



Perinatalna zaščita z imunoglobulinom anti-D in vpliv senzibilizacije na antigen RhD med nosečnicami v Sloveniji

Perinatal prophylaxis with immunoglobulin anti-D and the impact on RhD sensitizations among pregnant women in Slovenia

Janja Mrak,¹ Natalija Lehner,² Irena Bricl¹

Izvleček

Izhodišča: Senzibilizacije na eritrocitne antigene so lahko pomemben vzrok perinatalne obolevnosti plodov in novorojenčkov. Od vseh eritrocitnih antigenov lahko med nosečnostjo preprečujemo nastanek aloprotiteles le proti antigenu RhD (D), in sicer s perinatalnim preventivnim vbrizganjem imunoglobulina anti-D (Ig anti-D). Kljub temu odkrivamo med nosečnicami nove senzibilizacije na antigen D. Namen članka je določiti incidenco senzibilizacij na antigen D med nosečnicami v Sloveniji v obdobju od 1. 1. 2010 do 31. 12. 2020 ter prepoznati najverjetnejše vzroke za njihov nastanek.

Metode: Retrospektivno smo pregledali medicinsko dokumentacijo z anamnestičnimi podatki in izvide laboratorijskih preiskav v transfuzijskem informacijskem sistemu za nosečnice, pri katerih smo v izbranem obdobju prvič odkrili protitelesa anti-D. Iz dokumentacije smo razbrali najverjetnejše vzroke za nastanek anti-D. Raziskava je potekala na Zavodu RS za transfuzijsko medicino v Ljubljani (ZTM) ter na Centru za transfuzijsko medicino v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor (CTM).

Rezultati: V obravnavanem obdobju smo odkrili 69 novih senzibilizacij na antigen D, kar pomeni, da se je senzibiliziralo 0,16 % D-negativnih (D-neg) nosečnic oz. 0,26 % D-neg nosečnic s tveganjem. Med nosečnostjo je nastalo 45 % senzibilizacij, 29 % po rojstvu D-pozitivnega (D-poz) otroka, 9 % po predhodni prekinitvi nosečnosti. Od 45 % senzibilizacij med nosečnostjo bi lahko preprečili 8 primerov (26 %), 1 primera (3 %) nismo mogli preprečiti, ostali primeri (71 %) pa so najverjetneje posledica tihih fetomaternalnih krvavitev (FMK). Od 38 % senzibilizacij, ki so nastale po predhodnem porodu ali prekinitvi nosečnosti, bi lahko preprečili 4 primere (15 %): 2 primera po prekinitvi nosečnosti, 1 primer po rojstvu D-poz otroka v tujini, 1 primer zavrnitve zaščite. Skupno bi lahko preprečili 12 senzibilizacij (17,5 %), ki so najverjetneje posledica

¹ Zavod RS za transfuzijsko medicino Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

² Center za transfuzijsko medicino, Univerzitetni klinični center Maribor, Maribor, Slovenija

Korespondenca / Correspondence: Janja Mrak, e: janja.jerina@gmail.com

Ključne besede: RhD; imunizirajoči dogodki; preventivno vbrizganje; imunoglobulin anti-D

Key words: RhD; immunising events; preventive inoculation; immunoglobuline anti-D

Prispelo / Received: 30. 5. 2021 | **Sprejeto / Accepted:** 28. 12. 2021

Citirajte kot/Cite as: Mrak J, Lehner N, Bricl I. Perinatalna zaščita z imunoglobulinom anti-D in vpliv senzibilizacije na antigen RhD med nosečnicami v Sloveniji. Zdrav Vestn. 2022;91(11–12):453–61. DOI: <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.3276>



Avtorske pravice (c) 2022 Zdravniški Vestnik. To delo je licencirano pod Creative Commons Priznanje avtorstva-Nekomercialno 4.0 mednarodno licenco.

nepopolnega upoštevanja smernic za preventivno vbrizganje Ig anti-D (med njimi sta 2 nosečnici (3 %) zaščito zavrnila), enega primera (1,5 %) nismo mogli preprečiti (nosečnica kljub krvavitvi ni prišla h ginekologu).

Zaključek: Več kot 80 % senzibilizacij je nastalo kljub upoštevanju smernic za njihovo preprečevanje, 12 primerov (17,5 %) bi lahko preprečili (7 primerov nepopolne perinatalne zaščite z Ig anti-D, 1 primer neizvedene zaščite po rojstvu D-poz otroka in 2 po prekinitvi nosečnosti, 2 primera zavrnjene zaščite), enega primera (1,5 %) pa kljub upoštevanju smernic nismo mogli preprečiti, ker nosečnica kljub krvavitvi ni obiskala ginekologa. Novi ukrep za preprečevanje senzibilizacij bi lahko bila rutinska zaščita z Ig anti-D še v drugem trimesečju nosečnosti in dodatni izobraževalni programi pred načrtovanjem nosečnosti. Posebno pozornost bi bilo potrebno nameniti prepoznavanju in ukrepanju ob možnih dogodkih, ko lahko pride do senzibiliziranja v nosečnosti, krvni skupini D ter ob posledicah zavrnitve zaščite z Ig anti-D. Ciljana zaščita že predstavlja enega od ukrepov na tem področju.

Abstract

Background: Sensitizations to red blood cell antigens may be a relevant cause of foetal and neonatal- perinatal morbidity. Of all red blood cell antigens, only alloantibodies to antigen RhD (D) can be prevented during pregnancy using perinatal preventive inoculation with anti-D immunoglobulin (Ig anti-D). Nevertheless, new sensitizations to antigen D among pregnant women are detected. The purpose of this article is to determine the incidence of sensitizations to antigen D among pregnant women in Slovenia in the period from 1 January 2010 to 31 December 2020 and to identify the most likely causes for sensitizations.

Methods: We retrospectively reviewed the medical records and the laboratory data in the transfusion information system for pregnant women, in whom we detected antibodies anti-D for the first time, from 1 January 2010 to 31 December 2020. We identified the most likely causes of sensitisation to anti-D from the data. The research was conducted at the Blood Transfusion Centre of Slovenia in Ljubljana (ZTM) and the Centre for Transfusion Medicine at the University Medical Centre Maribor (CTM).

Results: We detected 69 new sensitizations to D antigen in the reviewed period, which means that 0.16% of D-negative (D-neg) pregnant women or 0.26% D-neg pregnant women at risk were sensitized. 45% of sensitizations occurred during pregnancy, 29% after childbirth of a D-positive (D-poz) child, 9% after previous abortion. Of the 45% sensitizations during pregnancy, 8 cases (26%) could be prevented, 1 case (3%) could not be prevented, other cases (71%) have most likely occurred as a result of silent foetomaternal haemorrhage (FMK). Of the 38% of sensitizations that occurred after a previous birth or abortion, 4 cases (15%) could be prevented; 2 cases after abortion, 1 case after childbirth abroad, 1 case of refused protection. We could prevent 12 cases (17.5%) of all sensitizations that most likely occurred due to incomplete compliance with the guidelines for preventive inoculation with Ig anti-D (in 2 cases (3%) pregnant women refused protection), 1 case (1.5%) could not be prevented (the pregnant woman did not come to the gynaecologist despite the bleeding).

Conclusion: More than 80% of sensitizations occurred despite following guidelines for their prevention; 12 cases (17.5%) could be prevented (7 cases of incomplete perinatal inoculation with Ig anti-D, 1 case of missed postpartum protection and 2 after abortion, 2 cases of refused protection), one case (1.5%) could not be prevented (one pregnant woman did not visit a gynaecologist despite the bleeding). A new measure to prevent sensitization could be routine protection with Ig anti-D in the second trimester of pregnancy and additional educational programs before planning a pregnancy. These programmes should pay particular attention to identifying and responding to potential sensitizing events in pregnancy, blood type D, and the consequences of refusing inoculation with Ig anti-D. Targeted protection represents one of the measures in this area.

1 Uvod

Aloimunizacija pomeni nastanek imunskega odziva s tvorbo protiteles proti tujim antigenom. V primeru hemolitične bolezni ploda in novorojenca (HBPN) gre za nastanek materinih aloprotiteles, usmerjenih proti antigenom na površini plodovih eritrocitov, ki jih je plod podedoval od očeta. HBPN lahko povzročijo protitelesa proti več kot 50 različnim eritrocitnim antigenom, med

katerimi so najpomembnejša protitelesa anti-D. Antigen RhD (D) je močno imunogen, negativnih zanj pa je približno 15–19 % bele populacije, 7 % črne populacije ter 1 % azijske populacije (1,2). V primeru, da pride do prenosa D-pozitivnih (D-poz) plodovih eritrocitov v krvni obtok D-negativne (D-neg) matere, lahko prične mati tvoriti protitelesa anti-D. Antigen D so zaznali na

plodovih eritrocitih že 38 dni po spočetju (3,4). Protitelesa razreda IgG anti-D se preko posteljice aktivno prenašajo v plodov krvni obtok, kjer uničujejo plodove eritrocite, kar razvije pri njem hudo anemijo, ki vodi v najhujših primerih do nastanka edemov in smrti ploda; govorimo o t.i. hidropsu ploda. V primeru, da sta mati in plod ABO-skladna, je tveganje za imunizacijo 16 %, če sta ABO-neskladna 2 %, celokupno tveganje je torej 13,2 % (5). Senzibilizacijo lahko sprožijo tudi drugi vzroki, in sicer prejem transfuzije, presaditev organa ali pa gre, redko, za naravno prisotna protitelesa.

V Laboratoriju za prenatalno diagnostiko na Zavodu RS za transfuzijsko medicino (ZTM) vodimo register senzibiliziranih nosečnic. Kljub nacionalnemu presejalnemu programu za preprečevanje senzibilizacij med D-neg nosečnicami opažamo pojavljanje novih senzibilizacij na antigen D. Zato je namen naše raziskave določiti incidenco senzibilizacij na antigen D ter prepoznati najverjetnejše vzroke za nastanek anti-D med nosečnicami v Sloveniji v enajstletnem obdobju, tj. od 1. 1. 2010 do 31. 12. 2020. Raziskava je potekala na ZTM ter na Centru za transfuzijsko medicino v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor (CTM).

2 Zgodovina preprečevanja senzibilizacij na antigen D

Med nosečnostjo lahko preprečujemo le senzibilizacije na antigen D s perinatalnim preventivnim vbrizganjem imunoglobina (Ig) anti-D. Mehanizem delovanja Ig anti-D še danes ni popolnoma poznan. Deluje lahko preko hitrega očistka D-poz plodovih celic, moti predstavitev antigena D dendritičnim celicam in makrofagom ter zavira aktivnost reaktivnih limfocitov B (5,6). Začetki preprečevanja senzibilizacij D-neg nosečnic z Ig anti-D segajo v 60. leta prejšnjega stoletja. Takrat so bili opravljeni prvi poizkusi, pri katerih so D-neg moškimi prostovoljcem vbrizgali D-poz eritrocite, dobljena protitelesa pa so uporabili za preprečevanje senzibilizacij. Pripravek Ig anti-D je v Evropi in Severni Ameriki na voljo od leta 1968 (5). V letu 1969–1970 je bila uvedena rutinska zaščita D-neg nosečnic po rojstvu D-poz otroka. Nastale so tudi smernice za vbrizganje Ig anti-D ob prekinitvi nosečnosti, invazivnih diagnostičnih postopkih in drugih možnih senzibilizirajočih dogodkih (v nadaljevanju: dogodek) med nosečnostjo (6). Tako se je tveganje za imunizacijo D-neg nosečnic, ki nosijo D-poz plod, zmanjšalo s 16 % na 1,6 % (7). Sredi 90. let prejšnjega stoletja je sledila uvedba vbrizganja Ig anti-D pred porodom, s čimer preprečujemo senzibilizacije zaradi nezaznanih fetomaternalnih krvavitev

(FMK) v zadnjem trimesečju nosečnosti. S tem ukrepom se je število senzibilizacij še dodatno zmanjšalo, in sicer na 0,1–0,3 % (6). Leta 1970 smo v Sloveniji začeli najprej s preventivnim vbrizganjem Ig anti-D po porodu, predporodno vbrizganje pa je pri nas obvezno od l. 1994. Nepotrebno vbrizganje Ig anti-D nosečnicam, ki nosijo D-neg otroka, in odkritje proste zunajcelične plodove DNA (*angl.* cell-free fetal DNA, cff DNA) v materini krvi leta 1997, pa je vodilo v razvijanje ciljane zaščite. Pri ciljani zaščiti nosečnicam iz vzorca periferne krvi določimo plodov genotip *RHD* (*D*), pred porodom pa svetujemo vbrizganje Ig anti-D le v primeru, da nosečnica nosi D-poz plod. Ciljano zaščito so l. 2010 uvedli na Danskem, l. 2011 na Nizozemskem, l. 2014 na Finskem, sledile so tudi Francija, Anglija, Švedska in Belgija (7-9), od januarja 2018 pa jo na osnovi Pravilnika (Uradni list RS, št. 32/18) izvajamo tudi v Sloveniji (10,11). Glede na raziskave imajo testi za določitev plodovega *D* iz periferne krvi nosečnice občutljivost 99,8 % in specifičnost 94,2 % (8).

Pri izvajanju programa zaščite D-neg nosečnic je pomembno tudi določiti količino FMK. Poznamo akutno ali kronično FMK, ki lahko nastane spontano ali pa je posledica različnih dogodkov v nosečnosti. Pogostost pojavljanja FMK se viša z gestacijsko starostjo: v prvem trimesečju se pojavlja v 3–5 %, v drugem v 13–15 %, v tretjem do 30 % in ob porodu do 50 %. Pri 1 % nosečnic je krvavitev večja kot 1 ml in pri 0,3 % večja kot 15 ml (1,12–13). Imunizacijo lahko povzroči že 0,01–0,03 ml FMK (14). Med dogodke v nosečnosti, ko lahko pride do FMK in s tem senzibilizacije mater, štejemo: spontano ali umetno prekinitev nosečnosti, zunajmaternično nosečnost, grozdasto molo, znotrajmaternično smrt, mrtvorojenost, krvavitve med nosečnostjo, invazivne postopke med nosečnostjo (npr. amniocenteza, biopsija horionskih resic), znotrajmaternične terapevtske posege (znotrajmaternična transfuzija, laserski kirurški posegi), poškodbe trebuha, posege v zadnji tretjini nosečnosti (zunanji obrat), dolg porod ali dokončanje poroda z operacijo (15). Namen določitve FMK je, da v primerih, kadar količina FMK preseže volumen plodovih eritrocitov, ki ga pokrijemo s standardnim odmerkom Ig anti-D, priporočimo vbrizgati dodatne odmerke. Uporabljamo Kleihauer-Betkejev test, v primeru večje FMK pa pretočni citometer (PC). Kleihauer-Betkejev test temelji na dejstvu, da je fetalni hemoglobin odporen na delovanje kisline, med tem ko se hemoglobin odraslih ob delovanju kisline eluira iz eritrocitov. Pri preiskavi naredimo razmaz periferne krvi nosečnice, z elucijsko raztopino eluiramo hemoglobin odraslega, preparat obarvamo in posušimo ter opazujemo pod

svetlobnim mikroskopom. Plodovi eritrociti so obarvani rdeče, eritrociti odraslih pa so vidni kot belo-sive (»ghost«) celice (15). Pri pretočni citometriji uporabljamo za določanje FMK pri D-neg otročnici z D-poz otrokom s fluorokromi označena specifična protitelesa anti-D, v ostalih primerih pa lahko uporabimo monoklonska protitelesa anti-HbF (fetalni hemoglobin)/poliklonska CA (karbonska anhidraza). HbF-negativne in CA-pozitivne celice nakazujejo eritrocite odraslih, plodovi eritrociti pa so HbF-pozitivni in CA-negativni (15-16).

3 Smernice za preprečevanje imunizacij na antigen D

Evropska agencija za zdravila (*angl.* European Medicines Agency, EMA) je v Povzetku glavnih značilnosti zdravil za intramuskularno (i.m.) uporabo Ig anti-D poudarila, da se smernice in priporočila glede indikacij za vbrizganje ter vbrizgane količine Ig anti-D razlikujejo med posameznimi državami (17). Smernice Britanskega komiteja za standarde v hematologiji (*angl.* British Committee for Standards in Haematology, BCSH), smernice Kraljevega kolegija porodničarjev in ginekologov (*angl.* Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, RCOG) (18), smernice Ameriškega kongresa porodničarjev in ginekologov (*angl.* American Congress of Obstetricians and Gynaecologists, ACOG), smernice Združenja porodničarjev in ginekologov v Kanadi (*angl.* The Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada, SOGC) (19) ter smernice Kolegija porodničarjev in ginekologov Avstralije in Nove Zelandije (*angl.* The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists, RANZCOG) (3,20-22) priporočajo, da nosečnice prejmejo zaščito z Ig anti-D čim prej oz. v roku 72 ur po dogodku, nekaj zaščite nudi tudi prejem odmerka v 10 dneh (smernice RCOG) oz. v 28 dneh po dogodku (smernice ACOG in SOGC). Za dogodke do 12. tedna nosečnosti priporočajo smernice ACOG in RANZCOG vbrizganje 250 I.E., smernice SCOD priporočajo 250 I.E., v primerih prekinitve nosečnosti, grozečega splava ali zunajmaternične nosečnosti pa 600 I.E. Ig anti-D. Za dogodke po 12. tednu priporočata ACOG in SOGC vbrizganje 1.500 I.E., RANZCOG 625 I.E. Ig anti-D. RCOG priporoča za dogodke do 20. tedna nosečnosti vbrizganje 250 I.E., za dogodke po 20. tednu nosečnosti pa 500 I.E. Ig anti-D ter določitev obsega FMK. Poleg tega priporočajo do 12. tedna zaščito le v primerih zunajmaternične nosečnosti, molarne nosečnosti, terapevtskega končanja nosečnosti ter v primerih ponavljajoče se krvavitve, ki

jo spremlja bolečina v trebuhu in se ne konča do 12. tedna nosečnosti. RCOG in BSCH smernice obravnavajo tudi ravnanje ob kroničnih krvavitvah v nosečnosti; do 20. tedna nosečnosti svetujejo odmerek 250 I.E. na 6 tednov, po 20. tednu nosečnosti 500 I.E. na 6 tednov ter določitev obsega FMK na 2 tedna. Če je FMK večja od 4 ml, je potrebno dodatno vbrizgati 125 I.E. Ig anti-D na 1 ml plodovih eritrocitov i.m. ali 100 I.E. Ig anti-D na 1 ml plodovih eritrocitov intravensko (i.v.), ter ponovno določiti obseg FMK 72 ur po i.m. ali 48 ur po i.v. vbrizganju Ig anti-D. Za rutinsko predporodno zaščito priporočajo smernice SOGC in RCOG enkratni odmerek 1.500 I.E. ali dva odmerka po 600 I.E. Ig anti-D, ACOG priporoča enkratni odmerek 1.500 I.E., RANZCOG pa dva odmerka po 625 I.E. v 28. in 34. tednu nosečnosti. Po porodu se količina vbrizganega Ig anti-D prav tako razlikuje, RCOG priporoča vbrizganje 500 I.E. ter dodatne odmerke, če je FMK večja od 4 ml, ACOG 1.500 I.E., SOGC 1.500 I.E. ali 600 I.E. in dodatne odmerke, če je FMK večja od 6 ml, RANZCOG priporoča 625 I.E. oz. odločitev glede na FMK (3,20-24). Tudi v evropskih državah vbrizgajo po porodu različne odmerke, in sicer od 500 I.E. do 1.500 I.E.; na Nizozemskem 1.000 I.E. Ig anti-D (6), v Italiji 1.250–1.300 I.E. Ig anti-D (13).

V Sloveniji sta na voljo dve zdravili s standardnim odmerkom Ig anti-D, in sicer Rhophylac 1.500 I.E./2ml (dajanje v žilo ali mišico, pokrije 30 ml plodove krvi) ter Rhesonativ 625 I.E./ml ali 1.250 I.E./2ml (vbrizganje v mišico, pokrije 12,5 ml oz. 25 ml plodove krvi). Glede na opisane smernice (14,20-24), zadostuje za dogodke do 12. oz. 20. tedna nosečnosti odmerek 625 I.E./ml. Po 20. tednu lahko vbrizgamo enak odmerek, določen obseg FMK pa nam pove, ali so potrebni dodatni odmerki Ig anti-D, ali pa uporabimo večji odmerek, 1.500 I.E. (13). Po porodu svetujemo pri nas vbrizganje vsaj 1.250 I.E., kar dosežemo z obema zdraviloma (Rhesonativ 1.250 I.E./2 ml, Rhophylac 1.500 I.E./2ml).

4 Zbiranje podatkov, metoda dela, definicije

Retrospektivno smo analizirali izvide laboratorijskih preiskav v transfuzijskem informacijskem sistemu in anamnestične podatke, zbrane v medicinski dokumentaciji, ki jih, v skladu s pravilnikom (Uradni list RS, št. 32/18 z dne 11. 5. 2018) za vsako senzibilizirano nosečnico vodimo v Laboratoriju za prenatalno diagnostiko. V raziskavo smo vključili vse nosečnice, pri katerih smo, v obdobju od 1. 1. 2010 do 31. 12. 2020, na ZTM in CTM na novo odkrili aloprotitelesa anti-D. Upoštevali smo izvide naslednjih laboratorijskih preiskav: Indirektni

Coombsov test (ICT), specifikacija protiteles, določitev FMK, določitev antigena D pri partnerju in novorojenčku ali določitev D pri plodu. Med anamnestičnimi podatki smo iskali podatke o dogodkih v nosečnosti ter podatke o preventivnem vbizganju Ig anti-D ob posebnih dogodkih v okviru rutinske pred- in poporodne zaščite. Odkrita protitelesa smo razdelili glede na čas njihovega odkritja v nosečnosti ter glede na verjetni senzibilizirajoči dogodek. Podatke o številu rojstev smo pridobili na Statističnem uradu Republike Slovenije (SURS). Podatke smo analizirali s programom Excel.

Raziskavo je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko (številka 0120-432/2021/3, dne 19. 10. 2021).

5 Rezultati

V analiziranem obdobju je bilo v Sloveniji od 19.300 do 22.300 rojstev na leto, skupaj torej 229.508 rojstev (38). Na novo smo odkrili protitelesa anti-D pri 69 nosečnicah. Glede na podatek, da je v naši populaciji 19 % oseb D-neg, je torej anti-D razvilo 0,16 % D-neg nosečnic. Glede na podatek, da 60 % D-neg nosečnic nosi D-poz plod, pa je anti-D razvilo 0,26 % D-neg nosečnic s tveganjem. Najverjetneje je bilo 68 od 69 primerov (98,6 %) povezanih z nosečnostjo, 1 primer (1,4 %) s prejemom D-nekompatibilne transfuzije v preteklosti. Za 11 nosečnic nismo imeli na voljo anamnestičnih podatkov (pomankljivi podatki ali obravnava v drugem centru). Prvič so bile noseče 4 nosečnice, pri ostalih smo odkrili anti-D v eni od naslednjih nosečnosti. Čas odkritja protiteles in najverjetnejši senzibilizirajoči dogodki so prikazani v [Tabeli 1](#).

Anti-D po rojstvu D-poz otroka je razvilo 20 nosečnic (29 % senzibilizacij). Pri 19 od njih je bil po porodu narejen test za FMK. Svetovali so zaščito v skladu s priporočili, pri obsežnejših krvavitvah pa še dodatni odmerki z Ig anti-D, določen s pomočjo PC. Dve nosečnici sta prej rodili v tujini, ena od njiju po rojstvu D-poz otroka ni prejela zaščite z Ig anti-D. Ena od nosečnic je po porodu zavrnila zaščito z Ig anti-D. V to skupino lahko štejemo tudi 6 nosečnic (9 %), ki so imele v preteklosti prekinitvev nosečnosti, nato pa smo med nosečnostjo odkrili anti-D, od njih 2 v preteklosti po prekinitvi nosečnosti nista prejeli ustrezne zaščite z Ig anti-D. Skupaj je bila torej prejšnja nosečnost vzrok za senzibilizacijo v 38 %.

Najverjetneje je 31 primerov senzibilizacij (45 %) nastalo zaradi FMK med nosečnostjo. Med njimi smo odkrili anti-D pri 4 nosečnicah, ki so bile noseče prvič, nosečnost pa je do prvega pregleda potekala brez posebnosti, torej gre za nastanek brez prepoznanega vzroka. Pri 1 nosečnosti smo odkrili anti-D na prvem pregledu v drugi nosečnosti; v prvi nosečnosti je rodila D-neg otroka, torej je imunizacija najverjetneje nastala v zgodnjem obdobju druge nosečnosti. Pri eni nosečnici smo odkrili anti-D v drugi nosečnosti, ob prvem porodu je bila opredeljena obsežna kronična FMK, prejela je ustrezno količino Ig anti-D (velikost FMK določena s PC), vendar je dodatne odmerke prejela kasneje kot 72 ur po porodu. Pri 19 nosečnicah smo odkrili anti-D med nosečnostjo in pri 6 po porodu. Od njih 8 nosečnic ni prejelo zaščite z Ig anti-D med nosečnostjo; 1 je krvavela v zgodnji nosečnosti in ni obiskala ginekologa, 1 ni prejela zaščite po krvavitvi, 1 ni dobila zaščite po amniocentezi, 2 sta zaščito prejeli delno (prejeli sta jo

Tabela 1: Čas odkritja anti-D in verjetni senzibilizirajoči dogodek.

Verjetni senzibilizirajoči dogodek: število (smernice upoštevane (število) + smernice delno upoštevane (število))					
Čas odkritja anti-D	rojstvo D-poz otroka	fetomaternalna krvavitev v nosečnosti	dugo (prekinitvev nosečnosti, prejem D-poz transfuzije)	neznano	skupaj: število (%)
Prvi pregled v prvi nosečnosti (do 12. tedna nosečnosti)	0	4	1	11	16 (23 %)
Prvi pregled v drugi ali naslednjih nosečnostih	20 (18+2)	2 (1+1)	6 (4+2)	0	28 (41 %)
Rutinski pregled v 28. tednu nosečnosti	0	19 (14+5)	0	0	19 (27 %)
Vzorec po porodu	0	6 (2+3)	0	0	6 (9 %)
Skupaj	20 (29 %)	31 (45 %)	7 (10 %)	11 (16 %)	

po amniocentezi, ne pa v 28. tednu nosečnosti), pri 2 nosečnicah je prišlo do izpustitve zaščite z Ig anti-D v 28. tednu nosečnosti, 1 nosečnica pa je zaščito v 28. tednu zavrnila. Od 9 senzibilizacij z znanim vzrokom med nosečnostjo jih je bilo tako 8 najverjetneje posledica nepopolnega upoštevanja smernic: od teh je 1 nosečnica zaščito zavrnila, v 1 primeru pa smernic ni bilo mogoče upoštevati (ni obiskala ginekologa kljub krvavitvi).

Priporočila za vbrizganje z Ig anti-D so se popolnoma upoštevala pri 45 nosečnicah (65,5 %), pri 12 nosečnicah (17,5 %) pa se niso upoštevala oz. le delno: 1 nosečnica ni dobila zaščite po rojstvu D-poz otroka v preteklosti v tujini, 2 po prekinitvi nosečnosti v preteklosti, 6 med nosečnostjo, 1 je po porodu dobila zaščito po več kot 72 urah, 2 sta zaščito zavrnila (1 med nosečnostjo, 1 po porodu); 1 primera (1,5 %) nismo mogli preprečiti (krvavitev brez obiska ginekologa), 1 primer (1,5 %) pa je povezan s prejetjem neskladne transfuzije v preteklosti. Za 11 primerov (16 %) nismo imeli podatkov.

6 Razprava

Kljub napredku diagnostičnih metod in porodniških protokolov za preprečevanje senzibilizacij D-neg nosečnic, 1–3 od 1.000 D-neg nosečnic še vedno razvije protitelesa anti-D. V naši raziskavi smo v obdobju 11 let odkrili protitelesa anti-D pri 69 nosečnicah, kar pomeni, da je anti-D razvilo 0,16 % D-neg nosečnic oz. 0,26 % D-neg nosečnic s tveganjem za nastanek anti-D (tiste, ki nosijo D-poz plod). Rezultat je primerljiv z rezultati raziskav po uvedbi predporodnega preventivnega vbrizganja Ig anti-D (6,23–27). Raziskava McCauley s sod. je pokazala, da je incidenca anti-D aloimunizacije 0,31 (27), raziskava Turner s sod. (24) in McBain s sod. (25) pa 0,3 %.

Večina imunizacij v naši raziskavi je nastala med nosečnostjo (45 %), po rojstvu D-poz otroka (29 %) ali po prekinitvi nosečnosti (9 %). V prvih primerih so bile imunizacije najverjetneje posledica delnega upoštevanja smernic v 8 od 31 primerov, kar je 26 % odkritih senzibilizacij med nosečnostjo, 1 primera (3 %) ni bilo mogoče preprečiti (nosečnica kljub krvavitvi ni obiskala ginekologa), v ostalih primerih (71 %) pa so bile najverjetneje posledica tihe FMK v nosečnosti. V drugi skupini bi lahko preprečili senzibilizacijo le pri 2 od 20 nosečnic (10 %), ki so se senzibilizirale po rojstvu D-poz otroka (1 primer izpuščene zaščite, 1 primer zavrnjene zaščite), oz. pri 2 od 6 nosečnic (33 %), ki nista prejeli zaščite po prekinitvi nosečnosti. Zaključimo lahko, da bi z doslednim upoštevanjem smernic lahko

od dodatno preprečili 26 % senzibilizacij med nosečnostjo, 10 % senzibilizacij po rojstvu D-poz otroka ter 33 % senzibilizacij po prekinitvi nosečnosti, kar pomeni skupno 17,5 % vseh senzibilizacij (12 primerov), oz. 14,5 % (10 primerov), če ne upoštevamo 2 nosečnic, ki sta zaščito kljub razlagi zavrnila. Pomemben vzrok senzibilizacij med nosečnostjo so tako tihe FMK. Vzrokov za nastanek anti-D kljub svetovani zaščiti in določitvi FMK v vseh primerih po rojstvu D-poz otroka nismo mogli odkriti, saj nismo imeli podatkov, ali so nosečnice svetovano zaščito tudi prejele.

Številne raziskave v preteklosti so že ugotovile pomen poporodnega (28) in predporodnega vbrizganja Ig anti-D ter potrebe po natančnem upoštevanju smernic za uporabo Ig anti-D. Raziskava na Novi Zelandiji je pokazala, da je bila polovica novih senzibilizacij na antigen D povezanih z delnim upoštevanjem ali neupoštevanjem lokalnih smernic za vbrizganje z Ig anti-D; 41 % nosečnic s prepoznanim dogodkom med nosečnostjo ni prejelo zaščite z Ig anti-D, 12,8 % pa jih je prejelo nepopolno zaščito (29). V raziskavi na Severnem Irskem v obdobju 2010–2015 so ugotovili, da je kar 51 % novo odkritih anti-D nastalo po rojstvu D-poz otroka, v vseh, razen v enem primeru, je bil po porodu določen obseg FMK in ustrezni nadaljnji ukrepi glede na smernice. 21 % senzibilizacij je nastalo med nosečnostjo, 1 izmed 3 s prepoznanim dogodkom v nosečnosti ni prejela ustrezne zaščite, v ostalih primerih so bile vzrok senzibilizacije najverjetneje tihe FMK. Ig anti-D je zavrnila 1 nosečnica. Ugotovili so, da bi bilo od novoodkritih senzibilizacij anti-D mogoče preprečiti le 4 % od njih, v 96 % primerih pa so se smernice za vbrizganje Ig anti-D pravilno upoštevale (27). Če primerjamo te rezultate z našo raziskavo, ugotovimo, da je pri njih večji delež senzibilizacij nastal po rojstvu D-poz otroka (51 % proti 29 % oz. 38 %) in manjši med nosečnostjo (21 % proti 45 %). Razliko v deležu senzibilizacij po rojstvu D-poz otroka lahko delno razložimo z razliko v priporočeni količini vbrizganja Ig anti-D po porodu; njihove smernice priporočajo po porodu 500 I.E. (3,18), pri nas pa vsaj 1250 I.E. Ig anti-D. Višji odmerek pri nas tako verjetno pomeni večjo varnost, saj pokrije večjo količino FMK, čeprav v obeh državah po porodu določamo FMK. Večji delež senzibilizacij med nosečnostjo pri nas lahko pojasnimo z večjim deležem nepopolnega upoštevanja smernic pri nas, 4 % v njihovi in 14,5 % oz. 17,5 % v naši raziskavi, čeprav sta obe raziskavi pokazali, da večine senzibilizacij med nosečnostjo ni bilo mogoče preprečiti. Najverjetneje so bile vzrok tihe FMK do 28. tedna nosečnosti. Tako pri nas kot pri njih smo obravnavali primere zavrnjene zaščite

z Ig anti-D. Kljub temu, da pri nas nosečnice po rojstvu D-poz otroka v primerjavi s smernicami drugih držav (3,6,13,18-22) prejmejo visok odmerik Ig anti-D, je bil pri nas delež senzibilizacij po rojstvu D-poz otroka visok, tj. 29 %. Ker nismo imeli dostopa do podatkov o tem, ali so nosečnice priporočeno zaščito po porodu tudi dejansko prejele, rezultata ne moremo popolnoma pojasniti. Glede na raziskave pa bi na učinkovitost zaščite z Ig anti-D lahko vplivala tudi koncentracija Ig anti-D v krvi, na katero vpliva absorpcija Ig anti-D iz mišic ali podkožnega tkiva, ki je lahko povezana z indeksom telesne mase (39).

Ker kljub upoštevanju smernic za perinatalno vbrizganje Ig anti-D prihaja do novih senzibilizacij na antigen D, so različne raziskave preučevale možne dodatne vzroke za senzibilizacije in možne nove pristope k preprečevanju senzibilizacij anti-D (6). V literaturi opisani sicer splošni dejavniki tveganja za senzibilizacije nosečnic so povezani s splošno anamnezo pri nosečnici (kirurški posegi, prejem transfuzije, hematološke bolezni), z nosečnostjo in rodnostjo. Dejavniki tveganja, povezani z nosečnostjo, so lahko krvavitev, poškodba trebuha, invazivni postopki med nosečnostjo (biopsija horionskih resic, amniocenteza), carski rez, kirurška odstranitev posteljice, večja krvavitev po porodu ter neugodna anamneza nosečnosti (splav, mrtvorojenost) (30-32). Prav tako so opisani različni vzroki za senzibilizacijo na antigen D; npr.: tihe FMK pred 28. tednom nosečnosti (27), izpuščena perinatalna zaščita z Ig anti-D (27), nezadostna absorpcija Ig anti-D po vbrizganju v mišico (26), izpuščena določitev FMK in s tem ne zaznana obsežna FMK po porodu ali pa nosečnica iz osebnih razlogov zavrne zaščito z Ig anti-D (27). Raziskava Koelewijn s sod., v kateri so raziskovali vzroke za senzibilizacijo na antigen D kljub ustrezni perinatalni zaščiti z Ig anti-D, je pokazala, da so lahko dodatni dejavniki tveganja za senzibilizacijo nespontano dokončanje poroda (carski rez, asistirani vaginalni porod), prenošenost, prejem transfuzije med porodom in starost (6). Nespontano dokončanje poroda pomeni tveganje za večjo FMK, ki je ne pokrijemo s standardnim odmerkom. FMK se določa s Kelihauser-Betkejevim testom ali PC, pri prvem gre za ročno in subjektivno štetje plodovih eritrocitov pod mikroskopom, na izvedbo metode s PC pa lahko vplivajo tehnične lastnosti in validacija metode. Poleg tega lahko pride pri dokončanju poroda z operacijo do izgube krvi v peritonealno votlino, česar s testom Kleihauser-Betke ne moremo zaznati. Pomemben pa je tudi čas odvzetega vzorca, saj se zaradi časa, da pride do absorpcije otrokovih eritrocitov v materin krvni obtok, svetuje odvzem vzorca 30–45 min

po porodu (15) oz. do 2 uri po porodu (6,13,18,22). Prenosenost pomeni podaljšano izpostavljenost plodovim eritrocitom, zato lahko v tem primeru preventivni odmerik, prejet v 28.–30. tednu nosečnosti, ne zadostuje. Razpolovni čas Ig anti-D je 17–22 dni, rutinska predporodna zaščita pa teoretično zagotavlja zadostno količino anti-D za zaščito za 1 ml plodovih eritrocitov oz. 2 ml plodove krvi za 12 tednov po vbrizganju (20). Več raziskav je pokazalo, da pasivni Ig anti-D več kot 12 tednov po vbrizganju v krvi ni bil več zaznaven, zaznali ga niso tudi več tednov pred porodom (6,33-37). Znano je, da prejem transfuzije aktivira imunski sistem, kar lahko povzroči imunski odziv na antigene ploda, poleg tega pa nakazuje na nespontano dokončan porod in tveganje za obsežno FMK.

Glede na rezultate naše in prej omenjene raziskave (6,27-29) bi lahko na več načinov dodatno preprečevali nastanek protiteles anti-D, in sicer s preprečevanjem senzibilizacij zaradi tihih FMK do 28. tedna nosečnosti, s preprečevanjem v primerih, ko pasivni Ig anti-D zaradi podaljšane trajanja nosečnosti v krvi ni več zaznaven, ter primere, ko nosečnice kljub dogodkom ne obiščejo ginekologa ali pa zavrnejo zaščito z Ig anti-D. Prve primere bi lahko preprečevali z dodatnimi odmerki Ig anti-D v drugi tretjini nosečnosti, npr. v 16. tednu, druge pa z dodatnimi odmerki ob prenošenosti. Ostale primere bi lahko preprečevali z izobraževalnimi programi pred načrtovanjem nosečnosti, v katerih bi posebno pozornost namenili prepoznavi in ukrepanju ob dogodkih v nosečnosti, razlagi krvne skupine D ter posledicam opustitve preventivne zaščite s protitelesi Ig anti-D. Nosečnicam, ki zaščito zavrnejo, pa lahko preko določitve plodovega genotipa D iz periferne krvi ponudimo dodatno podporo pri odločitvi o vbrizganju Ig anti-D (ciljana zaščita).

7 Zaključek

Presejalni programi za preprečevanje senzibilizacij na antigen D so pokazali velik uspeh pri preprečevanju nastanka aloprotiteles anti-D in s tem močno zmanjšali obolevnost in umrljivost v povezavi s HBPN. Kljub temu se še vedno senzibilizira 0,1–0,3 % D-neg nosečnic. Z našo raziskavo smo ugotovili, da je delež novo odkritih senzibilizacij anti-D pri nas 0,16–0,26 %, kar je primerljivo z rezultati ostalih razvitih držav po uvedbi predporodnega preventivnega vbrizganja Ig anti-D. Z natančnim upoštevanjem smernic za preventivno perinatalno vbrizganje Ig anti-D bi lahko dodatno preprečili le 14,5 % oz. 17,5 % senzibilizacij. Ostale senzibilizacije so bile najverjetneje posledica tihih FMK v nosečnosti.

Slednje bi lahko preprečili le z novimi pristopi, kot so rutinski preventivni odmerki Ig anti-D v drugi tretjini nosečnosti, dodatni odmerki Ig anti-D v primeru prenošenosti, s prepoznavanjem in razumevanjem pomena možnih dodatnih dejavnikov za nastanek protiteles ter z izobraževalnimi programi za ženske v rodni dobi.

Primere, ko nosečnice zavračajo zaščito z Ig anti-D, pa lahko pri nas danes uspešno rešujemo z dodatno razlago in uvedeno ciljano zaščito.

Izjava o navzkrižju interesov

Avtorji nimamo navzkrižja interesov.

Literatura

- Delaney M, Matthews DC. Hemolytic disease of the fetus and newborn: Managing the mother, fetus, and newborn. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2015;2015:146-51. DOI: [10.1182/asheducation-2015.1.146](https://doi.org/10.1182/asheducation-2015.1.146) PMID: [26637714](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26637714/)
- Bhagat B, Sitalakshmi V, Azad KL, Banoth N. Clinical study of Rh isoimmunization in pregnant women. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol*. 2018;2(2):731-5. DOI: [10.18203/2320-1770.ijrcog20180203](https://doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20180203)
- Sperling JD, Dahlke JD, Sutton D, Gonzalez JM, Chauhan SP. Prevention of RhD Alloimmunization: A Comparison of four national guidelines. *Am J Perinatol*. 2018;35(2):110-9. DOI: [10.1055/s-0037-1606609](https://doi.org/10.1055/s-0037-1606609) PMID: [28910850](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28910850/)
- Bergström H, Nilsson LA, Nilsson L, Ryttinger L. Demonstration of Rh antigens in a 38-day-old fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 1967;99(1):130-3. DOI: [10.1016/S0002-9378\(16\)34502-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(16)34502-1) PMID: [4962281](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4962281/)
- Bowman J. Thirty-five years of Rh prophylaxis. *Transfusion*. 2003;43(12):1661-6. DOI: [10.1111/j.0041-1132.2003.00632.x](https://doi.org/10.1111/j.0041-1132.2003.00632.x) PMID: [14641860](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14641860/)
- Koelwijn JM, de Haas M, Vrijkotte TG, van der Schoot CE, Bonsel GJ. Risk factors for RhD immunisation despite antenatal and postnatal anti-D prophylaxis. *BJOG*. 2009;116(10):1307-14. DOI: [10.1111/j.1471-0528.2009.02244.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2009.02244.x) PMID: [19538414](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19538414/)
- van der Schoot C, deHaas M, Clausen FB. Genotyping to prevent Rh disease: has the time come? *Curr Opin Hematol*. 2017;24(6):544-50. DOI: [10.1097/MOH.0000000000000379](https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000379) PMID: [28937404](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28937404/)
- National institute for health and care excellence. High-throughput non-invasive prenatal testing for fetal RHD genotype. Manchester: NICE; 2021 [cited 2021 Dec 6]. Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/dg25>.
- Soothill PW, Finning K, Latham T, Wreford-Bush T, Ford J, Daniels G. Use of cffDNA to avoid administration of anti-D to pregnant women when the fetus is RhD-negative: implementation in the NHS. *BJOG*. 2015;122(12):1682-6. DOI: [10.1111/1471-0528.13055](https://doi.org/10.1111/1471-0528.13055) PMID: [25142171](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25142171/)
- Bricl I. Ciljana zaščita z IgG anti-D. Neinvazivna določitev plodovega genotipa RhD iz periferne krvi RhD-negativnih nosečnic. In: Stezinar SL. Zbornik predavanj strokovnih srečanj Zdrženja za transfuzijsko medicino Slovenije. 2017 Apr 7-8; Zreče, Slovenija. V Ljubljani: Slovensko zdravniško društvo; 2017.
- Koelwijn JM, de Haas M, Vrijkotte TG, Bonsel GJ, van der Schoot CE. One single dose of 200 microg of antenatal RhIG halves the risk of anti-D immunization and hemolytic disease of the fetus and newborn in the next pregnancy. *Transfusion*. 2008;48(8):1721-9. DOI: [10.1111/j.1537-2995.2008.01742.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01742.x) PMID: [18507749](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18507749/)
- Novak-Antolič Ž, Bricl I. Hemolitična bolezen ploda in novorojenčka (HBPN) zaradi protiteles anti-D. In: Novak-Antolič Ž. Nosečnost & vodenje poroda>. Ljubljana: Cankarjeva založba; 2004. pp. 70-2.
- Bennardello F, Coluzzi S, Curciarello G, Todros T, Villa S; Italian Society of Transfusion Medicine and Immunohaematology (SIMTI) and Italian Society of Gynaecology and Obstetrics (SIGO) working group. Recommendations for the prevention and treatment of haemolytic disease of the foetus and newborn. *Blood Transfus*. 2015;13:109-34. PMID: [25633877](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25633877/) DOI: [10.2450/2014.0119-14](https://doi.org/10.2450/2014.0119-14)
- Krywko DM, Yarrarapu SNS, Shunkwiler SM. Keihauer Betke Test. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
- Austin E, Bates S, de Silva M, Howarth D, Lubenko A, Rowley A, et al. Guidelines for the Estimation of the Fetomaternal Haemorrhage. London: British Society for Haematology; 2011 [cited 2021 Feb 10]. Available from: <https://b-s-h.org.uk/media/15705/transfusion-austin-the-estimation-of-fetomaternal-haemorrhage.pdf>.
- Hrašovec-Lampret A, Bricl I. Masivne fetomaternalne krvavitve, smernice za aplikacijo IgG anti-D. In: Stezinar SL, Kodba K, ur. Zbornik predavanj strokovnih srečanj Zdrženja za transfuzijsko medicino Slovenije. Ljubljana: Slovensko zdravniško društvo; 2016.
- European Medicines Agency. Guideline on the core SmPC for human anti-D immunoglobulin for intramuscular use. Amsterdam: EMA; 2021 [cited 2021 Feb 2]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-core-smpc-human-anti-d-immunoglobulin-intramuscular-use_en.pdf.
- Qureshi H, Massey E, Kirwan D, Davies T, Robson S, White J, et al.; British Society for Haematology. BCSH guideline for the use of anti-D immunoglobulin for the prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfus Med*. 2014;24(1):8-20. DOI: [10.1111/tme.12091](https://doi.org/10.1111/tme.12091) PMID: [25121158](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25121158/)
- Fung Kee Fung K, Eason E, Crane J, Armson A, De La Ronde S, Farine D, et al.; Maternal-Fetal Medicine Committee, Genetics Committee. Prevention of Rh alloimmunization. *J Obstet Gynaecol Can*. 2003;25(9):765-73. DOI: [10.1016/S1701-2163\(16\)30995-1](https://doi.org/10.1016/S1701-2163(16)30995-1) PMID: [12970812](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12970812/)
- McBain RD, Crowther CA, Middleton P. Anti-D administration in pregnancy for preventing Rhesus alloimmunisation. The Cochrane Collaboration. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2005(9):CD000020. DOI: [10.1002/14651858.CD000020.pub3](https://doi.org/10.1002/14651858.CD000020.pub3)
- Caterbury district health board. Use of RH(D) immunoglobulin in unsensitised rhesus negative women for the prevention of haemolytic disease of the newborn. Christchurch: Christchurch Women's Hospital; 2020 [cited 2021 Feb 10]. Available from: <https://edu.cdhb.health.nz/Hospitals-Services/Health-Professionals/maternity-care-guidelines/Documents/GLM0047-Use-of-Anti-D-Immunoglobulin.pdf>.
- NSW government. Maternity-Rh(D) immunoglobulin (anti-D). Guideline summary 2015. St Leonards NSW: NSW government; 2015 [cited 2021 Feb 10]. Available from: https://www1.health.nsw.gov.au%2Fpds%2FActivePDS/Documents%2FGL2015_011.pdf&usg=AOvVaw1eK5Zp7XMn1-i-k56pppOp.
- Urbaniak SJ, Greiss MA. RhD haemolytic disease of the fetus and the newborn. *Blood Rev*. 2000;14(1):44-61. DOI: [10.1054/blre.1999.0123](https://doi.org/10.1054/blre.1999.0123) PMID: [10805260](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10805260/)
- Turner RM, Lloyd-Jones M, Anumba DO, Smith GC, Spiegelhalter DJ, Squires H, et al. Routine antenatal anti-D prophylaxis in women who are Rh(D) negative: meta-analyses adjusted for differences in study design and quality. *PLoS One*. 2012;7(2):e30711. DOI: [10.1371/journal.pone.0030711](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030711) PMID: [22319580](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22319580/)
- McBain RD, Crowther CA, Middleton P. Anti-D administration in pregnancy for preventing Rhesus alloimmunisation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;9(9). DOI: [10.1002/14651858.CD000020.pub3](https://doi.org/10.1002/14651858.CD000020.pub3) PMID: [26334436](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26334436/)

26. MacKenzie IZ, Findlay J, Thompson K, Roseman F. Compliance with routine antenatal rhesus D prophylaxis and the impact on sensitisations: observations over 14 years. *BJOG*. 2006;113(7):839-43. DOI: [10.1111/j.1471-0528.2006.00988.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2006.00988.x) PMID: [16827770](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16827770/)
27. McCauley CJ, Morris K, Maguire K. A review of maternal alloimmunisation to Rh D in Northern Ireland. *Transfus Med*. 2017;27(2):132-5. DOI: [10.1111/tme.12387](https://doi.org/10.1111/tme.12387) PMID: [28101958](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28101958/)
28. Studničková M, Holusková I, Durdová V, Kratochvílová T, Stražilová P, Marková I, et al. Spontaneous antepartur RhD alloimmunization. *Ceska Gynekol*. 2015;80(6):401-4. PMID: [26741153](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26741153/)
29. Badami KG, Parker J, Kenny A, Warrington S. Incidence of maternal sensitisation to Rh(D) in Christchurch, New Zealand and reasons for prophylaxis failures. *N Z Med J*. 2014;127(1388):40-6. PMID: [24481385](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24481385/)
30. Slootweg YM, Koelewijn JM, van Kamp IL, van der Bom JG, Oepkes D, de Haas M. Third trimester screening for alloimmunisation in Rhc-negative pregnant women: evaluation of the Dutch national screening programme. *BJOG*. 2016;123(6):955-63. DOI: [10.1111/1471-0528.13816](https://doi.org/10.1111/1471-0528.13816) PMID: [26661943](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26661943/)
31. Pahuja S, Gupta SK, Pujani M, Jain M. The prevalence of irregular erythrocyte antibodies among antenatal women in Delhi. *Blood Transfus*. 2011;9(4):388-93. PMID: [21839025](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21839025/)
32. Webb J, Delaney M. Red Blood Cell Alloimmunization in the Pregnant Patient. *Transfus Med Rev*. 2018;32(4):213-9. DOI: [10.1016/j.tmr.2018.07.002](https://doi.org/10.1016/j.tmr.2018.07.002) PMID: [30097223](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30097223/)
33. Bowman JM, Pollock JM. Antenatal prophylaxis of Rh isoimmunization: 28-weeks'-gestation service program. *Can Med Assoc J*. 1978;118(6):627-30. DOI: [10.1097/00006254-197810000-00005](https://doi.org/10.1097/00006254-197810000-00005) PMID: [77715](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/77715/)
34. Kennedy MS, McNanie J, Waheed A. Detection of anti-D following antepartum injections of Rh immune globulin. *Immunohematology*. 1998;14(4):138-40. DOI: [10.21307/immunohematology-2019-681](https://doi.org/10.21307/immunohematology-2019-681) PMID: [15377178](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15377178/)
35. MacKenzie IZ, Bowell P, Gregory H, Pratt G, Guest C, Entwistle CC. Routine antenatal Rhesus D immunoglobulin prophylaxis: the results of a prospective 10 year study. *Br J Obstet Gynaecol*. 1999;106(5):492-7. DOI: [10.1111/j.1471-0528.1999.tb08304.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.1999.tb08304.x) PMID: [10430201](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10430201/)
36. Bichler J, Schöndorfer G, Pabst G, Andresen I. Pharmacokinetics of anti-D IgG in pregnant RhD-negative women. *BJOG*. 2003;110(1):39-45. DOI: [10.1046/j.1471-0528.2003.02158.x](https://doi.org/10.1046/j.1471-0528.2003.02158.x) PMID: [12504934](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12504934/)
37. Witter FR, Shirey RS, Nicol SL, Ness PM. Postinjection kinetics of antepartum Rh immune globulin. *Am J Obstet Gynecol*. 1990;163(3):784-6. DOI: [10.1016/0002-9378\(90\)91068-N](https://doi.org/10.1016/0002-9378(90)91068-N) PMID: [2169705](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2169705/)
38. Republika Slovenija. Statistični urad. Miliarda podatkov v podatkovni bazi Stat. Ljubljana: Republika Slovenije; 2021 [cited 2021 May 6]. Available from: <https://pxweb.stat.si/SiStatData/pxweb/sl/Data-/05J1002S.px/table/tableViewLayout2/>.
39. Woelfer B, Schuchter K, Janisiw M, Hafner E, Philipp K, Panzer S. Postdelivery levels of anti-D IgG prophylaxis in D- mothers depend on maternal bodyweight. *Transfusion*. 2004;44(4):512-7. DOI: [10.1111/j.1537-2995.2004.03287.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2004.03287.x) PMID: [15043566](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15043566/)