112424

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
"ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES"

CAMBIO EN LA PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA DE EMBARAZADAS ALOINMUNIZADAS RH POSTERIOR AL PROCEDIMIENTO INVASIVO TRANSPLACENTARIO Y NO TRANSPLACENTARIO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

SUB-ESPECIALISTA EN MEDICINA MATERNO – FETAL

PRESENTA:
DR. LUIS ENRIQUE CASTAÑEDA CUBA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO:
DR. MARIO ESTANISLAO GUZMAN HUERTA

TUTOR: DR. JUAN MANUEL GALLARDO GAONA

INPer

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

MÉXICO, D.F. ~~2006~~ 2005

DIRECCION DE ENSEÑANZA

0350649

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES

DIRECTOR DE ENSEÑANZA
DR. RICARDO GARCIA CAVAZOS

SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA
DR. CARLOS NERY MENDEZ

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA MATERNO FETAL
MARIO ESTANISLAO GUZMAN HUERTA

TUTOR DE TESIS
JUAN MANUEL GALLARDO GAONA

SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Juan Enrique Castañeda Cuba
FECHA: 29 Sep 2005
FIRMA:

A Dios y la Virgen de Guadalupe por darme fuerzas a cada instante de estos dos años, tenerme en sus manos y no dejarme caer.

A mis Padres Rosa y Roger por el sacrificio realizado de afrontar situaciones difíciles para que yo siga adelante en este camino de mi profesión mi agradecimiento eterno y a mis hermanos : Rosa, Boris y Roger

A mis profesores del curso de Medicina Materno Fetal: Dr. Guzmán, Dra. Acevedo, Dr. Gallardo, Dra. Velásquez, Dr. García Cavazos y Edgar Hernández por sus enseñanzas desinteresadas y muy desprendidas en favor de nuestra formación y en especial al apoyo que recibí en momentos familiares muy difíciles un agradecimiento y compromiso hacia ustedes.

A mis amigos, amigos de largas horas de compartir nuestras vidas, gracias por su apoyo: Osvaldo, Rubén, David, Andrea, Sayra, Jorge, Julio, Pablo y Bernardett a todos ellos los llevare en mi recuerdo.

A todos los profesores que formaron parte de este camino de formación: Dres. Parra, Báez, Ramírez, Ortega, Aguinaga, Llano, Mayen, Berron, Ibarra Puig, Figueroa, Villagrana, Casanova, Vargas, Vidal, Hernández, Estrada, Enríquez.

INDICE:

Pág.

RESUMEN.....5

INTRODUCCIÓN.....6

PROBLEMA.....11

HIPÓTESIS.....12

OBJETIVOS.....12

MATERIALES Y MÉTODOS.....13

RESULTADOS 19-23

DISCUSIÓN.....24-26

ANEXOS.....27-35

RESUMEN:

Las técnicas invasivas como amniocentesis y cordocentesis son los procedimientos usados para la evaluación y tratamiento de fetos de embarazadas aloinmunizadas Rh con riesgo de desarrollar anemia. Estos procedimientos invasivos (amniocentesis o cordocentesis) han demostrado que la cantidad de hemorragia feto-materna es 15 veces mayor si el procedimiento invasivo es transplacentario en comparación al no transplacentario, lo cual estimularía la producción de los anticuerpos IgG (elevación de la prueba de Coombs indirecta) pudiendo incrementar potencialmente la severidad de la anemia hemolítica fetal. Se realizó un estudio Cuasi-experimental diseño pre-prueba-post-prueba y grupos intactos (uno de ellos de control) con embarazadas aloinmunizadas Rh que acudieron al Departamento de Medicina Materno Fetal del Instituto Nacional de Perinatología en México D.F en el periodo Abril 2004- Agosto 2005. Se formaron dos grupos de estudio A y B cada uno de ellos con 10 pacientes. Grupo A se les realizó procedimiento invasivo transplacentario (amniocentesis o cordocentesis) y Grupo B se les realizó procedimiento invasivo no transplacentario (amniocentesis o cordocentesis) se tomó una muestra de sangre periférica para determinar la prueba de Coombs indirecta inmediatamente antes del procedimiento y a los 7 días del procedimiento. Para observar si existe cambio en la prueba de Coombs indirecta en el grupo A y B se utilizó la prueba de Wilcoxon para datos pareados, Z= - 1.0, Sig asintot (bilateral) = 0.317 y para el grupo B Z= - 1,465 , Sig asintot (bilateral) = 0,143 y entre ambos grupos se utilizó U de Mann-Whitney 49.5 Z=-0.042 Sig asintot (bilateral)=0.967.

Conclusión: No se encontraron cambios significativos en la prueba de Coombs indirecta posterior a los 7 días del procedimiento invasivo transplacentario y no transplacentario y de igual manera no se encontró diferencia al comparar ambos grupos.

INTRODUCCION:

En 1609, la literatura francesa describe el primer caso de la enfermedad hemolítica fetal y del recién nacido; el nacimiento de unos gemelos, uno de los cuales presentó hidrops fetal muriendo rápidamente y el segundo presentó ictericia falleciendo posteriormente. Diamond y cols en 1932, demostraron que el hidrops y kernicterus son dos aspectos de una misma enfermedad en la cual la hemólisis de los glóbulos rojos del feto y neonato llevan a una eritropoyesis extramedular, causando hepato-esplenomegalia y la salida de eritroblastos a la circulación sanguínea una condición llamada eritroblastosis fetal. [1]

Levine y cols confirmaron que la enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido se debía a la aloinmunización Rh de la madre con factores fetales heredados del padre. El desarrollo de la profilaxis materna por Finn y cols en Inglaterra 1961 y Freda y cols en los Estados Unidos en 1963 [1]en gestantes primíparas Rh negativo ha reducido en forma notable la incidencia de la enfermedad hemolítica fetal durante los últimos 25 años de 45 x 10000 nacidos vivo (nv) a 10,2 x 10000 nv; pero aún sigue siendo un problema frecuente en la práctica obstétrica. La raza hispana tiene una incidencia de 12,4 x 10000 nacidos vivos (nv) siendo mayor en comparación con la raza blanca con una tasa de 10,5 x 10000 nv, la raza negra de 8,1x10000 nv, la raza asiática 2,2 x 10000 nv y otras razas 6,7 x 10000 nv. Según datos del Departamento de Medicina Materno fetal del Instituto Nacional de Perinatología (INPer) México D. F. la incidencia en esta institución es de 50-60 por 10000 nv pudiéndose explicar esta incidencia por ser un centro de referencia a nivel nacional. [3,4]

Se han identificado mas de 400 antígenos en el eritrocito, aunque algunos de ellos son importantes desde el punto de vista inmunitario y genético afortunadamente muchos son tan raros que su significado clínico es poco. Los individuos que carecen de un antígeno eritrocitario específico pueden producir potencialmente un anticuerpo si se expone a un antígeno.[6,8,9]

La enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido ocurre cuando glóbulos rojos fetales Rh positivos atraviesan la placenta exponiendo el antígeno del glóbulo rojo fetal al sistema inmunitario de la madre Rh negativo previamente aloinmunizada; el antígeno D del sistema Rh es el más común (90%), existiendo otros antígenos que pueden producir aloimmunización como : (C, c, E, e, cc y ce) sistema Kell, Duffy(fy), Kidd (jka y jkb) y mnss (m, n, s y s); esta segunda exposición a la madre de los eritrocitos fetales Rh positivos puede ocurrir durante el embarazo, aborto, embarazo ectópico, procedimientos invasivos y muy raro por transfusiones sanguíneas.[4,6-9,11]

Los anticuerpos Ig M formados por la madre están asociados a un estimulo primario siendo indetéctables a los 4 - 6 meses después de la exposición, en una segunda exposición de los linfocitos B sensibilizados con anterioridad reconocen al antígeno Rh-D de los eritrocitos fetales produciendo en días una rápida respuesta inmunitaria secundaria con la producción de Ig G Anti –D teniendo un mayor poder destructivo; las Ig G Anti-D cruzan la placenta y alcanzan la circulación fetal reaccionando con la superficie de los glóbulos rojos fetales causando su destrucción y por consiguiente anemia hemolítica.[10]

La capacidad para diagnosticar, tratar y prevenir la aloimmunización Rh durante el embarazo sigue siendo hoy unos de los mayores logros de la medicina fetal. Existen 5 modalidades que se complementan para la evaluación de los embarazos aloinmunizados Rh agrupándose en Procedimientos no invasivos (anticuerpos maternos y evaluación ultrasonográfica) y en Procedimientos invasivos (amniocentesis para la tipificación Rh DNA, espectrofotometría de la bilirrubina en líquido amniótico además de la cordocentesis para biometría hemática fetal).[11]

Una vez que el nivel de anticuerpos materno ha llegado a un título crítico definido como un título asociado con riesgo significativo para producir hidrops fetal, se debe recurrir a alguna forma de vigilancia fetal invasiva. [12]

La amniocentesis y cordocentesis son los procedimientos invasivos que evalúan y tratan la anemia fetal; estos procedimientos incrementan el riesgo de comunicación de ambas circulaciones poniendo en contacto los eritrocitos fetales con la sangre materna; la hemorragia feto-materna posterior a un procedimiento invasivo puede variar entre 0,1 ml a 13ml.[7,13]

Bowman y col determinaron el paso de 0.01ml de células fetales en 3%, 12% y 46% en mujeres embarazadas por trimestre respectivamente utilizando el método Kleihauer .[14]

En 1994 Bowman informa que la prevalencia de hemorragia después de una cordocentesis transplacentaria es 15 veces más que la prevalencia observada en quienes se le realizó amniocentesis, siendo la cantidad de hemorragia transplacentaria mayor después de una cordocentesis transplacentaria en comparación a la amniocentesis, pero en este estudio no

describe la localización de la placenta al momento de realizar la amniocentesis, además la diferencia entre la proporción de pacientes que tuvieron un aumento de los títulos de anticuerpos mayores o iguales a 2 diluciones con la placenta anterior y la proporción de pacientes que tuvieron un aumento de los títulos de anticuerpos mayores o iguales a 2 diluciones con la placenta posterior fue del 7,9% no existiendo diferencia significativa; este estudio es una serie de casos en donde para mostrar los resultados sólo se debió emplear estadística descriptiva y no la utilización de pruebas estadísticas para intentar encontrar una diferencia de proporciones; en el análisis de los resultados no se tomaron en cuenta 8 pacientes en la evaluación y de haber sido considerados en el grupo de incremento de 2 o más diluciones de la prueba de Coombs indirecta con placenta anterior (30/46) 65,2 %, la diferencia con el grupo de incremento de 2 o más diluciones de la prueba de Coombs indirecta con placenta posterior (14/28) 50% hubiera sido del 15.2%, no se considera un cálculo del tamaño de la muestra en este estudio. El paso de glóbulos rojos fetales por dichos procedimientos pueden estimular la producción de anticuerpos maternos en embarazos aloimmunizados Rh incrementado potencialmente la severidad de la anemia hemolítica fetal.[15]

Nicolini y col calcularon la hemorragia fetomaterna mediante Alfa Feto Proteína(AFP) fetal en sangre materna después de un procedimiento invasivo, existiendo una elevación de la proteína en un 65% de las embarazadas aloinmunizadas Rh cuando se realizó la cordocentesis con la placenta anterior en comparación con 16,5% de las embarazadas aloinmunizadas Rh con la placenta posterior ($p < 0,05$) además en este estudio se determinó la

concentración de anticuerpos D Ig G en UI/ml antes y después de 3 semanas del procedimiento invasivo no teniendo en consideración la localización de la placenta y se obtuvo un cambio de 181,5 UI en promedio reportando que no hubo diferencia significativa, una observación a este trabajo es que se trata de una serie de casos debiendo utilizar la estadística descriptiva para analizar y reportar los resultados y utiliza pruebas estadísticas para intentar encontrar una diferencia significativa entre estas concentraciones de anticuerpos.[16]

Chitrit y col mencionan hemorragia fetomaterna después de una cordocentesis en un 100% de los procedimientos, con una frecuencia del 81% cuando la placenta está anterior y 19% cuando la placenta es posterior, se comparó el riesgo de hemorragia cuando se realizó la cordocentesis con placenta anterior (33 de 61) con cordocentesis cuando la placenta esta lateral o posterior (7 de 42) (OR 5.89; 95% CI 2.27-15.3; p< 0.001) y se comparó en forma general la cordocentesis transplacentaria (38 de 78) con cordocentesis no transplacentaria (transamniotica) (0 de 18) (OR 37.0; 95% CI: 2.15-6.36; p < 0.001), la cantidad de hemorragia fetomaterna encontrada después de una cordocentesis con la placenta anterior (90th percentil 6.2ml; Intervalo 0.00-15.0ml), placenta lateral (90th percentil 4.58ml; Intervalo 0.00-7.0ml) y placenta posterior (90th percentil 1.35ml; intervalo 0.00-1.80ml) (p <0.001).[17]

El impacto de la inmunización se refleja en estimaciones de que aproximadamente 25% de lo hijos de las mujeres afectadas fallecen en la etapa perinatal; en una revisión de 18 series publicadas, Van Kamp y col, encontraron una mortalidad media del 31% con un intervalo del 9-50%, de la misma manera Tannirandorn y Rodeck en 1991 encontraron una mortalidad del 33%; entre las

causas predictoras de muerte perinatal más frecuentes que reportan es el hidrops (OR 8.7, p=0,0073), anemia fetal con Hb menor a 6mg/dl (OR 3.2, p=0,0422) estos hallazgos son reflejo de la severidad de la enfermedad que puede ser exacerbada por hemorragia feto-materna provocada por los procedimientos invasivos (amniocentesis o cordocentesis) y causas desconocidas; dentro de estas podría encontrarse el aumento de anticuerpos maternos por la misma hemorragia feto-materna que causa dichos procedimientos que en estos trabajos anteriormente referimos .[7,18,19]

Ante estos trabajos con fallas metodológicas en su realización en la cual no divide a la población por la localización de placenta o si el procedimiento invasivo es transplacentario o no transplacentario y la no utilización de la prueba de Coombs indirecta en diluciones como una forma de evaluación a nivel materno de la severidad de la enfermedad, nosotros nos planteamos realizar en el presente estudio teniendo en cuenta si el procedimiento invasivo es transplacentario o no transplacentario además de utilizar la prueba de Coombs Indirecta en diluciones, como se utiliza en nuestro Instituto así como en diferentes Instituciones de habla hispana planteándonos el siguiente problema.

PROBLEMA:

¿El número de veces que aumentan las diluciones de la prueba de Coombs indirecta en embarazadas aloinmunizadas Rh posterior al procedimiento invasivo transplacentario es mayor al número de veces que aumentan la prueba de Coombs indirecta en embarazadas aloinmunizadas Rh posterior a un procedimiento invasivo no transplacentario?

HIPOTESIS :

Las diluciones de la prueba de Commbs indirecta en embarazadas aloinmunizadas Rh posterior al procedimiento invasivo transplacentario aumentan 2 o mas veces con relación al incremento en las diluciones de la prueba de de Commbs indirecta en embarazadas aloinmunizadas Rh posterior al procedimiento invasivo no transplacentario

OBJETIVOS

1. Determinar la prueba de Coombs indirecta en embarazadas aloimmunizadas Rh antes del procedimiento invasivo transplacentario y no transplacentario.
2. Determinar la prueba de Coombs indirecta en embarazadas aloimmunizadas Rh a los 7 días del procedimiento invasivo transplacentario y no transplacentario.
3. Determinar el número de veces que aumenta la dilución de la prueba de Coombs indirecta de las embarazadas aloinmunizadas Rh sometidas a procedimiento invasivo transplacentario a los 7 días.
4. Determinar el número de veces que aumenta la dilución de la prueba de Coombs indirecta de las embarazadas aloinmunizadas Rh sometidas a procedimiento invasivo no transplacentario a los 7 días.
5. Medir la diferencia entre el numero de veces que aumenta la dilución de la prueba de Coombs indirecta de las embarazadas aloinmunizadas Rh después de 7 días del procedimiento invasivo transplacentario y el numero de veces que aumentan la dilución de la prueba de Coombs indirecta de las

embarazadas aloinmunizadas Rh después de 7 días del procedimiento invasivo no transplacentario.

DISEÑO DEL ESTUDIO:

Cuasi-experimental: diseño de prepruebas – postprueba y grupos intactos (uno de ellos de control).

MATERIALES Y METODOS

Lugar: INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA "Isidro Espinosa de los Reyes "MEXICO D.F. Abril 2004 – Agosto 2005.

Universo: Pacientes embarazadas aloinmunizadas Rh candidatas a procedimientos invasivos.

Método de muestreo : No probabilístico de casos consecutivos

Se realizó un estudio piloto cuasi-experimental: diseño de prepruebas – postprueba y grupos intactos (uno de ellos de control) de 10 gestantes aloinmunizadas Rh del tercer trimestre por grupo que fueron candidatas a procedimiento invasivo. Las pacientes embarazadas aloinmunizadas Rh que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión se registraron algunos datos relevantes para este trabajo en el anexo 3 posteriormente se le hizo firmar el consentimiento informado previa lectura de una carta informativa, en el momento de la realización del registro cardiotocografico previo al procedimiento invasivo, la enfermera del Departamento de Medicina Materno Fetal procedió a la toma de la muestra de sangre periférica del pliegue del brazo de las embarazadas aloinmunizadas Rh en 2 tubos sin heparina, realizado el

procedimiento invasivo se identificaba que tipo de procedimiento fue (transplacentario o no transplacentario) formando de esta manera dos grupos: A (transplacentario) y B (no transplacentario), la muestra de sangre periférica obtenida de la embarazada aloinmunizada Rh se transportaba inmediatamente al banco de sangre del mismo Instituto para la determinación de la prueba de Coombs indirecta mediante el reactivo de DianaGelCoombs, posteriormente se cito a los 7 días del procedimiento invasivo al Departamento de Medicina Materno Fetal del mismo Instituto para una segunda toma de sangre periférica para la determinación del test de Coombs Indirecto control siendo informado en diluciones.

Tamaño de la muestra: Estudio piloto 10 pacientes en cada grupo (procedimiento invasivo transplacentario y procedimiento invasivo no transplacentario).

CRITERIOS DE INCLUSION:

1. Embarazadas aloinmunizada Rh con feto único.
2. Embarazadas aloimmunizadas Rh que se les realice amniocentesis para espectrofotometría o cordocentesis para biometría hemática o transfusión intrauterina
3. Embarazadas aloimunizadas Rh con antecedente de hidrops fetal en embarazos previos y esposo Rh positivo a quien se le ofrezca procedimiento invasivo por el antecedente de hidrops fetal.
4. Embarazadas aloinmunizada Rh que por edad materna se le realice amniocentesis citogenética.

5. Embarazadas aloinmunizadas Rh que acepten participar en el estudio y firmen la hoja de consentimiento informado.

CRITERIO DE EXCLUSION:

1. Embarazadas aloinmunizada Rh que se le realice el procedimiento invasivo y no se tome la muestra a los 7 días posteriores al procedimiento invasivo transplacentario o no transplacentario.
2. Embarazadas aloinmunizada Rh que posteriormente a la cordocentesis se demuestre que el feto es Rh negativo.
3. Embarazadas aloinmunizada Rh que el procedimiento invasivo transplacentario o no transplacentario que se le realice sea complicado y demore más del tiempo promedio.

VARIABLES EN ESTUDIO

1. **PRUEBA DE COOMB INDIRECTO:**

Definición conceptual y operacional:

La prueba de Coombs indirecta es una prueba de laboratorio que permite la detección de anticuerpos eritrocitarios presentes en el suero o plasma del paciente, por sensibilización de hematíes in Vitro. Se expresa en títulos de diluciones; por convención los títulos son reportados como la dilución con la cual existe una reacción de aglutinación positiva Ej. Título dilución de 1:16, en el Laboratorio de Banco de Sangre del Instituto Nacional de Perinatología México D.F

Tipo de variable dependiente: Cualitativa (ordinal)

Nivel de medición:

Numero de veces que aumenta la dilución de la prueba de Coombs indirecta a los 7 días en comparación al previo del procedimiento invasivo transplacentario o no transplacentario.

PROCEDIMIENTO INVASIVO

Definición conceptual:

Amniocentesis:

Procedimiento por el cual bajo guía ultrasonografica continua se introduce una aguja espinal calibre 22, 3,5" con mandril colocado a través de la pared abdominal hasta el saco amniótico y se procede a extraer líquido amniótico.

Cordocentesis:

Procedimiento por el cual se procede de la misma manera que la amniocentesis pero su objetivo es tomar muestra de sangre fetal a nivel del cordón umbilical o realización de una transfusión sanguínea intrauterina.

Definición operacional:

Procedimiento invasivo transplacentario es aquella amniocentesis o cordocentesis que para lograr su objetivo tenga que atravesar la placenta.

Procedimiento invasivo no transplacentario es aquella amniocentesis o cordocentesis que para lograr su objetivo no tenga que atravesar la placenta.

Tipo de Variable Independiente: Cualitativa dicotómica

Nivel de medición: Expuesta a procedimiento invasivo transplacentario o no expuesta a procedimiento invasivo transplacentario.

RECOLECCION DE DATOS

El presente estudio se conformó por las embarazadas aloimmunizadas Rh-D que ingresaron al Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes " y fueron referidas al Departamento de Medicina Materno Fetal que cumplieran los criterios antes descritos y aceptaran mediante consentimiento informado participar en forma voluntaria previa explicación del estudio.

Posteriormente se llenó un formato para obtener datos clínicos de la paciente.

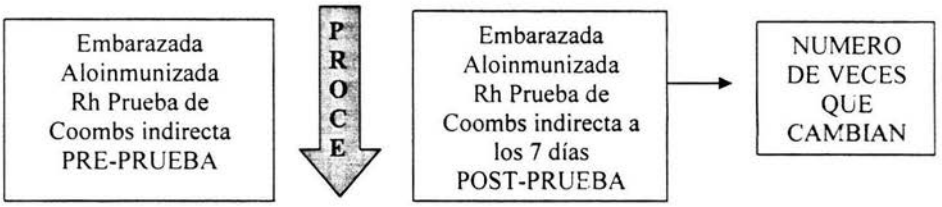
Se tomó muestra de sangre a la embarazada aloimmunizada Rh por la enfermera del servicio antes del procedimiento invasivo (amniocentesis o cordocentesis), la muestra se transportó al laboratorio de banco de sangre del Instituto Nacional de Perinatología para la determinación de la prueba de Coombs indirecta reportándolo en diluciones.

Realizado el procedimiento que no es una variable que el investigador puede manipular se identificó si dicho procedimiento fue transplacentario o no transplacentario de tal manera que se formaron dos grupos de seguimiento, Grupo A (Procedimiento transplacentario) y Grupo B (Procedimiento No transplacentario).

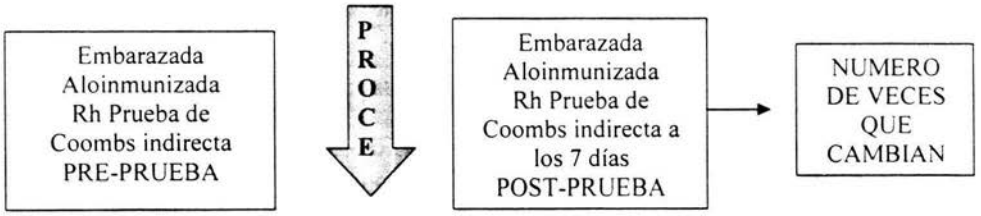
Se citó al Departamento de Medicina Materno Fetal a los 7 días y se obtuvo una nueva muestra de sangre de la embarazada para determinar la prueba de Coombs indirecta en diluciones.

PLAN DE ANALISIS:

GRUPO A: PROCEDIMIENTO INVASIVO TRANSPLACENTARIO



GRUPO B: PROCEDIMIENTO INVASIVO NO TRANSPLACENTARIO



GRUPO A

VALOR ANTES /VALOR DESPUES

A ***B***

E: Numero de veces que aumenta la aumenta la

Dilución de A a B

GRUPO B

VALOR ANTES /VALORDESPUES

C ***D***

F: Numero de veces que

dilución de C a D

1. Hallar E y F
2. Determinar si E es 2 veces o mas veces que F

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de U-Mann- Whitney para comparar dos muestras independientes con datos categóricos ordinales y la de Rangos de Wilcoxon para muestras dependientes con datos categóricos ordinales.

RESULTADOS

Las 20 embarazadas aloinmunizadas Rh corresponden al tercer trimestre siendo la mediana de la edad gestacional del grupo A de 29+/- 2 semanas y de las pacientes del grupo B 30+/-2.75semanas.

El antecedente de óbito en las pacientes del grupo A fue de 90% (9/10) y en el grupo B del 80% (8/10).

En ambos grupos de estudios el porcentaje de procedimientos: Cordocentesis y Amniocentesis fue de 80% y 20 % respectivamente.

Entre las complicaciones del procedimiento como hematomas de cordón, perdida de líquido amniótico, corioamnionitis etc. no se ha presentado en ningún procedimiento.

Estas características demográficas se presentan en el Tabla 1.

TABLA 1

DISTRIBUCIÓN DE ALGUNAS VARIABLES DEMOGRÁFICAS CON RESPECTO AL GRUPO DE EMBARAZADAS SOMETIDAS AL PROCEDIMIENTO INVASIVO TRANSPLACENTARIO Y NO TRANSPLACENTARIO

	GRUPO A	GRUPO B
EG MEDIANA	29.5+/- 2semanas	30+/- 2,75 semanas
ANTECEDENTE DE ÓBITO	9/10 (90%)	8/10(80%)
PROCEDIMIENTO		
CORDOCENTESIS	8/10 (80%)	8/10(80%)
AMNIOCENTESIS	2/10 (10%)	2/10(20%)

GRUPO A: PROCEDIMIENTO INVASIVO TRANSPLACENTARIO
GRUPO B: PROCEDIMIENTO INVASIVO NO TRANSPLACENTARIO
EG: EDAD GESTACIONAL

TABLA 2

CAMBIO EN LA PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA DE LAS EMBARAZADAS ALOINMUNIZADAS RH DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO INVASIVO TRANSPLACENTARIO

PACIENTE	Coombs Indirecto Antes	Coombs Indirecto Después	Número de veces que cambia
1.	1/512	1/1024	1
2.	1/1024	1/1024	0
3.	1/512	1/1024	1
4.	1/16	1/512	5
5.	1/128	1/256	1
6.	1/256	1/256	0
7.	1/1024	1/1024	0
8.	1/1024	1/2048	1
9.	1/256	1/256	0
10.	1/256	1/256	0

Para observar si existe diferencia en este grupo se utilizo la prueba de Wilcoxon para datos pareados,
Z= - 1.0, Sig asintot (bilateral) = 0.317

TABLA 3

CAMBIO EN LA PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA DE LAS EMBARAZADAS ALOINMUNIZADAS RH DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO INVASIVO NO TRANSPLACENTARIO

PACIENTE	Coombs Indirecto Antes	Coombs Indirecto Después	Número de veces que Cambian
1.	1/16	1/16	0
2.	1/16	1/512	5
3.	1/64	1/64	0
4.	1/256	1/256	0
5.	1/32	1/128	2
6.	1/256	1/256	0
7.	1/256	1/256	0
8.	1/16	1/32	1
9.	1/256	1/1024	2
10.	1/1024	1/1024	0

Para observar si existe diferencia en este grupo se utilizo la prueba de Wilcoxon para datos pareados,
Z= - 1,465 , Sig asintot (bilateral) = 0,143

Para observar si existe diferencia entre los cambios de ambos grupos (transplacentario y no transplacentario) se uso la prueba de Mann-Whitney para comparar dos muestras independientes.

	Transplacentario	**N**	**Rangos promedio**	**Suma de rangos**
Test	Si	10	10.55	105.5
	No	10	10.45	104.5

Estadística de Contraste

	Test
U de Mann- Whitney	49.5
Z=	-0.042
Sig asintot (bilateral)	**0.967**

DISCUSION

Las características demográficas del presente estudio en especial las complicaciones posteriores al procedimiento invasivo transplacentario y no transplacentario como: hematoma de cordón, muerte fetal, corioamnionitis, abruptio de placenta, ruptura de membrana y parto prematuro contrastan con lo reportado en la literatura esto podría explicarse por el tamaño de la muestra utilizado en el presente estudio y por la experiencia adquirida en este centro de referencia nacional.[20]

En el grupo A de las pacientes sometidas a procedimiento invasivo transplacentario se encontró utilizando la prueba estadística de Wilcoxon para datos pareados, p= 0.317 siendo mayor a 0.05 por lo que no se puede rechazar la hipótesis nula, aceptando que no existe diferencia significativa en los cambios de la prueba de Coombs indirecta antes y 7 días después del procedimiento.

En el grupo B de las pacientes sometidas a procedimiento invasivo no transplacentario se encontró utilizando la prueba estadística de Wilcoxon para datos pareados, p = 0,143 siendo mayor a 0,05 por lo que también no se puede rechazar la hipótesis nula, aceptando que no existe diferencia significativa en los cambios de la prueba de Coombs indirecta antes y 7 días después del procedimiento.

Se compararon los cambios de la prueba de Coombs indirecta de ambos grupos A y B utilizando para ello la prueba de Mann-Whitney para muestras independientes y se obtuvo p=0,967 asumiendo que no existe diferencia en los cambios entre estos dos grupos.

La no diferencia en los cambios de la prueba de Coombs indirecta en los

grupos y tampoco entre ellos, coincidiría con los resultados publicados por Bowman[14], en el cual divide la población en placenta anterior y posterior y además dicotomiza la variable de desenlace (aumento de la prueba de Coombs indirecta mayor o igual a 2 diluciones y menor a 2 diluciones) no encontrando una diferencia significativa en los aumentos de la prueba de Coombs indirecta de estas dos poblaciones con placenta anterior y placenta posterior , esta forma de categorizar a la variable prueba de Coombs indirecta en dicotomica u ordinal; esta ultima como en el presente trabajo le quita fuerza al momento de querer utilizar pruebas estadísticas para encontrar estas diferencias, pudiendo resolverse si la variable prueba de Coombs indirecta se pudiera determinar en unidades internacional (UI) convirtiéndola así en una variable numérica, haciéndola mas contundente para poder encontrar una diferencia que no es evidente con las anteriores variables.

Otra explicación a los resultados encontrados podría deberse por que las pacientes con títulos bajos de anticuerpos tienen una gran respuesta amnésica y pueden causar un aumento de los títulos al haber hemorragia fetomaterna y las pacientes con altos títulos su respuesta amnésica es menor, si consideramos bajo titulo a 1/16 o 1/32 observando la tabla 2 y 3 en dichas pacientes sus cambios en las pruebas de Coombs indirecta fueron mayores y viceversa pudiendo explicar en parte estos resultados.[21]

La exposición materna a las células fetales comienza muy temprano en el curso de la gestación por lo menos desde la semana 15 de la gestación además se reporta que las células fetales pasan a la circulación materna en casi 100% de los embarazos, de esta manera cuando se forman anticuerpos Ig G son

detectables desde una semana hasta meses después de la exposición inicial, este titulo llega aun pico y desaparece en un periodo de 2 a 8 meses por lo tanto este comportamiento podría explicar la falta de cambios significativos en un periodo de 7 días posteriores al estimulo por la punción.

Ante estos resultados sin cambios significativos en la prueba de Coombs indirecta de las embarazadas aloinmunizadas Rh posterior a los 7 días de realizado un procedimiento invasivo transplacentario o no transplacentario del mismo modo no encontramos diferencia significativa al comparar ambos grupos lo que va en contra de la explicación fisiopatológica de la hemorragia fetomaterna; pudiéndose explicar estos resultados porque la prueba de Coombs indirecta se determina en forma semicuantitativa, por lo tanto no es una prueba que mide los niveles de anticuerpos irregulares, lo cual podría explicar el no haber encontrado diferencias en el mismo grupo y en la comparación entre ambos. La posibilidad de cuantificar los anticuerpos irregulares en unidades internacionales nos daría la opción de una variable cuantitativa que nos permite una evaluación más exacta de los cambios en la respuesta inmune y determinar si esta respuesta es diferente dependiendo del paso transplacentario en los procedimientos invasivos. El fin último de la investigación es respaldar la posibilidad de buscar procedimientos no invasivos que nos permitan evaluar el estado fetal en hijos de madres aloinmunizadas Rh, limitando en lo posible la invasión a la cavidad que puede ser un evento iatrogénico aunque necesario.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Diamond LK, Blackfan KD, Baty JM. Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterus gravis neonatorum and anemia of the newborn. J Pediatr.1932;1:269-309.
2. Bowman J. RhD hemolytic disease of the newborn. N Engl J Med.1998;339:1775-7.
3. Luban N. Hemolytic disease of the newborn: progenitor cells and late efects. N Engl J Med.1998;338:830-1.
4. Hernández A, Montoya G. Isoinmunización materno fetal por factor Rh. (primera parte) fisiopatología y aspectos epidemiológicos. Revista de Perinatología.1994;9:12-6.
5. ACOG practice bulletin. Prevention of Rh D alloimmunization. Int J Gynaecol Obstet.1999;66:63-9.
6. Bowman J. The management of hemolytic disease in the fetus and newborn. Semin Perinat 1997;21:39-44.
7. Oepkes D. Invasive versus non-invasive testing in red-cell alloimmunized pregnancies. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2000;92:83-9.
8. Kenneth J. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. Obstet Gynecol. 2002;100:600-11.
9. Gollin Y, Copel J. Management of the Rh-sensitized mother. Perinatal Hematology. 1995;22:545-59.
10. Kenneth JM. Hemolytic disease of the fetus and newborn. In: Creasy R, Resnik R, Iams I, editors. Maternal-fetal medicine.Saunders; 2004, p. 537-61.

11. Queenan J. Management of Rh- immunized pregnancies. Prenat Diagn.1999;19:852-5.

12. Nicolaides K, Rodeck C. Maternal serum anti-D antibody concentration and assessment of rhesus isoimmunisation. BMJ.1992; 304:1155-6.

13. Kyle P. Noninvasive assessment of fetal anaemia. Curr Opin Obstet Gynecol. 2001;13:555-6.

14. Bowman J, Pollock J, Penston L. Fetomaternal transplacental hemorrhage during pregnancy and after delivery. Vox Sang .1986;51:117-21.

15. Nicolini U, Kochenour N, Greco P, Letsky E, Johnson R, and Rodeck C. Consequences of fetomaternal haemorrhage after intrauterine transfusion. BMJ. 1998; 297:1379-80.

16. Bowman J, Pollock J, Peterson L, Harman C, Manning F and Menticoglou S. Fetomaternal hemorrhage following funipunture: increase in severity of maternal red- cell alloimmunization. Obstet Gynecol .1994; 84:839-43.

17. Chirit Y, Caubel P,Lusina D,Boulanger M, Balladent F. Detection and measurement of fetomaternal hemorrahage following diagnostic cordocentesis. Fetal Diagn Ther. 1998; 13:253-6.

18. Farina A, Calderoni P,Simonazzi G,Carinci P and Rizzo N. Survival analysis of transfused fetuses affected by Rh-alloinmunization. Prenat Diagn .2000;20:881-5.

19. Tannirandorn Y, Rodeck CH. Management of inmune haemolytic disease in fetus. Blood Rev .1991;5:1-14.

20. Dugoff L, Hobbins J. Procedimientos invasores para valorar al feto. In: Clínicas Obstetricas y Ginecologicas. McGraw-Hill; 2003, p.993-1006.

21. Queenan JT. Amniocentesis and Isoimmunizacion. In: Frigoletto FD, Jewett JF, Konugres AA, editors. Rh hemolytic disease new strategy for eradication.. Boston Massachusetts: G.K.Hall Medical Publisher; 1982, p. 125-34.

22 Molison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Transfusion. In: Clinical Medicine, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1993.

23. Lapierre Y, et al. The gel test : a new way to detect red cell antigen-antibody reactions.Transfusion. 1990;30:109-13

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

ANEXO 1
Carta Informativa
DOCUMENTO A

Estimada Paciente: la presente es para solicitarle participe con nosotros en una investigación médica que tiene como Titulo "Cambios en la prueba de Coombs indirecta de embarazadas aloinmunizadas Rh posterior al procedimiento invasivo transplacentario y no transplacentario" el investigador es el: DR. JUAN MANUEL GALLARDO GAONA adscrito del Departamento de Medicina Materno- Fetal del Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes".

El objetivo del presente estudio es determinar si los anticuerpos irregulares que UD. presenta por la isoinmunización Rh; aumenta en forma importante posterior a los procedimientos invasivos que se le realiza a UD. para evaluar y tratar al feto dentro del útero (Amniocentesis o Cordocentesis).

Se determinará la prueba de Coombs indirecta antes del procedimiento invasivo (amniocentesis o cordocentesis) y posteriormente a los 7 días del procedimiento invasivo (amniocentesis o cordocentesis) se determinará una segunda prueba de Coombs indirecto sin ningún costo El beneficio que obtendría de existir un aumento en los anticuerpos irregulares que usted presente sería la vigilancia de su hijo en forma mas estrecha. Además con los resultados se podrá llegar a un mejor entendimiento del comportamiento de los anticuerpos irregulares en pacientes isoinmunizadas Rh que se les realiza dichos procedimientos y por lo tanto tomar mejores decisiones.

La toma de la muestra de sangre no presenta ningún efecto secundario para UD. y su hijo, sólo las mismas molestias que podría presentar por cualquier toma de sangre.

Los resultados de la investigación serán confidenciales y se le informarán si usted así lo solicita, toda la información obtenida en este estudio será utilizada solo a efectos de la investigación. Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y en caso que no acepte participar, esta negativa no tendrá ninguna repercusión en la atención de usted en el Instituto, además UD. puede retirarse del estudio en el momento que usted lo desee sin que esto tampoco alterara su atención en la Institución. Para aclarar dudas favor de comunicarse al 55209900 Extensión 112 o 114 con el Dr. Luis Enrique Castañeda Cuba o con el Dr. Juan Manuel Gallardo Gaona.

ANEXO 2
TEXTO DECLARATORIO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

YO _____
(Nombre del participante o de su representante legal)

Declaro libremente que estoy de acuerdo en participar (en que participe mi representado cuyo nombre aparece abajo) en esta investigación cuyo objetivo, procedimientos, beneficios, y riesgos se especifican en el Apartado A de este documento.
Es de mi conocimiento que los investigadores me han ofrecido aclarar cualquier duda o contestar cualquier pregunta que, al momento de firmar el presente, no hubiese expresado o que surja durante el desarrollo de la investigación.
Se me ha manifestado que puedo retirar mi consentimiento de participar en cualquier momento sin que ello signifique que la atención médica que se me proporcione, se vea afectada por este hecho.

En el caso que yo decida retirarlo, deberán seguir las siguientes indicaciones: solamente continuar con el manejo indicado por el departamento de Medicina Materno Fetal.

_____
_____
_____
_____

Se me ha informado que el participar en este estudio no repercutirá en el costo de la atención médica que se me deba brindar y que toda la información que se otorgue sobre mí (su) identidad y participación será confidencial, excepto cuando yo lo autorice.
Para los fines que se estime conveniente, firmo la presente junto al investigador que me informó y dos testigos, conservando una copia de a) Consentimiento informado y b) Información proporcionada para obtener mi autorización.

México D.F. a _____ de _____ de 200_.

	NOMBRE	FIRMA
PARTICIPANTE		
REPRESENTANTE		
INVESTIGADOR		
TESTIGO		
TESTIGO		

ANEXO 3

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

CAMBIOS EN LA PRUEBA DE COOMB INDIRECTA DE EMBARAZADAS ALOIMMUNIZADAS RH POSTERIOR AL PROCEDIMIENTO INVASIVO TRANSPLACENTARIO Y NO TRANSPLACENTARIO"

N° de Caso _____

DATOS GENERALES

Nombre de la paciente: _____

Registro: _____ Edad: _____

Gestas: _____ Partos: _____ Aborto: _____ Cesárea: _____

FUM: _____

Edad gestacional al momento del procedimiento: _____

Antecedente Obstétrico:_____

Localización de la placenta: _____

Procedimiento Invasivo:

Amniocentesis ( ) Cordocentesis ( )

Transplacentario ( ) No Transplacentario ( )

Prueba de Coombs indirecta antes del procedimiento:_____

Prueba de Coombs indirecta a los 7 días del procedimiento_____

Resultado perinatal: _____

ASPECTOS ETICOS
INVESTIGACION CON RIESGO MINIMO

TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS:

PRUEBA DE COOMBS INDIRECTO

Antes del procedimiento invasivo transplacentario o no transplacentario se tomara sangre a la paciente de la zona de flexión del codo en dos tubos sin heparina aprox. 5 cc en cada tubo, transportando inmediatamente al Banco de Sangre del Instituto Nacional de Perinatología INPer México D. F para determinar la prueba de Coombs indirecto utilizando :

Serascan Diana 2/Serascan Diana 2P tabla de antigenos y DianaGel Coombs, la primera la detectar el antigeno y la segunda para determinar la diluciones.

El DianaGel Coombs: En este estudio se indicara para la prueba de Coombs Indirecto

El test de la antiglobulina fue introducido en la medicina clínica por Coombs en 1945 y por esto es conocida como la prueba de Coombs.[22]

Esta prueba se basa en el uso de un reactivo de Antiglobulina Humana Polivalente (AHG), que permite la detección de hematíes recubiertos por inmunoglobulinas o fracciones del complemento. La investigación de anticuerpos irregulares tiene como objetivo detectar los anticuerpos clínicamente significativos presentes en la muestra del paciente.

El principio del método se basa en la técnica en gel descrita por Y. Lapierre[23] para la detección de las reacciones de aglutinación de los hematíes. La aglutinación se produce al entrar en contacto los antígenos eritrocitarios con los anticuerpos correspondientes, presentes en el reactivo o en la muestra de suero o plasma.

La tarjeta DianaGel es un soporte de plástico constituido por 3 microtubos. Cada microtubo está formado por una columna y una cámara de dispensación. Cada columna contiene microesferas de dextranos polimerizados en medio tamponado que actúan como filtro. Los dextranos se encuentran mezclados con un reactivo que contiene antiglobulina humana. Los microtubos que contienen antiglobulina humana actúan aglutinando los hematíes sensibilizados in vivo o in Vitro, con anticuerpos IgG o fracciones del complemento. Durante la centrifugación, los aglutinados de hematíes son atrapados según su tamaño, en la superficie o a lo largo de la columna de gel. Los hematíes no aglutinados descienden hasta el fondo del microtubo.

Interpretación de los resultados:

Presencia de aglutinación y/o hemólisis: resultado positivo

Ausencia de aglutinación y/o hemólisis: resultado negativo

AMNIOCENTESIS:

Estando la paciente en posición decúbito dorsal y descubierta el abdomen se utilizara el equipo de ultrasonido ATL 5000 en tiempo real para la identificación de una bolsa de liquido amniótico libre de partes fetales., a continuación se prepara el abdomen con solución antiséptica , después con guía ultrasonografica en tiempo real el Adscrito de Medicina Materno fetal localizara la bolsa de liquido amniótico libre de partes fetales y otro Medico Materno Fetal procederá a introducir una aguja raquídea calibre 22 en la bolsa de liquido amniótico, extrayéndose para la espectrofotometría.[20]

CORDOCENTESIS:

Estando la paciente en posición decúbito dorsal y descubierta el abdomen se utilizara el equipo de ultrasonido ATL 5000 en tiempo real y previa preparación del abdomen con solución antiséptica se dirige la aguja raquídea calibre 22 hacia la vena umbilical en donde se inserta en la placenta por medio de la técnica de manos libres, este procedimiento puede ser transplacentaria y no transplacentaria.[20]