

## PROTOCOLLO GESTIONE DELLE DONNE GRAVIDE IMMUNIZZATE

COPIA N°		Descrizione/ Natura della modifica	Redazione		Approvazione		Verifica ed Emissione SGQ
Ediz	Rev		Nome	Firma	Nome	Firma	
00	00		A Quaglietta K. Melchiorre	 6.1.11.2013	P. Accorsi M. Rosati	 6.1.11.2013	 06.11.2013
00	01		firma	...../...../.....	firma	...../...../.....	firma
00	02		firma	...../...../.....	firma	...../...../.....	firma
00	03		firma	...../...../.....	firma	...../...../.....	firma
00	04		firma	...../...../.....	firma	...../...../.....	firma
01	00		firma	...../...../.....	firma	...../...../.....	firma

Ediz	Rev	Validità	Riesame/ rivalidazione
		6.1.11.2015	 6.1.12.2015

1	SCOPO .....	3
2	OBIETTIVI .....	3
3	CAMPO DI APPLICAZIONE .....	3
4	DEFINIZIONI E ABBREVIAZIONI .....	3
5	DOCUMENTI DI RIFERIMENTO .....	3
5.1	LETTERATURA .....	5
5.2	PROCEDURE DI RIFERIMENTO .....	5
6	RESPONSABILITA' .....	6
7	DESCRIZIONE ATTIVITA' .....	6
7.1	MONITORAGGIO IMMUNOEMATOLOGICO IN GRAVIDANZA .....	6
7.1.1	<i>Determinazione del gruppo sanguigno</i> .....	6
7.1.2	<i>Ricerca di anticorpi irregolari (test Di coombs indiretto)</i> .....	6
7.1.3	<i>Algoritmo della ricerca di anticorpi irregolari</i> .....	8
7.2	MONITORAGGIO DELLA GRAVIDA IMMUNIZZATA : .....	8
7.2.1	<i>Monitoraggio immunoematologico di gravida immunizzata con anti D</i> .....	9
7.2.2	<i>Monitoraggio immunoematologico di gravida immunizzata verso altri antigeni</i> .....	10
7.2.3	<i>Monitoraggio della MEN da ABO</i> .....	11
7.3	SORVEGLIANZA FETALE .....	11
7.3.1	DIAGNOSTICA FLUSSIMETRICA .....	13
7.4	ESAMI DA EFFETTUARE SU MADRE E NEONATO ALLA NASCITA .....	15
7.5	TERAPIA TRASFUSIONALE NELLA MEN .....	16
8	VERIFICHE E CONTROLLI .....	17
9	ALLEGATI E MODULI UTILIZZABILI .....	17
10	FLUSSO OPERATIVO .....	17

## **1 SCOPO**

La malattia emolitica del neonato (MEN) è causata da anticorpi di origine materna di tipo IgG, diretti verso antigeni fetali, che attraversando la barriera placentare si legano ai globuli rossi fetali provocandone l'emolisi. L'incidenza della MEN più frequente, causata da anticorpi da anti D, si è drasticamente ridotta a meno dell'1% con l'introduzione della immunoprofilassi post-partum. La persistenza di casi residui dipende da una varietà di cause (immunizzazione pre-parto, inefficacia dell'immunoprofilassi per somministrazione non congrua all'entità dell'emorragia fetto-materna (EFM), mancata esecuzione dell'immunoprofilassi, errori nella determinazione di gruppo sanguigno della gravida, della puerpera o del neonato, errori nel trattamento trasfusionale di donne in età fertile, ecc.) che, in percentuale non trascurabile, sono conseguenza di errore umano. L'istituzione di immunoprofilassi anti-D pre-partum e la scrupolosa osservanza di regole di comportamento ben definite possono ridurre sensibilmente i casi residui di MEN.

Scopo della presente procedura è di fornire una linea di indirizzo qualitativamente adeguata per la gestione della MEN, in modo da favorire comportamenti il più possibile omogenei all'interno del campo di applicazione.

## **2 OBIETTIVI**

Fornire un protocollo comportamentale per la gestione della MEN condiviso con il personale dell'unità operativa di Ostetricia e Ginecologia in modo da garantire lo stesso livello assistenziale a tutte le pazienti gravide che accedono ai servizi della nostra azienda.

## **3 CAMPO DI APPLICAZIONE**

Servizio Trasfusionale aziendale, Strutture afferenti al Dipartimento Materno-Infantile,

## **4 DEFINIZIONI E ABBREVIAZIONI**

CM: Arteria cerebrale media

EFM: Emorragia fetto-materna

EG: Età gestazionale

Ig: Immunoglobuline

MEN: Malattia emolitica del neonato

TIU : Trasfusione Intrauterina

ET Exanguino trasfusione

ACM/PVS flussimetria dell'arteriacerebrale media

## **5 DOCUMENTI DI RIFERIMENTO**

5.1 Leggi, Norme e Standard

<b>Tipo documento</b>	<b>Titolo</b>	<b>Applicabilità</b>
Legge 21 ottobre 2005, n 219	Nuova disciplina delle attività trasfusionali e della produzione nazionale degli emoderivati	obbligatoria
DECRETO 3 marzo 2005	Caratteristiche e modalità per la donazione del sangue e di emocomponenti	obbligatorio
DECRETO 3 marzo 2005	Protocolli per l'accertamento della idoneità del donator di sangue e di emocomponenti	obbligatorio
Decreto	Raccomandazione Nr (95) e relative modifiche	Riferimento
Standard	Standard di medicina Trasfusionale	Riferimento
Manuali	Techical Manual AABB	Riferimento
Linee Guida	Programma Nazionale Linee Guida: 38: Screening per l'Incompatibilità da Rh	Riferimento
Linee Guida	Linee guida per la gravidanza fisiologica SLNG 2011	Riferimento
Raccomandazione	Raccomandazione SIMTI per la gestione della MEN	Riferimento
Raccomandazione	<i>Raccomandazione SIMTI per la terapia trasfusionale in Neonatologia</i>	Riferimento
Linee Guida	Guidelines for blood grouping e antibody screening in tha antenatal setting Australian GL 2007	Riferimento
Linee Guida	Guidelines for Prenatal and Perinatal Immunohematology AABB 2005	Riferimento
Linee Guida	Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy BCSI 2008	Riferimento
Linee Guida	Antenatal care routine care for the healthy pregnant woman RGOG 2008	Riferimento
Linee Guida	VA/DoD clinical practice guidelines for management of pregnancy 2009	Riferimento

## 5.1 LETTERATURA

Tipo documento	Titolo	Applicabilità
Articolo scientifico	Reali G. Protocollo relativo all'esecuzione di esami immunoematologici per la prevenzione della MEN. La Trasf del Sangue 2002; 47: 323-31.	Riferimento
Articolo scientifico	The role of antenatal immunoprophylaxis in the prevention of maternal-foetal anti Rh(D) alloimmunisation	Riferimento
Articolo scientifico	Monitoring and treatment of anti-D in pregnancy Vox Sanguinis 2010	Riferimento
Articolo scientifico	Maternal IgG anti A and anti-B titres predict outcome in ABO-incompatibility in the neonate Acta Paediatrica 2009	Riferimento
Articolo scientifico	Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. N Engl J Med 2000	Riferimento
Articolo scientifico	Red blood cell alloimmunization in pregnancy Seminars in Hematology 2005	Riferimento
Articolo scientifico	Mari G. Middle cerebral artery peak systolic velocity: is it the standard of care for the diagnosis of fetal anemia? J Ultrasound Med. 2005	Riferimento
Articolo scientifico	Smits-Wintjens VE, Walther FJ, Lopriore E. Rhesus haemolytic disease of the newborn: Postnatal management, associated morbidity and long-term outcome. Semin Fetal Neonatal Med. 2008	Riferimento

## 5.2 PROCEDURE DI RIFERIMENTO

Tipo documento	Titolo	Applicabilità
Progetto regionale	Tutela della maternità e promozione dell'appropriatezza del percorso nascita	riferimento
Procedura operativa	PO SIT LIM 01	riferimento
protocollo	Identificazione dei soggetti da sottoporre ad Immunoprofilassi anti D	riferimento
Istruzione Operativa	IOP SIT LIM 01-01	riferimento
Istruzione Operativa	IOP-SIT-DE-02 Criteri di assegnazione degli emocomponenti	riferimento

## 6 RESPONSABILITA'

Attività/Funzioni	Medico Centro trasfusionale	Biologo Centro Trasfusionale	Medico Ostetrico	Tecnico
Procedure analitiche monitoraggio immunoematologico refertazione esami immunoematologici	Controllo procedura Validazione medica	Controllo procedura Validazione biologica		Corretta esecuzione Validazione tecnica Registrazioni
Consulenza di medicina trasfusionale	esecuzione			
Monitoraggio ostetrico			esecuzione	

## 7 DESCRIZIONE ATTIVITA'

### 7.1 MONITORAGGIO IMMUNOEMATOLOGICO IN GRAVIDANZA

La possibilità di produzione degli anticorpi irregolari durante la gravidanza va monitorata mediante l'esecuzione di esami immunoematologici da effettuare presso il Centro Trasfusionale secondo le istruzioni operative IOP SIT LIM 01-01

#### 7.1.1 *Determinazione del gruppo sanguigno*

La determinazione del gruppo sanguigno AB0/Rh si ritiene valida, quando il risultato è corrispondente a quello di una precedente determinazione effettuata su campione di sangue prelevato in tempi diversi e con nuova identificazione attiva del paziente.

#### 7.1.2 *Ricerca di anticorpi irregolari (test Di coombs indiretto)*

Contestualmente alla tipizzazione di gruppo nel primo trimestre, dovrà essere eseguita sul siero della gravida la ricerca di anticorpi eritrocitari irregolari impiegando il test indiretto all'antiglobulina (TIA), con metodica validata, in grado di evidenziare tutti gli anticorpi clinicamente significativi (in fase liquida, in fase solida, in gel filtrazione, su colonna, ecc.).

La produzione di anticorpi irregolari di tipo IgG è legata ad uno stimolo immunologico dovuto a precedenti trasfusioni o gravidanze da parte di antigeni non presenti nel ricevente. L'antigene maggiormente implicato è l'antigene D del sistema Rh non presente nel 15% della popolazione caucasica. L'incidenza dell'immunizzazione anti D si è drasticamente ridotta a circa l'1 % grazie alla profilassi post partum con immunoglobuline anti D.

E' noto che gli antigeni appartenenti a tutti i sistemi gruppo ematici noti (con la possibile esclusione di quelli del sistema Lewis, Chido e Rodgers, Knops e della Collection I/i), introdotti (per gravidanza o terapia trasfusionale) in un soggetto che ne sia privo, sono in grado di evocare la produzione di anticorpi IgG e di provocare, conseguentemente, anche una MEN, ma per la profilassi della MEN da antigeni gruppo ematici diversi dal D non sono al momento disponibili immunoglobuline specifiche.

Sono di seguito indicati tutti gli antigeni implicati, l'incidenza e la gravità della MEN che possono causare ( AABB 2005) .Tab 1:

<b>ABO</b>	A/B	Comune moderata/ lieve	<b>FY</b>	Fya	Rara moderata/ grave
	A1	No		FYb	Rara moderata
	<b>P</b>	<b>P1</b>		No	<b>FY3</b>
<b>MNS</b>	<b>M</b>	Rara moderata	<b>JK</b>	Jka	Rara
	<b>N</b>	Rara		Jkb	Rara moderata
	<b>S/s</b>	Rara moderata/ grave		Jk3	No lieve
	<b>U</b>	Rara moderata/ grave		<b>Diego</b>	DI
	<b>Altre</b>	Rare	<b>Scianna</b>	Sc1 Sc2	DAT +, no MEN
	<b>RH</b>	Tutti	Comune moderata/ severa	<b>Colton</b>	Ca,Cb , Co3
<b>LU</b>	Tutti	moderata	<b>H I</b>	H	MEN se madri Oh
<b>KELL</b>	Tutti	severa		I H	No MEN
<b>LE</b>	Tutti	NO		I	No MEN

### 7.1.3 Algoritmo della ricerca di anticorpi irregolari

Se la gravida è Rh(D) positiva e la ricerca di anticorpi irregolari risulta essere negativa, si consiglia un controllo del test di Coombs indiretto alla 28° settimana e al parto, a meno che non si siano verificati episodi, causa di possibile immunizzazione verso altri antigeni gruppo ematici (terapia trasfusionale, manovre ostetriche particolarmente aggressive o traumi diretti sull'addome, che possono aver favorito una massiccia emorragia materno fetate).

Nel caso di gravida D-negativa con ricerca anticorpi negativa, il TIA dovrà essere ripetuto almeno una volta alla 20 ° settimana e dopo mensilmente fino al parto (fig 1):

<b>Entro il I° trimestre determinazione</b>	
<b><u>Emogruppo</u>: ABO, <u>Rh</u> D, Fenotipo <u>Rh</u>, <u>Kell</u> + Ricerca anticorpi Irregolari</b>	
<b>Nel corso della gravidanza e al parto riconferma <u>Emogruppo</u></b>	
<b>Rh D positiva + <u>Coombs</u> Ind. Negativo</b>	<b>Rh D negativa + <u>Coombs</u> Ind. Negativo</b>
<b>Ripetizione test di <u>Coombs</u> indiretto</b>	<b>Ripetizione test <u>Coombs</u> indiretto</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• alla 28° settimana</li><li>• al parto</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mensilmente dalla 20° settimana</li><li>• Al parto.</li></ul>

fig 1

### 7.2 MONITORAGGIO DELLA GRAVIDA IMMUNIZZATA :

Le donne con **test di Coombs indiretto positivo** vanno inviate al Centro Trasfusionale con impegnativa per consulenza di medicina trasfusionale urgente (codice esenzione M50) previo appuntamento tel 085 42522375.. Presso l'ambulatorio il medico trasfusionista valuterà gli esami già effettuati e prescriverà l' esecuzione di ulteriori esami. Informerà dettagliatamente la paziente sulla situazione immunoematologica e la invierà all'ambulatorio di fisiopatologia prenatale con impegnativa per " Visita ostetrica per gravidanza a rischio" e con codice di esenzione M 50. Gli esami immunoematologici verranno monitorizzati secondo lo schema allegato nella fig2:

<b>Test di Coombs Indiretto Positivo</b>
<input type="checkbox"/> <b>Monitoraggio:</b>
• ogni 4 settimane fino alla 18° settimana
• ogni 2 settimane nel terzo trimestre
<b>Se il titolo incrementa</b>
<input type="checkbox"/> <b>Monitoraggio:</b>
•ogni settimana o più frequentemente

fig 2

Se la ricerca di anticorpi risulta positiva, indipendentemente dal trimestre di gestazione, deve essere identificata la specificità degli anticorpi implicati, al fine di valutare il rischio di MEN. Il rischio che il



feto sia affetto da anemia emolitica è legato al tipo di anticorpo presente , al titolo dell'anticorpo , al periodo di insorgenza dell'immunizzazione , ad anamnesi positiva di neonato affetto da MEN (fig3-4).  
Le donne effettueranno monitoraggio ostetrico secondo le indicazioni contenute nel paragrafo 7.3



Fig 3

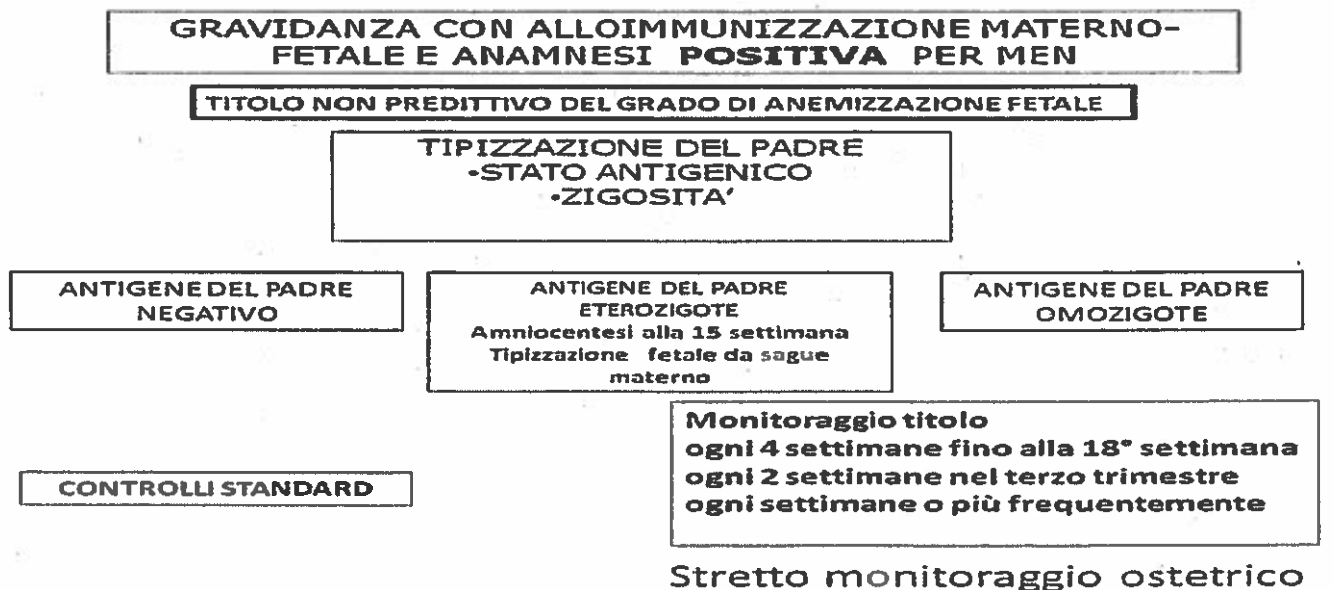


Fig 4

### 7.2.1 Monitoraggio immunoematologico di gravida immunizzata con anti D

E' utile sottoporre il partner a determinazione del gruppo ABO, Rh(D) e del fenotipo Rh e di determinare gli altri antigeni eritrocitari, quando presenti alloanticorpi verso altri antigeni clinicamente significativi. La tipizzazione del partner consente, infatti, di valutare l'eventuale rischio di MEN associata alla gravidanza in corso, poiché in base ai risultati del fenotipo Rh del coniuge è possibile

dedurre il probabile genotipo e predire la possibilità che il feto esprima l'antigene Rh(D) o altri antigeni di origine paterna.

Nel caso in cui il fenotipo del partner fosse suggestivo di elevata possibilità di antigene Rh(D) eterozigote e la donna si sottopone a diagnosi prenatale invasiva (amniocentesi, prelievo dei villi coriali) per altre indicazioni, può essere determinato l'assetto antigenico del feto, utilizzando eritrociti fetali. Al momento non è effettuabile presso il nostro Centro.

Nel caso di gravida con presenza di anticorpi anti-D, è necessario eseguire la titolazione dell'anticorpo, con controlli seriatissimi ravvicinati nel tempo, in genere ogni 4 settimane, fino alla 18 settimana di gestazione, successivamente ogni 2 settimane.

In caso di gravidanza con anamnesi negativa per MEN (prima gravidanza immunizzante), la titolazione è considerata come test di screening per rischio di malattia fetale.

Le titolazioni sono effettuate su un campione di sangue fresco e i risultati delle titolazioni eseguite su diversi campioni devono sempre essere confrontate con quelli ottenuti con il campione utilizzato per la titolazione precedente (che verrà conservato congelato), impiegando gli stessi globuli rossi test per una corretta verifica di eventuali variazioni del titolo anticorpale durante la gravidanza.

Per la titolazione verranno utilizzate emazie D-eterozigoti (R1r,R2r), in quanto in grado di meglio testimoniare l'espressione antigenica del feto; In caso di non disponibilità di tali emazie, nelle diverse settimane di gestazione, verranno utilizzate sempre le stesse emazie test dello stesso fenotipo Rh indicando il genotipo delle emazie nel referto.

Il valore critico del titolo anticorpale è quello che si associa ad un rischio significativo di idrope fetale. Per titolazioni effettuate con un test indiretto all'antiglobulina in fisiologica (senza additivo), con incubazione di 60 minuti a 37 °C (tecnica standard), utilizzando anti-IgG, il valore critico è pari a 1:32.

### ***7.2.2 Monitoraggio immunoematologico di gravida immunizzata verso altri antigeni***

In linea di massima, le forme di MEN non dovute a incompatibilità Rh(D) o ABO sono clinicamente benigne ma possono presentarsi anche casi di varia gravità. (vedi tab 1). In ordine di frequenza, dopo la MEN da incompatibilità Rh(D) e quella da incompatibilità ABO, vengono le MEN da incompatibilità verso l'antigene c(Rh4) del sistema Rh e quelle da incompatibilità Kell (K1): esse sono anche quelle clinicamente più severe;

Il titolo degli anticorpi verso gli antigeni Kell deve essere considerato critico, se uguale o superiore a 1:8 inoltre il titolo non correla con lo stato fetale per cui il feto deve essere monitorato per i segni di anemia, preferibilmente con flussimetria dell'arteria cerebrale media (ACM/PVS) con eco-Doppler, visto il duplice meccanismo patogenetico: emolisi e soppressione dell'eritropoiesi fetale, in causa nell'anemia fetale da anticorpi anti Kell.

Seguono, sempre in stretto ordine di frequenza, le MEN dovute a incompatibilità per gli antigeni dei sistemi Kidd, Duffy, MNS, Dombrock e, via via, le altre, tutte assai rare.

L'immunizzazione verso l'antigene M, nella quale possono essere presenti anche anticorpi di classe IgG, raramente sono causa di MEN.

I protocolli relativi alle indagini in corso di gravidanza, a quelle in periodo perinatale e post-natale sono gli stessi per la MEN da incompatibilità Rh(D).

Ovviamente, una volta identificata una specificità, le emazie testo da utilizzarsi nei controlli, nelle titolazioni e nello studio dell'eluato dagli eritrociti neonatali dovranno contenere l'antigene in causa, mentre, altrettanto chiaramente, il sangue da utilizzare per una eventuale ET o per una trasfusione al neonato dovrà esserne privo.

### **7.2.3 Monitoraggio della MEN da ABO**

Quando la tipizzazione gruppo ematica della madre e del partner indica l'esistenza di una incompatibilità ABO, possono insorgere MEN da ABO dovute alla presenza nel siero materno di anticorpi anti-A e/o anti-B di classe IgG.

La ricerca di IgG anti-A e/o anti-B nel corso della gravidanza è scarsamente indicativa ai fini di pronosticare la comparsa di una MEN ABO nel nascituro. La maggioranza delle gravide, in particolare quelle di gruppo O, hanno IgG anti-A e/o anti-B (e anti-A,B) nel proprio siero, mentre i neonati affetti da MEN ABO, soprattutto in forma clinicamente importante, sono relativamente scarsi in 1 su 3000 nascite possono esserci complicanze gravi. L'incidenza della MEN ABO è più frequente e di gravità maggiore nelle gravide di razza Africana .

Nella determinazione degli anticorpi ABO di classe IgG, la ricerca deve essere eseguita in siero di Coombs e condotta dopo clivaggio delle agglutinine IgM anti-A e/o anti-B, naturalmente presenti nel siero della madre, con sostanze riducenti: 2-mercaptoetanololo (2-ME) o ditiotreitolo(DTT) o con metodica in emoagglutinazione in fase solida su colonna con siero anti IgG ( metodica 9b).

Tale test durante la gravidanza verrà eseguito fra la 33<sup>a</sup> e la 37<sup>a</sup> settimana di gestazione se la donna è di gruppo O e il padre diverso da O e solo se nella precedente gravidanza il neonato ha manifestato una MEN da ABO o un test di Coombs diretto positivo . In tal caso verrà verrà eseguita la ricerca e titolazione delle immunoglobuline anti A e/o anti B di tipo IgG indicando sulla richiesta il gruppo del padre. Un titolo maggiore di 512 alla nascita è stato correlato con iperbilirubinemia severa.

Alla nascita quando la madre è di gruppo O e si è in presenza di evidenze laboratoristiche (TAD positivo) o cliniche (ittero) di emolisi neonatale, in assenza di cause note, è indicato ricercare e titolare le IgG anti-A o anti-B nel siero materno

Molto spesso, pur in presenza di incompatibilità ABO e di IgG anti-A e/o anti-B nel siero materno, il TAD risulta negativo o dubbio e spesso non vi è MEN clinicamente apprezzabile. Ciò è in diretta relazione con il numero e la maturità dei siti antigenici A,B o AB sui globuli rossi neonatali.

Se il TAD è positivo, si deve eseguire l'eluizione delle IgG (anti-A e/o anti-B) adese alle emazie neonatali o la ricerca di anti A o anti B di tipo IgG nel siero del neonato. In questo neonati può manifestarsi una anemizzazione tardiva .

## **7.3 SORVEGLIANZA FETALE**

Nella gravida immunizzata con l'antigene presumibilmente presente sulle emazie fetali con un titolo anticorpale critico o comunque in aumento, si dovranno iniziare le valutazioni seriate della PSVMCA eseguite presso l'ambulatorio di Gravidanza a rischio del reparto di Ostetricia ( da operatori dotati di certificato di competenza

per l'esecuzione ed interpretazione della flussimetria feto-materna) a partire da 18 settimane di e.g. fino a 35 settimane .

Nel caso di feti con anamnesi positiva per pregressa gravidanza affetta da isoimmunizzazione attiva ( anti D o altri anticorpi a rischio di MEN moderata o grave ) si procederà secondo il flusso comportamentale allegato

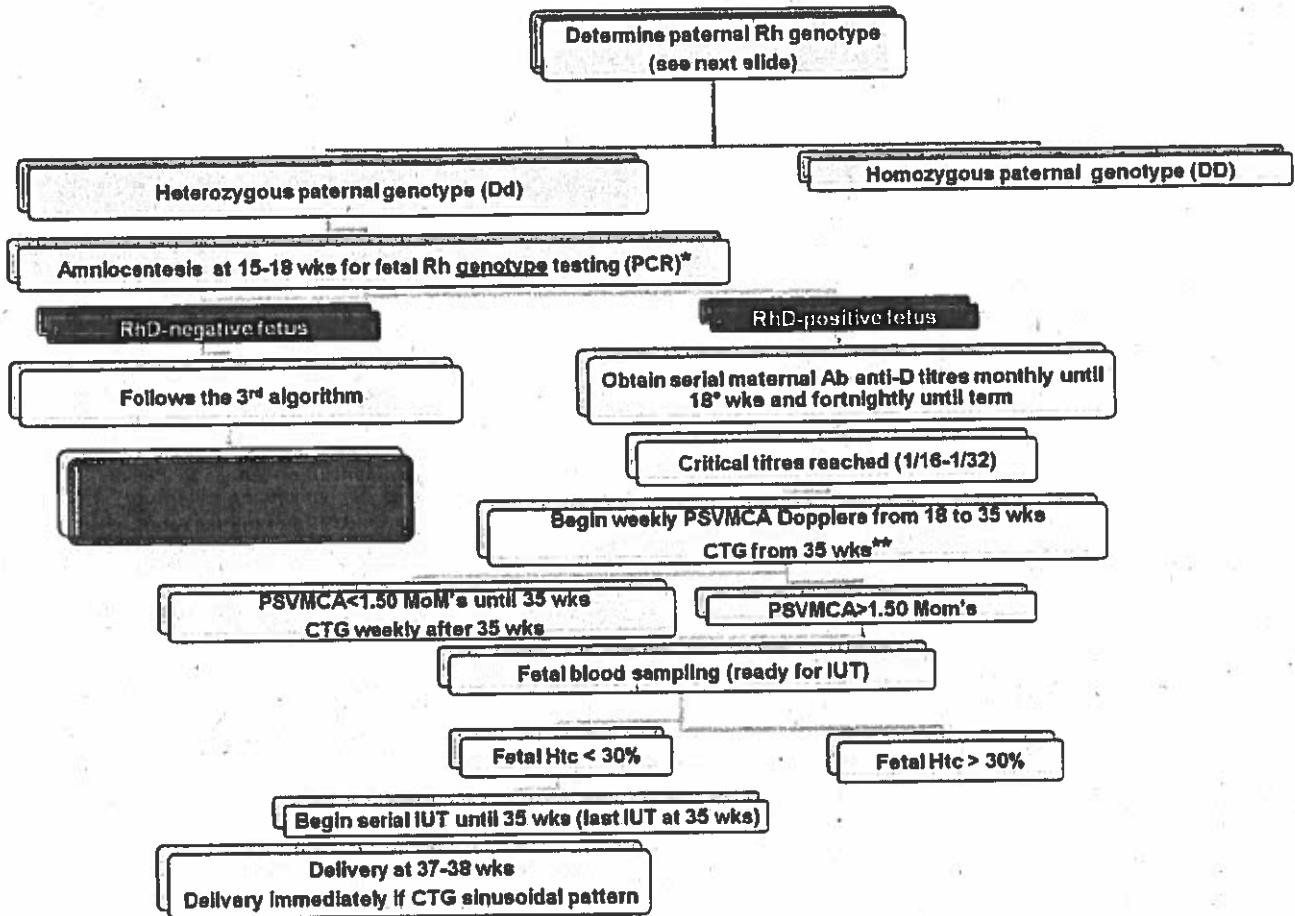


Fig 5

Le valutazioni seriate del PSVMCA dovranno effettuarsi dalla 18esima settimana di e.g. a prescindere dal titolo anticorpale materno; la gravità del danneggiamento fetale di solito rimane costante o aumenta rispetto alla gravidanza precedente.

Se la PSVMCA risulta essere superiore a 1.50 MoMs per e.g., si dovrà effettuare la cordocentesi essendo pronti all'eventuale contestuale effettuazione di trasfusione in utero

Se l'ematocrito fetale è <30% e l'età gestazionale è <a 35 settimane: si effettuerà la prima trasfusione intrauterina. Le eventuali successive trasfusioni in utero verranno stabilite in base all'epoca di gestazione ed al valore dell'ematocrito fetale post-trasfusionale. L'ultima trasfusione verrà comunque effettuata entro la 35esima settimana. Dopo la 35esima settimana il tasso di falsi positivi dovuti alla valutazione della PSVMCA aumenta e pertanto sarà necessario sorvegliare il benessere fetale tramite cardiocotografia (CTG). Si dovrà intervenire con l'espletamento del parto nel caso di tracciato cardiocotografico sinusoidale (segno di anemia fetale moderata-severa). In caso di CTG normali, si potrà stabilire il timing del parto intorno a 37-38 settimane. La modalità di espletamento del parto avverrà tramite taglio cesareo.

Se l'ematocrito fetale è  $\geq 30\%$ , non si procederà ad effettuare la trasfusione in utero ma si ripeteranno le valutazioni flussimetriche seriate fino alla 35esima settimana (per valutare la necessità di una eventuale ripetizione della cordocentesi) e valutazioni settimanali CTG fino a 37-38 settimane. Il timing del parto sarà comunque a 37-38 settimane.

N.B. Altre indagini alle quali devono essere sottoposte le gestanti alloimmunizzate comprendono:

1. la precisa datazione della gravidanza, indispensabile presupposto per valutare il significato di grandezze quali il valore dell'emoglobina e dell'ematocrito del sangue fetale ed il valore del MCA-PSV.
2. la valutazione ecografica dell'accrescimento fetale
3. lo studio morfologico del feto

### 7.3.1 DIAGNOSTICA FLUSSIMETRICA

L'utilizzo della diagnostica Doppler quale metodica per studiare l'emodinamica dell'anemia fetale ha sostituito progressivamente la valutazione spettrofotometrica del liquido amniotico. Essa ha lo scopo di individuare criteri utili a programmare e a dilazionare le procedure invasive (cordocentesi), sempre gravate da complicanze quali peggioramento dell'alloimmunizzazione, bradicardia fetale, morte fetale, etc.

Il razionale è il seguente: l'anemia fetale induce modificazioni circolatorie iperdinamiche, direttamente legate alla riduzione di viscosità nel sangue che a sua volta induce un aumento di ritorno venoso al cuore. Si osserva, dunque, un aumento della gittata cardiaca, correlato alla diminuzione dell'ematocrito, la cui finalità sarebbe il mantenimento di un'adeguata perfusione di ossigeno a tutti gli organi fetali. Tardivamente si ha una vasodilatazione nei distretti vascolari periferici come reazione compensatoria all'ipossia cronica. In realtà, per evidenziare a livello cerebrale la presenza di una vasodilatazione tale da modificare l'indice di pulsatilità (PI) dell'arteria cerebrale media, è necessario che l'ematocrito fetale scenda al di sotto del 12%.

Esiste, invece, una significativa correlazione lineare inversa fra l'ematocrito fetale e la velocità di picco sistolico dell'arteria cerebrale media (MCA-PSV), per cui al calare del primo corrisponde un aumento della seconda (La velocità di picco sistolico aumenta progressivamente durante la gravidanza e si è dimostrata in grado di identificare un'anemia fetale moderata (HGB<0,65 MoM ) o severa (HGB<0,55 MoM), quando la suddetta velocità raggiunge o supera, rispettivamente, i 1,50 MoM e 1,55 MoM. Tale metodica consente di raggiungere una sensibilità del 100% associata ad una falsa positività del 12% (tuttavia la percentuale dei falsi positivi aumenta dopo le 35 settimane di e.g.). Lo studio velocimetrico dell' ACM evita quindi un notevole numero di indagini invasive (amniocentesi e funicolocentesi), riservandole ai soli casi ove la MCA-PSV superi il cut-off di 1,50 MoM. E' stata anche ideata una formula per calcolare il valore dell'HGB fetale in MoM in base al valore del MCA-PSV in MoM.

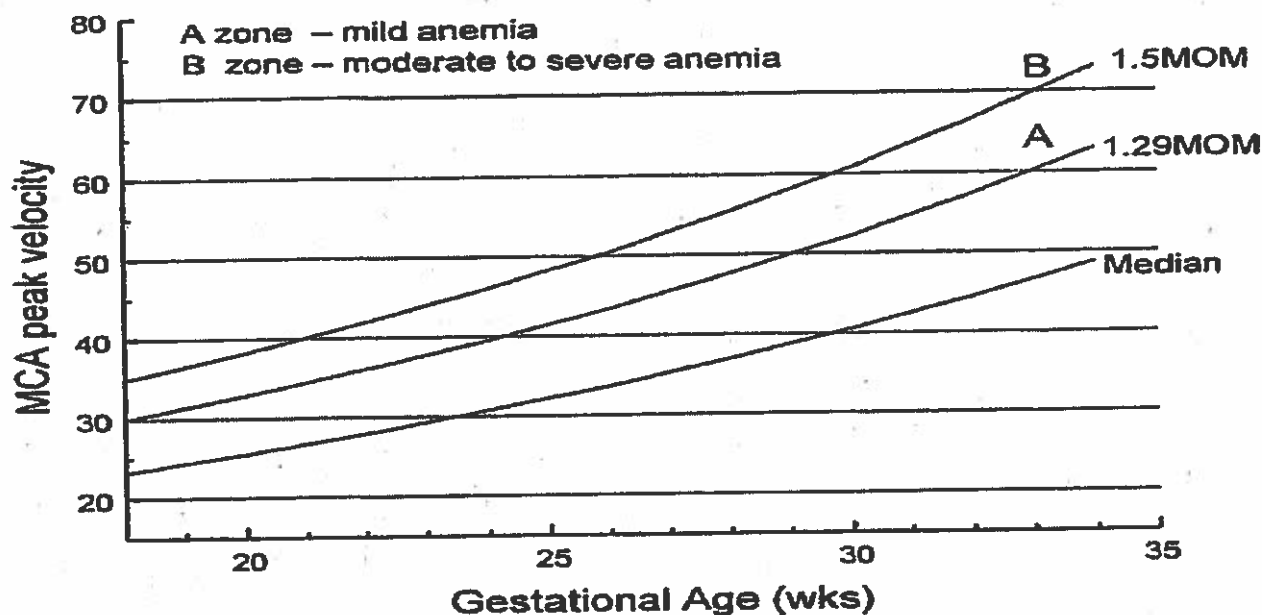


Fig6. Valori di velocità di picco sistolico dell'arteria cerebrale media in funzione dell'età gestazionale e predizione dello stato di anemia fetale.

WEEK OF GESTATION	MULTIPLES OF THE MEDIAN			
	1.00 (MEDIAN)	1.29	1.50	1.55
	cm/sec			
18	23.2	29.9	34.8	36.0
20	25.5	32.8	38.2	39.5
22	27.9	36.0	41.9	43.3
24	30.7	39.5	46.0	47.5
26	33.6	43.3	50.4	52.1
28	36.9	47.6	55.4	57.2
30	40.5	52.2	60.7	62.8
32	44.4	57.3	66.6	68.9
34	48.7	62.9	73.1	75.6
36	53.5	69.0	80.2	82.9
38	58.7	75.7	88.0	91.0
40	64.4	83.0	96.6	99.8

Figura 7. Valori attesi di velocità di picco sistolico dell'arteria cerebrale media in funzione dell'età gestazionale e rispettivi MoMs.

WEEK OF GESTATION	MULTIPLES OF THE MEDIAN				
	1.16	1.00 (MEDIAN)	0.84	0.65	0.55
	grams per deciliter				
18	12.3	10.6	8.9	6.9	5.8
20	12.9	11.1	9.3	7.2	6.1
22	13.4	11.6	9.7	7.5	6.4
24	13.9	12.0	10.1	7.8	6.6
26	14.3	12.3	10.3	8.0	6.8
28	14.6	12.6	10.6	8.2	6.9
30	14.8	12.8	10.8	8.3	7.1
32	15.2	13.1	10.9	8.5	7.2
34	15.4	13.3	11.2	8.6	7.3
36	15.6	13.5	11.3	8.7	7.4
38	15.8	13.6	11.4	8.9	7.5
40	16.0	13.8	11.6	9.0	7.6

\*The hemoglobin values at 0.65 and 0.55 multiples of the median (cutoff points for mild and moderate anemia, respectively) are also shown. The values at 1.16 and 0.84 multiples of the median correspond to the 95th and 5th percentiles, respectively (the normal range).

Figura 8. Valori di riferimento dell'emoglobina fetale in funzione dell'età gestazionale.

#### 7.4 ESAMI DA EFFETTUARE SU MADRE E NEONATO ALLA NASCITA

Qualora, al parto, risulti che sulla puerpera non è mai stata eseguita tipizzazione ABO e Rh(D) o che la stessa è stata precedentemente eseguita una sola volta, si impone l'esecuzione o la ripetizione di tale indagine. Altrettanto evidente è la necessità di eseguire (o rieseguire) la ricerca degli anticorpi irregolari.

Nel caso sia necessario istituire immunoprofilassi la ricerca degli anticorpi irregolari va effettuata prima della somministrazione delle immunoglobuline anti-D.

Qualora si evidenzi nel siero materno la presenza di un anticorpo irregolare non anti-D, deve essere effettuata l'identificazione della sua specificità.

Secondo le indicazioni contenute nel protocollo Identificazione dai soggetti da sottoporre ad Immunoprofilassi Rh D, sul sangue del funicolo o del neonato viene effettuata la determinazione del Gruppo ABO sistema Rh D e del fenotipo Rh(D), con metodiche atte a rilevare anche il fenotipo Du o weak D secondo le modalità descritte nelle IOP SIT LIM 01-01.

Nel caso di un TDA positivo, si deve eseguire l'eluizione dell'anticorpo dalle emazie del funicolo, al fine di identificarne la specificità. Secondo le modalità indicate nella Fig 8 :

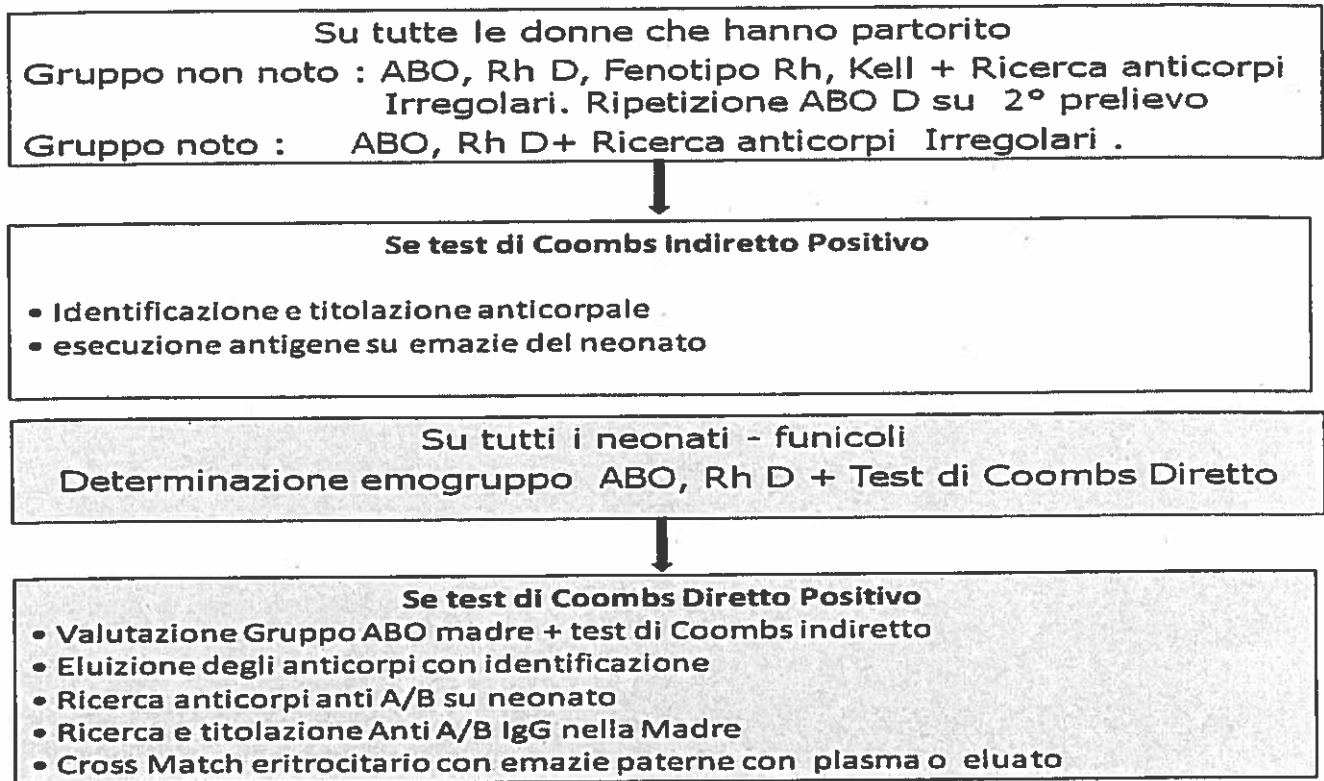


Fig 8

## 7.5 TERAPIA TRASFUSIONALE NELLA MEN

Qualora, in corso di gravidanza, si diagnostichi una malattia emolitica fetale particolarmente severa, è necessario intervenire con la trasfusione intrauterina (TIU), ec graficamente guidata.

La TIU va eseguita con sangue di gruppo O, D negativo; Il sangue da utilizzare nella TIU deve essere obbligatoriamente irradiato, per evitare la comparsa di una GvHD trasfusionale, notoriamente gravissima e molto spesso fatale. Il sangue impiegato nella TIU dovrebbe provenire da donatore CMV-negativo, deve essere leucodepleto e concentrato ad un ematocrito finale compreso fra 75% e 80%. (vedi IOP-SIT-DE-02 Criteri di assegnazione degli emocomponenti).

Lo scopo è di portare il valore ematocrito fetale a 45-50%; considerando che dopo la trasfusione il valore ematocrito in media scende dell'1% al giorno (corrispondente ad una riduzione dell'emoglobina del donatore di 0,4 g /100ml al giorno) e che non si dovrebbe far scendere il valore ematocrito sotto al 30-35%, si ottiene di dover eseguire una seconda trasfusione endouterina a 14-15 giorni dalla prima. Tuttavia l'eventualità di successive trasfusioni vanno programmate caso per caso in base all'età gestazionale, alla tolleranza del feto al sovraccarico post-trasfusionale, ed alle difficoltà tecniche incontrate. La possibilità di trasfusioni intrauterine ha notevolmente migliorato la prognosi di questi bambini: attualmente ci si può attendere una percentuale di sopravvivenza intatta in circa il 90% dei casi.

Complicanze della trasfusione intrauterina:

1. emorragie precoci fetali da lacerazioni del vaso incannulato
2. ematoma intrafunicolare
3. protratta bradicardia fetale



4. distacco intempestivo della placenta
5. rottura prematura pretermine delle membrane e corioamnionite
6. emorragie fetali tardive.

Le forme cliniche di MEN passibili di terapia alla nascita sono: l'ittero grave neonatale e l'anemia tardiva del neonato. La terapia dell'ittero grave del neonato è costituita dalla exsanguino - trasfusione (ET) alla nascita, da effettuarsi ogni volta che la bilirubina si attesti verso livelli ritenuti pericolosi dal neonatologo competente.

Se madre e neonato condividono lo stesso gruppo ABO, il sangue da utilizzarsi nella ET dovrà essere della stessa specificità, ovviamente D-negativo ,altrimenti è indicato utilizzare emazie di gruppo O risospese in plasma fresco congelato AB o del gruppo del neonato . Nella MEN da ABO vanno trasfuse emazia di Gruppo O lavate per eliminare il plasma residuo ( vedi IOP-SIT-DE-02 Criteri di assegnazione degli emocomponenti)

Le prove di compatibilità pre-trasfusionali dovranno essere condotte sul siero materno.

Nel caso il siero materno non fosse disponibile, le prove di compatibilità potranno essere eseguite sul siero neonatale e sull'eluato ottenuto dalle emazie neonatali sensibilizzate.

L'anemia tardiva del neonato (che interviene, di norma, nella seconda o terza settimana di vita) va curata con piccole trasfusioni di sangue D negativo, ABO-compatibile.

Il sangue da utilizzare nella ET post-natale o nelle trasfusioni per correggere l'anemia tardiva dovrebbe provenire da donatore e CMV-negativo, deve essere irradiato, leucodepleto.. (vedi IOP-SIT-DE-02 Criteri di assegnazione degli emocomponenti)

## 8 VERIFICHE E CONTROLLI

Valutazione del numero di donne gravide immunizzate che accedono ogni anno alla struttura. Valutazione della tipologia di anticorpi riscontrati.

## 9 ALLEGATI E MODULI UTILIZZABILI

01	Mod_SIT LIM 01-00-01 Richiesta Esami Generico
02	Mod_SIT LIM 01-00-02 Esami funicolo neonati
17	Mod_SIT LIM 01-00-17 Modulo Attestazione Immunoprofilassi consenso informato
23	Mod_SIT LIM 01-00-23 Referto Eliot_
24	Mod_SIT LIM 01-00-24 Richiesta e consenso informato per profilassi anti-D prenatale
25	Mod_SIT LIM 01-00-25 Profilassi anti D prenatale e consenso informato
26	Mod_SIT LIM 01-00-26 Scheda raccolta dati Paziente

## 10 FLUSSO OPERATIVO

Vedi PO SIT LIM 01 e d i flussi descritti all'interno del protocollo



11/02/2016

Allo scopo di facilitare l'utilizzo delle nuove etichette in Sala Parto si invia uno schema riassuntivo :

Tipologia di Richiesta	Modalità di Prelievo	Etichetta da Utilizzare
Esami immunoematologici (gruppo, coombs...) per pazienti ricoverati per i quali si può utilizzare Order Entry	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Caricare la richiesta su Order Entry</li> <li>2. Stampare l'etichetta</li> <li>3. Etichettare provetta con tappo viola</li> <li>4. Firmare l'etichetta</li> <li>5. Prima del prelievo fare il riconoscimento attivo del paziente chiedendo le generalità verificando la corrispondenza con i dati riportati sulla provetta</li> </ol>	<p>Nato il: _____ A: PESCARA F 16802953 TRASFUSIONALE Immunematologia Pral. 06/02/2016 TRIN</p>
Prove di Compatibilità/Type Screen/Seconda determinazione di gruppo	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Riempire l'etichetta</li> <li>2. Etichettare provetta con tappo viola</li> <li>3. Indicare l'ora del prelievo</li> <li>4. Firmare la provetta</li> <li>5. Prima del prelievo fare il riconoscimento attivo del paziente chiedendo le generalità verificando la corrispondenza con i dati riportati sulla provetta.</li> </ol>	<p>TAPPO VIOLA - CENTRO TRASFUSIONALE</p> <p>Cognome: _____ Nome: _____ Nato il: ____/____/____ Rep: _____ Data: ____/____/____ Ora: ____:____ Firma: _____</p>
Esami immunoematologici (gruppo coombs...) su FUNICOLO in SALA PARTO	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Riempire l'etichetta</li> <li>2. Riempire il modulo di accompagnamento</li> <li>3. Etichettare provetta con tappo viola</li> <li>4. Firmare la provetta</li> <li>5. Prima del prelievo fare il riconoscimento attivo del paziente chiedendo le generalità verificando la corrispondenza con i dati riportati sulla provetta</li> </ol>	<p>TAPPO VIOLA - CENTRO TRASFUSIONALE</p> <p>Cognome: _____ Nome: _____ Nato il: ____/____/____ Rep. SALA PAR Data: ____/____/____ Firma: _____ FUNICOLO GRUPPO + C.DIR</p>

L'etichette possono essere richieste al CT inviando preventivamente i rotoli che vengono utilizzati per Order Entry.

Si confida nella massima collaborazione

Anna Quaglietta