

LÉKAŘSKÁ FAKULTA UNIVERSITY PALACKÉHO V OLMOUCI



**INCIDENCE, OBJEM A RIZIKOVÉ STAVY FETOMATERNÁLNÍ
HEMORAGIE PŘI PORODU**

Disertační práce

MUDr. Martina Studničková

Školitel: Doc. MUDr. Marek Ľubušký, Ph.D.

Školitel specialista: Doc. MUDr. Martin Procházka, Ph.D.

Olomouc 2012

Obsah

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	3
PODĚKOVÁNÍ.....	4
ÚVOD	5
SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	6
Erytrocytární aloimunizace v těhotenství.....	6
Hemolytická nemoc plodu a novorozence.....	11
<i>Diagnostika erytrocytární aloimunizace a hemolytické nemoci plodu</i>	12
<i>Terapeutické možnosti</i>	17
Prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen.....	22
Fetomaternální hemoragie	25
<i>Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie</i>	26
<i>Význam stanovení fetomaternální hemoragie</i>	31
CÍLE PRÁCE	34
SOUBOR A METODIKA	35
VÝSLEDKY	38
DISKUZE.....	59
ZÁVĚR.....	61
LITERATURA (CITACE UVEDENY DLE NORMY ČSN ISO 690).....	63
VĚDECKO-VÝZKUMNÁ ČINNOST AUTORA.....	85
Publikace	85
Přednášky a postery.....	86
Granty.....	92
SOUHRN	93
SUMMARY.....	94
PŘÍLOHY	95

Seznam použitých zkratek

AMC	amniocentéza
CA	karbonická anhydráza (carbonic anhydrase)
DNA	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
ELAT	enzyme linked antiglobulin test
FISH	fluorescenční in situ hybridizace (fluorescence in situ hybridization)
FMH	fetomaternální hemoragie
G6PD	glukóza-6-fosfátdehydrogenáza
HbF	fetální hemoglobin
HDN	hemolytická nemoc novorozence (hemolytic disease of the newborn)
HIV	virus způsobující syndrom získané imunodeficiency (human immunodeficiency virus)
IUTRF	intrauterinní transfuze
IVIG	intravenózní imunoglobulin (intravenous immunoglobulin)
IgG Anti-D	imunoglobulin anti-D
MCA-PSV	maximální průtoková rychlost v arteria cerebri media (middle cerebral artery peak systolic velocity)
MoM	násobky mediánu (multiples of the median)
PCR	polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
Rh	rhesus
UZV	ultrazvuk

Poděkování

Děkuji svému školiteli Doc. MUDr. Markovi Ľubuškému, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady a Prof. MUDr. Radovanovi Pilkovi, Ph.D. za umožnění vědecké práce na Porodnicko-gynekologické klinice FN Olomouc.

Prohlašuji, že jsem disertační práci napsala samostatně s využitím pouze uvedených a řádně citovaných pramenů a literatury a že práce nebyla využita v rámci jiného vysokoškolského studia či k získání jiného nebo stejného titulu.

V Olomouci 20. 3. 2012

.....

Úvod

V současnosti není v České republice při provádění prevence RhD aloimunizace standardně vyšetřován objem inkompatibilních erytrocytů plodu, které proniknou do mateřské cirkulace. IgG anti-D je podáváno RhD negativním ženám paušálně a v mnohem větších dávkách, než je skutečně potřeba. Na druhou stranu však není ani možné diagnostikovat případy, kdy je nutné podat dávku větší. Pro optimální provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen je důležité diagnostikovat stavy, kdy dochází k fetomaternální hemoragii (FMH), přesně určit její objem a následně podat potřebnou dávku IgG anti-D. Možnost spolehlivě detekovat fetomaternální hemoragii (FMH) a přesně určit její objem by umožnila provádět prevenci RhD aloimunizace u RhD negativních žen lépe a levněji. IgG anti-D by bylo možné podávat jen ve skutečně indikovaných případech a jen v dávce nezbytně nutné pro prevenci RhD aloimunizace. Cílem projektu je zjistit incidenci a objem fetomaternální hemoragie (FMH) při porodu, určit rizikové stavy, při nichž dochází častěji k větší FMH. Určení těchto parametrů by umožnilo optimalizovat doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace.

Současný stav řešené problematiky

Erytrocytární aloimunizace v těhotenství

Jestliže je člověk vystaven antigenu, který sám nevlastní, začne si proti němu vytvářet protilátky. Tento poznatek je základním principem vzniku erytrocytární aloimunizace matky v průběhu těhotenství. Jestliže plod zdědí po otci antigen, který se u matky nevyskytuje, začne její imunitní systém na základě setkání s tímto antigenem tvořit protilátky. Ty pak mohou pronikat přes placentu do krevního oběhu plodu, kde se naváží na fetální erytrocyty. Ty jsou následně vychytávány v retikuloendoteliálním systému plodu, což může vést k rozvoji hemolytické nemoci plodu či později novorozence.

Klinicky nejvýznamnějším antigenem, který erytrocytární aloimunizaci způsobuje, je antigen RhD. Před zavedením profylaxe anti-D imunoglobulinem byl příčinou vysoké morbidity i mortality novorozenců. Výskyt RhD negativity v evropské populaci je asi 15 % a přibližně 60% RhD negativních žen má RhD pozitivní plod. Z toho plyne, že přibližně 10 % těhotenství je RhD inkompatibilních. RhD antigen je silným antigenem, k RhD aloimunizaci může dojít již při průniku 0,1 ml fetálních erytrocytů do oběhu matky. V dalším těhotenství, jestliže je plod opět RhD pozitivní, pronikají protilátky anti-D do jeho oběhu a způsobují destrukci fetálních erytrocytů se všemi svými důsledky. Vzácně (asi v 0,6%) není exprese RhD positivity jasně vyjádřena, což znamená, že RhD pozitivní matka může začít tvořit anti-D protilátky. (1, 211)

Mezi další klinicky významné, avšak méně časté protilátky patří anti-C, anti-c, anti-E, anti-e a anti-G. (17, 20, 53, 100, 119) Relativně často se vyskytující protilátkou je protilátka anti-Kell (anti-K). (4, 18, 31, 55) K imunizaci dochází nejčastěji po podání Kell-positivní transfuze Kell-negativní ženě. Předpokládá se, že protilátky anti-Kell způsobují útlum erythropoézy destrukcí již progenitorových buněk, které ještě neobsahují hemoglobin, tudíž u novorozence nevzniká hyperbilirubinémie. Mezi vzácné protilátky, které mohou způsobit závažnou formu hemolytické nemoci plodu a novorozence patří anti-M, anti-N, anti-Fy^a, anti-Jk^a, anti-Di^a, anti-Di^B a některé další, jejichž přehled uvádí [tabulky 1.-3.](#) (38, 89, 99, 176)

Antigen system	Specific antigen	Antigen system	Specific antigen	Antigen system	Specific antigen
Frequently associated with severe disease					
Kell	K (K1)				
Rhesus	c				
Infrequently associated with severe disease					
Colton	Coa	MNS	Mta	Rhesus	HOFM
	Co3		MUT		LOCR
Diego	ELO		Mur		Riv
	Dia		Mv		Rh29
	Dib		s		Rh32
	Wra		sD		Rh42
	Wrb		S		Rh46
Duffy	Fya		U		STEM
Kell	Jsa		Vw		Tar
	Jsb	Rhesus	Bea	Other antigens	HJK
	k (K2)		C		JFV
	Kpa		Ce		JONES
	Kpb		Cw		Kg
	K11		Cx		MAM
	K22		ce		REIT
	Ku		Dw		Rd
	Ula		E		
Kidd	Jka		Ew		
MNS	Ena		Evans		
	Far		e		
	Hil		G		
	Hut		Goa		
	M		Hr		
	Mia		Hr0		
	Mit		JAL		
Associated with mild disease					
Dombrock	Doa	Gerbich	Ge2	Scianna	Sc2
	Gya		Ge3	Other	Vel
	Hy		Ge4		Lan
	Joa		Lsa		Ata
Duffy	Fyb	Kidd	Jkb		Jra
	Fy3		Jk3		

Tab. 1. Non-RhD protilátky a riziko hemolytické nemoci plodu a novorozence

Moise, KJ. Hemolytic disease of the fetus and newborn. In: *Maternal-Fetal Medicine Principles and Practice, 5th ed*, Creasy, RK, Resnik, R, Iams, JD (Eds), Saunders, Philadelphia 2004. p. 555. Copyright ©2004 Elsevier Science.

Blood system	Specific antigens	Severity of hemolytic disease of the newborn (HDN)	
Kell	K	Mild to severe	
	k	Mild	
	Ko	Mild	
	Kp(a)	Mild	
	Kp(b)	Mild	
	Js(a)	Mild	
	Js(b)	Mild	
Duffy	Fy(a)	Mild to severe	
	Fy(b)	Not a cause of HDN	
	Fy(3)	Mild	
Kidd	Jk(a)	Mild to severe	
	Jk(b)	Mild to severe	
	Jk(3)	Mild	
Lewis	Le(a)	Not a cause of HDN	
	Le(b)	Not a cause of HDN	
I	I	Not a cause of HDN	
	i	Not a cause of HDN	
MNSs	M	Mild to severe	
	N	Mild	
	S	Mild to severe	
	s	Mild to severe	
	U	Mild to severe	
	Mi(a)	Moderate	
	Mt(a)	Moderate	
	Vw	Mild	
	Mur	Mild	
	Hil	Mild	
	Hut	Mild	
	Lutheran	Lu(a)	Mild
		Lu(b)	Mild
Diego	Di(a)	Mild to severe	
	Di(b)	Mild to severe	
Xg	Xg(a)	Mild	
P	PP1P(k)	Mild to severe	
	P1	Not a cause of HDN	

Tab. 2. Méně časté erytrocytární protilátky spojované s hemolytickou nemocí plodu a novorozence – část 1

Weinstein, L. *Clin Obstet Gynecol* 1982; 25:327 and Reid, ME, Toy, PTCY. In: *Hematology of Infancy and Childhood*, 5th ed, Nathan, DG, Orkin, SH (Eds), WB Saunders, Philadelphia, 1998, p. 1768.

Blood system	Specific antigens	Severity of hemolytic disease of the newborn (HDN)
Public antigens	Yt(a)	Moderate to severe
	Yt(b)	Mild
	Lan	Mild
	En(a)	Moderate
	Ge	Mild
	Jr(a)	Mild
	Co(a)	Severe
Private antigens	Co(a-b-)	Mild
	Batty	Mild
	Becker	Mild
	Berrens	Mild
	Biles	Moderate
	Ch/RG	Not a cause of HDN
	Cromer	Mild
	Dombrock	Mild
	Evans	Mild
	Gerbich	Not a cause of HDN
	Gonzales	Mild
	Good	Severe
	H	Not a cause of HDN
	Heibel	Moderate
	Hunt	Mild
	Indian	Not a cause of HDN
	Jobbins	Mild
	Knops	Not a cause of HDN
	LW	Mild
	Radin	Moderate
	Rm	Mild
	Scianna	Not a cause of HDN
	Ven	Mild
	Wright(a)	Severe
	Wright(b)	Mild
XK	Not a cause of HDN	
Zd	Moderate	

Tab. 3. Méně časté erytrocytární protilátky spojované s hemolytickou nemocí plodu a novorozence – část 2

Weinstein, L. *Clin Obstet Gynecol* 1982; 25:327 and Reid, ME, Toy, PTCY. In: *Hematology of Infancy and Childhood*, 5th ed, Nathan, DG, Orkin, SH (Eds), WB Saunders, Philadelphia, 1998, p. 1768.

Inkompatibilita v ABO systému se vyskytuje v přibližně 30% těhotenství. K hemolýze může dojít, jestliže má matka krevní skupinu 0 a dítě A nebo B, a to již v prvním těhotenství. Anemie bývá většinou jen mírná. U nezralých novorozenců se však po porodu může rozvinout závažná hyperbilirubinémie. ABO inkompatibilita často působí jako protektivní faktor proti RhD aloimunizaci, kdy fetální erytrocyty proniklé do krevního řečiště matky jsou destruovány mateřskými protilátkami dřív, než dojde k senzibilizaci antigenem RhD. (7, 33, 38, 103, 150)

Hemolytická nemoc plodu a novorozence

Na základě destrukce fetálních erytrocytů dochází nejprve u plodu k vystupňování intramedulární hematopoézy a zvyšuje se počet retikulocytů. Jestliže dojde k závažné anemii, začíná se rozvíjet i erytropoéza extramedulární. Následkem toho se zvětšují játra a slezina jako zdroj erytropoézy a v periferní krvi plodu se objevují nezralé formy erytrocytů, tzv. erytroblasty. V důsledku přetížení jater se rozvíjí portální hypertenze a hypalbuminémie.

Při lehkých formách anemie klesá množství kyslíku v krvi plodu, nemění se však zatím jeho parciální tlak. Proto nedochází k redistribuci krevního oběhu. Naopak při závažných formách anemie se rozvíjí hypoxémie, což má za následek redistribuci krve s preferenčním zásobením mozku a srdce plodu a dochází k hyperdynamické cirkulaci. Postupně dojde k srdečnímu selhávání a při poklesu hematokritu pod 12% následuje hydrops plodu, v krajním případě jeho úmrtí. Pro tyto plody je charakteristické zvětšení srdce, hepatosplenomegalie s portální hypertenzí a se selháváním jater, hypalbuminémie, anasarca, ascites, polyhydramnion a ztlustění placenty.

I přes včasný porod je novorozenec stále ohrožen progresí hemolytické nemoci. Prohlubuje se totiž anemie, jelikož mateřské protilátky stále přetrvávají v oběhu dítěte a nadále proto dochází k rozpadu jeho erytrocytů (časná anemie). Navíc po opakovaných intrauterinních transfuzích může být erytropoéza výrazně utlumena (pozdní anemie). Další riziko představuje hyperbilirubinémie. Až do porodu se volný bilirubin vylučuje přes placentu do oběhu matky. Játra novorozence však ještě nejsou dostatečně zralá, aby mohla zvýšené množství bilirubinu odbourat. Ten se pak ukládá v bazálních gangliích mozku a bez adekvátní terapie se vyvine tzv. kernikterus (jádrový ikterus). Tento stav většinou končí smrtí, přeživší děti jsou pak těžce postižené, trpí spastickou choreoatetózou, percepční hluchotou a mentální retardací. Obecně platí, že novorozenec z imunizovaného těhotenství je ohrožen nezralostí více než novorozenec stejného gestačního stáří z normální gravidity. (33, 150)

Diagnostika erythrocytární aloimunizace a hemolytické nemoci plodu

1. Screening nepravidelných antierythrocytárních protilátek

U všech těhotných žen by měla být na začátku gravidity mezi 11. a 13. týdnem vyšetřena krevní skupina v ABO systému a Rh faktor a screening nepravidelných antierythrocytárních protilátek. Vyšetření antierythrocytárních protilátek se u RhD negativních žen opakuje ještě ve 28. týdnu. (233) Jestliže se přítomnost protilátek potvrdí, stanoví se jejich typ a titr. Toto vyšetření se provádí pomocí nepřímého Coombsova testu. Za kritický titr se považuje taková hladina protilátek, která je spojena s vysokým rizikem rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence, většinou 1:8 – 1:32. Výjimkou je protilátka anti-Kell, její titr nekoreluje se stavem plodu a i velmi nízké titry mohou být spojeny se závažnou formou hemolytické nemoci, naopak u protilátky anti-E ani vysoké titry závažnou formu nezpůsobují.

Screening protilátek však můžeme použít spíše jen jako rizikový faktor rozvoje hemolytické nemoci plodu a novorozence. Rozhodně se na něj nelze spoléhat v predikci závažnosti fetální anemie. Hemolytický potenciál protilátky je závislý na mnoha faktorech jako je specifická koncentrace, avidita, IgG podtřída, síla exprese cílového antigenu na fetálních erythrocytech, gestační stáří, přítomnost blokujících protilátek v séru matky či schopnost retikuloendotelového systému destruovat senzibilizované erythrocyty. (103, 150) Z anamnestických údajů je také důležité vědět, jestli se v minulých těhotenstvích vyskytla hemolytická nemoc plodu a novorozence a jaký měla průběh.

2. Stanovení genotypu

Stanovení genotypu otce dítěte nám může usnadnit další management péče o těhotnou s potenciální aloimunizací. Je-li otec RhD negativní, plod nemůže být RhD pozitivní a další sledování gravidity není nutné. Naopak je-li otec homozygot pro D alelu, plod musí být RhD pozitivní. A nakonec, je-li heterozygot pro D alelu, je 50% pravděpodobnost, že plod je RhD pozitivní. Tato teorie však naráží na skutečnost, že až v 5% těhotenství není skutečný

biologický otec shodný s otcem uváděným v rodném listu dítěte. Tudíž i z etického hlediska není toto vyšetření příliš vhodné.

Naopak stanovení genotypu samotného plodu může být velmi přínosné. Vyšetření provádíme jednak invazivně pomocí PCR z amniocytů, choriových klků či kordocentézy. Při užití prvních dvou metod však musíme počítat s 1-3% rizikem falešné negativity, navíc tyto invazivní výkony mohou zesílit imunitní reakci rodičky. Genotyp plodu lze dnes stanovit i neinvazivně, a to analýzou volné fetální DNA z mateřské krve. Zdrojem této DNA jsou apoptotická tělíska trofoblastu pronikající do krevního oběhu matky spirálními artériemi. (82, 84, 88, 110, 141, 150)

3. Ultrazvukové vyšetření

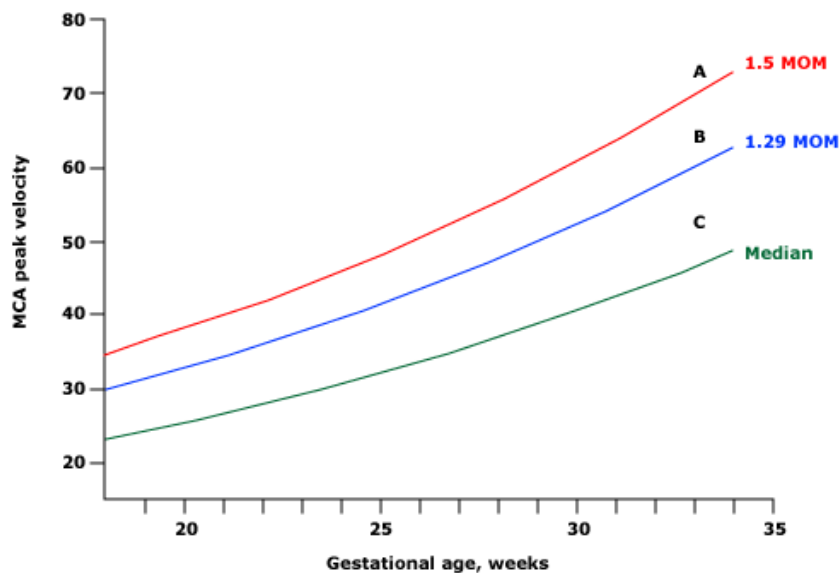
Pomocí ultrazvukového vyšetření můžeme neinvazivně sledovat markery rozvoje hemolytické nemoci plodu. Patří mezi ně zvětšení biventrikulárního průměru srdce, s čímž souvisí i snížení thorako-kardiálního indexu pod 2, rozšíření umbilikální vény, ztlustění placenty, polyhydramnion, hydrotorax, hydroperikard, ascites a hepatosplenomegalie. Tyto nálezy však již poukazují na rozvinuté onemocnění plodu a selhávání kompenzačních mechanismů rozvinuté těžké anemie.

4. Dopplerometrie

U anemických plodů dochází následkem poklesu viskozity krve a zvýšení srdečního výdeje ke zvýšení průtokové rychlosti ve fetálních cévách – tzv. hyperdynamická cirkulace. U lehčích forem anemie však nedochází k redistribuci krevního oběhu s preferenčním zásobením srdce a mozku, protože není ovlivněn parciální tlak kyslíku a oxidu uhličitého. Redistribuce nastává až u těžkých forem anemie, kdy je již přítomna hypoxémie.

Dopplerometrie představuje nejvýznamnější neinvazivní metodu k určení závažnosti fetální anemie. Existuje totiž závislost mezi průtokovou rychlostí krve a hematokritem plodu ([graf 1.](#)). (155) Nejvhodnější cévou k predikci stupně fetální anemie je

arteria cerebri media, konkrétně její maximální průtoková rychlost (MCA-PSV) (obr. 1.). Jako kritické hodnoty se používají násobky mediánu (MoM), konkrétně 1,5 MoM. Svou roli hraje dynamika růstu MCA-PSV, nejen její absolutní hodnota. Stanovení MCA-PSV má až 100 % senzitivitu, podmínkou je dokonalé zvládnutí metodiky měření. Tato metoda však po opakovaných transfuzích selhává. (153) Jako další dopplerometrický marker potom můžeme využít hodnocení přítomnosti systolické atrioventrikulární regurgitace jako známky hrozícího rozvoje hydropsu plodu. (12, 30, 33, 46, 64, 65, 67, 145, 146, 148, 149, 150, 154, 160)

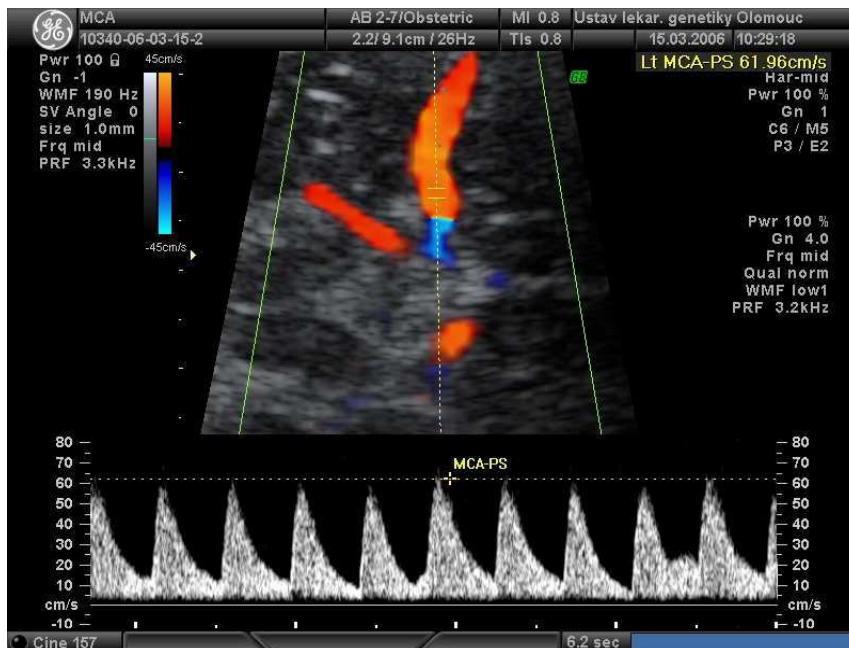


Graf 1. MCA peak velocity

A: středně těžká až těžká anémie, B: lehká anémie, C: bez anémie

MCA: middle cerebral artery; MOM: multiples of the median.

Mari, G, for the Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. N Engl J Med 2000; 342:9.



Obr. 1. Stanovení maximální průtokové rychlosti v arteria cerebri media (MCA-PSV)

5. Amniocentéza (AMC)

Pomocí AMC a spektrofotometrie můžeme měřit koncentraci bilirubinoidů v plodové vodě jako následek hemolýzy plodu. Vzhledem k invazivitě, nízké senzitivitě i specifitě se již toto vyšetření nepoužívá.

6. Kordocentéza

Kordocentéza se provádí transabdominálně pod ultrazvukovou kontrolou. Jelikož se jedná o invazivní metodu, využíváme ji tehdy, jestliže předpokládáme, že bude následovat intrauterinní transfuze. Pomocí punkce pupečnicku jsme schopni vyšetřit krevní obraz plodu a spočítat přesnou dávku intrauterinní transfuze. Navíc můžeme určit i genotyp plodu a případnou infekci některými viry, které mohou způsobit anemii plodu (parvovirus B19, cytomegalovirus). Riziko komplikací kordocentézy je kolem 1%, může se vyskytnout bradykardie plodu či trombóza umbilikální vény, je zde i riziko vzniku chorioamnionitidy.

Všechny uvedené metody shrnuje následující tabulka (tab. 4.).

Neinvazivní
screening protilátek
stanovení genotypu <ul style="list-style-type: none"> • otce • plodu
ultrazvukové vyšetření
dopplerometrie <ul style="list-style-type: none"> • MCA-PSV • systolická atrioventrikulární regurgitace
Invazivní
amniocentéza
kordocentéza

Tab. 4. Diagnostické metody k predikci fetální anémie

Terapeutické možnosti

1. Plazmaferéza

Plazmaferézu je možné provádět již od 12. týdne těhotenství. Využívá se ke snížení koncentrace protilátek v mateřské cirkulaci, čímž dokáže oddálit podání intrauterinní transfuze v řádu týdnů. Tento výkon je však nákladný, výsledek je jen dočasný a existuje při něm riziko přenosu krví přenášených nemocí jako hepatitida C a HIV. Plazmaferéza je využitelná zejména u rodiček, u nichž se v předchozím těhotenství rozvinul hydrops plodu už před 20. týdnem těhotenství. (33, 150)

2. Nespecifický sérový imunoglobulin

Obdobně jako plazmaferéza by měla být tato metoda užívána pouze u těhotenství, kde je vysoké riziko časného rozvoje těžké hemolytické nemoci plodu v době, kdy ještě nelze podat intrauterinní transfuzi. Spočívá v intravenózním podání imunoglobulinu, což vede ke snížení produkce mateřských protilátek. (33, 150)

3. Intrauterinní transfuze (IUTRF)

V dnešní době se jedná o nejefektivnější metodu léčby těžké fetální anémie. Je indikována při poklesu hematokritu plodu pod 30 %. Intrauterinní transfuze se provádí pod ultrazvukovou kontrolou nejčastěji cestou vena umbilicalis, a to u jejího placentárního úponu. Používáme ozářený a deleukotizovaný 0 RhD negativní koncentrát s hematokritem 0,75-0,85. Objem podané krve se počítá podle různých vzorců, kdy je třeba znát přibližnou hmotnost plodu a výchozí hematokrit. Neměl by však přesáhnout 20 ml na 1 kg plodu, mohlo by totiž dojít k oběhovému selhání v důsledku vysoké viskozity krve. Transfuzi je možné zopakovat v případě potřeby za 48 hodin. Výkon provádíme až do doby, kdy můžeme bezpečně těhotenství ukončit, tedy do životaschopnosti plodu, v 7-10 denních intervalech. Úspěšnost léčby je vysoká, u plodů před rozvojem hydropsu až 95 %. (167, 168)

Jako každý invazivní výkon, ani IUTRF není bez rizika. Často dochází k bradykardii plodu, která se však většinou spontánně upraví. Mezi méně časté (1-3%), ale velmi závažné komplikace patří akutní srdeční zástava plodu, trombóza umbilikální vény, akutní tamponáda pupečníku, trombembolie plodu, krvácení z pupečníku až exsanguinace plodu, poranění placenty může způsobit akutní abrupci. Všechny tyto závažné komplikace vyžadují akutní ukončení těhotenství císařským řezem. Plod je ohrožen také rozvojem chorioamnionitidy nebo předčasným odtokem plodové vody, navíc se může zhoršit i stupeň aloimunizace. Poslední IUTRF se provádí nejpozději ve 35. týdnu těhotenství, kdy se již předpokládá, že riziko prematurity je nižší než riziko samotné IUTRF.

4. Péče o novorozence

Po porodu vyžadují novorozenci z aloimunizované gravidity specializovanou péči. Jsou více ohroženi nezralostí než stejně staří jedinci z neimunizované gravidity. Vyskytuje se u nich zejména opožděná maturace plic, zvýšené riziko intrakraniálního krvácení v důsledku trombocytopenie nebo leukopenie s vyšším rizikem rozvoje infekce. Plod je ohrožen nejen anemií, ale i hyperbilirubinemií.

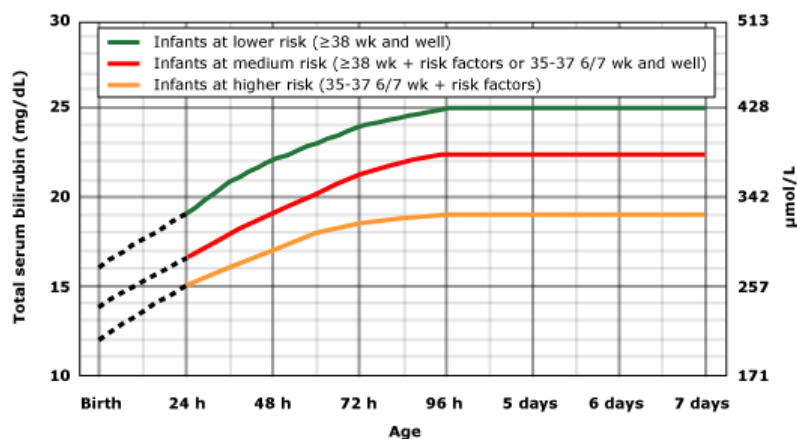
Diagnóza hemolytické nemoci novorozence je založena na stanovení krevní skupiny dítěte (RhD pozitivní dítě a RhD negativní matka, krevní skupina A nebo B u dítěte, O u matky), stanovení krevního obrazu plodu, který vykazuje známky hemolýzy (snížené množství erytrocytů, polychromazie, retiukulocytóza), a průkazu protilátek v krvi novorozence přímým nebo nepřímým Coombsovým testem. Klinicky se postižený novorozenec projevuje letargií, špatným sáním, vysoko posazeným křikem, hypotonií, bledostí, tachykardií, tachypnoí až oběhovým selháním. (38)

Léčba novorozence se zaměřuje na korekci anémie a hyperbilirubinémie. Jestliže předpokládáme, že dítě bude postiženo hemolytickou nemocí, je vhodné provést odběr krve z pupečníku ke stanovení krevní skupiny, hematokritu, hladiny bilirubinu a provést křížovou zkoušku pro případnou následnou transfuzi. U lehkých forem anemie bez přítomnosti těžké hyperbilirubinémie většinou postačí ke korekci suplementace železem a podání

rekombinantního erythropoetinu. U středně těžkých forem podáváme doplňující transfuzi, u těžkých forem pak transfuzi výměnnou. Ta jednak zvyšuje počet erytrocytů, zároveň dochází k odstranění sérového bilirubinu, erytrocytů plodu s navázanými protilátkami a volných maternálních protilátek, čímž částečně zabráníme další hemolýze. U středně těžkých forem anemie podáváme transfuzi krevní skupiny na základě křížové zkoušky, u těžké formy s projevy šoku 0 RhD negativní.

Mezi léčebné možnosti hyperbilirubinémie se řadí fototerapie u lehkých forem, u těžkých forem pak výměnná transfuze a aplikace intravenózního imunoglobulinu (IVIG), který inhibuje hemolýzu na základě blokace receptorů pro protilátky na erytrocytech. Podporujeme kojení a především dbáme na řádnou hydrataci novorozence, jelikož fototerapie zvyšuje ztráty tekutin kůží, navíc odpadní produkty vzniklé při fototerapii jsou vylučovány močí. Jestliže nepostačuje perorální hydratace, přistupujeme k intravenóznímu podání tekutin. (38)

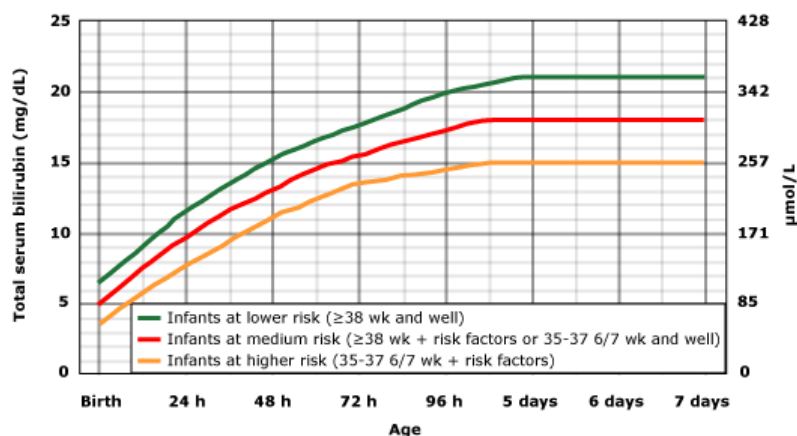
Guidelines k jednotlivým úkonům na základě hladiny bilirubinu, stáří novorozence, gestačního stáří a přítomnosti rizikových faktorů uvádí [grafy 2. – 3.](#)



Graf 2. Guidelines pro výměnnou transfuzi u novorozenců 35 týdnů gestace a starších

Výměnná transfuze je indikována, jestliže novorozenec jeví známky akutní bilirubinové encefalopatie nebo jestliže je celkový sérový bilirubin ≥ 5 mg/dL (85 $\mu\text{mol/L}$) nad těmito liniemi. Rizikové faktory zahrnují isoimunní hemolytickou nemoc, asfyxii, letargii, nestabilitu teploty, sepsi, acidózu, deficit G6PD

Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. Pediatrics 2004; 114:297. Copyright © 2004 The American Academy of Pediatrics.



Graf 3. Guidelines pro fototerapii u novorozenců 35 týdnů gestace a starších

Fototerapie je indikována, jestliže je celkový sérový bilirubin levels 2-3 mg/dL (35-50 $\mu\text{mol/L}$) pod těmito liniemi. Rizikové faktory zahrnují isoimunní hemolytickou nemoc, asfyxii, letargii, nestabilitu teploty, sepsi, acidózu, deficit G6PD, albumin < 3.0 g/dL

Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. Pediatrics 2004; 114:297. Copyright © 2004 The American Academy of Pediatrics.

Matka
<ul style="list-style-type: none"> • plazmaferéza • nespecifický sérový imunoglobulin
Plod
<ul style="list-style-type: none"> • intrauterinní transfuze
Novorozenec
<ul style="list-style-type: none"> • fototerapie • doplňující transfuze • výměnná transfuze • nespecifický sérový imunoglobulin

Tab. 5. Terapeutické možnosti hemolytické nemoci plodu a novorozence

Terapie anémie
<ul style="list-style-type: none"> • doplňující transfuze • výměnná transfuze • suplementace železem • rekombinantní erythropoetin
Terapie hyperbilirubinémie
<ul style="list-style-type: none"> • fototerapie, • výměnná transfuze • nespecifický sérový imunoglobulin

Tab. 6. Terapie anémie a hyperbilirubinémie plodu a novorozence

Prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen

Objev imunoglobulinu anti-D (IgG anti-D) patří k nejvýznamnějším objevům moderního porodnictví. Zavedením profylaxe IgG anti-D významně poklesl výskyt aloimunizace. Aloimunizace vzniká na základě průniku fetálních erytrocytů přes placentu do krevního oběhu matky (tzv. fetomaternální hemoragie – FMH). Ta si pak, jestliže je RhD negativní a plod RhD pozitivní, začne vytvářet protilátky anti-D namířené proti RhD pozitivním erytrocytům plodu. Nejprve se jedná o protilátky IgM, které přes placentární bariéru nepronikají, tudíž by plod neměl být ohrožen. Problém může nastat v dalším těhotenství v případě, že je plod opět RhD pozitivní. Nyní se již tvoří protilátky třídy IgG, které placentou volně prochází a mohou způsobovat destrukci fetálních erytrocytů. (103) Proto bychom měli všechny tyto potenciálně senzibilizující události odhalit a matce aplikovat IgG anti-D.

Mechanismus působení IgG anti-D spočívá ve vyvázání fetálních erytrocytů, ty nemohou stimulovat imunitní systém ženy a ta si nezačne tvořit protilátky proti D antigenu. Komplex protilátka-antigen je pak vychytán v retikuloendotelovém systému plodu. Zároveň IgG anti-D způsobuje down-regulaci antigen specifických B lymfocytů. (124, 170)

IgG antiD se vyrábí z lidské plazmy mužských dárců, kteří opakovaně podstoupí aplikaci RhD pozitivních erytrocytů, čímž si vytvoří vysoký titr polyklonální protilátky anti-D. Takto získaná plazma je vyšetřena na přítomnost viru hepatitidy C, hepatitidy B, parvovirus B19 a HIV. Navíc procesem přípravy se tyto případné částice eliminují. V současnosti se pracuje na přípravě rekombinantního IgG anti-D, vývoj je ve fázi klinických studií, kdy se zkoumá efektivita ve srovnání se standardním polyklonálním IgG anti-D. (124, 170)

Aplikace IgG anti-D je velmi bezpečná. Během 10 let (1990-2000), kdy bylo podáno 2,9 milionů dávek, zaznamenali výrobci jen 11 nežádoucích reakcí. (124, 170) Nebylo prokázáno riziko vzniku fetální anemie, zvýšení maternální imunitní odpovědi na RhD pozitivní erytrocyty, zhoršení porodnických výsledků či ovlivnění imunitního systému plodu. Riziko přenosu krví přenášených virů je vzhledem k procesu výroby zanedbatelné.

Nejvýznamnější událostí, kdy dochází k fetomaternální hemoragii, je porod. Proto všem RhD negativním ženám po porodu RhD pozitivního plodu aplikujeme IgG anti-D co nejdříve po porodu, nejpozději do 72 hodin. Jestliže se aplikace opomene, má smysl provést profylaxi do 13., ve výjimečných případech až do 28. dne po porodu. (1, 49, 200) Dávka imunoglobulinu postačující k profylaxi aloimunizace je 100 µg. Vždy je vhodné po porodu vyšetřit objem fetomaternální hemoragie, nejlépe pomocí průtokové cytometrie. U rodiček již aloimunizovaných antepartálně či z předchozích těhotenství aplikace IgG anti-D nemá smysl. (138, 139, 140, 141, 142, 143)

K fetomaternální hemoragii však může dojít i antepartálně, často bez zjevné příčiny. Přibližně 1% těhotných RhD negativních žen s RhD pozitivním plodem se aloimunizuje ještě před porodem, v naprosté většině ale až po 28. týdnu těhotenství. Proto všem RhD negativním ženám aplikujeme ve 28. týdnu těhotenství IgG anti-D v dávce 250 µg. (115, 131, 182, 184, 206) Mezi další potenciálně senzibilizující události a tudíž i indikace k podání IgG anti-D patří umělé ukončení těhotenství, samovolný potrat s revizí dutiny děložní, mimoděložní těhotenství, evakuace molární gravidity, biopsie choriových klků, amniocentéza, kordocentéza a jiné invazivní výkony, indukovaný potrat, intrauterinní úmrtí plodu, zevní obrat, poranění břicha a porodnické krvácení. U intermitentního krvácení se aplikace IgG anti-D opakuje v 6-týdenních intervalech, při každé nové epizodě by měla být vyšetřena FMH. Do 20. týdne těhotenství je postačující dávka IgG anti-D 50 µg, po 20. týdnu pak 100 µg, opět je vhodné vyšetření FMH k případné úpravě dávky. (138, 139, 140, 141, 142, 143, 170)

Indikace k aplikaci a dávku IgG anti-D přehledně shrnuje následující tabulka. (tab. 7.)

1. trimestr (50 µg)
<ul style="list-style-type: none"> • umělé ukončení těhotenství • samovolný potrat s revizí dutiny děložní • ektopická gravidita • evakuace molární gravidity • biopsie choriových klků
2. a 3. trimestr (100 µg)
<ul style="list-style-type: none"> • amniocentéza • kordocentéza • jiné invazivní výkony (diagnostické i terapeutické) • indukovaný potrat • intrauterinní úmrtí plodu • zevní obrat u konce pánevního • poranění břicha • porodnické krvácení
Antepartální profylaxe ve 28. týdnu těhotenství (250 µg)
Porod (100 µg)

Tab. 7. Potenciálně senzibilizující události, kdy je indikována aplikace a IgG anti-D u RhD negativních žen, jestliže u nich nebyla zjištěna přítomnost protilátek anti-D. Po porodu se IgG anti-D aplikuje pouze u rodiček s RhD pozitivním plodem.

Fetomaternální hemoragie

Fetomaternální hemoragie (FMH) představuje stav, který je způsoben ztrátou integrity normální fyziologické bariéry mezi fetální a mateřskou cirkulací. Pozitivní fetomaternální arterio-venózní tlakový gradient způsobuje, že fetální erytrocyty pronikají do mateřské cirkulace. Nejvýznamnější událostí, při které k průniku dochází, je porod, a to jak vaginální, tak operační. Dále to jsou události prenatální, mezi něž patří potrat, mimoděložní těhotenství, parciální mola, amniocentéza, odběr choriových klků (CVS), kordocentéza, redukce embryí, abrupce placenty, placenta praevia či jiné krvácení, tupé poranění břicha nebo obrat zevními hmaty. Některé příčiny však zůstávají i nadále neodhaleny a ke krvácení dochází v podstatě bez prokazatelných vnějších příčin. (2, 26, 40, 77, 254) Dle Augustsona et al. u naprosté většiny porodů (98,5%) představuje objem FMH méně než 2,5ml, u více než 90% porodů je to dokonce pod 1ml. Pouze u 0,4% je objem FMH větší než 6 ml. (9)

Význam stanovení FMH spočívá mimo jiné v určení množství fetálních erytrocytů, které pronikly do oběhu RhD negativní matky po porodu RhD pozitivního plodu. Protože je RhD antigen velmi silným antigenem, k RhD aloimunizaci matky dochází již při průniku 0,1 ml RhD pozitivních fetálních erytrocytů. Fetomaternální hemoragie o objemu 1 ml fetální krve představuje objem přibližně 0,5 ml fetálních erytrocytů (FMH). V České republice se v rámci prevence RhD aloimunizace podává standardně RhD negativním matkám po porodu RhD pozitivního plodu 250 µg anti-D imunoglobulinu u vaginálních porodů, 500 µg pak u porodů císařským řezem, klešťových porodů, porodů dvojčat nebo po manuální lýze placenty. Dávka anti-D imunoglobulinu 10 µg (50 IU) představuje ochranu proti 1 ml plné fetální krve, což odpovídá 0,5 ml RhD pozitivních erytrocytů. (tab. 8.) (10)

Objem plné fetální krve (ml)	Objem fetálních erytrocytů FMH (ml)	Dávka anti-D imunoglobulinu (µg)
1	0,5	10

Tab. 8. Fetomaternální hemoragie a dávka anti-D imunoglobulinu potřebná k zabránění vzniku aloimunizace u RhD negativních žen po porodu RhD pozitivního plodu

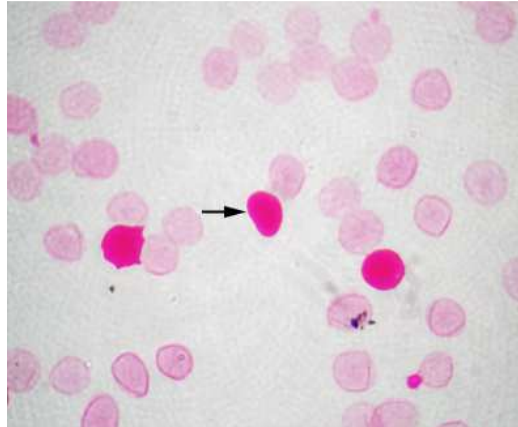
Z výše uvedeného vyplývá, že dávka anti-D imunoglobulinu je u naprosté většiny porodů nadbytečná. Naopak u přibližně 1% porodů však dochází k excesivní FMH, kdy je běžně podávaná dávka IgG anti-D nedostačující. Právě tyto případy je nutné cíleně odhalit a rodičkám tak poskytnout správnou a dostačující prevenci aloimunizace RhD antigenem. Pokud k aloimunizaci RhD negativní ženy dojde, může být RhD pozitivní plod v následujících těhotenstvích ohrožen rozvojem hemolytické nemoci.

Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie

V současné době existuje několik možností stanovení FMH: Kleihauer-Betke test, průtoková cytometrie, rosetový test, ELAT (enzyme linked antiglobulin test) a další testy. (3, 10, 13, 29)

1. Kleihauer-Betke test – kyselá eluce

Např. v Austrálii byla tato metoda mnoho let využívána jako hlavní metoda ke stanovení FMH. Využívá skutečnosti, že erytrocyty obsahující fetální hemoglobin jsou rezistentní k vymývání kyselinou. Po inkubaci se fetální erytrocyty v mikroskopu jeví jako jasné růžové buňky, zatímco mateřské jsou bledé. (obr. 2.) Existuje několik modifikací provedení a je možno využít i komerčně vyráběné sety. (10)



Obr. 2. Kleihauer-Betke test

Šipka ukazuje typicky tmavě růžový fetální erytrocyt. V pozadí maternální erytrocyty („ghost“).

Kromě využití ke stanovení FMH se metody využívá i k detekci možného krvácení novorozenců po porodu, zejména v případech s podezřením na rektální krvácení, u dospělých pak jako pomůcka k diagnostice některých typů anemie (thalassemia major, srpkovitá anemie). (199)

Mezi přednosti kyselé eluce patří skutečnost, že metoda nevykazuje závislost na přítomnosti či nepřítomnosti RhD antigenu, vyžaduje jen základní laboratorní vybavení a je relativně levná. Má však naopak mnoho nedostatků, například krok eluce hemoglobinu je citlivý k pH, teplotě i času a interpretace výsledku je subjektivní, navíc metoda vyžaduje určitou zkušenost laboranta provádějícího odečet. Velkým problémem je také to, že se jedná o pouhý odhad ve výpočtu výsledku, tedy jen semikvantitativní hodnocení.

Navíc během těhotenství fyziologicky stoupá hladina HbF v mateřských erythrocytech (u přibližně 25% těhotných žen hladina maternálního HbF stoupá nad horní hranici normy v 8. týdnu gravidity a přetrvává do 32. týdne) a u 1-2% populace se vyskytuje vrozená perzistence fetálního hemoglobinu. (10)

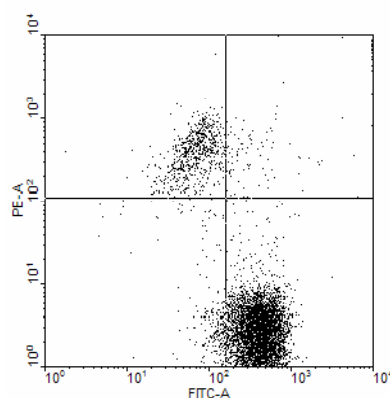
Z výše uvedeného vyplývá, že tuto metodu je pro svou relativní jednoduchost možné použít jako metodu screeningovou, pro exaktní stanovení je však zapotřebí metody přesnější.

V současné době na našem trhu existuje několik výrobců soupravy pro stanovení FMH pomocí kyselého eluce. Jedná se např. o test „Fetální hemoglobin“ nebo „Kleihauer Kit“. Vyrábí se jako soupravy pro 50 či 200 vyšetření.

2. Analýza průtokovou cytometrií

Princip průtokové cytometrie spočívá v kvantifikaci malého počtu buněk přítomných ve velké buněčné populaci. Diferenciace a kvantifikace je dosaženo nejčastěji pomocí fluorescenčně značených protilátek. Jednu z nejpřesnějších možností představuje tzv. duální fluorescenční detekce dvou intracelulárních antigenů: hemoglobinu F (HbF) a karbonické anhydrázy (CA). Oba antigeny jsou detekovány ze vzorku periferní krve s EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová). (198)

Tato metoda je tedy založena na kombinaci dvou protilátek. Jedna je namířena proti fetálnímu hemoglobinu, který je obsažen ve fetálních erytrocytech a v malém procentu adultních erytrocytů (tzv. F-buňky). Druhá protilátka je namířena proti karbonické anhydráze, enzymu obsaženém jen v adultních erytrocytech a pozdním stadiu fetálních erytrocytů. Duální barevná průtoková cytometrie tedy umožňuje simultánní stanovení těchto dvou intracelulárních antigenů. Ukázkou cytogramu zobrazuje obrázek. (obr. 3.) (198)



Obr. 3. Cytogram, fetální erytrocyty jsou lokalizovány v levém horním kvadrantu

Vyšetření tudíž umožňuje spolehlivé kvantitativní stanovení množství fetálních erytrocytů proniklých do mateřské cirkulace. Rozlišení jednotlivých buněk uvádí tabulka (tab. 9).

Buňka	detekce
fetální erytrocyty	jasná exprese HbF, kompletní absence CA
maternální erytrocyty	absence HbF, jasná exprese CA
maternální F-buňky	nízký HbF, jasná exprese CA

Tab. 9. Rozlišení buněk pomocí průtokové cytometrie

K nesporným výhodám metody patří vysoká senzitivita i přesnost, analýza průtokovou cytometrií tudíž poskytuje objektivní kvantitativní výsledek. (124) Minimální objem fetálních erytrocytů detekovatelný průtokovou cytometrií je 0,1 ml, což představuje objem, který je již schopný způsobit RhD aloimunizaci. Bohužel pořizovací náklady jsou stále vysoké a metoda je zatím dostupná jen ve větších centrech. Porovnání Kleihauer-Betke testu a průtokové cytometrie znázorňuje tabulka 10. (tab. 10.)

	výhody	nevýhody
Kleihauer-Betke test	<ul style="list-style-type: none"> • bez závislosti na přítomnosti či nepřítomnosti RhD antigenu • vyžaduje jen základní laboratorní vybavení • nízké náklady 	<ul style="list-style-type: none"> • nízká senzitivita metody (citlivost k pH, teplotě a času, subjektivní interpretace vyžadující zkušenost laboranta, který provádí odečet) • nízká specifická metoda (stoupající hladina HbF v mateřských erythrocytech během těhotenství, vrozená perzistence fetálního hemoglobinu) • semikvantitativní stanovení (pouhý odhad ve výpočtu výsledku)
průtoková cytometrie	<ul style="list-style-type: none"> • vysoká senzitivita i specifická • přesné kvantitativní stanovení 	<ul style="list-style-type: none"> • vysoké pořizovací náklady • dostupnost jen ve větších centrech

Tab. 10. Srovnání průtokové cytometrie a Kleihauerova testu

V České republice se distribuuje jediná diagnostická souprava pro stanovení FMH pomocí průtokové cytometrie, která je nezávislá na RhD pozitivě či negativě fetálních erythrocytů. Jedná se o „Fetal Cell Count kit“. Dodává se jako souprava pro 25 vyšetření.

3. Rozetový test

Tato metoda využívá nepřímý antiglobulinový test. Zvýšené senzitivity je dosaženo přidáním RhD pozitivních „indikátorových“ erythrocytů. Tyto buňky adherují k protilátkám anti-D, které pokrývají minoritní populaci RhD pozitivních fetálních erythrocytů a dohromady vytvářejí rozety či clustery. Výsledek se odečítá mikroskopicky. (102, 225)

K přednostem metody patří její nízké náklady a relativní jednoduchost, avšak je málo přesná, není zde možnost kvantitativního stanovení a je aplikovatelná jen v případě, že

plod je RhD pozitivní a matka RhD negativní. Tato omezení ji předurčují pouze jako metodu screeningovou s možností detekce větších krvácení nad 4 ml fetálních erytrocytů. V USA se jako screeningový test s úspěchem využívá.

4. ELAT (enzyme linked antiglobulin test)

Jedná se o test určený ke kvantitativnímu stanovení FMH, který je založený na nepřímém antiglobulinovém testu.

5. Další možnosti

K dalším možnostem patří stanovení AFP v séru matky, stanovení placentární alkalické fosfatázy, PCR, FISH nebo gelový sloupcový test. Ani jedna z těchto metod však není dostačující k přesnému určení FMH.

Význam stanovení fetomaternální hemoragie

I přes zavedení profylaxe anti-D imunoglobulinem RhD negativním matkám po porodu RhD pozitivního dítěte představuje RhD aloimunizace těhotných žen stále významný problém. I když existuje více příčin způsobujících rozvoj závažné fetální anemie, zůstává aloimunizace matky RhD antigenem i nadále příčinou nejčastější. Je všeobecně známo, že RhD aloimunizace může vést k rozvoji hemolytické nemoci u plodu i novorozence. Plod je ohrožen anémií, v krajních případech může dojít k rozvoji hydropsu plodu a k jeho následnému úmrtí. Plody ohrožené rozvojem hemolytické anémie je proto nutné sledovat ve specializovaných centrech a v indikovaných případech podat intrauterinní transfuzi nebo těhotenství předčasně ukončit. U novorozence se kromě anemie obáváme i hyperbilirubinémie.

Mnoha případům RhD aloimunizace bychom však mohli zabránit vyšetřením fetomaternální hemoragie u RhD negativních žen při porodu RhD pozitivního plodu. Jak již bylo řečeno, přibližně u 1 % porodů dochází k excesivní FMH, která zůstává neodhalena a tím pádem je i nedostatečně provedena prevence RhD aloimunizace. Na základě přesného vyšetření FMH bychom mohli tyto ženy identifikovat a poskytnout jim dostatečnou profylaxi adekvátním zvýšením dávky anti-D imunoglobulinu.

Naopak naprostá většina RhD negativních žen po porodu RhD pozitivního dítěte dostává dávku anti-D imunoglobulinu paušálně vyšší, než skutečně potřebuje. Stanovení FMH průtokovou cytometrií by tak znamenalo aplikaci dávky přesně odpovídající potřebě rodičky, tím pádem i výrazné šetření nákladů. Dávku anti-D imunoglobulinu a odpovídající množství FMH, kterou tato dávka pokryje, uvádí tabulka 11. (tab.11.)

Dávka anti-D imunoglobulinu (µg)	Odpovídající množství fetálních erytrocytů FMH (ml)	Odpovídající objem plné fetální krve (ml)
50	2,5	5
125	6,25	12,5
250	12,5	25
500	25	50

Tab. 11. Pokrytí FMH aplikací anti-D imunoglobulinu (objem fetální erytrocytů proniklých do mateřského krevního oběhu a dávka anti-D imunoglobulinu postačující k prevenci RhD aloimunizace)

Jednoznačně nejpřesnější metodu představuje stanovení FMH pomocí průtokové cytometrie, aktuální dostupnost tohoto vyšetření je však v České republice omezena. Nejvhodnější screeningovou metodou, kterou lze s úspěchem použít v současnosti i u nás, se jeví Kleihauer-Betke test. K jeho provedení je potřeba jen základní laboratorní vybavení a náklady na jedno vyšetření jsou relativně nízké. Jestliže se pomocí tohoto screeningového

testu prokáže excesivní FMH, měl by být vzorek krve rodičky odeslán na vyšší pracoviště k přesnému stanovení objemu FMH.

V současné době je dostupných několik možností stanovení FMH. Ať už se jedná o screeningové vyšetření pomocí Kleihauer-Betkeho testu s případným následným dovyšetřením excesivní FMH, či rovnou přesné kvantitativní stanovení pomocí průtokové cytometrie. Zavedení vyšetření FMH u RhD negativních žen po porodu RhD pozitivního plodu by umožnilo snížit paušálně podávanou dávku anti-D imunoglobulinu a tím i snížit náklady spojené s prováděním prevence RhD aloimunizace. Hlavní přínos však spočívá v odhalení excesivní FMH. V těchto případech není dosud rodičkám podávána potřebná dávka anti-D imunoglobulinu, která by postačovala k zabránění aloimunizace RhD antigenem. Snížením výskytu RhD aloimunizace u těhotných žen bychom mohli výrazně snížit i incidenci hemolytické nemoci plodu a novorozence.

Cíle práce

Cíl č. 1: Zjistit incidenci fetomaternální hemoragie (FMH) při vaginálním porodu, stanovit objem fetálních erytrocytů, které pronikají do mateřské krve, a identifikovat rizikové stavy, při kterých dochází k excesivní FMH.

Cíl č. 2: Zjistit incidenci fetomaternální hemoragie (FMH) při porodu císařským řezem a stanovit objem fetálních erytrocytů, které pronikají do mateřské krve.

Cíl č. 3: Zjistit vliv věku rodičky, parity, délky trvání těhotenství a hmotnosti plodu na objem fetálních erytrocytů, které pronikají do mateřské krve při spontánním porodu.

Cíl č. 4: Optimalizace doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen

Soubor a metodika

V prospektivní kohortové studii bylo provedeno celkem 5334 vyšetření. Množství fetálních erytrocytů proniklých do oběhu matky po porodu bylo stanoveno průtokovou cytometrií na přístrojích: BDFACSCanto (Becton Dickinson International) a CYTOMICS-FC500 (Beckman Coulter).

Jako kontrolní skupinu (n=3295) jsme si definovali skupinu rodiček po normálním vaginálním porodu, vyloučili jsme operativní porody (císařský řez, vakuumextrakce, klešťový porod), porody mrtvého plodu, vícečetná těhotenství a porody s manuálním vybavením placenty a/nebo instrumentální revizí dutiny děložní.

Jako rizikové skupiny byly stanoveny skupiny rodiček po porodu císařským řezem (n = 1567), po klešťovém porodu (n = 40), po porodu vakuumextrakcí (n = 273), po spontánním porodu dvojčat (n = 48), po manuální lýze placenty (n = 65) a po instrumentální revizi dutiny děložní (n = 23).

Riziková skupina porod císařským řezem byla ještě dále podrozdělena: abrupce placenty (n = 17), jednočetná těhotenství (n = 1384) a dvojčetná těhotenství (n = 164).

Odběr vzorku

Vyšetření fetomaternální hemoragie (FMH) byla prováděna ze vzorku mateřské žilní krve odebrané venepunkcí za 1-2 hodiny po porodu do zkumavky s antikoagulační látkou (EDTA, Heparin). Bylo odebráno 0,5-1,0 ml žilní krve, vzorky byly skladovány v lednici při teplotě 2 - 8° C a vyšetření bylo provedeno do 24 hodin po odběru krve.

Laboratorní zpracování

Fetal Cell Count™ kit (Diagnosis of Feto-maternal Transfusion by flow cytometry), IQ Products, IQP-379. Kit je určen k rozlišení a kvantitativnímu stanovení lidských fetálních

erytrocytů v mateřské krvi. Je založen na senzitivní a přesné průtokové cytometrické metodě, která nabízí duální fluorescenční detekci dvou intracelulárních antigenů, hemoglobinu F (HbF) a Carbonic Anhydrase (CA). Metodika se zakládá na použití kombinace dvou protilátek. První je namířena proti fetálnímu hemoglobinu (HbF), který se nachází ve fetálních erytrocytech a v malém procentu je přítomen i v adultních erytrocytech (F-cells). Druhá protilátka je namířena proti Carbonic Anhydrase (CA), enzymu přítomnému v adultních erytrocytech a ve velmi pozdních stádiích fetálních buněk. Fetální erytrocyty jsou rozpoznány podle jasné exprese HbF v kombinaci s kompletní nepřítomností exprese CA. Naproti tomu mateřské erytrocyty nemají žádný HbF signál v kombinaci s jasnou expresí CA.

Pracovní postup metody byl proveden dle instrukcí a doporučení výrobce uvedených v příbalovém letáku kitu. Pro kontrolu kvality vyšetření byl použit k tomuto účelu komerčně dodávaný kit (FETALtrol, IQ Products), jehož součástí jsou tři kontroly s definovaným rozpětím měřených hodnot. Každý vyšetřovaný vzorek byl měřen oproti negativní kontrole (neznačený vzorek). V rámci standardizace vyšetření byla prováděna externí kontrola kvality společným vzorkem.

Výpočet celkového objemu fetálních erytrocytů proniklých do oběhu matky

Scientific Subcommittee of the Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion. Guidelines for laboratory assessment of fetomaternal haemorrhage. 1st ed. Sydney: ANZSBT, 2002: 3-12.

$$\text{FMH (ml)} = (1800 \times 1,22 \times \text{EF}) / 100.000$$

1800 průměrný objem mateřských erytrocytů (ml)

1,22 fetální erytrocyt je v průměru o 22 % větší než mateřský

EF počet fetálních erytrocytů (HbF pozitivních)

z celkového počtu 100.000 hodnocených erytrocytů

Statistical analysis

Testy Shapiro-Wilk bylo zjištěno, že data nemají normální distribuci, proto byly pro zpracování použity neparametrické metody. Rozdíly mezi kontrolní a experimentální skupinou ve veličinách numerického charakteru (věk matky, gestační stáří, FMH) byly porovnány Mann-Whitney U-testem. Vzájemná korelace těchto veličin byla ověřena výpočtem Spearmanova korelačního koeficientu. Porovnání kontrolní a experimentální skupiny ve výskytu vysokých hodnot FMH (> 1,7 m; > 2,0 ml; > 2,5 ml; > 5 ml) bylo provedeno Fisherovým přesným testem a bylo spočítáno odds ratio. K výpočtu rozdílu mezi jednotlivými fetomaternálními charakteristikami byly použity testy Mann-Whitney, Chi-kvadrát a Wilcoxonův test. Všechny testy byly provedeny na hladině významnosti 0,05. Distribuce veličiny byla graficky znázorněna histogramy a box grafy. Ke statistickému zpracování byl použit statistický software SPSS v 15, SPSS Inc. Chicago, USA.

Výsledky

V letech 2009 - 2011 byl objem fetomaternální hemoragie stanoven celkem u 5334 rodiček. Objem fetálních erytrocytů, diagnostikovaný v oběhu matky po porodu, se pohyboval v rozmezí od nevýznamné FMH $\leq 0,1$ ml až po excesivní FMH = 65,9 ml (medián 0,7; průměr 0,79; SD 1,38).

Jako 95. percentil byl v kontrolní skupině (spontánní nekomplikovaný porod jednoho plodu) vypočítán objem FMH 1,7 ml, jako 97,5. percentil pak objem 2,0 ml. Jako další hraniční hodnoty byly stanoveny objemy FMH 2,5 ml a 5 ml. Tyto objemy jsou klinicky významné vzhledem k dávce aplikace IgG anti-D (postačující dávka IgG anti-D 50 μg , resp. 100 μg). Výskyt vysokých hodnot fetomaternální hemoragie (FMH $> 1,7$ ml, $> 2,0$ ml, $> 2,5$ ml) a excesivních hodnot (FMH > 5 ml) byl následně porovnán v kontrolní a rizikových skupinách (císařský řez, n = 1567, vakuumextrakce, n = 273, forceps, n = 40, spontánní porod dvojčat, n = 48, manuální lýza placenty, n = 65, instrumentální revize dutiny děložní, n = 23).

Fetomaternální hemoragie (FMH) $\leq 2,5$ ml (5 ml plné krve), byla přítomna při porodu v 98,5% případů (5255/5334), postačující dávka IgG anti-D 50 μg . FMH ≤ 5 ml (10 ml plné krve) v 99,7% případů (5317/5334), postačující dávka IgG anti-D 100 μg . Ve zbylých 17 případech byla FMH = 5,1 ml (2x), 5,2 ml, 5,5 ml, 6,5 ml, 7,7 ml, 10,1 ml, 12,0 ml, 12,4 ml, 15,4 ml, 16,3 ml (2x), 18,2 ml, 24,8 ml, 30,9 ml, 31,1 ml a 65,9 ml (11 ml (4x), 13 ml, 16 ml, 21 ml, 24 ml, 25 ml, 31 ml, 33 ml (2x), 37 ml, 50 ml, 62 ml, 63 ml a 132 ml plné krve), postačující dávka IgG anti-D = 110 μg (4x), 130 μg , 160 μg , 210 μg , 240 μg , 310 μg , 250 μg , 330 μg (2x), 370 μg , 500 μg , 620 μg , 630 μg a 1320 μg . (Obr. 4., Tab. 12.)

FMH $\leq 2,5$ ml (5ml plné krve), byla přítomna při normálním vaginálním porodu v 99,0% případů (3261/3295), postačující dávka IgG anti-D 50 μg . FMH ≤ 5 ml (10 ml plné krve) v 99,8% případů (3288/3295), postačující dávka IgG anti-D 100 μg . Ve zbylých sedmi případech byla FMH = 5,1 ml, 10,1 ml, 12,0 ml, 12,4 ml, 16,3 ml, 30,9 ml a 65,9 ml (11 ml, 21 ml, 24 ml, 25 ml, 33 ml, 62 ml a 132 ml plné krve), postačující dávka IgG anti-D = 110 μg , 210 μg , 240 μg , 250 μg , 330 μg , 620 μg a 1320 μg . (Graf 4.)

FMH \leq 2 ml (2,5ml plné krve), byla přítomna při klešťovém porodu v 95,0% případů (38/40). FMH $>$ 2,5 ml (5 ml celé krve) se v souboru klešťových porodů nevyskytla. (Graf 5.)

FMH \leq 2,5 ml (5ml plné krve), byla přítomna při porodu vakuumextrakcí v 98,5% případů (269/273), postačující dávka IgG anti-D 50 μ g. FMH \leq 5 ml (10 ml plné krve) v 99,6% případů (272/273), postačující dávka IgG anti-D 100 μ g. Ve zbylém jednom případě byla FMH = 6,5 ml (13 ml plné krve), postačující dávka IgG anti-D = 130 μ g. (Graf 6.)

FMH \leq 2,5 ml (5ml plné krve), byla přítomna při spontánním vaginálním porodu dvojčat v 95,8% případů (2/48), postačující dávka IgG anti-D 50 μ g. FMH $>$ 5 ml (10 ml plné krve) se v souboru nevyskytla. (Graf 7.)

FMH \leq 2,5 ml (5ml plné krve), byla přítomna při manuální lýze placenty v 96,9% případů (63/65), postačující dávka IgG anti-D 50 μ g. FMH $>$ 5 ml (10 ml plné krve) se v souboru nevyskytla. (Graf 8.)

FMH \leq 1,7 ml (3,4ml plné krve), byla přítomna při instrumentální revizi dutiny děložní v 95,5% případů (21/22). FMH $>$ 2 ml (4 ml plné krve) se v souboru nevyskytla. (Graf 9.)

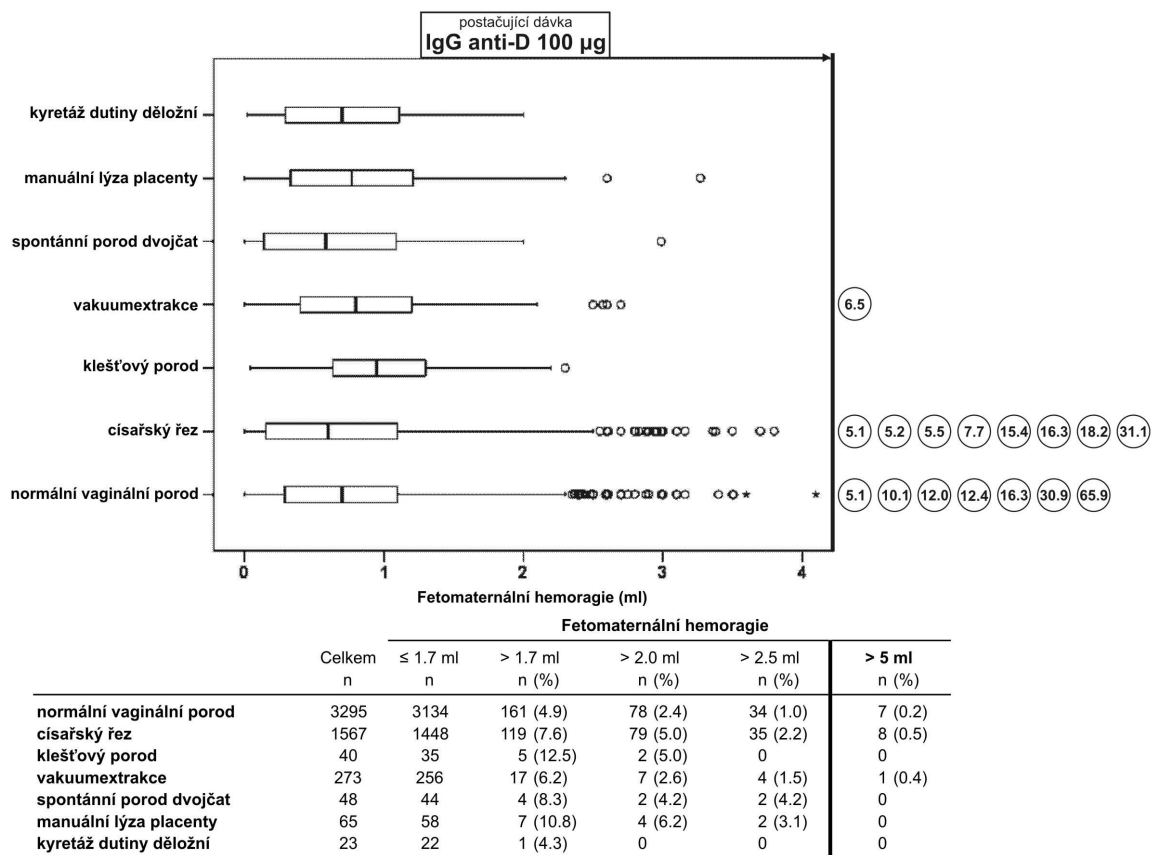
FMH \leq 2,5 ml (5ml plné krve), byla přítomna při porodu císařským řezem v 97,8% případů (1532/1567), postačující dávka IgG anti-D 50 μ g. FMH \leq 5 ml (10 ml plné krve) v 99,5% případů (1559/1567), postačující dávka IgG anti-D 100 μ g. Ve zbylých osmi případech byla FMH = 5,1 ml, 5,2 ml, 5,5 ml, 7,7 ml, 15,4 ml, 16,3 ml, 18,2 ml a 31 ml (11ml (3x), 16 ml, 31 ml, 33ml, 37 ml a 62 ml plné krve), postačující dávka IgG anti-D = 110 μ g (3x), 160 μ g, 310 μ g, 330 μ g, 370 μ g a 620 μ g. Ve všech případech se jednalo o císařský řez při jednočetném těhotenství bez abrupce placenty. (Graf 10.-13., Obr. 5)

Porovnání věku matky v termínu porodu a délky trvání těhotenství (gestační stáří) u kontrolní (normální vaginální porod, n = 3295) a rizikové skupiny (porod císařským řezem, n = 1567) uvádí tabulka 13. (Tab. 13.) Vzhledem k velikosti souboru se jeví i malé rozdíly statisticky významné, klinicky však významné nejsou.

Z našich výsledků vyplývá, že klešťový porod a manuální lýza placenty představují zvýšené riziko pro výskyt FMH > 1,7 ml (OR 2,8; p 0,046 pro forceps, OR 2,3; p 0,042 pro manuální lýzu placenty). Nepředstavují však rizikový faktor pro FMH > 2,0 ml, > 2,5 ml ani pro excesivní FMH > 5,0 ml. Žádný z dalších zkoumaných rizikových faktorů nepředstavoval zvýšené riziko výskytu FMH pro žádnou ze stanovených hodnot. (Tab. 14.-19.)

Dále bylo zjištěno, že porod císařským řezem představuje zvýšené riziko pro výskyt vysokých hodnot FMH > 1,7 ml (OR 1,6; p 0,0002), FMH > 2,0 ml (OR 2,2; p <0,0001) a FMH > 2,5 ml (OR 2,2; p 0,002). Nepředstavuje však statisticky významný rizikový faktor pro výskyt excesivní FMH > 5ml. (Tab.20.-23.)

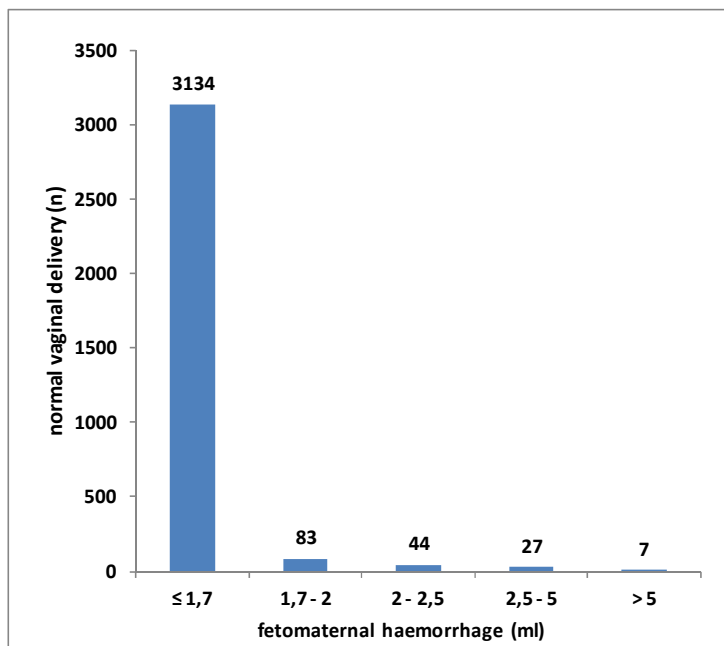
Kontrolní soubor rodiček po spontánním nekomplikovaném porodu jednoho živého plodu (n = 3295) zahrnoval ženy ve věku od 15 do 47 let (medián 30 let, průměr 29 let), gestační stáří bylo 168 až 300 dní (medián 278 dní, průměr 275 dní). Hmotnost porozeného plodu se pohybovala v rozmezí od 540 g po 5080 g (medián 3330 g, průměr 3311 g). Výsledky shrnuje tabulka 24. (Tab. 24.), ze které vyplývá, že věk rodičky, parita, gestační stáří ani hmotnost plodu nepředstavují rizikový faktor pro excesivní FMH při spontánním porodu. Výsledky rovněž přehledně zobrazují grafy 14-25. (Graf 14.-25.)



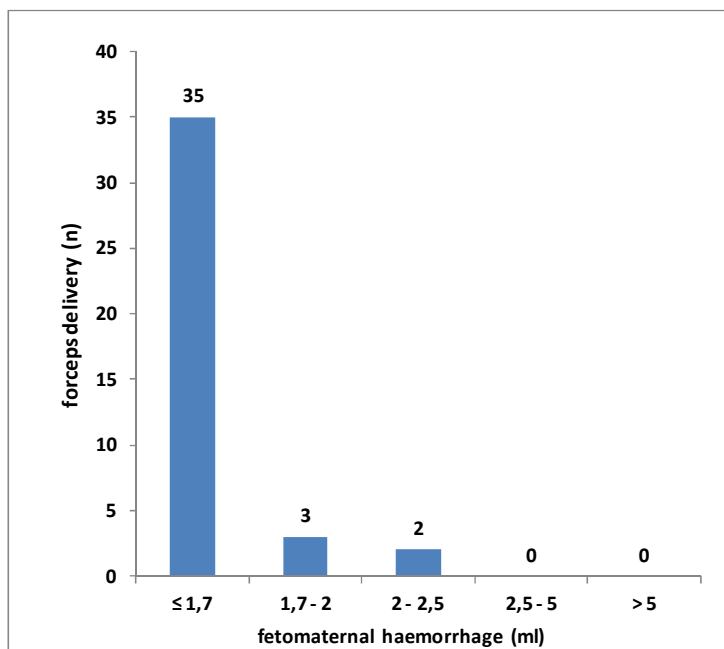
Obr. 4. Distribuce objemu fetomaternální hemoragie (FMH) zjištěné po porodu v kontrolní skupině (normální vaginální porod) a rizikových skupinách. Při FMH ≤ 5 ml je postačující dávka IgG anti-D 100 µg (tlustá čára). Hodnoty excesivní FMH > 5 ml jsou uvedeny v absolutních hodnotách (ml) v kroužcích vedle grafu.
 FMH = 1,7 ml (95. percentil), FMH = 2,0 ml (97.5 percentil),
 FMH = 2,5 ml (postačující dávka IgG anti-D 50 µg), FMH = 5 ml (postačující dávka IgG anti-D 100 µg)

		Fetomaternal haemorrhage					
		Total n	≤ 1.7 ml n	> 1.7 ml n %	> 2.0 ml n %	> 2.5 ml n %	> 5 ml n %
normal spontaneous delivery		3295	3134	161 (4.9)	78 (2.4)	34 (1.0)	7 (0.2)
cesarean delivery		1567	1448	119 (7.6)	79 (5.0)	35 (2.2)	8 (0.5)
	placental abruption	17	16	1 (5.9)	1 (5.9)	0 (0.0)	0
	singleton pregnancy	1384	1279	105 (7.6)	68 (4.9)	31 (2.2)	8 (0.6)
	twin pregnancy	164	151	13 (7.9)	10 (6.1)	4 (2.4)	0
forceps delivery		40	35	5 (12.5)	2 (5.0)	0 (0.0)	0
vacuum extraction		273	256	17 (6.2)	7 (2.6)	4 (1.5)	1 (0.4)
spontaneous twin delivery		48	44	4 (8.3)	2 (4.2)	2 (4.2)	0
manual placental removal		65	58	7 (10.8)	4 (6.2)	2 (3.1)	0
curettage for retained fragments		23	22	1 (4.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0

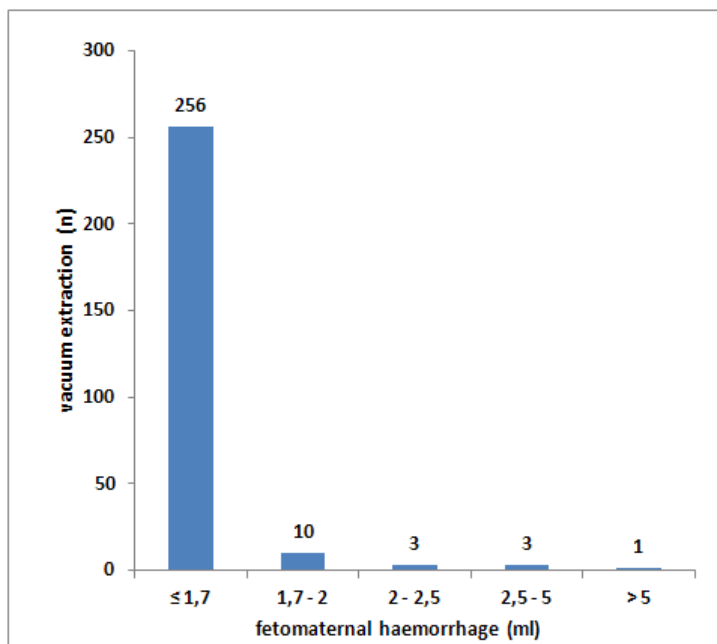
Tab. 12. Absolutní a relativní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie v jednotlivých skupinách



Graf 4. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)
Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.

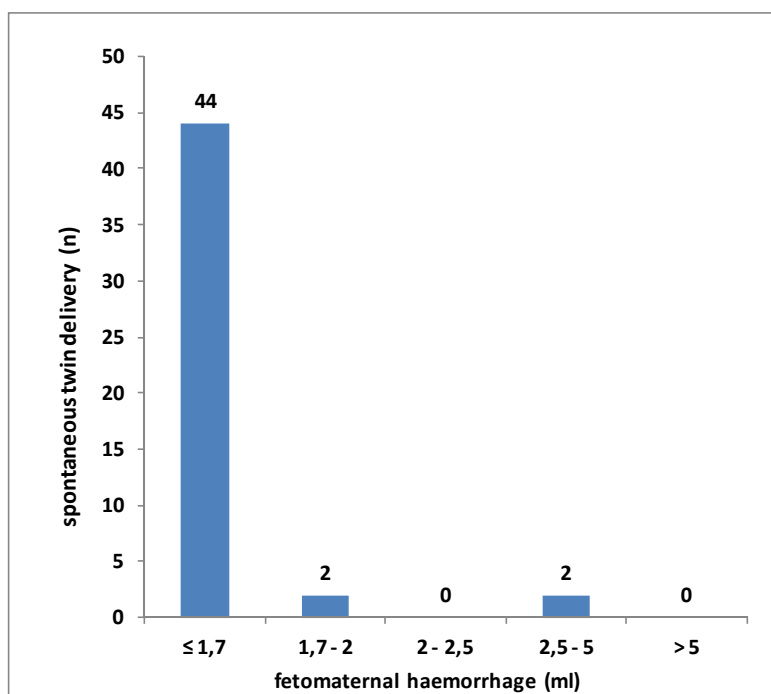


Graf 5. Klešový porod (riziková skupina, n = 40)
Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.



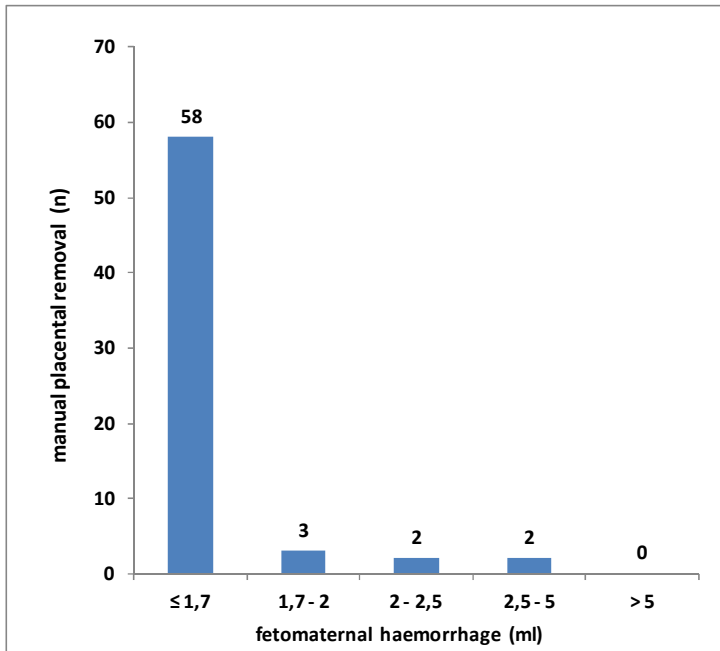
Graf 6. Vakuumextrakce (riziková skupina, n = 273)

Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.

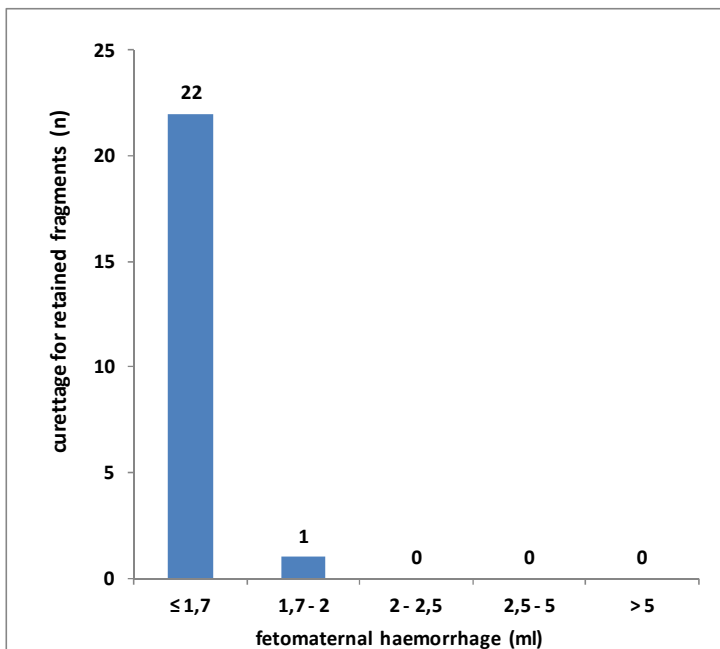


Graf 7. Spontánní porod dvojčat (riziková skupina, n = 48)

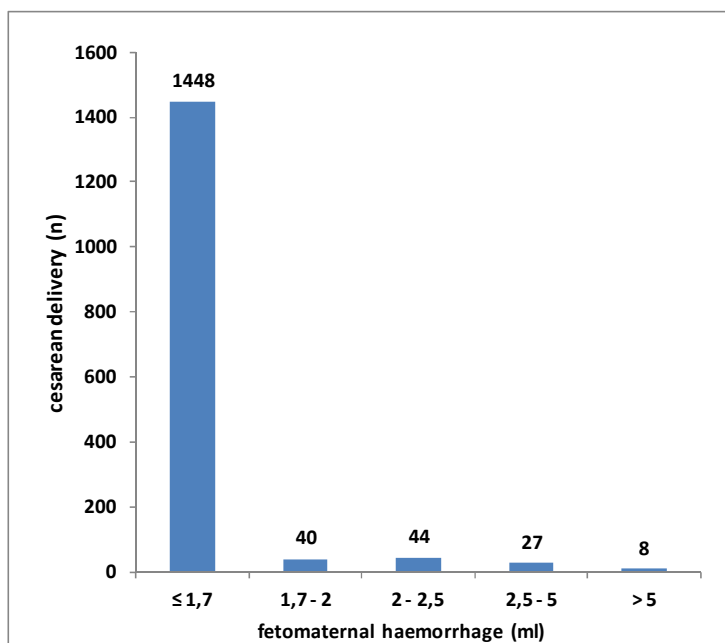
Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.



Graf 8. Manuální lýza placetny (riziková skupina, n = 65)
Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.

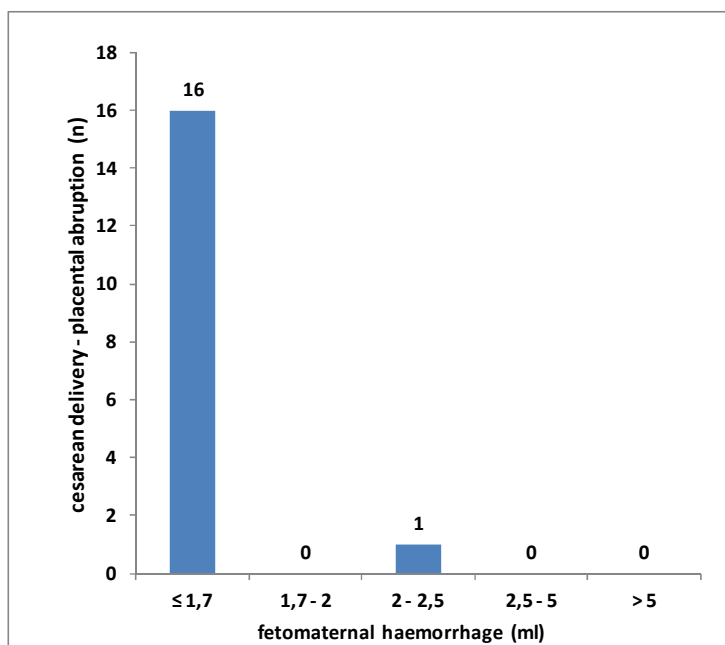


Graf 9. Kyretáž dutiny děložní (riziková skupina, n = 23)
Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.



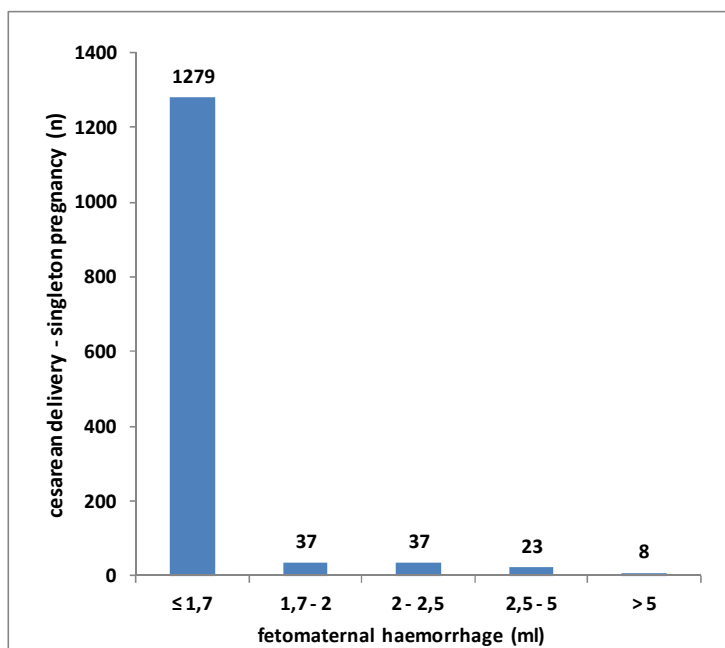
Graf 10. Císařský řez (riziková skupina, n = 1567)

Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.

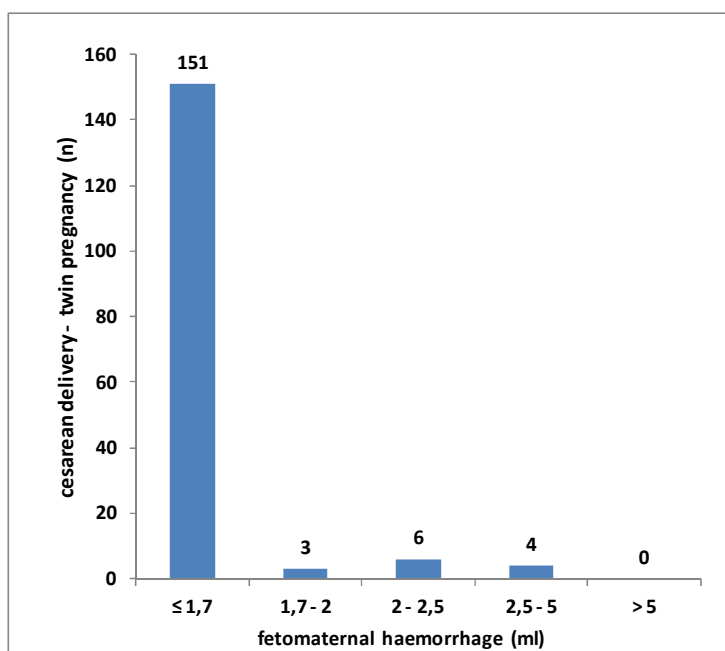


Graf 11. Císařský řez - abrupce placenty (riziková skupina, n = 17)

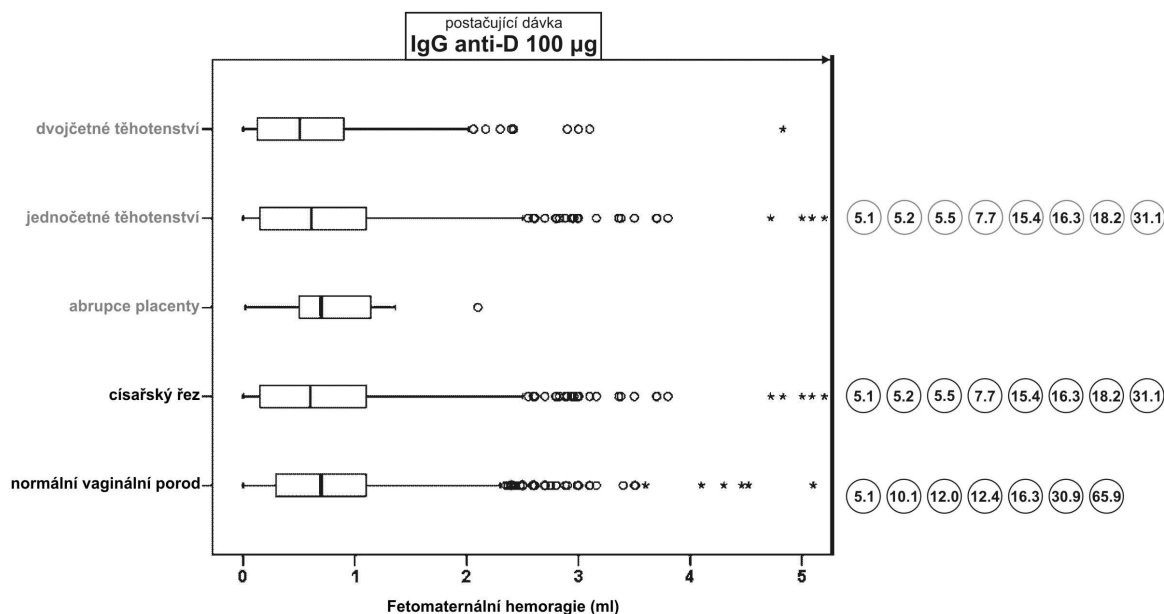
Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.



Graf 12. Císařský řez - jednočetné těhotenství (riziková skupina, n = 1384)
 Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.



Graf 13. Císařský řez - dvojčetné těhotenství (riziková skupina, n = 164)
 Absolutní počty rodiček v závislosti na diagnostikovaném objemu fetomaternální hemoragie.



	Fetomaternální hemoragie					
	Celkem n	≤ 1.7 ml n	> 1.7 ml n (%)	> 2.0 ml n (%)	> 2.5 ml n (%)	> 5 ml n (%)
normální vaginální porod	3295	3134	161 (4.9)	78 (2.4)	34 (1.0)	7 (0.2)
císařský řez	1567	1448	119 (7.6)	79 (5.0)	35 (2.2)	8 (0.5)
abrupce placenty	17	16	1 (5.9)	1 (5.9)	0	0
jednočetné těhotenství	1384	1279	105 (7.6)	68 (4.9)	31 (2.2)	8 (0.6)
dvojčetné těhotenství	164	151	13 (7.9)	10 (6.1)	4 (2.4)	0

Obr. 5. Distribuce objemu fetomaternální hemoragie (FMH) zjištěné po porodu v kontrolní (normální vaginální porod) a rizikové skupině. Riziková skupina (porod císařským řezem) je ještě dále rozdělena na podskupiny: abrupce placenty, jednočetná a dvojčetná těhotenství. Při FMH ≤ 5 ml je postačující dávka IgG anti-D 100 µg (tlustá čára). Hodnoty excesivní FMH > 5 ml jsou uvedeny v absolutních hodnotách (ml) v kroužcích vedle grafu.

FMH = 1,7 ml (95. percentil), FMH = 2,0 ml (97.5 percentil),

FMH = 2,5 ml (postačující dávka IgG anti-D 50 µg), FMH = 5 ml (postačující dávka IgG anti-D 100 µg)

Charakteristiky	Celkem	Kontrolní skupina	Riziková skupina	p value
		normální vaginální porod	císařský řez	
n	4862	3295	1567	
věk rodičky (roky)				
minimum	15	15	17	p < 0,0001 ^a
maximum	47	47	44	
median	30	30	30	
mean	29,7	29,4	30,2	
SD	4,9	4,8	4,9	
GS (dny)				
minimum	168	168	169	p < 0,0001 ^a
maximum	300	300	300	
median	276	278	272	
mean	272,0	275,1	265,5	
SD	16,7	13,0	21,2	
FMH (ml)				
minimum	0	0	0	p < 0,0001 ^a
maximum	65,9	65,9	18,2	
median	0,7	0,7	0,6	
mean	0,79	0,77	0,80	
SD	1,38	1,61	1,12	

^a Mann-Whitney *U*-test

Tab. 13. Porovnání kontrolní (normální vaginální porod) a rizikové skupiny (porod císařským řezem) ve veličinách numerického charakteru: věk matky v termínu porodu, délka trvání těhotenství (gestační stáří, GA), objem fetomaternální hemoragie po porodu (FMH). FMH = objem fetálních erytrocytů (ml), objem plné fetální krve je dvojnásobný (předpokládaný fetální hematokrit 50%).

císařský řez (SC)

FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	119/1567 (7,6)	161/3295 (4,9)	1,6	1,3	2,0	0,0002
> 2,0	79/1567 (5,0)	78/3295 (2,4)	2,2	1,6	3,0	<0,0001
> 2,5	35/1567 (2,2)	34/3295 (1,0)	2,2	1,4	3,5	0,002
> 5	8/1567 (0,5)	7/3295 (0,2)	2,4	0,9	6,7	0,097

klešťový porod

FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	5/40 (12,5)	161/3295 (4,9)	2,8	1,1	7,2	0,046
> 2,0	2/40 (5,0)	78/3295 (2,4)	2,2	0,5	9,2	0,249
> 2,5	0	34/3295 (1,0)				
> 5	0	7/3295 (0,2)				

vakuumextrakce

FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	17/273 (6,2)	161/3295 (4,9)	1,3	0,8	2,2	0,312
> 2,0	7/273 (2,6)	78/3295 (2,4)	1,1	0,5	2,4	0,835
> 2,5	4/273 (1,5)	34/3295 (1,0)	1,4	0,5	4,0	0,531
> 5	1/273 (0,4)	7/3295 (0,2)	1,7	0,2	14,1	0,471

spontánní porod dvojčat

FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	4/48 (8,3)	161/3295 (4,9)	1,8	0,6	5,0	0,297
> 2,0	2/48 (4,2)	78/3295 (2,4)	1,8	0,4	7,5	0,320
> 2,5	2/48 (4,2)	34/3295 (1,0)	4,2	1,0	17,9	4,170
> 5	0					

manuální lýza placenty

FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	7/65 (10,8)	161/3295 (4,9)	2,3	1,1	5,2	0,042
> 2,0	4/65 (6,2)	78/3295 (2,4)	2,7	1,0	7,6	0,073
> 2,5	2/65 (3,1)	34/3295 (1,0)	3,0	0,7	13,0	0,153
> 5	0					

kyretáž dutiny děložní

FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	1/22 (4,5)	161/3295 (4,9)	0,9	0,1	6,9	1
> 2,0	0					
> 2,5						
> 5						

Tab. 14-19. Porovnání kontrolní skupiny (normální vaginální porod) a rizikových skupin ve výskytu vysokých hodnot fetomaternální hemoragie (FMH > 1,7 ml, > 2,0 ml, > 2,5 ml a > 5 ml). Při FMH ≤ 5 ml je postačující dávka IgG anti-D 100 µg (tlustá čára).

FMH = 1,7 ml (95. percentil), FMH = 2,0 ml (97.5 percentil),

FMH = 2,5 ml (postačující dávka IgG anti-D 50 µg), FMH = 5 ml (postačující dávka IgG anti-D 100 µg)

císařský řez (SC)

FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	119/1567 (7,6)	161/3295 (4,9)	1,6	1,3	2,0	0,0002
> 2,0	79/1567 (5,0)	78/3295 (2,4)	2,2	1,6	3,0	<0,0001
> 2,5	35/1567 (2,2)	34/3295 (1,0)	2,2	1,4	3,5	0,002
> 5	8/1567 (0,5)	7/3295 (0,2)	2,4	0,9	6,7	0,097

SC - abrupce placenty

FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	1/17 (5,9)	161/3295 (4,9)	0,2	0,2	9,2	0,575
> 2,0	0					
> 2,5						
> 5						

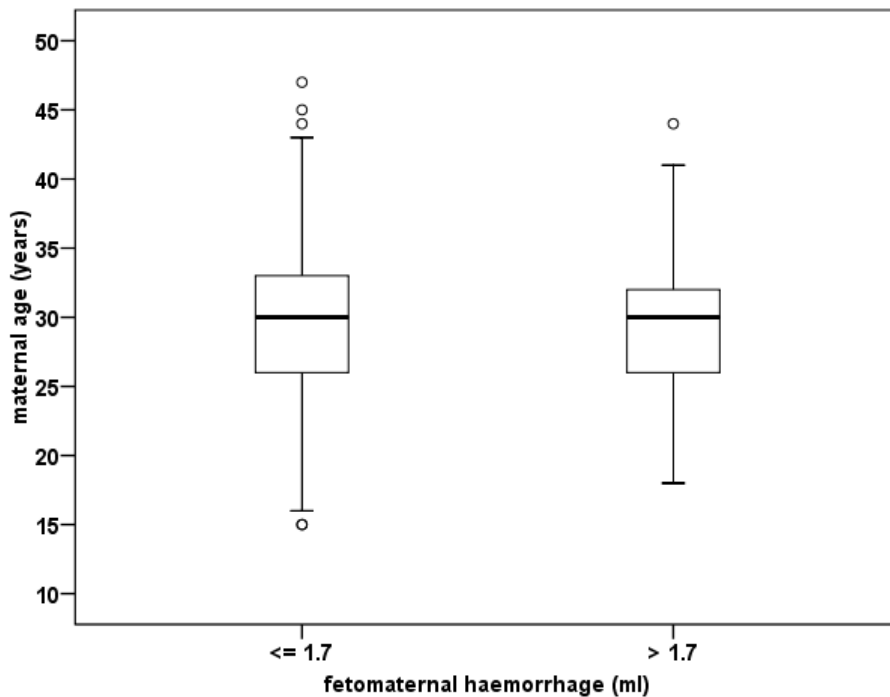
SC - jednočetné těhotenství

FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	105/1384 (7,6)	161/3295 (4,9)	1,6	1,2	2,1	0,0004
> 2,0	68/1384 (4,9)	78/3295 (2,4)	2,1	1,5	3,0	<0,0001
> 2,5	31/1384 (2,2)	34/3295 (1,0)	2,2	1,3	3,6	0,002
> 5	8/1384 (0,6)	7/3295 (0,2)	2,7	1,0	7,5	0,051

SC - dvojčetné těhotenství

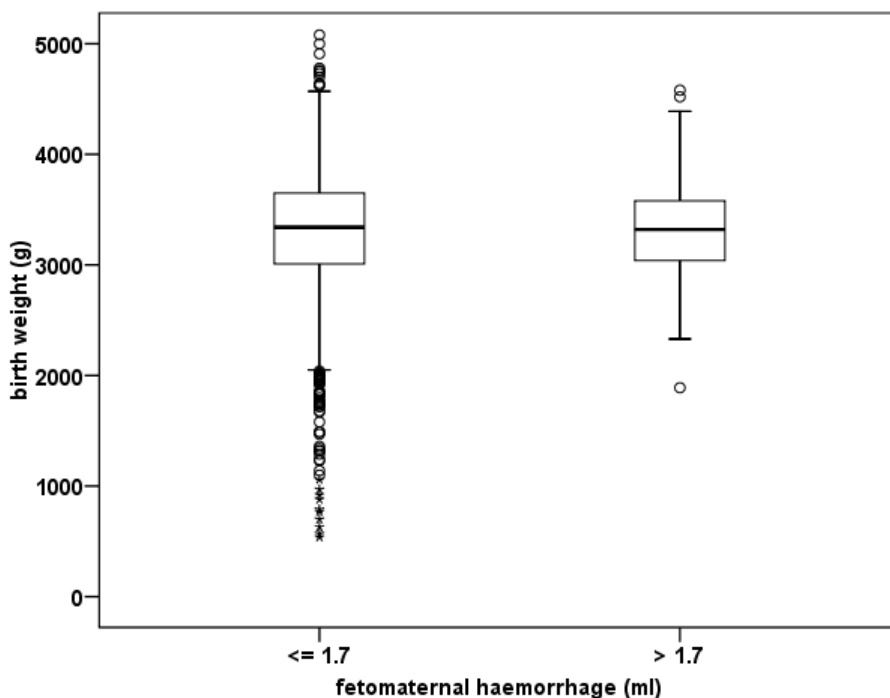
FMH (ml)	n (%)	Kontrolní skupina n (%)	Odds Ratio	95% Confidence Interval		P value
				Lower	Upper	
> 1,7	13/164 (7,9)	161/3295 (4,9)	1,7	0,9	3,0	0,096
> 2,0	10/164 (6,1)	78/3295 (2,4)	2,7	1,4	5,3	0,008
> 2,5	4/164 (2,4)	34/3295 (1,0)	2,4	0,8	6,8	0,103
> 5	0					

Tab. 20-23. Porovnání kontrolní (normální vaginální porod) a rizikové skupiny ve výskytu vysokých hodnot fetomaternální hemoragie (FMH > 1,7 ml, > 2,0 ml, > 2,5 ml a > 5 ml). Riziková skupina (porod císařským řezem) je ještě dále rozdělena na podskupiny: abrupce placenty, jednočetná a dvojčetná těhotenství. Při FMH ≤ 5 ml je postačující dávka IgG anti-D 100 µg (tlustá čára).
 FMH = 1,7 ml (95. percentil), FMH = 2,0 ml (97.5 percentil),
 FMH = 2,5 ml (postačující dávka IgG anti-D 50 µg), FMH = 5 ml (postačující dávka IgG anti-D 100 µg)



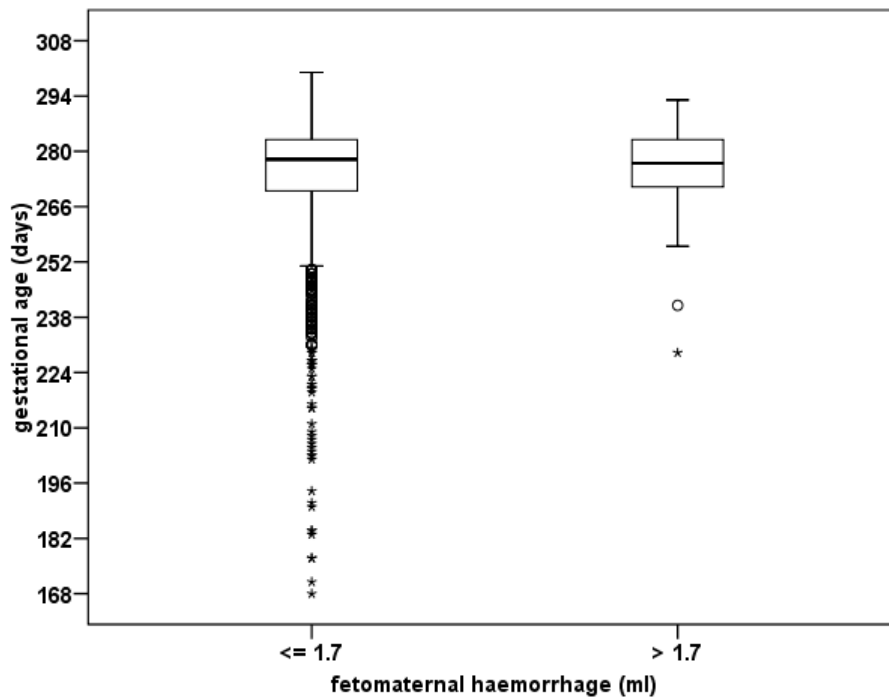
Graf 14. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)

Vliv věku rodičky na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu. FMH = 1,7 ml (95. percentil)

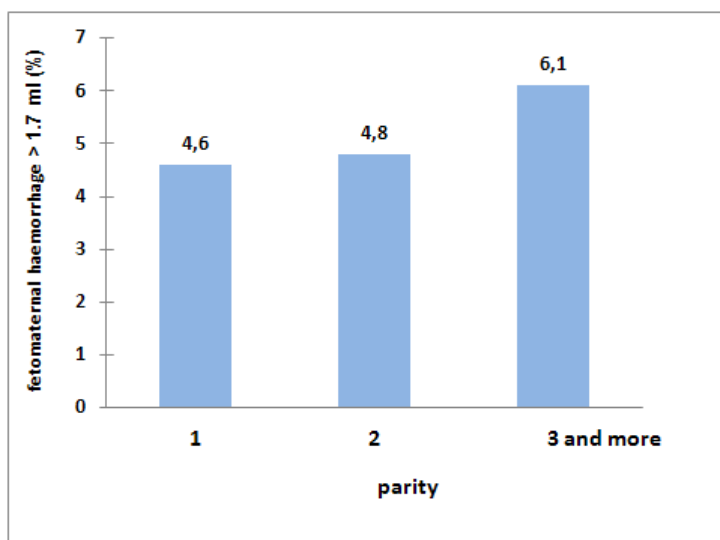


Graf 15. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)

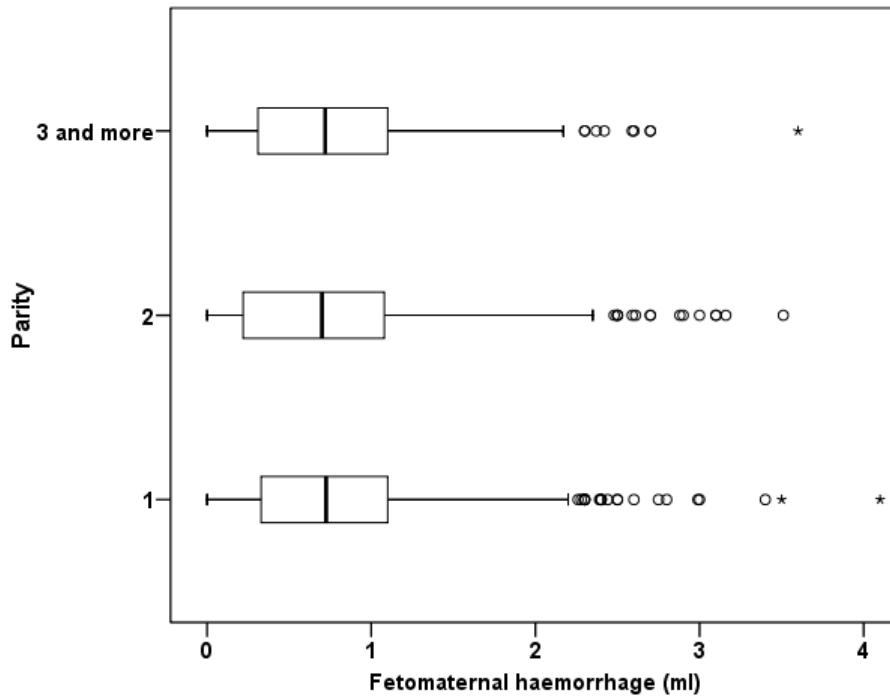
Vliv hmotnosti novorozence na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu. FMH = 1,7 ml (95. percentil)



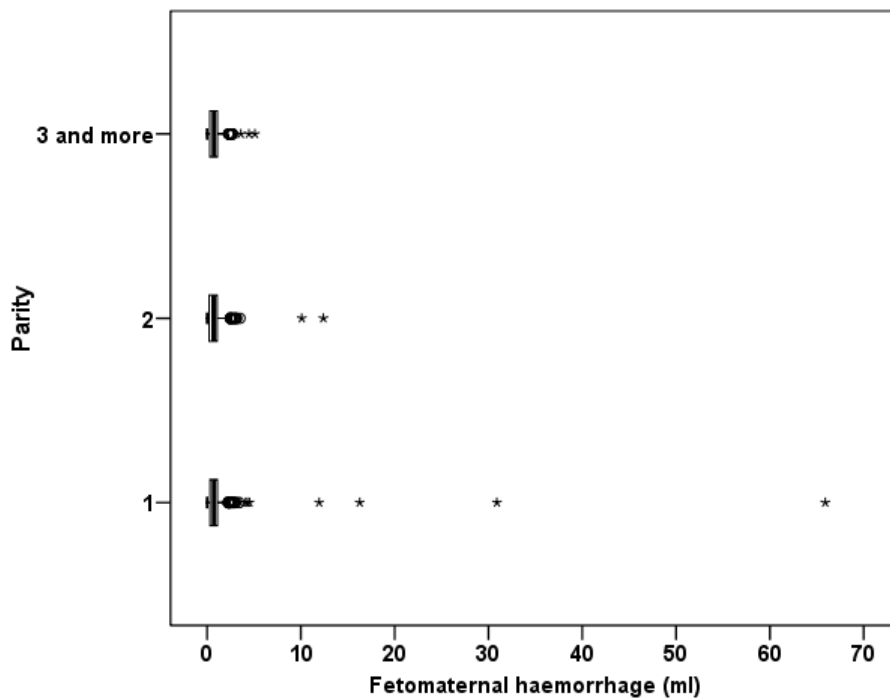
Graf 16. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)
 Vliv gestačního stáří na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu. FMH = 1,7 ml (95. percentil)



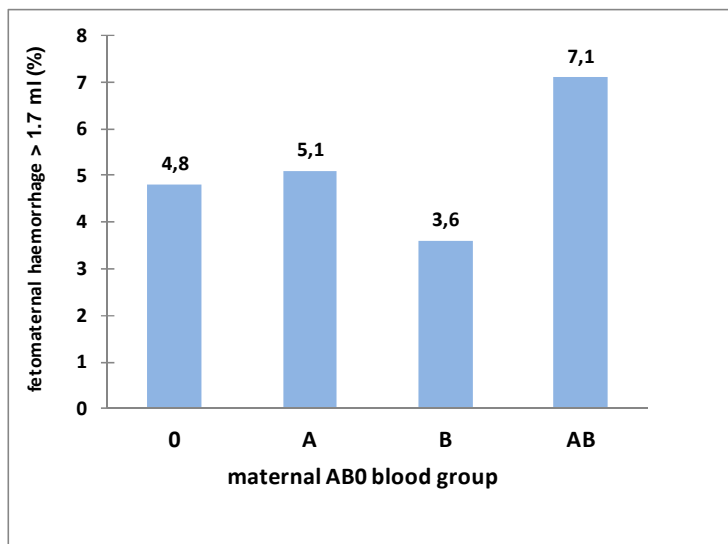
Graf 17. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)
 Vliv parity na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu.
 FMH = 1,7 ml (95. percentil)



Graf 18. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)
 Vliv parity na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu.

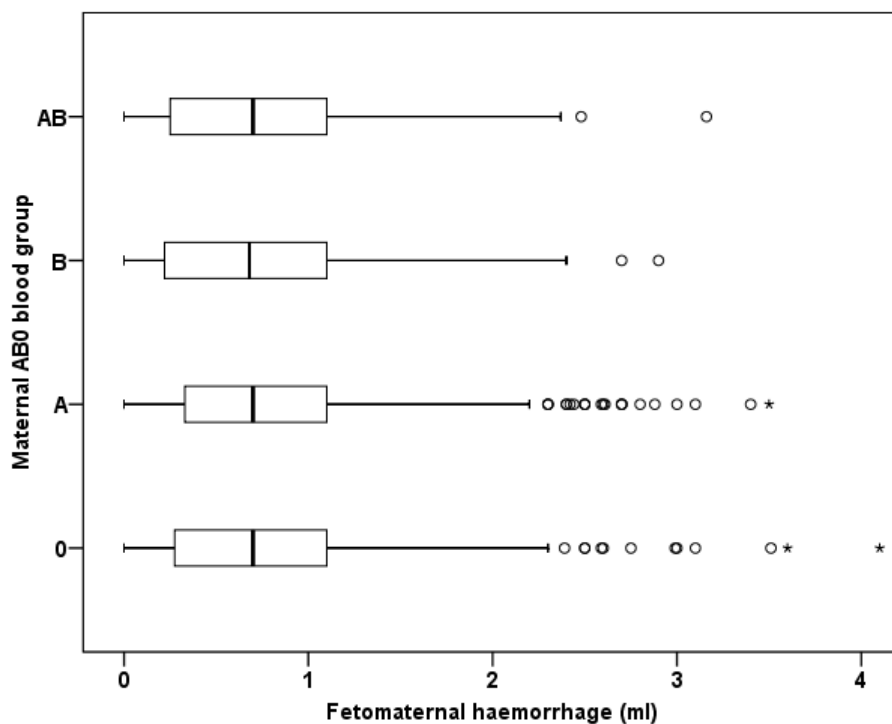


Graf 19. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)
 Vliv parity na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu.



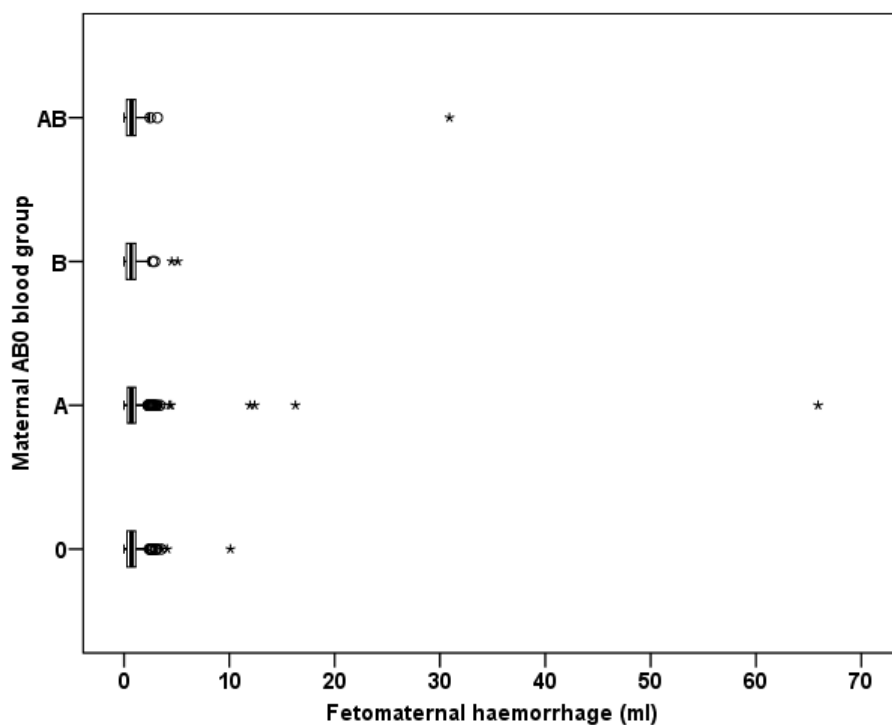
Graf 20. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)

Vliv krevní skupiny rodičky na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu. FMH = 1,7 ml (95. percentil)



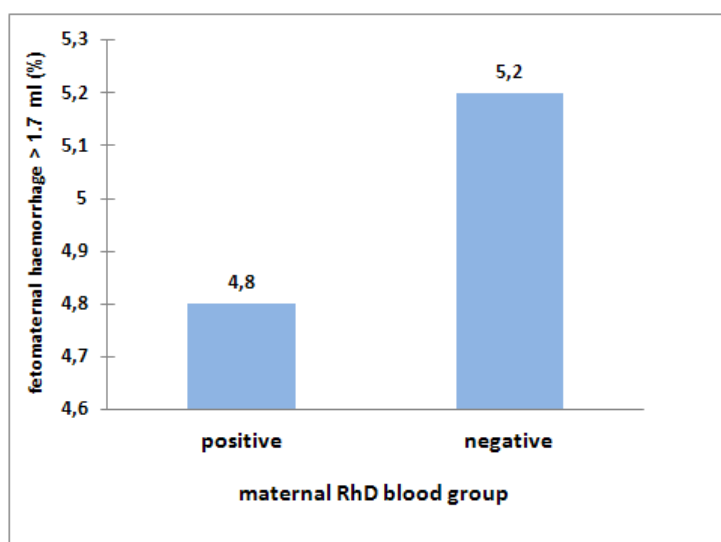
Graf 21. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)

Vliv krevní skupiny rodičky na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu.



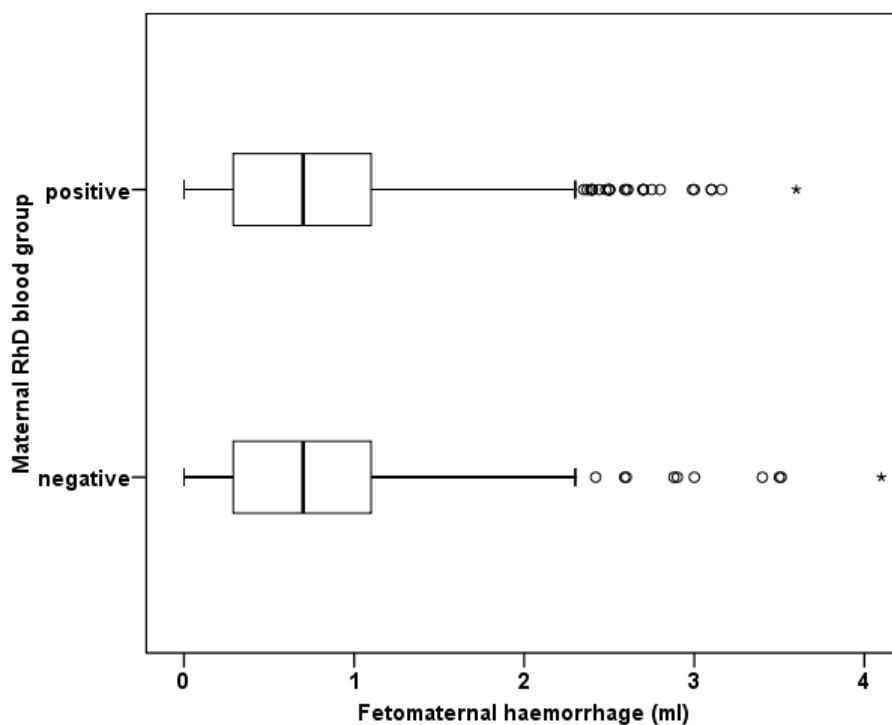
Graf 22. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)

Vliv krevní skupiny rodičky na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu.

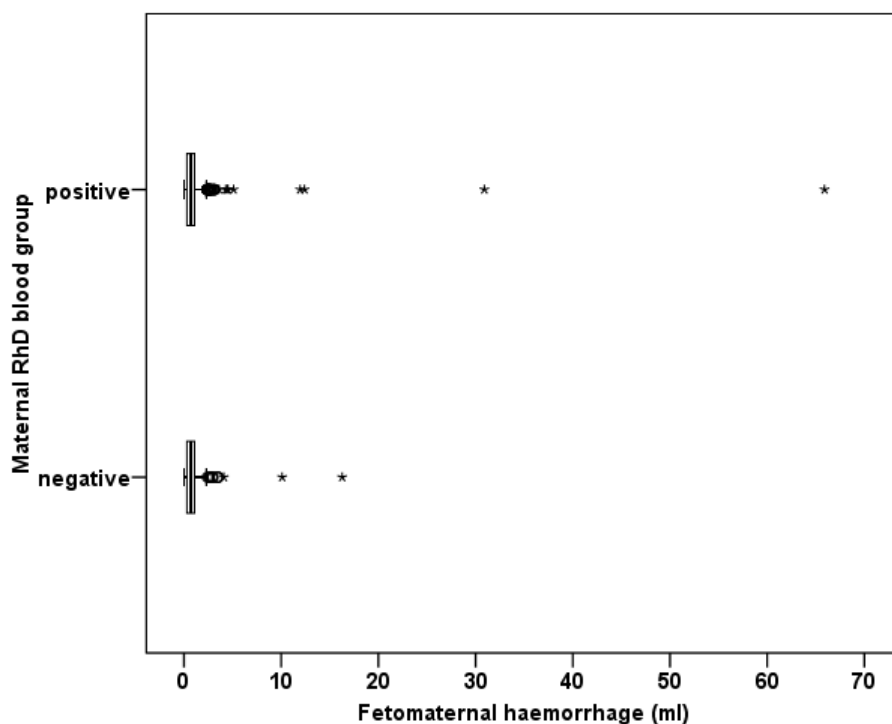


Graf 23. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)

Vliv krevní skupiny rodičky na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu. FMH = 1,7 ml (95. percentil)



Graf 24. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)
 Vliv krevní skupiny rodičky na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu.



Graf 25. Normální vaginální porod (kontrolní skupina, n = 3295)
 Vliv krevní skupiny rodičky na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu.

Fetomaternal haemorrhage													
Characteristics	Total	(95 perc)			(97.5 perc)								
		≤ 1.7 ml	> 1.7 ml	p value	≤ 2.0 ml	> 2.0 ml	p value	≤ 2.5 ml	> 2.5 ml	p value	≤ 5 ml	> 5 ml	p value
n (%)	3295	3134	161 (4.9)		3217	78 (2.4)		3261	34 (1.0)		3288	7 (0.2)	
maternal age (years)													
minimum	15	15	18	0.990 ^a	15	19	0.618 ^a	15	20	0.083 ^a	15	24	0.312 ^a
maximum	47	47	44		47	41		47	41				
median	30	30	30		30	30		30	31				
mean	29.4	29.4	29.5		29.4	29.8		29.4	30.8				
SD	4.8	4.8	4.8		4.8	4.9		4.8	5.1				
birth weight (g)													
minimum	540	540	1890	0.805 ^a	540	1890	0.915 ^a	540	2330	0.166 ^a	540	2330	0.563 ^a
maximum	5080	5080	4580		5080	4520		5080	4360				
median	3330	3340	3320		3330	3375		3330	3225				
mean	3311	3309.6	3328.9		3310.1	3330.3		3311.5	3215.9				
SD	517	520.9	436.3		518.0	478.8		517.0	519.4				
GA (days)													
minimum	168	168	229	0.947 ^a	168	229	0.767 ^a	168	241	0.158 ^a	168	241	0.077 ^a
maximum	300	300	293		300	293		300	292				
median	278	278	277		278	277		278	275				
mean	275	275.0	276.5		275.1	275.9		275.1	274.2				
SD	13	13.2	9.1		13.0	10.2		13.0	9.7				
parity, n (%)													
1	1418	1353	65 (4.6)	0.409 ^b	1386	32 (2.3)	0.816 ^b	1404	14 (1.0)	0.562 ^b	1414	4 (0.3)	0.876 ^b
2	1399	1332	67 (4.8)		1366	33 (2.4)		1386	13 (0.9)		1397	2 (0.1)	
3 and more	478	449	29 (6.1)		465	13 (2.7)		471	7 (1.5)		477	1 (0.2)	
maternal, n (%)													
AB0 blood group													
0	1104	1051	53 (4.8)	0.146 ^b	1080	24 (2.2)	0.168 ^b	1094	10 (0.9)	0.505 ^b	1103	1 (0.1)	0.518 ^b
A	1307	1240	67 (5.1)		1272	35 (2.7)		1289	18 (1.4)		1303	4 (0.3)	
B	617	595	22 (3.6)		608	9 (1.5)		613	4 (0.6)		616	1 (0.2)	
AB	267	248	19 (7.1)		257	10 (3.7)		265	2 (0.7)		266	1 (0.4)	
RhD blood group													
positive	2514	2394	120 (4.8)	0.570 ^b	2456	58 (2.3)	0.684 ^b	2491	23 (0.9)	0.228 ^b	2509	5 (0.2)	0.673 ^b
negative	781	740	41 (5.2)		761	20 (2.6)		770	11 (1.4)		779	2 (0.3)	

^a Mann-Whitney *U*-test

^b Fisher's Exact Test

Tab. 24. Vliv fetomaternálních charakteristik na objem fetomaternální hemoragie (FMH) po normálním vaginálním porodu

Diskuze

Podle publikovaných studií je objem fetomaternální během porodu nízký (9, 169, 183, 217, 234), dle Augustona et al. (9) u 98,5 % rodiček nepřesáhl objem FMH 2,5 ml, u 90 % rodiček 1 ml a jen u 0,4 % byl objem FMH více než 6 ml. Podobné výsledky popisují i Moise (169) či Sebring. (217) Pouze raritně dochází k excesivní FMH, přičemž často není přítomen žádný rizikový faktor. (183, 217) Po porodu RhD pozitivního plodu RhD negativní matkou v případě excesivní FMH nemusí běžně podávaná dávka IgG anti-D postačovat k zabránění vzniku aloimunizace. Předpokládá se, že zvýšené riziko vyššího objemu FMH je při porodu císařským řezem, porodu mrtvého plodu, operačním vaginálním porodu, porodu dvojčat, porodu s příznaky abrupce placenty či porodu s patologií ve III. době porodní. (217, 234)

IgG anti-D v dávce 10 µg podané nitrosvalově by mělo pokrýt 0,5 ml RhD pozitivních fetálních erytrocytů (1 ml plné krve) proniklých do krevního oběhu matky, tudíž 50 µg (125 µg, 250 µg) IgG anti-D by mělo zabránit aloimunizaci při fetomaternální hemoragii 2,5 ml (6,25 ml, 12,5 ml) fetálních erytrocytů (5 ml, 12,5 ml, 25 ml plné fetální krve).

V naší studii byla FMH > 2,5 ml fetálních erytrocytů diagnostikována u 1,3 % porodů (69/5334), po normálním vaginálním porodu u 1 % rodiček (34/3295), po porodu císařským řezem u 2,2 % rodiček (35/1567), po porodu vakuumextrakcí u 1,5 % rodiček (4/273), po vaginálním porodu dvojčat u 4,2 % rodiček (2/48), po manuální lýze placenty u 3,1 % rodiček (2/65). Rizikový faktor pro FMH > 2,5 ml však představoval jen porod císařským řezem (OR 2,2; p 0,002). Vzhledem k tomu, že IgG anti-D se u nás zatím nevyrábí v dávce 50 µg, z klinického hlediska není tento rizikový faktor významný.

Fetomaternální hemoragie o objemu > 5 ml byla diagnostikována u 0,3 % porodů (16/5334), po normálním vaginálním porodu u 0,2 % rodiček (7/3295), po porodu císařským řezem u 0,5 % rodiček (8/1567), po porodu vakuumextrakcí u 0,4 % rodiček (1/273). Ani císařský řez, ani porod vakuumextrakcí zde rizikový faktor nepředstavoval. V dalších rizikových skupinách se FMH > 5 ml nevyskytla.

Objem FMH pomocí průtokové cytometrie sledovala i studie Uriel et al. Probíhala ale na nižším počtu pacientek (n = 346). (234) Soubor rozděluje do tří skupin: vaginální porod (n = 196), císařský řez (n = 55) a operační vaginální porod (n = 59). Rozdíl v objemu FMH po vaginálním porodu (průměr 0,12 ml; SD = 0,51; medián 0,03 ml) ve srovnání s císařským řezem (průměr 0,67 ml; SD 3,44; medián 0,03) byl statisticky významný (p = 0,001). Podobně jako v naší studii však císařský řez nepředstavoval rizikový faktor pro FMH > 2,5 ml ani pro FMH excesivní. Rozdíl v objemu FMH mezi normálním vaginálním a operačním vaginálním porodem (průměr 0,31 ml; SD 1,08; medián 0,02) nebyl statisticky významný. Objem FMH byl stanoven jako rozdíl mezi FMH před porodem a po porodu. Tento postup však nemá pro stanovení potřebné dávky IgG anti-D klinický význam.

Jestliže dojde k fetomaternální hemoragii větší než 5 ml, jedná se často o hemoragii excesivní (v našem souboru FMH 5,1 ml - 65,9 ml, celkem 17 případů), tudíž zde již k zabránění aloimunizace rodičky běžná dávka IgG anti-D nemusí postačovat. Proto je vhodné u RhD negativních matek po porodu RhD pozitivního dítěte stanovit objem FMH, čímž můžeme diagnostikovat případy, kdy je nutné doplnit potřebnou dávku IgG anti-D. Tento postup umožní současně snížit dávku paušálně podávaného IgG anti-D. Nejpresnější a nejcitlivější je stanovení objemu FMH pomocí průtokové cytometrie, jako metodu screeningovou lze s úspěchem využít i Kleihauer-Betke test. (76, 78, 192, 197, 228)

Závěr

U naprosté většiny porodů dochází k FMH menší než 5 ml, což v praxi znamená, že u RhD negativních rodiček po porodu RhD pozitivního plodu by měla být pro prevenci RhD aloimunizace postačující dávka IgG anti-D 100 µg. Naopak jen raritně dochází k excesivní FMH, kdy je však nutné podat i několikanásobně větší dávku IgG anti-D. Jak z naší studie vyplývá, věk rodičky, parita, délka trvání těhotenství ani hmotnost plodu nepředstavují rizikový faktor pro excesivní fetomaternální hemoragii při spontánním porodu. Stejně tak rizikový faktor excesivní FMH nepředstavují porod císařským řezem, klešťový porod, porod vakuumextrakcí, spontánní porod dvojčat, manuální lýza placenty ani instrumentální revize dutiny děložní. Tudiž i paušální podávání vyšších dávek IgG anti-D RhD negativním rodičkám po porodu RhD pozitivního dítěte je v těchto situacích neúčelné a zároveň i zbytečně ekonomicky nákladné.

Jako efektivnější se zdá být primárně aplikace dávky IgG anti-D nižší s následným vyšetřením fetomaternální hemoragie a v případě excesivní FMH doplnění IgG anti-D. Tímto postupem by došlo k odhalení excesivní FMH a tím i zabránění případné aloimunizace v dalších těhotenstvích, navíc by rodička dostala jen dávku IgG anti-D nezbytně nutnou, čímž by došlo i ke snížení nákladů.

Optimální postup v prevenci RhD aloimunizace je proto následující. U RhD negativních rodiček je vhodné na začátku těhotenství vyšetřit *RHD* genotyp plodu pomocí volné fetální DNA z periferní mateřské krve. V případě, že je *RHD* genotyp negativní, není třeba aplikovat IgG anti-D ve 28. týdnu gestace ani při potenciálně senzibilizujících událostech, stejně tak není nutné vyšetřovat krevní skupinu novorozence po porodu ani provádět screening FMH. U *RHD* pozitivního genotypu plodu aplikujeme rodičce ve 28. týdnu těhotenství, nebyla-li v jejím séru prokázána přítomnost anti-D protilátek, IgG anti-D v dávce 250 µg. Obdobně aplikujeme IgG anti-D i při potenciálně senzibilizujících událostech v dávce 50/100 µg. Po porodu, jestliže je plod RhD pozitivní (z vyšetření *RHD* genotypu nebo vyšetření krevní skupiny po porodu), aplikujeme IgG anti-D v dávce 125 µg a následně vyšetříme FMH. V případě excesivní FMH dávku IgG anti-D doplníme.

Cíl č. 1:

V 99,7% případů byla postačující dávka IgG anti-D 100 µg, naopak ve zbývajících 0,3% případů se jednalo o excesivní FMH a bylo nutné podat dávku i několikanásobně větší. Ve většině případů však nebyl zaznamenán žádný rizikový faktor, který by umožnil excesivní FMH predikovat.

Cíl č. 2:

V 99,5% případů byla postačující dávka IgG anti-D 100 µg, naopak ve zbývajících 0,5% případů se jednalo o excesivní FMH a bylo nutné podat dávku větší. Ani v jednom případě však nebyl přítomen žádný rizikový faktor.

Cíl č. 3:

Věk rodičky, parita, délka trvání těhotenství ani hmotnost plodu nepředstavují rizikový faktor pro excesivní fetomaternální hemoragii při spontánním porodu.

Cíl č. 4:

U RhD negativních rodiček je vhodné na začátku těhotenství vyšetřit *RHD* genotyp plodu pomocí volné fetální DNA z periferní mateřské krve. U *RHD* pozitivního genotypu plodu aplikujeme rodičce ve 28. týdnu těhotenství, nebyla-li v jejím séru prokázána přítomnost anti-D protilátek, IgG anti-D v dávce 250 µg. Obdobně aplikujeme IgG anti-D i při potenciálně senzibilizujících událostech v dávce 50/100 µg. Po porodu, jestliže je plod RhD pozitivní (z vyšetření *RHD* genotypu nebo vyšetření krevní skupiny po porodu), aplikujeme IgG anti-D v dávce 125 µg a následně vyšetříme FMH. V případě excesivní FMH dávku IgG anti-D doplníme.

Literatura (citace uvedeny dle normy ČSN ISO 690)

1. ACOG - American College of Obstetricians and Gynecologists. Prevention of RhD alloimmunization. *ACOG practice bulletin no.4*. Washington, DC, 1999.
2. Adeniji AO, Mabayoje VO, Raji AA, et al. Feto - maternal haemorrhage in parturients: Incidence and its determinants. *J Obstet Gynaeco, I* 2008; 28:60.
3. Agarwala P., Sekhar Das S., Guptab R., et al. Quantification of Feto-Maternal Hemorrhage: Selection of Techniques for a Resource-Poor Setting. *Gynecol Obstet Invest*, 2011, 71, p. 47-52.
4. Ahaded, A., Brossard, Y., Debbia, M., Lambin, P. Quantitative determination of anti-K (KEL1) IgG and IgG subclasses in the serum of severely alloimmunized pregnant women by ELISA. *Transfusion*, 2000, 40, p. 1239–1245.
5. Alves de Lima, LM., Berthier, ME., Sad, WE., et al. Characterization of an anti-Dia antibody causing hemolytic disease in a newborn infant. *Transfusion*, 1982, 22, p. 246–247.
6. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). Management of alloimmunization during pregnancy. Washington (DC): American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), 2006 Aug. 8 p. (ACOG practice bulletin; no. 75).
7. Ascari, W. Q., Levine, P., Pollack, W. Incidence of maternal Rh immunization by ABO compatible and incompatible pregnancies. *Br Med J*, 1969, 1, p. 399-401.
8. Ascari, W. Q., Allen, A.E., Baker, W. J., Pollack, W. Rho (D) immune globulin (human); evaluation in women at risk of Rh immunization. *J. A.M. A.*, 1968, 205, p.71-74.
9. Augustson B. M., Fong E. A., Grey D. E., et al. Postpartum anti-D: can we safely reduce the dose?. *MJA*, 2006, 184, p. 611-613.
10. Australian & New Zealand Society of Blood Transfusion Inc. Guidelines for laboratory assesment of fetomaternal haemorrhage, 2002, Australia.
11. Babinszki, A., Berkowitz, RL. Haemolytic disease of the newborn caused by anti-c, anti-E and anti-Fya antibodies: report of five cases. *Prenat Diagn* 1999, 19, p. 533–536.

12. Bartha, J. L., Illanes, S., Abdel-Fattah, S. A. et al. Comparison of different reference values of fetal blood flow velocity in the middle cerebral artery for predicting fetal anemia. *Ultrasound. Obstet Gynecol*, 2005, 25, p. 335-340.
13. Bayliss, K.M., Kueck, B.D., Johnson, S.T., Jueger, J.T., McFadden, P.W., Mikulski, D., Gottschall, J.L. Detecting fetomaternal haemorrhage: a comparison of five methods. *Transfusion*, 1991, 31, p. 303-307.
14. Benacerraf, B. R., Frigoletto, F. D. Jr. Sonographic sign for the detection of early fetal ascites in the management of severe isoimmune disease without intrauterine transfusion. *Am J Obstet Gynecol*, 1985, 152, p.1039-1041.
15. Berkowitz. R.L., Beyth, Y., Sadovsky, E. Death in utero due to Kell sensitization without excessive elevation of the delta OD450 value in amniotic fluid. *Obstet Gynecol*, 1982, 60, p. 746–749.
16. Bianchi, D.W., Romero, R. Biological implications of bi-directional fetomaternal cell traffic: a summary of a National Institute of Child Health and Human Development-sponsored conference. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2003, 14, p. 123-127.
17. Bowell, P.J., Brown, S.E., Dike A.E., Inskip, M.J. The significance of anti-c alloimmunization in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*, 1986, 93, 10, p. 1044-1048.
18. Bowman, J.M., Harman, F.A., Manning, C.R., Pollock, J.M. Erythroblastosis fetalis produced by anti-k. *Vox Sang*, 1989, 56, 3, 187-189.
19. Bowman, J.M., Pollock, J.M., Manning, F.A., et al. Maternal Kell blood group alloimmunization. *Obstet Gynecol*, 1992, 79, 2, p. 239-244.
20. Bowman, J.M., Pollock, J.M., Manning, F.A., Harman, C.R. Severe anti-C hemolytic disease of the newborn. *Am J Obstet Gynecol*, 1992, 166, 4, p. 1239-1243.
21. Bowman, J.M. Controversies in Rh prophylaxis. Who needs Rh immune globulin and when should it be given? *Am J Obstet Gynecol*, 1985, 151, p. 289–294.
22. Bowman, J.M., Pollock, J.M., Penston, L.E. Fetomaternaltransplacental haemorrhage during pregnancy and after delivery. *Vox Sanguinis* , 1986, 51, p. 117-121.
23. Bowman, J. M., Pollock, J. M. Transplacental fetal hemorrhage after amniocentesis. *Obstet Gynecol*, 1985, 66, p.749-754.

24. Brace, R.A. Mechanisms of fetal blood volume restoration after slow fetal hemorrhage. *Am J Physiol*, 1989, 256, p.1040-1043.
25. Brace, R.A, Cheung, C.Y. Fetal blood volume restoration following rapid fetal hemorrhage. *Am J Physiol*, 1990, 259, p. 567-573.
26. Brambati, B., Guercilena, S., Bonacchi, I., et al. Feto-maternal transfusion after chorionic villus sampling: clinical implications. *Hum Reprod*, 1986, 1, p. 37–40.
27. Brecher, M.E. Technical Manual of the American Association of Blood Banks. *American Association of Blood Banks*, Bethesda, Maryland 2005.
28. Broadberry, R.E., Lin, M. The incidence and significance of anti-“Mia” in Taiwan. *Transfusion*, 1994, 34, p. 349–352. 10.
29. Bromilow, I.M., Duguid, J.K.M. Measurement of fetomaternal haemorrhage: a comparative study of three Kleihauer techniques and two flow cytometry methods. *Clin Lab Haematol*, 1997, 19, p. 137-142.
30. Bullock, R., Martin, W. L., Coomarasamy, A., Kilby, M. D. Prediction of fetal anemia in pregnancies with red-cell alloimmunization: comparison of middle cerebral artery peak systolic velocity and amniotic fluid OD450. *Ultrasound. Obstet Gynecol*, 2005, 25, p. 331-334.
31. Caine, M. E., Mueller-Heubach, E. Kell sensitization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1986, 154, p. 85-90.
32. Calda, P. Příčiny, prevence a diagnostika aloimunizace v těhotenství. *Actual Gyn* 2009, 1, s. 55-60.
33. Calda, P. *Ultrazvuková diagnostika v těhotenství a gynekologii*. Praha: Aprofema, 2010, 496 s. ISBN 978-80-903706-2-3.
34. Calda, P., Žižka, Z., Zlatohlávková, B., et al. Diagnostika aléčba erytrocytární aloimunizace vtěhotenství. *Čes. Gynek.*, 1998, 63, s.170-175.
35. Calda, P., Žižka, Z., Zlatohlávková, B., et al. Nové pohledy na erytrocytární izoimunizaci vtěhotenství. *Neonatal. Listy*, 1998, 4, s.8-11.
36. Calda, P., Žižka, Z., Řežábek, K., et al. Diagnostika a terapie plodu ohroženého Rh izoimunizací. *Čes. Gynek.*, 1993, 58, s.278-282.
37. Calda, P. Kordocentesa - transabdominální intrauterinní punkce pupečníku. *Moderní gynekologie a porodnictví*, 1992, 2, s.358-383.

38. Calhoun, D.A. Postnatal diagnosis and management of alloimmune hemolytic disease of the newborn. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2012* (updated 1/2012).
39. Campogrande, M., Brugnoli, C. A., Mattone, P.G., et al. Use of ultrasonic in the diagnosis of anti-Rh isoimmunization. *Minerva Ginecol*, 1974, 26, p.571-577.
40. Catalano, P.M., Capeless, E.L. Fetomaternal bleeding as a cause of recurrent fetal morbidity and mortality. *Obstet Gynecol*, 1990, 76, p.972-973.
41. Cobbins, J. C. Use of ultrasound in complicated pregnancies. *Clin Perinatol*, 1980, 7, p.397-411.
42. Collinet, P., Subtil, D., Puech, F., Vaast, P. Successful treatment of extremely severe fetal anemia due to Kell alloimmunization. *Obstet Gynecol*, 2002, 100, p. 1102–1105.
43. Contreras, M. The prevention of Rh haemolytic disease of the fetus and newborn – general background. *Br J Obstet Gynaecol*, 1998, 105, p. 7–10.
44. Copel, J. A., Grannum, P. A., Green, J. J., et al. Pulsed Doppler Flow-velocity waveforms in the prediction of fetal hematocrit of the severely isoimmunized pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1989, 161, p.341-344.
45. Corfield, V.A., Moolman, J.C., Martell, R., Brink, P.A. Polymerase chain reaction-based detection of MN blood groupspecific sequences in the human genome. *Transfusion*, 1993, 33, 2, p. 119-124.
46. Cosmi, E., Dessole, S., Uras, L. et al. Middle cerebral artery peak systolic and ductus venosus velocity waveforms in the hydropic fetus. *J Ultrasound Med*, 2005, 24, p. 209-213.
47. Cosmi, E., Mari, G., Chiaie, L. D. et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia resulting from parvovirus infection. *Am J Obstet Gynecol*, 2002, 187, p. 1290-1293.
48. Costamagna, L., Barbarini, M., Viarengo, GL., et al. A case of hemolytic disease of the newborn due to anti-Kpa. *Immunohematol*, 1997, 13, p. 61–62.
49. Crowther, C., Middleton, P. Anti-D administration after childbirth for preventing Rhesus alloimmunisation. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2010.
50. Dacus, J.V., Spinnato, J.A. Severe erythroblastosis fetalis secondary to anti-Kpb sensitization. *Am J Obstet Gynecol*, 1984, 150, p. 888–889.

51. Daffos, F., Capella-Pavlovsky, M., Forestier, F. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: a study of 606 consecutive cases. *Am J Obstet Gynecol*, 1985, 153, p.655-660.
52. Daniels, G. *Human Blood Groups*. Oxford: Blackwell Science, 1995.
53. Daniels, G. Blood group antibodies in haemolytic disease of the fetus and newborn. In Hadley, A., Soothill, P. *Alloimmune Disorders in Pregnancy Anaemia, Thrombocytopenia, and Neutropenia in the Fetus and Newborn*. Cambridge: Cambridge University Press, 2002, p. 21–40.
54. Daniels, G., Fletcher, A., Garratty, G., et al. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. *Vox Sang*, 2004, 87, 4, p. 304–316.
55. Daniels, G., Hadley, A., Green, CA. Causes of fetal anemia in hemolytic disease due to anti-K. *Transfusion*, 2003, 43, p. 115–116.
56. Daniels, G., Finning, K., Martin, P., Massey, E. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal blood group phenotypes: current practice and future prospects. *Prenat Diagn*, 2009, 29, p. 101–107.
57. Daniels, G., Finning, K. Martin, P. Soothill, P. Fetal blood group genotyping from DNA from maternal plasma: an important advance in the management and prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Vox Sang.*, 2004, 87, p.225-232.
58. Davie, M.J., Smith, D.S., White, U.M., Dyball, D. An example of anti-s causing mild haemolytic disease of the newborn. *J Clin Pathol*, 1972, 25, 9, p. 772-773.
59. de Almeida V, Bowman JM. Massive fetomaternal hemorrhage: Manitoba experience. *Obstet Gynecol*, 1994, 83, p.323-328.
60. de Jonge, N., Martens, J.E., Milani, A.L., et al. Haemolytic disease of the newborn due to anti-K antibodies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1996, 67, p. 69–72.
61. de Vrijer, B., Harthoorn-Lasthuizen, E.J., Oosterbaan, H.P. The incidence of irregular antibodies in pregnancy: a prospective study in the region of the 's-Hertogenbosch. *Ned Tijdschr Geneesk*, 1999, 143, 50, p. 2523-2527.
62. De Young-Owens, A., Kennedy, M., Rose, R.L., et al. Anti-M isoimmunization: management and outcome at the Ohio State University from 1969 to 1995. *Obstet Gynecol*, 1997, 90, 6, p. 962-966.

63. Delle Chiaie, L., Buck, G., Grab, D., Terinde, R. Prediction of fetal anemia with Doppler measurement of the middle cerebral artery peak systolic velocity in pregnancies complicated by maternal blood group alloimmunization or parvovirus B19 infection. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2001, 18, p. 232-236.
64. Deren, O., Onderoglu, L. The value of middle cerebral artery systolic velocity for initial and subsequent management in fetal anemia. *Eur J Obstet Gynecol. Reprod Biol*, 2002, 101, p. 26-30.
65. Detti, L., Mari, G., Akiyama, M. et al. Longitudinal assessment of the middle cerebral artery peak systolic velocity in healthy fetuses and in fetuses at risk for anemia. *Am J Obstet Gynecol*, 2002, 187, p. 937-939.
66. Detti, L., Oz, U., Guney, I. et al. Doppler ultrasound velocimetry for timing the second intrauterine transfusion in fetuses with anemia from red cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 185, p. 1048-1051.
67. Detti, L., Mari, G. Noninvasive diagnosis of fetal anemia. *Clin Obstet Gynecol*, 2003, 46, p.923-30.
68. Detti, L., Akiyama, M., Mari, G. Doppler blood flow in obstetrics. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2002, 14, p.587-593.
69. DeVore, G. R., Mayden, K., Tortora, M., et al. Dilation of the fetal umbilical vein in rhesus hemolytic anemia: a predictor of severe disease. *Am J Obstet Gynecol*, 1981, 141, p.464-466.
70. Dhanraj, D., Lambers, D. The incidences of positive Kleihauer-Betke test in low-risk pregnancies and maternal trauma patients. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 190, p.1461-1463.
71. Divarkan, T. G., Waugh, J., Clark, J. J., et al. Noninvasive techniques to detect fetal anemia due to red blood cell alloimmunization: a systematic review. *Obstet Gynecol*, 2001, 98, p.509-517.
72. Donato, E., Guinot, M., Vilar, C., et al. rHuEPO in the management of pregnancy complicated by anti-Dib. *Transfusion*, 2003, 43, p. 681-682.
73. Duguid, J.K., Bromilow, I.M., Entwistle, G.D., Wilkinson, R. Haemolytic disease of the newborn due to anti-M. *Vox Sang*, 1995, 68, 3, p. 195-196.

74. Duguid, J.K., Bromilow, I.M. Haemolytic disease of the newborn due to anti-k. *Vox Sang*, 1990, 58, 1, p. 69.
75. Dukler, D., Oepkes, D., Seaward, G. et al. Noninvasive tests to predict fetal anemia: A study comparing Doppler and ultrasound parameters. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, 188, p. 1310-1314.
76. Dziegiel, M.H., Nielsen, L. K., Berkowicz, A. Detecting fetomaternal hemorrhage by flow cytometry. *Curr Opin Hematol*, 2006, 13, p. 490-495.
77. Feldman, N., Skoll, A., Sibai, B. The incidence of significant fetomaternal haemorrhage in patients undergoing cesarean section. *Am J Obstet Gynecol*, 1990, 163, 3, p. 855-858.
78. Fernandes, B. J., von Dadelszen, P., Fazal, I., et al. Flow cytometric assessment of fetomaternal hemorrhage; a comparison with Betk-Kleihauer. *Prenat Diagn*, 2007, 27, p. 641-643.
79. Fernandez-Jimenez, M.C., Jimenez-Marco, M.T., Hernandez, D., et al. Treatment with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin in pregnancies complicated with anti-PP1Pk or anti-K immunization: a report of two patients. *Vox Sang*, 2001, 80, p. 117–20.
80. Field, T.E., Wilson, T.E., Dawes, B.J., Giles, C.M. Haemolytic disease of the newborn due to anti-Mt a. *Vox Sang*, 1972, 22, p. 432–437.
81. Filbey, D., Hanson, U., Wesström, G. The prevalence of red cell antibodies in pregnancy correlated to the outcome of the newborn: a 12 year study in central Sweden. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1995, 74, 9, p. 687-692.
82. Finning, K., Martin, P., Summers, J., et al. Effect of high throughput RHD typing of fetal DNA in maternal plasma on use of anti-RhD immunoglobulin in RhD negative pregnant woman: prospective feasibility study. *B M J*, 2008, 336, p. 816–818.
83. Finning, K., Martin, P., Summers, J., et al. Fetal genotyping for the K (Kell) and RhC, c, and E blood groups on cell-free fetal DNA in maternal plasma. *Transfusion*, 2007, 47, p. 2126-2133.
84. Finning, K., Martin, P., Daniels, G. A clinical service in the UK to predict fetal Rh (Rhesus) D blood group using free fetal DNA in maternal plasma. *Ann NY Acad Sci*, 2004, 1022, p.119-123.

85. Fong, E.A, Davies, J.I., Grey, D.E., Reid, P.J, Erber, W.N. Detection of massive transplacental haemorrhage by flow cytometry. *Clin Lab Haem*, 2000, 22, p. 325-327.
86. Fung, K., Eason, E., Crane, J., Armson, A., De La Ronde, S., Farine, D., Keenan-Lindsay, L., Leduc, L., Reid, G.J., Aerde, J.V., Wilson, R.D., Davies, G., Désilets, V.A., Summers, A., Wyatt, P., Young, D.C.; Maternal-Fetal Medicine Committee, Genetics Committee. Prevention of Rh alloimmunization. *J Obstet Gynaecol Can*, 2003, 25, 9, p. 765-773.
87. Furukawa, K., Nakajima, T., Kogure, T., et al. Example of a woman with multiple intrauterine deaths due to anti-M who delivered a live child after plasmapheresis. *Exp Clin Immunogenet*, 1993, 10, 3, p. 161-167.
88. Gautier, E., Benachi, A., Giovangrandi, Y., et al. Fetal RhD genotyping by maternal serum analysis: A two-year experience. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 192, p.666-669.
89. Geifman-Holtzman, O., Wojtowycz, M., Kosmas, E., Artal, R. Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease. *Obstet Gynecol*, 1997, 89, 2, p. 272-275.
90. Ghidini, A., Sepulveda, W., Lodkwood, C. J., Romero, R. Complications of fetal blood sampling. *Am J Obstet Gynecol*, 1993, 168, p.1339-1344.
91. Giacoia, G.P. Severe fetomaternal hemorrhage: a review. *Obstet Gynecol Surv*, 1997, 52, p.372-375.
92. Gielezynska, A., Fabijańska-Mitek, J., Debska, M. Calculation of feto-maternal haemorrhage volume using various morphological parameters and various formulas. *Pol Merkur Lekarski*, 2011, p. 228-30.
93. Giblett, E., Chase, J., Crealock, FW. Hemolytic disease of the newborn resulting from anti-s antibody; report of a fatal case resulting from the fourth example of anti-s antibody. *Am J Clin Pathol*, 1958, 29, 3, p. 254-256.
94. Goldstone, AH., Verry, BA., Cooper, M. Transplacental passage of anti-s antibody without haemolysis. *Postgrad Med ,J* 1979, 55, 648, p. 743–744.
95. Gonsoulin, W.J., Moise, K.J. Jr., Milam, J.D., et al. Serial maternal blood donations for intrauterine transfusion. *Obstet Gynecol*, 1990, 75, 2, p. 158-162.

96. Goodrick, M.J., Hadley, A.G., Poole G. Haemolytic disease of the fetus and newborn due to anti-Fy(a) and the potential clinical value of Duffy genotyping in pregnancies at risk. *Transfus Med*, 1997, 7, p. 301–304.
97. Goodwin, T.M, Breen, M.T. Pregnancy outcome and fetomaternal hemorrhage after noncatastrophic trauma. *Am J Obstet Gynecol*, 1990, 162, p.665-671.
98. Gordon, M.C., Kennedy, M.S., O'Shaughnessy, R.W., Waheed, A. Severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Js(b). *Vox Sang*, 1995, 69, p. 140–141.
99. Griffith, T.K. The irregular antibodies - a continuing problem. *Am J Obstet Gynecol*, 1980, 15, 137, 2, p. 174-177.
100. Hackney, D.N., Knudtson, E.J., Rossi, K.Q., et al. Management of pregnancies complicated by anti-c isoimmunization. *Obstet Gynecol*, 2004, 103, 1, p. 24-30.
101. Hadley, A.G., Poole, G.D., Poole, J., et al. Haemolytic disease of the newborn due to anti-G. *Vox Sang*, 1996, 71, p. 108-112.
102. Hadley, A, Soothill, P. *Alloimmune disorders of pregnancy: anaemia, thrombocytopenia and neutropenia in the fetus and newborn*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2002. p. 97-120.
103. Hájek, Z. *Rizikové a patologické těhotenství*. Praha: GRADA Publishing, 2004,444 s., ISBN 80-247-0418-8
104. Hájek, Z. Nepravidelnosti plodového vejce. Rh-izoimunizace. In Čech, E. et al. *Porodnictví*, Praha: GRADA Publishing, 1999, s.169-172.
105. Harrington, K., Fayyad, A., Nicolaides, K. H. Predicting the severity of fetal anemia using time-domain measurement of volume flow in the fetal aorta. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2004, 23, p.437-441.
106. Hecher, K., Snijders, R., Campbell, S., Nicolaides, K. Fetal venous, arterial and intracardiac blood flows in red blood cell isoimmunization. *Obste. Gynecol*, 1995, 85, p.122-128.
107. Hernandez-Andrade, E., Scheier, M., Dezerega, V., et al. Fetal middle cerebral artery peak systolic velocity in the investigation of non-immune hydrops. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2004, 23, p.442-445

108. Hessner, M.J., Pircon, R.A., Johnson, S.T., Luhm, R.A. Prenatal genotyping of Jk(a) and Jk(b) of the human Kidd blood group system by allele-specific polymerase chain reaction. *Prenat Diagn*, 1998, 18, 12, p. 1225-1231.
109. Hessner, M.J., Pircon, R.A., Johnson, S.T., Luhm, R.A. Prenatal genotyping of the Duffy blood group system by allelespecific polymerase chain reaction. *Prenat Diagn*, 1999, 19, 1, p. 41-45.
110. Hromadnikova, I., Vesela, K., Benesova, B., et al. Noninvasive fetal RHD and RHCE genotyping from maternal plasma in alloimmunized pregnancies. *Prenat Diagn*, 2005, p. 125-128.
111. Huber, A.R., Leonard, G.T., Driggers, R.W., et al. Case report: moderate hemolytic disease of the newborn due to anti-G. *Immunohematology*, 2006, 22, 4, p. 166-170.
112. Chandrasekar, A., Morris, K.G., Tbmán, T.R.J., et al. The clinical outcome of non-RhD antibody affected pregnancies in Northern Ireland. *Ulster Med J*, 2001, 70, 2, p. 89-94.
113. Chen, CC., Broadberry, RE., Chang, FC., et al. Hemolytic disease of the newborn caused by maternal anti-Dib: a case report in Taiwan. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*, 1993, 52, p. 262–264.
114. Che'rif-Zahar, B., Matte' i, MG., Le Van Kim, C., et al. Localization of the human Rh blood group gene structure to chromosome region 1p34.3-1p36.1 by in situ hybridization. *Hum Genet*, 1991, 86, p. 398–400.
115. Chilcott, J., Lloyd, J.M., Wight, J. et al. A review of the clinical effectiveness and cost effectiveness of routine anti-D prophylaxies for pregnant women who are Rhesus (RhD) negative, 2002, National Institute of Clinical Excellence, London.
116. Chitkara, U., Wilkins, I., Lynch, L., et al. The role of sonography in assessing severity of fetal anemia in Rh- and Kell-isoimmunized pregnancies. *Obstet Gynecol*, 1988, 71, p.393-398.
117. INTERNATIONAL FORUM: Engelfriet, C.P., Reesink, H.W., Judd, W.J., Ulander, V.M., Kuosmanen, M., Koskinen, S., Rouger, P., Morelati, F., Tantalo, V., Fujii, T., de Haas, M., van der Schoot, C.E., Overbeeke, M., Koelewijn, J., Bonsel, G., Vrijkotte, T., Zupańska, B., Martin-Vega, C., Parra Lopez, R., de Silva, M., Contreras, M., Panzer, S., Ulm, B., Mayr, WR. Current status of

- immunoprophylaxis with anti-D immunoglobulin. *Vox Sang*, 2003, 85 (4), p. 328-337.
118. Johnson, P.R., Tait, R.C., Austin, E.B., Shwe, K.H., Lee, D. Flow cytometry in diagnosis and management of large fetomaternal haemorrhage. *J Clin Pathol*, 1995, 48, p. 1005-1008.
119. Joy, S.D., Rossi, K.Q., Krugh, D., O'Shaughnessy, R.W. Management of pregnancies complicated by anti-E alloimmunization. *Obstet Gynecol*, 2005, 105, 1, p. 24-28.
120. Kamp, I. L., Klumper, F. J. C. M., Oepkes, D., et al. Complications of intrauterine intravascular transfusion for fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 192, p.171-177.
121. Kanra, T., Yüce, K., Ozcebe, I.U. Hydrops fetalis and intrauterine deaths due to anti-M. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1996, 75, 4, p. 415-417.
122. Kim, W.D., Lee, Y.H. A Fatal Case of Severe Hemolytic Disease of Newborn Associated with Anti-Jk(b). *J Korean Med Sci*, 2006, 21, 1, p.151-154.
123. Koelewijn, J.M., Vrijkotte, T.G., de Haas, M., et al. Risk factors for the presence of non-rhesus D red blood cell antibodies in pregnancy. *BJOG*, 2009, 116, 5, p. 655-664.
124. Kumpel, B.M. Quantification of anti-D and fetomaternal haemorrhage by flow cytometry. *Transfusion*, 2000, 40, p. 6-9.
125. Kurmanavicius, J., Streicher, A., Wright, E. M., et al. Reference value of fetal peak systolic blood velocity in the middle cerebral artery at 19-40 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2001, 17, p.50-53.
126. Kozłowski, C.L., Lee, D., Shwe, K.H., Love, E.M. Quantification of anti-c in haemolytic disease of the newborn. *Transfus Med*, 1995, 5, 1, p. 37-42.
127. Kulich, V., Kout, M. Hemolytic disease of a newborn caused by anti-k antibody. *Ces Pediatr*, 1967, 22, 9, p. 823-826.
128. Kumar, S. Universal RHD genotyping in fetuses. *BMJ*, 2008, 336, p. 783-784.
129. Kusnierz-Alejska, G., Bochenek, S. Haemolytic disease of the newborn due to anti-Dia and incidence of the Dia antigen in Poland. *Vox Sang*, 1992, 62, p. 124-126.

130. Leduc, L., Moise, K.J. Jr., Carpenter, R.J. Jr., Cano, L.E. Fetoplacental blood volume estimation in pregnancies with Rh alloimmunization. *Fetal Diagn Ther*, 1990, 5, p. 138-146.
131. Lee, D., Rawlinson, V. I. Multicentre trial of antepartum low dose anti-D immunoglobulin. *Transfusion Med*, 1995, 5, p. 15-19.
132. Levine, P., Backer, M., Wigod, M., Ponder, R. A new human hereditary blood property (Cellano) present in 99.8% of all bloods. *Science*, 1949, 6, 109, 2836, p. 464-466.
133. Levine, P., Ferraro, LR., Koch, E. Hemolytic disease of the newborn due to Anti-S; a case report with a review of 12 Anti-S sera cited in the literature. *Blood*, 1952, 7, 10, p. 1030-1037.
134. Liley, A. W. Liquor amni analysis in the management of the pregnancy complicated by resus sensitization. *Am J Obstet Gynecol*, 1961, 82, p.1359-1370.
135. Lloyd-Evans, P., Kumpel, B.M., Bromelow, I., Austin, E. , Taylor, E. Use of a directly conjugated monoclonal anti-D (BRAD-3) for quantification of fetomaternal haemorrhage by flow cytometry. *Transfusion*, 1996, 36, p. 432-437.
136. Lo, Y.M., Lau, T.K., Chan, L.Y., et al. Quantitative analysis of the bidirectional fetomaternal transfer of nucleated cells and plasma DNA. *Clin Chem*, 2000, 46, p.1301-9.
137. Lubenko, A., Williams, M., Johnson, A., Pluck, J., Armstrong, D., MacLennan, S. Monitoring the clearance of fetal RhDpositive red cells in FMH following RhD immunoglobulin administration. *Transfusion Med*, 1999, p. 331-335.
138. Lubušký, M., Procházka, M., Šimetka, O., Holusková, I. Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. *Čes. Gynec.*, 2010, 75, 4, s. 323-324.
139. Lubušký, M. Prevence RhD aloimunizace. Evidence Based Medicine a přehled doporučených postupů. *Postgrad. med.*, 2010, 12, 2, s. 194-198.
140. Lubušký, M. Prevence Rh (D) aloimunizace u Rh (D) negativních žen. *Prakt. gyn.*, 2008, 2, s. 100-103.
141. Lubusky, M. Prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2010, 154, p. 3-8.

142. Lubusky, M., Prochazka, M., Simetka, O., Holuskova, I. Guideline for prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women. *Čes. Gynek.*, 2010, 75, s. 323-324.
143. Lubušký, M., Procházka, M., Krejčová, L., et al. Prevence Rh (D) aloimunizace u Rh (D) negativních žen v těhotenství a po porodu Rh (D) pozitivního dítěte. *Čes. Gynek.*, 2006, 71 (3), s. 173-179.
144. Lubusky, M., Dhaifalah, I., Holuskova, I., et al. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. *Int J Gynaecol Obstet*, 2009, 107, S2, p. 439.
145. Lubušký, M., Procházka, M., Šantavý, J., Míčková, I. Technika stanovení maximální průtokové rychlosti v arteria cerebri media (MCA-PSV) u podů s rizikem rozvoje fetální anémie. *Gynekolog.*, 2006, 15, s.124–128.
146. Lubušký, M., Procházka, M., Šantavý, J., et al. Aktuální management těhotenství s rizikem rozvoje anémie plodu. *Čes. Gynek.*, 2006, 71, s.272–280.
147. Lubušký, M., Pospíšilová, D., Hyjánek, J., et al. Prenatální infekce plodu parvovirem B19. *Čes. Gynek.*, 2005, 70, s.306–311.
148. Lubušký, M., Procházka, M., Šantavý, J., et al. Přínos dopplerovského vyšetření pro těhotenství s rizikem alloimunní anémie plodu. *Čes. Gynek.*, 2005, 70, s.27–29.
149. Lubušký, M., Procházka, M., Šantavý, J., et al. Dopplerometrie při posouzení fetální anémie. *Čes. Gynek.*, 2004, 69, s.316–320.
150. Lubušký, M. *Minimálně invazivní management těhotenství s rizikem rozvoje anémie plodu*. Olomouc, 2007. 102 s. Habilitační práce na LFUP v Olomouci.
151. Maass ,B., Würfel, B., Fusch, C. Recurrent fetomaternal transfusion in two consecutive pregnancies. *Prenat Diagn*, 2001, 21, p.791-793.
152. Macpherson, C.R., Zartman, E.R. Anti-M antibody as a cause of intrauterine death: a follow-up. *Am J Clin Pathol*, 1965, 43, p. 544-547.
153. Mari, G., Zimmermann, R., Moise, K. J., Deter, R. L. Correlation between middle cerebral artery peak systolic velocity and fetal hemoglobin after 2 previous intrauterine transfusions. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 193, p. 1117-1120.
154. Mari, G., Abuhamad, A. Z., Cosmi, E. et al. Middle cerebral artery peak systolic velocity. Technique and variability. *J Ultrasound Med*, 2005, 24, p. 425-430.

155. Mari, G., Detti, L., Oz, U. et al. Accurate prediction of fetal hemoglobin by Doppler ultrasonography. *Obstet Gynecol*, 2002, 99, p. 589-593.
156. Mari, G., Deter, R. L., Carpenter, R. L. et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *N Engl J Med*, 2000, 342, p. 9-14.
157. Mari, G., Rahman, F., Olofsson, P. et al. Increase of fetal hematocrit decreases the middle cerebral artery peak systolic velocity in pregnancies complicated by rhesus alloimmunization. *J Matern Fetal Med*, 1997, 6, p. 206-208.
158. Mari, G. Middle cerebral artery peak systolic velocity. Is it standard of care for the diagnosis of fetal anemia? *J Ultrasound Med*, 2005, 24, p.697-702.
159. Mari, G. Middle cerebral artery peak systolic velocity for the diagnosis of fetal anemia: the untold story. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2005, 25, p.323-330.
160. Mari, G., Detti, L. Doppler ultrasound: application to fetal medicine. In Manning, F. A., Fletcher, A., Romero, R., Jeanty, P. (eds). *The principles of ultrasonography in obstetrics and gynecology*. New York: Appleton & Lange, 2001, p.247-283.
161. Mari, G., Adrignolo, A., Abuhamad, A.Z., et al. Diagnosis of fetal anemia with Doppler ultrasound in the pregnancy complicated by maternal blood group immunization. *Ultrasound. Obstet Gynecol*, 1995, 5, p.400-405.
162. Martin, J. A., Hamilton, B. E., Ventura, S. J., et al. Births: final data for 2001. *Natl Vital Stat Rep*, 2002, 51, p.1-102.
163. Mayne, K.M., Bowell, P.J., Green, S.J., Entwistle, C.C. The significance of anti-S sensitization in pregnancy. *Clin Lab Haematol*. 1990, 12, 1, p.105-107.
164. McKenna, D.S., Nagaraja, H.N., O'Shaughnessy, R. Management of pregnancies complicated by anti-Kell isoimmunization. *Obstet Gynecol*, 1999, 93, 5, Pt 1, p. 667-673.
165. McLean, L. K., Hedriana, H. L., Lanouette, J. M., Haesslein, H. C. Aretrospective review of isoimmunized pregnancies managed by middle cerebral artery peak systolic velocity. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 190, p.1732-1738.
166. Moise, K.J Jr. Diagnosis and management of massive fetomaternal hemorrhage. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2011* (updated 2/2011).

167. Moise, K.J, Jr. Intrauterine fetal transfusion of red blood cells. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2011* (updated 4/2011).
168. Moise, K.J. Jr. Management of Rhesus (Rh) alloimmunization in pregnancy. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2011* (updated 11/2011).
169. Moise, K.J. Jr. Pathogenesis and prenatal diagnosis of Rhesus (Rh) alloimmunization. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2009* (updated 9/2009).
170. Moise, K.J. Jr. Prevention of Rh(D) alloimmunization. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2011* (updated 8/2011).
171. Moise, J.M. Jr. Management of Rhesus Alloimmunization in Pregnancy. *Obstet Gynecol*, 2008, 112, p. 164 - 176.
172. Moise, K.J. Jr. Prevention of Rh (D) alloimmunization. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2008* (updated April 2008).
173. Moise, K.J. Fetal anemia due to non-Rhesus-D red-cell alloimmunisation. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2008, 13, 4, p. 207-214.
174. Moise, K. J. Red blood cell alloimmunization in pregnancy. *Semin Hematol*, 2005, 42, p.169-178.
175. Moise, K. J. Management of Rhesus alloimmunization in pregnancy. *Business Briefing: Womens's Healthcare*, 2005, p.2-6.
176. Moise, K. J. Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2000, 92, p.75-81.
177. Moncharmont, P., Juron-Dupraz, F., Doillon, M., et al. A case of hemolytic disease of the newborn infant due to anti-K (Cellano). *Acta Haematol*, 1991, 85, 1, p. 45-46.
178. Mrázek, M. Nepravidelnosti plodového vejce. Rh izoimunizace adalší hemolytická onemocnění plodu způsobená inkompatibilitou krve matky aplodu. In Zwinger, A.et al. *Porodnictví*. Praha: Galén, 2004, s.257-264.
179. Muench, M.V, Baschat, A.A, Reddy, U.M, et al. Kleihauer-betke testing is important in all cases of maternal trauma. *J Trauma*, 2004, 57, p.1094-1098.
180. Murphy, K.W., Venkatraman, N., Stevens, J. Limitations of ultrasound in the diagnosis of fetomaternal haemorrhage. *BJOG*, 2000, 107, p.1317-1319.

181. National Blood Authority. *Guidelines on prophylactic use of Rh D immunoglobulin (anti-D) in obstetrics*, 2000, N. H. M. R. C., Canberra, A. C. T.
182. National Institute for Clinical Excellence. *Guidance on the use of routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative women*, 2002, London.
183. Ness, P.M., Baldwin, M.L., Niebyl, J.R.. Clinical high-risk designation does not predict excess fetal-maternal haemorrhage. *Am J Obstet Gynecol*, 1987, 156, 1, p 154-158.
184. NHMRC – National Health and Medical Research Council. Australia. National Blood Authority. *Guidelines on the prophylactic use of Rh D immunoglobulin (anti-D) in obstetrics* 2003.
185. Nicolaides, K. H., Rizzo, G., Hecher, K. *Placental and fetal Doppler. Doppler studies in red blood cell isoimmunization*. Parthenon Publishing Group, 2000, p. 105-119.
186. Nicolaides, K. H., Bilardo, C. M., Campbell, S. Prediction of fetal anemia by measurement of the mean blood flow in the fetal aorta. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1990, 162, p.209-212.
187. Nicolaides, K.H., Sadovsky, G., Visser, G.H. Heart rate patterns in normoxemic, hypoxemic, and anemic second-trimester fetuses. *Am J Obstet Gynecol*, 1989, 160, p. 1034-1037.
188. Nishie, E. N., Brizot, M. L., Liao, A. W., et al. Comparison between middle cerebral artery peak systolic velocity and amniotic fluid optical density at 450 nm in the prediction of fetal anemia. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, 188, p.214-219.
189. Oepkes, D., Seaward, G., Vandenbussche, F., et al. Minimally invasive management of Rh Alloimmunization: Can Amniotic fluid delta OD450 be replaced by Doppler studies? Aprospective multicenter trial. Diamond Study Group. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191 (Suppl.), p.2.
190. Oepkes, D., Seaward, P.G., Vandenbussche, F.P., et al. Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. *N Engl J Med*, 2006, 355, 2, p. 156-164.
191. Pelikan, D. M., Scherjon, S. A., Kanhai, H. H. The Incidence of Large Fetomaternal Hemorrhage and the Kleihauer-Betke Test. *Obstet Gynecol*, 2005, 106, p. 642-643.

192. Pelikan, D. M., Scherjon, S. A., Mesker, W. E., et al. Quantification of fetomaternal hemorrhage: A comparative study of the manual and automated microscopic Kleihauer-Betke tests and flow cytometry in clinical simplex. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191, p. 551-557.
193. Pepperell, R.J., Barrie, J.U., Fliegner, J.R. Significance of redcell irregular antibodies in the obstetric patient. *Med J Aust*, 1977, 1, 2, 14, p. 453-456.
194. Pereira, L., Jenkins, T., Berghella, V. Conventional management of maternal red cell alloimmunization compared with management by Doppler assessment of middle cerebral artery peak systolic velocity. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, 189, p. 1002-1006.
195. Perslev, A., Jorgensen, F. S., Nielsen, L. K., et al. Fetomaternal hemorrhage in women undergoing elective cesarean section. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2011, 90, p. 253-257.
196. Polesky, H.F.. Blood group antibodies in prenatal sera. *Minn Med*, 1967, 50, p. 601-603.
197. Porra, V., Bernaud, J., Gueret, P., et al. Identification and quantification of fetal red blood cells in maternal blood by a dual-color flow cytometric method: evaluation of Fetal Cell Count kit. *Transfusion*, 2007, 47, p. 1281 – 1289.
198. příbalový leták Fetal Cell Count Kit, IQ Products.
199. příbalový leták Fetální hemoglobin, Sigma – Aldrich.
200. příbalový leták Rhesonativ, Octa Pharma.
201. Queenan, J.T., Smith, B.D., Haber, J.M., et al. Irregular antibodies in the obstetric patient. *Obstet Gynecol*, 1969, 34, 6, p. 767-771.
202. Race, R.R., Sanger, R. *Blood groups in man*. 6th ed. Oxford (UK): Blackwell Scientific Publications, 1975.
203. RANZCOG - Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists. *Guidelines for the use of RH D Immunoglobulin (Anti-D) in obstetrics in Australia 2007*.
204. RCOG - Royal College of Obstetrics and Gynaecology. United Kingdom. Green Top Guidelines (Green-top 22). *Anti-D Immunoglobulin for Rh Prophylaxis*, 2002.
205. RCOG - Royal College of Obstetrics and Gynaecology. United Kingdom. *Use of Anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis*, 2000.

206. RCOG - Royal College of Obstetrics and Gynaecology. United Kingdom. NICE - National Institute for Clinical Excellence's Technology Appraisal Guidance No 41. *Guidance on the use of routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative women*, May 2002.
207. Reid, M.E., Lomas-Francis, C. *The Blood Group Antigen Facts Book*. Second ed. New York: Elsevier Academic Press 2004.
208. Rigal, D., Juron-Dupraz, F., Biggio, B., Jouvenceaux, A. Fetal death and benign hemolytic disease of the newborn from anti-Cellano alloimmunization: 2 new case reports. *Rev Fr Transfus Immunohematol*, 1982, 25, 1, p. 101-104.
209. Rimon, E., Peltz, R., Gamzu, R., et al. Management of Kell isoimmunization- evaluation of a Doppler-guided approach. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2006, 28, 6, p. 814-820.
210. Roberts, A. B., Mitchell, J. M., Pattison, N. S. Fetal liver length in normal and isoimmunized pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*, 1989, 161, p.42-46.
211. Rote, N.S. Pathophysiology of Rh isoimmunization. *Clin Obstet Gynecol*, 1982, 25, p. 243–253.
212. Rubod, C., Deruelle, P., Le Goueff, F., et al. Long-term prognosis for infants after massive -fetomaternal hemorrhage. *Obstet Gynecol*, 2007, 110, p. 256.
213. Rubod, C., Houfflin, V., Belot, F., et al. Successful in utero treatment of chronic and massive fetomaternal hemorrhage with fetal hydrops. *Fetal Diagn Ther*, 2006, 21, p.410.
214. Savithrisowmya, S., Singh, M., Kriplani, A., et al. Assessment of Fetomaternal Hemorrhage by Flow Cytometry and Kleihauer-Betke Test in Rh-Negative Pregnancies. *Gynecol Obstet Invest*, 2008, 65, p. 84 – 88.
215. Salim, R., Ben-Shlomo, I., Nachum, Z., et al. The Incidence of Large Fetomaternal Hemorrhage and the Kleihauer-Betke Test. *Obstet Gynecol*, 2005, 105, p. 1039-1044.
216. Sallout, B. I., Fung, K. F. K., Wen, S.W., et al. The effect of fetal behavioral states on middle cerebral artery peak systolic velocity. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191, p.1283-1287.
217. Sebring, E., Polesky, H. Fetomaternal hemorrhage: incidence, risk factors, time of occurrence and clinical effects. *Transfusion*, 1990, 30 (4), p. 344-357.

218. Segata, M., Mari, G. Fetal anemia: new technologies. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2004, 16, p.153-158.
219. Scientific Subcommittee of the Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion. *Guidelines for laboratory assessment of fetomaternal haemorrhage*. 1st ed. Sydney: ANZSBT, 2002, p. 3-12.
220. Singh, S.S. et M., Kriplani, A., Agarwal, N. Assessment of Fetomaternal Hemorrhage by Flow Cytometry and Kleihauer-Betke Test in Rh-Negative Pregnancies. *Gynecol Obstet Invest*, 2008, 65, p.84–88.
221. Scheier, M., Hernandez-Andrade, E., Carmo, A. et al. Prediction of fetal anemia in rhesus disease by measurement of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2004, 23, p. 432-436.
222. Smart, E., Armstrong, B. Blackwell Publishing Ltd, *Blood group systems*, ISBT Science Series, 2008, 3, p. 68–92.
223. Spong, C.Y., Porter, A.E., Queenan, J.T. Management of isoimmunization in the presence of multiple maternal antibodies. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 185, 2, p. 481-484.
224. Stanworth, S., Fleetwood, P., de Silva, M. Severe haemolytic disease of the newborn due to anti-Js(b). *Vox Sang*, 2001, 81, p. 134–135.
225. Stedman, C.M., Baudin, J.C., White, C.A., Cooper, E.S. Use of the erythrocyte rosette test to screen for excessive fetomaternal hemorrhage in Rh negative women. *Am J Obstet Gynecol*, 1986, 154, 6, p. 1363-1369.
226. Stefos, T., Cosmi, E., Detti, L., Mari, G. Correction of fetal anemia on the middle cerebral artery peak systolic velocity. *Obstet Gynecol*, 2002, 99, p.211-215.
227. Stone, B., Marsh, WL. Haemolytic disease of the newborn caused by anti-M. *Br J Haematol* 1959, 5, p. 344-347.
228. Studničková, M., Ľubušký, M., Ordeltová, M., Procházka, M. Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie. *Čes. Gynek.*, 2010, 75, 5, s. 443-446.
229. Sueters, M., Arabin, B., Oepkes, D. Doppler sonography for predicting fetal anemia caused by massive fetomaternal hemorrhage. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2003, 22, p. 186-189.
230. Szczepura, A., Bonsel, G., Krauth, CH., et al. Is fetal RHD typing in all RhD negative women cost effective? *BMJ*, 2008, 336, p. 906.

231. Telischi, M., Behzad, O., Issitt, P.D., Pavone, B.G. Hemolytic disease of the newborn due to anti-N. *Vox Sang*, 1976, 31, 2, p. 109-116.
232. Ting, J.Y., Ma, E.S., Wong, K.Y. A case of severe haemolytic disease of the newborn due to anti-Di(a) antibody. *Hong Kong Med J*, 2004, 10, 347–249.
233. Unzeitig, V., Měchurová, A., Procházka, M., Čepický, P. Zásady dispenzární péče ve fyziologickém těhotenství. *Čes. gynek.*, 2005, 70, 6, s. 460-461.
234. Uriel, M., Subira, D., Plaza, J., et al. Identification of feto-maternal haemorrhage around labour using flow cytometry immunophenotyping. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2010, 151, 1, p. 20-25.
235. van der Schoot, C.E., Tax, G.H., Rijnders, R.J., et al. Prenatal typing of Rh and Kell blood group system antigens: the edge of a watershed. *Transfus Med Rev*, 2003, 17, p.31–44.
236. van Dijk, B.A., Hirasing, R.A., Overbeeke, M.A. Hemolytic disease of the newborn and irregular blood group antibodies in the Netherlands: prevalence and morbidity. *Ned Tijdschr Geneesk*, 1999, 10, 143, 28, p. 1465-1469.
237. van Dongen, H., Klumper, F.J., Sikkel, E., et al. Non-invasive tests to predict fetal anemia in Kell-alloimmunized pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2005, 25, 4, p. 341-345.
238. van Kamp, I.L., Klumper, F.J., Bakkum, R.S., et al. The severity of immune fetal hydrops is predictive of fetal outcome after intrauterine treatment. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 185, 3, p. 668-673.
239. van Kamp, I.L., Klumper, F.J., Meerman, R.H., et al. Treatment of fetal anemia due to red-cell alloimmunization with intrauterine transfusions in the Netherlands, 1988–1999. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2004, 83, p. 731–737.
240. van Wamelen, D.J., Klumper, F.J., de Haas, M., et al. Obstetric history and antibody titer in estimating severity of Kell alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol*, 2007, 109, 5, p. 1093-1098.
241. Vaughan, J.I., Warwick, R., Letsky, E., et al. Erythropoietic Suppression in Fetal Anemia Because of Kell Alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol*, 1994, 171, 1, p. 247-252.

242. Vaughan, J.I., Manning, M., Warwick, R.M., et al. Inhibition of erythroid progenitor cells by anti-Kell antibodies in fetal alloimmune anemia. *N Engl J Med*, 1998, 338, p. 798–803.
243. Ventruba, P. Patologické těhotenství. Sérologický konflikt. Rh - izoimunizace. In Roztočil, A. et al. *Porodnictví*. Brno: MIKADA, 2001, s.190-191.
244. Vignoni, E., Daldoss, C., Soregaroli, M., et al. Monitoring of pregnancy complicated by maternal-fetal isoimmunization: a comparison between 2 clinical procols. *Minerva Ginecol*, 2003, 55, p. 353-358.
245. Vintzileos, A.M., Campbell, W. A., Storlazzi, E., et al. Fetal liver ultrasound measurements in isoimmunized pregnancies. *Obstet Gynecol*, 1986, 68, p.162-167.
246. Wagner, T., Resch, B., Reiterer, F., et al. Pancytopenia due to suppressed hematopoiesis in a case of fatal hemolytic disease of the newborn associated with anti-K supported by molecular K1 typing. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2004, 26, p. 13–15.
247. Weiner, C.P., Widness, J.A. Decreased fetal erythropoiesis and hemolysis in Kell hemolytic anemia. *Am J Obstet Gynecol*, 1996, 174, p.547–551.
248. Weinstein, L., Taylor, E.S. Hemolytic disease of the neonate secondary to anti-Fya. *Am J Obstet Gynecol*, 1975, 1, 121, 5, p. 643-645.
249. Weinstein, L. Irregular antibodies causing hemolytic disease of the newborn: a continuing problem. *Clin Obstet Gynecol*, 1982, 25, p. 321.
250. Welch, R., Rampling, M. W., Anwar, A. et al. Changes in hemorheology with fetal intravascular transfusion. *Am J Obstet Gynecol*, 1994, 170, p. 726-732.
251. Whitecar, P.W., Moise, K. J. Sonographic methods to detect fetal anemia in red blood cell alloimmunization. *Obstet Gynecol Survey*, 2000, 55, p.240-250.
252. Woo Wang, M. Y. F., McCutcheon, E., Desforges, J. F. Fetomaternal hemorrhage from diagnostic transabdominal amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol*, 1967, 97, p. 1123-1128.
253. Wu, K.H., Chang, J.G., Lin, M., et al. Hydrops foetalis caused by anti-Mur in first pregnancy - a case report. *Transfus Med*, 2002, 12, p. 325–327.
254. Wylie, B. J., D'Alton, M. E. Fetomaternal Hemorrhage. *Obstet Gynecol*, 2010, 115, 5, p. 1039 – 1051.

255. Yazdanbakhsh, K., Rios, M., Storry, JR., et al. Molecular mechanisms that lead to reduced expression of duffy antigens. *Transfusion*, 2000, 40, 3, p. 310–320.
256. Yung, CH., Lin, JS., Hu, HY., et al. Hemolytic disease of the newborn caused by maternal anti-Di(a): a case report. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi*. 1995, 28, p. 146–150.
257. Zimmermann, R., During, P., Carpenter, R. J., Mari, G. Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunisation: a prospective multicentre trial with intention-to-treat. *Br J Obstet Gynaecol*, 2002, 109, p. 746-752.
258. Zizka, Z., Fait, T., Belosovicova, H., et al. ABO fetomaternal compatibility poses a risk for massive fetomaternal transplacental hemorrhage. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2008, 87, p.1011-1014.
259. Žižka, Z., Calda, P. Prevence, diagnostika aléčba erytrocytární alloimunizace vtěhotenství. *Mod. Gynek. Porod.*, 1998, 7, p.104-121.

Vědecko-výzkumná činnost autora

Publikace

- Studničková M., Ľubušký M., Ordeltová M., Procházka M. Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie. Čes. Gynek., 2010, 75 (5), s. 443-446.
- Studničková M., Ľubušký M., Šimetka O., Pětroš M., Procházka M., Ordeltová M., Langová K. Vliv věku rodičky, parity, délky trvání těhotenství a hmotnosti plodu na fetomaternální hemoragii při spontánním porodu. Čes. Gynek., 2012, 78 (3), s. (The influence of maternal age, parity, gestational age and birth weight on fetomaternal haemorrhage during spontaneous delivery)

spoluautor:

- Ľubušký M., Procházka M., Langová M., Vomáčková K., Čížek L. Ultrazvuková biometrie hlavičky při poloze plodu koncem pánevním. Prakt. Gyn., 2008, 12 (1), s. 10-13.
- Ľubusky M., Prochazka M., Langova M., Vomackova K., Cizek L. Discrepancy of ultrasound biometric parameters of the head (HC - head circumference, BPD - biparietal diameter) in breech presented fetuses. Bimed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub., 2007, 151 (2), p. 323-326.
- Ľubusky M., Studnickova M. Skrivanek A., Vomackova K., Prochazka M. Ultrasound evaluation of fetal gender at 12-14 weeks. Biomed Pap., 156 (1) (Early View PDF, 8 Feb 2012) (2010 IF-0,716)
- Ľubusky M., Simetka O., Studnickova M., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. Fetomaternal haemorrhage in normal vaginal delivery and in delivery by cesarean section. Transfusion 2012 (Early View PDF, 8 Feb 2012) (2010 IF-3,3)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M. Fetomaternální hemoragie při porodu císařským řezem. Čes. Gynek., 2012, 78 (2) (Fetomaternal haemorrhage in delivery by cesarean section)
- Ľubušký M., Studničková M., Procházka M., Šimetka O., Holusková I. Fetomaternální hemoragie, Postgrad. med., 2012, 14 (3), s. 240-247.

Přednášky a poster

- Langová M., Ľubušký M. Diskrepance ultrazvukových biometrických parametrů hlavičky (HC - head circumference, BPD - biparietal diameter) při poloze plodu koncem pánevním. XL. konference studentských vědeckých prací LF UP v Olomouci, Olomouc, 28.-29.5.2007
- Studničková M., Ľubušký M. Diskrepance ultrazvukových biometrických parametrů hlavičky (HC - head circumference, BPD - biparietal diameter) při poloze plodu koncem pánevním. Vědecká konference studentů českých a slovenských lékařských fakult, Praha, 21.-22.11.2007
- Studničková M., Ľubušký M. Management těhotenství s rizikem rozvoje anémie plodu. XLI. konference studentských vědeckých prací LF UP v Olomouci, Olomouc, 26.-27.5.2008
- Studničková, Ľubušký, Procházka, Ordeltová; Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie, leden 2010, 10. konference sekce fetální medicíny ČGPS ČLS JEP Praha
- Studničková M., Ľubušký M., Ordeltová M. Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Karlovy Vary, 4.-6.6.2010, poster. ABSTRAKT (Čes. Gynek., 2010, 75 (4), s. 400, ISSN: 1210-7832)
- Studničková, Ľubušký, Procházka, Ordeltová; Rizikové faktory excesivní fetomaternální hemoragie při porodu, 7.-8.9. 2010, Konference studentů DSP Olomouc ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 41)
- Studničková, Pilka; Laparoskopické řešení lymfokél po operacích gynekologických malignit, 22.-23.9. 2010, XIX. konference Sekce gynekologické endoskopie ČGPS Poděbrady
- Studničková M., Ľubušký M., Ordeltová M., Procházka M. Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 5.11.2010, přednáška. ABSTRAKT
- Studničková M., Ľubušký M., Ordeltová M. Fetomaternální hemoragie při vaginálním porodu a při porodu císařským řezem. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 5.11.2010, přednáška. ABSTRAKT
- Studničková, Ľubušký, Šimetka, Procházka, Ordeltová, Vomáčková, Vliv věku rodičky, parity, délky trvání těhotenství a hmotnosti plodu na fetomaternální hemoragii při spontánním porodu, 6.-8.4 2011, Celostátní konference Sekce perinatální medicíny České gynekologické a porodnické společnosti ČLS JEP Plzeň

- Studničková M., Ľubušký M., Šimetka O., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Vliv věku rodičky, parity, délky trvání těhotenství a hmotnosti plodu na fetomaternální hemoragii při spontánním porodu. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Hradec Králové, 3.-6.6.2011, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 33)
- Studnickova M., Lubusky M., Simetka O., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. The influence of maternal age, parity, gestational age and birth weight on fetomaternal haemorrhage during spontaneous delivery. 10th World Congress in Fetal Medicine, Malta, 26.-30.6.2011, poster.
- Studničková, Ľubušký, Šimetka, Procházka, Ordeltová, Vomáčková; Vliv věku rodičky, parity, délky trvání těhotenství a hmotnosti plodu na fetomaternální hemoragii při spontánním porodu, 6.-7.9. 2011, Konference studentů DSP Olomouc
- Studničková, Ľubušký, Procházka, Šimetky, Ordeltová, Vomáčková: Vliv věku rodičky, parity, délky trvání těhotenství a hmotnosti plodu na fetomaternální hemoragii při spontánním porodu, Konference nemocničních gynekologů a porodníků 30.9.-2.10. 2011, Praha, poster.
- Studničková M., Ľubušký M., Šimetka O., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Vliv věku rodičky, parity, délky trvání těhotenství a hmotnosti plodu na fetomaternální hemoragii při spontánním porodu. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT (www.FMM2011.com)
- Studničková, Ľubušký, Ordeltová, Procházka, Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie, Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT (www.FMM2011.com)
- Studnickova M., Lubusky M., Simetka O., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. The influence of maternal age, parity, gestational age and birth weight on fetomaternal haemorrhage during spontaneous delivery. 10th World Congress of Perinatal Medicine, Punta del Este, Uruguay, 8.-11.11.2011, poster. ABSTRACT (J. Perinat. Med., 2011, 39 (Suppl. 1), p. 172-173 P441, ISSN 0936-174X)

spoluautor:

- Ľubušký M., Procházka M., Šimetka O., Holusková I., Studničková M. Screening nepravdivých antierytrocytárních protilátek u těhotných žen a prevence RhD aloimunizace. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Karlovy Vary, 4.-6.6.2010, přednáška. ABSTRAKT (Čes. Gynek., 2010, 75 (4), s. 379, ISSN: 1210-7832)

- Ľubušký M., Holusková I., Procházka M., Studničková M., Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 5.11.2010, přednáška. ABSTRAKT (www.FMM2010.com)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při porodu císařským řezem. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 5.11.2010, přednáška. ABSTRAKT (www.FMM2010.com)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při vaginálním porodu. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 5.11.2010, přednáška. ABSTRAKT (www.FMM2010.com)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při porodu císařským řezem. XXVII. celostátní konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Luhačovice, 14.16.4.2010, poster. ABSTRAKT (Čes. Gynek., 2010, 75 (2), s. 155-156, ISSN: 1210-7832)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při vaginálním porodu. XXVII. celostátní konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Luhačovice, 14.16.4.2010, poster. ABSTRAKT (Čes. Gynek., 2010, 75 (2), s. 154, ISSN: 1210-7832)
- Lubusky M., Simetka O., Studnickova M., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. Fetomaternal haemorrhage in deliveries by cesarean section. XII European Congress of Perinatal Medicine, Granada, Spain, 26.-29.5.2010, lecture. ABSTRACT (J. Matern. Fetal Neonatal Med., 2010, 23, Suppl. 1, p. 623, pISSN: 1476-7058, eISSN: 1476-4954)
- Lubusky M., Holuskova I., Prochazka M., Studnickova, Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. XII European Congress of Perinatal Medicine, Granada, Spain, 26.-29.5.2010, poster. ABSTRACT (J. Matern. Fetal Neonatal Med., 2010, 23, Suppl. 1, p. 593, pISSN: 1476-7058, eISSN: 1476-4954)
- Lubusky M., Simetka O., Studnickova M., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. Fetomaternal haemorrhage in vaginal deliveries. XII European Congress of Perinatal Medicine, Granada, Spain, 26.-29.5.2010, poster. ABSTRACT (J. Matern. Fetal Neonatal Med., 2010, 23, Suppl. 1, p. 594, pISSN: 1476-7058, eISSN: 1476-4954)
- Ľubušký M., Holusková I., Procházka M., Studničková, Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG

ČR, Karlovy Vary, 4.-6.6.2010, poster. ABSTRAKT (Čes. Gynek., 2010, 75 (4), s. 398, ISSN: 1210-7832)

- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při porodu císařským řezem. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Karlovy Vary, 4.-6.6.2010, poster. ABSTRAKT (Čes. Gynek., 2010, 75 (4), s. 399, ISSN: 1210-7832)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při vaginálním porodu. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Karlovy Vary, 4.-6.6.2010, poster. ABSTRAKT (Čes. Gynek., 2010, 75 (4), s. 398, ISSN: 1210-7832)
- Holuskova I., Lubusky M., Galuszkova D., Slavikova M., Studnickova M., Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. XXXIst International Congress of the ISBT, Berlin, Germany, 26.6.-1.7.2010, poster. ABSTRACT (Vox Sang., 2010, 99 (Suppl. 1), P-0841, p. 1-516, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
- Holuskova I., Lubusky M., Studnickova M., Vomackova K., Ordeltova M., Prochazka M. Fetomaternal haemorrhage in deliveries by cesarean section. XXXIst International Congress of the ISBT, Berlin, Germany, 26.6.-1.7.2010, poster. ABSTRACT (Vox Sang., 2010, 99 (Suppl. 1), P-0843, p. 1-516, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
- Lubusky M., Holuskova I., Prochazka M., Studnickova, Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. International Federation of Placenta Associations (IFPA) 2010 Meeting. Fetus and Placenta: A perfect harmony, Santiago, Chile, 19.-22.10.2010, poster. ABSTRACT (Placenta, 2010, 31 (9), P1.84, ISSN: 0143-4004)
- Lubusky M., Simetka O., Studnickova M., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. Fetomaternal haemorrhage in deliveries by cesarean section. International Federation of Placenta Associations (IFPA) 2010 Meeting. Fetus and Placenta: A perfect harmony, Santiago, Chile, 19.-22.10.2010, poster. ABSTRACT (Placenta, 2010, 31 (9), P1.85, ISSN: 0143-4004)
- Lubusky M., Simetka O., Studnickova M., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. Fetomaternal haemorrhage in vaginal deliveries. International Federation of Placenta Associations (IFPA) 2010 Meeting. Fetus and Placenta: A perfect harmony, Santiago, Chile, 19.-22.10.2010, poster. ABSTRACT (Placenta, 2010, 31 (9), P3.85, ISSN: 0143-4004)

- Ľubušký M., Holusková I., Studničková M., Procházka M. Spontánní antepartální aloimunizace. 28. konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Plzeň, 7.-8.4.2011, poster.
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při porodu císařským řezem. 28. konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Plzeň, 7.-8.4.2011, poster.
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při vaginálním porodu. 28. konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Plzeň, 7.-8.4.2011, poster.
- Ľubušký M., Holusková I., Studničková M., Procházka M. Spontánní antepartální aloimunizace. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Hradec Králové, 3.-6.6.2011, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 27)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při porodu císařským řezem. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Hradec Králové, 3.-6..2011, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 31)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při vaginálním porodu. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Hradec Králové, 3.-6.6.2011, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 30)
- Holuskova I., Lubusky M., Studnickova M., Prochazka M., Galuszková D. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. XXIV. Olomoucké hematologické dny, Olomouc, 22.-25.6.2011, poster. ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2011, 17, Supplementum 2, str. 75, ISSN 1213-5763)
- Lubusky M., Holuskova I., Prochazka M., Studnickova M., Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. 10thWorld Congress in Fetal Medicine, Malta, 26.-30.6.2011, poster.
- Holuskova I., Lubusky M., Studnickova M., Prochazka M., Vomackova K. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization. 10thWorld Congress in Fetal Medicine, Malta, 26.-30.6.2011, poster.
- Lubusky M., Simetka O., Studnickova M., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. Fetomaternal haemorrhage in deliveries by cesarean section. 10thWorld Congress in Fetal Medicine, Malta, 26.-30.6.2011, poster.

- Lubusky M., Simetka O., Studnickova M., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. Fetomaternal haemorrhage in vaginal deliveries. 10th World Congress in Fetal Medicine, Malta, 26.-30.6.2011, poster.
- Lubusky M., Prochazka M., Studnickova M., Vomackova K. Ultrasound evaluation of fetal gender at 12-14 weeks. 10th World Congress in Fetal Medicine, Malta, 26.-30.6.2011, poster.
- Lubusky M., Prochazka M., Studnickova M., Vomackova K. Ultrasound evaluation of fetal gender at 12-14 weeks. 21st World Congress on Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, Los Angeles, USA, 18.-22.9.2011, oral poster. ABSTRACT (Ultrasound Obstet. Gynecol., 2011, 38 (Suppl. 1), p. 118, ISSN 0960-7692)
- Holuskova I., Lubusky M., Studnickova M., Prochazka M., Galuszková D Spontánní antepartální RhD aloimunizace. 13.pracovní dny v Transfuzním lékařství, Praha, 6.-8.10.2011, poster. ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2011, 17, Supplementum 3, str. 69, ISSN 1213-5763)
- Holuskova I., Lubusky M., Studnickova M., Sláviková M., Vodičková M., Galuszková D Incidence erytrocytární aloimunizace těhotných žen v letech 2000-2010 na TO FNOL. 13.pracovní dny v Transfuzním lékařství, Praha, 6.-8.10.2011, poster. ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2011, 17, Supplementum 3, str. 66, ISSN 1213-5763)
- Lubusky M., Holuskova I., Prochazka M., Studnickova M., Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. 10th World Congress of Perinatal Medicine, Punta del Este, Uruguay, 8.-11.11.2011, poster. ABSTRACT (J. Perinat. Med., 2011, 39 (Suppl. 1), p. 168 P427, ISSN 0936-174X)
- Lubusky M., Simetka O., Studnickova M., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. Fetomaternal haemorrhage in deliveries by cesarean section. 10th World Congress of Perinatal Medicine, Punta del Este, Uruguay, 8.-11.11.2011, poster. ABSTRACT (J. Perinat. Med., 2011, 39 (Suppl. 1), p. 169 P429, ISSN 0936-174X)
- Lubusky M., Simetka O., Studnickova M., Prochazka M., Ordeltova M., Vomackova K. Fetomaternal haemorrhage in vaginal deliveries. 10th World Congress of Perinatal Medicine, Punta del Este, Uruguay, 8.-11.11.2011, poster. ABSTRACT (J. Perinat. Med., 2011, 39 (Suppl. 1), p. 168-169 P428, ISSN 0936-174X)
- Lubusky M., Prochazka M., Studnickova M., Vomackova K. Ultrasound evaluation of fetal gender at 12-14 weeks. 10th World Congress of Perinatal Medicine, Punta del Este, Uruguay, 8.-11.11.2011, poster. ABSTRACT (J. Perinat. Med., 2011, 39 (Suppl. 1), p. 170 P432, ISSN 0936-174X)

- Ľubušký M., Holusková I., Procházka M., Studničková M., Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT (www.FMM2011.com)
- Holusková I., Lubusky M., Studničková M., Procházka M. Spontánní antepartální aloimunizace. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT (www.FMM2011.com)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při porodu císařským řezem. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT (www.FMM2011.com)
- Ľubušký M., Šimetka O., Studničková M., Procházka M., Ordeltová M., Vomáčková K. Fetomaternální hemoragie při vaginálním porodu. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT (www.FMM2011.com)
- Ľubušký M., Procházka M., Studničková M. Určení pohlaví plodu při ultrazvukovém vyšetření v I. trimestru těhotenství. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT (www.FMM2011.com)

Granty

- IGA MZ ČR NT 11004-3/2010
Incidence, objem a rizikové stavy fetomaternální hemoragie při invazivních výkonech prenatalní diagnostiky (odběru choriových klků, amniocentéze) (2010-2012), spoluřešitel
- IGA MZ ČR NT 12225-4/2011
Rozsáhlá reprezentativní duální optimalizační a validační studie neinvazivní prenatalní diagnostiky RHD a KELL genotypu plodu pro bezprostřední zavedení do rutinní klinické praxe (2011-2014), spoluřešitel

Souhrn

Cíl studie:

Zjistit incidenci fetomaternální hemoragie (FMH) při vaginálním porodu, stanovit objem fetálních erytrocytů, které pronikají do mateřské krve, a identifikovat rizikové stavy, při kterých dochází k excesivní FMH.

Zjistit incidenci fetomaternální hemoragie (FMH) při porodu císařským řezem a stanovit objem fetálních erytrocytů, které pronikají do mateřské krve.

Zjistit vliv věku rodičky, parity, délky trvání těhotenství a hmotnosti plodu na objem fetálních erytrocytů, které pronikají do mateřské krve při spontánním porodu.

Optimalizace doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen.

Metodika:

Celkem bylo provedeno 5334 vyšetření. Množství fetálních erytrocytů proniklých do oběhu matky při porodu bylo stanoveno průtokovou cytometrií na přístroji BDFACSCanto (Becton Dickonson International).

Laboratorní zpracování: Fetal Cell Count™ kit (Diagnosis of Feto-maternal Transfusion by flow cytometry), IQ Products, IQP-379.

Výpočet celkového objemu fetálních erytrocytů proniklých do oběhu matky: Scientific Subcommittee of the Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion. Guidelines for laboratory assessment of fetomaternální haemorrhage. 1st ed. Sydney: ANZSBT, 2002: 3-12.

Výsledky:

Fetomaternální hemoragie (FMH) $\leq 2,5$ ml (5 ml celé krve), byla přítomna při porodu v 98,5% případů (5255/5334), postačující dávka IgG anti-D 50 μ g. FMH ≤ 5 ml (10 ml celé krve) v 99,7% případů (5317/5334), postačující dávka IgG anti-D 100 μ g. Ve zbylých 17 případech byla FMH = 5,1 ml (2x), 5,2 ml, 5,5 ml, 6,5 ml, 7,7 ml, 10,1 ml, 12,0 ml, 12,4 ml, 15,4 ml, 16,3 ml (2x), 16,3ml, 18,2 ml, 24,8 ml, 30,9 ml, 31,1 ml a 65,9 ml (11 ml (4x), 13 ml, 16 ml, 21 ml, 24 ml, 25 ml, 31 ml, 33 ml (2x), 37 ml, 50 ml, 62 ml, 63 ml a 132 ml plné krve), postačující dávka IgG anti-D = 110 μ g (4x), 130 μ g, 160 μ g, 210 μ g, 240 μ g, 310 μ g, 250 μ g, 330 μ g (2x), 370 μ g, 500 μ g, 620 μ g, 630 μ g a 1320 μ g. Ve většině případů nebyl zjištěn rizikový faktor, který by umožnil predikci excesivní FMH (císařský řez 5,1 ml, 5,2 ml, 5,5 ml, 7,7 ml, 15,4 ml, 16,3 ml a 18,2 ml, 31,1 ml; vakuumextrakce 6,5 ml).

Rozdíl ve věku rodičky, paritě, délce trvání těhotenství a hmotnosti plodu při normálním vaginálním porodu nebyl statisticky významný pro fetomaternální hemoragii FMH $> 1,7$ ml (5 perc), FMH $> 2,0$ ml (2,5 perc), FMH $> 2,5$ ml (n = 34) ani FMH > 5 ml (n = 7).

Závěr:

Při porodu je u RhD negativní ženy po porodu RhD pozitivního plodu vhodné stanovit objem fetomaternální hemoragie (FMH) k upřesnění dávky IgG anti-D potřebné k prevenci RhD aloimunizace. V 99,7% případů byla postačující dávka IgG anti-D 100 μ g, naopak ve zbývajících 0,3% případů se jednalo o excesivní FMH a bylo nutné podat dávku i několikanásobně větší. Ve většině případů však nebyl zaznamenán žádný rizikový faktor, který by umožnil excesivní FMH predikovat.

Klíčová slova:

fetomaternální hemoragie, porod, RhD aloimunizace, anti-D imunoglobulin

Summary

Aim of the Study:

Determine the incidence of fetomaternal haemorrhage (FMH) in deliveries, determine the volume of fetal erythrocytes that infiltrate maternal circulation and identify risk factors, which lead to excessive FMH.

Determine the incidence of fetomaternal haemorrhage (FMH) in deliveries by cesarean section and assess the volume of fetal erythrocytes that infiltrate maternal circulation.

Determine the influence of maternal age, parity, gestational age and birth weight on the volume of fetal erythrocytes, which enter the maternal circulation in normal vaginal delivery.

Optimization of recommendations for RhD alloimmunization prophylaxis.

Method:

In the study, a total of 5334 examinations were performed. The amount of fetal erythrocytes which infiltrate maternal circulation in delivery was established by flow cytometry using the BDFACSCanto flow cytometer (Becton Dickinson International).

Laboratory processing: Fetal Cell Count™ kit (Diagnosis of Feto-maternal Transfusion by flow cytometry), IQ Products, IQP-379.

Calculation of the total volume of fetal erythrocytes which infiltrate maternal circulation: Scientific Subcommittee of the Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion. Guidelines for laboratory assessment of fetomaternal haemorrhage. 1st ed. Sydney: ANZSBT, 2002: 3-12.

Results:

Fetomaternal haemorrhage (FMH) \leq 2.5 ml (5ml of whole blood) was present in 98.5% cases of vaginal deliveries (5255/5334), and the sufficient dose of IgG anti-D was 50 μ g. FMH \leq 5 ml (10 ml of whole blood) was seen in 99.7% cases (5317/5334), and the sufficient dose of IgG anti-D was 100 μ g. In the remaining 17 cases, the FMH was 5.1 ml (2x), 5.2 ml, 5.5 ml, 6.5 ml, 7.7 ml, 10.1 ml, 12.0 ml, 12.4 ml, 15.4 ml, 16.3 ml (2x), 18.2 ml, 24.8 ml, 30.9 ml, 31.1 ml and 65.9 ml (11 ml (4x), 13 ml, 16 ml, 21 ml, 24 ml, 25 ml, 31 ml, 33 ml (2x), 37 ml, 50 ml, 62 ml, 63 ml and 132 ml of whole blood), the sufficient dose of IgG anti-D was 110 μ g (4x), 130 μ g, 160 μ g, 210 μ g, 240 μ g, 310 μ g, 250 μ g, 330 μ g (2x), 370 μ g, 500 μ g, 620 μ g, 630 μ g and 1320 μ g respectively. In the majority of cases, no risk factor, which would enable prediction of excessive FMH, was determined (cesarean section 5.1 ml, 5.2 ml, 5.5 ml, 7.7 ml, 15.4 ml, 16.3 ml and 18.2 ml, 31.1 ml; vacuum extraction 6.5 ml).

The difference in maternal age, parity, blood group, gestational age and birth weight were not statistically significant for fetomaternal hemorrhage FMH > 1.7 ml (5 perc), FMH > 2.0 ml (2.5 perc), FMH > 2.5 ml (n = 34), FMH > 5 ml (n = 7).

Conclusion:

In deliveries where an RhD negative mother gives birth to an RhD positive child, it is appropriate to establish the volume of fetomaternal haemorrhage (FMH) in order to determine the dose of IgG anti-D necessary for the prevention of RhD alloimmunization. In 99.7% of cases, an IgG anti-D dose of 100 μ g was sufficient; contrarily, in the remaining 0.3% of cases, there was an excessive volume of FMH and it was necessary to administer a dose severalfold higher. In most cases, however, no risk factor which would enable prediction of excessive FMH, was determined.

Key words:

fetomaternal haemorrhage, delivery, RhD alloimmunization, anti-D immunoglobulin

Přílohy