

## NUEVA TÉCNICA DE DIAGNÓSTICO PRENATAL POR MULTIPLEX RT-PCR PARA ESTUDIO DEL RHD Y SRY FETAL EN SANGRE MATERNA. ESTUDIO DE 2.127 GESTANTES. BENEFICIOS CLÍNICOS Y ECONÓMICOS

P. Noguero<sup>1</sup>, H. Macher<sup>2</sup>, N. Rodríguez<sup>1</sup>, J.F. Domínguez<sup>1</sup>, M. Carmona<sup>1</sup>, J. Martín<sup>1</sup>, J.M. Guerrero<sup>2</sup>, J.A. Pérez Simón<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Gestión de Hematología. <sup>2</sup>Banco de Sangre. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

**Introducción:** El ADN fetal circula libre en suero de la madre desde la 6ª semana hasta 16 minutos postparto. La aplicación prenatal más establecida es el estudio del gen RHD fetal en gestantes RhD negativas (D-) con objeto de racionalizar la profilaxis anti D prenatal en las portadoras de fetos RhD negativos y evitar seguimiento y pruebas complementarias en las inmunizadas por anti D. Siguiendo el protocolo de Bristol, extraemos automáticamente ADN del plasma materno y amplificamos secuencialmente por RT-PCR dos genes RHD y uno del SRY. Posteriormente modificamos la técnica por RT-PCR multiplex disminuyendo costos y tiempos de respuesta y posibilitando su automatización para poder controlar nuestra población de 9000 gestantes anuales de las que el 20% son D-. Valoramos beneficios clínicos y económicos.

**Objetivos:** 1. Desarrollo y estudio de sensibilidad y especificidad de ambas técnicas. 2. Aplicación a todas las gestantes D-. Valoración costo beneficio.

**Metodología y población:** Extraemos automáticamente el ADN plasmático a 134 gestantes D-, con MagNa Pure Compact Instrument (Roche Diagnostics). Realizamos PCR (Polimerasa Chain Reaction) cualitativa a tiempo real, para exones 5 y 7 por separado, del gen RHD y el gen SRY (LightCycler System, Roche). Se eligen los exones 5 y 7 porque se eliminan con más frecuencia en las recombinaciones parciales de RHD y RHCE. Optimizamos el proceso realizando PCR-T multiplex con LightCycler® 480 Real-Time PCR Instrument (Roche Diagnostics) en placas de 96 pocillos para 100 pruebas. Comparamos los resultados por ambas técnicas en 134 muestras. Aplicamos la técnica multiplex a 2127 gestantes D- en el control de la 28 semana previo a la profilaxis preparto, y en 10 mujeres inmunizadas, a partir de la semana 10.

**Resultados:** 1. La concordancia de ambos métodos es 100%. 2. Sobre 1009 partos la sensibilidad de Multiplex es del 100%, especificidad 98,2, valor predictivo positivo 98,9, valor predictivo negativo 100%. Porcentaje de falsos negativos 0%. 3. 815 gestantes con fetos negativos no han precisado profilaxis. Cinco inmunizadas de alto riesgo han resultado claramente portadoras de fetos D negativos ya en la 10ª semana. 4. La valoración de ahorro total en nuestro medio de 54.000 euros.

**Conclusiones:** A) La sensibilidad, seguridad y la rapidez de la técnica Multiplex facilita su aplicación a una gran población y es compatible con la automatización. B) Esta técnica evita administrar la gammaglobulina preparto, medicamento de origen humano, cuando el feto es negativo, hace innecesario el estudio de la pareja y es incruenta para el feto. C) Las inmunizadas con fetos negativos han tenido una gestación tranquila sin controles ni pruebas. En los casos de fetos D positivos, la velocidad de la arteria cerebral media fetal ha detectado tempranamente la existencia de anemia y nos ha permitido adecuar la transfusión intraútero. El seguimiento en centro especializado es clave para este tratamiento. D) El HU Virgen del Rocío es el único en la sanidad andaluza que dispone de esta prueba y el primero en desarrollar la técnica Multiplex. E) Su utilización ha supuesto en nuestras manos un considerable ahorro económico.