

PROGRAMA CONSULTA AL EXPERTO

COORDINADORA: DRA GRACIELA LEÓN DE GONZÁLEZ

COMITÉ DE EDUCACIÓN CONTINUA Y CONTINUADA

COORDINADORA: BIOL. ANA CLAUDIA PERÓN

La enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido en el postparto

Perspectiva inmunohematológica

PROFESORA INVITADA: Dra. Virginia Callao Molina

Licenciada en Medicina y Cirugía Universidad de Valencia. Médico especialista en Hematología y Hemoterapia, Hospital Arnau de Vilanova, Lleida. Doctora en Medicina y Cirugía, Universidad de Lleida. España
virginia.callao@gmail.com

Resumen

La enfermedad hemolítica del feto y recién nacido (EHFRN) es una entidad que todavía existe, a pesar de los grandes avances de los últimos años en su prevención, diagnóstico y manejo.

El periodo del postparto es crítico para conseguir una adecuada prevención de la aloimmunización de la madre, para gestionar el manejo del recién nacido afectado, así como para detectar aquellos casos que no se hayan diagnosticado durante la gestación. Para ello se requiere de un trabajo multidisciplinar en el que el laboratorio de Inmunohematología tiene un papel fundamental.

Índice

- 1. La enfermedad**
- 2. Diagnóstico de la enfermedad en el postparto**
- 3. Técnicas utilizadas para el diagnóstico**
- 4. Prevención primaria de la EHFRN por anti-D en el posparto**
- 5. Recomendaciones para el estudio materno fetal en el postparto**
- 6. Pruebas pre transfusionales**
- 7. Conclusiones**
- 8. Referencias**

1. La enfermedad

1.1. Recuerdo fisiopatológico

La enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido (EHFRN) es un proceso hemolítico progresivo que se desarrolla en la circulación fetal, debido al paso transplacentario de anticuerpos maternos de clase IgG que sensibilizan los hematíes del feto^{1,2}.

En la mayoría de los casos se trata de aloanticuerpos IgG que reconocen antígenos eritrocitarios fetales de origen paterno, originando una hemólisis extravascular esplénica de los hematíes fetales, Fc-receptor mediada, que produce una anemia progresiva de tipo regenerativo y liberación de bilirrubina. Aunque las subclases IgG1/IgG3 conservan capacidad teórica de activar la vía clásica del complemento, la progresión hasta el complejo de ataque de membrana con hemólisis intravascular clínicamente relevante es excepcional y no constituye un mecanismo reconocido en la EHFRN^{3,4}.

En raras ocasiones se debe a la presencia de autoanticuerpos maternos.

El proceso hemolítico varía desde una forma grave de hemólisis intraútero que se inicia en fases tempranas de la gestación y que puede producir la muerte fetal (por hipoxemia y fallo multiorgánico), hasta un proceso leve que no se detecta hasta el momento del parto o días después.

Tras el nacimiento puede aparecer anemia (en ocasiones severa y que requiere soporte transfusional) e ictericia que, en los casos más graves, puede llegar a producir un cuadro de afectación del sistema nervioso central (Kernicterus).

La sensibilización de los hematíes fetales con anticuerpos maternos no necesariamente conlleva la aparición de la enfermedad. Se han de tener en cuenta aspectos como el significado clínico de los anticuerpos implicados y otros datos clínico-analíticos de hemólisis^{5,6}.

1.2. Formas de la enfermedad

Según los anticuerpos implicados y el origen de estos, existen diferentes formas de la enfermedad:

1.2.1. EHFRN por incompatibilidad en el sistema ABO

Es el cuadro más frecuente y suele tener escasa repercusión clínica, aunque se han descrito cuadros graves⁷.

No se requiere una aloinmunización materna, ya que los anticuerpos implicados son naturales. Puede aparecer en el primer embarazo.

En la mayoría de los casos se trata de mujeres de grupo O que tienen títulos elevados de aglutininas inmunes anti-A o anti-B, aunque también se ha descrito en mujeres de grupos A, A2 o B⁸.

Dado que en la mayoría de los casos la afectación fetal es mínima, el diagnóstico de esta forma de la enfermedad se suele realizar en el momento del parto, en muchas ocasiones debido a la positividad de la prueba directa de antiglobulina, sin afectación del neonato.

1.2.2. EHFRN por anticuerpos irregulares

Se requiere una aloinmunización de la madre frente a antígenos que están presentes en los hematíes del padre y de los que sus hematíes carecen. Esta aloinmunización puede deberse a un antecedente transfusional, un trasplante de progenitores o a un antecedente de hemorragia transplacentaria (gestaciones, abortos). En los primeros casos, la enfermedad puede aparecer en la primera gestación y en el tercer caso aparece a partir de la segunda gestación.

Afortunadamente, en la mayoría de los casos, la sospecha diagnóstica se produce durante la gestación, de modo que se puede realizar un seguimiento analítico y obstétrico a la madre y si es necesaria una valoración del estado fetal y tratamiento materno o fetal intraútero.

Sin embargo, en algunos casos, en los que no se ha realizado el control de la gestante, la enfermedad se detecta en el momento del parto o en días posteriores

1.2.2.1. EHFRN por anticuerpos frente al antígeno Rh (D)

Es el cuadro más grave, pero afortunadamente, en la actualidad, se ha reducido su incidencia, debido a la utilización de la gammaglobulina anti-D como medida profiláctica. De todas formas, todavía persisten casos de enfermedad debido a diferentes motivos, en su mayoría por escaso cumplimiento de los protocolos de prevención⁹.

1.2.2.2. EHFRN por anticuerpos frente a otros sistemas antigénicos

La gravedad depende del anticuerpo implicado. Su incidencia ha aumentado en los últimos años, al reducirse la incidencia de casos por anti-D y debido a la realización de estudios de anticuerpos irregulares a gestantes de grupo Rh (D) positivo.

Los anticuerpos más comúnmente implicados en la enfermedad moderada-grave son los de especificidad anti-c y anti-Kell¹⁰, ambos relacionados con antecedentes transfusionales de la madre. Anti-Kell es

especialmente relevante debido a que, además del cuadro hemolítico, produce una afectación a nivel de los precursores hematopoyéticos, que pueden presentar dicho antígeno en fases tempranas del desarrollo fetal.

2. Diagnóstico de la enfermedad en el postparto

La enfermedad se puede diagnosticar durante la gestación o bien en el postparto (Tabla 1 y Figura 1).

Si la enfermedad se ha diagnosticado durante la gestación, se debe confirmar el diagnóstico tanto analítico como clínico en el momento del parto y valorar el grado de afectación del neonato (con un enfoque multidisciplinar entre laboratorio y neonatología).

Si no ha habido diagnóstico durante la gestación, la sospecha tras el parto puede surgir en el momento de la realización de las pruebas de laboratorio al neonato, o bien tras alerta desde el servicio de pediatría (en casos en los que existe afectación clínico-analítica evidente).

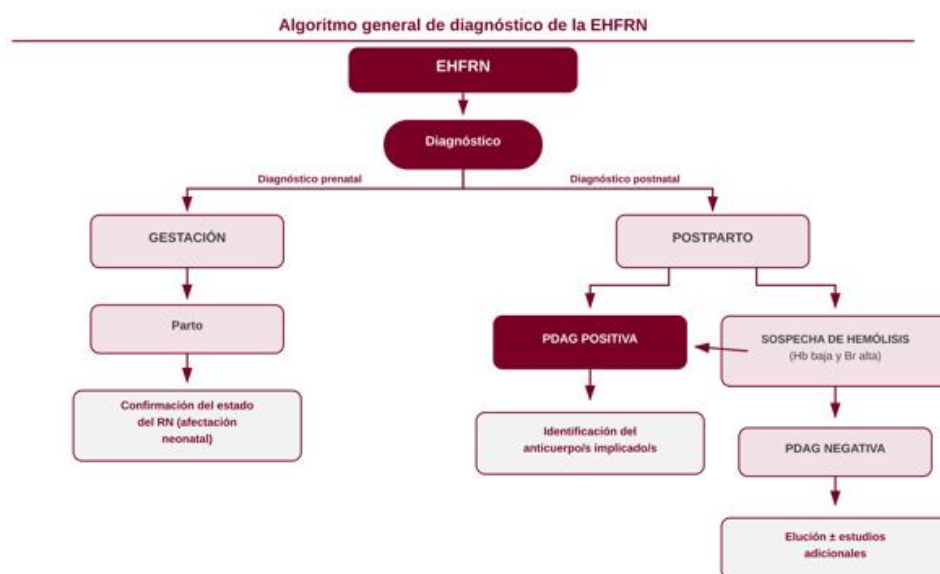


Figura 1. Algoritmo general de diagnóstico de la EHFRN.

Situación	Datos de sospecha	Primera aproximación	Objetivo
Enfermedad conocida durante la gestación	Anemia, hiperbilirrubinemia, anticuerpo materno conocido	Hb, bilirrubina, reticulocitos, LDH + PDAG	Confirmar afectación neonatal
Ictericia/anemia inesperada	Ictericia precoz, palidez, anemia	Estudio de hemólisis + PDAG	Determinar si existe hemólisis inmune
PDAG positiva	Hematíes sensibilizados	Identificación del anticuerpo	Determinar especificidad y relevancia clínica
PDAG negativa pero alta sospecha	Hemólisis compatible	Elución ± estudios adicionales	No excluir EHFRN por resultado aislado

Tabla 1. ¿Cuándo sospechar EHFRN y qué estamos buscando?

El **diagnóstico postparto** se basa en la valoración de diferentes aspectos que se detallan a continuación^{11,12,13}. (Figura 2)

2.1. Detección del proceso hemolítico en el recién nacido

Lo realiza el pediatra cuando aparecen datos clínicos inesperados de hemólisis en el recién nacido o bien en los casos en los que se ha diagnosticado la enfermedad durante la gestación y por tanto se realiza un control estricto del bebé.

Se basa en evaluar la presencia de:

- Datos clínicos: palidez, ictericia...
- Datos analíticos: la valoración debe integrar hemoglobina o hematocrito, recuento de reticulocitos, bilirrubina total y directa, frotis de sangre periférica y evolución clínica. La LDH y la haptoglobina pueden aportar información complementaria, aunque su interpretación en el periodo neonatal tiene limitaciones."

Se han de descartar otras causas de hemólisis (diagnóstico diferencial: infecciones, sufrimiento fetal, enfermedades congénitas, etc.)

2.2. Confirmación del origen inmune de la hemólisis

Se basa en demostrar la presencia de anticuerpos de clase IgG adheridos a la membrana de los hematíes del recién nacido. Para ello se utiliza la técnica de la prueba directa de antiglobulina (PDAG)^{14,15}.

La negatividad de la PDAG no excluye absolutamente la causa inmune de la hemólisis. Se han de utilizar técnicas complementarias para asegurar o descartar el diagnóstico (se detallan más adelante).

2.3. Identificación del anticuerpo implicado

Se realiza de forma distinta, según el tipo de enfermedad.

2.3.1. EHFRN por incompatibilidad en el sistema ABO

Se basa en demostrar incompatibilidad ABO materno-fetal y la presencia de anticuerpos anti-A, anti-B o anti-AB de clase IgG de origen materno, que están afectando al feto^{16,17}.

Se utilizan las siguientes técnicas:

- Estudio de grupo sanguíneo ABO del recién nacido (RN) y de la madre.
- Estudio del eluido de los hematíes del RN: se enfrenta a hematíes A, B y O, con el fin confirmar la especificidad de los anticuerpos.
- Descartar la presencia de anticuerpos irregulares (AI) en el plasma materno. En algunos casos puede coincidir una EHFRN por AI con una EHFRN por incompatibilidad ABO.

2.3.2. EHFRN por anticuerpos irregulares

Se basa en demostrar que la afectación fetal se debe a la presencia de anticuerpos irregulares de origen materno¹⁸.

Se utilizan las siguientes técnicas:

- Estudio e identificación de AI en el plasma materno: estudio básico para el diagnóstico
- Fenotipo eritrocitario materno y del RN: se realiza el fenotipo que nos interese según el anticuerpo o anticuerpos implicados
- Estudio del eluido de los hematíes del RN: se enfrenta a hematíes de fenotipo complementario para poder identificar el/los anticuerpos/s implicado/s
- Pruebas de compatibilidad con hematíes del padre, cuando sea necesario

Algoritmo de evaluación inmunohematológica del recién nacido en el postparto

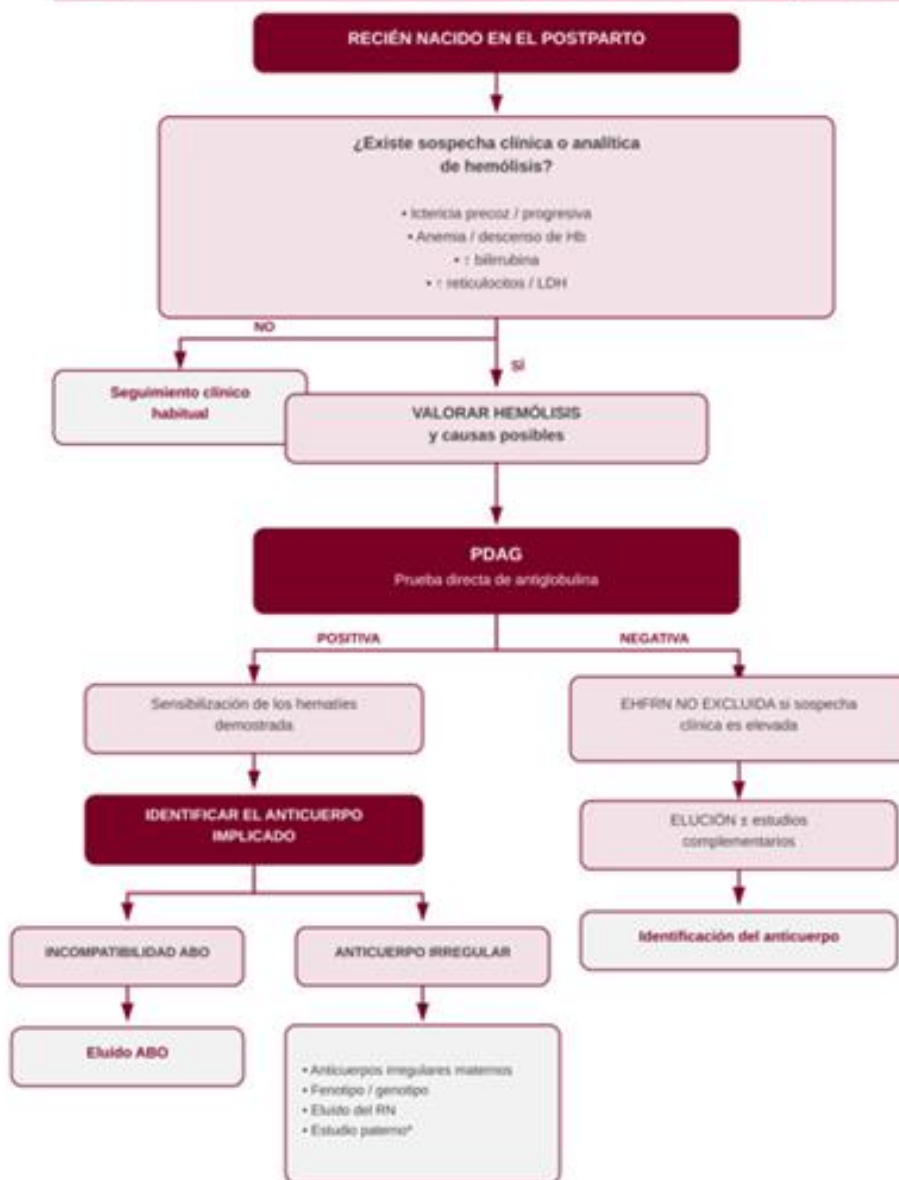


Figura 2: Algoritmo de evaluación inmunohematológica del recién nacido

3. Técnicas utilizadas para el diagnóstico de EHFRN en el postparto¹⁹

(Tabla 2)

3.1. Tipaje de grupos sanguíneos ABO y Rh(D)

Sirve para evaluar si existe incompatibilidad materno-fetal y para decidir la necesidad de administrar gammaglobulina anti-D en las 72 horas postparto, a la madre.

1. Muestra materna:

--- Tipaje ABO convencional (pruebas globular y sérica)

--- Rh(D): se aconseja utilizar un reactivo que no detecte la variante DVI. Ante reacciones débiles y mientras no se confirma el tipaje, se ha de valorar como Rh (D) negativo, a todos los efectos.

2. Muestra del RN (sangre de cordón/sangre periférica)

--- Tipaje ABO: únicamente se realiza el estudio de la parte globular

--- Tipaje Rh (D): en caso de resultado negativo, descartar variantes débiles. Ante la duda, considerarlo como Rh(D) positivo, a efectos de administración de la gammaglobulina anti-D a la madre.

3.2. Prueba directa de antiglobulina o Test directo de Coombs

Se realiza en la muestra de sangre de cordón o de sangre periférica del RN, anticoagulada con EDTA.

Sirve para detectar la presencia de anticuerpos adheridos, *in vivo*, en la membrana de los hematíes.

Se basa en la utilización del reactivo antiglobulina humana, que facilita la aglutinación de los hematíes que están recubiertos de anticuerpos de clase IgG.

Es una prueba básica para el diagnóstico de la EHFRN, pero no debe valorarse de forma aislada, sino acompañada de otras pruebas clínico-analíticas.

La intensidad de la PDAG no siempre se relaciona con la severidad de la enfermedad: en la mayoría de los casos de enfermedad grave, la PDAG es fuertemente positiva y si la enfermedad es leve, la prueba suele ser débilmente positiva, pero esta premisa no siempre se cumple²⁰.

Su **positividad** orienta a que, el proceso hemolítico que se sospecha en el paciente sea de causa inmunológica^{21,22}.

Su **negatividad** es fuertemente sugestiva de que el RN no está afectado, sin embargo, no se descarta absolutamente que la hemólisis sea de causa inmunológica²³.

- existen casos en los que el número de moléculas de IgG adheridas a la membrana es pequeño y no se detectan en esta prueba.
- existen casos graves en los que la intensa hemólisis de los hematíes no permite que se detecten los anticuerpos adheridos a la membrana.

Si la sospecha diagnóstica es firme, debe revisarse la técnica utilizada, la muestra, el estudio materno y la posibilidad de anticuerpos contra antígenos de baja frecuencia. Las técnicas de elución u otros procedimientos especializados se seleccionarán según los hallazgos y la metodología validada por el laboratorio.

3.3. Técnicas de elución

La elución se fundamenta en la capacidad de deshacer la unión antígeno-anticuerpo, utilizando métodos físicos o químicos (cambios de pH o de temperatura, ultrasonidos, detergentes y disolventes orgánicos).

Las técnicas de elución permiten despegar los anticuerpos adheridos a la membrana de los hematíes para su posterior estudio²⁴, en una muestra denominada eluido.

Existen diferentes técnicas de elución (congelación/descongelación, calor, cloroquina, éter, EDTA-glicina). Esta última es la técnica de elección para estudiar hematíes recubiertos de IgG. La técnica de congelación/descongelación (LUI) es muy eficiente para el estudio de anticuerpos del sistema ABO.

El estudio del eluido permite determinar la especificidad de los anticuerpos implicados en el proceso, enfrentándolo a hematíes con el fenotipo que nos interese.

Estas técnicas son útiles, además, para confirmar o descartar la presencia de anticuerpos, en casos de que la PDAG sea negativa, pero la sospecha clínica sea firme.

3.4. Escrutinio de anticuerpos irregulares (Prueba indirecta de antiglobulina o Test indirecto de Coombs)

Sirve para detectar la presencia de anticuerpos irregulares en una muestra de suero, plasma o eluido.

Se fundamenta en la prueba indirecta de antiglobulina, basada en la utilización del reactivo antiglobulina humana, que permite la aglutinación de los hematíes que están recubiertos por anticuerpos IgG y/o complemento, tras una sensibilización de los mismos *in vitro*.

A diferencia de la prueba directa, se precisa de una incubación del plasma problema junto a hematíes de fenotipo conocido. Se deben utilizar diferentes hematíes con fenotipo complementario, en los que estén representados la mayoría de los antígenos de los sistemas clínicamente significativos.

Si la prueba es positiva, se debe completar con estudios de identificación, para determinar la especificidad de dichos anticuerpos.

3.5. Identificación de anticuerpos irregulares

Son técnicas dirigidas a identificar los anticuerpos irregulares que se han detectado en la técnica de escrutinio.

Se basan en enfrentar el plasma o suero problema a uno o varios paneles de hematíes de diferente fenotipo, utilizando como base, diversas técnicas que potencian o inhiben las reacciones (LISS, antiglobulina, enzimas, PEG).

Hay que tener en cuenta una serie de consideraciones:

--- No todos los anticuerpos que se detectan tienen significado clínico.

--- En casos de madres Rh(D) negativo, que han recibido la gammaglobulina anti-D durante la gestación, podemos encontrar un estudio compatible con un anticuerpo de especificidad anti-D. La evaluación de los antecedentes de la gestante (sobre todo en lo referente a la administración previa de gammaglobulina anti-D) nos permitirá diferenciar entre un anticuerpo pasivo y una aloinmunización real, información necesaria para decidir la administración de la gammaglobulina anti-D en las 72 horas tras el parto (si el recién nacido es RhD positivo, presenta una variante D débil o el resultado RhD es desconocido o no concluyente).

--- Si el estudio de anticuerpos irregulares es negativo con las técnicas convencionales, se deben utilizar técnicas complementarias para asegurar el diagnóstico (descartar un anticuerpo contra un antígeno privado o de baja frecuencia). Es útil trabajar con los hematíes del padre.

--- En casos en los que se sospecha la presencia de múltiples anticuerpos o bien de un anticuerpo contra un antígeno público (de alta incidencia), se han de utilizar técnicas complementarias para llegar al

diagnóstico (adsorciones, fenotipo y/o genotipo eritrocitario, pruebas cruzadas con hematíes carentes de antígenos públicos, etc.)

3.6. Estudios con hematíes del padre.

Sirven para demostrar la presencia de anticuerpos maternos contra un antígeno de baja incidencia, presente en los hematíes del padre y en los del niño.

Se realizan en casos en los que el estudio de anticuerpos irregulares en plasma materno es negativo con las técnicas convencionales, pero la PDAG es positiva y la sospecha clínico-analítica es clara.

--Pruebas cruzadas con hematíes del padre: se pueden realizar con el plasma de la madre (siempre que no haya incompatibilidad ABO) o con el eluido de los hematíes del RN.

--Fenotipo o genotipo paterno

Técnica	Fundamento	Muestra	Utilidad / consideraciones clave
3.1 Tipaje ABO y Rh(D)	Evaluar incompatibilidad materno-fetal	Materna + RN (cordón/periférica)	Decidir administración de gammaglobulina anti-D en las 72 h postparto
3.2 PDAG (Test directo de Coombs)	Reactivo antiglobulina humana; detecta IgG adherida in vivo a la membrana del hematíe	Sangre de cordón o periférica del RN (EDTA)	Orienta a causa inmune; positividad no siempre correlaciona con severidad; negatividad no descarta EHFRN
3.3 Técnicas de elución	Disociación antígeno-anticuerpo (métodos físicos o químicos)	Hematíes del RN → eluido	Confirma/descarta cuando PDAG negativa con sospecha firme; EDTA-glicina de elección para IgG, congelación/descongelación para ABO
3.4 Escrutinio de anticuerpos irregulares	Detección de anticuerpos irregulares en una muestra de suero, plasma o eluido en técnica indirecta de antiglobulina	Suero, plasma, eluido	Detecta anticuerpos irregulares maternos; si es positivo, requiere estudio de identificación de la especificidad
3.5 Identificación de anticuerpos irregulares	Técnicas dirigidas a identificar los anticuerpos irregulares que se han detectado en la técnica de escrutinio, enfrentando la muestra a paneles amplios de hematíes y con técnicas potenciadoras	Suero, plasma o eluido	• No todos los anticuerpos detectados tienen significado clínico • Anti-D tras profilaxis: valorar el antecedente de gammaglobulina anti-D para diferenciar anticuerpo pasivo de aloinmunización real (decide la profilaxis postparto) • Escrutinio negativo con sospecha firme: técnicas complementarias (descartar antígeno privado o de baja frecuencia); útil el estudio con hematíes del padre • Sospecha de múltiples anticuerpos o antígeno público (alta incidencia): adsorciones, fenotipo/genotipo eritrocitario, pruebas cruzadas con hematíes carentes del antígeno
3.6 Estudios con hematíes del padre	Demostrar anticuerpo materno contra antígeno de baja incidencia presente en padre e hijo	Plasma materno o eluido del RN + hematíes paternos	Se usa cuando el escrutinio es negativo pero la PDAG es positiva y la sospecha clínica es firme

Tabla 2. Técnicas diagnósticas y su utilidad.

4. Prevención primaria de la EHRN por anti-D en el posparto

En casos de mujeres **Rh(D) negativo**, las primeras horas tras el parto son muy importantes para llevar a cabo una adecuada prevención primaria de la enfermedad, es decir, para evitar la aloinmunización materna frente al antígeno D y por tanto el riesgo de EHFRN en sucesivos embarazos.

Para llevar a cabo esta prevención es muy importante realizar una correcta inmunoprofilaxis con gammaglobulina anti-D. En casos de recién nacidos Rh(D) positivo, la madre deberá recibir una dosis de gammaglobulina anti-D en las primeras 72 horas posparto²⁵.

Si el estudio de anticuerpos irregulares de la madre es positivo con especificidad anti-D, es necesario diferenciar entre una aloinmunización pasiva por inmunoprofilaxis anti-D previa (en este caso habría que repetir la administración de la gammaglobulina) o una aloinmunización real, en cuyo caso ya no estaría indicada la inmunoprofilaxis.

La dosis habitual de gammaglobulina anti-D en la mayoría de países del mundo es de **300 µg / 1500 UI** ya sea en pauta única o fraccionada. El esquema de dos dosis menores (100-150 µg) se mantiene como alternativa históricamente equivalente, pero cada vez más residual por la escasa disponibilidad de presentaciones bajas^{26,27}.

Para una mejor gestión de la pauta de inmunoprofilaxis es posible llevar a cabo una cuantificación de hemorragia feto materna.

4.1. Cuantificación de la hemorragia feto materna.

En el momento del parto, se produce una hemorragia feto materna (HFM) significativa que puede aumentar el riesgo de aloinmunización materna y por tanto de afectación fetal en las siguientes gestaciones²⁸. Según Uriel, en más del 96% de casos el volumen de HFM es <1,15 ml²⁹.

La dosis estándar de 300 µg/1500 UI protege frente a una hemorragia feto materna de hasta **30 mL de sangre fetal total**, equivalente a **15 mL de hematíes fetales concentrados**. Este es el umbral que determina si hace falta o no ajustar la dosis: por debajo de esa cifra, un vial es suficiente; por encima, hay que calcular dosis adicionales.

La indicación de llevar a cabo la cuantificación de la hemorragia feto materna depende del protocolo de cada país. En ocasiones únicamente se recomienda en casos de sospecha que el volumen de hemorragia ha sido mayor del habitual. Algunas guías recomiendan valorar sistemáticamente la hemorragia feto materna después del parto de un recién nacido RhD positivo en toda mujer RhD negativo no inmunizada.

Existen diferentes técnicas para la valoración de la HFM, tanto cualitativas como cuantitativas. Esta últimas son las más utilizadas: técnica de elución ácida (Test de Kleihauer-Betke) y método de citometría de flujo (CMF)^{30,31}.

La técnica de **elución ácida** se basa en las diferencias que existen entre la hemoglobina F de los hematíes fetales y la Hemoglobina A de los hematíes maternos. Es el método más utilizado, pero tiene limitaciones: es laborioso, poco reproducible entre operadores y con riesgo de sobreestimación en casos de hemoglobinopatías.

La **citometría de flujo** puede detectar una población minoritaria de hematíes Rh(D) positivo fetales marcados con un fluorocromo conjugado con un anticuerpo monoclonal IgG anti-D, en la circulación materna. Es la técnica de referencia, aunque no siempre está disponible para su uso en rutina.

En general, el cálculo debe considerar el método, el volumen sanguíneo materno y la presentación disponible de Ig anti-D. Es también recomendable redondear la dosis hacia arriba y añadir el margen de seguridad establecido por el protocolo y así evitar presentar “un vial adicional por cada 30 mL” como una regla universal.

5. Recomendaciones para el estudio materno-fetal en el postparto.

Existe controversia en relación con las pruebas inmunohematológicas que se deben realizar en el postparto, tanto a la madre como al RN, lo que ha derivado en una gran variabilidad tanto en lo referente al tipo de estudio realizado como a la metodología utilizada³².

Numerosas guías internacionales limitan la determinación del grupo ABO-Rh(D) del neonato a hijos de madres Rh(D) negativo, puesto que está demostrado que dicha determinación no tiene impacto en el diagnóstico precoz de EHFRN^{5,11,33}.

Por otra parte, la realización sistemática de la PDAG a todos los RN está muy cuestionada, ya que hay evidencia de que no es buena predictora de hiperbilirrubinemia³⁴.

Una PDAG positiva indica sensibilización de hematíes fetales con anticuerpos, pero no es sinónimo de EHFRN³⁵. Es útil para confirmar el origen inmune si hay sospecha inicial de hemólisis. Hay una buena correlación entre PDAG negativa y ausencia de EHFRN, pero una PDAG negativa no excluye EHFRN.

La introducción de la profilaxis con gammaglobulina anti-D durante la gestación puede llevar a la aparición de una positividad de la PDAG, en las pruebas realizadas al RN (3%-6% de muestras), que producen un

aumento de estudios de laboratorio complementarios y en algunos casos, preocupación y ansiedad para los neonatólogos y la familia³⁶, sin que ello suponga riesgos para el neonato.

Numerosos autores defienden que la realización de la PDAG no se debe generalizar, si no indicar únicamente en casos concretos, en los que se necesita diagnosticar un proceso hemolítico inmune en el niño^{20,22,37,38}.

Sí hay consenso internacional en la utilidad del *screening* universal de bilirrubina, ya que permite identificar casos de alto riesgo de hiperbilirrubinemia severa.

En España, en la mayoría de los hospitales se realiza el estudio de la PDAG a todos los recién nacidos, además del tipaje ABO Rh(D). En muchos casos se realiza también el tipaje ABO Rh(D) y el escrutinio de anticuerpos irregulares a la madre, de manera sistemática.

Recientemente algunos centros han apostado por realizar el cambio en las pruebas rutinarias posparto, tras consenso entre los expertos en inmunohematología y en obstetricia, utilizando los *tests* disponibles de forma más racional y sin observar un incremento de situaciones de retraso en el diagnóstico de la enfermedad.

En Cataluña, dicho consenso se ha plasmado en el “Protocolo para el seguimiento del embarazo.2018”, en el que se proponen las siguientes recomendaciones³⁹.

- Estudio posparto en la madre:
 - Test ABO-Rh(D) únicamente si no se ha realizado previamente
 - Estudio de anticuerpos irregulares en caso de mujer Rh(D) negativo
- Estudio posparto en el recién nacido
 - Tipaje Rh(D) en recién nacido de madre Rh(D) negativo
 - Grupo ABO si la madre es de grupo O
 - PDAG únicamente en caso de sospecha de enfermedad hemolítica.

6. Pruebas pre transfusionales

En los casos de EHFRN en los que se indica una transfusión sanguínea o una exanguinotransfusión, se han de realizar pruebas de compatibilidad pre transfusional^{40,41}.

Hay que tener en cuenta que, durante los primeros cuatro meses de vida los anticuerpos clínicamente significativos presentes en el plasma del recién nacido son, en su mayoría, de origen materno. Por ello, para el estudio de anticuerpos y las pruebas de compatibilidad puede utilizarse plasma materno cuando la muestra neonatal sea insuficiente, de acuerdo con el procedimiento validado por el servicio de transfusión.

- Transfusión sanguínea

- Se requiere una muestra de sangre anticoagulada con EDTA del RN y si es posible de la madre.
- Necesitamos información sobre el tipaje ABO y Rh(D) de ambos y el estudio de anticuerpos irregulares de la madre/RN.
- Los hematíes para transfundir deben ser ABO compatibles con el plasma del RN y carentes del antígeno contra el que va dirigido al anticuerpo materno.
- Se ha de realizar la prueba cruzada entre los hematíes a transfundir y plasma del RN/madre.

- Exanguinotransfusión

- Se debe realizar el mismo procedimiento que en la transfusión convencional, pero teniendo en cuenta que se utiliza habitualmente un componente preparado específicamente o sangre total reconstituida, con hematíes compatibles con el plasma materno y neonatal, carentes del antígeno correspondiente al anticuerpo implicado, y plasma compatible con los hematíes del recién nacido.

Hay que tener en cuenta que, si el RN es prematuro (y por tanto con inmadurez inmunológica) se ha de plantear la necesidad de que los componentes celulares sean irradiados.

Por otra parte, en caso del RN que haya recibido una transfusión intrauterina, deberá recibir posteriormente componentes celulares irradiados durante el periodo definido por las guías nacionales o institucionales

7. Conclusiones

La EHFRN es una patología que todavía existe en nuestro medio.

Afortunadamente cada vez es más frecuente el diagnóstico precoz, lo que permite un manejo adecuado de la misma y evita casos de enfermedad grave. Esto se ha conseguido gracias al trabajo multidisciplinar de obstetras y hematólogos y a la aplicación de protocolos consensuados y técnicas inmunoematológicas cada vez más avanzadas.

El laboratorio de Inmunohematología tiene un papel fundamental, también en el postparto, en varios aspectos fundamentales:

1. Diagnóstico de la enfermedad, en casos en los que no se ha detectado durante la gestación
2. Ayuda en la evaluación de afectación fetal, en los casos diagnosticados
3. Ayuda en la decisión de administrar la gammaglobulina anti-D a la madre
4. Cuantificación de la hemorragia feto materna para el ajuste de dosis de la gammaglobulina anti-D
5. Realización de las pruebas pre-transfusionales en los casos en los que se necesite transfusión sanguínea o exanguinotransfusión

Disponemos de diversas técnicas, cuya utilización adecuada es básica para realizar un enfoque objetivo de la situación materno-infantil.

No se recomienda la realización indiscriminada de la PDAG como única estrategia de cribado. Su indicación debe integrarse con el resultado del estudio materno de anticuerpos, la evaluación clínica, la medición universal de bilirrubina y la capacidad de seguimiento neonatal.

Cada laboratorio ha de decidir cuáles son las pruebas analíticas que realizar en el postparto, en las muestras de las madres y de los RN, en base a estudios propios o a las recomendaciones de expertos.

8. Referencias

1. Petz LD, Garratty G. Hemolytic disease of the fetus and newborn. En: Immune hemolytic anemias. 2ª ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2004. Cap. 13.
2. Malik H, Verweij EJ, Mustafa HJ. Hemolytic disease of the fetus and newborn: a review of pathophysiology, diagnosis, and management. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2025;102646. doi:10.1016/j.bpobgyn.2025.102646
3. Klein HG, Anstee DJ, editores. Haemolytic disease of the fetus and the newborn. En: Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine. 12ª ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2014. p. 499-549.

4. Delaney M, Matthews DC. Hemolytic disease of the fetus and newborn: managing the mother, fetus, and newborn. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2015;2015(1):146-151. doi:10.1182/asheducation-2015.1.146
5. Judd WJ. Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohematology, revisited. *Transfusion*. 2001;41(11):1445-1452.
6. Ree IMC, Smits-Wintjens VEJ, van der Bom JG, van Klink JMM, Oepkes D, Lopriore E. Neonatal management and outcome in alloimmune hemolytic disease. *Expert Rev Hematol*. 2017;10(7):607-616.
7. Bhat YR, Kumar CG. Morbidity of ABO haemolytic disease in the newborn. *Paediatr Int Child Health*. 2012;32(2):93-96.
8. Kumlien G, Sarman I, Shanwell A. A case of neonatal ABO immunization difficult to diagnose: mother A2 and infant DAT negative. *Lakartidningen*. 2000;97(38):4138-4140.
9. Akkök ÇA, et al. Why do RhD negative pregnant women still become anti-D immunized despite prophylaxis with anti-D immunoglobulin? *Transfus Apher Sci*. 2024;63(4):103969. doi:10.1016/j.transci.2024.103969
10. Karagöl BS, Zenciroglu A, Okumus N, Karadag N, Dursun A, Hakan N. Hemolytic disease of the newborn caused by irregular blood subgroup incompatibilities. *Am J Perinatol*. 2012;29(6):449-454.
11. Gooch A, Parker J, Wray J, Qureshi H. Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy. *British Committee for Standards in Haematology*; 2006.
12. Geaghan SM. Diagnostic laboratory technologies for the fetus and neonate with isoimmunization. *Semin Perinatol*. 2011;35(3):148-154.
13. Lieberman L, Walsh CM, Barty R, Callum J, Yan MTS, Vander Meulen H, et al. Guidance for prenatal, postnatal and neonatal immunohematology testing in Canada. *J Obstet Gynaecol Can*. 2025;47(9). doi:10.1016/j.jogc.2025.103088
14. Özumut SHS, Bozkurt Turhan A. Neonatal hemolytic disease: use of indirect and direct antiglobulin tests. *Pediatr Neonatol*. 2024;65(1):11-16.
15. Zantek ND, Koepsell SA, Tharp DR Jr, Cohn CS. The direct antiglobulin test: a critical step in evaluation of hemolysis. *Am J Hematol*. 2012;87(7):707-709.
16. Levine DH, Meyer HB. Newborn screening for ABO hemolytic disease. *Clin Pediatr (Phila)*. 1985;24(7):391-394.

17. Baer VL, MacQueen BC, Christensen RD. Absence of severe neonatal ABO hemolytic disease of the fetus and newborn at Intermountain Healthcare. *J Perinatol*. 2020; 40:352-353.
18. Hajjaj OL, Clarke G, Lieberman L. Immunohaematology testing using umbilical cord blood: review, survey and guidance. *Transfusion*. 2022;62(4):871-886.
19. Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. Estándares en hemoterapia. 5ª ed. Madrid: SEHH; 2022.
20. Dinesh D. Review of positive direct antiglobulin tests in cord blood. *J Paediatr Child Health*. 2005;41(9-10):504-507.
21. Abbas SA, Dinardo CL, Godinho CH, Ziza K, Cruz B, Oliveira JM, et al. Direct antiglobulin test in the differential diagnosis of ABO hemolytic disease. *Hematol Transfus Cell Ther*.
22. Heddle NM, Wentworth P, Anderson DR, Emmerson D, Kelton JG, Blajchman MA. Three examples of Rh haemolytic disease of the newborn with a negative direct antiglobulin test. *Transfus Med*. 1995;5(2):113-116.
23. Herschel M, Karrison T, Wen M, Caldarelli L, Baron B. Isoimmunization is unlikely to be the cause of hemolysis in DAT-negative neonates. *Pediatrics*. 2002;110(1):127-130.
24. Burin des Rozières N, Squalli S. Removing IgG antibodies from intact red cells: comparison of elution methods. *Transfusion*. 1997;37(5):497-501.
25. Qureshi H, Massey E, Kirwan D, Davies T, Robson S, White J, Jones J, Allard S; British Committee for Standards in Haematology. BCSH guideline for the use of anti-D immunoglobulin for the prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfus Med*. 2014;24(1):8-20. doi:10.1111/tme.12091.
26. Fung-Kee-Fung K, Wong K, Walsh J, Hamel C, Clarke G. Guideline No. 448: Prevention of Rh D Alloimmunization. *J Obstet Gynaecol Can*. 2024;46(4):102449. DOI: 10.1016/j.jogc.2024.102449. (SOGC; sustituye a la Guideline No. 133, 2003).
27. National Blood Authority (Australia). Guideline for the prophylactic use of Rh D immunoglobulin in pregnancy care, 2024.
28. British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the estimation of fetomaternal haemorrhage. 2009.
29. Uriel M, Subirá D, Plaza J, Castañón S, Cañamares M, Recasens JD. Identification of fetomaternal haemorrhage using flow cytometry. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010;151(1):20-25.

30. Agarwal P, Das SS, Gupta R, Khetan D, Chaudhary R. Quantification of fetomaternal hemorrhage: techniques in resource-poor settings. *Gynecol Obstet Invest*. 2011;71(1):47-52.
31. Hajjaj OI, Callum J, Shehata N, Farrell A, Clarke G, Lieberman L. Laboratory assessment of fetomaternal haemorrhage and Rh immune globulin management: Canadian practice and scoping review. *Br J Haematol*. 2025 Sep;207(3):723-736. doi:10.1111/bjh.20246
32. de Winter DP, Verweij EJT, Debeer A, Devlieger R, Lewi L, Verbeeck S, et al. Variations and opportunities in postnatal management of hemolytic disease of the fetus and newborn. *JAMA Netw Open*. 2025;8(1):e2454330. doi:10.1001/jamanetworkopen.2024.54330
33. Lieberman L, Clarke G, Fung M, Lu W, Nester T. AABB guide to prenatal and postnatal immunohematology testing. Bethesda (MD): AABB; 2023.
34. Tatopoulos A, Hubert C, Vieux R, Hascoët JM. What blood tests predict severe hyperbilirubinemia. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2010;39(3):218-223.
35. Routray SS, Behera R, Mallick B, Acharya D, Sahoo JP, Kanungo GN, Pati B. Spectrum of hemolytic disease of the newborn. *Cureus*. 2021;13(8):e16940. doi:10.7759/cureus.16940
36. Dillon A, Chaudhari T, Crispin P, Shadbolt B, Kent A. Anti-D prophylaxis and DAT positivity. *J Paediatr Child Health*. 2011;47(1-2):40-43.
37. Crowe EP, Goel R, Andrews J, Meyer EK, Wong TE, Sloan SR, Delaney M, Lieberman L, Cushing MM. Survey of newborn direct antiglobulin testing practice in United States and Canadian transfusion services. *Transfusion*. 2021;61(4):1080-1092. doi:10.1111/trf.16335
38. James RM, McGuire W, Smith DP. Investigation of infants with RhD-negative mothers. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2011;96(4):F301-F304. doi:10.1136/adc.2009.175851
39. Departament de Salut. Protocol de seguiment de l'embaràs a Catalunya. 3ª ed. Barcelona: Generalitat de Catalunya; 2018.
40. Transfusion guidelines for neonates and older children. *Br J Haematol*. 2004; 124:433-453.
41. Clark G, Hannon J. Clinical guide to transfusion. Canadian Blood Services; 2018. Cap. 12.