroděložní úmrtí plodu (Intrauterine Fetal Death)
Ig	– imunoglobulin (Immunoglobulin)
IgG	– imunoglobulin třídy G (Immunoglobulin G)
IU/ml	– mezinárodní jednotky na mililitr (International Units per Milliliter)
IUT	– nitroděložní transfuze (Intrauterine Transfusion)
IVIG	– intravenózní imunoglobulinová terapie (Intravenous Immunoglobulin Therapy)
KBT	– Kleihauer–Betkeho test (Kleihauer–Betke Test)
LISS	– roztok s nízkou iontovou silou (Low Ionic Strength Solution)
M281	– monoklonální protilátka nipokalimab (Monoclonal Antibody Nipocalimab)

MCA-PSV	– maximální systolická rychlost v arteria cerebri media (Middle Cerebral Artery – Peak Systolic Velocity)
MFIU	– intrauterinní úmrtí plodu (Mort foetale in utero)
NAT	– nepřímý antiglobulinový test (Indirect Antiglobulin Test)
PPROM	– předčasné prasknutí plodových obalů (Preterm Premature Rupture of Membranes)
PSV MCA	– maximální systolická rychlost v arteria cerebri media (Peak Systolic Velocity in the Middle Cerebral Artery)
RAADP	– rutinní prenatální anti-D profylaxe (Routine Antenatal Anti-D Prophylaxis)
RBCs	– červené krvinky (Red Blood Cells)
Saline-IAT	– solný nepřímý antiglobulinový test (Saline-Indirect Antiglobulin Test)