

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS**

"HEMORRAGIA FETOMATERNA EN AMNIOCENTESIS"

(Determinación de eritrocitos fetales en sangre materna en 60 casos, Hospital General San Juan de Dios, Guatemala)

T E S I S

Presentada a la Honorable Junta Directiva
de la Facultad de Ciencias Médicas de la
Universidad de San Carlos de Guatemala

P O R

MIGUEL ANGEL MAZARIEGOS CASTELLANOS

En el Acto de Investidura de

MEDICO Y CIRUJANO

PLAN DE TESIS

1. INTRODUCCION
2. DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA
3. REVISION BIBLIOGRAFICA
4. MATERIALES Y METODOS
5. RESULTADOS
6. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS
7. CONCLUSIONES
8. RECOMENDACIONES
9. RESUMEN
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

INTRODUCCION

Es bien sabido que durante el curso de un embarazo normal, en una buena proporción de ellos, sucede espontáneamente paso de eritrocitos fetales a la circulación materna. Cuando el embarazo se encuentra complicado por ciertas condiciones patológicas como traumatismos, hemorragias del tercer trimestre y otras o cuando necesita de algunos procedimientos tales como amniocentesis y versión externa, se espera que la incidencia y monto de la hemorragia fetomaterna aumenten significativamente.

En el presente trabajo se estudiaron 60 casos de pacientes gestantes a quienes se les realizó amniocentesis al final del tercer trimestre del embarazo. A dichas pacientes se les tomó muestras de sangre venosa antes y después del procedimiento. Por medio del método de ácido-elución diferencial de la hemoglobina adulta con la fetal se determinó la presencia y cantidad de sangre fetal presente en las muestras de sangre materna y luego se estableció la diferencia entre las cantidades halladas en las muestras post y preamniocentesis para conocer el monto de hemorragia fetomaterna atribuido al procedimiento.

En el estudio se consideró algunos factores en los cuales se sospechaba que la hemorragia fetomaterna podría ocurrir con mayor probabilidad tales como punción repetida en el intento de conseguir líquido amniótico y la presencia de sangre en el líquido amniótico aspirado.

Se obtuvo un buen control de calidad del método utilizado en el estudio con la participación en las lecturas al microscopio del autor del trabajo y de un profesional en bioquímica con experiencia en microscopía.

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

El estudio consta de 60 casos de pacientes obstétricas a quienes se les realizó amniocentesis en el servicio de complicaciones prenatales del Hospital General San Juan de Dios, durante los meses de abril y mayo de 1985. No se tomó en consideración la edad de las pacientes, la edad gestacional ni la indicación de amniocentesis, pues no existen bases para suponer que estos factores modifiquen en alguna forma la existencia de hemorragia fetomaterna.

Se estableció la diferencia del número porcentual de casos y de la cantidad de hemorragia fetomaterna expresada en volumen comparando por una parte los casos en los que se realizó una sola punción durante la amniocentesis con aquellos en los que se realizó dos punciones; por otra parte se estableció la misma comparación entre el grupo de casos en los que se aspiró líquido amniótico sanguinolento, llamadas punciones traumáticas en el futuro, con el grupo en los que el líquido amniótico se mostraba claro, denominado como punciones no traumáticas.

El mayor riesgo que presenta la hemorragia fetomaterna está representado por el desencadenamiento del proceso de isoinmunización Rh en madres con ausencia de este factor en su sangre y que poseen un embarazo con un feto Rh positivo.

En 1940 Landsteiner y Wiener descubrieron la existencia del factor Rh y más tarde Levine lo relacionó con la patogénesis de la enfermedad hemolítica del recién nacido conocida también como eritroblastosis fetal (5, 12, 41)

En 1940 Race y Sanger sugirieron que la incompatibilidad ABO podría actuar protegiendo contra la isoinmunización Rh (5).

La primera prueba de que los eritrocitos fetales podían tener acceso a la circulación materna fue proporcionada por Chown en 1954, cuando describió un caso de severa anemia neonatal como resultado de una elevada hemorragia fetal transplacentaria (4).

A partir de estos descubrimientos se emprendieron múltiples investigaciones que llegaron a la correcta interpretación de la naturaleza del proceso de isoinmunización Rh, su diagnóstico, su manejo y su profilaxia que condujeron al final a una reducción considerable en su morbilidad.

La fisiopatología de la isoinmunización está determinada por la antigenicidad de los eritrocitos Rh positivos. Estos poseen proteínas de gran tamaño conocida como antígenos Rh de los cuales el más importante es el antígeno D (2, 15). La respuesta antigénica a estas proteínas por parte de individuos que carecen del antígeno consiste en la elaboración de anticuerpos de los tipos IgG e IgM (3, 15), teniendo mayor importancia el primero éstos, IgG por la capacidad que tiene de atravesar la barrera placentaria.

La ausencia del antígeno Rh varía según la raza, es alta en blancos (15o/o), baja en negros (5o/o) y casi ausente en orientales (15).

Se ha determinado en distintas series que la hemorragia fetomaterna ocurre entre el 28 y el 50o/o de embarazos normales (11, 19, 34). De éstos el 99o/o no alcanza más de 3 ml durante el parto y sólo en el 0.3o/o hay una hemorragia mayor de 15 ml según datos de Zipursky (11).

Se han realizado varios estudios para determinar la cantidad de eritrocitos Rh positivos necesarios para iniciar una respuesta de sensibilización. Jacobowicz encontró que inyectando 0.01 ml de células rojas Rh positivas cada dos semanas a individuos Rh negativos, éstos eran capaces de responder a la tercera dosis con producción de anticuerpos. Sin embargo, parece probable que la dosis que inicia la respuesta en la mayoría de individuos Rh negativos es de un ml de células rojas Rh positivo (23).

No todos los sujetos Rh negativo responden a dosis adecuadas de antígeno; un grupo de cerca de 30o/o es incapaz de reconocer el antígeno Rh como extraño aún cuando repetidas transfusiones pequeñas sean dadas por un período de años (23).

En ratones se han encontrado que esta respuesta está determinada por genes de respuesta inmune controlados por antígenos de histocompatibilidad (23, 24).

Las hemorragias pueden ocurrir en etapas iniciales del embarazo. Así se ha detectado eritrocitos fetales en etapas tan tempranas como la sexta semana de gestación (22, 18). Sin embargo estas hemorragias rara vez son cuantitativamente importantes para iniciar la respuesta de producción de anticuerpos. Por el contrario la mayoría de hemorragias importantes capaces de causar sensibilización ocurren hacia el final del embarazo y durante el parto (10, 34, 39).

Existe un aumento progresivo de células fetales en muestras tomadas durante los últimos tres meses del embarazo, sin embargo esto no significa un aumento del número de hemorragias durante este período (39), se debe probablemente a la sobrevivencia de eritrocitos fetales de hemorragias previas; dicha sobrevivencia puede alcanzar hasta ciento veinte días, siendo en promedio de cincuenta días (12, 39).

Durante el embarazo ocurren algunos factores que pueden

originar una mayor predisposición a hemorragias fetomaternas. En las etapas tempranas se ha demostrado que durante el curso de embarazos ectópicos ocurre un mayor número de hemorragias transplacentarias comparado con embarazos normales de igual edad gestacional (20).

Basándose en cálculos de volumen sanguíneo fetal, Freda estimó que puede pasar suficiente cantidad de eritrocitos fetales a la circulación materna en abortos desde las siete u ocho semanas de gestación (1).

Leong establece un límite de seguridad a partir de las seis semanas gestacionales (22). El riesgo de un mayor volumen de sangre transfundido ocurre en intervenciones ginecoobstétricas relacionadas con esta entidad, tales como dilataciones y curetaje (27).

Por último toxemia, amniocentesis, traumatismos, versión externa, pérdida vaginal de sangre y signos de sufrimiento fetal también se asocian con hemorragias transplacentarias (20, 36).

La hemorragia fetomaterna puede alcanzar proporciones tan importantes que se menciona como causa de muerte fetal inexplicada, así como de morbilidad fetal. Se considera usualmente que una hemorragia de 200 ml es mortal para el feto; su frecuencia es de 1:1000 (19, 36).

La morbilidad fetal incluye anemia, asfixia e insuficiencia cardíaca.

La sensibilización de la madre afecta usualmente al feto de un embarazo sucesivo al que ocasionó la producción de anticuerpos, sin embargo hay un número de primigrávidas sensibilizadas en su embarazo. La frecuencia varía entre 0.4 al 2.0o/o (29). Esta sensibilización en el primer embarazo es la mayor causa de fallo en la profilaxia con inmunoglobulina anti-Rh (16). Se han propuesto dos posibles causas, una en la cual la hemorragia transplacentaria ocurre suficientemente temprano en el embarazo, causando una producción de anticuerpos contra los eritrocitos del feto antes que éste llegue al término (16, 17, 30). Esto al parecer es la causa usual como lo demuestra Scott en un estudio en 1976 (30).

La segunda causa, la cual no ha logrado probarse concluyentemente corresponde a la "Teoría de la Abuela", la que sugiere que la sensibilización ocurre cuando fetos femeninos Rh negativos se encuentran aún dentro del útero de madres Rh positivo (4, 17, 30).

El mecanismo de hemólisis no está completamente aclarado, sin embargo la mayoría de células rojas cubiertas por IgG son hemolizadas, en el espacio extravascular primariamente a través de fagocitosis en el sistema reticuloendotelial del bazo. Macrófagos y polimorfonucleares tienen receptores para la fracción Fc de IgG ejerciendo una acción opsonizante que puede facilitar la fagocitosis y lisis extracelular de los eritrocitos (28).

Además los fagocitos mononucleares y linfocitos K tienen receptores Fc de inmunoglobulinas ligadas a la superficie del eritrocito produciendo un efecto de lisis celular de la célula blanco. Este fenómeno es conocido como citotoxicidad dependiente de anticuerpos ADCC (28).

El resultado del proceso de hemólisis fetal lo constituye la eritroblastosis fetal; ésta entidad incluye los siguientes criterios diagnósticos: anemia, hepatomegalia, esplenomegalia, bilirrubina en el líquido amniótico, agrandamiento de la placenta y anasarca en los casos más graves (28). En el feto y en el recién nacido el recuento de reticulocitos está elevado (hasta el 80o/o) como respuesta a la anemia hemolítica crónica. Estos eritrocitos provienen incluso de fuentes extramedulares, lo que explica la hepatosplenomegalia (28, 37). En casos extremadamente graves existe la tendencia a la hemorragia por disminución en la producción de factores de la coagulación dependientes de la vitamina K (15, 37).

La incidencia de esta enfermedad había disminuido entre 1970 y 1979 de 40.5 a 14.3 por diez mil nacimientos en Estados Unidos como resultado de la instalación de la profilaxia con gammaglobulina anti Rh (26), sin embargo persistentes fallos en la profilaxia se han mantenido desde esa fecha.

El esfuerzo por medir la cantidad de sangre fetal en la circulación materna prevaleció desde mediados de siglo, sin embargo, no fue hasta inicios de la década de 1970 que el D^u

test se utilizó en Estados Unidos para identificar dicha hemorragia. Este test puede identificar en la circulación materna volúmenes de sangre fetal por arriba de 20 ml y presenta un elevado porcentaje de falsos negativos, por lo que cayó en desuso (16, 25, 32).

La técnica de aglutinación diferencial de Ashby al igual que el D^u test, no proporciona una estimación exacta de la hemorragia fetomaterna (21).

El método de desnaturalización por álcali presenta la desventaja de ser un procedimiento más complicado y menos sensible si se le compara con los métodos de ácido-elución (38).

La hemoglobina fetal presenta tres características químicas importantes: resistencia a la desnaturalización por álcali, mayor facilidad de oxidación a metahemoglobina que la hemoglobina del adulto y resistencia a la ácido elución (33). Esta última característica fue aprovechada por Kleihauer en 1957 para crear el primer método para detectar eritrocitos fetales en sangre materna (5). Este investigador notó que después de la elución ácida de la hemoglobina adulta de los eritrocitos fijados en portaobjetos, algunas células fijaban siempre una cantidad significativa de hemoglobina identificada como hemoglobina fetal HbF (8, 42).

Este método brinda sensibilidad comparable con métodos sofisticados y costosos como las técnicas de inmunofluorescencia (34, 38).

Existen reportes que dan a esta técnica (ácido-elución) la capacidad de resolver hemorragias fetomaternas tan pequeñas como 0.004 ml (1).

Basándose en este método se puede estimar el volumen de la hemorragia de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Número de células fetales}}{\text{Número de células maternas}} = \frac{\text{x ml de hemorragia fetomaterna}}{\text{Volumen Sanguíneo Materno Estimado}}$$

Una fórmula aún más sencilla fue sugerida por Kleihauer en 1966; multiplicando el porcentaje de células fetales halladas en relación a células adultas por cincuenta se obtiene el volumen de sangre fetal en ml (29-9).

A pesar de sus ventajas, el método posee limitaciones debido a la dificultad en la preparación de los reactivos y la estabilidad del pH (31).

Actualmente se han estandarizado varios productos comerciales, que se basan en el mismo principio de acidohemólisis y que han superado las dificultades antes descritas para el método original. En la actualidad son la técnica de elección en la determinación de la hemorragia transuterina (20, 31).

Los métodos fluorescentes se basan en la elaboración de anticuerpos específicos contra las distintas hemoglobinas (fetal y adulta). Se reportan como las técnicas más sensibles pero la dificultad en el desarrollo de los anticuerpos y el costo del procedimiento limitan su aplicación al estudio de condiciones hereditarias y adquiridas en las cuales hay pequeñas elevaciones de la hemoglobina fetal (8, 38).

En 1950 Race y Sanger observaron que la incompatibilidad ABO protegía contra la inmunización Rh (5). Demostraron entonces que esta protección podría ser brindada por el hecho de que las células fetales que se encontraban en la circulación materna eran eliminadas por los anticuerpos A y B antes de que éstas pudieran despertar a los antígenos Rh (6, 10, 23).

Jandl y colaboradores en 1957 demostraron que si los eritrocitos Rh negativos eran cubiertos con anti-D éstos eran removidos por el bazo de la circulación. En 1960 Stern y Berger demostraron que si los eritrocitos Rh positivos eran recubiertos por anti-D y luego inyectados en hombres Rh negativos éstos no desarrollaban anticuerpos (10).

Todos estos experimentos condujeron a la suposición de que la inmunización pasiva con anti Rh podría prevenir la formación de estos mismos anticuerpos en pacientes Rh negativos. Más tarde este hecho fue comprobado (13, 14).

Así se inició el uso de inmunoglobulina anti Rh en la prevención de la isoimmunización, ésta era administrada inmediatamente después de que era reconocida la hemorragia fetomaterna en madres Rh negativo (2, 13).

La dosis mínima fue establecida en 300 ug post-parto ya que es durante este momento donde con mayor frecuencia se producen hemorragias capaces de iniciar la formación de anticuerpos (23).

La dosis se estableció en base a la neutralización de un ml de eritrocitos por 20 ug de anti-Rh, asumiendo que las hemorragias transplacentarias rara vez sobrepasan la cantidad de 15 ml de glóbulos rojos (23).

El plazo para la administración de la inmunoglobulina después del parto fue establecido en 72 horas por Pollack, Freda y Gorman. Según las observaciones de estos investigadores con este plazo se ha obtenido un 100o/o de seguridad (12).

Actualmente las indicaciones del uso de inmunoglobulina Rh han aumentado substancialmente; incluyen todos los factores de riesgo en los cuales la hemorragia fetomaterna se produce. A continuación se enumeran tales indicaciones y sus dosis (18, 20):

- Abortos inducidos y espontáneos en el 1er. trimestre. 50 ug
- Abortos del segundo trimestre 300 ug
- Amniocentesis en cualquier etapa 300 ug
- Embarazo ectópico 50 ug
- Post-parto 300 ug
- Comprobación de hemorragia fetomaterna en cualquiera de las siguientes circunstancias: muerte fetal inexplicada, anemia fetal de etiología desconocida y abruptio placentae. En estos casos la dosis se ajustará a la cantidad de eritrocitos encontrados.

Teóricamente la profilaxia anti-Rh debería ser 100o/o efectiva, sin embargo hay una incidencia de fallo entre 1.6 a 2.0o/o de madres que a pesar de haber sido tratadas con dosis adecuadas de anti-Rh desarrollan anticuerpos en subsecuentes embarazos (7, 16, 18).

Este fallo se atribuye a dos posibles causas, una en la que la magnitud de la transfusión sea lo suficientemente grande para no ser neutralizada por la dosis estandar de inmunoglobulina antiRh (300 ug) y la otra, probablemente más frecuente, la existencia de hemorragias silenciosas en el transcurso del embarazo que sensibilizan a la madre antes del parto (40).

La primera causa podría superarse con el uso rutinario de tests que cuantifiquen la cantidad de sangre fetal en la circulación materna y con la adecuación de las dosis de inmunoglobulina de acuerdo a la cantidad de hemorragia transplacentaria.

Para prevenir la sensibilización por la existencia de hemorragias silenciosas en el transcurso del embarazo, se ha propuesto últimamente el uso de inmunoglobulina en la 28 semana de gestación, además de la dosis post-parto. Esto reduciría significativamente la incidencia de fallos debidos a esta causa, como ya ha sido demostrado en estudios controlados. Algunos autores sin embargo no apoyan esta rutina por el elevado costo que implicaría este esquema de profilaxia (18, 35).

El mecanismo de acción de la inmunización pasiva no es claro, sin embargo se han propuesto tres teorías impulsadas por distintos grupos de investigadores (6, 26):

1. Bloqueo de los sitios antigénicos del eritrocito por los anticuerpos administrados pasivamente, evitando así el reconocimiento de la proteína extraña por el sistema inmunológico del organismo.
2. Destrucción de las células rojas y extracción de los productos por el sistema reticuloendotelial, antes que el sistema de defensa del individuo tenga tiempo para activarse. El mejor ejemplo de esta teoría es la forma como actúa la incompatibilidad ABO contra la isoinmunización Rh.
3. Inhibición central que explica la no producción de anti Rh por el sistema inmunológico del cuerpo de acuerdo a un proceso de retroalimentación negativa. Así la elevada

concentración de anti-Rh administrada pasivamente bloquea directamente la producción de anticuerpos por el sistema linfático.

En resumen, la isoinmunización Rh es una enfermedad que ha sido estudiada ampliamente, lo que ha conducido a un buen entendimiento de su fisiopatología y a la elaboración de técnicas y productos que han contribuido a la disminución de su incidencia y de la morbilidad perinatal. Queda aún por aclarar el mecanismo exacto por el cual la inmunización pasiva protege contra el desarrollo de anticuerpos contra los eritrocitos fetales.

MATERIALES Y METODOS

De la población obstétrica fue extraída una muestra de 60 pacientes a las que se les realizó amniocentesis durante el último trimestre de su período gestacional.

La variable considerada fue "Hemorragia Fetomaterna" medida y expresada en ml de sangre fetal completa.

METODOLOGIA:

A cada paciente se le extrajo una muestra de sangre venosa (3 cc) inmediatamente antes de la amniocentesis y otra entre 15 y 30 minutos después del procedimiento. Las muestras fueron mezcladas con el anticoagulante EDTA.

Las mediciones de sangre fetal se hicieron con el Test-Combination Hemoglobina Fetal®. Este test contiene en la solución 1, una mezcla de cloruro férrico y hematoxilina para eluir la hemoglobina adulta de la muestra. En la solución 2 contiene eritrosina, un colorante para la tinción de la hemoglobina fetal que resiste a la elución de la muestra con la solución 1.

Por cada muestra de sangre fueron preparadas 3 extensiones finas, homogéneas y con el mismo grosor en láminas portaobjetos. Cada extensión se fijó en alcohol etílico al 80o/o, posteriormente se sumergió en la solución 1 por 2 segundos y por último se tiñó por 2 minutos en la solución 2, según instrucciones del test.

La lectura de las extensiones se realizaron con microscopio de luz donde las células fetales se observaron teñidas intensamente en contraste con las células maternas que aparecieron pálidas.

El conteo de células fetales se realizó en no menos de 50 campos de baja magnificación y el de células maternas en el mismo número de campos de alta magnificación.

Conociendo las áreas de cada campo se calculó el promedio de células fetales y maternas por campo de baja magnificación. Por último se estableció la relación de porcentaje entre las células fetales con respecto a las maternas halladas en el conteo y se multiplicó por 50 según la fórmula original del Kleihauer (9, 24):

$$\text{Sangre fetal en ml} = \% \text{ células fetales/células maternas} \times 50.$$

En las muestras en las que se halló hemorragia fetomaterna, se estableció la diferencia de las muestras post-amniocentesis, con respecto a las muestras preamniocentesis para determinar la cantidad de hemorragia neta producida por el procedimiento.

PRESENTACION DE RESULTADOS

Se presenta a continuación, las tablas y gráficas de los resultados obtenidos en la investigación de hemorragia fetomaterna en 60 casos de amniocentesis en el Hospital General San Juan de Dios, durante los meses de abril y mayo de 1985.

TABLA 1:

Esta tabla resume los resultados del trabajo en su totalidad. En ella se puede apreciar en orden de izquierda a derecha, en la primera columna, el número de orden correspondiente a cada caso; las siguientes dos columnas indican los casos en que la punción fue única o doble; las dos columnas próximas señalan los casos en que la punción fue traumática o no traumática; y por último las tres columnas restantes en su orden muestran la cantidad de hemorragia fetomaterna encontrada en las muestras preamniocentesis, post-amniocentesis y la diferencia entre ambas que es la hemorragia fetomaterna atribuida al procedimiento en mención.

TABLA 2 Y GRAFICA 1:

En esta tabla y gráfica se indica la cantidad de casos en los que hubo hemorragia fetomaterna como consecuencia de amniocentesis, contrastando con los casos negativos, en los que no se observó hemorragia de origen fetal. Se demuestra también su relación en porcentaje.

TABLA 3 Y GRAFICA 2

En esta tabla se establece la relación existente entre la ocurrencia de hemorragia fetomaterna con respecto al número de punciones realizadas en la amniocentesis. La ocurrencia se indica en porcentajes para hacer a su vez una comparación entre ambos grupos (una y dos punciones).

En la gráfica 2 pueden apreciarse las mismas relaciones y hacerse iguales comparaciones.

TABLA 4:

Por último en la tabla 4 se indica la relación entre el número de casos positivos con respecto al total de casos en los que las punciones fueron traumáticas y no traumáticas respectivamente. Nuevamente se establece la relación de porcentaje para hacer una comparación entre la ocurrencia de hemorragia fetomaterna en ambos grupos.

TABLA 1

Hemorragia fetomaterna en 60 casos amniocentesis y factores relacionados con su incidencia. Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, Abril-Mayo 1985.

No. de Orden	Número de Punciones		Tipo de Punción		Hemorragia Feto-materna Pre-Amniocentesis (ml)	Hemorragia Feto-materna Post-Amniocentesis (ml)	Hemorragia feto-materna Neta (ml)
	Uno	Dos	Tr.	No Tr.			
1		+		+	0.000	0.000	0.000
2	+			+	0.000	0.000	0.000
3	+			+	0.000	0.000	0.000
4		+		+	0.000	0.000	0.000
5	+			+	0.000	0.000	0.000
6	+			+	0.000	0.000	0.000
7	+			+	0.000	0.000	0.000
8	+			+	0.060	0.061	0.001
9	+			+	0.000	0.000	0.000
10		+		+	0.000	0.000	0.000
11	+		+		0.241	0.479	0.238
12	+			+	0.000	0.000	0.000
13	+			+	0.000	0.000	0.000
14	+			+	0.000	0.000	0.000
15		+		+	0.000	0.000	0.000
16	+		+		0.970	2.120	1.150
17	+			+	0.040	0.040	0.000
18	+			+	0.000	0.000	0.000
19	+			+	0.000	0.000	0.000
20		+		+	0.000	0.000	0.000
21		+		+	0.000	0.000	0.000
22	+			+	0.000	0.000	0.000
23	+			+	0.040	0.040	0.000
24	+			+	0.058	0.062	0.004
25	+			+	0.000	0.000	0.000
26	+			+	0.000	0.000	0.000
27		+	+		0.000	1.484	1.484
28	+			+	0.000	0.000	0.000
29	+			+	0.000	0.000	0.000
30		+		+	0.000	0.000	0.000
31		+	+		0.600	1.454	0.854
32	+			+	0.000	0.000	0.000
33	+			+	0.000	0.000	0.000
34	+			+	0.000	0.000	0.000
35	+			+	0.000	0.000	0.000
36	+		+		0.000	0.000	0.000
37	+			+	0.000	0.000	0.000
38	+			+	0.000	0.000	0.000
39	+			+	0.000	0.000	0.000
40	+			+	0.000	0.000	0.000

(CONTINUA)

(CONTINUACION)

No. de Orden	Número de Punciones		Tipo de Punción		Hemorragia Feto-materna Pre-Amniocentesis. (ml)	Hemorragia Feto-materna Post-Amniocentesis (ml)	Hemorragia feto-materna Neta (ml)
	Uno	Dos	Tr.	No Tr.			
41	+			+	0.000	0.000	0.000
42	+			+	0.000	0.000	0.000
43	+			+	0.000	0.000	0.000
44	+			+	0.000	0.000	0.000
45	+		+		1.233	3.666	2.434
46	+			+	0.000	0.000	0.000
47	+			+	0.000	0.000	0.000
48	+			+	0.000	0.000	0.000
49		+		+	0.000	0.000	0.000
50	+			+	0.000	0.000	0.000
51	+			+	0.021	0.020	-0.001
52	+			+	0.000	0.000	0.000
53	+			+	0.000	0.000	0.000
54	+			+	0.000	0.000	0.000
55		+		+	0.000	0.000	0.000
56		+		+	0.206	0.206	0.000
57	+			+	0.000	0.000	0.000
58	+			+	0.000	0.000	0.000
59	+			+	0.000	0.000	0.000
60	+			+	0.000	0.000	0.000

FUENTE: Observación directa, determinación de hemorragia fetomaterna por el método de ácido-elución.

(*) Tr. = Traumática.

No Tr. = No traumática.

TABLA 2

Hemorragia fetomaterna en 60 casos de amniocentesis. Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, abril-mayo 1985.

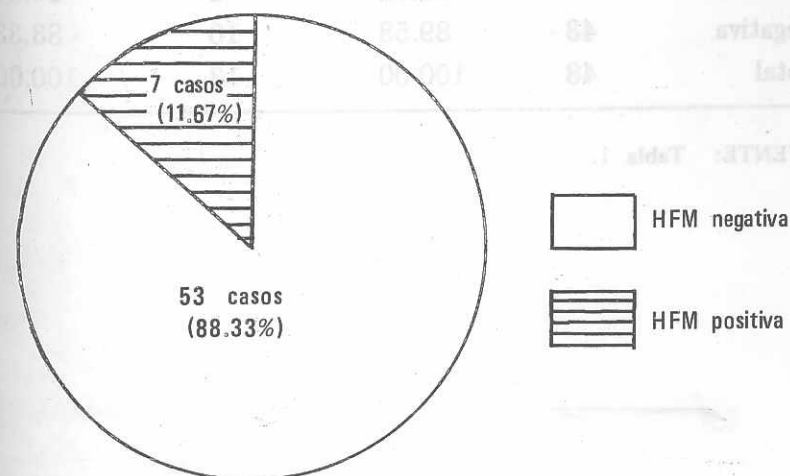
HFM	Número de casos	o/o
Positiva	7	11.67
Negativa	53	88.33
Total	60	100.00

FUENTE: Tabla 1.

HFM = Hemorragia fetomaterna.

GRAFICA 1

Hemorragia fetomaterna en 60 casos de amniocentesis. Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, abril-mayo 1985.



FUENTE: Tabla 2.

TABLA 3

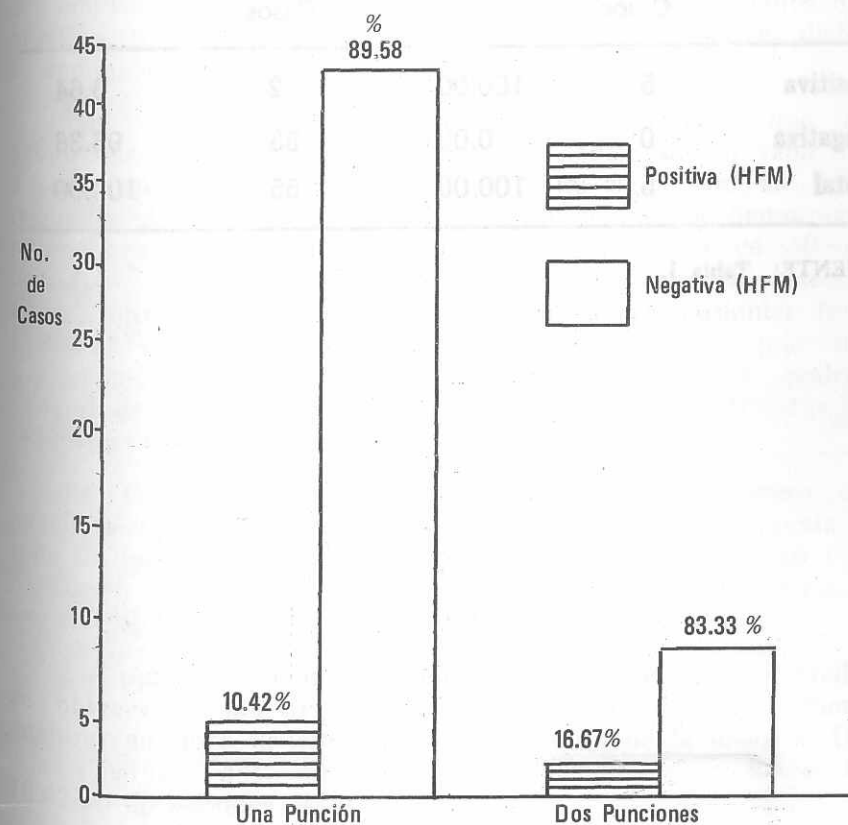
Relación entre hemorragia fetomaterna y número de punciones abdominales en 60 casos de amniocentesis. Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, abril-mayo 1985.

HFM	Una punción		Dos punciones	
	Número de Casos	o/o	Número de Casos	o/o
Positiva	5	10.42	2	16.67
Negativa	43	89.58	10	83.33
Total	48	100.00	13	100.00

FUENTE: Tabla 1.

GRAFICA 2

Relación entre hemorragia fetomaterna y número de punciones abdominales en 60 casos de amniocentesis. Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, abril-mayo 1985.



FUENTE: Tabla 3.

TABLA 4

Relación entre ocurrencia de hemorragia fetomaterna y tipo de punción en 60 casos de amniocentesis. Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, abril-mayo 1985.

HFM	Punción Traumática		Punción No Traumática	
	Número de Casos	o/o	Número de Casos	o/o
Positiva	5	100.00	2	3.64
Negativa	0	0.00	53	96.36
Total	5	100.00	55	100.00

FUENTE: Tabla 1.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según podemos observar en las tablas y gráficas presentadas en la sección anterior, la incidencia de hemorragia fetomaterna como resultado de amniocentesis fue de 11.67o/o (Tabla 2 y gráfica 1). Considerando que el riesgo de isoinmunización Rh es elevado con hemorragias fetomaternas mayores de 0.1 ml (23) y que en los valores de nuestro estudio únicamente dos casos están por debajo de este valor crítico (tabla 1) podemos ver que el riesgo de sensibilización en pacientes de riesgo es alto cuando se someten a una amniocentesis. De aquí se deduce la importancia del empleo de profilaxia anti-Rh en los casos de pacientes Rh negativo no sensibilizadas a quienes se les practique dicho procedimiento.

Por otra parte, podemos observar en la tabla 1 que las hemorragias observadas, todas caen por debajo de un valor de 2.5 ml, siendo el valor más alto de 2.43 ml en el caso 45. Esto resguarda al feto de otro tipo de complicaciones de hemorragia fetomaterna en las cuales volúmenes por encima de 50 ml, llamados macrotransfusiones, son suficientes para producir anemia severa, sufrimiento fetal o muerte perinatal en cualquier feto (19, 36). Podríamos así sentirnos confiados de que un procedimiento como amniocentesis difícilmente podría desencadenar una complicación de una macrotransfusión fetomaterna.

En la mayoría de los casos estudiados, el número de punciones abdominales fue de uno, correspondiendo a cuarenta y ocho de los casos que hacen el 80o/o de la muestra (tablas 1 y 3). De éstos la hemorragia fetomaterna ocurrió en 5 de los casos que constituye el 10.42o/o del subgrupo.

Las punciones se hicieron en número de dos (debido a fallo en obtener la muestra de líquido amniótico en la primera muestra) en doce de los casos, o sea 20o/o de la muestra. De este subgrupo dos casos fueron positivos, constituyendo el 16.67o/o de los doce casos.

La diferencia de ocurrencia de hemorragia fetomaterna en

ambos grupos, no alcanza valores que nos hagan pensar en que el número de punciones hechas en la amniocentesis pueda alterar la incidencia de hemorragia fetomaterna. Además conociendo el riesgo de sensibilización Rh, en amniocentesis para pacientes Rh-negativo, como señalamos arriba, aconsejaríamos administrar profilaxia anti-Rh en todos estos casos, sin importar el número de punciones realizadas en la amniocentesis (12).

Analizando los datos de la tabla 4, vemos que de 5 casos en los que las punciones fueron traumáticas, en todos hubo hemorragia fetomaterna comparados con únicamente dos de cincuenta y cinco casos en los que las punciones fueron no traumáticas. Como explicamos ya anteriormente, los términos traumático y no traumático se refieren a la presencia o ausencia de sangre en el líquido amniótico aspirado en la amniocentesis.

La elevada frecuencia de hemorragia fetomaterna en punciones traumáticas, reviste gran importancia porque además de considerar la profilaxia anti-Rh en pacientes de riesgo, consideramos como indicación útil en estos casos, la medición de la hemorragia por medio de métodos como el test de ácido-elución para descartar la posibilidad de una hemorragia suficientemente grande como para no brindar la protección a una paciente Rh negativo con las dosis rutinarias de inmunoglobulina anti-Rh.

En los casos de punciones traumáticas, el test de ácido elución, también podría ser útil en la diferenciación del origen de la sangre que contamina el líquido amniótico que puede ser materno o fetal. En el caso de ser de origen fetal, el riesgo de una hemorragia fetomaterna masiva debe sospecharse (36).

Consideramos útil la práctica ya establecida de monitoreo de la frecuencia cardíaca fetal después de amniocentesis haciendo mayor énfasis en los casos de punciones hemorrágicas para detectar tempranamente signos de sufrimiento fetal que pudieran presentarse.

Por último, como observación adicional, podemos observar que la existencia de hemorragia fetomaterna preamniocentesis (tabla 1) coincide con datos que mencionan la existencia de

hemorragias espontáneas, especialmente con mayor frecuencia cerca del término del embarazo (11, 19, 34). Esto explica bien la existencia de tales hemorragias en las muestras preamniocentesis, donde los volúmenes estuvieron en casi todos los casos por debajo de 1.0 ml, sin embargo, estas hemorragias halladas pudieran bien ser explicadas por otras causas, por ejemplo traumatismos que no fueron investigados en el estudio porque estaban fuera de los objetivos del trabajo.

CONCLUSIONES

1. La incidencia de hemorragia fetomaterna, como consecuencia de amniocentesis fue de 11.67o/o.
2. La hemorragia fetomaterna ocurre con elevada frecuencia en los casos de amniocentesis en los que el líquido amniótico aspirado se presenta teñido con sangre.
3. La magnitud de la hemorragia fetomaterna no sobrepasó un volumen de 2.5 ml para todos los casos.
4. Las amniocentesis en las que se practicó dos punciones no mostraron diferencia apreciable en volumen e incidencia de hemorragia fetomaterna con respecto a las amniocentesis en las que se realizó una sola punción.

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

1. Administrar dosis plenas de 300 ug de inmunoglobulina anti-Rh a todas las pacientes Rh negativo no sensibilizadas a las que se les practique amniocentesis, a menos que la resolución del embarazo se espera en las próximas cuarenta y ocho horas posteriores al procedimiento. En dichos casos el uso de la inmunoglobulina se decidirá después del parto.
2. Investigar con el test de ácido-elución, la existencia de macrohemorragias cuando esté justificado por uno o ambos de los siguientes factores: presencia de sangre en el líquido amniótico aspirado y/o signos de sufrimiento o muerte fetales. En el caso de pacientes Rh negativo ajustar la dosis de inmunoglobulina anti-Rh a razón de 10 ug por ml de sangre fetal encontrado.

RESUMEN

En el presente estudio, se realizaron observaciones directas de 60 casos de amniocentesis, determinándose en ellas la incidencia de hemorragia fetomaterna por el método de ácido-elución diferencial de las hemoglobinas adulta y fetal.

Se encontró una incidencia de 11.67o/o cayendo todos los casos positivos por debajo de 2.5 ml de volumen de sangre fetal transfundido.

Un hallazgo importante fue la incidencia elevada de hemorragia fetomaterna en aquellas amniocentesis en las que el líquido amniótico aspirado presentaba contaminación con sangre.

El número de punciones realizadas no reflejó diferencia en cuanto al volumen y/o frecuencia de hemorragia fetomaterna.

Se concluyó en la importancia de la utilización del test de ácido-elución diferencial en los casos en que se sospechara macrotransfusión de sangre fetal en el torrente sanguíneo de la madre y en la utilización de profilaxia anti-Rh en todos los casos en los que el procedimiento fuera aplicado a pacientes Rh negativo no sensibilizadas en las que el momento del parto se esperara más de cuarenta y ocho horas después de la amniocentesis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ascari, W. Q. Abortion and maternal Rh immunization. *Clin Obstet Gynecol* 1971 Jun; 14(2):625-634
2. Borger, G. S. *et al.* Utilization of Rh prophylaxis. *Clin Obstet Gynecol* 1982 Jun; 25(2):267-275
3. Bowel, P. *et al.* Maternal anti-D concentrations and outcome in rhesus haemolytic disease of the newborn. *Br Med J* 1982 Jul 31; 285(6338):327-329
4. Bowman, J. M. *et al.* Rh immunization during pregnancy and the grandmother theory. *J Pediatr* 1974 Aug; 93(2):313-314
5. Clarke, C. A. Rhesus haemolytic disease of the newborn and its prevention. *Br J Haemat* 1982 Dec; 52(4):525-535
6. Clarke, C. A. The mechanism of action of Rh immunoglobulin. *Clin Obstet Gynecol* 1971 Jun; 14(2):611-624
7. Derrick, T. *et al.* Reduced severity of Rh haemolytic disease after anti-D immunoglobulin. *Br Med J* 1975 Nov 8; 4(5992):320-322
8. Dover, G. J. and S. Boyer. Hemoglobin determinations in single cells: comparison of different techniques. *Advances in hemoglobin analysis*. New York, Alan R. Liss, 1981. (pp 115-133) (photocopy)
9. Dudok de W., C. *et al.* Failure of anti-D immunoglobulin injection to protect against rhesus immunization after massive foetomaternal haemorrhage. *Br Med J* 1968 Jan 20; 1(5585):152-154

10. Finn, R. *et al.* Experimental studies on the prevention of Rh haemolytic disease. *Br Med J* 1961 May 27; 1(5238):1486-1490
11. Fraser, I. D. *et al.* Consideraciones sobre la inmunización Rh: pasado, presente y futuro. *Clínicas de hematología* 1977 mar; 5(1):126-178
12. Freda, V. J. *et al.* Prevention of Rh isoimmunization. *JAMA* 1967 Feb 6; 199(6):390-394
13. Freda, V. J. Rh immunization; experiences with full term pregnancies. *Clin Obstet Gynecol* 1971 Jun; 14(2):594-610
14. Freda, V. J. *et al.* Suppression of the primary response immune with passive Rh IgG immunoglobulin. *New Engl J Med* 1967 Nov 9; 277(19):1022-1023
15. Glader, B. E. *et al.* Haemolytic disorders of infancy. *Clin Haematol* 1978 Feb; 7(1):35-61
16. Gorman, J. G. Analysis of failure with Rh immunoglobulin. *Clin Obstet Gynecol* 1971 Jun; 14(2):635-646
17. Hattevig, G. *et al.* Screening of Rh-antibodies in Rh negative female infants with Rh-positive mothers. *Acta Pediatr Scand* 1981 Jul; 70(4):541-543
18. Kochenour, N. K. *et al.* The use of Rh immunoglobulin. *Clin Obstet Gynecol* 1982 Jun; 25(2):283-291
19. Laube, D. W. *et al.* Fetomaternal bleeding as a cause for unexplained fetal death. *Obstet Gynecol* 1982 Nov; 60(5):649-651
20. Lavery, J. P. Rho(D) immunoglobulin. *Postgrad Med* 1984 Mar; 75(4):259-264
21. Lawrence A., V. *et al.* Measurement of fetal cells in the maternal circulation. *Obstet Gynecol* 1977 Sep; 50(3):364-366
22. Leong, M. *et al.* Fetalmaternal transfusion following early

- abortion. *Obstet Gynecol* 1979 Oct; 54(4):424-426
23. Mollison P. L. Clinical aspects of the Rh immunization. *Am J Clin Pathol* 1973 Sep; 60(3):287-301
24. Mollison, P. L. Quantitation of transplacental haemorrhage. *Br Med J* 1972 Jul 1; 3(5817):31-34
25. Polesky, H. *et al.* Evaluation of methods for detection and quantitation of fetal cells and their effect on Rh IgG usage. *Am J Clin Pathol* 1981 Oct; 76(4):525-529
26. Pollack, W. Recent understanding for the mechanism by which passively administered Rh antibody suppresses the immune response to Rh antigen in unimmunized Rh negative women. *Clin Obstet Gynecol* 1982 Jun; 25(2):255-265
27. Quenan, J. T. *et al.* Role of spontaneous abortion in Rh immunization. *Am J Obstet Gynecol* 1971 May 1; 110(1):128-130
28. Rote, N. S. Pathophysiology of Rh immunization. *Clin Obstet Gynecol* 1982 Jun; 25(2):242-254
29. Scott, J. *et al.* Immunological factors in first pregnancy Rh isoimmunization. *Lancet* 1973 Mar 31; 1(7805):717-718
30. Scott, J. *et al.* Pathogenesis of Rh immunization in primigravidas. *Obstet Gynecol* 1977 Jan; 49(1):9-14
31. Scott, J. *et al.* Test to detect and quantitate fetomaternal bleeding. *Clin Obstet Gynecol* 1982 Jun; 25(2):277-282
32. Sebring, E. *et al.* Comparison of fetomaternal hemorrhage detection methods and Rh immunoglobulin usage. *Am J Clin Pathol* 1979 Aug; 72(2):358-368
33. Stockman, J. A. *et al.* Erythrocytes of the human neonate. *Current topics in hematology*. New York, Alan R. Liss, 1978. t.1(pp. 193-232) (photocopy)
34. Sullivan J. F. *et al.* Transplacental fetalmaternal hemorrhage. *Am J Clin Pathol* 1966 Jul; 46(1):36-42

35. Tovey, L. A. *et al.* A case for the antenatal administration of anti-D immunoglobulin to primigravidae. *Lancet* 1981 Apr 18; 1(8225):878-881
36. Van de Putte, I. *et al.* Counting fetal erythrocytes as a diagnostic aid in perinatal death and morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 1972 Dec 1; 114(7):850-856
37. Walker, W. Anemia hemolítica del recién nacido. *Clínicas de hematología* 1976 Sep; 7(1):148-170
38. Wood, W. G. *et al.* F-cells in the adult; normal values and levels in individuals with hereditary and acquired elevations of Hb-F. *Blood* 1975 Nov; 46(5):671-682
39. Woodrow, J. C. *et al.* Transplacental hemorrhage. *Br J Haematol* 1966 May; 12(3):297-309
40. Woodrow, P. C. *et al.* Prevention of Rh immunization due to large volumes of Rh positive blood. *Br Med J* 1968 Jan 20; 1(5585):148-150
41. Zipursky, A. Preventing Rh immunization of pregnancy. *Postgrad Med* 1968 Jan; 43(1):100-108
42. Zipursky, A. *et al.* Fetal erythrocytes in the maternal circulation. *Lancet* 1959 Feb 28; 1(7070):451-454

20/10
[Signature]

Universidad de San Carlos de Guatemala
 FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
 OPCA — UNIDAD DE DOCUMENTACION

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS
 DE LA SALUD
 (C I C S)

CONFORME:

[Signature]
 Dr. Luis Felipe García Ruano.

ASESOR
 Dr. LUIS F. GARCIA RUANO
 MEDICO Y CIRUJANO
 Colegiado 1953

SATISFECHO:

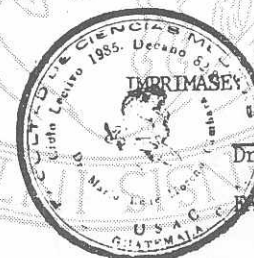
[Signature]
 Dr. Jorge Cifuentes Morales.

REVISOR:

Dr. Jorge M. Cifuentes
 MEDICO Y CIRUJANO
 Colegiado 2709

APROBADO:

[Signature]
 DIRECTOR DEL CICS



[Signature]
 Dr. Mario René Moreno Cambará
 DECANO
 FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS.
 U.S.A.C.

Guatemala, 24 de Junio de 1985.