

**Società Italiana di
Medicina Trasfusionale
e Immunoematologia**



SIMTI

Raccomandazioni per la prevenzione ed il trattamento della Malattia Emolitica del Feto e del Neonato

Gruppo di Redazione

**Francesco Bennardello, Serelina Coluzzi, Giuseppe Curciarello,
Tullia Todros, Stefania Villa**

Edizione 2014

in collaborazione con



SIGO
SOCIETA' ITALIANA
DI GINECOLOGIA E OSTETRICIA

TESTO ONLINE

© Copyright SIMTI Servizi Srl - Via Desiderio, 21 - 20131 Milano

Nessuna parte (testi, tabelle, figure) di questo volume può essere riprodotta o fotocopiata senza autorizzazione scritta dell'Editore

Presentazione

La malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità materno fetale è stata ormai da decenni perfettamente inquadrata dal punto di vista eziologico, patogenetico e terapeutico. Per quella causata dagli anticorpi anti RhD, la più frequente in termini di incidenza e di gravità, da circa cinquant'anni viene attuata un'efficace prevenzione nelle donne RhD negative con la somministrazione di immunoglobuline anti RhD nel post-partum.

Dopo l'introduzione della profilassi post-partum la percentuale di immunizzazione delle donne RhD negative si è ridotta a circa l'1-2% e margini di miglioramento sono ancora possibili se l'immunoprofilassi viene praticata nel corso della gravidanza, non solo in occasione di eventi a potenziale rischio di immunizzazione, ma anche di routine al terzo trimestre di gravidanza. Oltre alla profilassi antenatale, importante è inoltre la dose giusta di immunoglobuline anti-RhD da somministrare se si vogliono evitare, da un lato, fallimenti dovuti a dosi insufficienti e, dall'altro, spreco di immunoglobuline specifiche anti-RhD per le quali, a volte, sono stati riportati problemi di disponibilità.

Le presenti raccomandazioni vogliono essere un punto di riferimento rigoroso e documentato con lo scopo di fornire ai medici una guida pratica e aggiornata che li aiuti ad adottare le scelte più giuste nella prevenzione della malattia e nella sua gestione ottimale, nel caso in cui essa si verifichi.

Il presente volume è stato prodotto dal gruppo di lavoro della SIMTI (Società Italiana di Medicina Trasfusionale ed Immunoematologia) in collaborazione con la SIGO (Società Italiana di Ginecologia ed Ostetricia) ed aggiorna le precedenti "Raccomandazioni per la gestione della Malattia Emolitica del Neonato" pubblicate nel 2006.

Un grazie sincero a tutti i componenti del gruppo di lavoro che nel corso di incontri e di scambi ripetuti di conoscenze ed esperienze hanno contribuito alla stesura di queste raccomandazioni.

A loro esprimiamo la nostra più sincera gratitudine per il risultato finale frutto dell'attento lavoro di revisione della letteratura e dell'esperienza da essi maturata nella loro attività quotidiana.



Prof. Paolo Scollo
Presidente SIGO



Dott. Claudio Velati
Presidente SIMTI

Ringraziamenti

Ringrazio i componenti del gruppo di lavoro Serelina Coluzzi, Giuseppe Curciarello, Tullia Todros e Stefania Villa per l'impegno, la costanza e la professionalità mostrate nella realizzazione di queste raccomandazioni.

Un caloroso ringraziamento a Giancarlo Liumbruno per il suo prezioso contributo nella revisione finale del testo e dei riferimenti bibliografici.

Grazie all'instancabile Camilla Granzella per la paziente disponibilità avuta nell'impaginazione finale e per essere venuta incontro a tutte le nostre esigenze. Ringrazio Elena D'Este che ha curato gli aspetti logistico organizzativi e Roberta Frisenda che ha tenuto i rapporti con la SIGO.

Un riconoscimento e un ringraziamento cordiale al precedente gruppo di lavoro che ha elaborato la prima revisione delle raccomandazioni, tracciando un'importante strada che ha agevolato il nostro percorso.

Infine, la mia gratitudine e quella del gruppo di lavoro vanno al presidente della SIMTI Claudio Velati, a tutto il Consiglio Direttivo e alla segreteria di Roma, alla SIMTI Servizi e alla segreteria di Milano, alla SIGO e al suo presidente Paolo Scollo per gli importanti contributi che hanno dato affinché queste raccomandazioni vedessero la luce.



Francesco Bennardello
Coordinatore del Gruppo di Redazione

Abbreviazioni

ACM:	arteria cerebrale media
ACM-PVS:	picco di velocità sistolica nell'arteria cerebrale media
CMV:	citomegalovirus
CP:	concentrato piastrinico
EFM:	emorragia feto-materna
EG:	età gestazionale
ET:	exsanguino-trasfusione
EV:	endovenosa/o
GdR:	grado di raccomandazione
GRADE:	<i>grading of recommendations assessment, development and evaluation</i>
HbF:	emoglobina fetale
Ig:	immunoglobuline
IgG:	immunoglobuline di classe G
IP:	immunoprofilassi
MEFN:	malattia emolitica del feto e del neonato
PCR:	<i>polymerase chain reaction</i>
PFC:	plasma fresco congelato
PNLG:	programma nazionale per le linee guida
RDS:	<i>respiratory distress syndrome</i>
RhD:	Rhesus D
SIGO:	Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia
SIMT:	Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale
SIMTI:	Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia
SIN:	Società Italiana di Neonatologia
ST:	Struttura/e Trasfusionale/i
TAD:	test all'antiglobulina diretto
TAI:	test all'antiglobulina indiretto
TIU:	trasfusione intra-uterina
UI:	unità internazionale/i

Indice

Abbreviazioni	5
Introduzione	8
Obiettivo delle raccomandazioni	9
Benefici attesi	9
Destinatari delle raccomandazioni	10
Applicabilità	10
Metodologia di lavoro del gruppo di studio e gradi di raccomandazione	10
1. Malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità materno-fetale RhD	13
2. Malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità per altri antigeni eritrocitari	14
3. Malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità materno-fetale ABO	15
4. Le indagini in corso di gravidanza per la prevenzione e la gestione della malattia emolitica del feto e del neonato	16
4.1 Indagini immunoematologiche da eseguire su tutte le donne	16
4.2 Indagini immunoematologiche da eseguire in caso di ricerca anticorpale positiva	20
4.3 Titolazione degli anticorpi	22
4.4 Indagini strumentali e sorveglianza fetale	24
5. Indagini immunoematologiche post-natali	26
5.1 Indagini da eseguire su tutti i neonati	26
5.2 Indagini alla nascita in caso di sospetta malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità materno-fetale ABO	27
6. L'immunoprofilassi anti-D	28
6.1 Generalità	28
6.2 Indicazioni generali	28
6.3 Immunoprofilassi a seguito di eventi potenzialmente immunizzanti in corso di gravidanza	31
6.4 Immunoprofilassi prenatale sistemica	32

6.5	Immunoprofilassi post-partum	33
6.6	Tempi e modalità e di somministrazione delle immunoglobuline anti-D	33
6.7	Dosaggio delle immunoglobuline anti-D	34
6.8	Preparazioni di immunoglobuline anti-D disponibili in Italia	36
7.	Valutazione dell'emorragia fetο-materna	37
7.1	Principali test utilizzati per valutare il volume dell'emorragia fetο-materna	37
7.2	Quando eseguire la valutazione dell'emorragia fetο-materna	38
8.	Indicatori di monitoraggio e valutazione per l'effettuazione dell'audit clinico	40
Appendice		42
A.	La terapia trasfusionale nella malattia emolitica del fetο e del neonato da incompatibilità D o da altri antigeni	42
A.1	Trasfusione intrauterina	42
A.2	Trasfusione post-natale	43
B.	La malattia emolitica del fetο e del neonato da incompatibilità ABO	44
B.1	Cenni di terapia	44
C.	La trasfusione nelle "donne con potenziale gravidico"	45
C.1	Trasfusione omologa	45
D.	Test immunoematologici raccomandati durante la gravidanza e relativa tempistica per una corretta prevenzione della malattia emolitica del fetο e del neonato	47
E.	Test immunoematologici raccomandati al parto	48
F.	Modello di consenso informato per la somministrazione di immunoglobuline anti-D	49
G.	Sorveglianza immunoematologica della donna in gravidanza e al momento parto	52
H.	Riepilogo delle raccomandazioni	53
Bibliografia		57

Introduzione

La pubblicazione della seconda edizione delle raccomandazioni per la prevenzione e il trattamento della malattia emolitica del feto e del neonato (MEFN) nasce dalla collaborazione tra la Società Italiana di Medicina Trasfusionale ed Immunoematologia (SIMTI) e la Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia (SIGO).

Le raccomandazioni già emanate nel 2006¹ vengono riviste, alla luce delle attuali evidenze scientifiche: vengono definiti gli esami immunoematologici e strumentali da effettuare nel periodo prenatale e perinatale, l'immunoprofilassi (IP) per la prevenzione della MEFN da incompatibilità RhD e la terapia da praticare in caso di insorgenza di MEFN.

Le raccomandazioni hanno il fine della prevenzione e della gestione della MEFN, in particolare di quella da incompatibilità RhD, la più grave tra queste forme morbose. Nonostante l'IP ne abbia drasticamente ridotto i casi, essa è tuttora presente e continua ad impegnare gli specialisti in Medicina Trasfusionale, in Ostetricia ed in Neonatologia. Le raccomandazioni sono rivolte alle Strutture Trasfusionali (ST) e a tutte le Strutture pubbliche afferenti al Dipartimento Materno-Infantile, ai Consultori Familiari, alle strutture private che gestiscono la gravidanza, anche nei casi in cui il parto venga eseguito a domicilio. La prevenzione della MEFN deve essere garantita, con modelli organizzativi adattati alle realtà locali, a tutte le donne in gravidanza per le quali si ravvisi l'indicazione, assicurando loro anche un'adeguata informazione.

Oltre alla MEFN da incompatibilità RhD sono inoltre trattate le forme meno frequenti dovute a immunizzazione da altri antigeni gruppo ematici, e la forma da incompatibilità ABO, di più frequente riscontro laboratoristico, anche se meno importante dal punto di vista clinico.

Queste raccomandazioni saranno oggetto di revisione periodica in rapporto all'evoluzione delle conoscenze scientifiche, della tecnologia e della pratica medica. Esse sono state sviluppate sulla scorta dell'analisi della letteratura corrente (mediante ricerche bibliografiche sui database di Medline/PubMed e Ovid) e sono state sottoposte al consenso di esperti della SIMTI e della SIGO. Per favorire la *compliance* nelle gravide, si raccomanda l'elaborazione di protocolli concordati tra i Servizi di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale (SIMT) e gli Ostetrici-Ginecologi che operano nel medesimo territorio, anche a livello regionale.

Obiettivo delle raccomandazioni

Obiettivo di questo documento è dare un indirizzo adeguato per la gestione e la prevenzione della MEFN con la finalità di promuovere comportamenti omogenei sul territorio nazionale italiano, secondo un minimo comune denominatore di qualità raggiungibile in tutte le strutture sanitarie² alle quali afferiscono donne in gravidanza o con potenziale gravidico*.

Queste raccomandazioni hanno una duplice valenza. Oltre ad essere un supporto tecnico-scientifico per i medici in merito alle decisioni cliniche relative alla gestione della MEFN, hanno lo scopo di fornire aggiornamenti sui rischi associati all'immunizzazione nelle donne con potenziale gravidico.

Le raccomandazioni non intendono sostituire in alcun modo la valutazione clinica che il medico esegue sul singolo caso, né l'esperienza personale del medico stesso, ma costituiscono uno strumento di consultazione che può anche permettere di verificare l'appropriatezza del trattamento. La decisione ultima su un determinato trattamento deve essere sempre presa dal medico alla luce del quadro clinico e delle risorse a disposizione; tuttavia deviazioni sostanziali dalle presenti raccomandazioni dovrebbero essere documentate e motivate sulla cartella clinica. A questo scopo sono stati individuati specifici indicatori di monitoraggio e valutazione per l'effettuazione dell'audit clinico.

Benefici attesi

I benefici attesi dalla divulgazione delle raccomandazioni sulla prevenzione e gestione della MEFN sono i seguenti:

- diminuzione dell'incidenza della MEFN;
- diminuzione dell'incidenza di alloimmunizzazioni;
- aumento dell'appropriatezza dell'uso clinico di emocomponenti in età fetale e neonatale;
- aumento dell'appropriatezza dell'uso clinico di emocomponenti in donne con potenziale gravidico;
- aumento dell'appropriatezza dell'uso clinico e della posologia delle immunoglobuline (Ig) anti-D;

* Con il termine di "donne con potenziale gravidico" si indicano pazienti (dall'età di quattro-sei mesi fino alla menopausa) che possono o potranno essere in stato gravidico e quindi a rischio di MEFN.

- maggiore coinvolgimento delle pazienti nelle decisioni relative alla prevenzione e alla gestione della MEFN.

Destinatari delle raccomandazioni

Medici e operatori sanitari coinvolti nella prevenzione, diagnosi e terapia della MEFN.

Applicabilità

Queste raccomandazioni sono applicabili ai soggetti di sesso femminile con potenziale gravidico, alle donne in gravidanza a rischio d'insorgenza di MEFN e ai feti/neonati affetti da malattia emolitica causata da alloimmunizzazione materno-fetale.

Metodologia di lavoro del gruppo di studio e gradi di raccomandazione

Il processo di sviluppo di queste Raccomandazioni, conformemente alle indicazioni contenute nel manuale metodologico del programma nazionale per le linee guida (PNLG)³, si è avvalso delle revisioni sistematiche della letteratura e dell'aggiornamento di raccomandazioni già esistenti sull'argomento. Per la maggior parte delle raccomandazioni viene fornita una valutazione esplicita della qualità delle prove e della forza con la quale sono state definite. Laddove non esistono prove evidenti, le raccomandazioni sono basate sul consenso dell'opinione degli esperti riportato in letteratura e su quello del gruppo di lavoro.

La metodologia impiegata nella preparazione dei gradi di raccomandazione si è ispirata a quella utilizzata dal GRADE Working Group⁴⁻⁶. Secondo il sistema GRADE (*Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*) le raccomandazioni sono classificate per gradi, espressi in numeri arabi (1, 2) in funzione della forza e in lettere (A, B, C) in funzione della qualità e del tipo di evidenza degli studi.

In particolare:

- **Grado 1:** gli autori sono certi che i benefici per la salute superano chiaramente gli effetti indesiderati, sia in termini di rischio, sia di costo economico. Si tratta quindi di una raccomandazione forte.
- **Grado 2:** gli autori sono meno certi, il compromesso tra effetti desiderabili e indesiderati è meno chiaro. Si tratta pertanto di una raccomandazione debole.

Per quanto riguarda la qualità e il tipo di evidenza ricavati dagli studi a supporto delle raccomandazioni, esse si classificano in tre livelli:

- **Grado A: evidenza alta.** Le evidenze derivano dall'analisi di numerosi e consistenti studi randomizzati senza importanti limitazioni. È poco probabile che ulteriori ricerche potranno modificare le conclusioni a cui sono arrivati tali studi.
- **Grado B: evidenza moderata.** Le evidenze derivano da studi clinici randomizzati, ma con importanti limitazioni (ad esempio risultati non coerenti, ampi intervalli di confidenza, problemi metodologici). Il grado B viene anche attribuito a raccomandazioni che derivano da evidenze forti tratte da studi osservazionali o da serie di casi (ad esempio effetti del trattamento o la dimostrazione di un gradiente dose-risposta). Ulteriori ricerche potranno in futuro modificare le conclusioni di tali studi.
- **Grado C: evidenza bassa o molto bassa.** Le evidenze derivano dall'analisi di studi clinici osservazionali con risultati meno consistenti, o da esperienze cliniche/opinioni di esperti. Ulteriori ricerche saranno destinate a cambiare le conclusioni presentate.

In generale, ogni raccomandazione diversa dal Grado 1A presuppone che gli autori riconoscano che altre interpretazioni dell'evidenza disponibili e altre "*clinical policies*" possano essere ragionevolmente appropriate.

La classificazione convenzionale dell'evidenza si fonda su criteri matematico-statistici, assegnando la "forza" dell'evidenza, nell'ordine, a: metanalisi, studi sperimentali randomizzati controllati, analisi retrospettive, follow-up prospettici, studi trasversali di popolazione, rassegne, evidenze aneddotiche. Ciò è corretto per quanto riguarda gli studi di natura rigorosamente clinica, soprattutto se focalizzati su valutazioni obiettive di esito, in particolare per gli studi di tipo terapeutico.

In alcuni campi le raccomandazioni sono comunque deboli; in altri, invece, la disponibilità di studi clinici, eseguiti con metodologia rigorosa e con casistica numerosa, ha permesso di formulare raccomandazioni specifiche e più certe.

Inoltre, non sempre si sono potuti utilizzare i dati aggregati forniti dalle metanalisi: queste variabili aumentano i margini di decisione individuale per ogni singolo medico e per ogni singolo paziente.

Per quanto attiene il supporto trasfusionale in epoca antenatale e post-natale per la MEFN [trasfusione intrauterina, exsanguino-trasfusione (ET), trasfusione neonatale], sono riportati in appendice i principi fondamentali desunti dalle Raccomandazioni per la terapia trasfusionale in neonatologia⁷ e successive modificazioni.

In appendice sono inoltre riportate alcune raccomandazioni da seguire per evitare il rischio d'immunizzazione in caso di trasfusione in donne con potenziale gravidico, uno schema riassuntivo delle indagini da eseguire durante la gravidanza e nel post-partum per una corretta prevenzione della MEFN, e una flow-chart che descrive la sorveglianza immunoematologica della donna in gravidanza e al momento parto. Sempre in appendice è riportata, inoltre, una tabella riepilogativa delle raccomandazioni formulate e della loro classificazione.

I singoli membri che compongono il gruppo di studio, hanno sottoscritto una dichiarazione di assenza di conflitto d'interessi, conforme a quella adottata dal PNLG³.

1. Malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità materno-fetale RhD

L'alloanticorpo anti-D è l'anticorpo più frequentemente responsabile di MEFN⁸⁻⁹. Prima dell'introduzione dell'IP anti-D, la MEFN secondaria a immunizzazione anti-D colpiva l'1% dei neonati e causava la morte di un bambino ogni 2.200 nati¹⁰. Nonostante l'introduzione negli anni settanta dell'IP dopo il parto nelle gravide RhD negative ne abbia drasticamente ridotto i casi¹¹, la MEFN da anti-D continua tuttavia ad essere rilevata in 0,4 su 1.000 nascite¹²⁻¹³ e l'alloimmunizzazione eritrocitaria rimane ancora la causa più frequente di anemia fetale¹⁴. Il permanere di questa forma morbosa è causato da diversi motivi: a) la possibile evenienza di un'immunizzazione anti-D in corso di gravidanza per emorragia feto-materna (EFM) silente, solitamente dopo la 28^a settimana di età gestazionale (EG) che, statisticamente, interessa circa l'1% delle donne RhD negative madri di un feto RhD positivo¹⁵; b) la mancata somministrazione dell'IP; c) l'inefficacia dell'IP per una somministrazione non congrua all'entità dell'EFM; d) possibili errori nella tipizzazione della gravida, della puerpera o del neonato; e) possibili errori nel trattamento trasfusionale delle donne con potenziale gravidico (trasfusione di concentrati eritrocitari con disparità antigenica RhD).

La causa fondamentale della MEFN è la reazione tra gli anticorpi materni di classe IgG e gli antigeni presenti sui globuli rossi fetali che ha come conseguenza la loro distruzione, principalmente nella milza.

La MEFN raramente si verifica durante la prima gravidanza, a meno che la madre non sia stata precedentemente sensibilizzata da trasfusioni. Di solito, durante la prima gravidanza avviene l'immunizzazione materna primaria, caratterizzata dalla produzione di una piccola quantità di anticorpi IgM, immunoglobuline che non attraversano la placenta. Nelle gravidanze successive, e dopo ulteriori esposizioni all'antigene, come risultato dell'immunizzazione secondaria, si producono anticorpi IgG, che possono attraversare la placenta e causare emolisi. La risposta immunitaria dipende dall'entità dell'EFM, dal numero di eventi immunizzanti e dalla capacità di risposta della donna. L'incompatibilità ABO tra madre e feto protegge parzialmente dall'immunizzazione.

Nella storia naturale della malattia senza alcun tipo d'intervento, il feto, nel 50% dei casi, ha solo segni lievi di malattia e si ristabilirà senza alcun trattamento; nel 25% dei casi può presentare emolisi e *kernicterus*, se non trattato adeguatamente al momento della nascita; nel rimanente 20-25% dei

casi la MEFN da anti-D si può presentare nella sua forma più grave (idrope fetale e morte) prima della 34^a settimana di EG¹⁶.

Tuttavia, attualmente, con il miglioramento della sorveglianza materno fetale e della possibilità di trattamento in utero, i casi gravi (idrope e morte) sono ridotti a circa il 10%¹⁷.

2. Malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità per altri antigeni eritrocitari

Oltre all'antigene RhD, anche altri antigeni appartenenti al sistema Rh e ad altri sistemi gruppoematici noti (con la possibile esclusione di quelli del sistema Lewis, Chido e Rodgers, Knops e della *Collection I/i*), con i quali un soggetto che ne sia privo è venuto in contatto in seguito a gravidanza o terapia trasfusionale, sono in grado di evocare la produzione di anticorpi IgG e di provocare, conseguentemente, anche una MEFN. In linea di massima, le forme di MEFN non dovute a incompatibilità RhD sono clinicamente benigne, tanto che solo il 10% di queste ha una rilevanza clinica tale da richiedere un intervento trasfusionale; tuttavia, in letteratura non mancano descrizioni di casi anche fatali¹⁸.

In ordine di frequenza, dopo la MEFN da incompatibilità RhD e quella da incompatibilità ABO, vengono quelle da incompatibilità verso l'antigene c (r'), verso l'antigene Kell (K1), verso l'antigene C e quelle verso gli antigeni del sistema Duffy¹⁹⁻²⁰. Seguono, sempre in stretto ordine di frequenza, le MEFN dovute a incompatibilità per gli antigeni dei sistemi Kidd, MNS, Dombrock e le altre, tutte assai rare. Gli anti - Cw, - Fyb, - Jka, - Jkb, - Jk3, - S, - s, in genere si limitano a determinare la positività del test all'antiglobulina diretto (TAD) nel neonato e il trattamento, se necessario, si limita quasi sempre alla fototerapia²¹.

Gli anti-M, che possono essere anche di classe IgG, raramente sono causa di MEFN, così come gli autoanticorpi caldi. Gli anticorpi come l'anti-I, -P₁, -Lea e -Leb possono essere ignorati perché i corrispondenti antigeni sono scarsamente presenti alla nascita.

Diversi studi²²⁻²⁵ hanno mostrato che la MEFN causata da anti-K differisce da quella da anti-D per una serie di motivi. Nelle donne con anti-K, generalmente l'anamnesi ostetrica non è predittiva della severità della malattia; c'è una bassa correlazione tra il titolo anticorpale e la gravità della malattia, l'emolisi

e la conseguente iperbilirubinemia non sono una caratteristica dominante della malattia e la soppressione dell'eritropoiesi fetale, piuttosto che l'emolisi, rappresenta il meccanismo patogenetico più importante nel determinare l'anemia fetale. Le gravidanze con alloimmunizzazione materno-fetale anti-K, anche con basso titolo anticorpale (uguale o superiore a 1:8), devono pertanto essere considerate a rischio per la possibile gravità delle manifestazioni cliniche fetali e/o neonatali.

L'aumento dei flussi migratori che negli ultimi anni ha interessato il nostro Paese ha portato alla diagnosi anche di altre forme di MEFN, dovute ad antigeni di non frequente riscontro, almeno nella nostra popolazione. La ricerca degli anticorpi irregolari in queste forme di MEFN è spesso falsamente negativa per la mancanza di questi antigeni nei pannelli eritrocitari identificativi comunemente in uso, allestiti con emazie di soggetti caucasici. In questi casi, l'alloanticorpo coinvolto può essere accertato e identificato utilizzando le emazie del padre (se ABO compatibili con la donna), oppure, dopo la nascita, quelle del neonato. I protocolli relativi alle indagini in corso di gravidanza, a quelle in periodo perinatale e post-natale e alla terapia, non si diversificano da quelli raccomandati per la MEFN da incompatibilità RhD, cui si rimanda.

Una volta identificata una specificità anticorpale, le emazie test da utilizzare nei controlli, nelle titolazioni e nello studio dell'eluato dagli eritrociti neonatali, dovranno esprimere l'antigene in causa. Le emazie da utilizzare per un'eventuale ET o per una trasfusione al neonato dovranno, invece, essere prive dell'antigene implicato.

3. Malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità materno-fetale ABO

La MEFN da incompatibilità ABO rappresenta oggi la più comune malattia emolitica neonatale nel mondo occidentale; nel 15-20% delle gravidanze nella popolazione bianca è presente, infatti, incompatibilità tra madre di gruppo O e figlio A o B; nel 10% di esse si manifesta una MEFN dovuta alla distruzione degli eritrociti fetali causata dagli anticorpi anti-A e/o anti-B di classe IgG presenti nel siero materno. La situazione sierologica madre-figlio nella quale più facilmente si sviluppa una MEFN ABO clinicamente rilevante è osservata quando la madre è di gruppo O e il neonato è di gruppo A₁.

Tuttavia, soltanto in circa l'1,5-2% dei casi, la malattia emolitica presenta

caratteristiche tali da richiedere il supporto trasfusionale²⁶⁻²⁷. La prevalente modesta espressione clinica della MEFN da incompatibilità ABO è legata a diversi fattori:

- gli antigeni A e B sono poco espressi sui globuli rossi fetali e neonatali;
- le sostanze A e B presenti ubiquitariamente nelle cellule endoteliali ed epiteliali, anche placentari, adsorbono in parte le IgG materne che attraversano la placenta;
- le IgG anti-A e anti-B sono rappresentate in prevalenza da IgG₂, sottoclasse di Ig con ridotta capacità di attraversare attivamente la barriera placentare.

Tuttavia, occasionalmente, sono stati riportati in letteratura casi gravi di malattia emolitica che hanno richiesto ET e una gestione complessa²⁸⁻²⁹.

Nelle popolazioni Africana e Araba l'incidenza della MEFN da incompatibilità ABO è più alta; ciò è dovuto all'alta espressione dei geni A e B in queste popolazioni. In considerazione dei fenomeni migratori che interessano il nostro Paese [il rapporto CEDAP (analisi dei Certificati Di Assistenza al Parto) del 2013 riporta che nel 2010 il 18,3% dei parti è stato di donne di cittadinanza non italiana, con punte del 28% in Emilia Romagna], si potrà prevedere nel futuro un aumento dell'incidenza di questo tipo di MEFN³⁰.

La frequenza della MEFN da incompatibilità ABO è la stessa sia nella prima gravidanza, sia nelle gravidanze successive: quindi la malattia non è né prevenibile, né prevedibile.

La ricerca di IgG anti-A e/o anti-B nel corso della gravidanza è scarsamente indicativa ai fini di pronosticare la comparsa di una MEFN ABO nel nascituro. Infatti, la maggioranza delle gravide, in particolare quelle di gruppo O, ha IgG anti-A e/o anti-B (e anti-A,B) nel proprio siero, mentre i neonati affetti da malattia emolitica, soprattutto in forma clinicamente importante, sono relativamente pochi.

4. Le indagini in corso di gravidanza per la prevenzione e la gestione della malattia emolitica del feto e del neonato

4.1 Indagini immunoematologiche da eseguire su tutte le donne

- 4.1.1 Su tutte le gravide devono essere effettuati presso una ST, possibilmente entro il primo trimestre, la determinazione del gruppo ABO e del fattore RhD con metodica convalidata^{9,31-32}.

- 4.1.2 I campioni di sangue delle donne in gravidanza devono riportare cognome, nome e data di nascita della paziente e la firma dell'operatore che ha eseguito il prelievo³³⁻³⁴. I dati anagrafici della paziente devono essere trascritti in presenza della paziente stessa, che deve confermare i propri dati.
- 4.1.3 Per la determinazione del tipo RhD devono essere utilizzati due diversi reagenti anti-D monoclonali che non devono riconoscere la variante D^{VI} dell'antigene RhD³²⁻³³. La determinazione dell'antigene D *weak* non è raccomandata perché inutile e foriera di pericolose omissioni di IP in assenza di possibilità d'indagini approfondite non eseguibili in tutti i laboratori d'immunoematologia.
- 4.1.4 A tutte le donne in gravidanza di gruppo RhD negativo dovrebbe essere fornita idonea certificazione che riporti il gruppo RhD e l'indicazione all'IP con Ig anti-D.
- 4.1.5 Contestualmente alla tipizzazione di gruppo nel primo trimestre, dovrà essere eseguita sul plasma/siero della gravida la ricerca di anticorpi irregolari antieritrocitari impiegando il test all'antiglobulina indiretto (TAI), con metodica validata, in grado di evidenziare tutti gli anticorpi clinicamente significativi.
- 4.1.6 Le richieste che accompagnano i campioni devono riportare l'informazione sullo stato di gravidanza e su un'eventuale IP anti-D eseguita nei 6 mesi precedenti.
- 4.1.7 Per il TAI è suggerito l'utilizzo dell'antisiero antiglobulina del tipo anti-IgG. L'utilizzo dell'antisiero antiglobuline umane "ad ampio spettro" è consentito purché, in presenza di risultati positivi, il test sia ripetuto solo con antisiero antiglobulina anti-IgG o con metodi atti a rilevare la significatività clinica dell'anticorpo evidenziato.
- 4.1.8 In caso di rilevazione di anticorpi è necessario che il referto immunoematologico contenga delle informazioni sulla rilevanza clinica del risultato e sull'eventuale necessità d'indagini successive.
- 4.1.9 I pannelli di eritrociti test utilizzati per lo screening e per l'identificazione anticorpale devono essere conformi a quanto

indicato dagli Standard SIMTI³³, sebbene non sia ritenuto necessario includere emazie test che esprimano antigeni a bassa frequenza quali Cw, Kpa o Lua³⁵. L'uso routinario di tecniche che utilizzano eritrociti trattati con enzimi non è consigliato³⁶⁻³⁷, in quanto potrebbero evidenziare anticorpi di nessun interesse per MEFN (autoanticorpi freddi, anti-Lewis, anti-P, ecc.).

- 4.1.10 Se la ricerca di anticorpi è positiva, al fine di valutare il rischio di MEFN, deve esserne identificata la specificità, il titolo e l'origine, con un'accurata anamnesi immunoematologica e ostetrica della donna. In questa fase può essere anche utile determinare le sottoclassi di IgG presenti per valutare nel modo più preciso possibile il reale rischio di emolisi.
- 4.1.11 La ricerca e il monitoraggio degli anticorpi immuni anti-A e anti-B nelle donne in gravidanza non sono raccomandati, perché la loro presenza non predice l'insorgenza della MEFN ABO e non causa problemi al feto in utero³⁸.
- 4.1.12 A 28 settimane di EG, il TAI deve essere ripetuto a tutte le donne^{29,39}, indipendentemente dal loro stato RhD. Assieme al TAI, se non esiste una precedente tipizzazione negli archivi della ST, oltre quella eseguita nel primo trimestre, si suggerisce di ricontrollare il gruppo ABO e RhD³⁷.
- 4.1.13 Nelle donne RhD negative che eseguono la profilassi antenatale a 28 settimane di EG, il TAI deve essere eseguito prima della somministrazione dell'IP.
- 4.1.14 Altre ricerche anticorpali non dovrebbero essere effettuate di routine se il risultato del TAI rilevato a 28 settimane di EG è negativo. Gli anticorpi irregolari rilevati solo nel terzo trimestre non causano di solito MEFN⁴⁰⁻⁴¹.
- 4.1.15 Nelle donne con anticorpi non clinicamente significativi, si raccomanda di ripetere l'identificazione degli anticorpi eritrocitari a 24 e 34 settimane di EG, se RhD negative, e a 34 settimane di EG, se RhD positive²⁹.

Raccomandazione n. 1	GdR
Su tutte le gravide, indipendentemente dal loro stato RhD si raccomanda di effettuare, presso una ST, entro il primo trimestre, la determinazione del gruppo ABO e del fattore RhD e la ricerca di anticorpi irregolari con il TAI.	1B
Raccomandazione n. 2	GdR
Si suggerisce che i campioni per gli esami immunoematologici siano identificati come i campioni per le prove pre-trasfusionali e riportino cognome, nome, data di nascita della paziente e la firma dell'operatore che ha eseguito il prelievo.	2C
Raccomandazione n. 3	GdR
Si suggerisce di segnalare a tutte le donne in gravidanza il loro stato RhD per l'eventuale necessità di praticare la profilassi con Ig anti-D.	2B
Raccomandazione n. 4	GdR
Si suggerisce di ripetere la ricerca degli anticorpi irregolari in tutte le donne a 28 settimane di EG, indipendentemente dal loro stato RhD. Nelle donne RhD negative che eseguono la profilassi antenatale a 28 settimane di EG, il TAI va eseguito prima della somministrazione dell'IP.	2B
Raccomandazione n. 5	GdR
Se la ricerca di anticorpi è positiva, al fine di valutare il rischio di MEFN, si suggerisce di identificare la specificità, il titolo e l'origine degli anticorpi e di eseguire un'accurata anamnesi immunoematologica e ostetrica della donna.	2B
Raccomandazione n. 6	GdR
Si suggerisce di eseguire la tipizzazione RhD, lo screening e l'identificazione degli anticorpi irregolari utilizzando metodiche in linea con quanto previsto dagli Standard SIMTI.	2C
Raccomandazione n. 7	GdR
Si raccomanda di non eseguire la ricerca e il monitoraggio degli anticorpi immuni anti-A e anti-B nelle donne in gravidanza.	2B

4.2 Indagini immunoematologiche da eseguire in caso di ricerca anticorpale positiva

- 4.2.1 In presenza di anticorpi clinicamente significativi è necessario che la gravidanza sia seguita presso un centro ove esista un'elevata condivisione dei protocolli di sorveglianza da parte dell'immunoematologo e dell'ostetrico.
- 4.2.2 Dopo l'identificazione di un anticorpo clinicamente significativo per MEFN, il passo successivo è quello di stabilire se il padre del nascituro ha il corrispondente antigene e se egli è eterozigote o omozigote⁴²⁻⁴³. Se la coppia acconsente, si suggerisce pertanto di sottoporre il partner a determinazione del gruppo ABO, RhD, del fenotipo Rh e di altri antigeni eritrocitari, nel caso in cui siano presenti alloanticorpi clinicamente significativi verso questi antigeni. Se il padre è omozigote per il corrispondente antigene e la paternità è certa, il feto è chiaramente a rischio di MEFN.
- 4.2.3 In passato per lo studio della zigosità paterna sono stati utilizzati test sierologici, ma, una volta determinato il fenotipo Rh, l'eterozigosi dell'antigene RhD poteva essere valutata solo attraverso l'analisi di tabelle di frequenza, con risultati spesso non accurati. Più di recente, per determinare la zigosità RhD sono state sviluppate tecniche che utilizzano la reazione a catena della polimerasi (*polymerase chain reaction*) o PCR⁴⁴.
- 4.2.4 I metodi in PCR non sono necessari per determinare la zigosità paterna per gli altri antigeni che sono sempre espressi (sistemi con alleli codominanti) e pertanto le metodiche sierologiche possono essere usate per determinare il genotipo paterno.
- 4.2.5 Se il padre è eterozigote per l'antigene verso cui è rivolto l'anticorpo individuato, per le donne che si sottopongono a diagnosi prenatale invasiva per altre indicazioni, si suggerisce la determinazione del genotipo del feto con un test in PCR eseguito su campioni ottenuti da materiale fetale dall'amniocentesi, dai villi coriali o da cordocentesi⁴⁵. Queste tecniche invasive, purtroppo, aumentano il rischio di aborto spontaneo, possono far aumentare i livelli anticorpali e non

dovrebbero essere utilizzate se non esistono altre indicazioni alla loro esecuzione.

- 4.2.6 La determinazione genotipica del gruppo fetale RhD può anche essere eseguita direttamente su campioni di plasma materno tra la fine del primo e l'inizio del secondo trimestre di gravidanza⁴⁶. L'individuazione genomica delle caratteristiche RhD del feto rappresenta, attualmente, lo standard nel management delle donne con alloimmunizzazione anti-D in molti paesi europei. Tuttavia, essa non è esente da inconvenienti e/o errori, e deve essere effettuata da Centri che abbiano convalidato tali procedure. La sensibilità riportata e la specificità dei test del DNA in PCR sono del 98,7% e del 100%, rispettivamente, con una bassa percentuale di falsi negativi (1-3%)⁴⁷⁻⁴⁸.
- 4.2.7 In Italia sono attualmente disponibili sonde di DNA per il gene RhD, ma sono riportate esperienze anche con sonde per i geni degli antigeni c, e, C, E, K, k, Fya, Fyb, Jka, Jkb, M, S, s⁴⁹⁻⁵⁰.
- 4.2.8 Nelle donne RhD negative le Ig anti-D somministrate passivamente dopo eventi a rischio di immunizzazione o a 28 settimane di EG per la profilassi antenatale sono identificabili in circolazione per almeno 3 mesi, in rapporto anche alla dose somministrata ed alla sensibilità dei test. Le Ig anti-D somministrate per l'IP non sono differenziabili da bassi livelli di Ig anti-D immuni di natura attiva⁵¹, ma i livelli di Ig anti-D introdotte con l'IP andranno a diminuire, mentre i livelli di anti-D di natura immune rimarranno stabili o si innalzeranno, se permane lo stimolo antigenico.
- 4.2.9 Se non risulta alcuna IP eseguita o non sono disponibili informazioni sull'IP, l'anti-D riscontrato deve essere attentamente monitorato. Se il titolo anti-D mostra un trend decrescente, si deve sospettare un'IP non documentata, mentre titoli stabili o in aumento devono fare sospettare la presenza di un anti-D immune.

Raccomandazione n. 8	GdR
<p>Nel partner di una donna che presenta alloanticorpi verso antigeni clinicamente significativi per MEFN, allo scopo di escludere il rischio di MEFN, se possibile, e se la coppia acconsente, si suggerisce di determinare gli antigeni eritrocitari verso cui sono rivolti gli anticorpi materni.</p>	2C
Raccomandazione n. 9	GdR
<p>Per le donne che si sottopongono a diagnosi prenatale invasiva per altre indicazioni, si suggerisce di eseguire la determinazione del genotipo del feto con un test in PCR su un campione ottenuto da materiale fetale dall'amniocentesi, dai villi coriali o da cordocentesi, se il padre è eterozigote per l'antigene verso cui è rivolto l'anticorpo individuato. La determinazione genotipica del gruppo fetale RhD può anche essere eseguita direttamente su campioni di plasma materno tra la fine del primo e l'inizio del secondo trimestre di gravidanza.</p>	2C

4.3 Titolazione degli anticorpi

La titolazione è il metodo più semplice e comune utilizzato in laboratorio per valutare la forza di un anticorpo. La titolazione degli anti-D o di altri anticorpi clinicamente significativi per MEFN contribuisce ad aiutare il clinico nel prendere una decisione, ad esempio su quando iniziare il monitoraggio del feto con i mezzi strumentali a disposizione. Il titolo dell'anti-D, tuttavia, non è strettamente correlato con la comparsa di MEFN, mentre sono più significativi i repentini aumenti del titolo dell'anticorpo.

4.3.1 Una volta che viene individuato un anticorpo, e questo è riconosciuto come potenziale causa di MEFN, ne deve essere determinato il titolo con una tecnica standardizzata.

4.3.2 Nel caso di gravida con presenza di anticorpi anti-D, o di altri anticorpi clinicamente significativi per MEFN, è necessario eseguire la titolazione dell'anticorpo ogni 4 settimane fino alle 18 settimane di EG; successivamente, ogni 2-4 settimane sulla base della rilevanza clinica e dei valori riscontrati. L'incremento rapido del titolo impone un monitoraggio immunoematologico più frequente e una più stretta sorveglianza materno-fetale.

- 4.3.3 Per le titolazioni dell'anti-D si suggerisce l'uso di emazie D-eterozigoti (R1r, R2r), in quanto uguali all'eventuale assetto antigenico fetale eterozigote⁵²⁻⁵³; si raccomanda comunque di utilizzare sempre emazie test della stessa zigosità D nelle titolazioni comparative eseguite nelle settimane successive.
- 4.3.4 Il valore critico del titolo anticorpale è quello che si associa a un rischio significativo di idrope fetale. Per l'anticorpo anti-D, se si eseguono le titolazioni con un TAI in fisiologica (senza additivo), con incubazione di 60 minuti a 37 °C (tecnica standard), utilizzando anti-IgG, il valore critico è pari a 1:32.
- 4.3.5 In caso di utilizzo di altre tecniche, ogni laboratorio deve convalidare le metodiche utilizzate e stabilire il valore critico per ciascun metodo adottato.
- 4.3.6 Le titolazioni devono essere effettuate su un campione di siero o plasma utilizzando, nei controlli successivi, sempre l'uno o l'altro: i risultati delle titolazioni eseguite su diversi campioni devono sempre essere confrontati con quelli ottenuti con il campione utilizzato per la titolazione precedente (da conservare congelato), impiegando emazie test con la stessa espressione antigenica per una corretta verifica di eventuali variazioni del titolo anticorpale avvenute durante la gravidanza.
- 4.3.7 Affinché i risultati siano confrontabili tra i vari laboratori, è necessario che ciascun laboratorio indichi sul referto la metodica utilizzata per la titolazione e lo specifico livello critico.

Raccomandazione n. 10	GdR
Per le titolazioni dell'anti-D si suggerisce l'uso di emazie D-eterozigoti (R1r, R2r) in grado di testimoniare meglio l'espressione antigenica del feto. In ogni caso per una corretta valutazione dell'andamento del titolo, è necessario utilizzare sempre emazie test con la medesima zigosità.	2B

Raccomandazione n. 11	GdR
<p>Nel caso di gravida con presenza di anticorpi anti-D, o di altri anticorpi clinicamente significativi per MEFN, si suggerisce di eseguire la titolazione dell'anticorpo ogni 4 settimane fino alle 18 settimane di EG; successivamente ogni 2-4 settimane. I risultati delle titolazioni devono essere confrontati con quelli ottenuti con il campione utilizzato per la titolazione precedente, impiegando emazie test con la stessa espressione antigenica.</p>	2C

4.4 Indagini strumentali e sorveglianza fetale

- 4.4.1 Nel caso in cui il laboratorio d'immunoematologia indichi la presenza di un livello critico specifico o un rapido aumento del titolo anticorpale, deve essere instaurata una stretta sorveglianza della MEFN mediante metodiche non invasive, quali l'ecografia e/o la velocimetria Doppler.
- 4.4.2 L'esame di elezione per valutare il grado di anemizzazione fetale, in anticipo sui segni di idrope fetale, è la determinazione del picco di velocità di flusso dell'arteria cerebrale media (ACM-PVS) con eco-Doppler⁵⁴⁻⁵⁶. Questa tecnica è oggi riconosciuta come la più efficace nell'identificare in modo non invasivo l'anemia moderata-grave ed ha definitivamente sostituito l'analisi spettrofotometrica del liquido amniotico, utilizzata in passato per determinare i livelli di bilirubina⁵⁷⁻⁵⁸.

Di seguito, sono indicate le modalità di sorveglianza materno-fetale da porre in atto alle diverse epoche di gravidanza^{10,54,59}.

- 4.4.3 **Entro le 18 settimane di EG:** datazione ecografica della gravidanza e valutazione ecografica della presenza/assenza di ascite/idrope fetale e del battito cardiaco fetale ogni 4 settimane.
- 4.4.4 **Tra le 18⁺⁰ e le 25⁺⁶ settimane di EG:** valutazione ecografica e Doppler-velocimetrica dei segni indiretti di anemizzazione fetale con cadenza ogni una-tre settimane, secondo la gravità del caso. I parametri valutati sono sostanzialmente due: presenza/assenza di ascite/idrope e misurazione dell'ACM-PSV. Se, per quest'ultima, si riscontrano e confermano valori

superiori a 1,5 volte il valore mediano per l'EG, si procede alla valutazione dell'emocromo fetale mediante cordocentesi.

- 4.4.5 **Tra le 26⁺⁰ e le 34⁺⁶ settimane di EG:** valutazione ecografica e Doppler-velocimetrica dei segni indiretti di anemizzazione fetale con cadenza ogni 1-2 settimane, secondo la gravità del caso, utilizzando i criteri sopra descritti. In caso di riscontro di segni ecografici di anemizzazione fetale, si procede alla valutazione dell'emocromo fetale mediante cordocentesi.
- 4.5.6 **Dopo le 35⁺⁰ settimane di EG:** valutazione ecografica dei segni indiretti di anemizzazione fetale ogni 4-10 giorni, secondo la gravità del caso, con i criteri sopra descritti. Dopo le 35 settimane di EG l'affidabilità del solo test ACM-PSV è limitata; va, pertanto, posta maggiore attenzione all'eventuale comparsa di falda ascitica ed assume un ruolo centrale il monitoraggio cardiocografico, da effettuarsi almeno settimanalmente. Nel caso in cui uno o più parametri siano patologici, si procede all'espletamento del parto, previa profilassi della *respiratory distress syndrome* (RDS).
- 4.5.7 Nel caso in cui i parametri si mantengano nella norma, è comunque consigliabile l'espletamento del parto fra 38⁺⁰ e 38⁺⁶ settimane. La modalità del parto deve essere scelta esclusivamente in base alle indicazioni ostetriche; la presenza di alloimmunizzazione non controindica il parto per via vaginale.

Raccomandazione n. 12	GdR
In caso di rischio di MEFN, si raccomanda di effettuare la sorveglianza del feto con metodiche non invasive, quali ecografia e/o velocimetria Doppler. I parametri da valutare sono la presenza/assenza di ascite/idrope e la misurazione dell'ACM-PSV.	1B

5. Indagini immunoematologiche post-natali

5.1 Indagini da eseguire su tutti i neonati

- 5.1.1 Si suggerisce di eseguire su tutti i neonati, da un campione di sangue funicolare, il TAD.
- 5.1.2 La presenza isolata di una positività del TAD non consente la diagnosi di MEFN. Tuttavia, in caso di TAD positivo, devono essere monitorati i valori di emoglobina e di bilirubina del neonato per diagnosticare o escludere una MEFN.
- 5.1.3 Laddove il TAD è positivo e il neonato mostra segni e sintomi di MEFN, si deve eseguire l'eluizione dell'anticorpo dalle emazie del funicolo, al fine di confermare la specificità anticorpale. Nei casi di sospetta MEFN, gli eritrociti del cordone devono essere testati per il corrispondente antigene.
- 5.1.4 Le metodiche di eluizione sono numerose: nel caso di anticorpi anti-D, si raccomanda l'impiego di una tecnica sufficientemente specifica per l'eluizione di anticorpi anti-Rh.
- 5.1.5 Nel caso di eluizione di un anti-D bisogna prendere in considerazione l'eventuale pregressa somministrazione alla madre dell'IP antenatale. È stato dimostrato che a seguito d'IP antenatale sistemica le Ig anti-D possono attraversare la placenta, raggiungere la circolazione fetale e legarsi agli eritrociti fetali RhD positivi. Questi anti-D non causano distruzione degli eritrociti fetali o neonatali⁶⁰.
- 5.1.6 Nei neonati di madre RhD negativa, la determinazione del fenotipo RhD dallo stesso campione di sangue funicolare deve essere effettuata con metodiche atte a rilevare anche il fenotipo D *weak*, ed almeno la sua variante più frequente D^{VI33}.

Raccomandazione n. 13	GdR
Si suggerisce di eseguire su tutti i neonati da un campione di sangue funicolare il TAD. In caso di positività del TAD e in presenza di segni clinici di MEFN, si suggerisce di eseguire l'eluizione dell'anticorpo dalle emazie del funicolo, al fine di confermare la specificità anticorpale.	2C

Raccomandazione n. 14	GdR
Nei neonati di madre RhD negativa dallo stesso campione di sangue funicolare prelevato per l'esecuzione del TAD si suggerisce di eseguire la determinazione del fenotipo RhD, con metodiche atte a rilevare anche il fenotipo D <i>weak</i> , ed almeno la sua variante più frequente D ^{VI} .	2C

5.2 Indagini alla nascita in caso di sospetta malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità materno-fetale ABO

- 5.2.1 Quando la madre è di gruppo O e si è in presenza di evidenze laboratoristiche (TAD positivo) o cliniche (ittero) di emolisi neonatale, in assenza di cause note, è indicata la tipizzazione gruppo-ematica ABO/RhD sulle emazie da funicolo e la ricerca e la titolazione delle IgG anti-A e/o anti-B nel siero materno. La diagnosi di MEN ABO è sostanzialmente di tipo clinico: infatti, molto spesso, pur in presenza di incompatibilità ABO e di IgG anti-A e/o anti-B nel siero materno, il TAD può anche risultare negativo o dubbio⁶¹⁻⁶².
- 5.2.2 La ricerca e la titolazione degli anticorpi anti-A o anti-B di tipo immune, di classe IgG, deve essere eseguita mediante TAI dopo aver clivato le isoagglutinine anti-A e/o anti-B presenti nel siero materno con sostanze riducenti quali il 2-mercaptoetanololo (2-ME) o il ditiotreitolo (DTT), o utilizzando altre sostanze neutralizzanti disponibili in commercio.
- 5.2.3 In caso di TAD positivo sulle emazie da funicolo, si suggerisce l'eluizione delle IgG (anti-A e/o anti-B) adese alle emazie neonatali. La migliore tecnica di eluizione delle IgG anti-A e anti-B è quella per congelamento-scongelo rapido, messa a punto da Lui e riportata da Feng *et al*⁶³; un ulteriore metodo, rapido ed in grado di fornire risultati utili, è rappresentato dal metodo di eluizione al calore⁶⁴.

Raccomandazione n. 15	GdR
In presenza di evidenze laboratoristiche (TAD positivo) o cliniche (ittero) di emolisi neonatale, quando la madre è di gruppo O, si suggerisce di eseguire la tipizzazione gruppo-ematica ABO/RhD sulle emazie del funicolo, la ricerca e la titolazione delle IgG anti-A e/o anti-B nel siero materno e, in caso di TAD positivo, l'eluizione delle IgG (anti-A e/o anti-B) dalle emazie neonatali.	2C

6. L'immunoprofilassi anti-D

6.1 Generalità

Una donna RhD negativa non immunizzata che non riceve l'IP ha, in ogni gravidanza di neonato RhD positivo, un rischio di immunizzarsi del 16%⁶⁵. L'evento immunizzante più frequente è il parto, sia esso per via vaginale sia per taglio cesareo. Tuttavia, anche nel corso della gravidanza si possono verificare eventi potenzialmente immunizzanti. Da quando è stata introdotta l'IP, la MEFN secondaria a immunizzazione anti-D è divenuta una patologia rara con una percentuale di successo dell'IP post-natale che ha raggiunto il 98-99%⁶⁶⁻⁶⁷. Tuttavia, il rischio d'immunizzazione materna nelle donne RhD negative non immunizzate, che effettuano l'IP nel post-partum e durante la gravidanza dopo eventi potenzialmente sensibilizzanti, non si è eliminato del tutto. Ciò a causa soprattutto di sanguinamenti misconosciuti che possono avvenire nel terzo trimestre di gravidanza e che possono condurre ad un'immunizzazione silente⁶⁸⁻⁶⁹. La frequenza di questa EFM silente aumenta con l'avanzare della gravidanza, con percentuali che raggiungono, nel terzo trimestre, il 73%⁷⁰⁻⁷¹. Una revisione sistematica di studi controllati randomizzati ha dimostrato che la profilassi prenatale sistemica routinaria nelle gravide RhD negative, eseguita nel terzo trimestre di gravidanza, conduce ad un'ulteriore riduzione del rischio di immunizzazione dall'1% allo 0,2%⁷². Ad analoghe conclusioni è giunta una metanalisi di studi non randomizzati che ha stimato una riduzione assoluta del rischio di immunizzazione dallo 0,9% allo 0,3%⁷³.

6.2 Indicazioni generali

- 6.2.1 L'IP con Ig anti-D deve essere eseguita su tutte le donne RhD negative non immunizzate subito dopo il parto di un neonato RhD positivo⁷⁴⁻⁷⁵, nel corso della gravidanza a 28 settimane di EG e in caso di eventi a rischio di immunizzazione⁷⁶. Per le modalità di esecuzione e i dosaggi da utilizzare si rimanda ai paragrafi successivi.
- 6.2.2 La ST che esegue le indagini immunoematologiche finalizzate alla prevenzione della MEFN, deve indicare sul referto immunoematologico la necessità di eseguire l'IP, tenere un registro delle donne RhD negative da sottoporre a IP e, in collaborazione stretta con le unità operative di Ostetricia e

Ginecologia, sorvegliare e registrare l'avvenuta esecuzione dell'IP^{31,33}.

- 6.2.3 In caso d'IP eseguita in corso di gravidanza è da considerare, nei test sierologici eseguiti successivamente, la presenza delle Ig anti-D passivamente introdotte, da distinguere da una alloimmunizzazione attiva anti-D (vedi par. 4.2.8). La ST deve essere sempre informata della somministrazione di Ig anti-D e, nella maggior parte dei casi, la documentazione della somministrazione delle Ig anti-D permetterà di differenziare tra immunizzazione attiva o passiva.
- 6.2.4 Prima della somministrazione delle Ig anti-D deve essere ottenuto, registrato e conservato il consenso informato, come previsto dalla normativa vigente³⁴. La donna deve essere preventivamente informata che la procedura può non essere esente da rischi ed è tenuta a esprimere per iscritto il proprio consenso o dissenso. In appendice viene riportato un modello di consenso informato.
- 6.2.5 L'IP antenatale con Ig anti-D nelle donne RhD negative con partner RhD negativo non è indicata, purché sia accertata la paternità, dichiarata mediante colloquio privato con la donna.
- 6.2.6 Se nella determinazione dell'RhD si osserva una discrepanza sierologica, secondo quanto previsto dagli Standard SIMTI³³, è auspicabile che l'attribuzione di un fenotipo D parziale eseguito con metodiche sierologiche sia confermata da metodiche in biologia molecolare. Nei casi in cui non è possibile definire la variante antigenica con analisi molecolari del gene RhD, la donna deve essere considerata come RhD negativa e l'IP deve essere praticata.
- 6.2.7 Allo stato attuale delle conoscenze scientifiche, nei casi in cui è possibile definire con analisi molecolari la variante antigenica RhD, l'IP con Ig anti-D non è indicata per le varianti *weak D* tipo 1, 2, 3. La IP è invece necessaria per tutte le altre varianti antigeniche⁷⁷⁻⁷⁹.
- 6.2.8 In tutti i casi, un'erronea somministrazione di Ig anti-D a donne RhD positive, non determina effetti collaterali apprezzabili.

6.2.9 In caso di apparente specificità anti-D+C, deve essere attentamente valutata la presenza di una specificità anti-G. In questi casi è importante distinguere gli anticorpi anti-D+C dall'anticorpo anti-G perché donne in gravidanza con anti-G ma prive di anti-D possono beneficiare, nel periodo antenatale e nel post-partum, dell'IP con Ig anti-D, che non sarebbe necessaria se la presenza di anticorpi anti-D fosse invece reale. Nei suddetti casi, l'attribuzione erronea di una specificità anti-D può comportare la mancata somministrazione dell'IP nelle donne a rischio⁸⁰⁻⁸². In queste situazioni, è auspicabile inviare i campioni a un laboratorio di riferimento per discriminare la vera specificità anticorpale presente⁸³.

6.2.10 L'efficacia dell'IP deve essere verificata con una ricerca di anticorpi anti-D nel siero della madre, trascorsi almeno sei mesi dal parto (per evitare l'interferenza delle Ig anti-D introdotte passivamente). Una negatività della ricerca di anticorpi anti-D depone per il successo dell'IP.

Raccomandazione n. 16	GdR
Si suggerisce di effettuare l'IP con Ig anti-D nelle donne con fenotipo D <i>variant</i> non ben definite dal punto di vista molecolare.	2C
Raccomandazione n. 17	GdR
Prima della somministrazione delle Ig anti-D si raccomanda di ottenere il consenso informato.	1B
Raccomandazione n.18	GdR
Si suggerisce di non effettuare (in quanto non indicata) l'immunoprofilassi con Ig anti-D nelle donne RhD negative con partner RhD negativo, purché sia accertata la paternità, dichiarata mediante colloquio privato con la donna.	2C
Raccomandazione n. 19	GdR
Si suggerisce di verificare l'efficacia dell'IP con una ricerca di anticorpi anti-D nel siero della madre, trascorsi almeno sei mesi dal parto. Una negatività della ricerca di anticorpi anti-D depone per il successo dell'IP.	2C

6.3 Immunoprofilassi a seguito di eventi potenzialmente immunizzanti in corso di gravidanza

6.3.1 Per le donne RhD negative non immunizzate è raccomandata la profilassi con Ig anti-D nelle seguenti circostanze che possono favorire il passaggio di eritrociti fetali nel circolo materno^{21,75,84-89}:

- diagnosi prenatale invasiva: amniocentesi, funicolocentesi, prelievo di villi coriali;
- revisione della cavità uterina, embrioiduzione di uno o più feti, terapia fetale (introduzione di *shunts*, trasfusione intrauterina);
- traumi addominali diretti, indiretti, aperti, chiusi;
- versione cefalica esterna;
- emorragia ante-partum;
- morte intrauterina fetale;
- interruzione terapeutica di gravidanza, con metodi chirurgici e/o medici;
- aborto spontaneo completo o incompleto seguito da revisione strumentale della cavità uterina, indipendentemente dall'EG;
- gravidanza ectopica⁹⁰.

6.3.2 Nel primo trimestre (<12 settimane di EG), anche in assenza di manovre traumatiche sull'utero, in caso di aborto o di perdite ematiche viene riportato un rischio di alloimmunizzazione pari all'1,5-2%. Sulla base di ciò, alcune raccomandazioni consigliano di praticare l'IP anche in caso di aborto spontaneo in assenza di revisione della cavità uterina e in caso di aborto indotto farmacologicamente^{85,89,91-98}. In questi casi è sufficiente una dose minima di Ig anti-D, che va da 250 a 600 UI (50-120 µg)^{21,83-84,88}.

6.3.3 In caso di perdite ematiche abbondanti, se il sanguinamento si ripete nelle settimane successive, le Ig anti-D dovrebbero essere somministrate a intervalli di 6 settimane⁹⁹. Dopo le 20 settimane è necessario eseguire la determinazione del volume di EFM.

Raccomandazione n. 20	GdR
In presenza di circostanze che possono favorire il passaggio di eritrociti fetali nel circolo materno, si suggerisce di proporre la profilassi con Ig anti-D a tutte le donne RhD negative non immunizzate.	2C

6.4 Immunoprofilassi prenatale sistemica

Scopo dell'IP prenatale sistemica è quello di proteggere dalle sensibilizzazioni silenziose non prevedibili che possono avvenire nel terzo trimestre di gravidanza, in maniera da prevenire l'immunizzazione nelle successive gravidanze. In assenza di tale tipo d'IP, circa l'1% delle donne RhD negative che partoriranno un neonato RhD positivo potranno sensibilizzarsi^{87,95-96,100-101}.

Diverse raccomandazioni suggeriscono l'IP antenatale sistemica alle donne RhD negative non immunizzate^{1,21,70,75,83,86,88,91,102-105}. L'IP è efficace per circa 12 settimane, come indicato dagli studi di farmacocinetica sulle Ig anti-D⁹⁷ e dato che il rischio di emorragia fetomaterna significativa, prima di 28 settimane di EG, è basso, la profilassi antenatale viene consigliata a partire dalle 28 settimane di EG in poi¹⁰⁶.

6.4.1 Si raccomanda di proporre alle donne RhD negative non immunizzate a 28 settimane di EG la profilassi prenatale sistemica con una dose di Ig anti-D di 1.500 UI (300 µg)⁹⁸⁻¹⁰⁶. Nei casi in cui non è possibile eseguire per motivi organizzativo-logistici l'IP a 28 settimane di EG, è possibile comunque eseguirla con qualche giorno di anticipo o di ritardo (27-29 settimane di EG).

6.4.2 L'IP prenatale sistemica va eseguita anche se è stata praticata nelle settimane precedenti un'IP per eventi a rischio di immunizzazione.

6.4.3 Allo stesso modo, eventi sensibilizzanti occorsi dopo la somministrazione dell'IP prenatale sistemica dovrebbero essere gestiti con una dose aggiuntiva di Ig anti-D e con una valutazione dell'EFM.

Raccomandazione n. 21	GdR
Si raccomanda di proporre a tutte le donne RhD negative non immunizzate a 28 settimane di EG una dose di Ig anti-D di 1.500 UI (300 µg). L'IP a 28 settimane di EG va proposta anche nel caso in cui nelle settimane precedenti sia stata praticata l'IP per eventi a rischio di immunizzazione.	1B

6.5 Immunoprofilassi post-partum

- 6.5.1 A tutte le donne RhD negative non immunizzate che hanno partorito un neonato (o nato morto) RhD positivo (o D *weak*) deve essere somministrata, entro 72 ore dal parto, una dose di Ig anti-D^{8,10-11,15,21,27,36,42,70-76,83,86-90,94,104-107}.
- 6.5.2 Le Ig anti-D dovrebbero essere somministrate anche nei casi in cui il gruppo RhD del neonato non è disponibile.

Raccomandazione n. 22	GdR
Si raccomanda di praticare a tutte le donne RhD negative non immunizzate che hanno partorito un neonato RhD positivo (o D <i>weak</i>) l'immunoprofilassi con Ig anti-D.	1A

6.6 Tempi e modalità e di somministrazione delle immunoglobuline anti-D

- 6.6.1 Le Ig anti-D devono essere somministrate appena possibile dopo il parto o dopo un potenziale evento sensibilizzante, al massimo entro 72 ore. Se l'IP non viene eseguita entro 72 ore, il tentativo di evitare la immunizzazione deve sempre essere fatto con la somministrazione delle Ig anti-D, fino a 10 giorni dall'evento¹⁰⁸. Secondo alcuni autori l'IP potrebbe essere ancora effettuata anche con un ritardo fino a 28 giorni dall'evento sensibilizzante³⁶.
- 6.6.2 La via di somministrazione di elezione delle Ig anti-D è quella intramuscolare. Il muscolo deltoide è un sito appropriato e sicuro per ottimizzare l'assorbimento⁷⁰, ma può anche essere utilizzata la regione glutea, ponendo particolare cura nel garantire che l'iniezione sia fatta nel muscolo, in quanto l'assorbimento può essere ritardato se l'iniezione raggiunge solo il tessuto sottocutaneo.
- 6.6.3 In caso di alterazioni dell'emostasi (per esempio per piastrinopenie severe o per altre diatesi emorragiche), quando sono controindicate le iniezioni intramuscolari, si raccomanda di somministrare le Ig anti-D per via endovenosa (EV). Sembra che entrambe le vie di somministrazione siano di uguale efficacia e che non ci siano differenze significative¹⁰⁹.

- 6.6.4 Si suggerisce di tenere a disposizione preparazioni di Ig anti-D per somministrazione EV per i casi di cui al punto 6.6.3 e per i casi in cui è prevista la necessità di somministrare dosaggi alti di Ig anti-D per EFM massive (vedi punti 6.7.6-6.7.8).

Raccomandazione n. 23	GdR
Si suggerisce la somministrazione delle Ig anti-D appena possibile dopo il parto o dopo un potenziale evento immunizzante, al massimo entro 72 ore. Se le Ig anti-D non vengono somministrate entro 72 ore, esse devono essere somministrate il prima possibile (fino a 10 giorni dopo).	2B

Raccomandazione n. 24	GdR
Si suggerisce di somministrare le Ig anti-D per via intramuscolare a livello del muscolo deltoide. In caso di alterazioni dell'emostasi, quando le iniezioni intramuscolari sono controindicate, o in caso di dose maggiore di 3.000 UI (600 µg) si suggerisce di somministrare le Ig anti-D per via EV.	2C

6.7 Dosaggio delle immunoglobuline anti-D

Le dosi di Ig anti-D riportate in queste raccomandazioni sono quelle minime indicate per le specifiche situazioni menzionate. Il dosaggio delle Ig anti-D va commisurato all'entità dell'EFM. Nella stragrande maggioranza dei casi, una dose di 625 UI (125 µg) è considerata sufficiente a impedire un'immunizzazione attiva laddove l'EFM non superi i 4 mL di eritrociti fetali (99% delle EFM).

- 6.7.1 Per la profilassi a seguito di eventi a rischio di immunizzazione avvenuti fino a 19⁺⁶ settimane di EG una dose di 625 UI (125 µg) di Ig* è ritenuta sufficiente^{21, 86-87,101}.
- 6.7.2 Per tutti gli eventi a rischio d'immunizzazione occorsi dopo le 20⁺⁰ settimane di EG e dopo il parto di un neonato RhD

* In Italia le uniche Ig disponibili con il dosaggio di 625 UI (125 µg) (RHESONATIV® - Octapharma Italy S.p.A.) hanno l'indicazione ad utilizzare tale dosaggio fino al I trimestre di gravidanza, mentre la maggior parte delle Linee Guida e Raccomandazioni^{21,75,86-87} ne indicano l'impiego fino a 20 settimane di EG.

positivo, dovrebbe essere somministrata una dose minima di 625 UI (125 µg) di Ig anti-D, seguita dalla valutazione dell'EFM.

- 6.7.3 Nel caso in cui un test quantitativo per EFM mostri che il volume di emorragia supera quello coperto dalla dose somministrata, deve essere iniettata un'ulteriore dose di Ig anti-D (125 UI ogni mL di eritrociti fetali RhD positivi)¹¹⁰. Le dosi supplementari di Ig anti-D (da arrotondare al dosaggio più vicino a quello della confezione disponibile) devono tenere conto della dose di anti-D già somministrata.
- 6.7.4 Nei casi in cui non sia eseguita la valutazione dell'EFM, per eventi occorsi dopo le 20⁺⁰ settimane di gravidanza e nel post-partum, deve essere utilizzata una dose di Ig anti-D di 1.500 UI (300 µg).
- 6.7.5 In caso di parto cesareo, parto gemellare o distocico va sempre somministrata una dose di Ig anti-D di 1.500 UI (300 µg).
- 6.7.6 Nel caso in cui la dose totale di Ig anti-D da somministrare superi il contenuto di due iniezioni intramuscolari da 1.500 UI (sanguinamento >24 mL di emazie fetali) è consigliata la somministrazione per via EV.
- 6.7.7 La dose massima somministrata entro un periodo di 24 ore deve essere limitata a 10.000 UI (2.000 µg).
- 6.7.8 La massima dose singola per via EV deve essere limitata a 4.500 UI (900 µg); eventuali dosi aggiuntive dovranno essere somministrate ad intervalli di 12 ore. Questa indicazione si basa sul rischio noto di emolisi associato alla dose di Ig anti-D per via EV in regimi utilizzati in pazienti con porpora trombocitopenica idiopatica RhD positivi⁹⁴.

Raccomandazione n. 25	GdR
Per la profilassi a seguito di eventi sensibilizzanti avvenuti fino a 19 ⁺⁶ settimane di EG si suggerisce di somministrare una dose di Ig anti-D di 625 UI (125 µg).	2B

Raccomandazione n. 26	GdR
Per eventi occorsi dopo le 20 ⁺⁰ settimane di gravidanza e nel post-partum, se non viene eseguita la valutazione dell'EFM, si suggerisce di utilizzare una dose di Ig anti-D di 1.500 UI (300 µg).	2B
Raccomandazione n. 27	GdR
Se viene eseguita di routine la valutazione dell'EFM, per eventi occorsi dopo le 20 ⁺⁰ settimane di gravidanza e nel post-partum, si suggerisce di utilizzare una dose di Ig anti-D di 625 UI (125 µg).	2B
Raccomandazione n. 28	GdR
In caso di EFM superiore a quella coperta dalla dose di Ig anti-D somministrata, si suggerisce di prevedere delle dosi supplementari di Ig anti-D commisurate all'entità dell'EFM.	2B

6.8 Preparazioni di immunoglobuline anti-D disponibili in Italia

Le Ig anti-D sono emoderivati ottenuti dal plasma di donatori RhD negativi con alti livelli circolanti di anti-D, dopo un'immunizzazione volontaria.

Sono presenti sul mercato diverse preparazioni di Ig anti-D. Alcune sono utilizzabili esclusivamente per via intramuscolare o sottocutanea, mentre altre possono essere utilizzate anche per via EV. Ad oggi in Italia sono disponibili le seguenti preparazioni¹¹¹:

- **IGAMAD**[®] (Grifols Italia S.p.A.): disponibile nel dosaggio di 300 µg (1.500 UI) in siringa di vetro di tipo I per uso intramuscolare o sottocutaneo (Codifica AIC 033867021).
- **IMMUNORHO**[®] (Kedrion S.p.A): disponibile nel dosaggio di 200 µg (1.000 UI), come flaconcino e nel dosaggio di 300 µg (1.500 UI), come flaconcino e siringa preriempita per uso intramuscolare o sottocutaneo (Codifica AIC 022547018).
- **PARTOBULIN**[®] (Baxter Ag): disponibile nel dosaggio di 250 µg (1.250 UI) come siringa preriempita, esclusivamente per uso intramuscolare (Codifica AIC 021974035).
- **RHESONATIV**[®] (Octapharma Italy S.p.A.): disponibile nel dosaggio di 125 µg (625 UI), come fiale per uso intramuscolare o sottocutaneo (Codifica AIC 039596010) e nel dosaggio di 250 µg (1.250 UI), come fiale per uso intramuscolare o sottocutaneo (Codifica AIC 039596022).

- **RHOPHYLAC®** (ZLB Behring): disponibile nel dosaggio di 200 µg (1.000 UI) o di 300 µg (1.500 UI) come siringa preriempita, per uso intramuscolare o intravenoso (Codifica AIC 036161026).

7. Valutazione dell'emorragia feto-materna

Nel 99% delle gravidanze, alla nascita si registra un'EFM di meno di 4 mL di emazie. Diversi studi hanno tuttavia dimostrato che circa lo 0,3% delle gravidanze sono associate, durante il parto, a un'EFM superiore a 15 mL, quantità non coperta dalla dose massima di 1.500 UI (300 µg) di Ig anti-D¹¹²⁻¹¹⁴; inoltre, EFM di grandi volumi (>15 mL globuli rossi fetali) si verificano anche durante un parto normale¹¹⁵.

Ciò significa che fino a 3 donne RhD negative ogni 1.000 potrebbero essere a rischio di alloimmunizzazione.

La pratica e le raccomandazioni sull'IP differiscono tra Nord America, Australia, Regno Unito ed Europa continentale¹¹⁶. Nei Paesi come il Regno Unito e l'Australia, nei quali la dose standard post-natale raccomandata di anti-D è, rispettivamente, di 500 UI (100 µg) e 625 UI (125 µg), il test per la valutazione dell'EFM è raccomandato di routine, mentre in Italia e in molti altri paesi europei, dove per la profilassi post-natale viene invece utilizzata una dose di Ig anti-D di 1.250-1.500 UI (250-300 µg), il test per la valutazione dell'EFM non sempre viene utilizzato^{2,117}. Anche gli Standard AABB prevedono che sia adottato un test in grado di valutare l'entità di un'EFM in maniera tale da poter predisporre eventuali dosi aggiuntive di Ig, se l'entità dell'EFM non è coperta dalla dose d'Ig anti-D utilizzata¹¹⁸.

7.1 Principali test utilizzati per valutare il volume dell'emorragia feto-materna

Per valutare la presenza di EFM e per quantificarne il volume, sono state proposte diverse tecniche di laboratorio. Tra i test di screening, quello più largamente utilizzato è il test di eluizione acida secondo Kleihauer e collaboratori¹¹⁹, ma ve ne sono altri, fra i quali il consumo di anticorpi monoclonali anti-D con la tecnica della gel-agglutinazione¹²⁰ e il test delle rosette¹²¹. Le indagini in citofluorimetria¹²², rispetto ai test di screening, permettono di misurare l'entità dell'emorragia.

Il test di eluizione acida di Kleihauer consiste nell'individuare al microscopio le cellule contenenti emoglobina fetale (HbF) presenti in un campione di

sangue della gravida. In alcune situazioni, a causa della presenza di condizioni ereditarie caratterizzate da livelli elevati di HbF nel sangue della madre, si possono avere dei falsi risultati positivi. Il test si basa su un'interpretazione soggettiva di chi esegue il test e la sua precisione è limitata a piccoli volumi di emorragia transplacentare.

Proprio per questi motivi, il test di Kleihauer è indicato solo come test di screening e in caso di EFM superiore a 2,5 mL, l'entità dell'emorragia deve essere rivalutata con un metodo più accurato, quale la citometria a flusso¹²³.

La citometria a flusso utilizza anticorpi monoclonali diretti contro cellule RhD positive o, in alternativa, anticorpi monoclonali diretti, rispettivamente, contro l'HbF e contro l'isoenzima carbonicoanidasi, che si esprime nei primi mesi di vita. In questo modo è possibile discriminare le emazie fetali da quelle di adulto contenenti HbF (questo perché nella misurazione dell'HbF in donne portatrici di emoglobinopatie anche in eterozigosi, può esserci presenza di HbF nelle emazie, con risultati falsi positivi). Tale tipo di tecnologia non sempre è disponibile in tutti gli ospedali e quindi, in questi casi, è richiesto l'invio dei campioni presso laboratori esterni.

7.2 Quando eseguire la valutazione dell'emorragia fetto-materna

7.2.1 La valutazione dell'EFM deve essere eseguita nelle donne RhD negative non immunizzate dopo il parto di un neonato RhD positivo o dopo eventi potenzialmente immunizzanti occorsi dopo le 20 settimane di EG, soprattutto nel caso in cui vengano utilizzate dosi di Ig anti-D di 625 UI (125 µg).

7.2.2 Per eventi potenzialmente immunizzanti occorsi prima delle 20 settimane di EG, la valutazione dell'EFM non è consigliata¹²⁴.

7.2.3 Il test di valutazione dell'EFM dovrebbe sempre essere eseguito, indipendentemente dalla dose di Ig anti-D somministrata, nei casi in cui siano presenti fattori di rischio associati ad un'EFM di grande entità:

- trauma addominale durante il terzo trimestre;
- idrope fetale non spiegata;
- distacco di placenta;
- versione cefalica esterna;
- gravidanze multiple;

- nati morti e morti intrauterine;
 - parto strumentale;
 - parto cesareo;
 - rimozione manuale della placenta.
- 7.2.4 Il campione di sangue per eseguire la valutazione dell'EFM dovrebbe essere prelevato dopo almeno 30 minuti ed entro 2 ore dal parto o dall'evento a rischio di immunizzazione, per permettere al sangue fetale o neonatale di disperdersi nella circolazione materna¹²⁵⁻¹²⁶. Il prelievo, in tutti i casi, va eseguito prima della somministrazione delle Ig anti-D.
- 7.2.5 Il campione deve essere conservato a una temperatura compresa tra 2 e 10 °C per non più di due giorni, ma in ogni caso il test deve essere eseguito il più presto possibile, per consentire la somministrazione di ulteriori dosi di Ig anti-D entro le 72 ore dal parto o dall'evento sensibilizzante.
- 7.2.6 I laboratori che eseguono la valutazione quantitativa dell'EFM devono dimostrare prestazioni accettabili in verifiche di qualità interne ed esterne, utilizzare metodiche convalidate e programmi di formazione del personale per garantire la precisione e la riproducibilità dei risultati.
- 7.2.7 I risultati del test di valutazione dell'EFM dovrebbero essere riportati in un formato che consenta il facile calcolo dell'eventuale dose supplementare di Ig anti-D da somministrare o, in alternativa, indicare la dose totale di Ig anti-D da somministrare.
- 7.2.8 In seguito alla somministrazione di una dose aggiuntiva di Ig anti-D, deve essere eseguita la ripetizione del test di valutazione dell'EFM per valutare l'effettiva clearance degli eritrociti fetali RhD dalla circolazione materna. Questa rivalutazione deve essere eseguita dopo 48-72 ore dalla somministrazione delle Ig anti-D.

Raccomandazione n. 29	GdR
Allo scopo di calcolare il dosaggio appropriato di Ig anti-D da somministrare, si suggerisce di eseguire nelle donne RhD negative la valutazione dell'EFM dopo il parto di un neonato RhD positivo e dopo eventi potenzialmente immunizzanti occorsi dopo le 20 settimane di EG.	2B
Raccomandazione n. 30	GdR
Indipendentemente dalla dose di Ig anti-D somministrata, si suggerisce di eseguire il test di valutazione dell'EFM nei casi in cui siano presenti fattori di rischio associati ad un'EFM di grande entità.	2B
Raccomandazione n. 31	GdR
Si suggerisce di prelevare il campione di sangue su cui eseguire la valutazione dell'EFM dopo almeno 30 minuti ed entro 2 ore dal parto o dall'evento a rischio di immunizzazione per permettere al sangue fetale o neonatale di disperdersi nella circolazione materna. Il prelievo in tutti i casi va eseguito prima della somministrazione delle Ig anti-D.	2B

8. Indicatori di monitoraggio e valutazione per l'effettuazione dell'audit clinico

Allo scopo di tenere sotto controllo alcuni aspetti della gestione della prevenzione della MEFN da anti-RhD si suggerisce di adottare i seguenti indicatori di monitoraggio:

- percentuale di donne RhD negative non immunizzate che hanno ricevuto Ig anti-D dopo un evento sensibilizzante;
- percentuale di donne RhD negative non immunizzate che hanno ricevuto la profilassi antenatale a 28 settimane di EG;
- percentuale di donne RhD negative non immunizzate che hanno ricevuto Ig anti-D dopo il parto di un neonato RhD positivo entro le 72 ore;
- percentuale di donne RhD negative non immunizzate che hanno ricevuto Ig anti-D dopo il parto di un neonato RhD positivo oltre le 72 ore;
- percentuale di test di valutazione dell'EFM eseguiti per eventi sensibilizzanti dopo le 20 settimane di EG;
- percentuale di test di valutazione dell'EFM eseguiti dopo il parto di un neonato RhD positivo;

- percentuale di donne RhD negative immunizzate nonostante un programma completo di profilassi antenatale e post-natale;
- percentuali di neonati sottoposti a ET per MEFN da anti-D sul totale dei neonati.

TESTO ONLINE

Appendice

A. La terapia trasfusionale nella malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità D o da altri antigeni

A.1 Trasfusione intrauterina¹²⁶

- A.1.1 Qualora a partire dalle 20 settimane di EG, si diagnostichi una MEFN particolarmente grave, è necessario intervenire con la trasfusione intra-uterina (TIU), ecograficamente guidata.
- A.1.2 Si procede al prelievo di sangue fetale quando il valore dell'emoglobina, stimato sulla base della misura della ACM-PSV, risulti inferiore a 0,65 volte il valore della mediana. Stante l'elevata predittività dell'esame Doppler-velocimetrico, in questi casi ci si prepara alla TIU in modo da poter procedere immediatamente, non appena disponibile il risultato dell'emocromo fetale.
- A.1.3 La trasfusione viene effettuata quando, su un prelievo di sangue fetale ottenuto tramite cordocentesi, i valori di Hb sono inferiori a 8-8,5 g/dL⁵³.
- A.1.4 Per la trasfusione viene utilizzato un ago-cannula da 20-22-24 gauge della lunghezza di 200 mm. La sede ideale per la puntura del funicolo è il tratto prossimale all'inserzione placentare; altre sedi possibili sono la vena ombelicale intraepatica e un'ansa libera del cordone. Nel caso le altre sedi non siano accessibili, è possibile effettuare la trasfusione intracardiaca. Può essere utile la sedazione della donna.
- A.1.5 Dopo le 26 settimane di EG la procedura deve essere effettuata in sala operatoria in modo da poter intervenire con un taglio cesareo d'emergenza qualora si verificano complicanze che mettano in pericolo la vita del feto durante la trasfusione.
- A.1.6 Se la trasfusione è effettuata a un feto che ha possibilità di vita autonoma, prima di procedere è opportuno praticare alla madre la profilassi della RDS con beclometasone intramuscolare.

- A.1.7 Il volume di emazie da trasfondere può essere calcolato con una formula che tiene conto del peso fetale stimato ecograficamente e di quanto occorra aumentare l'ematocrito per arrivare al 40%¹²⁷. Si suggerisce una velocità di trasfusione fra i 5-10 mL/min, in rapporto all'EG.
- A.1.8 È opportuno effettuare un prelievo di sangue fetale per controllo intermedio e finale dell'emocromo previo lavaggio dell'ago-cannula con 0,5 cc di soluzione fisiologica.
- A.1.9 La TIU va eseguita con emazie concentrate di gruppo O RhD negativo in caso di MEFN da anti-D, oppure con emazie di gruppo O prive dell'antigene verso cui sono rivolti gli anticorpi irregolari della madre. Il sangue deve essere sottoposto a cross-match e risultare compatibile con il siero materno.
- A.1.10 Il sangue da utilizzare nella TIU deve essere raccolto da meno di 5 giorni, irradiato (25-50 Gy) per la prevenzione della graft-versus-host disease (GvHD) trasfusionale, se possibile deve provenire da donatore citomegalovirus (CMV) negativo, deve essere leucodepleto e concentrato ad un ematocrito finale compreso fra 75% e 85%.
- A.1.11 La velocimetria Doppler è risultata meno accurata nel monitoraggio dell'anemia fetale dopo trasfusione intrauterina; per valutare quando eventualmente effettuare la trasfusione successiva viene utilizzato un algoritmo che prevede il calcolo del decadimento dell'emoglobina¹²⁸.

A.2 Trasfusione post-natale¹²⁶

Le forme cliniche di MEFN trattabili con specifica terapia alla nascita sono: l'ittero grave neonatale e l'anemia tardiva del neonato. Esse vanno trattate rispettivamente con ET o con la trasfusione di concentrati eritrocitari.

- A.2.1 La terapia dell'ittero grave del neonato è costituita dall'ET alla nascita, da effettuarsi ogni volta che la bilirubina si attesti verso livelli ritenuti pericolosi dal neonatologo competente, mentre l'anemia tardiva del neonato (che interviene, di norma, nella seconda o terza settimana di vita) va curata con trasfusioni di piccoli volumi di sangue.

- A.2.2 Se madre e neonato condividono lo stesso gruppo ABO, il sangue da utilizzare nell'ET dovrà essere della stessa specificità, RhD negativo in caso di MEFN da anti-D, o privo degli antigeni verso cui sono rivolti gli anticorpi causa dell'alloimmunizzazione. Negli altri casi è indicato utilizzare emazie di gruppo O. In caso di ET le emazie vanno risospese in plasma fresco congelato (PFC), quarantenate o virus inattivato, di gruppo AB o del gruppo del neonato (sangue intero ricostituito), al fine di apportare albumina e fattori della coagulazione.
- A.2.3 Le prove di compatibilità pre-trasfusionale dovranno essere effettuate sul siero materno. Nel caso in cui il siero materno non sia disponibile, le prove di compatibilità potranno essere eseguite utilizzando l'eluato ottenuto dalle emazie neonatali immunizzate o il siero del neonato.
- A.2.4 Il sangue da utilizzare nell'ET post-natale o nelle trasfusioni per correggere l'anemia tardiva deve essere raccolto da meno di 5 giorni, deve essere leucodepleto, irradiato (25-50 Gy) e provenire, se possibile, da donatore CMV-negativo.
- A.2.5 In caso di ET con sangue intero ricostituito, l'ematocrito finale deve essere compreso fra 40% e 60%; invece, in caso di trasfusione neonatale l'ematocrito finale deve essere compreso fra 75% e 85%.

Per altre informazioni relative alla trasfusione intrauterina e alla trasfusione in età neonatale si rimanda alle Raccomandazioni per la terapia trasfusionale in neonatologia a cura del Gruppo di Studio SIMTI/SIN¹²⁶ e successive revisioni.

B. La malattia emolitica del feto e del neonato da incompatibilità ABO

B.1 Cenni di terapia

- B.1.1 Quando la bilirubina si attesta a livelli definiti pericolosi dal neonatologo competente, si impone l'esecuzione di un'ET.
- B.1.2 L'ET deve essere effettuata utilizzando emazie O (con fenotipo Rh identico a quello del neonato) risospese in PFC AB o del

gruppo del neonato, fino ad ottenere un ematocrito finale compreso tra 45% e 55% (sangue intero ricostituito).

- B.1.3 I concentrati eritrocitari da utilizzare nell'ET post-natale o nelle trasfusioni per correggere l'anemia, devono essere leucodepleti e con un ematocrito finale compreso fra 75% e 85%. In caso di neonati di basso peso alla nascita (≤ 1.500 g) e/o EG ≤ 30 settimane è raccomandato l'impiego di concentrati eritrocitari irradiati (25-50 Gy) e, se possibile, provenienti da donatore CMV-negativo¹²⁹.
- B.1.4 Per le forme meno gravi, nei quali la bilirubina non raggiunge livelli critici, per ridurre l'ittero neonatale risulta sufficientemente efficace la fototerapia o l'impiego di altre terapie specifiche.
- B.1.5 Attualmente, non esistono evidenze scientifiche che raccomandino l'uso delle Ig per via EV nel trattamento della MEFN da incompatibilità ABO. Tuttavia, diversi studi riportano l'efficacia della loro somministrazione precoce, in termini di riduzione significativa del numero delle ET e dei giorni di ospedalizzazione, nei nati oltre le 32 settimane di EG¹³⁰⁻¹³³. Pertanto, le Ig per via EV (0,5-1 g/Kg/die per 3 dosi) sono raccomandate in neonati con grave malattia emolitica, se non sono attuabili altri provvedimenti terapeutici¹³⁴.

C. La trasfusione nelle "donne con potenziale gravidico"

Nelle "donne con potenziale gravidico", laddove siano disponibili presidi terapeutici alternativi, si deve evitare nei limiti del possibile di ricorrere alla terapia trasfusionale con concentrati eritrocitari omologhi, a causa della possibile immunizzazione verso gli antigeni eritrocitari e il rischio di una potenziale successiva MEFN.

Per gli interventi chirurgici d'elezione, laddove possibile, può essere proposta l'adozione di tecniche autotrasfusionali alternative al predeposito, così come previsto dalle Raccomandazioni SIMTI sulla trasfusione perioperatoria¹³⁵⁻¹³⁷.

C.1 Trasfusione omologa

Quando la trasfusione omologa è inevitabile, per le donne con potenziale gravidico devono essere seguite le raccomandazioni riportate in seguito.

- C.1.1 Assegnare unità di concentrati eritrocitari con fenotipo identico o compatibile per gli antigeni dei sistemi Rh e Kell.
- C.1.2 Assegnare unità di concentrati eritrocitari con fenotipo identico o compatibile per gli antigeni Kidd, Duffy, MNS, nelle seguenti condizioni:
- presenza di pluri-immunizzazione;
 - presenza di talassemia intermedia o di drepanocitosi (anche in assenza di immunizzazione);
 - riferite pregresse reazioni trasfusionali emolitiche in assenza di anticorpi dimostrabili, sindrome da iperemolisi, rapidi decrementi o mancati incrementi di emoglobina post-trasfusionale in assenza di anticorpi dimostrabili.
- C.1.3 In caso di trasfusione di concentrati piastrinici (CP) a donne RhD negative, assegnare CP RhD negativi¹³⁸⁻¹⁴¹.
- C.1.4 In caso di trasfusione di CP RhD positivi a donne RhD negative, allo scopo di prevenire un'eventuale immunizzazione, somministrare, entro 72 ore dalla trasfusione, 250-300 µg (1.250-1.500 UI) di Ig anti-D, quantità in grado di assicurare copertura per la trasfusione di 5 dosi terapeutiche di CP in 6 settimane¹³⁸⁻¹⁴¹.

D. Test immunoematologici raccomandati durante la gravidanza e relativa tempistica per una corretta prevenzione della malattia emolitica del feto e del neonato

Soggetti e condizioni	Tempistica
Gruppo sanguigno (ABO e RhD)	
Tutte le donne in gravidanza	<ul style="list-style-type: none"> - Entro il primo trimestre nel corso della visita iniziale - Se non esiste una precedente tipizzazione negli archivi della struttura trasfusionale, verifica a 28 settimane
Ricerca anticorpi irregolari antieritrocitari	
Tutte le donne in gravidanza	<ul style="list-style-type: none"> - Entro il primo trimestre, nel corso della visita iniziale - A 28 settimane* - In occasione di eventi potenzialmente immunizzanti*
Identificazione anticorpale	
Tutte le donne in gravidanza in caso di ricerca anticorpale positiva	<ul style="list-style-type: none"> - Al rilevamento iniziale - In caso di donne con presenza di anticorpi non clinicamente significativi, ripetere l'identificazione a 24 e 34 settimane di EG nelle donne RhD negative e solamente a 34 settimane di EG nelle donne RhD positive
Titolazione/quantificazione anticorpale	
Tutte le donne in gravidanza in presenza di anticorpi RhD e/o di altri anticorpi potenzialmente capaci di causare MEFN	<ul style="list-style-type: none"> - Ogni 4 settimane fino a 18 settimane di EG - Ogni 2-4 settimane dopo 18 settimane EG - Monitoraggio più stretto in caso di incremento rapido del titolo

* Per le donne RhD negative eseguire il test prima della somministrazione delle Ig anti-D.
Adattata da *Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists*²¹.

Legenda

EG: età gestazionale; MEFN: malattia emolitica del feto e del neonato.

E. Test immunoematologici raccomandati al parto

Soggetti e condizioni	Test
Sangue cordonale	
Tutti i neonati	- TAD
Neonati di donne RhD negative	- Tipizzazione RhD, incluso il test per D <i>weak</i> e almeno la variante D ^{Vt}
Neonati di donne con anticorpi potenzialmente significativi e/o neonati con segni clinici di MEFN o neonati con TAD positivo	- Tipizzazione ABO/RhD - In caso di TAD positivo eseguire eluizione e testare gli eritrociti per il corrispondente antigene - In caso di sospetta presenza di un anticorpo a bassa incidenza, l'eluato del neonato e il plasma materno dovrebbero essere testati contro i globuli rossi paterni
Sangue materno	
Tutte le donne RhD negative che partoriscono un neonato RhD positivo	- Valutazione dell'EFM
Sospetta MEFN ABO	- Ricerca e titolazione delle IgG anti-A o anti-B

Adattata da Judd WJ. *Scientific Section Coordinating Committee of the AABB. Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohematology*¹⁴².

Legenda

EFM: emorragia fetto-materna; IgG: immunoglobuline di classe G; MEFN: malattia emolitica del fetto e del neonato; TAD: test all'antiglobulina diretto.

F. Modello di consenso informato per la somministrazione di immunoglobuline anti-D

Gentile Signora,

nella relazione di cura fra medico e paziente è importante che vi siano dei momenti in cui confrontarsi sulle scelte di salute; in particolare, è Suo diritto ricevere tutte le informazioni necessarie per poter scegliere in modo consapevole. Questo documento ha lo scopo di affiancare il medico nel fornirLe un'informazione corretta e completa riguardo alle Sue condizioni cliniche e al trattamento in questione, affinché Lei possa esprimere una scelta libera e informata.

Questa informazione al consenso per il trattamento è presentata a:

COGNOME: _____ NOME: _____

DATA NASCITA: _____ LUOGO DI NASCITA: _____

In caso di minore o di soggetto non in grado di intendere e volere

Padre Madre Tutore Amministratore di sostegno di:

COGNOME: _____ NOME: _____

DATA NASCITA: _____ LUOGO DI NASCITA: _____

dal Dott./Dott.ssa:

COGNOME: _____ NOME: _____

1. Condizioni/motivazioni cliniche per cui si propone il trattamento.

La somministrazione di immunoglobuline anti-D è indicata in donne che hanno un gruppo sanguigno RhD negativo/non determinabile e prive di anticorpi anti-D, nei seguenti casi:

- a) quando è possibile che vi sia stato un passaggio di globuli rossi fetali/neonatali (di gruppo RhD positivo o non determinabile) nel circolo materno a seguito di: parto, aborto, perdite ematiche, traumi addominali e manovre ostetriche invasive (villocentesi, amniocentesi, funicolocentesi);
- b) a 28 settimane di età gestazionale, per coprire eventuali passaggi di globuli rossi dal feto alla madre che possono avvenire nel terzo trimestre di gravidanza;
- c) quando è necessaria la trasfusione di concentrati piastrinici, che potrebbero essere contaminati con globuli rossi di tipo RhD positivo.

Ho compreso le condizioni cliniche per cui mi si propone il trattamento?

Sì Ho chiesto ulteriori chiarimenti

2. Informazioni riguardo il trattamento.

La profilassi consiste nella somministrazione intramuscolo di una dose di Immunoglobuline anti-D possibilmente entro 72 ore dal parto o dai possibili eventi citati al punto 1.

Ho compreso le informazioni riguardo il trattamento?

Sì Ho chiesto ulteriori chiarimenti

3. Benefici attesi.

La terapia si prefigge di prevenire la produzione di anticorpi anti-D che, attraversando la placenta, potrebbero causare danni al Suo feto in caso di futura gravidanza o nella gravidanza in corso. La somministrazione di queste immunoglobuline ha consentito negli anni una notevole riduzione della frequenza della malattia emolitica dei neonati.

Ho compreso i benefici attesi?

Sì Ho chiesto ulteriori chiarimenti

4. Probabilità di successo e insuccesso riguardo il trattamento.

La probabilità di successo è legata a una corretta esecuzione della profilassi nelle condizioni sopra specificate. Ciò nonostante, esiste una piccola percentuale (0,1-0,2%) di donne che sviluppano comunque attivamente anticorpi anti-D.

Ho compreso le probabilità di successo e insuccesso riguardo il trattamento?

Sì Ho chiesto ulteriori chiarimenti

5. Rischi connessi con il trattamento.

La somministrazione di immunoglobuline anti-D, come ogni altra terapia, oltre a evidenti benefici comporta anche dei rischi o effetti collaterali. Essendo il preparato ottenuto da plasma (quindi da donazione di sangue) non può essere completamente escluso il rischio di patologie infettive in particolare epatite B, epatite C, HIV. Tale rischio, pur non potendo essere pari a zero, è estremamente ridotto grazie al processo di selezione del donatore e ai test di laboratorio, anche molto complessi, per la identificazione di virus e/o batteri. Inoltre il plasma durante la lavorazione è sottoposto a procedure per inattivare eventuali virus.

In casi rari è stata segnalata la comparsa di febbre, nausea, vomito, ipotensione e reazioni allergiche locali o generalizzate. In tali casi il medico di reparto metterà in atto i trattamenti più idonei a seconda del tipo di reazione.

Ho compreso i rischi connessi con il trattamento?

Sì Ho chiesto ulteriori chiarimenti

6. Possibili alternative relative a quanto proposto.

In presenza di una corretta indicazione (vedi punto 1), non vi è alternativa.

Ho compreso le eventuali possibili alternative relative a quanto proposto?

Sì Ho chiesto ulteriori chiarimenti

7. Possibili conseguenze nel caso non sia eseguito/a il trattamento.

La mancata immunoprofilassi comporta la possibilità da parte del Suo sistema immunitario di sviluppare anticorpi anti-D, che potrebbero rappresentare un problema anche grave per il feto/neonato nel corso di successive gravidanze (malattia emolitica del neonato) o nella gravidanza in corso.

Ho compreso le conseguenze derivanti dalla mancata esecuzione?

Sì Ho chiesto ulteriori chiarimenti

DICHIARAZIONE DEL MEDICO

Io sottoscritto/a _____ dichiaro di aver informato

la paziente _____ ovvero

Padre Madre Tutore Amministratore di sostegno

di _____ sulle sue condizioni cliniche e sui relativi possibili trattamenti, procedure ed accertamenti, in modo chiaro, con linguaggio semplice e assicurandomi della sua comprensione. Dichiaro inoltre di aver risposto ad ogni domanda e prendere atto della sua libera decisione di seguito espressa.

Data/...../.....

Firma del medico

FIRMA INFORMATIVA

Io sottoscritto/a _____

Padre Madre Tutore Amministratore di sostegno

di _____ dichiaro di aver ricevuto informazioni che mi hanno permesso di comprendere le condizioni cliniche e il trattamento proposto, anche alla luce degli ulteriori chiarimenti da me richiesti.

Data/...../.....

Firma.....

Firma dell'eventuale mediatore culturale

ESPRESSIONE DEL CONSENSO

Le viene qui richiesto di dichiarare o di rifiutare il suo consenso al trattamento.

In ogni caso Lei potrà comunque, in qualsiasi momento successivo, revocare il consenso che qui sta esprimendo.

Io sottoscritto/a _____, valutate le informazioni ricevute:

ACCONSENTO

NON ACCONSENTO

al trattamento proposto dal/la Dott./ssa

Data/...../.....

Firma.....

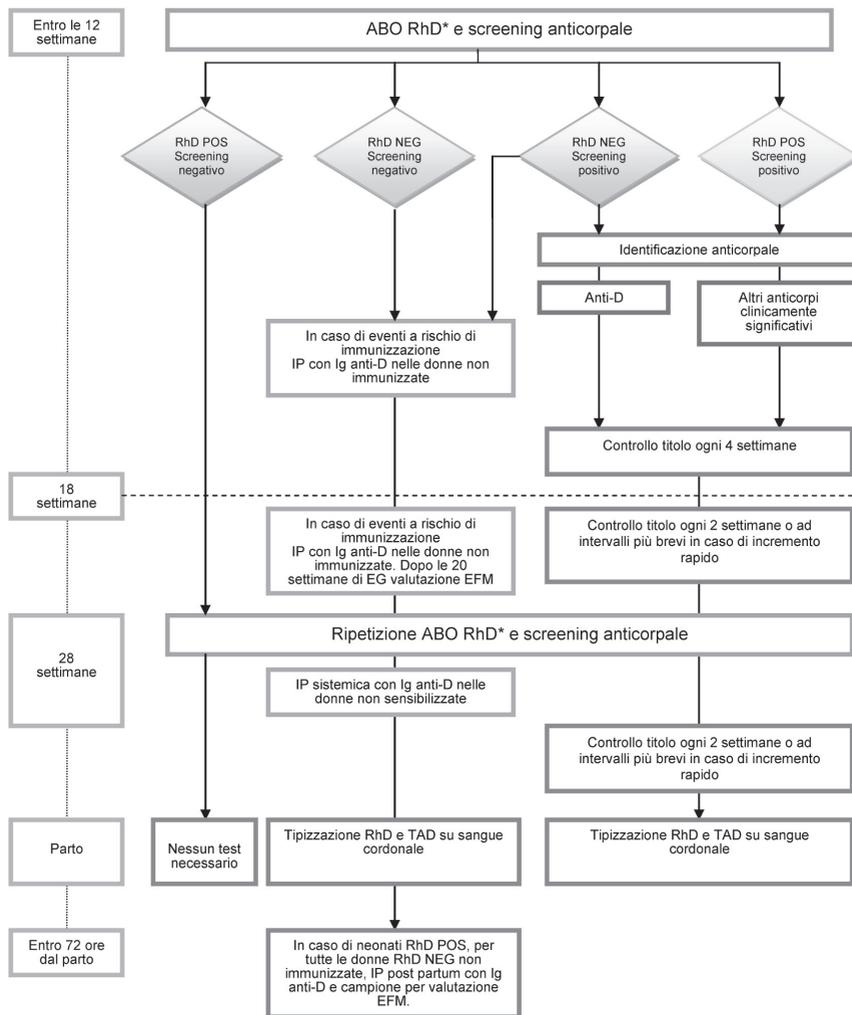
REVOCA DEL CONSENSO

Io sottoscritto/a _____, dopo essere stata informata sulle motivazioni e la natura dell'atto clinico proposto, sui suoi benefici, rischi, alternative, e sulle conseguenze di una mancata esecuzione, revoco il consenso precedentemente espresso.

Data/...../.....

Firma.....

G. Sorveglianza immunoematologica della donna in gravidanza e al momento parto



* ABO RhD da ripetere se non esiste una precedente tipizzazione negli archivi della Struttura Trasfusionale.

Legenda

EFM: emorragia fetο-materna; EG: età gestazionale; Ig: immunoglobuline; IP: immunoprofilassi; NEG: negativo; POS: positivo; TAD: test all'antiglobulina diretto.

H. Riepilogo delle raccomandazioni

N. Racc.	RACCOMANDAZIONE	GdR
1	Su tutte le gravide, indipendentemente dal loro stato RhD si raccomanda di effettuare, presso una ST, entro il primo trimestre, la determinazione del gruppo ABO e del fattore RhD e la ricerca di anticorpi irregolari con il TAI.	1B
2	Si suggerisce che i campioni per gli esami immunoematologici siano identificati come i campioni per le prove pre-trasfusionali e riportino cognome, nome, data di nascita della paziente e la firma dell'operatore che ha eseguito il prelievo.	2C
3	Si suggerisce di segnalare a tutte le donne in gravidanza il loro stato RhD per l'eventuale necessità di praticare la profilassi con Ig anti-D.	2B
4	Si suggerisce di ripetere la ricerca degli anticorpi irregolari in tutte le donne a 28 settimane di EG, indipendentemente dal loro stato RhD. Nelle donne RhD negative che eseguono la profilassi antenatale a 28 settimane di EG, il TAI va eseguito prima della somministrazione dell'IP.	2B
5	Se la ricerca di anticorpi è positiva, al fine di valutare il rischio di MEFN, si suggerisce di identificare la specificità, il titolo e l'origine degli anticorpi e di eseguire un'accurata anamnesi immunoematologica e ostetrica della donna.	2B
6	Si suggerisce di eseguire la tipizzazione RhD, lo screening e l'identificazione degli anticorpi irregolari utilizzando metodiche in linea con quanto previsto dagli Standard SIMTI.	2C
7	Si raccomanda di non eseguire la ricerca e il monitoraggio degli anticorpi immuni anti-A e anti-B nelle donne in gravidanza.	2B
8	Nel partner di una donna che presenta alloanticorpi verso antigeni clinicamente significativi per MEFN, allo scopo di escludere il rischio di MEFN, se possibile, e se la coppia acconsente, si suggerisce di determinare gli antigeni eritrocitari verso cui sono rivolti gli anticorpi materni.	2C

N. Racc.	RACCOMANDAZIONE	GdR
9	Per le donne che si sottopongono a diagnosi prenatale invasiva per altre indicazioni, si suggerisce di eseguire la determinazione del genotipo del feto con un test in PCR su un campione ottenuto da materiale fetale dall'amniocentesi, dai villi coriali o da cordocentesi, se il padre è eterozigote per l'antigene verso cui è rivolto l'anticorpo individuato. La determinazione genotipica del gruppo fetale RhD può anche essere eseguita direttamente su campioni di plasma materno tra la fine del primo e l'inizio del secondo trimestre di gravidanza.	2C
10	Per le titolazioni dell'anti-D si suggerisce l'uso di emazie D-eterozigoti (R1r, R2r) in grado di testimoniare meglio l'espressione antigenica del feto. In ogni caso per una corretta valutazione dell'andamento del titolo, è necessario utilizzare sempre emazie test con la medesima zigosità.	2B
11	Nel caso di gravida con presenza di anticorpi anti-D, o di altri anticorpi clinicamente significativi per MEFN, si suggerisce di eseguire la titolazione dell'anticorpo ogni 4 settimane fino alle 18 settimane di EG; successivamente ogni 2-4 settimane. I risultati delle titolazioni devono essere confrontati con quelli ottenuti con il campione utilizzato per la titolazione precedente, impiegando emazie test con la stessa espressione antigenica.	2C
12	In caso di rischio di MEFN, si raccomanda di effettuare la sorveglianza del feto con metodiche non invasive, quali ecografia e/o velocimetria Doppler. I parametri da valutare sono la presenza/assenza di ascite/idrope e la misurazione dell'ACM-PSV.	1B
13	Si suggerisce di eseguire su tutti i neonati da un campione di sangue funicolare il TAD. In caso di positività del TAD e in presenza di segni clinici di MEFN, si suggerisce di eseguire l'eluizione dell'anticorpo dalle emazie del funicolo, al fine di confermare la specificità anticorpale.	2C
14	Nei neonati di madre RhD negativa dallo stesso campione di sangue funicolare prelevato per l'esecuzione del TAD si suggerisce di eseguire la determinazione del fenotipo RhD, con metodiche atte a rilevare anche il fenotipo D <i>weak</i> , ed almeno la sua variante più frequente D ^V .	2C

N. Racc.	RACCOMANDAZIONE	GdR
15	In presenza di evidenze laboratoristiche (TAD positivo) o cliniche (ittero) di emolisi neonatale, quando la madre è di gruppo O, si suggerisce di eseguire la tipizzazione gruppo-ematica ABO/RhD sulle emazie del funicolo, la ricerca e la titolazione delle IgG anti-A e/o anti-B nel siero materno e, in caso di TAD positivo, l'eluizione delle IgG (anti-A e/o anti-B) dalle emazie neonatali.	2C
16	Si suggerisce di effettuare l'IP con Ig anti-D nelle donne con fenotipo D <i>variant</i> non ben definite dal punto di vista molecolare.	2C
17	Prima della somministrazione delle Ig anti-D si raccomanda di ottenere il consenso informato.	1B
18	Si suggerisce di non effettuare (in quanto non indicata) l'immunoprofilassi con Ig anti-D nelle donne RhD negative con partner RhD negativo, purché sia accertata la paternità, dichiarata mediante colloquio privato con la donna.	2C
19	Si suggerisce di verificare l'efficacia dell'IP con una ricerca di anticorpi anti-D nel siero della madre, trascorsi almeno sei mesi dal parto. Una negatività della ricerca di anticorpi anti-D depone per il successo dell'IP.	2C
20	In presenza di circostanze che possono favorire il passaggio di eritrociti fetali nel circolo materno, si suggerisce di proporre la profilassi con Ig anti-D a tutte le donne RhD negative non immunizzate.	2C
21	Si raccomanda di proporre a tutte le donne RhD negative non immunizzate a 28 settimane di EG una dose di Ig anti-D da 1.500 UI (300 µg). L'IP a 28 settimane di EG va proposta anche nel caso in cui nelle settimane precedenti sia stata praticata IP per eventi a rischio di immunizzazione.	1B
22	Si raccomanda di praticare a tutte le donne RhD negative non immunizzate che hanno partorito un neonato RhD positivo (o D <i>weak</i>) l'immunoprofilassi con Ig anti-D.	1A
23	Si suggerisce la somministrazione delle Ig anti-D appena possibile dopo il parto o dopo un potenziale evento immunizzante, al massimo entro 72 ore. Se le Ig anti-D non vengono somministrate entro 72 ore, esse devono essere somministrate il prima possibile (fino a 10 giorni dopo).	2B

N. Racc.	RACCOMANDAZIONE	GdR
24	Si suggerisce di somministrare le Ig anti-D per via intramuscolare a livello del muscolo deltoide. In caso di alterazioni dell'emostasi, quando le iniezioni intramuscolari sono controindicate, o in caso di dose maggiore a 3.000 UI (600 µg) si suggerisce di somministrare le Ig anti-D per via EV.	2C
25	Per la profilassi a seguito di eventi sensibilizzanti avvenuti fino a 19 ⁺⁶ settimane di EG si suggerisce di somministrare una dose di Ig anti-D di 625 UI (125 µg).	2B
26	Per eventi occorsi dopo le 20 ⁺⁰ settimane di gravidanza e nel post-partum, se non viene eseguita la valutazione dell'EFM, si suggerisce di utilizzare una dose di Ig anti-D di 1.500 UI (300 µg).	2B
27	Se viene eseguita di routine la valutazione dell'EFM, per eventi occorsi dopo le 20 ⁺⁰ settimane di gravidanza e nel post-partum, si suggerisce di utilizzare una dose di Ig anti-D di 625 UI (125 µg).	2B
28	In caso di EFM superiore a quella coperta dalla dose di Ig anti-D somministrata, si suggerisce di prevedere delle dosi supplementari di Ig anti-D commisurate all'entità dell'EFM.	2B
29	Allo scopo di calcolare il dosaggio appropriato di Ig anti-D da somministrare, si suggerisce di eseguire nelle donne RhD negative la valutazione dell'EFM dopo il parto di un neonato RhD positivo e dopo eventi potenzialmente immunizzanti occorsi dopo le 20 settimane di EG.	2B
30	Indipendentemente dalla dose di Ig anti-D somministrate, si suggerisce di eseguire il test di valutazione dell'EFM nei casi in cui siano presenti fattori di rischio associati ad un'EFM di grande entità.	2B
31	Si suggerisce di prelevare il campione di sangue sui cui eseguire la valutazione dell'EFM dopo almeno 30 minuti ed entro 2 ore dal parto o dall'evento a rischio di immunizzazione per permettere al sangue fetale o neonatale di disperdersi nella circolazione materna. Il prelievo in tutti i casi va eseguito prima della somministrazione delle Ig anti-D.	2B

Legenda

ACM-PSV: picco di velocità sistolica nell'arteria cerebrale media; EFM: emorragia fetomaterna; EG: età gestazionale; EV: endovenosa/o; GdR: grado di raccomandazione; Ig: immunoglobuline; IP: immunoprofilassi; MEFN: malattia emolitica del feto e del neonato; N. Racc.: numero raccomandazione; PCR: *polymerase chain reaction*; SIMTI: Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunematologia; ST: Struttura Trasfusionale; TAD: test all'antiglobulina diretto; TAI: test all'antiglobulina indiretto.

Bibliografia

- 1) Biffoni F, D'Angiolino A, Massaro AL, et al. Recommendations for the management of haemolytic disease of the newborn. *Blood Transfus* 2006; **4**: 237-50.
- 2) Bennardello F, Curciarello G. Survey on the prevention and incidence of haemolytic disease of the newborn in Italy. *Blood Transfus* 2013; **11**: 518-27.
- 3) Istituto Superiore di Sanità, Agenzia per i Servizi Sanitari Regionali. Programma Nazionale per le Linee Guida - Manuale Metodologico, Milano, Italia, Arti Grafiche Passoni srl; 2002. Disponibile all'indirizzo web: http://www.snlg-iss.it/cms/files/Manuale_PNLG_0.pdf. Ultimo accesso 01/02/2014.
- 4) Atkins D, Best D, Briss PA, et al; GRADE working group. Grading quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2004; **328**: 1490-8.
- 5) Guyatt G, Gutterman D, Baumann MH, et al. Grading strength of recommendations and quality of evidence in clinical guidelines: report from an American College of Chest Physicians task force. *Chest* 2006; **129**: 174-81.
- 6) Schünemann HJ, Jaeschke R, Cook DJ, et al; ATS Documents Development and Implementation Committee. An Official ATS Statement: Grading the Quality of Evidence and Strength of Recommendations in ATS Guidelines and Recommendations. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; **174**: 605-14.
- 7) Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia, Società Italiana di Neonatologia e Gruppo di Studio di Ematologia Neonatale. *Raccomandazioni per la terapia trasfusionale in Neonatologia*. 1ª Edizione, Edizioni SIMTI, Italia; novembre 2006.
- 8) Bowman JM. The prevention of Rh immunization. *Transfus Med Rev* 1988; **2**: 129-50.
- 9) Grenache DG. Hemolytic disease of the newborn. In: Gronowski AM, editor. *Current clinical pathology: handbook of clinical testing during pregnancy*. Totowa (NJ): Humana Press; 2004; 219-41.
- 10) Moise KJ. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2002; **100**: 600-11.
- 11) Crowther CA, Middleton P. Anti-D administration after childbirth for preventing Rhesus alloimmunisation. *Cochrane Database Syst Rev* 1997; **2**: CD000021.
- 12) Armson BA, Parson ML. The Rh program of Nova Scotia 1964-1994. Halifax Atlantic Society of Obstetricians and Gynaecologists; 1995.
- 13) Bowman J, Pollock J. Failure of intravenous Rh immune globulin prophylaxis: an analysis for the reasons of such failures. *Transf Med Rev* 1987; **1**: 101-12.
- 14) Ismail KM, Martin WL, Ghosh S, et al. Etiology and outcome of hydrops fetalis. *J Matern Fet Med*. 2001; **10**: 175-81.

- 15) Bowman JM. RhD hemolytic disease of the newborn. *N Engl J Med* 1998; **339**: 1775-7.
- 16) Moise KJ. Red blood cell alloimmunization in pregnancy. *Semin Hematol* 2005; **42**: 169-178.
- 17) Papantoniou N, Sifakis S, Antsaklis A. Therapeutic management of fetal anemia: review of standard practice and alternative treatment options. *J Perinat Med* 2013; **41**: 71-82.
- 18) Issitt PD, Anstee DJ. *Applied Blood Group Serology*. 4th ed., Durham, NC, Montgomery Scientific Publications; 1998.
- 19) Moise KJ. Non-anti-D antibodies in red cell alloimmunisation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; **92**: 75-81.
- 20) Goodrick MJ, Hadley AG, Poole, G. Haemolytic disease of the fetus and newborn due to anti-Fya and the potential clinical value of Duffy genotyping in pregnancies at risk. *Transfus Med* 1997; **7**: 301-304.
- 21) Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists. Guidelines for the use of Rh (D) Immunoglobulin (Anti-D) in obstetrics in Australia. Australian & New Zealand Society of Blood Transfusion Ltd, Sidney, 2007. Disponibile all'indirizzo web: <http://www.ranzcog.edu.au/publications/statements/C-obs6.pdf>. Ultimo accesso 19/04/2014.
- 22) Bowman JM, Pollock JM, Manning FA, et al. Maternal Kell Blood Group Alloimmunisation. *Obstet Gynecol* 1992; **79**:239-44.
- 23) Leggatt HM, Gibson JM, Barron SL, et al. Anti-Kell in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; **98**: 162-166.
- 24) Vaughan JI, Warwick R, Letsky E, et al. Erythropoietic suppression in fetal anaemia because of Kell alloimmunisation. *Am J Obstet Gynecol* 1994; **171**: 247-51.
- 25) Vaughan JI, Manning M, Warwick RM, et al. Inhibition of erythroid progenitor cells by anti-Kell antibodies in fetal alloimmune anaemia. *N Engl J Med* 1998; **338**: 798-803.
- 26) Strauss RG. Hemolytic disease of the fetus/newborn: reflections on articles from *Transfusion* Volume 1. *Transfusion* 2010; **50**: 748-751.
- 27) Basu S, Kaur R, Kaur G. Hemolytic disease of the fetus and newborn: Current trends and perspectives. *Asian J Transfus Sci* 2011; **5**: 3-7.
- 28) Drabik-Clary K, Reddy VV, Benjamin WH, Boctor FN. Severe hemolytic disease of the newborn in a group B African-American infant delivered by a group O mother. *Ann Clin Lab Sci* 2006; **36**: 205-7.
- 29) Dajak S, Stefanovic V, Capkun V. Severe hemolytic disease of fetus and newborn caused by red blood cell antibodies undetected at first-trimester screening. *Transfusion* 2011; **51**: 1380-8.

- 30) Dipartimento della programmazione e dell'ordinamento del Servizio sanitario nazionale Direzione Generale del Sistema Informativo e Statistico Sanitario Ufficio di Direzione Statistica 10° Rapporto CeDAP - Analisi dell'evento nascita anno 2010. Luglio 2013. Disponibile all'indirizzo web: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2024_allegato.pdf. Ultimo accesso 03/12/2013.
- 31) Legge 219 del 21/10/2005: Nuova disciplina delle attività trasfusionali e della produzione nazionale di emoderivati. G.U. Serie Generale n° 251 27/10/2005.
- 32) Daniels G. *Human Blood Groups*. 3rd Edition, John Wiley & Sons; 2013.
- 33) Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia (SIMTI). *Standards of Transfusion Medicine*. 2^a Edizione, Edizioni SIMTI, Italia; giugno 2010.
- 34) Decreto Legislativo 3 Marzo 2005. Caratteristiche e modalità per la donazione di sangue e di emocomponenti. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana, Serie Generale, n. 85 del 13 aprile 2005.
- 35) Garratty G. How concerned should we be about missing antibodies to low frequency antigens? *Transfusion* 2003; **43**: 844-7.
- 36) Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Prevention of Rh alloimmunization. *J Obstet Gynaecol Can* 2003; **25**: 765-73.
- 37) Reali G. Protocollo relativo all'esecuzione di esami immunoematologici per la prevenzione della MEN. *La Trasfusione del Sangue* 2002; **47**: 323-31.
- 38) Mollison PL, Engelfreit CP, Contreras M. No value in immune anti-A or anti-B in predicting HDN. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*. 10th edition Blackwell Oxford; 1997. p.418-24.
- 39) Thompson S, Eggington J, Dodd A, et al. Late developing red cell antibodies in pregnancy. *Transfus Med* 2003; **13** (suppl): 8-9.
- 40) Rothenberg JM, Weirermiller B, Dirig K, et al. Is a third-trimester antibody screen for Rh+ women necessary? *Am J Manag Care* 1999; **5**: 1145-50.
- 41) Heddle NM, Klama L, Frassetto R, et al. A retrospective study to determine the risk of red cell alloimmunization and transfusion during pregnancy. *Transfusion* 1993; **3**: 217-20.
- 42) Moise KJ Jr, Argoti PS. Management and prevention of red cell alloimmunization in pregnancy. A systematic Review. *Obstet Gynecol* 2012; **120**: 1132-9.
- 43) Moise KJ Jr. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2008; **112**:164-76.
- 44) Pirelli KJ, Pietz BC, Johnson ST, et al. Molecular determination of RhD zygosity: predicting risk of hemolytic disease of the fetus and newborn related to anti-D. *Prenat Diagn* 2010; **30**: 1207-12.

- 45) Van den Veyer IB, Beaudet AL. Comparative genomic hybridization and prenatal diagnosis. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006; **18**: 185-91.
- 46) Lo YM, Powell PJ, Selinger M, et al. Prenatal determination of fetal RhD status by analysis of peripheral blood of rhesus negative mothers. *Lancet* 1993; **341**: 1147-8.
- 47) Bennet PR, Le Van Kim C, Colin Y, et al. Prenatal determination of fetal RhD type by DNA amplification. *N Engl J Med* 1993; **329**:607-10.
- 48) Geifman-Holtzman O, Grotegut CA, Gaughan JP. Diagnostic accuracy of noninvasive fetal Rh genotyping from maternal blood - a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2006; **195**: 1163-73.
- 49) Lo YM, Hjelm NM, Fidler C, et al. Prenatal diagnosis of fetale RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Eng J Med* 1998; **339**: 1734-8.
- 50) Finning K, Martin P, Summers J, Daniels G. Fetal genotyping for the K (Kell) and Rh C, c, and E blood groups on cell-free fetal DNA in maternal plasma. *Transfusion* 2007; **47**: 2126-33.
- 51) New HV, Harrison CN, Rodeck CH, et al. Antenatal antibody screening [letter]. *Lancet* 2001; **357**: 1295.
- 52) British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for blood grouping and antibody testing in pregnancy. 2006. Disponibile all'indirizzo web: http://www.bcsghguidelines.com/documents/antibody_testing_pregnancy_bcs_h_07062006.pdf. Ultimo accesso 19/04/2014.
- 53) Bruce M, Chapman JF, Duguid J, et al; on behalf of the BCSH Transfusion Task Force. Addendum for guidelines for blood grouping and red cell antibody testing during pregnancy. *Transfus Med* 1999; **9**: 99.
- 54) Mari G, Deter RL, Carpenter RL, et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *N Engl J Med* 2000; **342**: 9-14.
- 55) Picklesheimer AH, Oepkes D, Moise KJ Jr, et al. Determinants of the middle cerebral artery peak systolic velocity in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol* 2007; **197**: 526.e1-4.
- 56) Divakaran TG, Waugh J, Clark TJ, et al. Non invasive techniques to detect fetal anemia due to red blood cell alloimmunization: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2001; **98**: 509-17.
- 57) Oepkes D, Seaward PG, Vandenbussche FP, et al. Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. *N Eng J Med* 2006; **355**: 156-64.
- 58) Moise KJ Jr. Diagnosing hemolytic disease of the fetus-time to put the needles away? *N Eng J Med* 2006; **355**: 192-4.
- 59) Roberts A, Mitchell JM, Lake Y, et al. Ultrasonographic surveillance in red blood cell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol* 2001; **184**: 1251-5.

- 60) Maayan-Metzger A, Schwartz T, Sulkes J, et al. Maternal anti-D prophylaxis during pregnancy does not cause neonatal haemolysis. *Arch Dis in Child Fetal Neonatal* 2001; **84**: F60-2.
- 61) Zantek ND, Scott A, Koepsell SA, et al. The direct antiglobulin test: A critical step in the evaluation of hemolysis. *Am J Hematol* 2012; **87**: 707-709.
- 62) Greco VA, Byrne KM, Procter JL, et al. Detection of antibodies in acid eluates with the gel microcolumn assay. *Transfusion* 2002; **42**: 698-701.
- 63) Feng CS, Kirkley KC, Eicher CA, et al. The Lui elution technique. A simple and efficient method for eluting ABO antibodies. *Transfusion* 1985; **25**: 433-4.
- 64) Judd WJ, Johnson ST, Story J. *Judd's Methods in Immunohematology*. 3rd edition, American Association of Blood Banks (AABB); September 2008.
- 65) Bowman JM. Controversies in Rh prophylaxis: who needs Rh immune globulin and when should it be given? *Am J Obstet Gynecol* 1985; **151**: 289-94.
- 66) Bowman J. Thirty-five years of Rh prophylaxis. *Transfusion* 2003; **43**: 1661-6.
- 67) Bowman J. Rh-immunoglobulin: Rh prophylaxis. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006; **19**: 27-34.
- 68) Hughes RG, Craig JI, Murphy WG, et al. Causes and clinical consequences of Rhesus (D) haemolytic disease of the newborn: a study of a Scottish population, 1985-1990. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; **101**: 297-300.
- 69) Bowman JM, Pollock JM, Penston LE. Fetomaternal transplacental hemorrhage during pregnancy and after delivery. *Vox Sang* 1986; **51**: 117-21.
- 70) Lee D, Contreras M, Robson SC, et al. Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. *British Blood Transfusion Society and the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Transfus Med* 1999; **9**: 93-7.
- 71) Tiblad E, Westgren M, Pasupathy D, et al. Consequences of being Rhesus D immunized during pregnancy and how to optimize new prevention strategies. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2013 Sep; **92**: 1079-85.
- 72) Crowther CA, Middleton P. Anti-D administration in pregnancy for preventing Rhesus alloimmunisation. *Cochrane Database Syst Rev* 1999; **2**: CD000020.
- 73) Chilcott J, Lloyd Jones M, Wight J, et al. A review of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of routine anti-D prophylaxis for pregnant women who are Rhesus-negative. *Health Technol Assess* 2003; **7**: iii-62.
- 74) Ministero della Salute. Istituto Superiore di Sanità. Sistema nazionale per le linee guida. Linea Guida 20. Gravidanza fisiologica. 2010. Disponibile all'indirizzo web: www.snlg-iss.it/cms/files/LG_Gravidanza.pdf. Ultimo accesso 19/04/2014.

- 75) Qureshi H, Massey E, Kirwan D, et al. BCSH guideline for the use of anti-D immunoglobulin for the prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfus Med* 2014; **24**: 8-20.
- 76) Parker J, Wray J, Gooch A, et al. British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the use of prophylactic anti-D immunoglobulin. London; 05/12/2006. Disponibile all'indirizzo web: http://www.bcshguidelines.com/documents/Anti-D_bcsh_07062006.pdf. Ultimo accesso 19/04/2014.
- 77) Flegel WA. How I manage donors and patients with a weak D phenotype. *Curr Opin Hematol* 2006; **13**: 476-83.
- 78) Daniels G. Variants of RhD - current testing and clinical consequences. *Br J Haematol* 2013; **161**: 461-70.
- 79) Milkins C, Berryman J, Cantwell C, et al. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. *Transfus Med* 2013; **23**: 3-35.
- 80) Baia F, Muniz-Diaz E, Boto N, et al. A simple approach to confirm the presence of anti-D in sera with presumed anti-D+C specificity. *Blood Transfus* 2013; **11**: 449-51.
- 81) Maley M, Babb R, Chapman CE, et al. Identification and quantification of anti-D, -C and -G in alloimmunized pregnant women. *Transfus Med* 2001; **11**: 443-6.
- 82) Moise Jr KJ. Fetal anemia due to non-Rhesus-D red-cell alloimmunization. *Semin Fetal Neonatal Med* 2008; **13**: 207-214.
- 83) Muniz-Diaz E, Oyonarte S, Rodriguez-Villaneuva J, et al. Sociedad Espanola de Transfusion Sanguinea, Sociedad Espanola de Obstetricia y Ginecologia. Protocolo de Diagnostico y Prevencion de la Enfermedad Hemolitica del feto y del Recien Nacido. (Marzo 2008). Disponibile all'indirizzo web: http://www.sets.es/index.php?searchword=hemolitica&ordering=newest&searchphrase=all&option=com_search. Ultimo accesso 30/08/2013.
- 84) Lubusky M. Prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olom, Czech Repub.* March 2010; **154**: 3-8.
- 85) Hannafin B, Lovecchio F, Blackburn P. Do Rh-negative women with first trimester spontaneous abortions need Rh immune globulin? *Am J Emerg Med* 2006; **24**: 487-9.
- 86) ACOG practice bulletin. Prevention of Rh D alloimmunization. Number 4, May 1999 (replaces educational bulletin Number 147, October 1990). Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. American College of Obstetrics and Gynecology. *Int J Gynaecol Obstet* 1999; **66**: 63-70.
- 87) Royal College of Obstetrics and Gynaecologists (RCOG Green Top Guideline 22, revised March). (2011) The Use of Anti-D Immunoglobulin for Rhesus

- D Prophylaxis. Disponibile all'indirizzo web: <http://www.rcog.org.uk/files/rcogcorp/GTG22AntiD.pdf>. Ultimo accesso 03/12/2013.
- 88) Fung Kee Fung K, Eason E, Crane J, et al. Prevention of Rh alloimmunization. *J Obstetric Gynaecol Can* 2003; **25**: 765-73.
- 89) Karanth L, Jaafar SH, Kanagasabai S, et al. Anti-D administration after spontaneous miscarriage for preventing Rhesus Alloimmunization (Review). *Cochrane Database Syst Rev* 2013; **3**: CD009617.
- 90) Lubusky M. Prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2010; **154**: 3-7.
- 91) Hartwell EA. Use of Rh immune globulin: ASCP Practice Parameter. American Society of Clinical Pathologists. *Am J Clin Pathol* 1998; **110**: 281-92.
- 92) Matthews CD, Matthews AE. Transplacental haemorrhage in spontaneous and induced abortion. *Lancet* 1969; **1**: 694-5.
- 93) Standing Medical Advisory Committee. SMAC memorandum on haemolytic disease of the newborn - 1976: - addendum -1981. London: Department of Health and Social Security; 1982.
- 94) The Irish Haematology Society, Institute of Obstetricians and Gynaecologists, Royal College of Physicians of Ireland And Obstetrics and Gynaecology Programme HSE Directorate for Quality and Clinical Strategy. Clinical Practice Guideline. The use of anti -D immunoglobulin for the prevention of RhD haemolytic disease of the newborn. Guideline No. 13. Version 2.0 Date of publication: June 2012. Disponibile all'indirizzo web: http://www.rcpi.ie/content/docs/000001/658_5_media.pdf. Ultimo accesso 26/12/2013.
- 95) National Institute for Health and Clinical Excellence. Routine antenatal anti-D prophylaxis for women who are rhesus D negative (TA156). London:NICE; 2008. Disponibile all'indirizzo web: <http://guidance.nice.org.uk/TA156>. Ultimo accesso 01/02/2014.
- 96) Pilgrim H, Lloyd-Jones M, Rees A. Routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative women: a systematic review and economic evaluation. *Health Tech Assess* 2009; **13**: iii, ix-x1, 1-103.
- 97) MacKenzie IZ, Roseman F, Findlay J, et al. The kinetics of routine antenatal prophylactic intramuscular injections of polyclonal anti-D immunoglobulin. *BJOG* 2006; **113**: 97-101.
- 98) National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. *Antenatal care. Routine care for the healthy pregnant woman*. RCOG Press, London, 2008.
- 99) Jorgensen J. Feto-maternal bleeding. MD thesis. University of Copenhagen, Denmark; 1975.

- 100) MacKenzie IZ, Bowell P, Gregory H, et al. Routine antenatal Rhesus D immunoglobulin prophylaxis: the results of a prospective 10 year study. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; **106**: 492-7.
- 101) Mayne S, Parker JH, Harden TA, et al. Rate of RhD sensitisation before and after implementation of a community based antenatal prophylaxis programme. *BMJ* 1997; **315**: 1588.
- 102) U.S. Preventive Service Task Force. Recommendation Statement; Screening for Rh (D) incompatibility. Rockville, MD; 2004. Disponibile all'indirizzo web: <http://www.uspreventiveservicestaskforce.org/3rduspstf/rh/rhrs.htm#background>. Ultimo accesso 01/02/2014.
- 103) National Institute for Clinical Excellence. Guidance on the use of routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative women. Technology Appraisal No. 41. London; 2002. Disponibile all'indirizzo web: <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/prophylaxisFinalguidance.pdf>. Ultimo accesso 01/02/2014.
- 104) National Health and Medical Research Council. Guidelines on the prophylactic use of Rh D immunoglobulin (anti-D) in obstetrics. Commonwealth of Australia 2003. Disponibile all'indirizzo web: http://www.nba.gov.au/PDF/glines_anti_d.pdf. Ultimo accesso 19/04/2014.
- 105) Cortey A, Brossard Y. Prevention of fetomaternal Rhesus-D allo-immunization. Practical aspects. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2006 (Paris); **35**(Suppl 1): S123-30.
- 106) Contreras M. The prevention of Rh haemolytic disease of the fetus and newborn - general background. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; **105** (Suppl 18):7-10.
- 107) Joy SD, Rossi KQ, Krugh D et al. Management of pregnancies complicated by anti-E alloimmunization. *Obstet Gynecol* 2005; **105**: 24-8.
- 108) Samson D, Mollison PL. Effect on primary Rh-immunization of delayed administration of anti-Rh. *Immunology* 1975; **28**: 349.
- 109) Okwundu CI, Afolabi BB. Intramuscular versus intravenous anti-D for preventing Rhesus alloimmunization during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Jan 31; **1**: CD007885.
- 110) Canadian Task Force on Preventive Health Care. The canadian guide to clinical preventive health care. Screening for D (Rh) sensitization in pregnancy. Canadian Task Force on Preventive Health Care, 1994. Disponibile all'indirizzo web: <http://canadiantaskforce.ca/guidelines/red-brick-1994-guidelines/>. Ultimo accesso 19/04/2014.
- 111) Calizzani G, Lanzoni M, Candura F, et al. Istituto Superiore di Sanità. Rapporti Istituzionali 12/53. Analisi della domanda dei principali medicinali plasmaderivati in Italia. Anni 2007-2011. ISSN 1123-3117.

- 112) Pollack W, Ascari WO, Kochesky RJ, et al. Studies on Rh prophylaxis: 1. Relationship between doses of anti-Rh and size of antigenic stimulus. *Transfusion* 1971; **11**: 333-359.
- 113) Sebring ES, Polesky HF. Fetomaternal hemorrhage: incidence, risk factors, time of occurrence, and clinical effects. *Transfusion* 1990; **30**: 344-57.
- 114) Zipursky A. Rh haemolytic disease of the newborn-the disease eradicated by immunology. *Clin Obstet Gynecol* 1977; **20**: 759-72.
- 115) Ness PM, Baldwin ML, Niebyl JR. Clinical high-risk designation does not predict excess fetal-maternal haemorrhage. *Am J Obstet Gynecol* 1987; **156**: 154-8.
- 116) Liembruno GM, D'Alessandro A, Rea F, et al. The role of antenatal immunoprophylaxis in the prevention of maternal-foetal anti-Rh(D) alloimmunisation. *Blood Transfus* 2010; **8**: 8-16.
- 117) Committee for Proprietary Medicine Products. Notes for guidance: core summary of product characteristics for human anti-D immunoglobulin I.M. III/34463/92-EN. Brussels:Co-ordinating European Council; 1994. Disponibile all'indirizzo web: <http://www.share-pdf.com/e9b5b651b3644dffbd50b7450415af44/The%20Use%20Of%20Anti-D%20Immunoglobulin%20For%20Rhesus%20D%20Prophylaxis.pdf>. Ultimo accesso 22/04/2014.
- 118) *Standards for blood banks and transfusion services*. 27th ed. Bethesda: AABB; 2011.
- 119) Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear. *Klin Wochenschr* 1957; **35**: 637-8.
- 120) Salama A, David M, Wittmann G, et al. Use of gel agglutination technique for determination of fetomaternal haemorrhage. *Transfusion* 1998; **38**: 177-80.
- 121) Sebring ES, Polensky HF. Detection of fetal-maternal hemorrhage in Rh immune globulin candidates. A resetting technique using enzyme-treated Rh2Rh2 indicator erythrocytes. *Transfusion* 1982; **22**: 468-71.
- 122) Nance SJ, Nelson JM, Arndt PA, et al. Quantitation of fetal-maternal haemorrhage by flow cytometry. A simple and accurate method. *Am J Clin Pathol* 1989; **91**: 288-92.
- 123) Johnson PR, Tait RC, Austin EB, et al. Flow cytometry in diagnosis and management of large fetomaternal haemorrhage. *J Clin Pathol* 1995; **48**: 1005-8.
- 124) Austin E, Bates S, de Silva M, et al. Guidelines for the Estimation of Fetomaternal Haemorrhage. BCSH 2009: 1-23. Disponibile all'indirizzo web: http://www.bcshguidelines.com/documents/BCSH_FMH_bcsh_sept2009.pdf. Ultimo accesso 19/04/2014.
- 125) Judd WJ, Luban NLC, Ness PM, et al. Prenatal and perinatal immunohematology: recommendations for serologic management of the fetus, newborn infant, and obstetric patient. *Transfusion* 1990; **30**: 175-183.

- 126) Mollinson PL, Engelfreit CP, Contreras M. (b1997) Dispersal of fetal cells after delivery. In: *Blood Transfusion in Clinical Medicine* 10th edition Blackwell Oxford. p.318.
- 127) Giannina G, Moise K, Dorman K. Simple method to estimate volume for fetal intravascular transfusion. *Fetal Diag Ther* 1998; **13**: 94-7.
- 128) Scheier M, Hernandez-Andrade E, Carmo A, et al. Prediction of fetal anemia in rhesus disease by measurement of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; **23**: 432-6.
- 129) Liumbruno G, Bennardello F, Lattanzio A, et al. Recommendations for the transfusion of red blood cells. *Blood Transfus* 2009; **7**: 49-64.
- 130) Alcock GS, Liley H. Immunoglobulin infusion for isoimmune haemolytic jaundice in neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; **3**: CD003313.
- 131) Smits-Wintjens VEJ, Walther FJ, Rath ME, et al. Intravenous immunoglobulin in neonates with Rhesus Hemolytic disease: a randomized controlled trial. *Pediatrics* 2011; **127**: 680-686.
- 132) Monpoux F, Dageville C, Maillotte AM, et al. Immunoglobulines polyvalentes intraveineuses et ictère neonatal par allo-immunisation érythrocytaire. *Arch Pediatr* 2009; **16**: 1289-94.
- 133) Demirel G, Akar M, Celik IH, et al. Single versus multiple dose intravenous immunoglobulin in combination with LED phototherapy in the treatment of ABO hemolytic disease in neonates. *Int J Hematol* 2011; **93**: 700-703.
- 134) Liumbruno GM, Bennardello F, Lattanzio A, et al. Recommendations for the use of albumin and immunoglobulins. *Blood Transfus* 2009; **7**: 216-34.
- 135) Liumbruno GM, Bennardello F, Lattanzio A et al. Italian Society of Transfusion Medicine and Immunohaematology (SIMTI) Working Party. Recommendations for the transfusion management of patients in the peri-operative period I. The pre-operative period. *Blood Transfus* 2011; **9**: 19-40.
- 136) Liumbruno GM, Bennardello F, Lattanzio A et al. Italian Society of Transfusion Medicine and Immunohaematology (SIMTI) Working Party. Recommendations for the transfusion management of patients in the peri-operative period II. The intra-operative period. *Blood Transfus* 2011; **9**: 189-217.
- 137) Liumbruno GM, Bennardello F, Lattanzio A et al. Italian Society of Transfusion Medicine and Immunohaematology (SIMTI) Working Party. Recommendations for the transfusion management of patients in the peri-operative period III. The post-operative period. *Blood Transfus* 2011; **9**: 320-35.
- 138) Liumbruno G, Bennardello F, Lattanzio A, et al. Italian Society of Transfusion Medicine and Immunohaematology (SIMTI) Working Party. Recommendations for the transfusion of plasma and platelets. *Blood Transfus* 2009; **7**: 132-50.

- 139) British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the use of platelet transfusions. *Br J Haematol* 2003; **122**: 10-23.
- 140) Schiffer AC, Anderson KC, Bennet CL, et al. Platelet transfusion for patients with cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2001; **19**: 1519-38.
- 141) Superior Health Council. Guidelines for the transfusion of platelets (SCH 8068); 2005. Disponibile all'indirizzo web: <http://www.health.belgium.be/eportal/SearchResults/index.htm>. Ultimo accesso 19/04/2014.
- 142) Judd WJ. Scientific Section Coordinating Committee of the AABB. Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohematology, revisited. *Transfusion* 2001; **41**: 1445-52.

