



Università degli Studi di Padova
Dipartimento di Scienze Ginecologiche e della Riproduzione Umana
Scuola di Specializzazione in Ginecologia e Ostetricia
Direttore Prof. Giovanni Battista Nardelli

Isoimmunizzazione materno fetale

Dott.ssa M. Tomassini

Caso clinico

- In data 22/03/11 ricovero di paziente di 36 aa con isoimmunizzazione materno fetale e rialzo del titolo anticorpale gravida alla 38° s.g.
- PARA 1001: 1 PS nel 2008 a termine gravidanza e puerperio riferiti normodecorsi
- Riferita immunoprofilassi con IgG anti D
- Gruppo: 0 Rh neg (ccdee) Kell kk
- TCI pos 1:1 fino al 01/02/11
- TCI del 08/03/11 pos 1:8
- **TCI del 21/03/11 pos 1:128**

Caso clinico

Ecografia ostetrica del 22/03/11:

Indagine eseguita per benessere e biometria fetali
DBP 95.3 (39sg) CC 333.8 (38 +2 sg) CA 331.0
(37sg) FL 72.6 (37+2sg)

Non segni di anemizzazione

Buon tono fetale

Placenta regolare per morfologia

Emodinamica fetale nella norma

Emoglobina stimata CM 12.9 g/dl

In data 23/03/11 si esegue Taglio Cesareo conservatore sul SUI per isoimmunizzazione materno fetale in gravida a 38+ 1 sg.

Caso clinico

NEONATO

- Nascita di neonato vivo e vitale APGAR ad 1 minuto 9 a 5 minuti 10
- Emogasanalisi: PH 7.359, pCO₂ 48.6 mmHg pO₂ 20.2 mmHg BE(ect)1.3 mmol/L Hb14.9 g/dl Ht 44%
- Gruppo neonato 23/03/11: 0 Rh positivo
- TCD positivo identificazione anticorpi immuni anti D
- Fototerapia in data 23-24/03/11
- Monitoraggio bilirubinemia fetale: 29/03/11 11.8 mg/dl

MADRE

- TCI 24/01/11: positivo anti D 1:128
- TCI 27/03/11: positivo anti D 1: 1024
- In data 25/03/11 si esegue immunoprofilassi anti –D
- Esame istologico di placenta e membrane:nella norma

Definizione

- L'isoimmunizzazione materno-fetale è una condizione in cui il sistema immunitario materno si attiva contro antigeni presenti sui globuli rossi fetali. Il caso più frequente è l'incompatibilità Rh
- Incidenza 2 %
- Mortalità elevata se non trattata

Fisiopatologia

■ 1° gravidanza



Passaggio di
eritrociti fetali
nel circolo
materno
Aumenta
progressivamente
fino al parto

Sensibilizzazione
materna

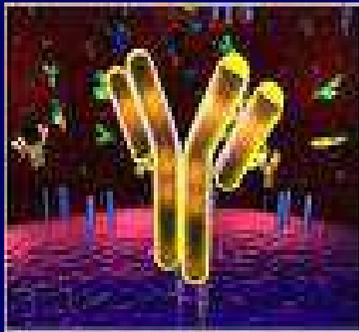
Produzione di
anticorpi IgM

SENSIBILIZZAZIONE MATERNA (Emorragie materno fetali):

- Parto
- IVG o Aborto spontaneo
- Gravidanza ectopica
- Procedura invasiva prenatale (amnio, villo, funicolocentesi, fetoscopia)
- Mola idatiforme
- Rivolgimento per manovre esterne
- Distacco di placenta
- Trauma addominale materno

Fisiopatologia

■ 2° gravidanza



Anticorpi
IgG nel
circolo fetale

**Distruzione
eritrociti
fetali**

Anemia

Ipossia e
acidosi

Edema placentare,
polidramnios
MEU

Ascite
Versamento
pleurico e
pericardico
Anasarca e
Idrope fetale

Epatomegalia
ipofunzionalità
iponchia

Eritropoiesi midollare
Eritropoiesi extra-midollare
↓
Aumento eritroblasti
(ERITROBLASTOSI FETALE)

Complicanze neonatali

- Anemia
- Idrope
- Iperbilirubinemia
- Ittero
- Danno neuronale : gangli della base,ippocampo nuclei sottotalamici
- Encefalopatia Kernicterus

Sistemi di antigeni eritrocitari

sistema Rh: D, d (assenza di D)
Dd variant, Cc, Ee, G

sistema Kell: K, k emolisi +
soppressione eritropoiesi

sistema Duffy: Fy(a) e Fy (b)

sistema Kidd: Jk(a)Jk(b)

Non-Rh(D) antibodies and risk of associated HDFN

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

Reproduced with permission from: Moise, KI. Hyaline disease of the fetus and newborn. In: Maternal-Fetal Medicine Principles and Practice, 5th ed, Creasy, RK, Resnik, J, Iams, JD (Eds), Saunders, Philadelphia 2004. p. 555. Copyright ©2004 Elsevier Science.

Test di screening

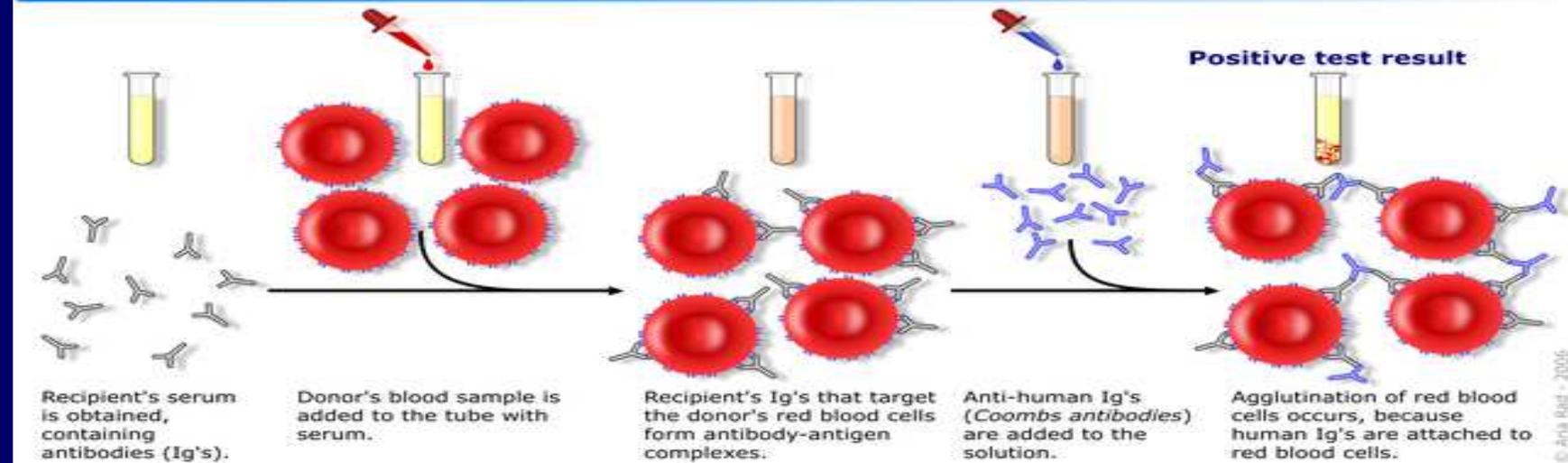
- Emogruppo materno e fattore Rh
- Test di Coombs indiretto

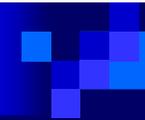
<1:16 **BASSO** rischio di anemia fetale

>1:16 **MODERATO/ALTO** rischio di anemia fetale

NB per sistema kell il titolo di anticorpi non correla con anemia

Indirect Coombs test / Indirect antiglobulin test





Follow up gravidanze a rischio

- Gruppo e fattore Rh fetale
- Ecografia
- Doppler velocimetria
- Spettrofotometria
- Sampling sangue fetale

Gruppo e fattore Rh fetale

Determinazione del Gruppo e fattore Rh paterni:

- Padre omozigote per Rh D: **feto 100% Rh positivo**
- Padre omozigote per Rh d: **feto 100% Rh negativo**
- Padre eterozigote Rh D/d: **feto 50% Rh negativo/Rh positivo**

Amniocentesi: PCR su amniociti

Ricerca di free DNA nel circolo materno

(correlato con sg)

Apoptosi eritroblasti e cellule del sinciziotrofoblasto

Free DNA

Placenta

Riconoscimento DNA fetale per metilazione

Presenza cr y

Presenza di mutazioni materne paterne conosciute

Amplificazione PCR

Ecografia

- Circonferenza addominale fetale
- Milza (epatosplenomegalia per eritropoiesi extramidollare)
- Rapporto circonferenza cranica / circonferenza addominale **CC/CA**
- Diametro vena ombelicale(ipertensione portale)
- Ascite, versamento pleurico e pericardico
- Liquido amniotico
- Spessore placenta

Am J Obstet Gynecol 2003



Longitudinal view of fetus with ascites and enlarged placenta



Courtesy of Svena Julien, MD and Charles Lockwood, MD.

Longitudinal view of fetal abdomen showing fetal ascites



Courtesy of Svena Julien, MD and Charles Lockwood, MD.

Transverse view of fetal abdomen showing anechoic rim of abdominal fluid



Courtesy of Svena Julien, MD and Charles Lockwood, MD.

VELOCIMETRIA DOPPLER ARTERIA CEREBRALE MEDIA

Riduzione viscosità ematica

Incremento della velocità del flusso ematico cerebrale per centralizzazione del circolo

Aumento della velocità di picco sistolico nell'A.cerebrale media

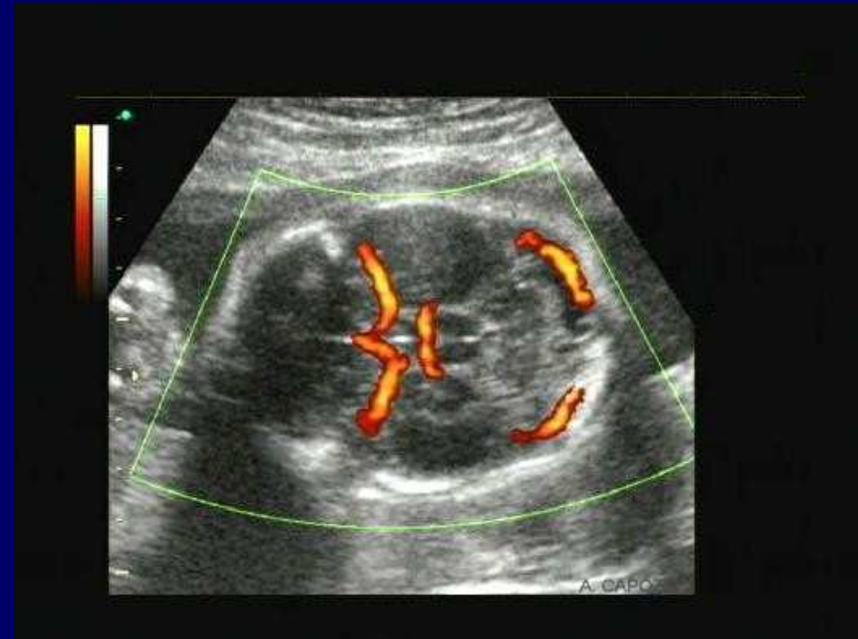
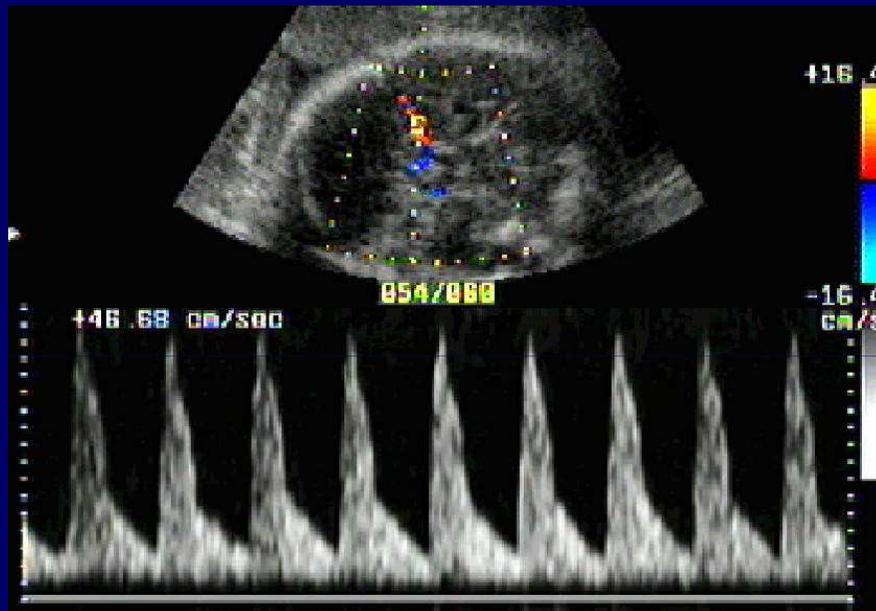
Risponde rapidamente allo stato ipossico

Sensibilità 100%

Falsi positivi 12% (ACOG 2006)

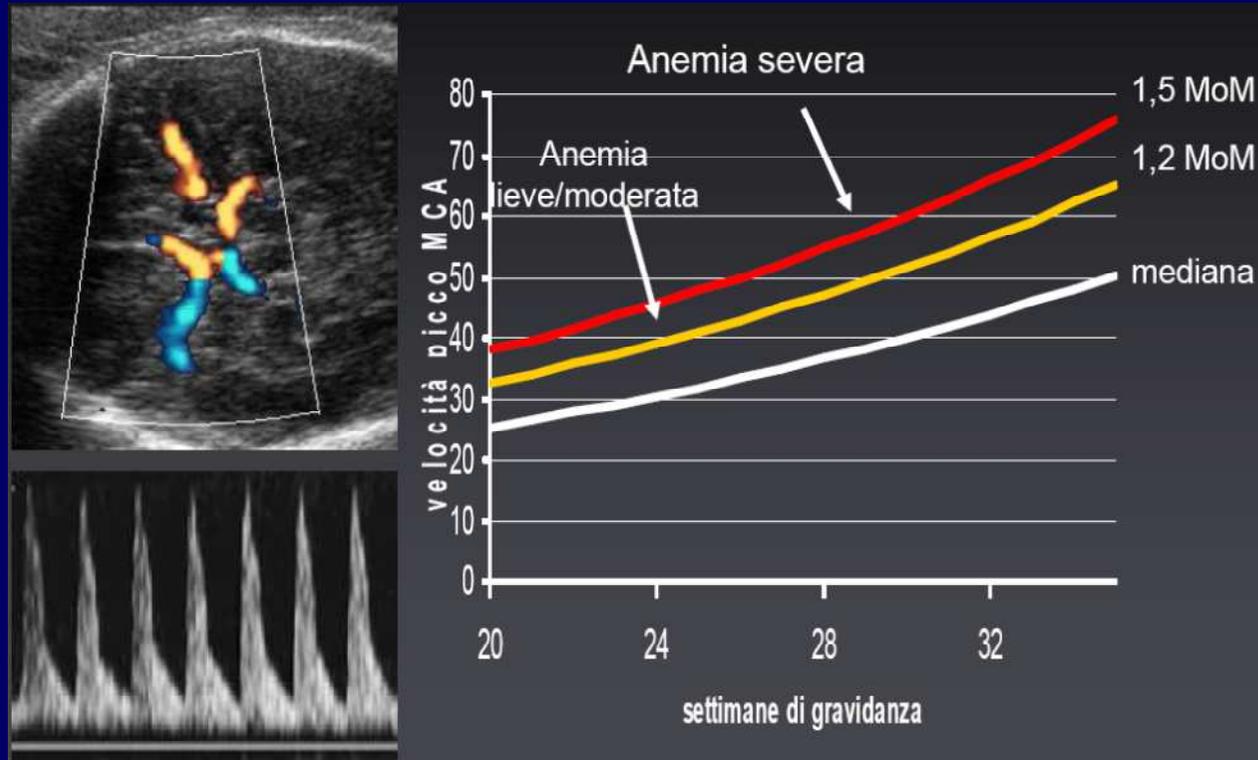
Determinants of the middle cerebral artery peak systolic velocity in the human

Picklesmir *Am J Obstet Gynecol* 2007,197:526



- Scansione assiale comprendente talami e cavo del setto pellucido
- Visualizzazione A.Cerebrale Media di un lato in tutta la sua lunghezza
- Campionamento vicino all'origine (velocità di picco decresce con la distanza)
- Angolo tra fascio di ultrasuoni incidente e flusso ematico più vicino possibile allo 0
- Ripetere la misurazione 3-5 volte

VELOCIMETRIA DOPPLER ARTERIA CEREBRALE MEDIA



Classificazione grado anemia

- **Anemia lieve 0.84-0.65 MoM** per epoca gestazionale
- **Anemia moderata 0.65 0.55 MoM** per epoca gestazionale
- **Anemia grave <0.55 MoM** per epoca gestazionale

TABLE 1. REFERENCE RANGES FOR FETAL HEMOGLOBIN CONCENTRATIONS AS A FUNCTION OF GESTATIONAL AGE.*

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).

Determinazione spettrofotometrica della bilirubina

Emolisi

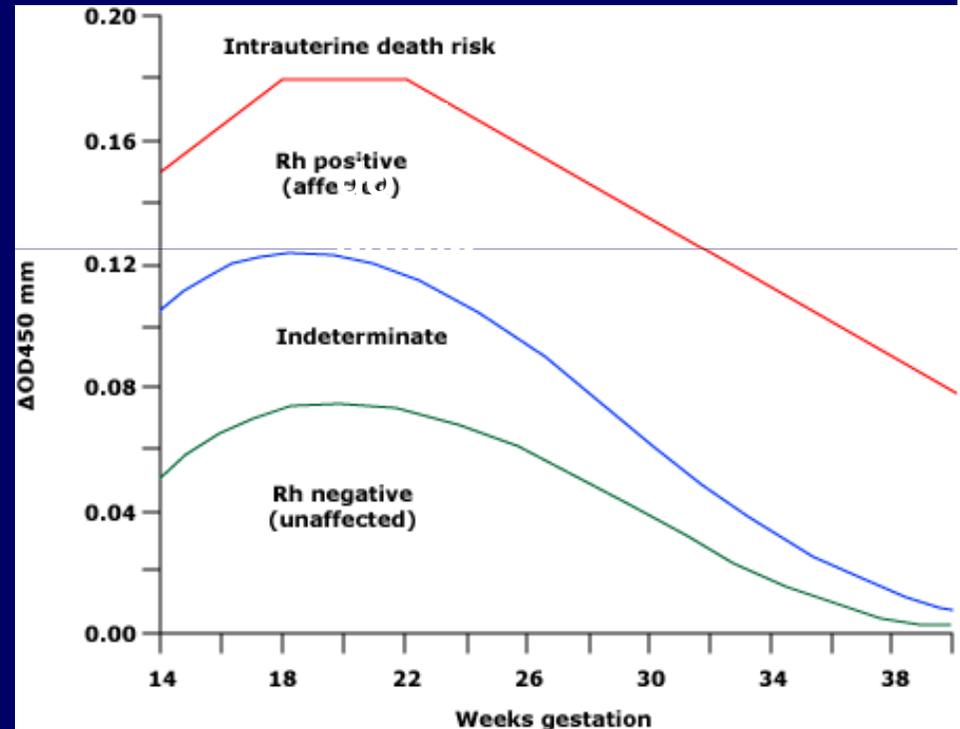
Bilirubina

Secrezioni
tracheobronchiali/
rene fetale

Liquido
amniotico

Cambiamento della densità
ottica (delta OD) a 450 nm
che il liquido amniotico
subisce a causa della
presenza della bilirubina

Correlazione con grado di
emolisi



2 curve standardizzate Liley (27-40 sg) e
Queenan 14 -40 sg più sensibile

Doppler MCA vs Spettrofotometria LA

Doppler MCA

- Indagine non invasiva
- Sensibilità 88%
- Specificità 82%
- Accuratezza 85%
- Dopo 35 sg aumentano i falsi positivi

Spettrofotometria LA

- Indagine invasiva
- Sensibilità 76%
- Specificità 77%
- Accuratezza 76%
- No diagnostico se isoimmunizzazione con sistema Kell

SAMPLING SANGUE FETALE

Funicolocentesi:

Individuazione di un segmento di cordone fisso o inserzione sulla placenta
individuazione V.ombelicale (posizione doppler)

Sampling vena intraepatica (porzione intraepatica v.ombelicale o vena epatica di sx)

Cardiocentesi: non utilizzata

Procedura:

Guida ecografica
Conferma origine fetale
del campione
MCV(GB fetali più grandi)
Formula leucocitaria
Test kleihauer

Complicanze:

Sanguinamento
(trombocitopenia)
Bradycardia
Ematoma
Infezioni
Emorragia materno-fetale
Perdita fetale

Valutazione di:

Emoglobina
Ematocrito
Conta reticolociti
Test di Coombs diretto
Bilirubina totale

TERAPIA:Trasfusione fetale

18°-35° s.g

Trasfusione intraperitoneale (IPT)

- Accesso indiretto
- Sfrutta la capacità dei linfatici diaframmatici di riassorbire cellule e liquidi
- È meno efficace se è presente idrope
- Feto idropico ha verosimilmente il sistema linfatico compromesso
- Utilizzata in caso di difficoltosa visualizzazione del funicolo e in età gestazionale precoce
- Lento assorbimento (7-10 giorni)

Trasfusione intravascolare (IVT)

- Vena ombelicale
- Vena intraepatica > gravidanza gemellare
- Risultato immediato

Approccio combinato

Intraperitoneale seguita da intravascolare

Aumenta intervallo tra le procedure per lento assorbimento dalla trasfusione intraperitoneale

TERAPIA:Trasfusione fetale

18°-35° s.g

Trasfusione se $HT < 30\%$ $Hb < 2DS$
rispetto alla media per età gestazionale
(Hb 10-11 g/dl a 17 sg 14-15g/dl a termine)
Target Ht 40-50% (Ht fetale = $37\% \pm 4$ a
17 ° s.g Ht fetale = $43\% \pm 7$ a termine)

Sangue trasfuso:

0 Rh negativo

Screening per infezioni

Irradiato con raggi gamma e delecocitato reazioni
rigo

Ht 75-85% per ridurre volume trasfuso

Donatore autologo($Hb > 12.5$ g/dl) riduce rischio di
sensibilizzazione verso antigeni diversi, aumenta vita
media eritrociti per reticolocitosi materna

Volume da trasfondere:

IPT Volume trasfuso =
(età gestazionale – 20) x
10

IVT Volume trasfuso =
[volume feto-placentare
x (Ht finale– Ht iniziale)]
/ Ht del sangue trasfuso

TERAPIA:Trasfusione fetale

18°-35° s.g

Successive trasfusioni:

- Ht decresce circa di 1% al giorno
- 2° trasfusione dopo 10-14 giorni
- Poi ogni 3-4 settimane soppressione eritropoiesi
- NB valutazione con velocimetria doppler perde capacità di discriminare tra forme di anemia gravi/moderate e forme lievi per la presenza di eritrociti adulti più piccoli e rigidi cambiano i parametri di riferimento.

Complicanze:

- Legate alla procedura della trasfusione
- Possibile danno cerebrale dovuto ad alterazioni emodinamiche volume e viscosità

Deti L et al Am J Obstet Gynecol. 2001;185(5):1048

Ghi T et al Ultrasound Obstet Gynecol. 2004;23(5):

Terapia <18° s.g - >35° s.g

- **<18 sg** trasfusione IVT fetale no tecnicamente eseguibile:

Plasmaferesi materna 3/sett.+ immunoglobuline endovenose 1/sett Howe DT et al Obstet Gynecol. 2007;110(4):880

Trasfusione intraperitoneale Moise KJ Jr Am J Obstet Gynecol. 2007;196(2):138.e1

- **≥35 s.g** rischi legati alla procedura sono > parto

Terapia neonatale

- **Fototerapia**

(Cremer, 1958)

- **Exsanguinotrasfusione**

(Wallerstein, 1946; Diamond, 1948)

- **IgG per via endovenosa**

(Hara, 1987)

- **Inibitori dell'emeossigenasi**

(Drummond e Kappas, 1981)

Management 1° gravidanza con isoimmunizzazione (ACOG 2006)

Titolo anticorpi
<1:16 1:32(
secondo i
laboratori)

TCl ogni mese
<24 sg
Ogni 2 settimane
>24 sg

Titolo anticorpi
<1:16 parto a
termine

Genotipo
paterno:
Omozigote dd
Eterozigote Dd
Omozigote DD

Negativo
Ripetere PVS
MCA
1/2 sett

Titolo anticorpi
>1:16 1:32

→ Feto Rh negativo → parto a termine

→ amniocentesi /free DNA

Feto Rh positivo

PVS MCA
SPETTROFOTOMETRIA

Positivo
PVS MCA 1/2 sett+
sampling fetale
trasfusione se Ht<30%
Induzione parto
37-38 sg se anemia moderata
32-34 sg se anemia severa
+ maturità polmonare fetale

Management 2° gravidanza con isoimmunizzazione

- Risposta immune materna più severa
- Più alta probabilità di complicanze fetali
- Titolo anticorpi non correlabile con emolisi ed anemia fetali
- Follow up come se titolo fosse alto

Prevenzione

RCOG 2011

- Soluzione sterile contenente IgG anti D derivanti da plasma umano
- Meccanismo d'azione non ancora chiarito
- Complicanze:
Infezioni anafilassi

Indicazioni:

- Aborto sempre dopo 12° sg no se spontaneo e <12° sg
- Gravidanza ectopica
- IVG
- Mola idatiforme
- Procedure invasive: amniocentesi villocentesi cordocentesi
- Sanguinamento nel 2° 3° trimestre

Immunoprofilassi antepartum

(RCOG 2011 ACOG 2006)

- Emorragia materno-fetale occulta NON è evento riconoscibile

SOMMINISTRAZIONE DI IMMUNOGLOBULINE

1 o 2 dosi (no evidenze in letteratura)

1° dose a 28° sg

2° dose se il parto non avviene entro 12 settimane dalla somministrazione delle immunoglobuline (per riduzione efficacia)

Riduzione immunizzazione fino allo 0.1%

Immunoprofilassi **post partum**

(RCOG 2011)

16% isoimmunizzazione senza immunoprofilassi post partum
2% isoimmunizzazione nonostante immunoprofilassi post partum

Indicazioni:

- Entro 72 ore dal parto
- No in donne già sensibilizzate
- Non previene la formazione di altri anticorpi dovuti ad antigeni diversi dal sistema Rh

Dose standard: 1000-1500 IU
500 UI neutralizzano 4 ml GB

Immunoprofilassi (RCOG 2011)

0.3% dei casi c'è un'emorragia materno-fetale > di 15 ml che **non è** coperta da una dose di 1500 UI



Test per quantificare globuli rossi fetali nel circolo materno:

- Kleihauer-Betke test: si basa sulla differente resistenza dei globuli rossi materni e fetali posti in una soluzione acida
- Rosette test: metodo enzimatico



- Aggiungere 125 microgrammi ogni ml in più (1 microgrammo =5UI)