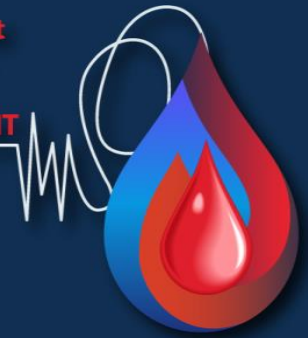


12

• Congreso Colombiano **Acobasmet**
de Bancos de Sangre y Medicina
Transfusional

Congreso Iberoamericano **GCIAMT**

*Nuevamente juntos, innovando
para fortalecer capacidades*



Control inmunohematológico de la gestante, el feto y el recién nacido

EHP

Introducción

- Afección que sufre el feto y el RN por pasaje trasplacentario de Acs. maternos específicos dirigidos contra Ags. eritrocitarios de origen paterno presentes en de la membrana del GR fetal, provocando anemia hemolítica
- Más frecuente: incompatibilidad ABO
- Incidencia de la EHP por Rh: 0,2-0,4/1000 gestantes.
- Actualmente: 2 muertes perinatales/1000 RN vivos).
- En la mayoría de los casos: anti-RhD.
- La IP: gran avance en la prevención en la incompatibilidad Rh materno-fetal.
- Sin embargo, la EHP por anti-RhD aún existe: 1-3/1000 mujeres RhD Negativo.
- Aumento relativo de casos relacionados con Acs. frente a antígenos distintos al Rh(D).

Causas de isoimmunización por Rh

- **Falla en la indicación de la inmunoprofilaxis**
 - ✓ Incumplimiento de la IP prenatal (Consenso de Edimburgo 1997)
 - ✓ Aplicación de IgRhD en dosis insuficiente
 - ✓ Errores en la tipificación D (Fleguel WA, 2011- Transf and Aph Science)
 - ✓ Fallo en el reconocimiento del anti-G
 - ✓ No aplicación de IgG-RhD cuando se transfunden CP RhD+
 - ✓ Errores en la gestión de muestras (SHOT 2018)
 - ✓ Transfusión de CGR sin considerar el fenotipo
 - ✓ Errores para diferenciar entre inmunización activa y pasiva (SHOT 2018)

ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL

Estudios prenatales

OBJETIVOS

- Detectar la inmunización materna
- Detectar potenciales riesgos para el feto
- Controlar la inmunización patológica

Parámetros espectrofotométricos

Parámetros ecográficos

Parámetros inmunohematológicos

ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL

Ley Nac. de Sangre 22.990: Normas Técnicas

- Si el Hospital asiste partos, es obligatorio a realizar el estudio inmunohematológico a todas las pacientes obstétricas. (1º trimestre)
- Efectuar rutinariamente: tipificación ABO, Rh y detección de Acs en el suero de las mujeres embarazadas.
- Toda mujer con Acs ó con antecedentes de un neonato afectado por EHP debe ser derivada a un centro de referencia antes de la semana 20 de gestación para determinar la existencia de anemia / hemólisis fetal, independientemente del nivel de Acs.

ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL

Ley Nac. de Sangre 22.990: Normas Técnicas

Objetivos del monitoreo inmunohematológico:

- 1) Identificar embarazadas con riesgo de desarrollar EHP.
- 2) Identificar mujeres D-Negativo que necesiten IP anti-D.
- 3) Disponer de sangre compatible para emergencias obstétricas y neonatales.
- 4) Realizar el seguimiento serológico de las gestantes sensibilizadas con el objeto de:
 - ✓ Identificar el feto que pueda necesitar tratamiento antenatal.
 - ✓ Identificar la aparición de Ac adicionales durante la gestación y/o inducidos por transfusiones intrauterinas.
 - ✓ Predecir si un recién nacido requerirá tratamiento por EHP.

ENFERMEDAD HEMOLÍTICA PERINATAL

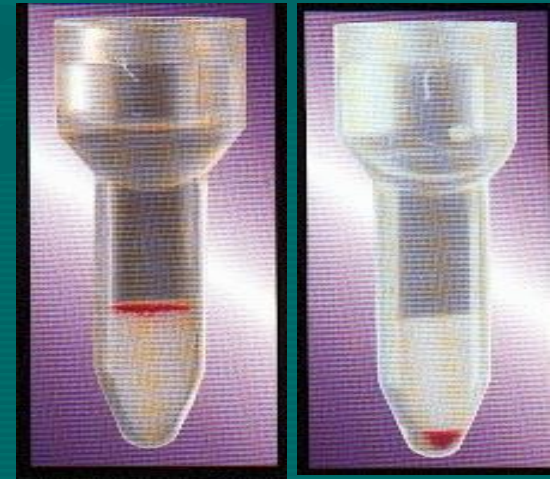
Estudios prenatales

- 1- HISTORIA CLÍNICA DE LA PACIENTE
 - Antecedentes transfusionales.
 - Embarazos, abortos, inseminación artificial, IP.
 - Antecedentes de fetos o neonatos afectados por EHP.
- 2-ESTUDIOS INMUNOHEMATOLÓGICOS
 - Gestante: ABO, Rh (D), fenotipo Rh.
 - DAI (frente a GR de panel, y de la pareja si son ABO compatibles)
 - Pareja: ABO, D (D^{VI}), zigocidad del fenotipo Rh

Recomendaciones para las pruebas inmunohematológicas

Cumplir con pautas de Gestión de Muestras

- Para la tipificación Rh(D) con Ac Mo (IgM) que no detecten variantes D^{VI}.
- Si no hay dudas de un resultado Rh(D) negativo: no efectuar la fase antiglobulínica
- Si el resultado es dudoso (reacción < ++)
considerar a la muestra como Rh(D) negativo hasta su tipificación correcta y definitiva.
- Ante un D parcial, o una forma D débil poco común, considerar a la muestra como RhD negativo



Importancia Clínica de las Variantes RhD en gestantes

- D débil tipo 1, 2 y 3 no son propensos a la inmunización \longrightarrow IP
- D débil tipo 4.0/4.1 D+????? \longrightarrow Sí RhIgG
- D débil tipo 4.2 y D^{VI} se inmunizan \longrightarrow Sí RhIgG

EHP: estudios serológicos

- Esencial para el manejo efectivo de la EHP
- Diseñados para proveer adecuada información al obstetra.
- Deben ser realizados en laboratorios habilitados y con experiencia
- Se deben elegir métodos que detecten Acs. clínicamente significativos
- Efectuar estudios respetando guías existentes
- Idealmente en equipos automatizados

Investigación de Acs. irregulares

- Técnicas: LISS, PEG, columnas de gel, adherencia a fase sólida.
- No se recomienda el uso rutinario de células tratadas con enzimas.
- Identificación de Acs:

Grupo 1: anti-D, c, E, e, C, K, k, Fya

Grupo 2: Anti, - Cw, - Fyb, Jka, Jkb, Jk₃, S, s, M,

Grupo 3: Anti-P1, - N, - H, - Lewis, -Lu, HLA

Recomendaciones para las pruebas inmunohematológicas

- La PAI con incubación a 37°C es la técnica de elección para DAI y la IAI.
- La titulación de anti-A y/o anti-B no es necesaria porque no permite predecir la EHP por incompatibilidad ABO.
- La DAI debe ser realizada, mínimamente, con 2 células pantalla (R_1R_1 / R_2R_2).
- La IAI rutinaria con hematíes tratados con enzimas no aporta ningún valor adicional
- Pueden ser útiles para identificar de mezclas de anticuerpos y/o si sospechamos de especificidades ligadas al sistema Rh.

Investigación de Anti-G

- El Ag G está presente en la mayoría de hematíes D⁺ y en todos los C⁺ (DCe /Dce / dCe)
- Una mujer D - (rr) puede producir un anti-G reactivo con los hematíes D y C positivo simulando un anti D+C
- Resolución:
 - Técnicas de adsorción y elución (Issitt y Anstee: Applied blood group serology, 4^o ed, Montgomery Scientific Press 1998:350-3)
 - Título de anti-C > anti-D con hematíes r'r vs R₂R₂ (AABB Guidelines for prenatal and perinatal immunohematology-2004)

Es importante diferenciar entre anti-D+C y anti-G

Anti-G → **Inmunoprofilaxis**

ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL

Controles analíticos de progresiva complejidad

3. Identificación del Ac y evaluación de la importancia clínica
4. Titulación y/o cuantificación del Ac
5. Realización de pruebas predictivas del grado de compromiso fetal
6. Pruebas de biología molecular para investigar el genotipo RhD

Titulación de Acs.

- Procedimiento impreciso
- Técnica sencilla
- A mano de cualquier laboratorio (de I.H.)
- Permite evaluar el riesgo de afección fetal
- Realizado por personal con experiencia
- Valor predictivo de afección fetal del 62% (**+HC**)
- Debe efectuarse tan pronto como fuera posible (valor basal)

Titulación de Anticuerpos Irregulares Parte 3

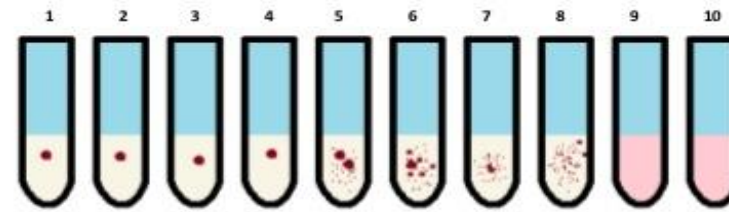
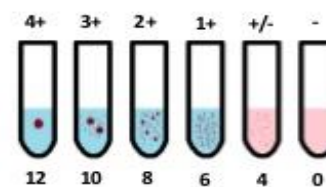


Tabla de Score



Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6	Tubo 7	Tubo 8	Tubo 9	SCORE
12	12	12	12	10	8	6	6	0	78

Se suman los score y se obtiene un resultado que nos habla de la fuerza de los anticuerpos irregulares.

Titulación de Acs.

¿Para qué efectuarlo?

- 1/16: riesgo de afección fetal del 10%
- 1/32: riesgo de afección fetal del 25%
- 1/64: riesgo de afección fetal del 50%
- 1/128: riesgo de afección fetal del 75%



Título Crítico

Titulación de Acs: Título crítico

Es el valor por debajo del cual no suele haber afectación fetal grave, y se justifican las exploraciones invasivas

- En general la literatura lo considera en 32 para anti-Rh(D).
- Por debajo de 128, excepcionalmente, habrá afectación fetal.
- No se conoce el título crítico para otras especificidades.
- No existe título crítico para anti-K.
- Los títulos de referencia se han obtenido con la técnica en tubo.
- En tarjeta, el título suele superior en 2 diluciones.

En general, el título aislado es poco informativo
Es más informativa la tendencia del mismo

Requisitos imprescindibles para que la titulación resulte útil

- La 1ª determinación sirve de referencia para las siguientes.
- Se debe valorar la tendencia en el título:
 - un aumento en dos diluciones: $1/8 \rightarrow 1/32$ se considera significativo.
- Hay que conseguir la máxima estandarización de la técnica:
 - Emplear el mismo sistema: tarjeta, tubo, microplaca.
 - Hematíes del mismo fenotipo.
 - Igual volumen suero/hematíes.
 - A ser posible realizada por la misma persona.
 - Y en paralelo con la muestra anterior.
- En el caso de anti-D se recomienda titular con R_2R_2 .
- Para el resto de especificidades, hematíes heterocigotos.

ALGORITMO DE ESTUDIO A TODA GESTANTE

**SEMANA
10-16**

ABO- D - IAI

Rh negativo

POSITIVA

NEGATIVA

Identificación y Título del Ac
Seguimiento Equipo IH Perinatal
(3º Nivel de Atención)

CONTROL MENSUAL

**SEMANA
28-32**

REPETIR IAI

IDENTIFICACION Ac + TITULO

CONTROL QUINCENAL

NEGATIVA

(INMUNOPROFILAXIS)

PARTO

En todos los neonatos

ABO-D y PAD en GR cordón

RN D+ PAD -/ Madre D -

Detección HFM

INMUNOPROFILAXIS

Cuantificación del Ac

- Técnicas: citometría de flujo, ELISA, RIE.
- Es mejor predictor de la gravedad fetal.
- “Enzyme-like antiglobulin technique” (ELAT).
 - Los resultados se expresan en $\mu\text{grs/ml}$ o en UI
 - Afectación fetal mínima o ausente si anti-D $<4\text{UI}$ ($0.8 \mu\text{grs/ml}$)
 - Y aumenta si el anti-D $>15 \text{UI}$ ($>3 \mu\text{grs/ml}$)

Equivalencia: 15 UI - título 1/128

Impronta de Biología Molecular en la EHP

1. Determinación del grado de zigosidad del Ag D paterno

- Consejo genético

2. Análisis del genotipo *RHD* fetal en amniocitos o en corion

3. Análisis del genotipo *RHD* fetal en plasma materno

- No inmunizadas: profilaxis racional con Ig-anti D

- Inmunizadas

- * A un Ac clínicamente significativo

- * Antecedentes de fetos o RN severamente afectados

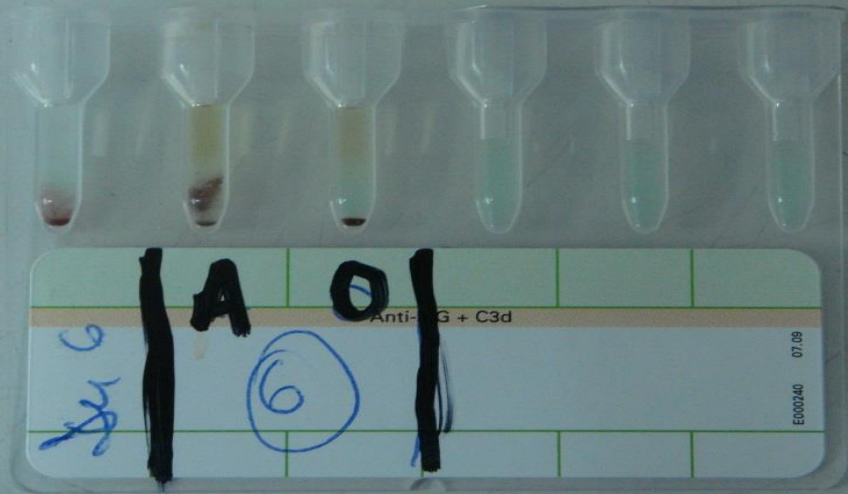
- * Pareja portadora del Ag o se desconoce su presencia

ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL

Estudios postnatales

- Muestra: sangre de cordón
- Estudios inmunohematológicos:
 - Grupo ABO, D (D^{VI}), fenotipo Rh,
 - Prueba antiglobulínica directa
 - La intensidad de la PAD no se correlaciona con la anemia
 - Puede tener reacción en CM si hubo TIU
 - PAD +: eluido globular e Identificación del Ac.
 - Detección de anticuerpos ABO en suero de cordón frente a GR testigos "A" o "B".

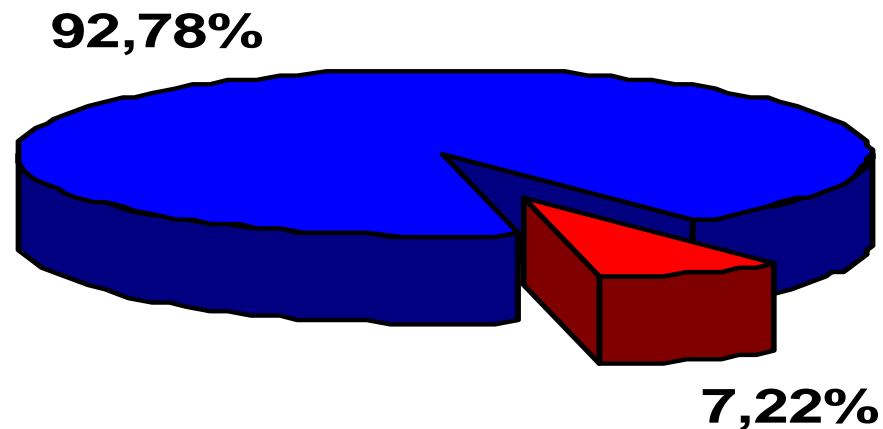
Detección de anticuerpos IgG ABO en suero de cordón



ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL POR Rh Profilaxis

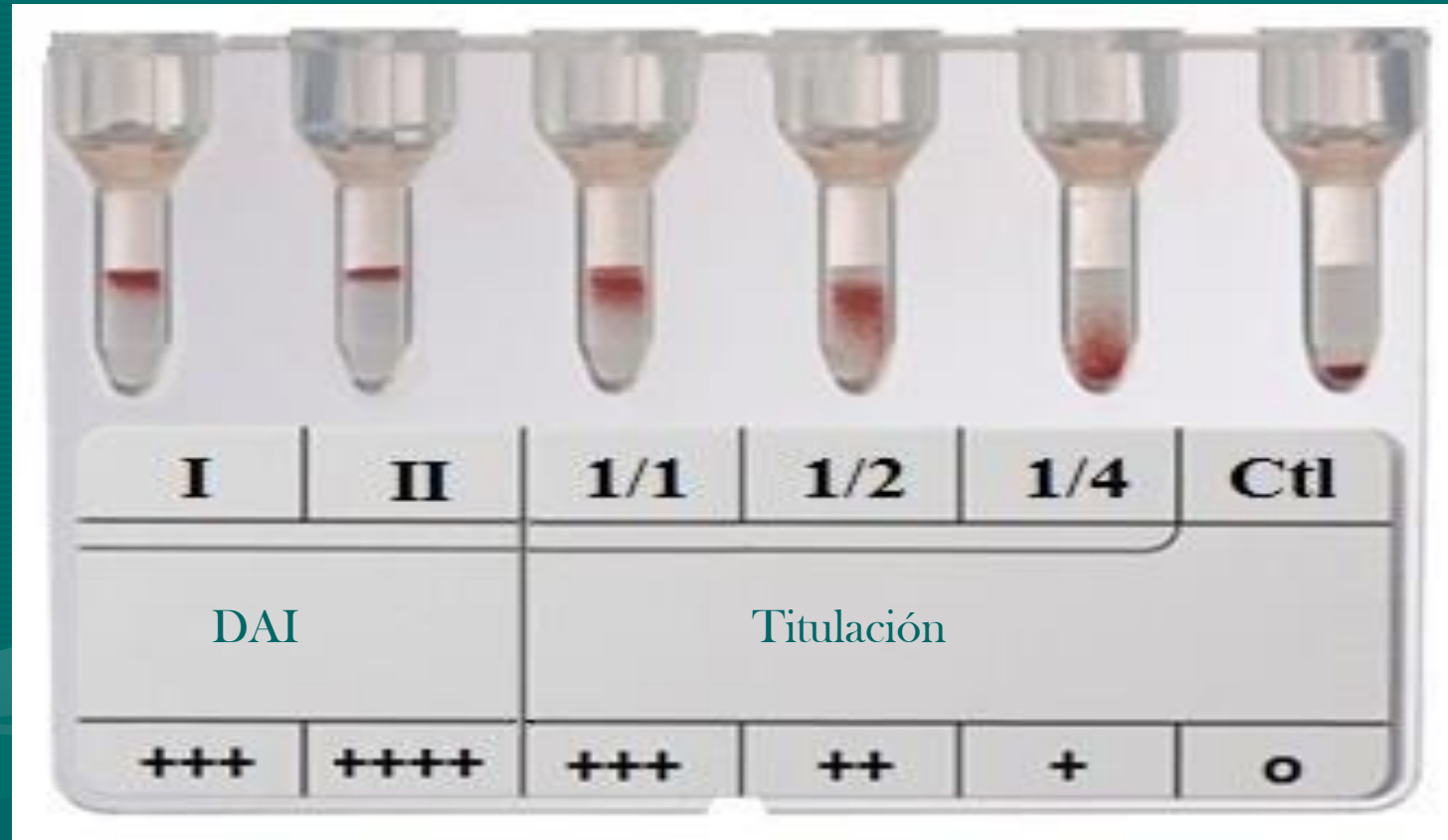
Agosto 2006-Diciembre 2008

Control Postprofilaxis. N=190



■ DAI POSITIVA ■ DAI NEGATIVA

Anti-D pasivo vs Anti-D inmune



ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL

Ley Nac. de Sangre 22.990: Normas Técnicas

Cuantificación de la HFM

- En el momento del parto de las mujeres RhD-negativo, se deberá tomar una muestra de sangre materna para realizar una prueba que permita determinar la magnitud de la hemorragia fetomaterna (HFM) e indicar una eventual dosis adicional de gammaglobulina hiperinmune anti-RhD.

IMPORTANCIA DEL MOMENTO DE TOMA DE MUESTRA EN LA TÉCNICA DE K-B

Mayo 2006 - mayo 2011: N= 882, 4 (0,45%) HFM> 30 ml

<i>TÉCNICA ESTÁNDAR</i> (dentro de las 6 hs)			<i>TÉCNICA MODIFICADA</i> (dentro de la primera hora)		
<i>% GRF</i>	<i>Vol. GRF (ml)</i>	<i>Dosis de IgG anti D</i>	<i>% GRF</i>	<i>Vol. GRF (ml)</i>	<i>Dosis de IgG anti D</i>
0,25	6	1	0,66	16	2
0,30	7,20	1	0,75	18	2
0,27	6,5	1	0,70	17	2
1,50	36	2	1,50	36	2

ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL

Conclusiones: ¿cuál es la realidad?

- La incidencia de EHP por Rh sigue siendo importante a pesar de la IP.
- Existen normas preventivas, de cumplimiento parcial o poco claras.
- Desconocimiento de profesionales sobre el control IH perinatal e IP.
- Controles IH en laboratorio que no son de la especialidad, o de dudosa calidad.
- Indiscutible importancia de las Guías para control y prevención de la EHP

ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL

Conclusión Final: Recordar!!!!!!!!!!

- La prevención de la aloinmunización tiene un costo muy inferior al de los tratamientos pre y postnatales de la EHP Rh



Paremos con
la guitarra !!!!!

Muchas
gracias!!!!