

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI  
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

# **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**2023**

**Adéla Strnádková**

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

**Adéla Strnádková**

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví (B0914P30004)

**HEMOLYTICKÉ ONEMOCNĚNÍ PLODU A  
NOVOROZENCE**

**Bakalářská práce**

Vedoucí práce: MUDr. Petra Šlechtová

PLZEŇ 2023

Na této straně se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce.

Na této straně se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl/a v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31.3. 2023

.....

vlastnoruční podpis

## **Abstrakt**

Příjmení a jméno: Adéla Strnádková

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Hemolytické onemocnění plodu a novorozence

Vedoucí práce: MUDr. Petra Šlechtová

Počet stran – číslované: 56

Počet stran – nečíslované: 21

Počet příloh: 2

Počet titulů použité literatury: 22

Klíčová slova: Hemolytické onemocnění, imunizace, hyperbilirubinémie, aloprotilátky

Souhrn:

Bakalářská práce se zabývá hemolytickým onemocněním plodu a novorozence. Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. Teoretická část popisuje imunohematologii, vybrané krevně skupinové systémy, bilirubin a druhy hyperbilirubinemií novorozence. Dále je zde uvedena patofyziologie, historie, jednotlivé kategorie, diagnostika a léčebné postupy HON. Praktická část je zaměřena na pacienty z FN Plzeň a je statisticky zpracována. Kritériem výběru probandů byl pozitivní přímý antiglobulinový test. V praktické části jsou zahrnuté i kazuistiky, kdy u HON byla indikována výměnná transfuze.

## **Abstract**

Surname and name: Strnádková Adéla

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Hemolytic disease of the fetus and newborn

Consultant: MUDr. Petra Šlechtová

Number of pages – numbered: 56

Number of pages – unnumbered: 21

Number of appendices: 2

Number of literature items used: 22

Keywords: hemolytic disease, immunization, hyperbilirubinemia, alloantibodies

### Summary:

The bachelor thesis deals with hemolytic disease of the fetus and newborn. The thesis is divided into theoretical and practical parts. The theoretical part describes immunohematology, selected blood group systems, bilirubin and types of hyperbilirubinemia of the newborn. The pathophysiology, history, different categories of HDFN, diagnosis and treatment of HDFN are also presented. The practical part is focused on patients from the University Hospital Pilsen and is statistically processed. The criterion for selection of probands was a positive direct antiglobulin test. The practical part includes case reports where exchange trans-fusion was indicated in HDFN.

## **Předmluva**

Téma této bakalářské práce jsem si zvolila jednak kvůli zájmu o hematologii a transfuzní službu, ale také mi téma přišlo velice zajímavé, tudíž jsem se o něm chtěla dozvědět nové informace. Účelem bylo pochopit, a obohatit statistickým zpracování dat z FN Plzeň tuto problematiku.

## **Poděkování**

Děkuji MUDr. Petře Šlechtové za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále děkuji Transfuznímu oddělení FN Plzeň za poskytnutí údajů ke statistickému vyhodnocení a odborných materiálů.



# OBSAH

SEZNAM GRAFŮ .....	13
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	14
SEZNAM TABULEK .....	15
SEZNAM ZKRATEK .....	16
ÚVOD.....	17
TEORETICKÁ ČÁST .....	18
1 IMUNOHEMATOLOGIE.....	18
1.1 Antigen.....	18
1.2 Protilátka.....	18
1.2.1 Protilátky IgG .....	18
1.2.2 Protilátky IgM .....	18
1.2.3 Pravidelné a nepravidelné protilátky .....	19
2 KREVNĚ SKUPINOVÉ SYSTÉMY .....	20
2.1 AB0 systém.....	20
2.1.1 Chemické složení.....	20
2.1.2 Dědičnost systému.....	20
2.1.3 Sekretorství AB0 systému .....	21
2.1.4 Varianty systému AB0 .....	21
2.1.5 Zastoupení AB0.....	21
2.1.6 Aglutininy.....	21
2.2 Rh systém.....	21
2.2.1 Dědičnost Rh systému .....	21
2.2.2 Varianty v Rh systému .....	22
2.2.3 Aglutininy.....	22
2.3 Ostatní skupinové systémy .....	22
2.3.1 Kell systém .....	22
2.3.2 Lewis systém .....	22
2.3.3 Duffy systém .....	22
2.3.4 Kidd systém .....	23
2.3.5 Lutheran systém.....	23
2.3.6 MNSs systém.....	23
2.3.7 P systém.....	23
3 HYPERBILIRUBINÉMIE NOVOROZENCE .....	24
3.1 Bilirubin.....	24
3.1.1 Toxicita bilirubinu .....	24

3.2	Rozdělení hyperbilirubinemií .....	25
3.3	Nekonjugované hyperbilirubinémie.....	25
3.3.1	Fyziologická hyperbilirubinémie.....	25
3.3.2	Hyperbilirubinémie kojených dětí .....	25
3.3.3	Hemolytické onemocnění novorozence (HON) .....	26
3.4	Konjugovaná hyperbilirubinémie .....	26
3.4.1	Poškození jater.....	26
3.4.2	Atrézie a hypoplazie žlučových cest .....	26
4	HEMOLYTICKÉ ONEMOCNĚNÍ NOVOROZENCE.....	27
4.1	Historie.....	27
4.2	Incidence .....	27
4.3	Kategorie HON .....	27
4.4	Protilátky způsobující HON.....	28
4.5	Patofyziologie .....	28
4.6	Rizikové faktory imunizace .....	29
4.6.1	Rizikové faktory pro RhD inkompatibilitu.....	29
4.6.2	rizikové faktory pro AB0 inkompatibilitu.....	29
4.6.3	Imunologické aspekty.....	30
4.7	Rh HON .....	30
4.7.1	Rh HON s variantami antigenu D.....	30
4.8	AB0 HON .....	31
4.9	Kell HON .....	31
4.10	Ostatní protilátky v HON .....	31
4.11	Klinické projevy .....	31
5	FYZIKÁLNÍ A ULTRAZVUKOVÁ DIAGNOSTIKA HON.....	32
5.1	Fyzikální vyšetření.....	32
5.2	Ultrazvukové vyšetření .....	32
6	IMUNOHEMATOLOGICKÁ DIAGNOSTIKA HON.....	33
6.1	Odběr krevních vzorků a vyplnění žádanky .....	33
6.2	Vyšetření těhotné .....	33
6.2.1	AB0.....	33
6.2.2	Antigen D .....	33
6.2.3	Screening nepravidelných aloimunních antierytrocytových protilátek .....	34
6.2.4	Identifikace nepravidelných aloimunních antierytrocytových protilátek .....	34
6.2.5	Fenotyp matky .....	34
6.2.6	Stanovení titru nepravidelných protilátek (titrování) .....	34
6.3	Vyšetření plodu.....	35

6.3.1	Vyšetření AB0, D, PAT.....	35
6.3.2	Stanovení genotypu .....	35
6.4	Specifické postupy .....	36
6.4.1	Anti – K .....	36
6.4.2	Anti – C+D .....	36
6.4.3	Testování po profylaktickém podání imunoglobulinu anti – D.....	36
6.5	Vyšetření matky po porodu.....	36
6.6	AB0, D .....	36
6.6.1	Screening nepravidelných protilátek .....	37
6.6.2	Identifikace nepravidelných protilátek .....	37
6.7	Vyšetření novorozence .....	37
6.7.1	AB0.....	37
6.7.2	Antigen D .....	37
6.7.3	Screening nepravidelných protilátek .....	37
6.7.4	Přímý antiglobulinový test .....	38
6.7.5	Eluční test .....	38
7	HEMATOLOGICKÁ DIAGNOSTIKA HON .....	39
7.1	Krevní obraz .....	39
7.2	Krevní nátěr .....	39
7.3	Anémie v novorozeneckém věku.....	39
8	BIOCHEMICKÁ DIAGNOSTIKA HON .....	40
8.1	Koncentrace bilirubinu v séru.....	40
8.2	Vyšetření fetomaternálního krvácení.....	40
8.3	Průtoková cytometrie .....	40
8.4	ID-FMH .....	40
9	TERAPIE HON .....	41
9.1	Prenatální léčba.....	41
9.1.1	Intrauterinní – intraumbilikální transfuze (IUT) .....	41
9.1.2	Aplikace intravenózního imunoglobulinu těhotné (IVIG) .....	41
9.1.3	Výměnná plazmaferéza u matky .....	41
9.2	Postnatální léčba .....	41
9.2.1	Fototerapie .....	41
9.2.2	Výměnná transfuze (exsanguinace).....	42
9.2.3	IVIG.....	42
9.3	Indikace.....	42
9.4	Péče o dítě po léčbě .....	43
9.5	Profylaxe.....	44

PRAKTICKÁ ČÁST .....	45
10 CÍL A ÚKOLY PRÁCE .....	45
10.1    Hlavní cíl .....	45
10.2    Dílčí cíle .....	45
11 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY .....	46
12 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU .....	47
13 METODIKA PRÁCE .....	48
13.1    Aglutinace .....	48
13.2    Antiglobulinový test (Coombsův test) .....	48
13.2.1    Přímý antiglobulinový test (PAT) .....	48
13.2.2    Nepřímý antiglobulinový test (NAT) .....	48
13.2.3    Vyšetření imunních protilátek po neutralizaci merkaptoethanolem .....	48
13.3    Exsanguinace .....	49
13.3.1    Erythrocyty deleukotizované – v plazmě pro výměnnou transfuzi (EDV) .....	50
14 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ .....	51
14.1    VO 1: V jakých krevně skupinových systémech se v roce 2022 nejčastěji objevovala inkompatibilita vedoucí k HON? .....	52
14.2    VO 2: Jaké antierytrocytární protilátky při pozitivitě PAT byly u matek nejčastěji stanovovány? .....	54
14.3    VO 3: Znamená nález antierytrocytárních protilátek u matky jednoznačně HON? .....	56
14.4    VO 4: Koreluje PAT s indikací fototerapie? .....	57
14.5    VO 5: Jak často se v letech 2021 a 2022 indikovala výměnná transfuze a jaká je bližší anamnéza u těchto probandů? .....	58
14.5.1    Kazuistika 1 .....	59
14.5.2    Kazuistika 2 .....	61
14.5.3    Kazuistika 3 .....	63
14.5.4    Kazuistika 4 .....	65
14.5.5    Kazuistika 5 .....	67
DISKUZE .....	69
ZÁVĚR .....	71
SEZNAM LITERATURY .....	73
SEZNAM PŘÍLOH .....	75
PŘÍLOHY .....	76
Příloha 1 – Ukázka výsledků z prenatální laboratoře .....	76
Příloha 2 – Povolení sběru informací ve FN .....	77

## SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Procentuální rozložení jednotlivých kategorií HON za rok 2022 .....	52
Graf 2: Procentuální zastoupení krevních skupin u matek, které měly novorozence s HON za rok 2022 .....	53
Graf 3: Procentuální rozložení krevních skupin u novorozenců s HON za rok 2022 .....	53
Graf 4: Protilátky nalezené u matky při pozitivním PAT.....	54
Graf 5: Procentuální zhodnocení korelace protilátek a HON.....	56
Graf 6: Procentuální zhodnocení korelace pozitivního PAT s indikací fototerapie .....	57
Graf 7: Znázornění míry positivity PAT u jednotlivých kategorií HON .....	58

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Schéma struktury imunoglobulinu.....	19
Obrázek 2: Význam zvýšené tvorby bilirubinu během těhotenství a po porodu .....	29
Obrázek 3: První a druhé těhotenství u Rh HON .....	30
4: Indikační graf pro léčbu hyperbilirubinémie (podle K. Poláčka a R. Hodra) .....	43
Obrázek 6: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 1. probanda. .....	59
Obrázek 7: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 2. probanda. .....	61
Obrázek 8: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 3. probanda. .....	63
Obrázek 9: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 4. probanda. .....	65
Obrázek 10: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 5. probanda. .....	67

## **SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Hodnoty klinicky významných titrů.....	35
Tabulka 2: Doplnění grafu pro léčbu hyperbilirubinémie.....	43
Tabulka 3: Výsledky titrů imunních protilátek a bilirubinu u zjištěných AB0 HON.....	55
Tabulka 4: Prenatální screening protilátek u 1. probanda.....	59
Tabulka 5: Výsledky krevního obrazu u 1. probanda.....	60
Tabulka 6: Prenatální screening protilátek u 2. probanda.....	61
Tabulka 7: Výsledky krevního obrazu u 2. probanda.....	62
Tabulka 8: Výsledky krevního obrazu u 3. probanda.....	63
Tabulka 9: Prenatální screening protilátek u 4. probanda.....	65
Tabulka 10: Výsledky krevního obrazu u 4. probanda.....	66
Tabulka 11: Prenatální screening protilátek u 5. probanda.....	67
Tabulka 12: Výsledky krevního obrazu u 5. probanda.....	68

## **SEZNAM ZKRATEK**

AGH – antiglobulinum humanum

CNS – centrální nervová soustava

EDV – erythrocyty deleukotizované – v plazmě pro výměnnou transfuzi

ERD – erythrocyty resuspendované deleukotizované

FMH – fetomaternální krvácení

FN – fakultní nemocnice

HON – hemolytické onemocnění plodu a novorozence

HTR – hemolytická potransfuzní reakce

IUT – intraumbilikální transfuze

IVIG – intravenózní imunoglobulin

KO – krevní obraz

KS – krevní skupina

MCV – střední objem erythrocytu

MMS – monocyto-makrofágový systém

NAT – nepřímý antiglobulinový test

PAT – přímý antiglobulinový test

PCR – polymerázová řetězová reakce

RDS – syndrom dechové tísně

s. C. – sectio Cesarea (císařský řez)

SDK – středisko dárců krve

TU – transfuzní jednotka



## ÚVOD

Hemolytické onemocnění novorozence (HON) je způsobené aloprotilátkami pocházejícími z krevního oběhu matky, které destrukují erytrocyty plodu nebo novorozence. Tyto protilátky vznikají, pokud se erytrocyty plodu dostanou do oběhu matky, příčinou je fetomaternální krvácení. Podmínkou vzniku aloprotilátek je, že matka musí postrádat antigen, který se nachází na erytrocytech plodu. Přes placentu se dostanou pouze protilátky třídy IgG, jelikož jejich molekula je malá.

Problém spočívá v nadměrném vzniku nekonjugovaného bilirubinu, jehož vznik dává právě destrukce erytrocytů. U plodu metabolizuje nadměrný bilirubin matka, po porodu se musí novorozenec s bilirubinem poprat sám. Játra novorozence ovšem nestačí bilirubin metabolizovat a jeho koncentrace v krvi se zvyšuje, projeví se jako ikterus. Onemocnění může dojít až k smrti novorozence.

Velice důležité je laboratorní vyšetření, kdy se již u těhotné ženy provádí screening nepravidelných aloimunních protilátek. U novorozence se sleduje především koncentrace bilirubinu v séru. Pomocí indikačního grafu podle Hodra a Poláčka se indikuje léčba.

Terapie se může zahajovat již v prenatálním období, a to intrauterinními transfuzemi nebo např. aplikací intravenózního imunoglobulinu těhotné. Postnatální léčba může zahrnovat fototerapii a výměnnou transfuzi.

V teoretické části popisují problematiku imunohematologie, zmiňují důležité krevně skupinové systémy, metabolismus bilirubinu a druhy hyperbilirubinemií novorozence. Zabývám se patofyziologií, kategoriemi, ale i historií HON. Je zde přehled diagnostických metod a léčebných postupů u HON.

Praktická část je zpracována kvantitativní metodou. Je zaměřena na pacienty z FN Plzeň. Obsahuje statistické zpracování údajů z roku 2022, kdy přímý antiglobulinový test (PAT) u novorozenců byl pozitivní, jaká je jeho korelace s rozvojem HON u novorozence nebo jaké protilátky jsou za rozvoj HON zodpovědné. Dále se zabývám těžkými případy HON za období 2021-2022, tyto případy dospěly až k indikaci výměnné transfuze novorozence.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 1 IMUNOHEMATOLOGIE

### 1.1 Antigen

Antigen je látka, která dokáže v těle vyvolat specifickou imunitní reakci, tudíž je tělu cizí. Naopak proti vlastním antigenům imunitní odpověď nevzniká, jsou tolerovány. Aby mohla látka vyvolat imunitní odpověď, tak její molekula musí být dostatečně velká. Protilátky nereagují s celou molekulou antigenu, ale pouze s jenom malými částmi, které se nazývají epitopy či antigenní determinanty. <sup>[1]</sup>

### 1.2 Protilátka

Protilátky zprostředkovávají schopnost organismu odpovědět na antigenní podnět. Protilátky proti určitému antigenu se tvoří z lymfocytů B. Tyto lymfocyty mají pro tento antigen specifický receptor. Protilátky jsou bílkovinné povahy a jsou stočené do klubíčkovitých útvarů. Pokud by byla protilátka nestočená, měla by tvar podobný písmenu Y. Tvoří ji 4 řetězce, dva stejné a delší se označují jako těžké (H) a dva shodné, kratší se nazývají lehké (L). Tyto řetězce jsou spojeny disulfidickými vazbami. Lehké řetězce se stáčí do variabilní domény a konstantní domény, těžké řetězce mají 1 variabilní a 3-4 konstantní domény. Variabilní domény reagují s antigeny a konstantní domény aktivují komplement a slouží k vazbě na fagocyty při opsonizaci. Podle stavby těžkých řetězců rozlišujeme 5 tříd imunoglobulinů – Ig, IgD, IgE, IgG a IgM. <sup>[1]</sup>

#### 1.2.1 Protilátky IgG

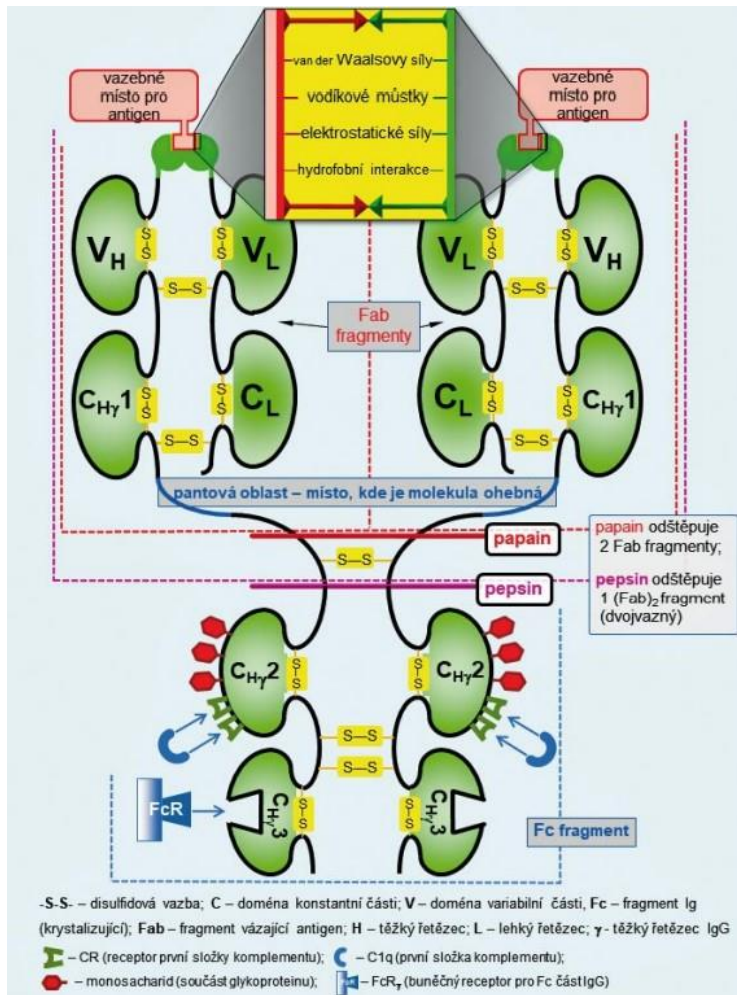
Ze všech imunoglobulinů tvoří IgG 80 %. Je to monomer se dvěma Fab fragmenty (má dvě vazebná místa pro antigen). Právě pro malou molekulu mají schopnost procházet přes placentu a do tkání. <sup>[2]</sup>

#### 1.2.2 Protilátky IgM

Tyto protilátky tvoří 6 % ze všech imunoglobulinů. Má velkou, pentamerní molekulu kvůli disponuje 10 Fab fragmenty. IgM nemá schopnost procházet placentou. Uplatňuje se v první fázi imunitní odpovědi, v obraně proti bakteriím a virům, dokáže silně aktivovat komplement. V plazmě se běžně nachází jako pravidelné aglutininy anti – A, anti – B. <sup>[2]</sup>

### 1.2.3 Pravidelné a nepravidelné protilátky

Jsou to protilátky proti antigenům krevních skupin. Pravidelné protilátky patří do třídy IgM, jsou geneticky podmíněny a nacházejí se v plazmě ve vysokém titru. Nepravidelné imunní protilátky patří do třídy IgG a vznikají až na základě setkání s antigenním podnětem, který organismus rozeznal jako cizí. [2]



Obrázek 1: Schéma struktury imunoglobulinu [1]

## 2 KREVNĚ SKUPINOVÉ SYSTÉMY

Antigeny krevních skupin (KS) mohou být proteiny, glykoproteiny nebo glykolipidy. Antigeny lze rozeznat pomocí specifických protilátek a jsou součástí membrán erytrocytů, ale mohou se vyskytovat i na jiných buňkách. [3]

### 2.1 AB0 systém

Jako první tento systém popsal Karl Landsteiner v roce 1901, rozlišil krevní skupiny A, B, C. Až o dva roky poté byla objevena další krevní podskupina AB. K objevu AB0 systémů přispěl i český lékař Jan Janský. Později se poznala i dědičnost těchto krevních skupin a chemické složení antigenů. Systém AB0 se stal nejvýznamnějším. [3]

#### 2.1.1 Chemické složení

Skupinové AB0 antigeny jsou oligosacharidové povahy, skládají se z řetězců jednoduchých cukrů: D– glukóza, D – Galaktóza, D – Manóza, N – acetyl – D – glucosamin, N – acetyl – D – galaktosamin a L – fruktóza. Pro připojení molekuly monosacharidu specifického pro danou krevní skupinu slouží prekursorový antigen H. Oligosacharidy jsou součástí glykoproteinů a glykolipidů v membráně erytrocytů. Rozeznáváme 4 typy oligosacharidových řetězců. Řetězec typu 2 je v membráně erytrocytů, řetězec typu 1 je převážně sekretech a tělních tekutinách. Řetězce typu 3 a 4 jsou specifické pro odlišení podskupiny A<sub>1</sub> a A<sub>2</sub>. [3]

#### 2.1.2 Dědičnost systému

Antigeny A, B a H nejsou přímým produktem genu, ten pouze spustí syntézu glykosyltransferázy a zprostředkuje katalýzu monosacharidu k prekursorové substanci, k tzv. H antigenu. Antigen A vzniká připojením N–acetyl-galaktosaminu k H antigenu. Tento proces zprostředkovává enzym A transferáza. Obdobně vzniká i B antigen. Gen B umožní syntézu B transferázy, a ta poté připojuje D–galaktózu k H antigenu. U krevní skupiny 0 nebyl zajištěn proteinový produkt, proto nedochází k připojení žádného monosacharidu k H antigenu. [3]

Může se stát, že na membráně erytrocytů se nenachází ani jeden z antigenů H, A a B. Jedinec má fenotyp Bombay. Příčinou je nemožnost vzniku H transferázy, jelikož chybí FUT1 gen potřebný k její syntéze. [3]

### 2.1.3 Sekretorství AB0 systému

Asi u 80 % osob se ve slinách, sekretech a různých tělních tekutinách nacházejí H, H a A nebo H a B antigeny. Sekrece těchto antigenů je podmíněna genem Se a jeho recesivní alelou se. Sekrety homozygotů sese neobsahují H, A ani B antigeny. Naopak jedinci s alespoň jedním Se genem jsou vylučovateli těchto antigenů. [3]

### 2.1.4 Varianty systému AB0

Mezi nejvýznamnější A fenotypy patří podskupiny A<sub>1</sub> a A<sub>2</sub>. K dalším vzácným podskupinám patří například A<sub>x</sub>, A<sub>m</sub>, A<sub>el</sub> aj. Rozdíly mezi podskupinou A<sub>1</sub> a A<sub>2</sub> jsou jak kvantitativní, tak i kvalitativní. A<sub>1</sub> má 900 x 10<sup>3</sup> antigenních míst na erytrocytu, A<sub>2</sub> má oproti A<sub>1</sub> pouze 250 x 10<sup>3</sup> erytrocytárních antigenů na membráně. Dalším rozdílem je přítomnost aglutininu v séru. U podskupiny A<sub>1</sub> jsou přítomné anti-B a u podskupiny A<sub>2</sub> jsou protilátky také anti - B, ale někdy i anti - A<sub>1</sub>. [3]

Následující je fenotyp deficitní pro H antigen. V důsledku mutace nevznikla H substance a tím je znemožněna syntéza A nebo B antigenu – fenotypově se jedinec jeví jako krevní skupina 0. U nonsekretorů se tvoří protilátka anti - H a protilátky anti - A a anti - B. Anti - H protilátka je imunní a může vést k hemolýze erytrocytů, které nesou H antigen a tím vzniká problém pro zajištění vhodné krevní transfuze. U sekretorů lze prokázat antigen H v sekretech a tito jedinci nemají protilátku anti - H. [3]

### 2.1.5 Zastoupení AB0

V populaci nejrozšířenějšími skupinami jsou 0 a A, naopak méně lidí má B a AB. Zastoupení krevních skupin se ovšem liší podle oblastí, regionálně i rasově. [3]

### 2.1.6 Aglutininy

V krvi se přirozeně nacházejí protilátky IgM, které jsou charakteristické pro krevní skupinu. [2]

## 2.2 Rh systém

Již v roce 1939 se zjistila v séru matky, která porodila mrtvý plod, protilátka reagující se 75% AB0 kompatibilních jedinců. V roce 1940 byly prováděny imunizace králíků a morčat krvinkami opice *Macacus Rhesus*, a tím vzniklo označení Rhesus faktor. [2]

### 2.2.1 Dědičnost Rh systému

Známe antigeny D, C, c, E, e, jejich syntézu řídí geny RHD a RHCE. Geny dědíme od každého z rodičů a tvoří haplotyp alel. Rh systém je polyalelický. Při delecí RHD genů se jedinec jeví jako Rh negativní. [2]

Tři páry alel umožní vzniku 8 haplotypů: DCe, dce, DcE, Dce, dcE, dCe, DCE, dCE. Alela D je vůči alele d dominantní, kdežto Cc a Ee jsou alely kodominantní. [3]

### 2.2.2 Varianty v Rh systému

Slabé antigeny D ( $D^{\text{weak}}$ ) jsou způsobovány bodovými mutacemi, které postihují intramembranosní části RhD proteinu. Jedinci se slabými D antigeny nevytváří protilátky anti – D. U variantních D antigenů jsou bodové mutace promítány do extramembranosní části RhD proteinu, a tím dochází k vytvoření nového tvaru proteinu. Nositelé variantních D antigenů ( $D^I$ ,  $D^{II}$ ,  $D^{III}$ ,  $D^{IV}$ ,  $D^V$ ,  $D^{VI}$  a další) mohou vytvářet imunní protilátky anti – D. [2]

### 2.2.3 Aglutininy

U tohoto systému nejsou přirozené protilátky, ale mohou vznikat imunní protilátky proti Rh antigenům během života. [2]

## 2.3 Ostatní skupinové systémy

### 2.3.1 Kell systém

Antigeny v tomto systému jsou silně imunní a kodominantní, jsou to K, k,  $Kp^a$ ,  $Kp^b$ ,  $Js^a$ ,  $Js^b$ . 10 % negativních pacientů si vytváří po podání jedné transfuzní jednotky Kell pozitivních erytrocytů imunní anti – K protilátky. [2] Přirozené “nepravidelné“ protilátky IgM jsou vzácné, příčina jejich vzniku je neznámá či vznikají při bakteriálních infekcích. Imunní anti – K protilátky IgG optimálně reagují při 37 °C, neaktivují komplement a jsou poměrně časté. Mohou způsobit i závažné HON a hemolytické potransfuzní reakce (HTR). Anti–k protilátky jsou vzácné a též mohou způsobit i závažné HON a HTR. [4]

### 2.3.2 Lewis systém

Tento systém tvoří 6 antigenů, jedná se o antigeny produkované tkáňovými buňkami. Adsorbují se na membránu erytrocytu z plazmy a po transplantaci či masivním krevním převodu se tedy nemění. Nejdůležitější jsou antigeny  $Le^a$  a  $Le^b$ . Geneticky mají vztah k ABO systému a vylučovatelsví. Anti – Le jsou časté v graviditě, protože antigen Le během těhotenství slábne. Přirozené “nepravidelné“ protilátky IgM jsou poměrně časté, chladového typu. Imunní jsou vzácné, třídy IgM, někdy IgG, HON nezpůsobují a ani při transfuzích většinou nepůsobí problémy. Ovšem anti – Le mohou způsobit rejekci štěpu. [4]

### 2.3.3 Duffy systém

Systém obsahuje 5 antigenů, jsou silně imunogenní, zejména  $Fy^a$  a  $Fy^b$ . Přirozené “nepravidelné“ protilátky anti –  $Fy^a$  jsou velice vzácné. Imunní IgG optimálně reagují při 37

°C, mohou způsobovat HON i HTR. Anti Fy<sup>a</sup> jsou častější než Fy<sup>b</sup>. Erytrocyty nesoucí tyto antigeny vážou interleukin-8 a usnadňují invazi plazmodií (původce malárie).<sup>[4]</sup>

### 2.3.4 Kidd systém

Kidd systém má antigeny Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, Jk<sup>3</sup>. Protilátky anti – Jk<sup>a</sup> a anti – Jk<sup>b</sup> jsou imunní, třídy IgG, často ve směsi s IgM a jsou schopné vázat komplement. U těchto protilátek je nebezpečí těžké HTR. Protilátky mohou být obtížně detekovatelné, ale po inkompatibilní transfuzi mohou dosáhnout významných hladin. HON jsou s mírnými klinickými symptomy.<sup>[4]</sup>

### 2.3.5 Lutheran systém

Nejčastější jsou antigeny Lu<sup>a</sup> a Lu<sup>b</sup>. Antigen Lu<sup>b</sup> nacházíme ve větší frekvenci. Přírozené “nepravidelné“ protilátky jsou vzácné. Imunní protilátky optimálně reagují při 37 °C, nezpůsobují HON a jen lehké HTR. Anti – Lu<sup>a</sup> jsou třídy IgM, protilátky anti – Lu<sup>b</sup> jsou vzácné, většinou jde o směs IgG + IgM.<sup>[4]</sup>

### 2.3.6 MNSs systém

Tento systém tvoří antigeny M, N, S, s, U. Přírozené “nepravidelné“ protilátky IgM anti – M jsou relativně časté, optimálně reagují při teplotách 4–20 °C, pravděpodobně poinfekčního původu. Protilátky anti-N, anti – S jsou vzácné. Imunní protilátky IgG anti – M jen vzácně reagují při tělesné teplotě, optimálně reagují při teplotách pod 20 °C. HON. Protilátky anti – N a anti-s jsou vzácnější a všechny mohou způsobovat HON i HTR.<sup>[4]</sup>

### 2.3.7 P systém

Tento systém tvoří 3 antigeny: P<sub>1</sub>, P<sub>1</sub>PK<sub>4</sub>, P<sup>k</sup>. Běžně se jedinci rozdělují na P<sub>1</sub> pozitivní či negativní. Protilátky anti – P<sub>1</sub> jsou přírozené, chladové a třídy IgM nebo imunní třídy IgG, oboje reagují optimálně při 4°C. HON nezpůsobují, HTR zcela výjimečně. Protilátka anti – P se nejčastěji vyskytuje jako bifazický hemolyzin, je autoprotiátkou třídy IgG, HON ani HTR nepůsobí.<sup>[4]</sup>

### 3 HYPERBILIRUBINÉMIE NOVOROZENCE

Hyperbilirubinémie je zvýšená koncentrace bilirubinu v krvi nad 25  $\mu\text{mol/l}$ . Klinicky se jeví jako ikterus, žluté zbarvení sklér, poté kůže a sliznic. Ikterus je většinou u novorozence klinicky pozorovatelný až u hodnot bilirubinu v krvi nad 85  $\mu\text{mol/l}$ . Fyziologická hyperbilirubinémie se objevuje u 45-65 % novorozenců, ale také může být hyperbilirubinémie patologická (závažné onemocnění). [5]

Na novorozenecké žloutence se podílí celá řada faktorů a její vývoj se nedá vždy dobře predikovat. Je velmi důležitá kontrola hladiny bilirubinu v organismu novorozence. Ve světě prakticky vymizely problémy s pozdními následky až úmrtími na novorozeneckou žloutenku, příčinou je relativně přísný přístup k této problematice. Bohužel případy s následky novorozenecké žloutenky nevymizely zcela úplně, a to ani v rozvinutých zemích. [6]

#### 3.1 Bilirubin

Bilirubin řadíme mezi tzv. žlučová barviva. Ve velké míře vzniká při odbourávání hemu z hemoglobinu, dále pak také ale i ze sloučenin obsahujících hem (cytochromy, kataláza, myoglobin aj.). Erytrocyty zanikají hlavně ve slezině, ve které dochází i k odbourávání hemoglobinu, vzniká první žlučové barvivo, zelený biliverdin. Ten se ve slezině dále redukuje na bilirubin, žlutý až rubínově červený. Bilirubin je nerozpustný ve vodě, a proto musí být jeho transport do jater umožněn vazbou na albumin. Játra bilirubin z krve vychytají a jeho rozpustnost dále zajistí konjugací se dvěma molekulami kyseliny glukuronové, tímto vzniká diglukuronid bilirubinu. Tento proces katalyzuje enzym UDP – glukuronyltransferáza. Konjugovaný bilirubin pak dále putuje do žlučovodu a žlučí do tenkého střeva. Tam je redukován na řadu dalších produktů, nejméně se tvoří urobilinogen a sterkobilinogen. Následná oxidace dává vzniku urobilinu a sterkobilinu – ty způsobují hnědé zbarvení stolice. [7]

##### 3.1.1 Toxicita bilirubinu

Nejzávažnější komplikací hyperbilirubinémie je vznik jádrového ikteru. Ten vzniká, jestliže sérová hladina nekonjugovaného bilirubinu je větší než vazebná kapacita albuminu. Pak může volný bilirubin přestupovat přes hematoencefalickou bariéru. Za určitých patologických stavů může ale také do centrálního nervového systému (CNS) přecházet i bilirubin vázaný na albumin (asfyxie, acidóza, hypoperfuze, hyperosmolalita, sepse). Výsledkem je těžké funkční poškození CNS. Hladina toxicity bilirubinu je závislá na zralosti novorozence, etnické příslušnosti a přítomnosti hemolýzy. [8]



## 3.2 Rozdělení hyperbilirubinemií

Hyperbilirubinémie dělíme do dvou skupin. V jedné jsou stavy s nahromaděním nekonjugovaného bilirubinu a v druhé jsou nemoci se zvýšeným konjugovaným bilirubinem. <sup>[9]</sup>

- Hyperbilirubinémie nekonjugovaná
  - Nehemolytická (fyziologická a kojených dětí, nedonošených dětí, děti matek s diabetes mellitus, hypothyreóza, vrozené defekty konjugace)
  - Hemolytická
    - Kospuskulární
    - Extrakorpuskulární (hemolytické onemocnění novorozence, sepse, extravazáty krve)
- Hyperbilirubinémie konjugovaná
  - Poškození jater
  - Atrézie a hypoplazie žlučových cest <sup>[9]</sup>

## 3.3 Nekonjugované hyperbilirubinémie

Koncentrace bilirubinu v krvi je tvořena téměř jen nekonjugovaným bilirubinem. Fyziologické formy – fyziologická hyperbilirubinémie a hyperbilirubinémie kojených dětí. Příčinou může být i zvýšený rozpad erytrocytů (hemolytická) nebo poruchy transportu a konjugace bilirubinu v játrech (nehemolytická). <sup>[9]</sup>

### 3.3.1 Fyziologická hyperbilirubinémie

K rozvoji fyziologické hyperbilirubinémie u novorozence vede zejména ukončení placentární clearance bilirubinu a snížená eliminační schopnost jater (snížena aktivita UDP – glukuronyltransferázy) a to při zvýšené zátěži bilirubinem v časném postnatálním období (vyšší rozpad erytrocytů, vyšší podíl bilirubinu nepocházející z erytrocytů). Fyziologická hyperbilirubinémie se objevuje druhý den života a mizí do konce prvního týdne. Je třeba jí vždy odlišit od patologické hyperbilirubinémie. <sup>[9]</sup>

Horní hranice fyziologické hyperbilirubinémie je 248  $\mu\text{mol/l}$  u kojených a 195  $\mu\text{mol/l}$  u nekojených dětí. <sup>[10]</sup>

### 3.3.2 Hyperbilirubinémie kojených dětí

Některé ženy mají mateřské mléko, které je schopné inhibovat glukuronyltransferázu. Hyperbilirubinémie dosahuje maxima v prvních dvou týdnech a v průběhu někdy až 12. týdne zvolna ustupuje. <sup>[9]</sup>

### **3.3.3 Hemolytické onemocnění novorozence (HON)**

V těhotenství nebo v průběhu porodu pronikají erytrocyty z plodu do krevního oběhu matky a tím dojde k senzibilizaci. Matka začne tvořit inkompletní protilátky třídy IgG a ty jsou namířeny proti erytrocytům plodu. Protilátky pronikají přes placentu do plodu, kde se naváží na jeho erytrocyty a zapříčiní jejich vychytávání a zánik ve slezině. <sup>[9]</sup>

## **3.4 Konjugovaná hyperbilirubinémie**

Koncentrace konjugovaného bilirubinu je nad 15 % z celkového bilirubinu v krvi. Moč je tmavá a stolice světlá. Odhadovaná incidence konjugované hyperbilirubinémie oproti nekonjugované hyperbilirubinémii u novorozenců je 1:2500. <sup>[9]</sup>

### **3.4.1 Poškození jater**

U vrozených vad metabolismu (např. galaktosemie, tyrozinemie, cystická fibróza, intolerance fruktózy), defekty transportních jaterních mechanismů (progresivní familiární intrahepatální cholestáza, Rotorův syndrom, Dubin–Johnstonův syndrom), infekční onemocnění (Hepatitis B, C, CMV, toxoplasmóza, syfilis), nebo idiopatická neonatální hepatitis (nezralost tkáně, vlivy zánětlivé reakce, infekce, léky atd.). <sup>[9]</sup>

### **3.4.2 Atrézie a hypoplazie žlučových cest**

Atrézie žlučových cest se řadí k nejčastějším důvodům pro transplantaci jater u dětí. Řadí se sem extrahepatální atrézie, hypoplazie intrahepatálních žlučových cest atd. Druhou nejčastější příčinou je cysta choledochu. Jako další sem patří autozomálně dominantní onemocnění - Alagillův syndrom, který způsobuje mimo jiné hypoplazii žlučvodů. <sup>[9]</sup>

## 4 HEMOLYTICKÉ ONEMOCNĚNÍ NOVOROZENCE

HON je nemoc, při které způsobují mateřské aloprotilátky hemolýzu erytrocytů plodu nebo novorozence. <sup>[11]</sup>

Aloimunizace je stav, kdy jedinec je vystaven antigenu krevní skupiny, který sám postrádá a reaguje na něj tvorbou specifických protilátek. Takovéto expozici může dojít např. při transfuzi krve nebo při vniknutí červených krvinek plodu do oběhu matky (např. při fetomaternálním krvácení). <sup>[12]</sup>

Aloimunizace je významnou příčinou morbidity a mortality v prenatalním i postnatalním období. Některé pacientky produkují během těhotenství i více jak jednu protilátku, což situaci ještě dále komplikuje. <sup>[13]</sup>

### 4.1 Historie

Vůbec první zmínka byla v roce 1609 francouzskou porodní asistentkou, která popsal hemolytické onemocnění novorozenců dvojčat. V roce 1932 Diamond a jeho kolegové popsali vztah mezi hydropsem plodu, žloutenkou, anémií a erythroblasty v cirkulaci. Levine později určil příčinu poté, co v roce 1940 Landsteiner a Weiner objevili Rh systém. Dále v roce 1953 Chown potvrdil, že průnik Rh pozitivních fetálních erytrocytů po transplacentárním krvácení do cirkulace matky, která tato tento antigen nemá, způsobuje Rh aloimunizaci. V roce 1966 se prokázalo, že profylaxe anti – D Imunoglobulinem G zabrání senzibilizaci u Rh negativních žen. <sup>[14]</sup>

### 4.2 Incidence

V případě, kdy je dodržována profylaxe RhD negativní matky s RhD pozitivním plodem je incidence RhD aloimunizace <1 %. U 15 % těhotných při AB0 inkompatibilitě je riziko aloimunizace, HON se však rozvine pouze <1 % těchto těhotných. Inkompatibility v jiných systémech tvoří v rámci HON <5 %. <sup>[8]</sup>

### 4.3 Kategorie HON

Rozdělení podle specifity protilátek, které HON způsobují:

1. Rh HON (protilátky anti – D, anti – D+C, anti – D+E)
2. AB0 HON (anti – A, anti – B)
3. Ostatní <sup>[4]</sup>

#### 4.4 Protilátky způsobující HON

Klinicky významné protilátky jsou: anti – D, -c, -K, -E, -C, -e, -Ce, -cE, -Fy<sup>a</sup>, -Jk<sup>a</sup>, anti – A, anti – B a vzácně další IgG reagující protilátky při 37 °C v NAT. <sup>[4]</sup>

Pro kliniku nevýznamné jsou anti – P1, -Le<sup>a</sup>, -Le<sup>b</sup>, -H, -I, -HI, -N, -Lutheran, chladové protilátky, protilátky reagující pouze v enzymovém prostředí a protilátky reagující s celým panelem diagnostických erytrocytů a s vlastními erytrocyty. <sup>[4]</sup>

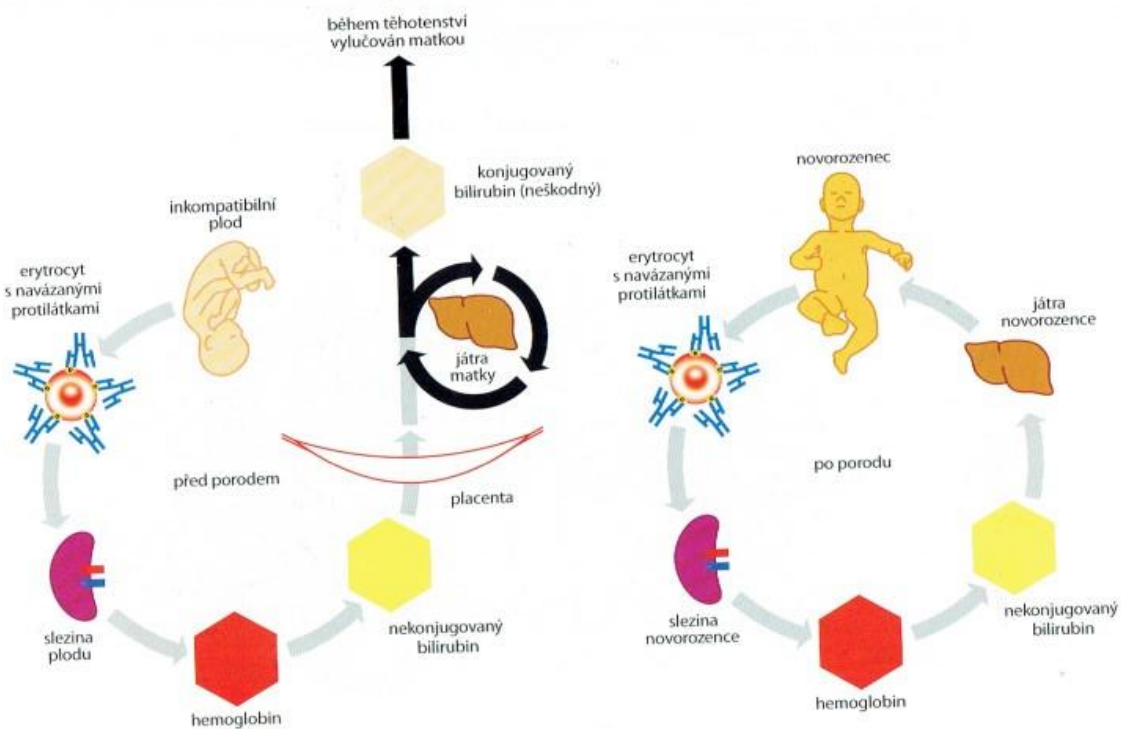
Individuálně zvažujeme význam protilátek: anti – S, -s, -M, -C<sup>w</sup>, -ce, -C<sup>x</sup>, -E<sup>w</sup>, -Fy<sup>b</sup>, -k a další. <sup>[4]</sup>

#### 4.5 Patofyziologie

Při HON se tvoří aloimunní protilátky proti erytrocytům, pokud je matka antigen negativní a plod antigen pozitivní. Matka tvoří specifické protilátky až po přestupu erytrocytů plodu do jejího oběhu, příčinou je fetomaternální krvácení (FMH). Mohou se ovšem uplatnit i protilátky (např. anti-Kell), jenž vznikly aloimunizací zapříčiněné předchozí transfuzí. Za rozvoj HON jsou odpovědné protilátky třídy IgG, které dokáží pronikat placentou do oběhu plodu, proces transportu je aktivní a jednosměrný (pouze z matky na plod). Množství vznikající IgG se postupně v průběhu těhotenství zvyšuje. <sup>[4]</sup>

Protilátky v krevním oběhu plodu obalují erytrocyty a způsobují jejich následnou destrukci především ve slezině v monocyto-makrofágovém systému (MMS). Vzniká nadměrné množství nekonjugovaného bilirubinu. Jelikož se plod ještě nachází v děloze, tak se nekonjugovaný bilirubin dostává do jater matky a zde je konjugován. Po porodu nastává ale zcela jiná situace, kdy játra novorozence nestačí vychytávat a konjugovat všechny vznikající bilirubin, a tudíž se v krvi jeho koncentrace zvyšuje. Nekonjugovaný bilirubin se dostává k buňkám CNS a bez léčby může poškodit mozek novorozence. <sup>[4]</sup>

Dalším problémem u anemického plodu je zvýšená především extramedulární erytropoéza, která způsobuje portální hypertenzi a jaterní dysfunkci, dále vede ke tkáňové hypoxii a při poruše jaterních funkcí k hypoproteinemii. Snížení albuminu také způsobuje snížení onkotického tlaku, to následně vede k ascitu až hydropsu plodu. V poslední řadě může dojít k intrauterinní smrti plodu na kardiovaskulární selhání. <sup>[4]</sup>



Obrázek 2: Význam zvýšené tvorby bilirubinu během těhotenství a po porodu <sup>[11]</sup>

## 4.6 Rizikové faktory imunizace

### 4.6.1 Rizikové faktory pro RhD inkompatibilitu

- Fetomaternální krvácení, umělé přerušování gravidity, porod císařským řezem, biopsie choriových klků, amniocentéza, kordocentéza
- Pokud je matka jednou senzibilizovaná, následující těhotenství má větší riziko rozvoje HON
- V případě, že je současně přítomna inkompatibilita v AB0 systému, snižuje se částečně riziko senzibilizace v systému Rh
- Výskyt u chlapců je častější <sup>[8]</sup>

### 4.6.2 rizikové faktory pro AB0 inkompatibilitu

- A<sub>1</sub> antigen u novorozence
- Parazité ve střevech matky, očkování ve 3. trimestru proti tetanu a pneumokoková vakcína (mohou stimulovat protilátky anti – A a –B) <sup>[8]</sup>

U ostatních skupin jsou platné obecné rizikové faktory <sup>[8]</sup>

### 4.6.3 Imunologické aspekty

Důležitá je jak specifita, množství avidita protilátky, tak i podtřída protilátky (IgG1 způsobuje větší destrukci erytrocytů in utero, IgG3 podněcuje větší destrukci erytrocytů postnatálně). Dále je klíčová i přítomnost a síla exprese antigenu na fetálních erytrocytech, stupeň proliferační odpovědi fetálního MMS, přítomnost antigenu v jiných tkáních či buňkách plodu a přítomnost mateřských blokujících protilátek. [11]

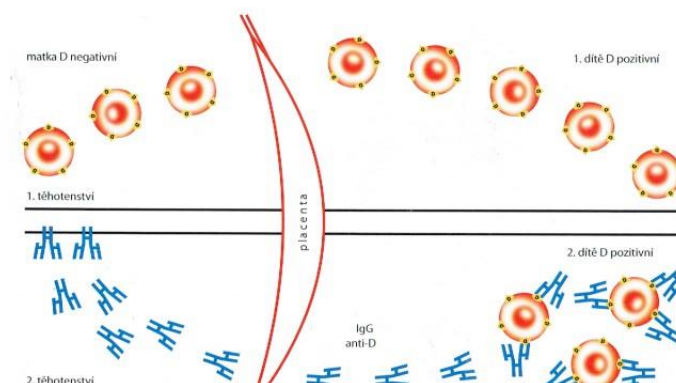
## 4.7 Rh HON

Erytrocyty plodu prochází ve 3. trimestru do cirkulace matky, a to obvykle v malém množství, tudíž nedochází k tvorbě protilátek. Podíl na tom mají i steroidní hormony, které suprimují primární imunitní odpověď matky. Problém nastává při druhém inkompatibilním těhotenství, tam stačí pouze malé množství RhD pozitivních erytrocytů z plodů. Erytrocyty vyvolají sekundární imunitní odpověď a RhD negativní matka tvoří velké množství protilátek třídy IgG. Rh profylaxe tvorbu protilátek anti – D výrazně snižuje. Již u cca 1–2 % prvorodiček lze na konci těhotenství najít protilátky anti – D. [4]

K imunizaci nedochází, jestliže pronikne pouze malé množství erytrocytů z plodu. Někteří jedinci vůbec netvoří protilátky, jsou to tzv. nonrespondeři. Také AB0 inkompatibilita chrání do určité míry před imunizací antigenem D, jelikož fetální erytrocyty v oběhu matky jsou neprodleně destruovány protilátkami anti – A nebo anti – B dříve, než vůbec erytrocyty způsobí RhD aloimunizaci. [4]

### 4.7.1 Rh HON s variantami antigenu D

V případě, když žena má slabý D antigen k aloimunizaci nedochází. Pokud má žena variantu antigenu D, může tvořit protilátky anti – D. Průběh však bývá obvykle mírný, ale jsou popsány i případy s těžkým klinickým průběhem. Jestliže RhD negativní matka má plod s variantou antigenu D, může začít tvořit protilátky anti – D, avšak velice vzácně. [4]



Obrázek 3: První a druhé těhotenství u Rh HON [11]

## 4.8 AB0 HON

Vzniká u matky, jež má v krvi protilátky anti – A nebo anti – B proti erytrocytům plodu. Obvykle jde o matku s krevní skupinou 0 a plodem se skupinou A nebo B. Protilátky jsou třídy IgG, prochází placentou a napadají erytrocyty plodu. K imunizaci dochází většinou až na konci těhotenství a plod neohrožuje. Převážně se střední hyperbilirubinémie novorozence objevuje 24–48 hodin po porodu. <sup>[15]</sup> Typicky žloutenka rychle odezní. Velmi vzácně jsou nutné výměnné transfuze. Vyšetřování přítomnosti a titru protilátek anti – A, resp. anti – B se neprovádí. <sup>[4]</sup>

AB0 HON je častější než Rh HON. Průběh je většinou mírný. Příčinou může být nezralost antigenů (fetální erytrocyty mají málo antigenních míst), nebo protože ve fetální plazmě chybí komplement. Další příčina je, že se ve fetálních tkáních a tekutinách nacházejí substance A, resp. B, a ty neutralizují protilátky anti – A, resp. anti – B ještě předtím, než stihnou zasáhnout fetální erytrocyty. <sup>[4]</sup>

## 4.9 Kell HON

Je odlišný proti ostatním typům HON. U plodu a novorozence nedominuje hyperbilirubinémie, ale těžká anémie. Protilátky proti antigenu Kell totiž působí na prekurzory erytrocytů v kostní dřeni, a tam dochází k jejich destrukci. Tyto protilátky jsou také schopny potlačovat erythropoézu. Klinické postižení plodu a závažnost anémie nekoreluje s titrem anti – Kell protilátek. Než těhotenství bývá častěji příčinou tvorby protilátek transfuze K+ erytrocytů, tudíž se dívkám a ženám ve fertlím věku doporučuje preventivně podávat erytrocyty K negativní. <sup>[3]</sup>

## 4.10 Ostatní protilátky v HON

HON mohou potenciálně způsobovat i další IgG protilátky, pokud jsou antigeny přítomné na fetálních erytrocytech. <sup>[4]</sup>

## 4.11 Klinické projevy

Od pouhých laboratorních známek aloimunizace až po těžké klinické stavy. Postižení plodu a novorozence může končit i smrtí. U plodu je největší potíží s anémií a u novorozence s hyperbilirubinemií. Tíže postižení závisí na rychlosti hemolýzy a na schopnosti krve-tvorby. <sup>[11]</sup>

## **5 FYZIKÁLNÍ A ULTRAZVUKOVÁ DIAGNOSTIKA HON**

### **5.1 Fyzikální vyšetření**

Při fetálním hydropsu se zvětšuje děloha. Zvětšení může být ale i u vícečetných plodů nebo při nadbytku plodové vody. <sup>[11]</sup>

### **5.2 Ultrazvukové vyšetření**

Určuje se velikost placenty, jater, edému, ascitu a kardiální dekompenzace. Pomocí dopplerovského měření maximální systolické rychlosti krve v arteria cerebri media plodu se diagnostikuje anémie. <sup>[11]</sup>



## 6 IMUNOHEMATOLOGICKÁ DIAGNOSTIKA HON

### 6.1 Odběr krevních vzorků a vyplnění žádanky

Zásadní je správná identifikace těhotné, novorozence či otce, správně provedený odběr, označení a transport vzorku a náležitě vyplněná žádanka. <sup>[16]</sup>

Zkumavka by se měla označit ještě před samotným odběrem krevního vzorku. Ověřuje se identifikace jedince. Vždy se uvede minimálně jméno, příjmení, číslo pojištění a datum odběru vzorku. V případě vzorku od plodu se na štítek uvedou identifikační údaje těhotné a zkumavka se označí jako „plod“. U novorozence nemusí být známo jeho křestní jméno nebo číslo pojištění, vygenerujeme číslo pojištění, které musí být unikátní. <sup>[16]</sup>

Materiálem na vyšetření je srážlivá či nesrážlivá žilní krev (dle požadavku laboratoře), u plodu je vzorkem krev z umbilikální žíly a u novorozence pupečnicková nebo kapilární krev. <sup>[16]</sup>

Na žádance je nutno uvést: jméno, příjmení, číslo pojištění, datum, diagnózu, zdravotní pojišťovnu, zda se jedná o první či o opakované těhotenství, týden těhotenství, transfuzní anamnézu, zda byly dříve zjištěné protilátky nebo HON, zda byl profylakticky podán specifický Imunoglobulin anti – D (datum aplikace a dávky) a identifikace žadatele. <sup>[16]</sup>

### 6.2 Vyšetření těhotné

Vstupní vyšetření se provádí ve 12. týdnu (10. – 16. týden), další vyšetření ve 28. týdnu těhotenství (26.-30. týden). <sup>[16]</sup>

#### 6.2.1 AB0

Stanovení AB0 skupiny slouží především k identifikaci těhotné, také je součástí předtransfuzního vyšetření. Výsledek musí tedy souhlasit se záznamy. Podskupiny se v tomto systému obvykle nevyšetřují. Při prvním těhotenství se toto vyšetření provádí ve 12. i ve 28. týdnu, v dalších těhotenství se pak vstupní vyšetření kontrolují se záznamy. <sup>[16]</sup>

#### 6.2.2 Antigen D

Ve 12. a 28. týden těhotenství. Vyšetřením antigenu D vyhledáváme ženy D – negativní, které potřebují profylaxi anti – D. Vyšetření D<sup>w</sup> se nedoporučuje. V případech, kdy jsou slabší reakce obou diagnostických sér anti – D, zcela odlišné reakce při použití různých diagnostických sér, rozdílná síla reakcí obou diagnostických sér nebo rozpor mezi údaji z anamnézy a současným vyšetřením, je vhodné stanovit nebo vyloučit variantu antigenu D. <sup>[16]</sup>

### **6.2.3 Screening nepravidelných aloimunních antierytrocytových protilátek**

Vstupní vyšetření ve 12. týdnu, kontrolní vyšetření ve 28. týdnu těhotenství. Klinicky významné nepravidelné aloimunní antierytrocytové protilátky se nachází cca u 1 % všech těhotných. Vyšetření umožňuje detekovat klinicky významné protilátky. Screening nepravidelných protilátek má význam u D – negativních žen i u D – pozitivních žen, jelikož u HON se mohou uplatňovat jiné protilátky než anti – D. Vzorek je potřeba odebrat před případným profylaktickým podáním anti – D. Při pozitivním výsledku screeningu protilátek je zapotřebí určit specifitu protilátek. <sup>[16]</sup>

### **6.2.4 Identifikace nepravidelných aloimunních antierytrocytových protilátek**

V případě positivity ve screeningovém vyšetření nepravidelných protilátek. Laboratoř by měla ošetřujícího lékaře informovat o klinické významnosti protilátky vzhledem k HON a transfuzi. U významných protilátek (anti-D, -c, -K, -E) se vyšetření opakuje každé 4 týdny. <sup>[16]</sup>

### **6.2.5 Fenotyp matky**

Provádí se pro potvrzení specifity a k vyloučení autologní protilátky (nemá k HON žádný význam). Stanovuje se antigen komplementární k dané zjištěné specifické protilátce. <sup>[16]</sup>

### **6.2.6 Stanovení titru nepravidelných protilátek (titrování)**

Slouží k vyhledávání těhotenství, která mají riziko HON a k vyhledávání plodů/novorozenců, u kterých je pravděpodobnost, že budou vyžadovat léčbu HON. Titrování vlastně funguje jako screeningový test pro rozhodnutí, kdy se začne sledovat HON jinými než imunohematologickými metodami. Jestliže se u předchozího těhotenství vyskytlo těžké HON, nestanovuje se titer nepravidelných protilátek, je-li možno určuje se genotyp plodu, a plod se sleduje jinými než imunohematologickými metodami. <sup>[16]</sup>

Titrování se neprovádí

- U jiných protilátek než třídy IgG
- Při dosáhnutí kritického titru protilátky
- Při rozhodnutí, monitorovat suspektní HON jinou metodou
- Po porodu
- U klinicky nevýznamných protilátek pro HON <sup>[16]</sup>

Hodnocení závisí na anamnestických údajích z předešlého těhotenství. Někdy může být klinicky významná protilátka s nižší hodnotou titru. Významná je také změna titru o více než dva stupně. Náhlý pokles titru o více než tři stupně může znamenat těžké postižení plodu. Opakuje se každé 4 týdny u klinicky významných protilátek (anti-D, -c, -K, -E) a po 28. týdnu každé 2 týdny. Je vhodné vzorek séra zamrazit a při následujícím vyšetření provádět paralelně titrování obou vzorkům pro sledování dynamiky titru. [16]

Stanovení titru přesně neodpovídá koncentraci protilátky v plazmě. Výše může být ovlivněna afinitou protilátky, přesnější je stanovení koncentrace protilátky (v České republice se neprovádí). [11]

*Tabulka 1: Hodnoty klinicky významných titrů [16]*

Specifita	Titr	
	Zkumavkový test	Sloupcová aglutinace
<b>anti-D, -C, -E</b>	≥ 32	≥ 128
<b>anti-K</b>	≥ 4	≥ 8
<b>ostatní</b>	≥ 64	≥ 128

V případě těhotenství s průkazem klinicky významných protilátek se vyšetřuje též otec - je však nejistý, negativní výsledek nemusí znamenat nulové riziko. Stanovuje se fenotyp otce, genotyp se stanovuje jen v případě, jestliže je genotypování plodu nedostupné či nejasné. Když je otec antigen – negativní, těhotná se sleduje, jakoby žádné protilátky neměla. Může se provést i vyšetření séra/plazmy matky s erytrocyty otce (vzácně se vyskytující antigen), např u opakovaných potratů, těžkého HON při nezjištěných protilátkách. [16]

### 6.3 Vyšetření plodu

Indikace: dosažení klinicky významného titru u klinicky významných protilátek, těžké HON v anamnéze a zároveň otec je pro daný antigen heterozygot. [11]

#### 6.3.1 Vyšetření AB0, D, PAT

Samotný odběr vzorku plodu přináší vysoké riziko FMH (další aloimunizace matky), dalším rizikem je potrat (u 1-3 % odběrů). Proto se vyšetření provádí pouze u suspektní anémie způsobené HON a před intrauterinní transfuzí. Vyšetření D<sup>w</sup> se neprovádí. [11]

#### 6.3.2 Stanovení genotypu

U systému Rh (D, c, E), Kell (K), Kidd (Jk<sup>a</sup>) a Duffy (Fy<sup>a</sup>). [11]

„ V současné době lze pro ČR doporučit genotypování RHD,RHCE v případě průkazu klinicky významného titru protilátek anti – D, anti – c, anti – E (z plazmy) a KELL (z choriových klků, amniocytů nebo plazmy) v případě průkazu protilátek anti-K” [16]

Testování se provádí pomocí real – time PCR z plazmy matky, kde se nachází volná fetální DNA. V prvním trimestru tvoří v plazmě matky z celkového množství volné DNA až 3% volná fetální DNA, ve třetím trimestru je to až 6 %. Genotypování se provádí mezi 15. až 18. týdnem těhotenství. Genotypování Kell je doporučeno ve 20. týdnu, při negativním výsledku se opakuje ve 28. týdnu [11]

## **6.4 Specifické postupy**

### **6.4.1 Anti – K**

Většinou jsou protilátky anti – K u těhotných způsobeny ještě před těhotenstvím transfuzí Kell – pozitivních erytrocytů, z tohoto důvodu se doporučuje dívkám a ženám ve fertilním věku podávat Kell – negativní erytrocyty. Žádoucí je vyšetřit otce. Pokud je otec heterozygot, vyšetřit plod. Vyjde-li plod K – pozitivní, monitoruje se pomocí ultrazvuku, popř se vyšetřuje pomocí kordocentézy. [11]

### **6.4.2 Anti – C+D**

Je nezbytné je odlišit od protilátky anti – C + G, protože těhotné s anti C + G by měla být podána Rh-profylaxe. [11]

### **6.4.3 Testování po profylaktickém podání imunoglobulinu anti – D**

Každé podání anti – D má být zaznamenáno v dokumentaci těhotné a na žádance na imunohematologické vyšetření. Pokud je reakce anti – D slabá a podání anti – D bylo v posledních 8 týdnech, vyšetření pokračuje jako u nesenzibilizovaných žen. Když titer protilátek klesá a anti – D již nejsou detekovatelné v NAT, pravděpodobně jde o profylaktické anti – D. Stejná nebo zvyšující se hladina znamená imunitní protilátky anti – D. [11]

## **6.5 Vyšetření matky po porodu**

### **6.6 AB0, D**

Provádí se jedině, když není k dispozici spolehlivý výsledek z předchozího vyšetření nebo u předtransfuzního vyšetření. [16]

### **6.6.1 Screening nepravidelných protilátek**

Pouze u předtransfuzního vyšetření. U předtransfuzního vyšetření novorozence se vyšetřuje matčino sérum/plazma, jelikož její protilátky jsou jediné, které se mohou vyskytovat v séru/plazmě novorozence. Jestliže je screening protilátek negativní a u novorozence jsou přítomny známky HON, provede se testování séra/plazmy matky s erytrocyty otce (pokud není AB0 inkompatibilita), důvodem je zachycení antigenů s nízkou frekvencí výskytu. [16]

### **6.6.2 Identifikace nepravidelných protilátek**

Určuje se v případě pozitivního screeningu protilátek, u protilátky zjištěné poprvé po porodu, potvrzení protilátky původní a u vyloučení/průkazu nové protilátky. Identifikace protilátky je nutná při výběru krve k transfuzi matky nebo novorozence, a také pro stanovení rizika u dalších těhotenství. [16]

## **6.7 Vyšetření novorozence**

### **6.7.1 AB0**

U všech novorozenců se vyšetření rutinně nedoporučuje. Provádí se u matek s klinicky významnými protilátkami (kvůli možné transfuzi novorozence), dále u novorozenců s klinickými známkami HON a zároveň když u matky nebyly prokázány nepravidelné protilátky a u suspektního AB0 HON. [16] V plazmě novorozence nejsou přítomny žádné aglutininy, tudíž se dělá dvojí vyšetření aglutinogenů. [11]

### **6.7.2 Antigen D**

U všech novorozenců se rutinně nedoporučuje. Dělá se u novorozenců D – negativních matek (k určení žen vhodných k profylaxi anti – D), u matek s klinicky významnými protilátkami (kvůli možné transfuzi novorozence, a u novorozenců s klinickými známkami HON a zároveň když u matky nebyly prokázány nepravidelné protilátky. D<sup>w</sup> nebo varianty antigenu D se nevyšetřují. [16]

### **6.7.3 Screening nepravidelných protilátek**

Provede se testování séra/plazmy novorozence s erytrocyty otce (zachycení antigenu s nízkou frekvencí výskytu). A to v případě, kdy jsou u novorozence přítomny známky HON, ale screening protilátek matky byl negativní a zároveň je přítomna mezi matkou a otcem AB0 inkompatibilita (nemůžeme použít sérum/plazmu matky kvůli aglutinínům). Dále se dělá screening protilátek u novorozence, když se toto vyšetření u matky neprovádělo nebo výsledek vyšetření neznáme. [16]

#### **6.7.4 Přímý antiglobulinový test**

U všech novorozenců se rutinně nedoporučuje. Provádí se v případě průkazu potenciálně klinicky významných protilátek matky, dále u novorozenců s klinickými známkami HON a zároveň když u matky nebyly prokázány nepravidelné protilátky (susp. se jedná o protilátky proti antigenu s nízkou frekvencí výskytu) a u suspektního AB0 HON HON (u matek s krevní skupinou 0). A také, když se u matky neprováděl screening protilátek. Po vyšetření PAT je nutné potvrdit diagnózu vyšetřením hemoglobinu a sérového bilirubinu u novorozence. <sup>[16]</sup>

#### **6.7.5 Eluční test**

V případě positivity PAT, se určuje specifita přítomné protilátky. Vyšetření je patřičné v případě, kdy ze směsi protilátek určujeme specifickou protilátku, jenž se podílí na HON (hledáme tu protilátku, ke které má novorozenec na erytrocytech přítomen korespondujících antigen). Eluce není třeba, pokud je identifikována protilátka už u matky. <sup>[16]</sup>

## 7 HEMATOLOGICKÁ DIAGNOSTIKA HON

Jejich důležitost spočívá v potvrzení diagnózy HON, klíčová jsou pro diferenciální diagnózu a určují léčebné postupy. <sup>[4]</sup>

### 7.1 Krevní obraz

Vyšetřuje se při suspektní anemii novorozenců. Rozhodovacím kritériem vyšetření je anamnéza, fyzikální vyšetření, průběh těhotenství a zvýšený průtok krve v arteria cerebri media. <sup>[4]</sup>

Provádí se ze vzorku krve z pupečníku plodu nebo po porodu. V žilní krvi novorozence je koncentrace hemoglobinu vyšší než v pupečnickové krve. Nález při HON: koncentrace Hb pod 130–140 g/l, MCV většinou 118–135 fl, někdy je trombocytopenie, retikulo-cytóza. <sup>[4]</sup>

### 7.2 Krevní nátěr

Nález při HON: normoblasty, retikulocytóza, mikrosférocytóza (většinou jen u AB0 HON). <sup>[4]</sup>

### 7.3 Anémie v novorozeneckém věku

Kritéria anémie u donošeného novorozence: do 14 dní věku: venózní krev Hb <130 g/l, kapilární krev Hb <145 g/l (HTK pod 0,40). <sup>[17]</sup>

Anémie, která je zjištěna perinatálně, může mít původ v intrauterinních nebo peripartálních ztrátách, též bývá projevem vrozené poruchy erythropoézy či důsledkem zvýšeného rozpadu červených krvinek. <sup>[17]</sup>

Samostatnou jednotkou je pak anémie nedonošených novorozenců, která vzniká v období fyziologického útlumu erythropoézy a manifestuje se většinou na konci 1. měsíce života. Pokles Hb je zde způsoben několika faktory: nedostatečné zásoby vytvořené během kratšího intrauterinního života, kratší životnost erytrocytů, nezralé adaptační mechanismy a rychlý pokles erytropoetinu. <sup>[17]</sup>

Etiologie novorozenecké anémie tedy bývá multifaktoriální. Kromě prokazatelných krevních ztrát a aloimunizace zůstává většinou příčina nejasná a pouze následná cílená vyšetření (pokud se anemizace dítěte opakuje) ji mohou odhalit. <sup>[17]</sup>

## **8 BIOCHEMICKÁ DIAGNOSTIKA HON**

### **8.1 Koncentrace bilirubinu v séru**

Materiálem pro toto vyšetření je pupečnicková krev plodu nebo novorozence. Během první hodiny po porodu se vyšetřuje každou hodinu, poté po 4–6 hod. Sledujeme rychlost nárůstu hodnot bilirubinu – u rychlých nárůstů se pozoruje zvýšení nad 200 mg/l do 48 hod. Koncentraci bilirubinu sledujeme až do ukončení léčby, u zralých novorozenců 3–4 dny a u nezralých 7–8 dní. Podle hodnot určujeme léčbu a kontrolu léčby. <sup>[4]</sup>

Problém stanovení může být např. málo vzorku, jeho hemolýza, příměs tkáňového moku nebo anemizace novorozence při opakovaných odběrech. <sup>[4]</sup>

### **8.2 Vyšetření fetomaternálního krvácení**

Provádí se KBT (metoda podle Kleihaunera, Brauna a Betkeho. Fetální hemoglobin je rezistentní vůči nízkému Ph (neuvolní se), když to dospělý hemoglobin je v nízkém Ph rozpustný (uvolní se). Vyšetření je ovšem pracné, poměrně nepřesné a obtížně reprodukovatelné <sup>[4]</sup>

### **8.3 Průtoková cytometrie**

Vzorek krve se inkubuje s anti – D, následně se přidá značená anti – IgG. Je nutno mít k testování příslušné zařízení, ale výhodou je citlivost a přesnost. <sup>[11]</sup>

### **8.4 ID-FMH**

Patří mezi screeningové testy, používá metodu sloupcové aglutinace. Test určuje pouze FMH u RhD negativních těhotných žen, kdy se určuje množství RhD pozitivních erytrocytů proniklých při FMH do jejich oběhu. Vyšetření je semikvantitativní a nákladné. <sup>[11]</sup>



## 9 TERAPIE HON

### 9.1 Prenatální léčba

Patří sem intrauterinní transfuze erytrocytů, plazmaferéza a podání vysokých dávek intravenózního imunoglobulinu IVIG (redukuje mateřské protilátky, prodlužuje interval mezi transfuzemi).<sup>[8]</sup>

#### 9.1.1 Intrauterinní – intraumbilikální transfuze (IUT)

Je indikována při poklesu hematokritu pod 0,30. Transfuze se podává 50 ml/kg (u hydropsu 30-40 ml/kg) intraumbilikálně od 20. do 34. týdnu. Interval podávání je cca 2-3 týdny. Podávají se erytrocyty deleukotizované, ozářené, 0 RhD negativní a čerstvé (maximálně 5. den od odběru). Přípravek musí být bez antigenu, proti kterému jsou u matky prokázány protilátky. IUT může po porodu ovlivnit výsledky testování AB0, RhD a PAT. Metodou sloupcové aglutinace se kontroluje úspěšnost IUT (pozoruje se dvojí populace).<sup>[11]</sup>

#### 9.1.2 Aplikace intravenózního imunoglobulinu těhotné (IVIG)

Redukuje mateřské protilátky až na 50%.<sup>[11]</sup>

#### 9.1.3 Výměnná plazmaferéza u matky

Dělá se ojedinelé. Potřebné je vyměnit 2–3 objemy plazmy (velká část anti – D se vrací do oběhu z extravaskulárního prostoru). Je možno výměnnou plazmaferézu provést již od 10. - 12. týdne gravidity.<sup>[11]</sup>

### 9.2 Postnatální léčba

#### 9.2.1 Fototerapie

Zahajuje se při dosažení určité hladiny bilirubinu podle indikačního grafu. Fototerapie pracuje na principu schopnosti molekuly bilirubinu přijmout foton, tím vzniknou izomery, které jsou rozpustné ve vodě. Izomery se vyloučí do žluče a moče bez nutnosti konjugace s kyselinou glukuronovou.<sup>[9]</sup>

Důležité je krýt oči dítěte, jelikož by mohlo dojít k poškození sítnice. Dítě musí mít dostatečnou hydrataci a výživu (možné zvýšené ztrátě vody při fototerapii) a musí být přístrojově monitorováno. Je potřeba celý průběh fototerapie zaznamenávat do dokumentace.<sup>[5]</sup>

### **9.2.2 Výměnná transfuze (exsanguinace)**

Využívá se k odstranění velké části bilirubinu, senzibilizovaných erytrocytů a protilátek, které se na hemolýze účastní. Pokud se dítě léčí s hyperbilirubinemií a mohla by nastat nutnost provedení výměnné transfuze, neměl by se seřezávat pupečníkový pahýl. <sup>[5]</sup>

Používají se dvě metody, kontinuální a diskontinuální. U kontinuální jsou zavedené dva katetry zároveň, jedním se odebírá a druhým se krev podává. Při diskontinuální je zaveden jeden katetr, kterým se krev nejprve odebere, a pak se podá stejné množství zpět. <sup>[11]</sup>

V případě mateřské protilátky anti – RhD se volí krev 0 RhD negativní. U jiných mateřských protilátek se volí krev neobsahující antigen, proti kterému jsou tyto protilátky namířeny. Krev musí být AB0 kompatibilní s matkou i novorozencem <sup>[18]</sup>

Volí se erytrocyty deleukotizované – v plazmě pro výměnnou transfuzi (EDV) do 5 dní po odběru s hematokritem od 0,40 do 0,60. EDV je kompatibilní s krví matky a dítěte v AB0 a RhD. Obvykle je krevní skupina erytrocytů 0 Rh(D) negativní a plazma AB Rh(D) negativní <sup>[19]</sup>

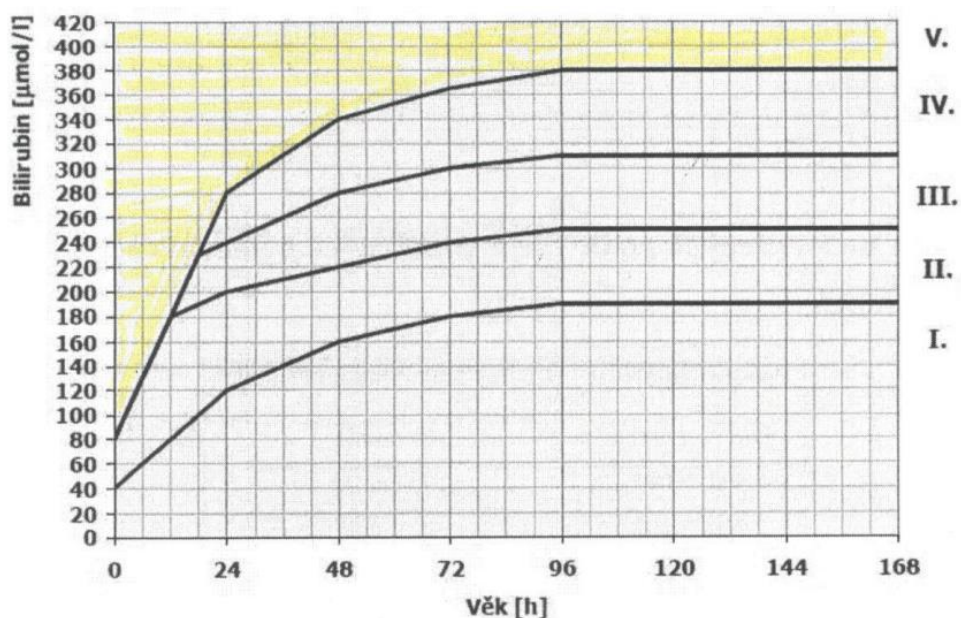
### **9.2.3 IVIG**

Používá se v případě těžkého HON, co nejdříve po porodu. <sup>[11]</sup>

## **9.3 Indikace**

K indikaci léčby po porodu se používá graf podle Hodra a Poláčka. Graf určuje léčbu či frekvenci odběrů hladiny bilirubinu. <sup>[5]</sup>

4: Indikační graf pro léčbu hyperbilirubinémie (podle K. Poláčka a R. Hodra) <sup>[9]</sup>



Tabulka 2: Doplnění grafu pro léčbu hyperbilirubinémie. <sup>[9]</sup>

Pásmo	Donošený novorozenec		Nedonošený novorozenec	
	Rh	ABO a jiné	Rh	ABO a jiné
V.	VT	VT(FT)	VT	VT
IV.	VT(FT)	FT	VT	VT
III.	FT	B	VT(FT)	FT
II.	B	b	FT	B
I.	B	/	B	b

Vysvětlivky:

fototerapie FT: zahájit o jedno pásmo dříve u nedonošených 31 týdnů a méně, při RDS

při indikaci k VT po dobu přípravy výkonu a po VT

fototerapeutický pokus (FT): max 12 hodin, při neúspěchu provedení VT

výměnná transfuze VT: pro opakování jsou indikace stejné jako pro první VT

B: stanovení hladiny bilirubinu po 12 hodinách

b: stanovení hladiny bilirubinu po 24 hodinách <sup>[9]</sup>

### 9.4 Péče o dítě po léčbě

Je nutné sledovat dítě i po léčbě, protože je riziko rebound fenoménu. Po dokončení fototerapie by dítě nemělo být propuštěno dříve než za 24 hod. Před propuštěním se musí zkontrolovat hladina bilirubinu. Rodiče by měly být poučeny o návratu žloutenky a včasnému vyhledání lékaře. Po 2–4 týdnech se kontroluje krevní obraz dítěte. U dětí, které podstoupily výměnnou transfuzi se screeningově vyšetřuje sluch a sleduje se psychomotorický vývoj. <sup>[5]</sup>

## 9.5 Profylaxe

Je podáván anti – D imunoglobulin, slouží pouze jako prevence RhD HON. Podává se D negativním ženám ve 28. týdnu těhotenství a po porodu. <sup>[8]</sup> Anti – D Imunoglobulin tlumí imunitní odpověď matky na D pozitivní erytrocyty proniklé při FMH. <sup>[3]</sup> Profylaxe se neprovádí při negativitě antigenu D nebo slabého D u plodu / novorozence a u D<sup>w</sup> – pozitivních matek. <sup>[11]</sup>

# PRAKTICKÁ ČÁST

## 10 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

### 10.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem mé bakalářské práce je zjistit jaké inkompatibility mezi matkou a novorozencem nejčastěji způsobují HON a určit, jaké protilátky proti erytrocytům byly u těchto matek identifikovány. Kritériem výběru všech probandů je pozitivita přímého anti-globulinového testu PAT v období od 1. 1. 2022 do 31. 12. 2022

### 10.2 Dílčí cíle

Dílčím cílem je vysvětlit metody, které se používají pro zachycení probíhající aloimunizace, pro identifikaci protilátek a zjištění jejich titrů. Dále popsat přípravu transfuzních přípravků pro léčbu HON.

Dalším cílem je statistické zpracování dat získaných od Transfuzního oddělení FN – Plzeň, včetně výzkumu korelace imunohematologických výsledků s dalšími laboratorními výsledky a klinickými symptomy hrozícího či již vzniklého HON.

Posledním cílem je popsat případy HON, které byly svým závažným průběhem indikovány k výměnné transfuzi.

## **11 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY**

### **Výzkumná otázka č.1:**

V jakých krevně skupinových systémech se v roce 2022 nejčastěji objevovala inkompatibilita vedoucí k HON?

### **Výzkumná otázka č.2:**

Jaké antierytrocytární protilátky při pozitivitě PAT byly u matek nejčastěji stanovovány?

### **Výzkumná otázka č.3:**

Znamená nález antierytrocytárních protilátek u matky jednoznačně HON?

### **Výzkumná otázka č.4:**

Koreluje PAT s indikací fototerapie?

### **Výzkumná otázka č.5:**

Jak často se v letech 2021 a 2022 indikovala výměnná transfuze a jaká byla bližší anamnéza u těchto probandů?

## 12 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Pro výzkum mně byla poskytnuta data z TO FN Plzeň. Pracovala jsem se systémy NIS – Medicalc 4, LIS – Amadeus, LIS – Orpheus. Systém LIS je od firmy Steiner a má několik subsystémů, využívala jsem subsystém B – prenatální laboratoř a subsystém C – protilátky. Ze systému LIS je denně vytištěna tzv. Hlavní kniha, ze které jsem vybírala soubor novorozenců s pozitivním PAT. Jedná se tedy o informace za období celého roku 2022 (365 dní, 30-50 stran výsledků imunohematologických vyšetření / den). U těchto novorozenců mně bylo pro potřeby zpracování praktické části dále umožněno získat informace o těchto parametrech: KS dítěte i matky, aloprotilátky nalezené u matky, včetně titrů (příloha č. 1), hodnoty bilirubinu (umbilikální a nejvyšší dosažené hodnoty sérového bilirubinu) a indikace léčby (fototerapie, exsanguinace) novorozence. Dále jsem za období 2021-2022 čerpala data z NIS a LIS a z dokumentace TO FN Plzeň o provedených exsanguinacích, včetně anamnestických údajů těchto novorozenců a jejich matek.

Vzhledem k tomu, že ne u všech novorozenců s pozitivitou PAT lze jednoznačně v NIS ozřejmit, zda se jedná o hodnoty KO získané z venózní, kapilární či pupečnickové krve (například při překladu novorozence z jiného nemocničního zařízení) či vzhledem k tomu, že anémie, která je zjištěna perinatálně, může mít též původ v intrauterinních nebo peripartálních ztrátách nebo je projevem vrozené poruchy erytropoézy a není tudíž důsledkem zvýšené hemolýzy erytrocytů - viz kapitola 7.3., byl původně zamýšlený další hodnocený parametr KO zamítnut. Stejně tak krevní nátěry nejsou vždy k dispozici, proto ani tento parametr nebyl použit.

U novorozenců, kteří podstoupili exsanguinaci – čili se jednalo o těžkou formu HON, byly hematologické parametry přesto zhodnoceny. Jelikož jsou tito 2 probandi též součástí kazuistik, výsledky jsou uvedeny u každého z nich (5 celkem).

## 13 METODIKA PRÁCE

### 13.1 Aglutinace

Aglutinace je shlukování erytrocytů, způsobené protilátkami proti antigenům přítomných na těchto erytrocytech. Z pohledu aglutinace nazýváme protilátky třídy IgM protilátkami kompletními, jelikož jejich molekula dokáže překlenout prostor mezi dvěma krvinkami (aglutinují přímo). O protilátkách třídy IgG hovoříme jako o protilátkách inkompletních, protože pro svou menší molekulu nedokážou prostor mezi dvěma krvinkami překlenout (aglutinují nepřímo). Aglutinace se využívá k detekci antigenů i k vyšetření protilátek. <sup>[11]</sup>

### 13.2 Antiglobulinový test (Coombsův test)

K tomuto testu se využívá polyspecifické antiglobulinové sérum – antiglobulinum humanum (AGH), které obsahuje anti – IgG a anti – C3d protilátky. AGH se naváže na Fc konec primární IgG protilátky navázané na jedné krvince a druhou vazbou se naváže na Fc konec IgG navázané na krvince jiné, tím dojde k aglutinaci. <sup>[11]</sup>

#### 13.2.1 Přímý antiglobulinový test (PAT)

Slouží k detekci IgG protilátek a/nebo složek komplementu, které již byli navázány na erytrocytech in vivo. Prvním krokem je promývací fáze. Promytím se odstraní nenavázaný imunoglobulin, dále se přidá AGH sérum a zkumavka se zcentrifuguje, hodnotí se vzniklá aglutinace na kříže. Pozitivita se může upřesnit kvalitativně (pomocí monospecifických diagnostik) i semikvantitativně (titr). <sup>[11]</sup>

#### 13.2.2 Nepřímý antiglobulinový test (NAT)

Detekuje vazbu erytrocyt-protilátka a/nebo erytrocyt-C3 složka komplementu vzniklou in vitro. Pro vyšetření protilátek se využívají erytrocyty se známými antigeny, pro detekci antigenů slouží diagnostické IgG protilátky. <sup>[11]</sup>

U NAT se jako první krok k vyšetřovanému séru přidají známé erytrocyty, vzorek se musí inkubovat. Poté se postupuje stejně jako u testu PAT, tj. následuje promývání, AGH sérum, centrifugace a hodnocení aglutinace. <sup>[11]</sup>

#### 13.2.3 Vyšetření imunních protilátek po neutralizaci merkaptoethanolem

Stanovují se imunní protilátky anti – A a anti – B třídy IgG v séru/plazmě matky. Merkaptoethanolem se zneutralizují kompletní IgM protilátky a následně se prokáží protilátky IgG pomocí typových erytrocytů A1 a B. <sup>[20]</sup>



Do zkumavky se napipetuje markaptoetanol (0,3 ml 0,2 mol) a vyšetřované sérum/plazma (0,3 ml), nechá se vysytit (2 hodiny). Připraví se zkumavky na titrační řadu (2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 a 1024) do prvních dvou se napipetuje vysycené sérum/plazma (0,1 ml) a do zbytku se napipetuje po 0,1 ml fyziologického roztoku. Ze zkumavky 4 se přesává po 0,1 ml do každé další zkumavky. Do všech zkumavek se napipetuje 5% náplav příslušných erytrocytů (0,1 ml). Následně se do každé zkumavky přidá 1 kapka 1 % papainu, zkumavky se protřepou a nechají odstát, po 45 minutách se dají zcentrifugovat. <sup>[20]</sup>

Poslední zkumavka, ve které je pozitivní aglutinace se označí jako konečný titr zjištěné imunní protilátky. Výsledek se odečítá makroskopicky po jemném poklepu na dno zkumavky. <sup>[20]</sup>

### 13.3 Exsanguinace

Krevní skupinu krve pro výměnnou transfuzi určuje ošetřující lékař ve spolupráci s transfuzním lékařem. Žádanka o transfuzní přípravky (TP) musí obsahovat potřebné množství EDV (erytrocyty deleukotizované v plazmě pro výměnnou transfuzi). Žádanka se zasílá spolu se vzorky krve matky a novorozence na krevní sklad Bory. Prvním krokem je objednání ozáření, na dodání krve k ozáření pracovník čeká 4-5 hodin, tj. doba přípravy TP pro exsanguinaci je 4-5 hodin. <sup>[21]</sup>

Na krevním skladu Bory se ověří/vyšetří krevní skupina matky metodou sklíčkovou a zkumavkovou, dále se stanoví krevní skupina novorozence (pouze aglutinogeny) metodou PAT na kartě a ve zkumavce (v případě ověření stačí metoda ve zkumavce). <sup>[21]</sup>

Vybírá se TP ERD (erytrocyty resuspendované deleukotizované) kompatibilní s krevní skupinou dítěte i matky a nesmí obsahovat příslušný antigen, proti kterému je vytvořena protilátka. Lékař střediska dárců krve (SDK) vybírá vhodné dárce 2x týdně k zajištění 2 TU ERD na exsanguinaci (0 ccddee Dw/v- Cw- kk), tímto je trvale dodržována zásoba na krevním skladu Bory. Lékař krevního skladu spolupracuje s lékařem SDK, někdy je nutno zajistit větší množství přípravku nebo přípravky jiné krevní skupiny. <sup>[21]</sup>

U vybraných ERD se provede screening protilátek proti erytrocytům a test kompatibility v NAT i enzymatickém testu se sérem/plazmou dítěte i matky. <sup>[21]</sup>

Výsledky se zapisují na žádanku o transfuzní přípravek, do LIS Amadeus a konzultují se s lékařem TO. Přípravek je vydáván spolu s výsledkem imunohematologického/předtransfuzního vyšetření, dodacím listem a protokolem o mísení odběrů. <sup>[21]</sup>

### **13.3.1 Erythrocyty deleukotizované – v plazmě pro výměnnou transfuzi (EDV)**

Jedná se o jednotku plné krve získané z koncentrátu deleukotizovaných erythrocytů a deleukotizované čerstvě zmražené plazmy uvolněné z karantény. EDV má hematokrit 0,40-0,60, je AB0 a Rh kompatibilní s krví dítěte i matky (obvykle erythrocyty 0 Rh(D) negativní a plazma AB Rh(D) negativní). EDV má stejné vlastnosti jako čerstvá plná krev, ale má velmi málo trombocytů a leukocytů (méně jak  $1 \times 10^6$ ). Erythrocyty jsou v EDV čerstvé, maximálně 5 dní staré. EDV se připravuje smícháním vypočtených objemů erythrocytů a plazmy tak, aby byl splněn požadovaný objem a hematokrit. Přípravek je před expedováním ozářen (20-50 Gray).<sup>[22]</sup>

## 14 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

V první části byla provedena analýza vzorků za období od 1.1 do 31. 12. 2022. Jako kritérium výběru probandů bylo použito vyšetření PAT u novorozenců, a sice jeho pozitivita. Vzorky od celkem 1794 novorozenců byly poslány na imunohematologické vyšetření na TO – Krevní sklad Lochotín (Gynekologicko-porodnická klinika a Neonatologické oddělení je součástí Lochotínské FN Plzeň), kde byla u všech provedena krevní skupina a u části z nich též PAT. U celkem 49 novorozenců byl pozitivní.

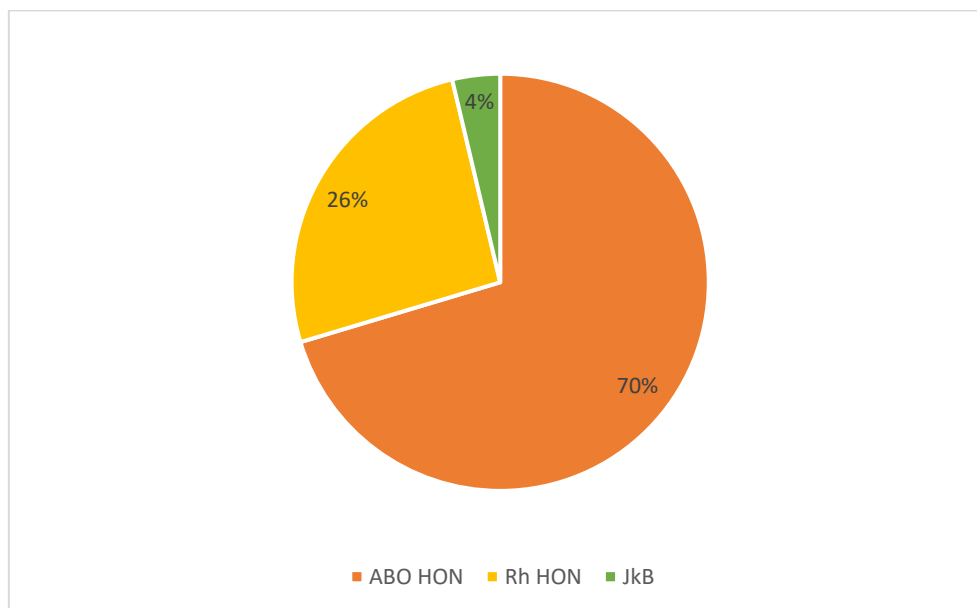
Jak již bylo v teoretické části uvedeno, rutinní testování PAT u všech narozených dětí se nedoporučuje, ani u RhD pozitivních novorozenců RhD negativních matek, zvláště byla – li aplikována anti-D profylaxe.

Praxe je taková, že právě při narození RhD pozitivních dětí RhD negativním matkám je požadavek na provedení PAT zadáván. Laboranti a laborantky krevních skladů TO FN Plzeň se samozřejmě řídí požadavkem neonatologů. Vyšetření PAT je pediatry vyžadován např. v případě přítomnosti jakýchkoliv antierytrocytárních protilátek u matky, při podezření na výskyt imunních protilátek u matek krevní skupiny 0, u nezralých novorozenců atd.

Přes některé níže uvedené skutečnosti ohledně ne zcela jednoznačné výpovědní hodnoty PAT vhodnější parametr pro výběr kohorty pacientů (novorozenců) s podezřením či rozvinutým HON nebyl nalezen.

## 14.1 VO 1: V jakých krevně skupinových systémech se v roce 2022 nejčastěji objevovala inkompatibilita vedoucí k HON?

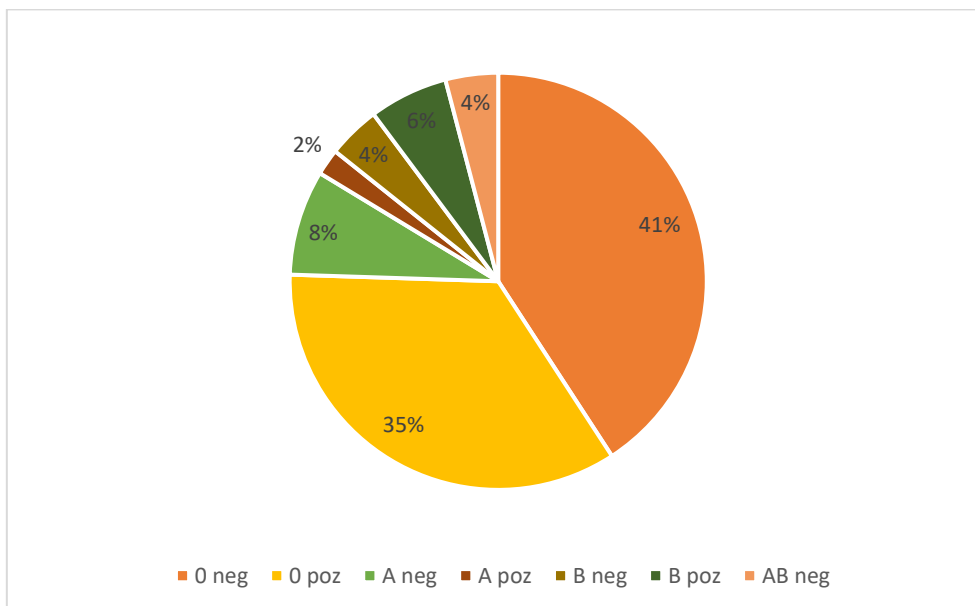
Graf 1: Procentuální rozložení jednotlivých kategorií HON za rok 2022



Zdroj: vlastní analýza dle dat z TO FN Plzeň

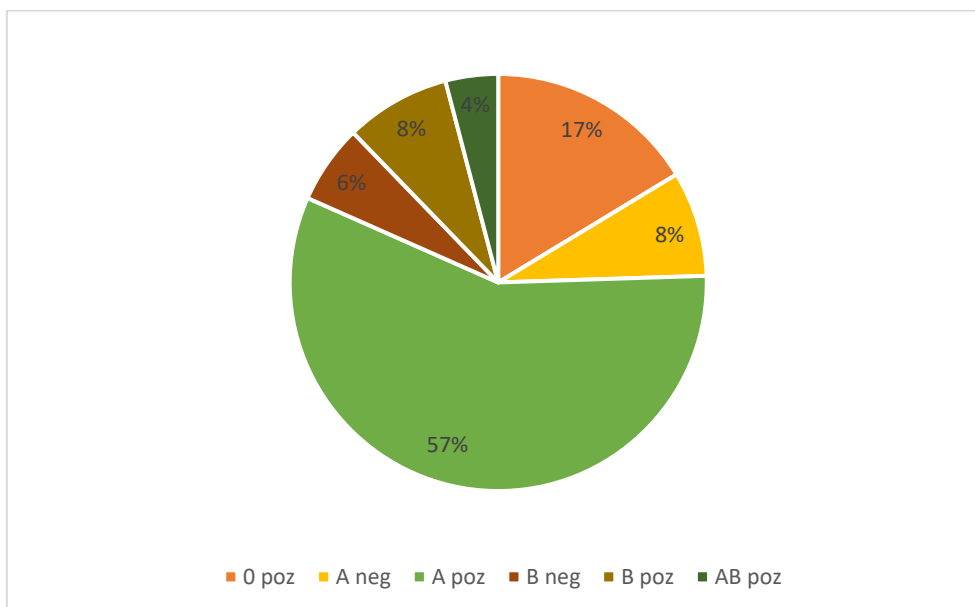
Z grafu vyplývá, že v roce 2022 vedla k HON nejčastěji ABO inkompatibilita, na druhém místě je Rh inkompatibilita a také byl zaznamenán případ inkompatibility v systému Kidd. Tím se také potvrdilo tvrzení z teoretické části, tedy že ABO HON je častější než Rh HON. Pro doplnění jsem přidala graf nejčastějších krevních skupin u matek a novorozenců.

*Graf 2: Procentuální zastoupení krevních skupin u matek, které měly novorozence s HON za rok 2022*



*Zdroj: vlastní analýza dle dat z TO FN Plzeň*

*Graf 3: Procentuální rozložení krevních skupin u novorozenců s HON za rok 2022*

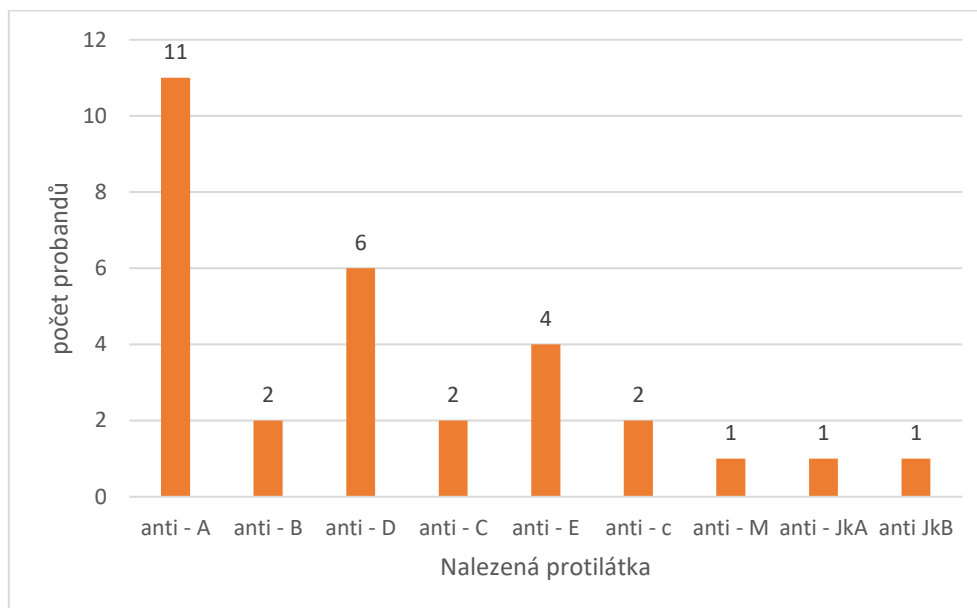


*Zdroj: vlastní analýza dle dat z TO FN Plzeň*

Grafy 2 a 3 ukazují procentuální četnost krevních skupin u matek a jejich novorozenců s HON. Grafy doplňují tvrzení z grafu 1, nejčastější byla u matek KS O a u novorozenců KS A čili inkompatibilita v AB0 systému svědčí pro AB0 HON. Skutečnost, kdy byly matky častěji RhD negativní a novorozenci RhD pozitivní (Rh inkompatibilita) potvrzuje, že AB0 inkompatibilita chrání do určité míry před imunizací antigenem D.

## 14.2 VO 2: Jaké antierytrocytární protilátky při pozitivě PAT byly u matek nejčastěji stanovovány?

Graf 4: Protilátky nalezené u matky při pozitivním PAT



Zdroj: vlastní analýza dle dat z TO FN Plzeň

U matek byly nejčastěji zjištěny protilátky anti – A a anti – D. Byly stanovovány i protilátky v Rh systému, systému Kidd a systému MNSs. Opět lze z grafu vyčíst nejfrekventnější imunizaci v systému AB0.

Je problémem, že často u matek nejsou výsledky screeningu protilátek k dispozici. Důvodem může být, že screening byl zasílán do jiné laboratoře nebo matka rodila v jiném zdravotnickém zařízení a byla bezprostředně po porodu převezena do FN Plzeň (např. když byl novorozenec v pásmu pro hrozící exsanguinaci dle grafu Hodra a Poláčka) a lékařská zpráva včetně prenatální diagnostiky není k dispozici. Je také na uvážení gynekologů, zda sérum matky na vyšetření screeningu nepravidelných protilátek proti erytrocytům vůbec zašlou.

U matek, u nichž se přes pozitivitu PAT nenalezly v séru protilátky, se pravděpodobně jedná o vytvoření protilátek proti antigenu, který není zastoupen v tzv. panelu diagnostických erytrocytů, event. se může jednat o protilátky proti antigenům s nízkou frekvencí výskytu (anti – LFA).

Tabulka 3: Výsledky titrů imunních protilátek a bilirubinu u zjištěných AB0 HON

Proband	PAT	Protilátka	Titř	pupeční- kový bilirubin [μmol/l]	Nejvyšší dosažená hodnota bilirubinu [μmol/l]	fototerapie
1	+	anti – B	16 +	33	294	ano
2	+	anti – A	512 +	71	227	ano
3	++	anti – A	64 +	50	242	ano
4	+	anti – A	512 +	63	221	ano
5	++	anti – A	128 +	51	257	ano
6	++	anti – B	512 +	--	256	ano
7	+	anti – A	32 +	53	294	ano
8	+++	anti – A	128 +	35	275	ano
9	+	anti – A	64 +	88	159	ano
10	++	anti – A	128 +	101	169	ano
11	+	anti – A	64 +	57	190	ano
12	++	anti – A	64 +	31	220	ano
13	++	anti – A	32 +	39	261	ano

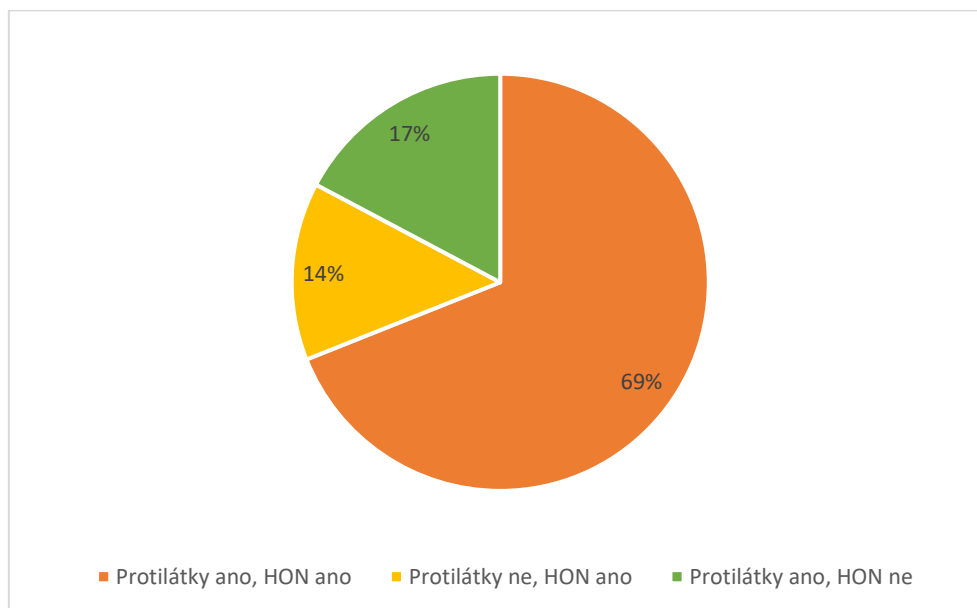
*Zdroj: vlastní analýza dle dat z TO FN Plzeň*

Tabulka ukazuje výsledky titrů imunních protilátek u AB0 HON, hodnoty pupečnickového bilirubinu, nejvyšší dosaženém hodnoty bilirubinu. Všechny dosažené hodnoty u bilirubinu byly v pásmu pro indikaci fototerapie podle grafu Hodra a Poláčka. U probanda č.6 nebyla k dispozici překladová zpráva s kompletními výsledky, tudíž nemáme informaci o hodnotě pupečnickového bilirubinu.

V tabulce jsou zahrnuty pouze případy AB0 HON, u kterých byly k dispozici informace o protilátkách. Důvody proč data o protilátkách nebyla nalezena již byly popsány.

### 14.3 VO 3: Znamená nález antierytrocytárních protilátek u matky jednoznačně HON?

Graf 5: Procentuální zhodnocení korelace protilátek a HON



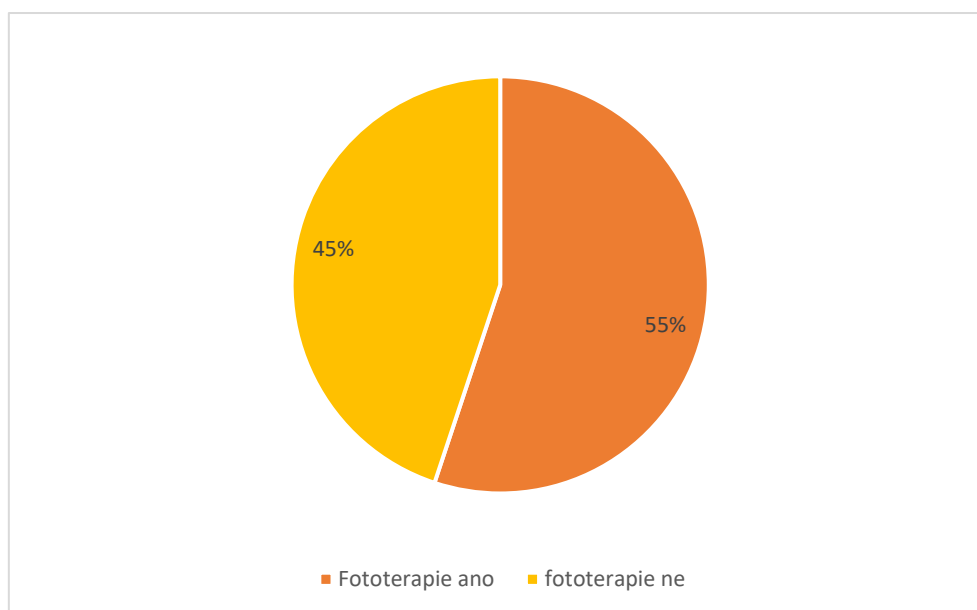
Zdroj: vlastní analýza dle dat z TO FN Plzeň

Z grafu 5 je patrné, že nález antierytrocytárních protilátek jednoznačně nepredikuje HON, stejně tak nepřítomnost protilátek neznamena, že HON se u novorozence nerozvine. Průkaz klinicky významných erytrocytárních protilátek nemusí mít tedy žádný klinický význam. Je nezbytné současně vyšetřit i další laboratorní hodnoty jako sérový bilirubin a hemoglobin.



## 14.4 VO 4: Koreluje PAT s indikací fototerapie?

Graf 6: Procentuální zhodnocení korelace pozitivního PAT s indikací fototerapie



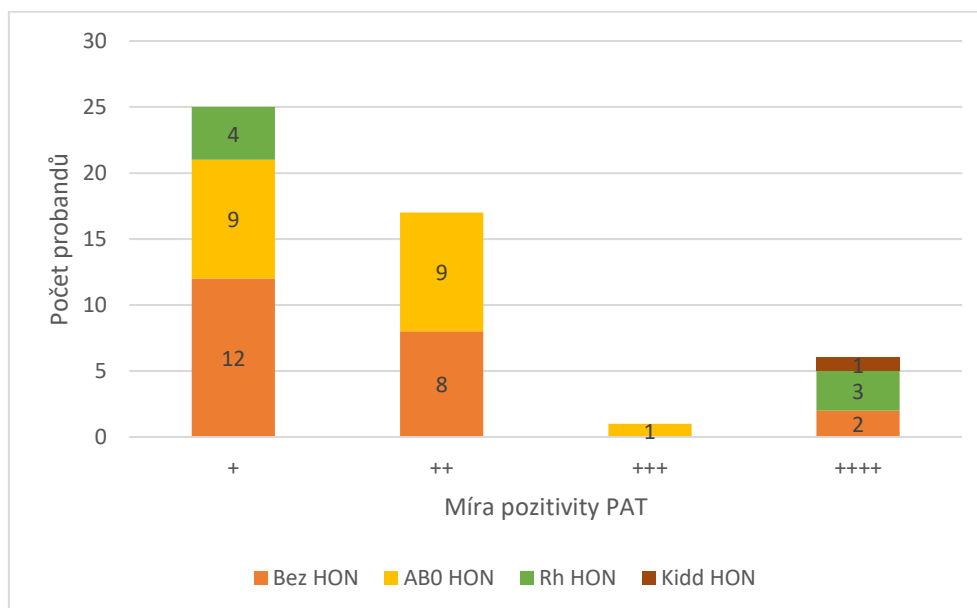
Zdroj: vlastní analýza dle dat z TO FN Plzeň

Z grafu můžeme vyčíst, že pozitivita metody PAT nekoreluje s indikací fototerapie, tedy ani s HON. Pozitivní PAT můžeme nalézt až u 3-6 % vzorků a nemusí mít žádný klinický význam. Stejně tak pouhá pozitivita testu nepotvrzuje diagnózu onemocnění (HON), ani při průkazu klinicky významných erytrocytárních protilátek. Prediktivní hodnota se v případě positivity PAT blíží 23 %. Naopak i v případě negativity PAT se též může jednat o těžké HON. Nezbytné je současně vyšetřit i další laboratorní hodnoty – sérový bilirubin a hemoglobin.

PAT je silně pozitivní u protilátek Rh krevně skupinového systému (zejména anti – D) dále u protilátek anti – Fy, anti – JK, anti - K. Naopak u AB0 inkompatibility mezi matkou a dítětem je velmi často PAT pouze slabě pozitivní až negativní (literatura udává v 90 %). Příčinou je zřejmě ta skutečnost, že počet antigenních determinant A či B je nízký, to znamená, že na membránu erytrocytu se váže malé množství anti – A nebo anti – B protilátky a toto množství je pod hranicí detekovatelnosti laboratorních testů. Paradoxně jsou tedy nezralí novorozenci lépe chráněni před vznikem AB0 HON než ti zralí, donošení. Dále se předpokládá, že substance A a B, které jsou přítomné v tkáních a tekutinách plodu, mohou neutralizovat část těchto vzniklých protilátek ještě před tím, než by se navázaly na fetální

erythrocyty. Nicméně při dosažení klinicky významných titerů imunních protilátek anti – A, anti-B, resp. anti A, B nalzáme PAT pozitivitu jednoznačně.

Graf 7: Znáznornění míry positivity PAT u jednotlivých kategorií HON



Zdroj: vlastní analýza dle dat z TO FN Plzeň

V grafu jsou uvedené jednotlivé kategorie HON s pozitivním PAT, a to s ohledem na míru aglutinace znázorněné na kříže. Hodnoty opětne potvrzují předchozí zjištění a to sice, že pozitivita PAT nekoreluje s HON. Vidíme ale i souvislost mezi mírou positivity PAT a AB0 HON, který opravdu vycházel slaběji pozitivní než například HON v systému Kidd. Rh HON vycházel jak slabě, tak i silně pozitivní. Ovšem výsledky nemusí být vypovídající, vzhledem k malému počtu probandů s HON.

#### 14.5 VO 5: Jak často se v letech 2021 a 2022 indikovala výměnná transfuze a jaká je bližší anamnéza u těchto probandů?

V letech 2021 a 2022 byla výměnná transfuze indikována celkem 5x, z toho 3x v roce 2021 a 2x v roce 2022. Všechny tyto případy jsou rozebrány formou kazuistik. Hodnoty, kterém odpovídají HON jsou tučně zvýrazněné.

### 14.5.1 Kazuistika 1

Novorozenec: donošený chlapec (37+5 tt), narozen 15. 2. 2021 v 9:25, porodní váha 3061 g, krevní skupina 0+

Matka: 4. gravidita, 3. porod, matka podstoupila s. C., krevní skupina A+

PAT: pozitivní na 4 +++++

Prenatální screening:

Tabulka 4: Prenatální screening protilátek u 1. probanda

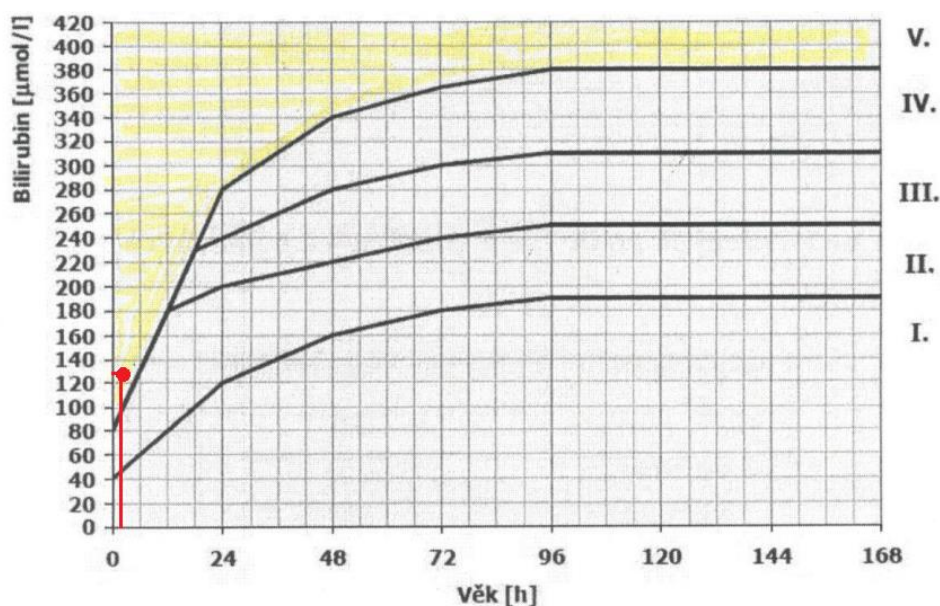
Datum screeningu	Anti – D		Anti – C
	Metoda NAT	Enzym (papain)	Enzym (papain)
18. 8 2020	2048 +		
14. 9. 2020	2048 +		
20. 9. 2020	4096 (slabě poz.)	2048 (slabě poz.)	2 (slabě poz.)
14. 10. 2020	4096 (slabě poz.)		
23. 12. 2020	16384 +	8192 +	2 (slabě poz.)

Zdroj: vlastní dle dat z TO FN Plzeň

Bilirubin novorozence: 15. 2. 2021, 10:30 (hodina po porodu) naměřena hodnota **129  $\mu\text{mol/l}$** .

Hodnota byla v pásmu pro výměnnou transfuzi.

Obrázek 5: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 1. probanda.<sup>[9]</sup>



Krevní obraz novorozence:

*Tabulka 5: Výsledky krevního obrazu u 1. probanda*

<b>Hemoglobin</b>	<b>MCV</b>	<b>Trombocyty</b>	<b>Retikulocyty</b>	<b>Normoblasty</b>
111 g/l ↓	129 fl ↑	278 x10 <sup>12</sup> →	↑	→

*Zdroj: vlastní dle dat z TO FN Plzeň*

Postnatální terapie: Byly podány dvě konzervy EDV bezprostředně po prvním měření bilirubinu.

1. Konzerva EDV s hematokritem 0,455 o objemu 325 ml
2. Konzerva EDV s hematokritem 0,461 o objemu 315 ml

Následně po dobu 72 hodin nutná fototerapie

Bilirubin po terapii:

16. 2. 2021, 3:30 (18 hodin po porodu) naměřena hodnota **175 μmol/l.** ↑  
16. 2. 2021, 9:30 (24 hodin po porodu) naměřena hodnota **155 μmol/l.** ↑  
16. 2. 2021, 21:30 (36 hodin po porodu) naměřena hodnota **219 μmol/l.** ↑  
17. 2. 2021, 8:00 (46,5 hodin po porodu) naměřena hodnota 189 μmol/l. →  
17. 2. 2021, 21:30 (60 hodin po porodu) naměřena hodnota 178 μmol/l. →

### 14.5.2 Kazuistika 2

Novorozenec: donošené děvčátko (38+0 tt), narozena 5. 7. 2021 ve 13:00, porodní váha 3000 g, krevní skupina AB+

Matka: 3. gravidita, 3. porod, matka rodila spontánně, krevní skupina AB-

PAT: pozitivní na 4 +++++

Prenatální screening:

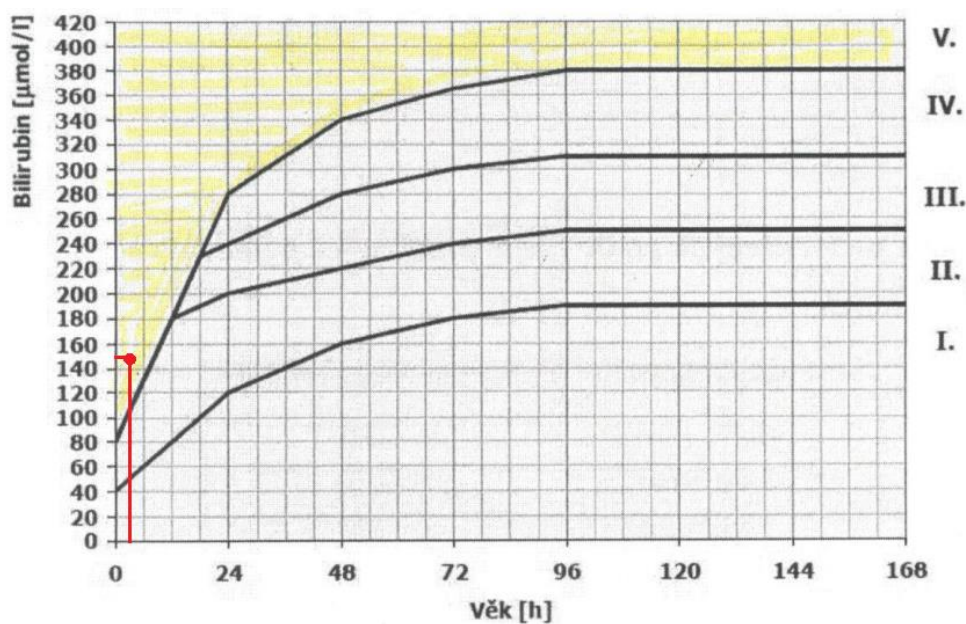
Tabulka 6: Prenatální screening protilátek u 2. probanda

Datum screeningu	Anti – D		Anti – C	
	Metoda NAT	Enzym (papain)	Metoda NAT	Enzym (papain)
20. 12. 2020	4096 +	2048 +	64 +	512 +
7. 1. 2021	2048 +	1024 +	16 +	128 +

Zdroj: vlastní dle dat z TO FN Plzeň

Bilirubin novorozence: 5. 7. 2021, 16:00 (3 hod. po porodu) naměřena hodnota **150  $\mu\text{mol/l}$** .  
Hodnota byla v pásmu pro výměnnou transfuzi.

Obrázek 6: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 2. probanda.<sup>[9]</sup>



Krevní obraz novorozence:

*Tabulka 7: Výsledky krevního obrazu u 2. probanda*

<b>Hemoglobin</b>	<b>MCV</b>	<b>Trombocyty</b>	<b>Retikulocyty</b>	<b>Normoblasty</b>
168 g/l →	112 fl →	541 x10 <sup>9</sup> ↑	↑↑	↑

*Zdroj: vlastní dle dat z TO FN Plzeň*

Postnatální terapie: Byly podány dvě konzervy EDV bezprostředně po prvním měření bilirubinu.

1. Konzerva EDV s hematokritem 0,456 o objemu 310 ml
2. Konzerva EDV s hematokritem 0,443 o objemu 317 ml

Bilirubin po terapii:

- 6. 7. 2021, 8:00 (19 hodin po porodu) naměřena hodnota **144 μmol/l.** ↑
- 6. 7. 2021, 17:00 (28 hodin po porodu) naměřena hodnota **169 μmol/l.** ↑
- 7. 7. 2021, 17:00 (52 hodin po porodu) naměřena hodnota 166 μmol/l. →
- 8. 7. 2021, 13:00 (72 hodin po porodu) naměřena hodnota 124 μmol/l. →
- 8. 7. 2021, 17:00 (76 hodin po porodu) naměřena hodnota 76 μmol/l. →

### 14.5.3 Kazuistika 3

Novorozenec: donošené děvčátko (39+5 tt), narozena 11. 8. 2021 v 9:26, porodní váha 3460 g, krevní skupina B+

Matka: 1. gravidita, 1. porod, matka rodila spontánně, krevní skupina 0+

PAT: pozitivní na 3 +++

Prenatální screening: Negativní

Bilirubin novorozence:

11. 8. 2021, 11:00 (1,5 hodin po porodu) naměřena hodnota **131  $\mu\text{mol/l}$** .  $\uparrow$

11. 8. 2021, 14:00 (4,5 hodin po porodu) naměřena hodnota **199  $\mu\text{mol/l}$** .  $\uparrow$

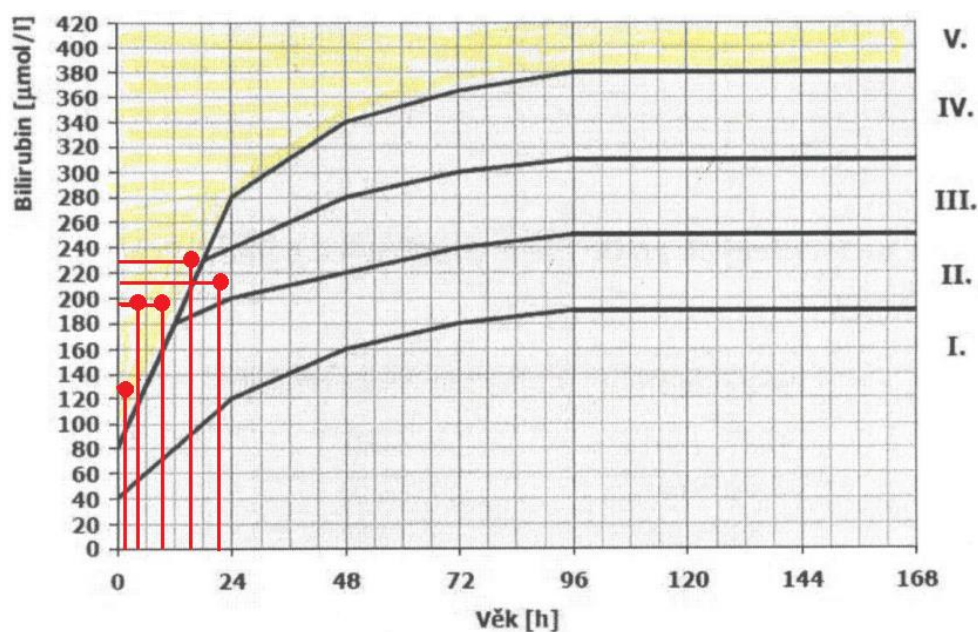
11. 8. 2021, 18:30 (9 hodin po porodu) naměřena hodnota **198  $\mu\text{mol/l}$** .  $\uparrow$

12. 8. 2021, 00:30 (15 hodin po porodu) naměřena hodnota **230  $\mu\text{mol/l}$** .  $\uparrow$

12. 8. 2021, 8:00 (22,5 hodin po porodu) naměřena hodnota **213  $\mu\text{mol/l}$** .  $\uparrow$

Poté byla indikována výměnná transfuze.

Obrázek 7: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 3. probanda. <sup>[9]</sup>



Krevní obraz novorozence:

Tabulka 8: Výsledky krevního obrazu u 3. probanda

Hemoglobin	MCV	Trombocyty	Retikulocyty	Normoblasty
165 g/l $\rightarrow$	123 fl $\rightarrow$	541 $\times 10^9 \uparrow$	$\uparrow\uparrow$	$\uparrow\uparrow\uparrow$

Zdroj: vlastní dle dat z TO FN Plzeň

Postnatální terapie: Byly podány tři konzervy EDV

1. Konzerva EDV s hematokritem 0,552 o objemu 382 ml
2. Konzerva EDV s hematokritem 0,610 o objemu 335 ml
3. Konzerva EDV s hematokritem 0,580 o objemu 317 ml

Byla časně zahájena fototerapie, při neúspěšném fototerapeutickém pokusu byla indikována výměnná transfuze (12.8.2021)

Fototerapie pokračovala až do 4 dnů věku novorozence.

Bilirubin po terapii:

12. 8. 2021, 11:00 (25,5 hodin po porodu) naměřena hodnota **225  $\mu\text{mol/l}$** .  $\uparrow$
13. 8. 2021, 17:00 (55,5 hodin po porodu) naměřena hodnota 206  $\mu\text{mol/l}$ .  $\rightarrow$
14. 8. 2021, 8:00 (70,5 hodin po porodu) naměřena hodnota 165  $\mu\text{mol/l}$ .  $\rightarrow$
14. 8. 2021, 17:00 (79,5 hodin po porodu) naměřena hodnota 189  $\mu\text{mol/l}$ .  $\rightarrow$



#### 14.5.4 Kazuistika 4

Novorozenec: nedonošené děvčátko (34+4 tt), narozena 25. 2. 2022 v 10:10, porodní váha 2650 g, krevní skupina A+

Matka: 3. gravidita, 2. porod, matka podstoupila sekci, krevní skupina A-

PAT: pozitivní na 1 +

Prenatální screening:

Tabulka 9: Prenatální screening protilátek u 4. probanda

Datum scre- eningu	Anti – D		Anti – E	Anti – Jk <sup>a</sup>	
	Metoda NAT	Enzym (papain)	Enzym (papain)	Metoda NAT	Enzym (papain)
27. 9. 2021	1024 +	1024 +	4 +	16 +	2 +

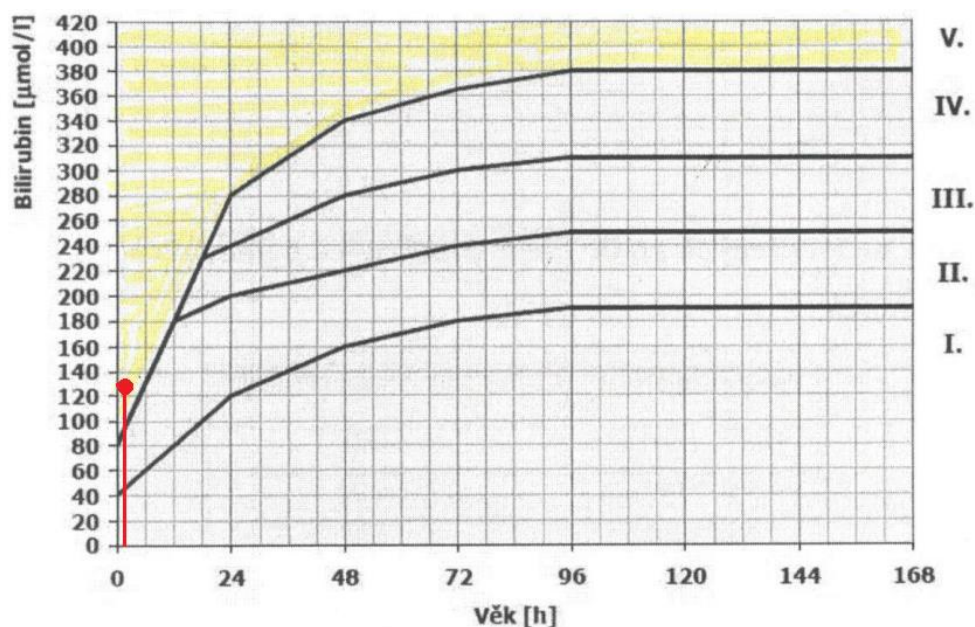
Zdroj: vlastní dle dat z TO FN Plzeň

Prenatální terapie: U plodu byly známky dilatační kardiomyopatie a těžké anémie, proto byla 3x podána intrauterinní transfuze v ÚPMD Praha – Podolí (12. 1. 2022, 28.1. a 16. 2. 2022)

Bilirubin novorozence: 25. 2. 2022, 11:00 (hodina po porodu) naměřena hodnota **125  $\mu\text{mol/l}$** .

Hodnota byla v pásmu pro výměnnou transfuzi.

Obrázek 8: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 4. probanda. <sup>[9]</sup>



Krevní obraz novorozence:

*Tabulka 10: Výsledky krevního obrazu u 4. probanda*

<b>Hemoglobin</b>	<b>MCV</b>	<b>Trombocyty</b>	<b>Retikulocyty</b>	<b>Normoblasty</b>
185 g/l →	82 fl ↓	<b>110 x10<sup>9</sup> ↓</b>	↓↓	→

*Zdroj: vlastní dle dat z TO FN Plzeň*

Postnatální terapie: Byly podány tři konzervy EDV bezprostředně po prvním měření bilirubinu.

1. Konzerva EDV s hematokritem 0,540 o objemu 229 ml
2. Konzerva EDV s hematokritem 0,526 o objemu 228 ml
3. Konzerva EDV s hematokritem 0,472 o objemu 274 ml

Fototerapie ukončena ve věku 3 dnů.

Bilirubin po terapii:

25. 2. 2022, 18:00 (8 hodin po porodu) naměřena hodnota **163 μmol/l.** ↑
26. 2. 2022, 7:00 (21 hodin po porodu) naměřena hodnota **176 μmol/l.** ↑
26. 2. 2022, 16:00 (30 hodin po porodu) naměřena hodnota **193 μmol/l.** ↑
27. 2. 2022, 8:30 (46,5 hodin po porodu) naměřena hodnota 196 μmol/l. →
28. 2. 2022, 8:00 (70 hodin po porodu) naměřena hodnota 132 μmol/l. →

### 14.5.5 Kazuistika 5

Novorozenec: donošené děvčátko (40+1 tt), narozena 2. 9. 2022 v 11:30, porodní váha 2340 g (hypotrofie), krevní skupina 0+

Matka: 9. gravidita, 8. porod, matka rodila spontánně, krevní skupina B+

PAT: pozitivní na 4 +++++

Prenatální screening:

Tabulka 11: Prenatální screening protilátek u 5. probanda

Datum screeningu	Anti – c		Anti – E	
	Metoda NAT	Enzym (papain)	Metoda NAT	Enzym (papain)
21. 4. 2022	512 ++	2048 ++	2048 +	512 +

Zdroj: vlastní dle dat z TO FN Plzeň

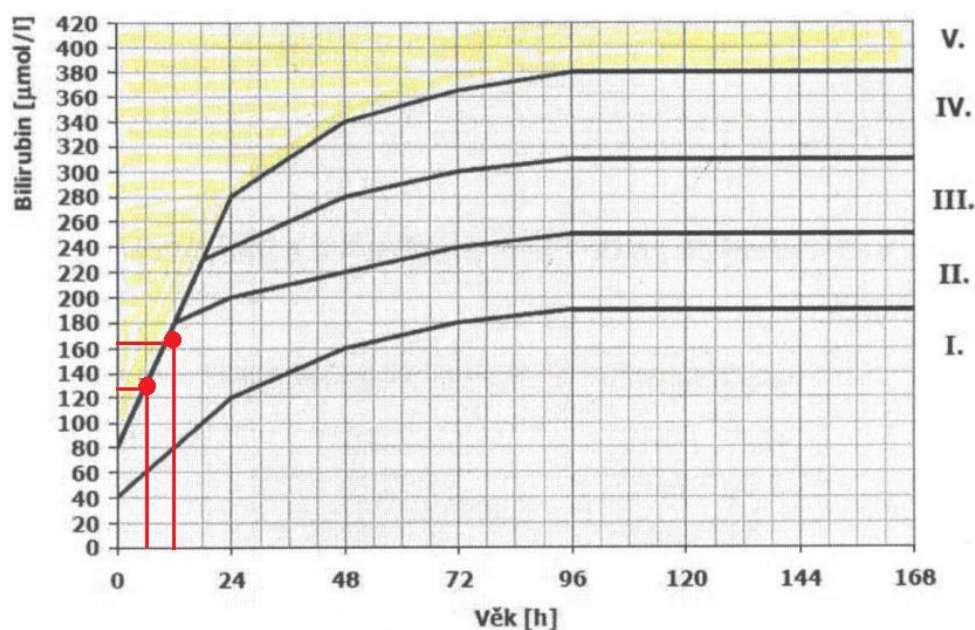
Nedostatečně sledovan gravidita! Další screening protilátek nebyl proveden.

Bilirubin novorozence:

2. 9. 2022, 17:30 (6 hodin po porodu) naměřena hodnota **130  $\mu\text{mol/l}$** .

2. 9. 2022, 23:00 (11,5 hodin po porodu) naměřena hodnota **161  $\mu\text{mol/l}$** . Poté byla indikována výměnná transfuze.

Obrázek 9: Zaznamenaná hodnota bilirubinu v grafu podle Hodra a Poláčka u 5. probanda.<sup>[9]</sup>



Krevní obraz novorozence:

*Tabulka 12: Výsledky krevního obrazu u 5. probanda*

<b>Hemoglobin</b>	<b>MCV</b>	<b>Trombocyty</b>	<b>Retikulocyty</b>	<b>Normoblasty</b>
171 g/l →	85 fl →	<b>46 x10<sup>9</sup> ↓↓↓</b>	→	<b>↑↑</b>

*Zdroj: vlastní dle dat z TO FN Plzeň*

Postnatální terapie: Byly podány dvě konzervy EDV

1. Konzerva EDV s hematokritem 0,568 o objemu 241 ml
2. Konzerva EDV s hematokritem 0,587 o objemu 262 ml

Již po prvním měření bilirubinu byla indikována fototerapie.

Bilirubin po terapii:

3. 9. 2022, 7:30 (20 hodin po porodu) naměřena hodnota **125 μmol/l.** ↑

4. 9. 2022, 11:00 (47,5 hodin po porodu) naměřena hodnota 122 μmol/l. →

## DISKUZE

Myšlenkou celé práce bylo seznámit čtenáře s celou problematikou HON. Cílem praktické části bylo poukázat na metody používané k laboratorní diagnostice HON, vysvětlit přípravu transfuzních přípravků pro léčbu HON a statisticky zpracovat údaje matek a novorozenců s pozitivním PAT. Na TO FN Plzeň bylo v roce 2022 posláno 1794 vzorků na vyšetření krevní skupiny novorozence, u části z nich bylo též provedeno vyšetření PAT, test byl u 49 novorozenců pozitivní. Na začátku mého šetření jsem si stanovila výzkumné otázky, které jsem postupně zodpověděla.

1. V jakých krevních systémech se v roce 2022 nejčastěji objevovala inkompatibilita vedoucí k HON?

Ukázalo se, že nejčastěji vedla k HON AB0 inkompatibilita. Na druhé příčce je inkompatibilita v Rh systému a byl také zaznamenán případ inkompatibility v systému Kidd. Skutečnost doplňuje zjištění, že matky byly nejčastěji krevní skupiny 0– a novorozenci krevní skupiny A+. Tímto se potvrdilo tvrzení z mnoha literárních zdrojů a to sice, že nejčastější kategorií HON je právě AB0 HON, dále také, že AB0 inkompatibilita chrání do určité míry před imunizací antigenem D.

2. Jaké antierytrocytární protilátky při pozitivitě PAT byly u matek nejčastěji stanovovány?

U matek se nacházely protilátky v Rh systému, systému Kidd a systému MNSs. Nejčastěji se však nacházely protilátky anti – A a anti – D, což opět potvrzuje trend literatury. U imunních protilátek v AB0 systému jsem

Ukázalo se ale, že často u matek nejsou výsledky screeningu protilátek k dispozici, tudíž statistika není úplná.

3. Znamená nález antierytrocytárních protilátek u matky jednoznačně HON?

Zjistila jsem, že nález protilátek jednoznačně neznamená predikci HON, a naopak nepřítomnost protilátek neznamená, že HON se u novorozence nerozvine. Průkaz klinicky významných erytrocytárních protilátek nemusí mít tedy žádný klinický význam. Je nezbytné současně vyšetřit i další laboratorní hodnoty jako sérový bilirubin a hemoglobin.

#### 4. Koreluje PAT s indikací fototerapie?

Z práce vyplynulo, že pozitivita metody PAT nekoreluje s indikací fototerapie, tedy ani s HON. Až u 3-6 % vzorků můžeme nalézt pozitivní PAT a nemusí mít žádný klinický význam. Stejně tak pouhá pozitivita testu nepotvrzuje diagnózu onemocnění (HON), ani při průkazu klinicky významných erytrocytárních protilátek. Opět jsem zjistila, že je nezbytné vyšetřit i další laboratorní hodnoty – sérový bilirubin a hemoglobin.

#### 5. Jak často se v letech 2021 a 2022 indikovala výměnná transfuze a jaká byla bližší anamnéza u těchto probandů?

Za rok 2021 a 2022 byla výměnná transfuze na Neonatologickém oddělení FN Plzeň indikována celkem v 5 případech HON. Myslela jsem si, že počet indikací této závažné léčby bude o něco větší, ovšem tímto zjištěním jsem mile překvapena.

U těchto případů jsem mimo jiné zařadila i přehled hematologických výsledků. Při porovnání s hodnotami, které bych očekávala u HON, je patrné, že nebyly tyto hodnoty konzistentní a očekávané. U každého z 5 probandů, u nichž byla indikována výměnná transfuze pro dosažení hodnot, které byly v pásmu pro tento terapeutický výkon, odpovídaly předpokládaným hodnotám KO a nálezu v krevním nátěru vždy pouze 1 či 2 výsledky.

U jednotlivých případů jsem vyznačila do grafu podle Hodra a Poláčka hodnoty bilirubinu, které byly v pásmu pro výměnnou transfuzi. Zjistila jsem, jak nezbytný tento graf v rámci indikace léčby HON je a jakou hodnotu pro neonatology a transfuziologie představuje.

## ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo seznámit čtenáře s problematikou HON. Příčinou HON je inkompatibilita mezi krevní skupinou matky a plodu/novorozence. Matka tvoří protilátky proti antigenu plodu, který její erytrocyty postrádají. Vzniknou IgG protilátky, které přestupují placentou k plodu a způsobují hemolýzu jeho červených krvinek.

V teoretické části jsem se zabývala nejprve imuno hematologií, pojmy antigen a protilátka. V další kapitole byly popsány vybrané krevně skupinové systémy, kterými jsou AB0, Rh, Kell, Lewis, Duffy, Kidd, Lutheran, MNSs a P systém. Systémy AB0 a Rh byly popsány podrobněji. Jako další jsem rozebrala druhy hyperbilirubinemií u novorozenců, mezi které patří i samotný HON. V této části je vysvětlen metabolismus bilirubinu a jeho toxicita.

Další část mé práce se již věnuje HON. Zmíněna je historie, pojednává o protilátkách způsobující HON, o kategoriích, do kterých můžeme HON rozdělit a následně o patofyziologii. Zaměřila jsem se zejména na diagnostiku HON, a to ultrazvukovou, fyzikální, imuno hematologickou, biochemickou a hematologickou. V poslední kapitole teoretické části jsou popsány možnosti terapie HON.

Praktická část obsahuje statistické zpracování dat získaných během mého výzkumu na Transfuzním oddělení FN Plzeň. Hlavním kritériem výběru probandů byla pozitivita vyšetření PAT u novorozenců. Zaměřila jsem se na imuno hematologickou diagnostiku (PAT, imunní protilátky, určení krevní skupiny) a diagnostiku biochemickou, kdy jsem sledovala u všech vybraných probandů dynamiku hladin bilirubinu, dosažení hladin pro fototerapii a výměnnou transfuzi). Dále jsem zpracovala kazuistiky týkající se novorozenců, u kterých HON dospělo až k exsanguinaci. Stanovila jsem si výzkumné otázky, na které jsem postupně pomocí kompilace údajů, komparací dat a statistickým vyhodnocením získala odpovědi.

Hlavní cíl mé bakalářské práce – zjistit, jaké inkompatibility mezi matkou a novorozencem nejčastěji způsobují HON a určit, jaké protilátky proti erytrocytům byly u těchto matek identifikovány - byl splněn.

Dílní cíle – vysvětlit metody, které se používají pro zachycení probíhající aloimunizace, seznámit s přípravou transfuzních přípravků pro léčbu HON, statisticky zpracovat data získaná na TO FN Plzeň, včetně výzkumu korelace imuno hematologických výsledků s dalšími laboratorními výsledky a klinickými symptomy hrozícího či již vzniklého HON a

v kazuistikách popsat případy HON, které byly svým závažným průběh indikovány k výměnné transfuzi- byly též splněny.

Zjistila jsem, jak je u HON důležitá laboratorní diagnostika a jak je nezbytné již v prenatalním období provádět u těhotných screeningová vyšetření.

Bakalářská práce je využitelná pro studenty pre i postgraduálního zdravotnického či lékařského studia a mohla by být apelem na dodržování standardních postupů prenatalní diagnostiky.



## SEZNAM LITERATURY

1. JÍLEK, Petr, 2019. *Imunologie: stručně, jasně, přehledně. 2.*, doplněné vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 9788027105953.
2. JÍLKOVÁ, Helena, 2009. *Transfuzní lékařství*. Vyd. 1. Pardubice: Univerzita Pardubice. ISBN 9788073951511.
3. PENKA, Miroslav a Eva SLAVÍČKOVÁ, 2012. *Hematologie a transfuzní lékařství. II, Transfuzní lékařství*. 1. vyd. Praha: Grada. ISBN 9788024734606.
4. MASOPUST, Jiří a Martin PÍSAČKA, 2016. *Praktická imunohematologie: erytrocyty*. První vydání. Praha: Mladá fronta. ISBN 9788020437402.
5. DORT, Jiří a H. TOBRMANOVÁ. *Hyperbilirubinémie novorozence. Doporučený postup péče*. Dostupné z: <http://www.neonatology.cz/upload/www.neonatology.cz/Legislativa/Postupy/hyperbilirubinemie.pdf>
6. ČERNÁ, Marcela, 2015. *Praktické řešení novorozenecké žloutenky*. Dostupné z: <https://www.pediatriepropraxi.cz/pdfs/ped/2015/06/02.pdf>
7. Racek, Jaroslav, 2019. *Klinická biochemie* [online] [vid. 2023-02-13]. Dostupné z: <https://www.vovcr.cz/odz/zdrav/189/page58.html#heading145>
8. JANOTA, Jan a Zbyněk STRAŇÁK, 2013. *Neonatologie*. 1. vyd. Praha: Mladá fronta. ISBN 9788020429940.
9. DORT, Jiří, Eva DORTOVÁ a Petr JEHLIČKA, 2018. *Neonatologie*. 3. vydání. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum. ISBN 9788024639369.
10. MOCKOVÁ, Alice, 2008. *Hyperbilirubinémie z pohledu neonatologa*. Dostupné z: [https://www.detskylekar.cz/cps/rde/xbc/r/dlekar/vox\\_listopad\\_2008\\_nahled.pdf](https://www.detskylekar.cz/cps/rde/xbc/r/dlekar/vox_listopad_2008_nahled.pdf)
11. MASOPUST, Jiří, 2013. *Transfuzní lékařství*. 1. vyd. Praha: Grada. ISBN 9788024745343.
12. DZIEGIEL, Morten Hanefeld, Grethe Risum KROG, Anne Todsén HANSEN, Marianne OLSEN, Birgitte LAUSEN, Lone Nikoline NØRGAARD, Thomas BERGHOLT, Klaus RIENECK a Frederik Banch CLAUSEN, 2021. *Laboratory Monitoring of Mother, Fetus, and Newborn in Hemolytic Disease of Fetus and Newborn. Transfusion Medicine and Hemotherapy* [online]. **48**(5), 306–315 [vid. 2023-02-13]. ISSN 1660-3796, 1660-3818. Dostupné z: doi:10.1159/000518782
13. MARKHAM, Kara Beth, Karen Q. ROSSI, Haikady N. NAGARAJA a Richard W. O'SHAUGHNESSY, 2015. Hemolytic disease of the fetus and newborn due to multiple maternal antibodies. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. **213**(1), 68.e1-68.e5 [vid. 2023-03-13]. ISSN 00029378. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajog.2015.01.049
14. Anon., 2021. *Hemolytic Disease of the Newborn: Background, Pathophysiology, Etiology* [online]. [vid. 2023-02-13]. Dostupné z: <https://emedicine.medscape.com/article/974349-overview>
15. ČECH, Evžen, 1999. *Porodnictví*. Vyd. 1. Praha: Grada. ISBN 9788071693550.
16. DUŠKOVÁ, D., H., KUBÁNKOVÁ, J., MASOPUST, A., PEJCHALOVÁ a M. PÍSAČKA 2010. Doporučení STL č.6 *Imunohematologická vyšetření v těhotenství a po porodu* [online] [vid. 2023-02-13]. Dostupné z: <https://www.transfuznispolcnost.cz/doporuceni-stl/doporuceni-stl-c-6-imunohematologicka-vysetreni-v-tehotenstvi-a-po-porodu-12231>

17. Mediprofi databáze odborných textů pro zdravotnictví, 2011. PED/9 - Anémie v novorozeneckém věku, Standard léčebného plánu [online] [vid. 2023-02-13]. Dostupné z: <https://www.mediprofi.cz/33/ped-9-anemie-v-novorozeneckem-veku>
18. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare - EDQM, [b.r.]. 20th edition of the EDQM Blood Guide now available. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare [online] [vid. 2023-01-09]. Dostupné z: <https://www.edqm.eu/en/-/20th-edition-of-the-edqm-blood-guide-now-available>
19. FN Plzeň, 2020. *Standartní postup, příprava erytrocytů deleukotizovaných – v plazmě pro výměnnou transfuzi EDV u novorozenců dle SLN/TO/SPTP/087*
20. FN Plzeň, 2022. *Standartní postup, vyšetření imunních protilátek po neutralizaci merkaptoethanolem – metoda zkumavková dle SOPV/TO/014/06*
21. FN Plzeň, 2021. *Standartní postup, výměnná transfuze – exsanguinace dle SZN/TO/S/072/02*
22. FN Plzeň, 2021. *Erytrocyty deleukotizované – v plazmě pro výměnnou transfuzi EDV u novorozenců dle SLN/TO/SPTP/087/00/02*

## **SEZNAM PŘÍLOH**

Příloha 1 – Ukázka výsledků z prenatální laboratoře

Příloha 2 – Povolení sběru informací ve FN

# PŘÍLOHY

## Příloha 1 – Ukázka výsledků z prenatální laboratoře



**FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ**  
Edvarda Beneše 1128/13, 301 00 Plzeň, IČ: 00669806  
Transfuzní oddělení  
prim. MUDr. Petra Šlechtová, MBA

### Laboratoř prenatální

Tel.: 37740 2831, fax: 377 378 300

Pacient: ██████████ RČ: ██████████ DG: **Z349** Poj: **201**  
Material: Plná krev nesražená Datum odběru: **01.06.2022-11:00** Číslo vzorku: **B201129**  
Žadatel: **GPK - Perinat RIZIKOVÁ** RČ externí:  
Alej Svobody 923/80, 323 00 Plzeň, IČP: **18159999** Odb: **603**

### Archivní nález

Metody	Výsledky	Jednotky	Hodnocení	Ref.meze
Antierytrocyt.prot.-screening-DiaMed	pozitivní			
Autoprotilátky DiaMed - NAT test	negativní			
Autoprotilátky DiaMed Papainový test	negativní			
Přímý antiglobulinový test DiaMed	negativní			
Antierytrocytární protilátky - titrace	anti-c			
- NAT test	64+			
- Papainový test	256+			

**Speciální imunohematologie - závěr:** V anamnése dle žádanky transfuze 0, porod 2x, potrat 2x, 35. týden gravidity, termín porodu 3.7.2022.  
V NAT i enzymatickém papainovém testu alopřilátka anti-c (titr NAT 64+, titr papain 256+) - oproti předchozímu vyšetření ze dne 21.4.2022 nárůst titru protilátky. Jedná se o klinicky významnou protilátku z hlediska hemolytického onemocnění novorozenců, titr protilátky zatím nedosahuje klinické významnosti.  
Doporučujeme : nadále sledovat v poradně pro riziková těhotenství FN Plzeň, kontrola protilátek proti erytrocytům za 2 týdny k posouzení vývoje.

Lékařská kontrola: MUDr. Fronková Eva

Datum a čas uvolnění: 02.06.2022-11:43

## Příloha 2 – Povolení sběru informací ve FN



**FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ**

Útvar náměstka pro vnější vztahy a spolupráci s LF

Edvarda Beneše 13, 305 99 Plzeň - Bory  
alej Svobody 80, 304 60 Plzeň - Lochotín  
ICO 00669806 tel.: 377 401 111, 377 103 111

Vážená paní  
Adéla Stmádková  
Studentka oboru *Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví*  
Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví  
Západočeská univerzita v Plzni

### Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF Fakultní nemocnice Plzeň **uděluji souhlas** se získáváním / zpracováním informací o laboratorních metodách / analýzách / výsledcích, používaných na pracovišti *Transfúzního oddělení (TO) FN Plzeň*. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „*Hemolytické onemocnění plodu a novorozence*“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Primářka TO souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.,** o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být zcela anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe na TO a pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je **paní Šlechtová Petra, MUDr., MBA, primářka TO FN Plzeň.**

Po zpracování Vámi zjištěných údajů **poskytnete** zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

**Mgr. Bc. Světluše Chabrová**  
Manažerka pro vzdělávání nelékařů  
Útvar náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF

Fakultní nemocnice Plzeň  
Edvarda Beneše 1128/13, 305 99 Plzeň  
Tel: 377 401 663  
E-mail: [chabrovas@fnplzen.cz](mailto:chabrovas@fnplzen.cz)

23. 11. 2022