

11226 3

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

JEFATURA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION

HOSPITAL GENERAL DE ZONA II No1

MEXICALI, B.C.

CURSO DE ESPECIALIZACION EN MEDICINA FAMILIAR

HOSPITAL GENERAL DE ZONA II No1

**"ISOINMUNIZACION MATERNO FETAL:
SU DIAGNOSTICO CON MICROMETODO"**

TESIS DE POSTGRADO

DR. HECTOR GARCIA RODRIGUEZ

MEXICALI, B.C.

**TESIS CON
FALLA DE CUBRIR**

ENERO 1985





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

I.- INTRODUCCION.....	1-3
II.- MARCO TEORICO.....	4-18
1.-Macro, Micro y Ultramicrométodos.....	4
1.1: Generalidades. 1.2:Toma de la muestra.	
2.- Isoinmunización maternofetal.....	8
2.1:Generalidades sobre ictericia en el recién nacido. 2.2:Eritroblastosis fetal (anemia hemolítica de el recién nacido).	
III.- OBJETIVOS.....	19-20
1.- Objetivo general.....	19
2.- Objetivos específicos.....	19
IV.- HIPOTESIS.....	21-22
V.- MATERIAL Y METODOS.....	23-39
1.- Descripción general.....	23
2.- Determinación de Bilirrubinas.....	25
2.1:Generalidades sobre el método.2.2:Fundamentos.	
2.3:Material y reactivos. 2.4:Método.	
3.- Determinación de Sodio y Potasio.....	29
3.1:Generalidades sobre el método.3.2: Fundamento.	
3.3:Material y aparatos.3.4:Método.	
4.- Determinación de Glucosa.....	32-33
4.1:Generalidades. 4.2:Fundamento.4.3:material y aparatos.4.4: Técnica	

5.-Prueba de Coombs directa.....	33
5.1:Generalidades.5.2:Fundamento.5.3:Material y Mé todos.	
6.- Determinación de grupo sanguíneo.....	35
6.1:Generalidades. 6.2:Fundamento.6.3:Material y a paratos.6.4:Método.	
7.- Biometría hemática completa.....	36
7.1: Generalidades.7.2:Fundamento.7.3:Material y _ métodos.	
VI.- RESULTADOS.....	40-49
VII.- CONCLUSIONES.....	50-51
VIII.- ANALISIS.....	52-55
IX.- SUGERENCIAS.....	56-56
X.- BIBLIOGRAFIA.....	57-59

I.- INTRODUCCION.

Desde hace mucho tiempo, los Médicos de todas las ramas se han venido interesando en el estudio de la ictericia, y para tal efecto, se han valido de una serie de investigaciones paraclínicas, que lo guíen en el diagnóstico de la patología que en un momento dado esté causando éste signo y así poder establecer una terapéutica adecuada y oportuna.

Así, estos estudios (laboratorio, Rayos-X, Ultrasonido, Eco_sonografía, etc.) han venido adoptando un papel cada vez más importante en el diagnóstico etiológico de la ictericia, y sus técnicas, unas veces sofisticadas, otras disponibles en cualquier unidad hospitalaria, pero siempre de utilidad prácticamente imprescindible, deben estar al alcance de la práctica profesional de quiénes enfrentan este tipo de problemas clínicos; En la actualidad no es justificable basar un diagnóstico etiológico de la ictericia, ni valorar la evolución de la misma, tan solo con los hallazgos de la clínica: Es esencial contar con un adecuado apoyo de los auxiliares del diagnóstico, sin perder de vista, claro está que la clínica sigue jugando un papel central en toda evaluación Médica.

Ahora bien, en nuestra unidad, en el servicio de recién nacidos, la ictericia es el evento que más apoyo requiere de los auxiliares de diagnóstico, específicamente del laboratorio . De las causas de ictericia, sin duda alguna es la Isoinmunización materno-fetal, la que requiere que los controles seriados sean realizados lo más frecuentemente posible, por lo que las unidades hospitalarias que manejan dicho tipo de pacientes deben contar con un adecuado apoyo del laboratorio , y no se justificaría en modo alguno que la nuestra fuese la excepción .

Para realizar estas determinaciones de laboratorio, se han desarrollado técnicas para los pacientes adultos, que en el momento de adaptarlas a pacientes recién nacidos resultan inadecuadas.

La necesidad de muestras seriadas por un lado, y el volumen de la muestra necesariamente restringido, por otro, han favorecido para que desde 1930, se hayan investigado técnicas de micro-método (1), para determinaciones sanguíneas en pacientes pediátricos y que estas sean utilizadas rutinariamente desde hace muchos años, en algunos centros hospitalarios de nuestro país:

En los Hospitales de Ginecología y Obstetricia y Pediatría del Centro Médico Nacional del IMSS desde 1970 y en el Centro Hospitalario "20 de Noviembre" del ISSSTE, por citar algunos ejemplos (2,3).

En nuestro hospital, a pesar de la creciente necesidad del servicio de Pediatría de contar con un laboratorio que realice técnicas de micrométodo, se siguen practicando técnicas de macrométodo, con el consecuente perjuicio en la atención de el recién nacido por todo lo que esto entraña.

Dadas estas condiciones, es decir, la existencia de técnicas de laboratorio de micrométodo de confiabilidad ampliamente probada y la necesidad no satisfecha en nuestra unidad de contar con tales técnicas, me pareció trascendente presentar este trabajo, con el cuál sinceramente espero poder contribuir para que se complementen en nuestro laboratorio técnicas de micrométodo en forma rutinaria con el lógico beneficio de los recién nacidos que en este servicio se atienden.

II.- MARCO TEORICO

1.- Macro, Micro y ultramicrométodos.

1.1: Generalidades:

Las determinaciones químicas realizadas en el laboratorio se han clasificado, según el volumen requerido para procesar__ las, en micrométodo, macrométodo y ultramicrométodo.(4)

Las técnicas de ultramicrométodo son aquéllas que requieren pa__ ra ser procesadas, alíquotas de .01 ml o menos para una deter__ minación dada. Por técnicas de micrométodo entendemos a aqué__ llas que requieren volúmenes que fluctúen entre .01 y .1 ml pa__ ra ser procesadas, mientras que al hablar de macrométodo nos __ estamos refiriendo a aquéllas técnicas que emplean mas de .1 __ ml para ser evaluadas.

Las técnicas de ultramicrométodo requieren, las más de las ve__ ces de personal altamente calificado y de aparatos con los __ que no contamos en la unidad, por lo que queda fuera de el al__ cance de nuestro laboratorio.

Las técnicas de micrométodo tienen la gran ventaja de que en su mayoría se pueden realizar por el personal y con los apa__ ratos habitualmente disponibles en los laboratorios que tra__ bajan rutinariamente macrotécnicas, con la diferencia que las

muestras por ser de menor volúmen cuando se analizan por microtécnica se obtienen mediante punción capilar en el talón, presentando las siguientes ventajas sobre el macrométodo:(5)

a) Menor incidencia de anemia iatrógena porque el volúmen requerido para cada muestra es menor.

b) Menos incidencia de accidentes graves en el recién nacido, atribuibles directamente a la toma de muestras que para macrotécnicas se realiza a "ciegas", casi siempre de vena o arteria femorales vena yugular interna o arteria carotídea. (espasmo arterial reflejo, punción de la cúpula pleural reflejo vago-vagal, hematómas cervicales y crurales).(5)

c) Mejor seguimiento de la evolución de los pacientes - ya que la maniobra de toma de muestras, no sólo es más inocua sino que también es más fácil, por lo que pueden solicitarse controles más a menudo.

d) Igual confiabilidad, ya que si bien, las técnicas de macrométodo han demostrado ser confiables (6), las técnicas de micrométodo han demostrado ser tan confiables (7) como las anteriores , y en algunas ocasiones, como en el caso de

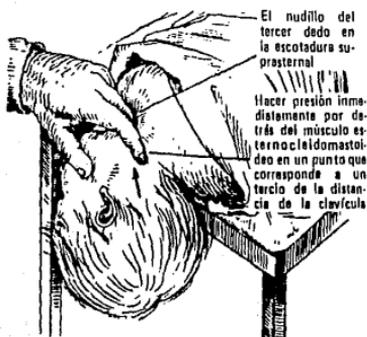
las bilirrubinas, las microtécnicas ofrecen mas confiabilidad estadística (8).

1.2: Toma de la muestra en micrométodo.

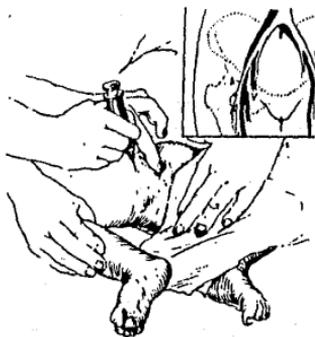
Como expresamos anteriormente, la toma de muestra generalmente se hace de el talón de el recién nacido puncionandolo con una "lanceta" y colocando en el sitio de la punción la punta o extremo de un capilar, generalmente de 400 micras, heparinizado, para que la muestra sanguínea suba por capilaridad. Al llenarse el capilar, el extremo opuesto del mismo se sella con plastilina para trasladarse a el laboratorio, en donde se aplicará lacre al capilar para poder centrifugarlo. Una vez lacrado y centrifugado se corta con una lima en el sitio de separación del sedimento eritrocitario y el sobrenadante sérico para tomar la muestra directamente de el capilar. En cuanto a el recién nacido puncionado basta colocar un pequeño algodón con alcohol en el sitio puncionado y cubrir todo el talón con una gasa.

Todo este procedimiento se facilita si previamente a la punción se calienta con una bolsa con agua a 40°C la región que piensa puncionarse.

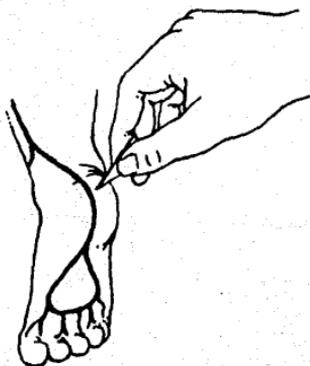
Dibujo 1.- Diferentes Técnicas de Obtención de muestras para
Micro y Mácrometodo.



Punción de la arteria
Carótida Interna.



Punción de la arteria y
Vena femorales.



Punción Capilar.

2.- Isoinmunización maternofoetal.

2.1: Generalidades sobre ictericia en el recién nacido:

Antes de iniciar a hablar acerca de el tema que nos ocupa (Isoinmunización maternofoetal) creemos importante mencionar algo acerca sobre la ictericia en el periodo neonatal. Se entiende por tal término a la coloración amarillenta de los tegumentos debida a la elevación de la bilirrubina en la sangre. En adultos y niños mayores esta coloración se observa cuando la concentración sérica de bilirrubina es mayor de 2 Mg X 100 ml, mientras que en el recién nacido no se aprecia sino hasta que dicha concentración excede de los 5 Mg X 100 ml. Es uno de los signos mas comunes en el recién nacido (9).

En cuanto a la clasificación etiológica de la ictericia en el periodo neonatal existen varios criterios. Presentaremos en este trabajo, dos de las mas comunmente aceptadas, la primera en base al mecanismo metabólico alterado (10) y en segundo de acuerdo al periodo de aparición (11).

Cuadro 1. FACTORES DE DIVERSAS ETAPAS DEL METABOLISMO DE LAS BILIRRUBINAS QUE INTERVIENEN EN LA ETIOLOGIA DE LA ICTERICIA.

Fisiológicos.	Hemólisis.	Conjugación de Bilirrubina.	Unión Alb. bilirrubina	Exc. de Bil. conjugada.
Velocidad de destrucción del GR aumentada (*)	Exceso de sangre recibido de la placenta	Hipoxia. Hipoglicemia Hipotermia Hipotiroidismo.	Acidosis.	Hepatitis viral bacteriana y parasitaria o por agentes tóxicos.
Inmadurez hepática (deficiencia transitoria de glucuronil transferasa y de ligandinas Y y Z	Incompatibilidad ABO, Rh y otros sistemas	Inhibición de glucuronil transferasa por la leche materna (pregnana-3-alfa-20 Betadiol)	Medicamentos: Sulfas, salicilatos, cloranfenicol, benzodiazepinas, estrógenos maternos.	Atresia de Vías biliares
Actividad incrementada de la Beta glucuronil transferasa.	Hemorragias: Cefalohematomas, equimosis, de glución de sangre materna.	Griggler y Najjar I y II.	Acidos grasos libres	Colestasis intrahepática.
* se destruyen 1.4% de los GR cada día y cada Gramo de Hb produce 35 Mg de bilirrubina.	Anomalías congénitas del GR (esferocitosis Cel. falciformes, etc)		Hiperosmolaridad	
	Deficiencia congénita enzimática: G-6-Pdes hidrogenasa, hexocinasa, etc.		Hipoalbuminemia	
	Vitamina-K			
	Infección.			

Cuadro 2.- CLASIFICACION DE LA ICTERICIA NEONATAL SEGUN SU

PERIODO DE APARICION.

Ictericia Neonatal temprana
(Primer semana de vida)

Ictericia Neonatal Tardía
(Segunda a cuarta semanas)

Ictericia Fisiológica.
Isoinmunización maternofo-
tal.
Esferocitosis hereditaria.
Enfermedad hemolítica here-
ditaria no esferocítica.
Eliptocitosis hereditaria.
Anemia de cuerpos de Heinz
en el recién nacido.
Infecciones (sífilis congé-
nita, sepsis, Toxoplasmo-
sis, enfermedad de inclu-
sión citomegálica, IVU, -
Rubeola, Herpes simple).
Hemorragias en espacios ce-
rrados, hematomas.
Picnositosis.
Deficit enzimático de G6P
deshidrogenasa.
Ingestión materna de vita-
mina K y administración -
excesiva de vitamina K en
el recién nacido.
Novobiocina.
Hipoxia, Hipoglicemia.
Fetopatía diabética.
SDRP del recién nacido.

Atresia congénita de los con-
ductos intra y extrahepáticos.
Hepatitis Neonatal.
Obstrucción biliar debida a -
Síndrome de bilis espesa.
Ictericia familiar no hemolít-
tica (Síndrome de Cligger y -
Najjar).
Estenosis pilórica.
Cretinismo.
Varios:
 Enfermedad de Gilbert,
 Síndrome de Dubin-Johnson, Sí-
 ndrome de Rottor-Schiff.

Recién nacidos alimentados al
seno materno.

Para los criterios diagnósticos, los problemas a que da lugar la ictericia en el recién nacido giran alrededor de dos puntos principales (12): La magnitud de las concentraciones séricas de bilirrubina y su origen, los cuáles obviamente se relacionan entre sí. La magnitud se juzga relacionando la tasa de bilirrubina circulante con la edad de el paciente. Se establece diagnóstico de hiperbilirrubinemia cuando se cumple uno de los siguientes criterios (13):

- Mas de 4 Mg X dl de BI en sangre de cordón umbilical -
- Más de 10 Mg X dl de BI en las primeras 24 Horas de vida -
- Mas de 13 Mg X dl de BI en las primeras 48 Horas de vida -
- Mas de 15 Mg X dl de BI a cualquier edad -

La existencia de hiperbilirrubinemia obliga a la vigilancia continua de el neonato y a su estudio clínico y de laboratorio en forma repetida para poder establecer las causas de hiperbilirrubinemia y el tratamiento aplicable.

La exploración física debe ser completa buscando intencionalmente signos y síntomas que aclaren el diagnóstico, haciendo énfasis en la búsqueda de datos de anemia (palidez, taquicardia), y visceromegalias tales como la hepática y la esplénica,

hemorragias cutáneas o viscerales, lesiones del sistema nervioso central que aunado a la ictericia , orientarán al diagnóstico adecuado. Habrá que realizar pruebas específicas orientadas a determinar la etiología de éste signo.

En cuanto a las pruebas de laboratorio consideradas básicas, destacan la biometría completa, la cuenta de reticulocitos, la dosificación de bilirrubinas séricas en forma seriada (cada 6 a 8 horas), clasificación de los grupos sanguíneos en los sistemas ABO y Rh del niño, de la madre y del padre y determinación de anticuerpos maternos, y la prueba de Coombs directo e indirecto.(14)

2.2: Eritoblastosis fetal (Anemia hemolítica del recién nacido, por isoimmunización materno-fetal).

Este padecimiento es una enfermedad del recién nacido y del feto, caracterizadas por una anemia hemolítica debida a incompatibilidad entre el grupo sanguíneo de la madre y de su descendiente. Esta enfermedad recibe el nombre de Eritoblastosis Fetal, debido a la frecuencia de elevación de elementos rojos nucleados en la sangre periférica del recién nacido, que proceden de la activa proliferación existente en la médula ósea, el bazo y el hígado, como mecanismo compensador

de la hemólisis (15).

Cierto número de agentes con capacidad para lesionar los glóbulos rojos, pueden originar su destrucción prematura; entre los mas claramente definidos, tenemos a los anticuerpos asociados a la anemia hemolítica de origen inmunológico. Una característica de este grupo de enfermedades, es su positividad a la prueba de Coombs, que detecta la presencia de Inmunoglobulinas sobre la superficie de el hematie.

Los glóbulos rojos humanos, contienen un complejo sistema de antígenos genéticamente relacionados, entre los que destacan los sistemas ABO, Rh (CDE/cde), Kell, Duphy, Kidd, Lutheran, P, M, N, S y Cw. Cuando el feto posee en su membrana eritrocitaria determinantes antigénicos distintos a los de su madre, en ciertos momentos críticos (parto, alumbramiento Cesárea, aborto, LUI), cierta cantidad de eritrocitos penetra en la circulación materna y despierta la respuesta inmunológica con la consecuente aparición de anticuerpos en la circulación materna, con especificidad contra la determinante antigénica contra la cuál fueron elaborados y que de ser IgG pueden atravesar la barrera placentaria en embarazos posteriores y provocar hemólisis en el producto. Esta hemólisis a

celerada en el feto provoca anemia, por un lado, e hiperbilirrubinemia, por otro, ya que el exceso de Hem liberado por la hemoglobina no puede ser conjugado a una velocidad adecuada por la glucuronil transferasa hepática con el consecuente aumento de la bilirrubina indirecta o fracción no conjugada de la misma.

Los antígenos mas comúnmente relacionados con esta entidad son el antígeno D perteneciente al sistema Rh y después los antígenos A y B, pertenecientes al sistema ABO, aunque hay algunos autores que opinan que es más frecuente la Isoinmunización materno-fetal a este sistema (16).

El diagnóstico se basa en los antecedentes maternos (productos anteriores ictericos, muertes fetales, hidrops fetalis, transfusiones previas con o sin reacciones postransfusionales, gestaciones, abortos, partos, cesáreas, embarazos molares, etc, etc) grupos sanguíneos en los sistemas ABO y Rh de la madre, el padre y el recién nacido, pruebas de Coombs directo e indirecto positivos, anemia, hiperbilirrubinemia no conjugada predominante y progresiva, asi como una reti

culocitosis y los hallazgos clínicos, que además de la ictericia suelen ser tan solo hepato y esplenomegalia inconstantes y en relación con la severidad de el proceso hemolítico.

El diagnóstico prenatal de esta entidad se logra cuando aunado a los antecedentes y a falta de éstos cuando la combinación de los grupos sanguíneos de la madre y el padre sean compatibles con esta entidad, se encuentra una prueba Indirecta de Coombs positiva en el plasma materno. Cabe mencionar que cuando esta prueba de Coombs indirecta es positiva a diluciones 1:16 o más está indicada la cuantificación de bilirrubina en el líquido amniótico a través de la medición de su densidad optica con la prueba de Liley.

En cuanto al tratamiento prenatal, que escapa a las pretensiones de este trabajo, baste mencionar, que puede tomarse una conducta expectativa, inducir el parto o realizar transfusiones in Utero, según los resultados de la prueba de Liley (17) quién agrupa a este tipo de pacientes en uno de cuatro grupos (A a D) de acuerdo a la edad gestacional y la concentración de bilirrubina en el líquido amniótico.

Sobre el tratamiento postnatal hay que recordar que los anticuerpos maternos que logran atravesar la barrera placentaria continúan en la membrana de los eritrocitos o en la circulación fetal después de el nacimiento y que tienen una vida promedio de 21 días es de esperarse que llegado el momento de máxima hemólisis la anemia y la hiperbilirrubinemia mejoren espontáneamente, pero deberán vigilarse estrechamente ambos parámetros para evitar complicaciones, específicamente hidrops fetal y Kernicterus, por lo que las medidas realizadas con fines terapéuticos no son tendientes a impedir la isoimmunización sino a disminuir la hemólisis y evitar la anemia grave y las lesiones irreversibles de el Sistema Nervioso Central por depósito de pigmentos no conjugado de la bilirrubina en los núcleos grises. Para tal efecto se cuenta con dos recursos: La fototerapia y la exanguíneo transfusión. La primera actúa oxidando el primer compuesto del catabolismo del grupo hem, de una molécula tetrapirrólica en dos dipirrólicos, lo que favorece su conjugación hepática. La segunda actúa aportando hemoglobina a la circulación y removiendo de la misma anticuerpos y bilirrubina.

Cuadro 3. INDICACIONES DE EXANGUINEO TRANSFUSION TOMANDO EN CUENTA LAS CIFRAS DE BILIRRUBINA Y LA EDAD GESTACIONAL.

Grupos	Edad gest.	Cifras de Bilirrubina Indirecta (Mg%)	Padecimiento
I.-	Pretérmino.	Más de 13 Mg (1as 48 Hrs)	-----
		Más de 18 Mg (cualquier edad).	-----
II.-	Pretérmino.	Mas de 10 Mg (1as 48 Hrs).	Isoinmunización mater nofetal.
		Mas de 10 Mg (cualquier edad).	Insuf. resp., desnu trición In Utero.
		Mas de 15 Mg (Cualquier edad).	Isoinmunización mater nofetal.
III.-	Término	10-14 (1as 24 horas)	Isoinmunización mater nofetal.
		15-19 (1as 48 horas)	
		Mas de 20 (cualquier edad)	
IV.-	Término	15-19 (1as 48 horas)	Causa dif. a la Isoin munización metrnofetal
		Mas de 20 Mg (Cualquier edad)	-----
V.-	Pretérmino.	Incrementos mayores de .25 Mg/hr en los grupos I y II.	Mismos que en los gru pos I y II
VI.-	Término	Incrementos mayores de .50 Mg/hr en los grupos III y IV.	Mismos que en los gru pos III y IV
VII.-	Pretérmino Término.	Cualquiera	Signos clínicos de Ker nicterus.
VIII.-	Pretérmino Término	20% menos que las cifras de los grupos I, II, III y IV.	Hipoxia, Acidósis, dia rea, bronconeumonía, me ningitis, septicemia, hipotermia o hipoglice mia.

Cuadro 4. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE LA ISOINMUNIZACION MATERNOFETAL.

Variab <u>l</u> es	Rh	Subgrupos de Rh	ABO
Grupo Sanguíneo			
Madre	Negativo	Positivo	O
Niño	Positivo	Negativo	A-B
Tipo de Ac.	Incompleto (7S)	Incompleto (7S)	Inmune (7S)
Aspectos Clínicos:			
Aparición al 1er nacimiento	5%	5%	40 a 50%
Severidad predecible en sig. Embrazos.	Frecuente	Frecuente	No
Nacidos muertos o con hidrops fetalis	Frecuente	Raro	Raro
Anemia severa	Frecuente	Frecuente	Rara
Grado de Ictericia	+++	+++	+
Hepato y espleno megalia	+++	+++	+
Hallazgos de laboratorio:			
Coombs directo	Positivo	Positivo	Negativo
Ac Maternos	Siempre presentes	Siempre presentes	Anti-A 1:1024 Anti-B 1:512

III.- OBJETIVOS.

1.- Objetivo General:

Al finalizar el presente trabajo, pretendemos que se utilicen en forma rutinaria técnicas de Micrométodo para el diagnóstico y evolución de la Isoinmunización materno-fetal en recién nacidos de nuestra unidad.

2.- Objetivos específicos:

Al finalizar el presente trabajo, demostraremos que con los recursos humanos y materiales actualmente disponibles en nuestra unidad y utilizando en el laboratorio técnicas de Micrométodo:

2.1: Es posible realizar determinaciones sanguíneas, estadísticamente confiables en relación al diagnóstico y evolución de la Isoinmunización materno-fetal en recién nacidos.

2.2: Los resultados obtenidos con este método son tan confiables como los que se obtienen con él que actualmente se emplea.

2.3: La toma de muestras reviste menos complicaciones en el

recién nacido al hacerse con este método que con el actualmente
te empleado.

2.4: Se logra un mejor seguimiento de los recién nacidos con
Isoimmunización ya que las tomas podrán ser más frecuentes.

IV.- HIPOTESIS.

1.- Con los recursos humanos y materiales actualmente disponibles en nuestra unidad, y utilizando en el laboratorio técnicas de micrométodo:

1.1: Ho: No es posible realizar determinaciones sanguíneas estadísticamente confiables en relación al diagnóstico y evolución de la Isoinmunización materno-fetal en recién nacidos de nuestra unidad.

H1: Si es posible realizar determinaciones sanguíneas estadísticamente confiables en relación al diagnóstico y evolución de la Isoinmunización materno-fetal en recién nacidos de nuestra unidad.

1.2: Ho: Los resultados obtenidos con este método son menos confiables que los que se obtienen con el método actualmente empleado.

H1: Los resultados obtenidos con este método son tan confiables como los que se obtienen con el método actualmente empleado.

1.3: Ho: La toma de muestras reviste más complicaciones en el recién nacido al hacerse con este método que con el actualmente empleado.

H1: La toma de muestras reviste menos complicaciones en el recién nacido al hacerse con este método que con el actualmente empleado.

1.4: Ho: Se dificulta el seguimiento de los recién con Isoinmunización materno-fetal ya que las tomas no pueden ser tan frecuentes.

H1: Se logra un mejor seguimiento de los recién nacidos con Isoinmunización materno-fetal ya que las tomas pueden ser más frecuentes.

V.- MATERIAL Y METODOS

1) Descripción General:

1.1 : Se registraron el tipo de determinaciones sanguíneas que el servicio del recién nacido hizo al laboratorio, en un período de 90 días, provenientes de pacientes ictericos y/o hijos - de madres Rh (-).

1.2 : Se registró y determinó que porcentaje de muestras recibidas en el laboratorio durante ese período de 90 días y provenientes del servicio de recién nacidos fueron reportados como "insuficientes" o "Inadecuadas".

1.3 : Se realizaron mediante Micrométodos y con Macrométodos , 50 determinaciones de bilirrubinas.

1.4 : Se realizaron mediante Micrométodos 50 determinaciones - de Coombs directo, grupo (ABO y Rh) y se corroboró el grupo materno en todos los casos.

1.5 : Cuando la muestra recibida en forma ordinaria fué suficiente , se realizaron BHC, Sodio, Potasio y reticulocitos .

1.6 : En el caso de las bilirrubinas, se fundamentó el micro-- método estableciendo una nueva técnica para lo cuál se elaboró un protocolo universalmente aceptado y que consistió en:

1.6.1: Preparación de reactivos.

1.6.2: Registro de lecturas en absorbancia (Densidad óptica) de un suero control de concentración conocida y ocho diferentes diluciones de el mismo.

1.6.3: Elaboración de una gráfica con los valores obtenidos en las lecturas arriba mencionadas y comprobación de su apego a la ley de Beer mediante el alineamiento de los puntos obtenidos en dicha gráfica y mediante la corroboración de todas las posibles concentraciones y lecturas de densidad óptica a través de la misma gráfica y con la fórmula:

$$\text{Conc. Px} = \frac{\text{DO Px.} \times \text{Conc. Std}}{\text{DO Std.}}$$

Donde DO= Densidad óptica; Std: Control de concentración conocida y Px: Concentración de una muestra problema.

1.6.4: Elaboración de una tabla conteniendo todas las posibles lecturas de Densidad óptica y sus correspondientes concentraciones de bilirrubinas.

2.- Determinación de Bilirrubinas.

2.1: Generalidades sobre el método: La cuantificación sérica de bilirrubinas se hizo con la técnica de Jandrossic y Graff modificada por la QFB Ofelia Falcón y el Dr. Francisco Ressa no, de el Hospital de Pediatría de el CMI.

Dado que no existían en nuestro laboratorio antecedentes de el uso de esta técnica se realizaron curvas de calibración y elaboración de tablas.

2.2: Fundamentos de el método: Se mezcla el suero con una solución de cafeína-benzoato de sodio-acetato sódico. El acetato sódico mantiene el Ph de la reacción disódica, mientras _ que la cafeína y el benzoato sódico aceleran el acoplamiento de la bilirrubina con el diazótico del ácido sulfanílico. El color de la azobilirrubina se desarrolla en 10 minutos. Se añade después una solución fuertemente alcalina para cambiar el color rojo de la azobilirrubina en azul, que puede medirse espectofotométricamente. La transformación de el pigmento en azul, incrementa la especificidad al cambiar el máximo de absorción a 600 milimicras de longitud de onda. A esta longitud, todos los pigmentos amarillos que no sean bilirrubini_

cos o pigmentos rojos y pardos, tienen una acción mínima sobre la absorbancia. La coloración al final es verde, por la mezcla de la azobilirrubina con el pigmento amarillo producido por la cafeína y el diazoreactivo. Jandrassic y Graff usaron la cafeína-benzoato sódico en lugar de el alcohol (utilizado en otras técnicas) ya que este tiende a producir una precipitación de proteínas. Por la misma razón prefirieron determinar la azobilirrubina alcalina en lugar de la ácida. La bilirrubina directa se cuantifica haciendo reaccionar en medio ácido (pH 1.5) esta substancia con el diazoreactivo y terminando el tiempo de la reacción se le agrega solución alcalina y el ácido ascórbico usado para reducir la interferencia de la bilirrubina con la hemoglobina o con otras sustancias contenidas en el suero.

El micrométodo desarrollado por el Dr. Ressano Pérez y la QFB Ofelia Falcón está basada en el método arriba descrito y en el cual el blanco contiene el suero y todos los reactivos utilizados en el tubo problema, lo cual desde el punto de vista espectofotofotométrico resulta ideal ya que las interferencias o incrementos cromogénicos originados por el com

puesto analizado serán equivalentes y se restarán durante la medición. Esto es de particular utilidad en micrométodo y reacciones de coeficiente de extinción bajos. La utilización de reactivos y suero en todos los tubos fue posible gracias a la utilización de el ácido ascórbico que inhibe totalmente el acoplamiento espontáneo de la bilirrubina indirecta.

2.3: Material y reactivos:

- Fotocolorímetro Coleman, Junior II, con celdilla para lectura de 12X75 mm.

- Reactivos :

Acido Clorhídrico 0.05 N.: Se pipetea 4.2 ml de ácido clorhídrico concentrado en un matríz aforado de 1000 ml y se lleva a la marca con agua destilada.

Acido ascórbico al 5%: Se pesan 5 gramos de ácido L-ascórbico, se disuelven en agua destilada y se afora a 100 ml (estable durante 60 días a $+ 4^{\circ}\text{C}$ en frasco ámbar).

Mezcla alcalina: Se mezclan 100 gramos de Hidróxido de Sodio y 350 gramos de tartarato de Sodio y Potasio en agua destilada y se afora a 1000 ml (estable 6 meses a temperatura ambiente).

Cafeína I.: En 500 ml de agua destilada calentada a 60°C se

colocan 75 gramos de benzoato sódico y se disuelven 50 gramos de cafeína y 125 gramos de acetato de Sodio granular, se enfría y se afora a 1000 ml con agua destilada (estable 6 meses a temperatura ambiente).

Cafeína II: Se prepara de la misma manera anotada para la cafeína I solo que el volumen final aforado es de 500 ml.

Diazo reactivo: (A): Se disuelven 5 gramos de ácido sulfanilico en 60 ml de ácido clorhídrico concentrado y se afora a 1000 ml con agua destilada (Estable indefinidamente en frasco ámbar).

Diazo reactivo (B): Diluir 1:10 una solución de nitrito de Sodio al 20% en agua destilada. Se debe preparar diariamente.

Nitrito de Sodio al 20%: Se pesan 20 gramos de Nitrito de Sodio y se disuelven en agua destilada, aforando a 100 ml. (estable por tiempo indefinido en frasco ámbar a 5°C.).

Diazo reactivo: Mezclar .03 ml de Diazoreactivo B por cada ml de diazoreactivo A (estable 30 minutos a temperatura ambiente).

2.4: Método:

BILIRRUBINA DIRECTA	BILIRRUBINA TOTAL	BLANCO
.6 Ml Hcl	1.2 Ml Cafeína I	1.2 Ml cafeína II
.2 ml Diazo reac.	.2 Ml Diazo reac	.2 ml Diazo reac.
- - - -	- - - -	.1 Ml Ac. Ascor.
.05 Ml suero Px.	.05 Ml suero Px.	.05 Ml suero Px.

REPOSAR 10 MINUTOS A TEMPERATURA AMBIENTE.

.7 Ml Mezcla de Cafeína	- - - -	- - - -
----------------------------	---------	---------

REPOSAR 20 MINUTOS A TEMPERATURA AMBIENTE.

.5 Ml Mezcla alc.	.5 Ml mezcla alc.	.5 ml mezcla alc.
-------------------	-------------------	-------------------

Leer a 600 Milimicras contra blanco de reactivos en cubetas de 12 X 75 mm y calcular la concentración en base a disco logarítmico, Ley de Beer o en tablas pre-establecidas.

3.- Determinación de Sodio y Potasio.

3.1: Generalidades sobre el método: Para las determinaciones séricas de Sodio y Potasio no se requirió de elaborar técnicas especiales para micrométodo, ya que existen en práctica en el laboratorio de nuestra unidad técnicas que con solo una pe

queña modificación en el método son aplicables a microtécnica. El método actualmente empleado en nuestra unidad utiliza .25 cc de suero problema, para una dilución con un buffer de Sterox 1:100, y nosotros, conservando la misma dilución, utilizamos .1ml de suero ya que solo preparamos 10 ml de la dilución 1:100 que se va a analizar en lugar de preparar 25 ml como actualmente se hace.

3.2: Fundamento de el método: El suero diluido es pulverizado en una llama cuya temperatura es suficiente para excitar los electrones de algunos elementos, Sodio y Potasio en este caso, a un nivel de energía superior, y al regresar a su estado original emiten radiaciones de longitud de onda característica para cada elemento siendo la intensidad de esta radiación, proporcional a la concentración de este elemento.

3.3: Material y aparatos:

Solución Estandard de calibración con 140 Meq X l de Sodio y 5 Meq X l de Potasio.

Solución de Sterox al .02% para diluir el estandard y los sueros problema.

Flamómetro de flama Coleman con filtros para Sodio y Potasio.

Cable para el flamómetro de flama.

Escalas de lectura directa para Sodio y Potasio.

3.4: Método:

Se pipetea .1 ml de suero problema en un matraz aforado de 10 ml y se lleva hasta la marca con agua destilada y deionizada.

Se pipetea .5 ml de la solución Estándar de Sodio y Potasio (140/5 Meq X l) en un matraz aforado de 50 ml y se lleva hasta la marca con agua destilada y deionizada.

Se prenden la flama y se abre la llave de paso del gas del flamómetro y se enciende la escala numérica.

Se coloca el Filtro para Sodio y se ajusta la escala a 0 con agua destilada y deionizada utilizando el atomizador de el aparato y se repite la operación utilizando la solución estándar calibrando la escala en 140.

Se atomiza después la muestra problema y se registra la lectura.

Se cambia el filtro de Sodio por el de Potasio y se repiten todas las maniobras descritas, calibrando la escala de el a parato con el estandard, en 5.

Finalmente se apaga el aparato cerrando las llaves de paso de el gas y de el aire y apagando la escala.

4.- Determinación de Glucosa.

4.1: Generalidades de el método: Para la determinación de glucosa en suero tampoco se requirió de montar técnica especial, ya que la técnica de Hultman que actualmente se utiliza en -- nuestra unidad trabaja con muestras de .1 ml, lo qué es satisfatorio para micrométodo.

4.2: Fundamento de la técnica: La Ortotoluidina reacciona es pecíficamente con las aldohexosas en solución acética calien te, para formar una mezcla en equilibrio de glicosilamina y la correspondiente base de Schiff. El color verde formado es proporcional a la cantidad de glucosa presente.

4.3: Material y aparatos:

Ortotoluidina: Se pesan 1.5 gramos de Tiourea y se agregan a 60 ml de ortotoluidina y 940 ml de ácido acético glacial.

Solución estandard de Glucosa, de concentración conocida pa__

ra calibración y control de calidad.

Fotocolorímetro.

4.6: Método: Se pipetea .1 ml de suero en un tubo de ensaye de 160 X 150 mm y se agregan 5 ml de reactivo de ortotoluidina y se mezclan. Se tapan los tubos con canicas de vidrio y se colocan en baño de agua hirviendo durante 10 minutos. Se enfrían en hielo o agua fría y se mezclan bien.

Se leen los tubos problema contra blanco de reactivos antes de 30 minutos a una longitud de onda de 630 milimicras y se calculan los resultados con disco logarítmico o con tabla e laborada según la ley de Beer.

5.- Prueba de Coombs directa (Coombs directo).

5.1: Generalidades sobre el método: Para estas determinaciones tampoco se requirió elaborar tablas ni gráficas, ya que la lectura se hace en forma directa y macroscópica. La única diferencia en cuanto al metodo actualmente empleado es que nosotros realizamos la prueba con el sedimento que "sobraba" de las muestras recibidas pra bilirrubinas y no en muestras especiales con anticuagulante.

5.2 : Fundamento de la técnica:

Los eritrocitos sensibilizados por un anticuerpo son - aglutinados por el suero antigama-globulina (suero de Coombs)

Esta reacción de ninguna manera es específica para determinar el anticuerpo responsable de una isoinmunización y se presentará positiva siempre que haya anticuerpos fijos al hematíe, sin importar la naturaleza ni especificidad de tales - anticuerpos.

5.3 : Material y Métodos:

Suero de Coombs; solución salina al .9% y centrifuga de 3500 rpm con cabeza para tubos de 12X55 mm.

Se deposita una gota de glóbulos rojos en un tubo de 12- X 55 mm. con Pipeta Pasteur y se añade la solución salina has ta lograr una mezcla homogéna de aproximadamente 20% en cen-- trífuga de 3500 rpm durante 20 segundos (lavado de eritrocitos) y se decanta el sobrenadante. Se repite la operación tres oca-- siones y la última se resuspenden los eritrocitos precipitados con dos gotas de suero de Coombs y se verifica macroscópicamen te si existe o no aglutinación después de centrifugar nuevamen te durante 20 seg. a 3500 rpm. En caso de existir aglutinación

reporta la prueba como positiva (desde granienta hasta ++++). En caso de que esto se presente, habrá que hacer diluciones seriadas de el Coombs en solución salina y reportar hasta la mayor dilución en que se aprecie aglutinación.

6.- Determinación de grupos sanguíneos (ABO-Rh).

6.1: Generalidades sobre la técnica: Las técnicas empleadas son las habituales para cualquier laboratorio y se llevan a cabo con antisueros específicos (Anti-A, Anti-B y Anti-D) y la muestra analizada no requiere toma especial, ya que se aprovechan también los eritrocitos "Sobrantes" de la centrifugación de las muestras empleadas para determinar bilirrubinas.

6.2: Fundamento de la técnica: Al poner en contacto los antisueros específicos de los sistemas ABO y Rh (D) con eritrocitos de grupos desconocidos se apreciará aglutinación cuando dichos eritrocitos cuenten con el determinante antigénico específico para cada anticuerpo.

6.3: Material y aparatos:

Sueros Anti-A, Anti-B y Anti-D

Solución Salina al .9%

Centrífuga de 3500 rpm con cabeza para tubos de 10X 75 mm.

6.4: Método: Las determinaciones de grupo sanguíneo se realizaron en tubo y no en placa como habitualmente se hace en nuestro laboratorio. Se hace una dilución de eritrocitos en solución salina aproximadamente de el 20% y se coloca una gota de esa solución en tres tubos y a cada tubo se le agregan dos gotas de cada uno de los antisueros y se centrifugan durante 30 segundos después de lo cual se verifica la aglutinación reportándose como A, B, AB u O y Rh (+) o Rh (-) según se aprecie aglutinación o no en los tubos a los que se agregó cada antisuero.

7.- Biometría hemática completa (BHC).

7.1: Generalidades sobre la técnica: Para realizar la BHC no se requieren de microtécnicas especiales y pueden utilizarse las universalmente aceptadas y que se emplean en nuestra unidad habitualmente haciendo un ajuste solo a la cantidad de anticoagulante para poder colocar menor muestra en cada tubo de ensaye. Habitualmente se diluyen .5 ml de EDTA en 4 o 5 ml de sangre y dicha proporción puede guardarse sin que exista aglutinación utilizando .05 cc de EDTA con 1.05 cc de muestra.

7.2: Fundamento de la técnica: La hemoglobina reacciona con el ferricianuro, la cual con el cianuro de Potasio forma la ciano metahemoglobina. Las soluciones de este compuesto son relativamente estables.

El hematocrito se basa en la separación de los globulos rojos y el plasma cuando es centrifugado a 12000 rpm durante 5 minutos.

Para las cuentas de leucocitos y plaquetas se aprovecha la afinidad de estos elementos por ciertos colorantes que al diluirse con una cantidad conocida de sangre y colocarse en cámaras especialmente cuadrículadas y de volúmenes también conocidos pueden darnos el número de elementos por cc de sangre.

Para la cuenta diferencial de globulos blancos, se aprovecha la capacidad que tienen para teñirse de acuerdo al pH de ciertos colorantes y así poder encontrar el porcentaje de cada tipo de leucocitos.

7.3: Material y métodos.

Anticuagulante EDTA.

Diluyente de Turk para leucocitos.

Colorante de Wright y solución amortiguadora (pH 6.4) para --

cuenta diferencial.

Solución de cianometa para hemoglobina.

Pipetas de Sahaly para hemoglobina y pipetas para leucocitos y plaquetas.

Fotocolorímetro.

7.4: Método:

7.4.1: Hemoglobina: Se colocan en un tubo de ensaye de 13 X 100 mm 5 ml de cianometa a los que se le agregan con pipeta de Sahali 0.02 ml de sangre con anticuagulante y después de 10 minutos se lee en fotocolorímetro contra blanco de reactivos en una longitud de onda de 540 milimicras en celdilla de 12 X 75 mm. Los resultados se calculan con disco logarítmico o con tablas de referencia elaboradas en base a la Ley de Beer.

7.4.2: Cuenta de Leucocitos: Para la cuenta total de estos elementos se mezclan en una pipeta para globulos blancos .5 cc de muestra y se aspira líquido de Türk hasta la marca 11, se agita 90 segundos, después de lo cual se tiran las primeras 4 gotas de esta dilución y se llena la cámara de Neubauer y se lee en microscopio óptico, en seco debil (10 X) y se cuenta el número de leucocitos contenido dentro de los cuatro cuadros grandes de la cámara y este recuento se multiplica por 50 que

nos da el número de leucocitos por cc.

7.4.3: Cuantificación de plaquetas: Se diluyen en una pipeta para glóbulos rojos .5 cc de sangre y se llevan con oxalato de amonio hasta la marca 101. Se procede igual que en la cuenta de leucocitos para cargar la cámara de Newbauer plana, se deja reposar 10 minutos en cámara húmeda y se lee en microscópio óptico con objetivo seco fuerte (40X) contando el número de plaquetas de toda la cuadrícula central y se multiplica la cifra obtenida por 2000 y se obtienen el número de plaquetas por cc.

7.4.4: Cuenta diferencial de leucocitos: Se prepara un frotis en portaobjeto con una gota de sangre y se tiñe con colorante de Wright y se lee en microscópio óptico en objetivo de inmersión (100 X) registrando el número de cada uno de los tipos de leucocitos, hasta completar 100, reportandose como el porcentaje de cada uno de ellos del total de los leucocitos.

VI.- RESULTADOS.

Cuadro 1.- SOLICITUDES RECIBIDAS EN EL LABORATORIO ENVIADAS DE EL SERVICIO DE RECIEN NACIDOS TOMADAS EN PA
CIENTES ICTERICOS Y/O PROVENIENTES DE MADRES RH
NEGATIVAS. (*)

Prueba solicitada	No.	% del total
Bilirrubinas	250	100
Grupo (ABO) y Rh	100	40
Coombs directo	100	40
Biometría hemática	75	30
Electrolitos	5	2
Glucosa	5	2
Reticulocitos	3	1.2

* En un periodo de 90 días.

FUENTE: LIBRETA DE REGISTRO DE SOLICITUDES Y RESULTADOS DE EL
LABORATORIO DEL HGZ II C/MF NO. 1, IMSS.

Cuadro 2.- SOLICITUDES RECIBIDAS EN EL LABORATORIO, ENVIADAS DE EL SERVICIO DE RECIEN NACIDOS Y REPORTADAS CO MO INADECUADAS Y/O INSUFICIENTES (*).

Muestras recibidas	No. de muestras reportadas como insuf. o inadecuadas	% del total
250	43	17.2

* En un periodo de 90 días.

FUENTE: LIBRETA DE REGISTRO DE SOLICITUDES Y RESULTADOS DE EL LABORATORIO DEL HGZ II C/ MF No 1, IMSS.

Cuadro 3.- LECTURAS ESPECTOFOTOMETRICAS PARA LA CURVA DE CALIBRACION DE BILIRRUBINAS A PARTIR DE UN SUERO CONTROL (*) DE CONCENTRACION CONOCIDA (**) REALIZADAS MEDIANTE MICROTECNICA (***).

Vol. de el Control	Vol. Alb. al 2%	Conc. de la solución	Absorbancia (D.O)
.15 ml	-----	20.7 Mg %	.553
.45 ml	.05 ml	17.5 Mg %	.467
.35 ml	.15 ml	15.0 Mg %	.400
.30 ml	.20 ml	12.5 Mg %	.333
.24 ml	.26 ml	10.0 Mg %	.2671
.18 ml	.32 ml	7.5 Mg %	.2004
.12 ml	.38 ml	5.0 Mg %	.1335
.06 ml	.44 ml	2.5 Mg %	.0667
-----	.15 ml	0.0 Mg %	.0000

* 20.7 ± 1.5 Mg %

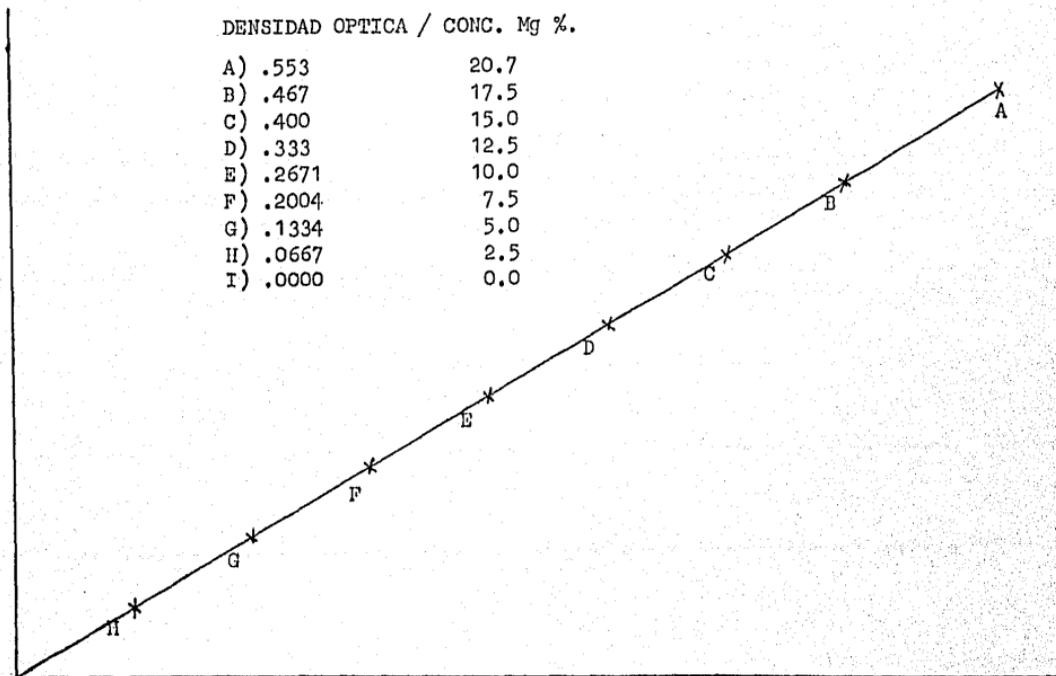
** Suero Std. de el laboratorio Merck para control de calidad

*** Técnica de Jandrassic y Graaf modificada por Ressano y Falcón.

FUENTE: Directa.

Gráfica 1.- CURVA DE CALIBRACION DE BILIRRUBINAS CON EL METODO DE JANDRASSIC

Y GRAAF A PARTIR DE LA LEY DE BEER.



- 43 -

FUENTE: Cuadro 3:

Cuadro 4.- DENSIDADES OPTICAS Y CONCENTRACIONES DE UN SUERO CONTROL (*) DE CONCENTRACION COMOCIDA (**) REALIZADAS 21 VECES CON MICROTECNICA (***).

Lec. No	Absorbancia (DO)	Conc. (Mg%)	Lec. No.	Absorbancia DO)	Conc. (Mg%)
1	.553	20.70	12	.553	20.70
2	.542	20.29	13	.534	19.99
3	.538	20.14	14	.553	20.70
4	.553	20.70	15	.553	20.70
5	.549	20.55	16	.549	20.55
6	.545	20.40	17	.545	20.40
7	.545	20.40	18	.553	20.70
8	.553	20.70	19	.542	20.29
9	.553	20.70	20	.553	20.70
10	.553	20.70	21	.557	20.85
11	.557	20.85			

* Suero Control para bilirrubinas Merck para control de calidad

** 20.7 ± 1.5 Mg %

*** Técnica de Jandrassic y Graaf, modificada por Resano y Falcón.

FUENTE: Directa.

Gráfica 2.- CURVA DE DISTRIBUCION DE LAS CONCENTRACIONES DETERMINADAS 21
VECES A UN MISMO SUERO CONTROL DE CONCENTRACION CONOCIDA.

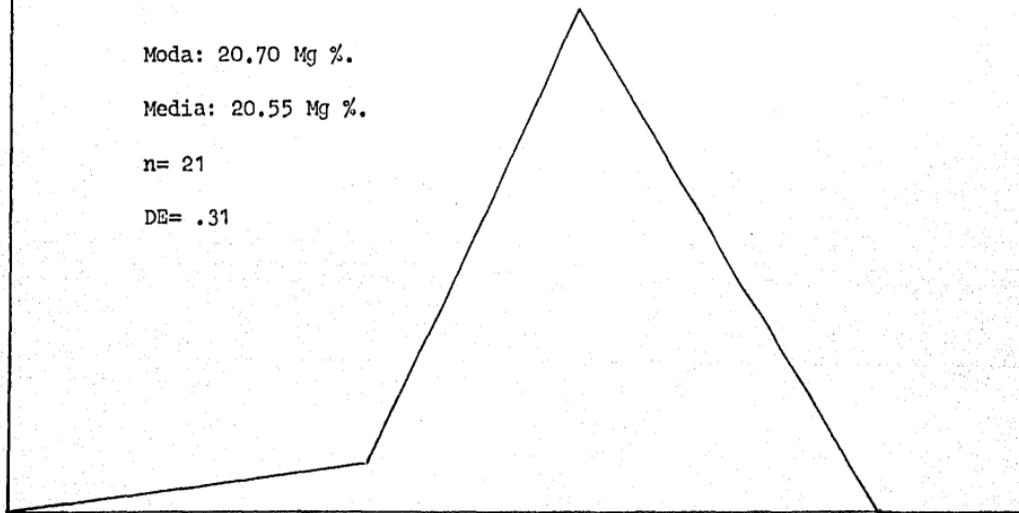
Moda: 20.70 Mg %.

Media: 20.55 Mg %.

n= 21

DE= .31

- 45 -



FUENTE: Cuadro 4.

Cuadro 6.- RESULTADOS DE DETERMINACIONES REALIZADAS MEDIANTE MICROMETODO Y COMPARACION DE CONCENTRACIONES DE BILIRUBINAS DETERMINADAS MEDIANTE MICRO Y MACROTECNICAS.

No.	Gpo y Rh materno	Gpo y Rh R/N	Coombs Direc.	K --Meq/l--	Na	Gluc Mg%	Mg %					
							BD	BI	BT	BD	BI	BT
							Microtécnica			Macrotécnica		
1.-	O (+)	A (+)	Neg.	--	--	---	1.20	10.36	11.56	1.22	10.38	11.60
2.-	O (+)	O (+)	Neg.	--	--	---	1.22	6.78	8.00	1.20	6.80	8.00
3.-	O (+)	B (+)	Neg.	--	--	---	.79	11.09	11.88	.80	11.12	11.92
4.-	O (+)	A (+)	1:8	5.1	152	43	4.55	25.05	29.60	4.6	25.08	29.68
5.-	O (+)	A (+)	Neg.	--	--	---	4.62	17.06	21.60	4.60	17.08	21.68
6.-	A (+)	A (+)	Neg.	--	---	---	.18	5.02	5.20	.14	5.05	5.19
7.-	O (-)	A (+)	1:32	4.9	149	31	1.46	22.90	24.36	1.48	22.92	24.40
8.-	A (-)	A (+)	Neg.	--	--	---	1.02	21.34	22.36	1.00	21.36	22.36
9.-	O (+)	A (+)	Neg.	---	--	---	1.46	11.42	12.88	1.48	11.40	12.88
10.-	O (+)	B (+)	Neg.	---	--	---	.80	21.60	22.40	.74	21.66	22.40
11.-	O (+)	B (+)	Neg.	--	--	---	.80	12.68	13.48	.80	12.66	13.46
12.-	AB(+)	A (+)	Neg.	--	--	---	2.02	15.50	17.52	2.00	15.52	17.52
13.-	O (-)	O (+)	Neg.	--	---	---	2.46	13.65	16.11	2.44	13.68	16.12
14.-	A (+)	AB (+)	Neg.	--	--	---	.95	12.50	13.45	.92	12.56	13.45
15.-	A (+)	B (+)	Neg.	1.00	19.00	20.00	.92	19.08	20.08	.92	19.08	20.00

No.	Gpo y Rh materno	Gpo y Rh rec nac.	Coombs direc.	K - Meg/l -	Na	Gluc Mg%	Microtécnica			Macrotécnica		
							BD	BI	BT Mg %	BD	BI	BT
16.-	O (+)	A (+)	Neg.	4.9	150	37	1.50	20.90	22.40	1.48	20.92	22.40
17.-	O (+)	A (+)	Neg.	--	--	--	2.45	16.77	19.25	2.44	16.76	19.20
18.-	O (+)	A (+)	Neg.	--	--	--	1.98	20.45	22.43	2.00	20.40	22.40
19.-	O (+)	B (+)	Neg.	--	--	--	1.48	15.30	16.78	1.48	15.32	16.80
20.-	O (-)	O (+)	1:4	5.0	153	51	1.65	18.75	20.40	1.68	18.72	20.40
21.-	O (-)	O (+)	1:4	5.0	150	36	1.18	10.07	11.25	1.20	10.04	11.24
22.-	O (+)	O (+)	Neg.	--	--	--	1.65	7.65	8.90	1.68	7.20	8.88
23.-	O (+)	A (+)	1:2	4.1	137	15	1.62	22.80	24.42	1.60	22.80	24.40
24.-	A (+)	B (+)	Neg.	--	--	--	1.71	18.70	20.41	1.68	18.72	20.40
25.-	O (-)	O (+)	1:2	5.4	156	40	1.43	18.37	20.79	2.40	18.40	20.80
26.-	O (-)	O (+)	1:2	--	--	--	1.55	12.80	14.35	1.60	12.80	14.40
27.-	O (+)	A (+)	Neg.	--	--	--	1.90	11.60	13.50	1.92	11.56	13.48
28.-	A (+)	A (+)	Neg.	--	--	--	1.85	13.35	15.20	1.84	13.36	15.20
29.-	O (+)	B (+)	Neg.	--	--	--	1.75	11.85	13.60	1.78	11.82	13.60
30.-	O (+)	A (+)	Neg.	--	--	--	1.55	17.40	18.45	1.54	17.42	18.96
31.-	A (-)	A (+)	Neg.	--	--	--	.75	11.75	12.50	.77	11.71	12.48
32.-	A (+)	A (+)	Neg.	--	--	--	1.20	14.90	16.10	1.20	14.92	16.12
33.-	O (+)	O (+)	1:2	--	--	--	1.48	16.05	17.53	1.48	16.04	17.52
34.-	O (+)	A (+)	Neg.	--	--	--	.90	15.20	16.10	.92	15.20	16.12
35.-	O (+)	O (+)	Neg.	--	--	--	.95	14.65	15.60	.92	14.68	15.60

No.	Gpo y Rh materno	Gpo y Rh rec nac	Coombs direc.	K - Meq/l -	Na	Gluc Mg%	mg %			mg %		
							BD	BI	BT	BD	BI	BT
							Micrométodo			Macrométodo		
36.-	0 (+)	0 (+)	Neg.	--	---	---	.75	2.25	3.00	.74	2.26	3.00
37.-	0 (+)	A (+)	Neg.	--	---	---	1.20	6.00	7.20	1.20	6.00	7.20
38.-	0 (+)	0 (+)	1:4	5.3	153	31	1.90	19.10	21.00	1.92	19.08	21.00
39.-	0 (+)	A (+)	Neg.	--	---	---	1.65	17.95	19.60	1.68	17.92	19.60
40.-	A (-)	A (+)	1:2	--	---	---	1.55	18.45	20.00	1.60	18.40	20.00
41.-	0 (-)	0 (+)	1:2	--	---	---	1.50	15.20	16.70	1.48	15.20	16.68
42.-	0 (+)	B (+)	Neg.	--	---	---	1.65	9.10	10.75	1.68	9.08	10.76
43.-	0 (-)	0 (+)	Neg.	--	---	---	2.00	18.45	20.45	2.00	18.40	20.40
44.-	0 (-)	0 (+)	*	5.1	143	60	1.80	19.21	21.01	1.92	19.08	21.00
45.-	0 (+)	B (+)	Neg.	--	---	---	1.25	14.65	15.90	1.20	14.68	15.88
46.-	0 (+)	0 (+)	Neg.	--	---	---	1.20	10.05	11.25	1.22	10.04	11.26
47.-	0 (+)	A (+)	Neg.	--	---	---	.75	8.60	9.35	.74	8.56	9.30
48.-	0 (-)	0 (+)	Neg.	--	---	---	1.00	14.90	15.90	1.00	14.92	15.92
49.-	0 (+)	0 (+)	Neg.	--	---	---	1.25	15.30	16.55	1.20	15.32	16.52
50.-	0 (-)	A (+)	1:1	5.0	139	75	.95	21.35	22.30	.92	21.36	22.28

* graniento sin diluir.

FUENTE: DIRECTA

DE= Derivación estandar.
 "t"= T de student.
 =gl= grados de libertad
 p= Probabilidad

Media= .002
 DE= .028
 "t"= .005
 gl= 49
 p=

Tabla 1.- CONCENTRACION DE BILIRRUBINA PARA LAS POSIBLES LEC_
TURAS DE DENSIDAD OPTICA COM MICROTCHICA DE JANDRA
SIC Y GRAAF, MODIFICADA POR RESSANO Y FALCON.

D.O.	Mg % DE Billirrubinas	D.O.	Mg % De Bilirrubinas	D.O.	Mg% de bilirrubinas
.0000	00.00	.0969	03.627	.2218	08.302
.0044	00.165	.1024	03.833	.2291	08.578
.0088	00.329	.1079	04.039	.2366	08.856
.0132	00.494	.1135	04.249	.2441	09.137
.0177	00.663	.1192	04.461	.2518	09.425
.0223	00.835	.1249	04.675	.2596	09.717
.0269	01.007	.1308	04.896	.2676	10.017
.0315	01.179	.1367	05.117	.2756	10.316
.0362	01.355	.1427	05.342	.2840	10.630
.0410	01.535	.1487	05.566	.2924	10.945
.0458	01.714	.1549	05.798	.301	11.267
.0505	01.890	.1612	06.034	.310	11.603
.0555	02.077	.1675	06.270	.319	11.940
.0605	02.265	.1739	06.509	.328	12.278
.0655	02.452	.1805	06.757	.337	12.615
.0706	02.643	.1871	07.004	.347	12.989
.0757	02.834	.1939	07.258	.357	13.363
.0809	03.028	.2007	07.513	.367	13.737
.0862	03.227	.2076	07.771	.377	14.112
.0915	03.424	.2147	08.037	.387	14.486

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

D.O.	Mg % de bilirrubina	D.O.	Mg% de Bilirrubina
.398	14.898	.824	30.844
.409	15.310	.854	31.967
.420	15.721	.886	33.539
.432	16,170	.921	34.475
.444	16.620	.959	35,897
.456	17.069	1.0000	37.432
.459	17.181	1.046	39.154
.482	18.042	1.097	41.063
.495	18.529	1.155	43.234
.509	19.053	1.222	45.742
.523	19.577	1.301	48.700
.538	20.139	1.398	52.330
.553	20.70	1.523	57.009
.569	21.299	1.699	63.597
.585	21.898	2.000	74.864
.602	22.534		
.620	23.208		
.638	23.882		
.658	24.630		
.678	25.380		
.699	26.165		
.721	26.989		
.745	27.887		
.770	28.823		
.796	29.796		

VII.- CONCLUSIONES

Al finalizar el presente trabajo de Tesis, y cuyos objetivos e hipótesis nos fijamos al iniciar el protocolo de investigación acerca de la implementación en nuestra unidad de técnicas de laboratorio probadas en otros hospitales, pero no en el nuestro hasta la fecha, podemos concluir que:

1.- Con los recursos humanos y materiales actualmente disponibles en nuestra unidad y utilizando en el laboratorio Técnicas de micrométodo:

1.1: Si es posible realizar determinaciones sanguíneas estadísticamente confiables en relación al diagnóstico y evolución de la Isoinmunización materno-fetal en recién nacidos.

1.2: Los resultados obtenidos con este método son tan confiables como los que se registran con el método actualmente utilizado.

1.3: No nos fue posible determinar si la toma de muestras revista menos complicaciones en el recién nacido al hacerse con este método que con el actualmente empleado.

1.4: Si se logra un mejor seguimiento de los recién nacidos con Isoinmunización materno-fetal ya que las tomas de muestras pueden ser mas frecuentes.

VIII.- ANALISIS.

En esta sección analizaremos los resultados obtenidos durante la investigación en relación a los objetivos, para validar las conclusiones anotadas.

El objetivo central de este trabajo es demostrar que es posible realizar técnicas de micrométodo en esta unidad en relación al diagnóstico y evolución de la Isoinmunización materno-fetal. Sabemos cuáles teóricamente son las determinaciones recomendadas por muchos autores, pero ¿ Cuáles son las que más a menudo se solicitan en esta Unidad ? . Si analizamos los resultados de las solicitudes recibidas en el laboratorio, enviadas desde el servicio de recién nacidos y provenientes de pacientes ictericos, encontraremos que los exámenes solicitados son: Bilirrubinas, grupo y Rh, Coombs directo, Biometría hemática, Electrolitos, Glucosa y electrolitos y que los cuatro primeros son los que se solicitan todavía con mas frecuencia, sobre todo las bilirrubinas, que se solicitaron en todas las ocasiones, por lo que consideramos que cuando menos esas primeras 4 pruebas deben realizarse con micrométodo y en ellas hicimos mas énfasis.

En cuanto a la primera hipótesis referente a que si es posible realizar microtécnicas con confiabilidad estadística, la tomamos como cumplida ya que, a excepción de la determinación de bilirrubinas y el hecho de usar volúmenes menores para la dilución para determinar electrolitos, todas las técnicas se mantienen iguales y solo es diferente la toma de muestra, por lo que solo requiere significancia estadística la prueba de bilirrubinas implementada y ésta se demuestra por que los valores de la gráfica y la tabla obtenidos a partir de una solución patón cumplen con la Ley de Beer y la muestra de concentración conocida que se determinó 21 veces consecutivas presentó variaciones mucho menores que las aceptadas por el fabricante de el suero control con una DE de tan solo .3 Mg % y una distribución normal de tales valores de manera que en ± 2 DE se encontraban ya incluidas casi la totalidad de lecturas con un amalgamiento alrededor de la media aritmética.

En cuanto a la segunda hipótesis, acerca de que la microtécnica es tan confiable como la macrotécnica la dimos por demostrada ya que las diferencias intermétodo demostradas no son significativamente estadísticas por el valor de p en la t de students que se le aplicó y si damos por aceptado

que el macrométodo actualmente empleado es confiable, luego, la microtécnica es estadísticamente confiable.

En cuanto a la tercer hipótesis, acerca de la disminución o menor frecuencia de complicaciones inherentes a la toma de muestra al hacerse con micrométodo, no fue posible demostrarla, pero tampoco la de nulidad, ya que por la falta de capilares que el proveedor solo consigue en grandes volúmenes, no pudimos realizar toma directa de muestras. Acerca de esto podemos decir que dado que la experiencia en este terreno es tan amplia en otros hospitales y que, simplemente conociendo ambas técnicas de toma de muestra y utilizando la lógica y el sentido común podemos esperar menor incidencia de complicaciones con toma capilar por lo que a pesar de su falta de demostración, no creemos que nuestra tercer hipótesis quede invalidada.

En relación a un mejor seguimiento utilizando técnicas de micrométodo, es decir, nuestra última hipótesis, la podemos apoyar en los resultados obtenidos al revisar el altísimo porcentaje de muestras no procesadas en laboratorio por insuficientes y/o inadecuadas que si sería posible tomar en microtécnica, ya que simplemente para la determinación de bilirrubinas

la técnica actual ocupa 2 cm de suero, que en un recién nacido implica una muestra de por lo menos 5 cm; el micrométodo aquí presentado se puede realizar con .15 cc, lo que implica una muestra de máximo .5 cm.

En resumen, analizando los resultados de este trabajo no vemos razón alguna para que no se realicen rutinariamente micro técnicas en nuestra unidad.

IX.- SUGERENCIAS

En realidad, fuera de la sugerencia tácitamente esperada, no existen muchas otras que pudiéramos hacer.

La primera y lógica sugerencia sería que se utilizaran rutinariamente ya en nuestro hospital, técnicas de micrométodo para recién nacidos con Isoinmunización materno-fetal.

La segunda sería que es posible establecer un protocolo aceptado plenamente por todos los Pediatras que laboran en el servicio de recién nacidos para que se abordara y detectaran tempranamente los pacientes Isoinmunizados y establecer pautas terapéuticas oportunas en base a seguimientos mas estrechos tales como los incrementos de bilirrubina indirecta por hora y no basarse tan solo en valores aislados.

Por último cabría sugerir que la adecuada disposición y ánimo para manejar pacientes con Isoinmunización materno-fetal no decayesen y se mantuvieran tan altos como hasta ahora.

X.- BIBLIOGRAFIA

- (1) Falcón, O: Procedimientos en microtécnica; En, Manual de procedimientos de laboratorio del Hosp. de Ped. CMN; Resano, F: (Ed), IMSS, México, 1980, Pp:50.
- (2) Natelson, S: The Need for microprocedures in the clinical laboratory; En: Natelson, S: (Ed): Procedures in Chemistry laboratory; New York, Academy Press, New York, EUA, 1973, Pp: 10-12.
- (3) Echeverría, J; Jimenez, J; Lozano, Ch; Laravals, L: Determinaciones centrales y periféricas (capilares) de Bilirrubinas: Su confiabilidad. Bol. Med. Hosp. Inf., 1973; 36(3) : 475-480
- (4) Natelson, S; Micro, macro y ultramicro; En: Procedures in Chemistry laboratory; Natelson, S: (Ed). New York Academy Press, New York, EUA, 1973. Pp:5-10.
- (5) Avendaño, S: Comunicación personal.
- (6) Resano, F: Determinación Sérica de Bilirrubinas; En: Manual de procedimientos de laboratorio clínico; Mourey, I; Salas, H: (Eds). IMSS, Subdirección general Médica, México 1978, Pp:275-279
- (7) Bayardo, B: Química Sanguínea; En: Apuntes de Análisis clínicos. Bayardo, B: (Ed). Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México, 1978; Pp:253-458.
- (8) Acosta, H: Tesis Profesional: Microcuantificación de Bilirrubina total y Directa por medio de la formación de Azobilirrubina sérica, Universidad Autónoma de Guadalajara, México, 1973. Pp: 29

- (9) Jasso, L; Ictericia en el Recién nacido; En: Jasso, L; O_nofre, H; Rangel, L: (Eds): Manual de procedimientos clí_nicos en pediatría, IMSS, Subdirección General Médica; Mé_xico, 1981. Pp:20-23
- (10) Jasso, L; Ictericia neonatal, En: Neonatología Pediátrica, Jasso, L: (Ed). El manual Moderno editorial, México 1980. Pp:68-78
- (11) Khun, F; Eritroblastosis Fetal; En: Hematología Pediátri_ca; Khun, F: (Ed). Nueva editorial Interamericana, Barce_lona, España, 1980; Pp:902-916.
- (12) Gluck, L: Diagnóstico de la ictericia; En: Clin.Med. de Norteamérica; Editorial Interamericana, 1981;3:Pp:20-36.
- (13) Arellano, M: Hiperbilirrubinemia; En: Cuidados intensi_vos en Pediatría; Arellano, M; (Ed). Nueva editorial In_teramericana, México, 1980; Pp: 60-75.
- (14) Beverly, L; Battaglia, F: El recién nacido; En: Diagnós_tico y tratamiento pediátricos; Kempe, H; Silver, H; O'Brien, D: (Eds): Editorial el Manual Moderno, México, 1981. Pp:40-94
- (15) Pearson, H; Las Anemias; En: Tratado de Pediatría; Nel_son, W; Vaughan, V; McKay, R;(eds). Editorial Salvat, Barceloma españa.Pp: 1079-1095
- (16) Spector, V; Neonatal Jaunide. Fam. Phis., Boston, Eua, 1981; 14(5): Pp: 16-27.
- (17) Castelazo, L: Isoinmunización maternofetal; En: Pedia_tría perinatal; Días, E; (ed); Nueva editorial Intera_mericana, México, 1983. Pp: 225-253