



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**FRECUENCIA DE ICTERICIAS POR ISOINMUNIZACION
MATERNOFETAL O DE OTRA ETIOLOGIA, EN EL
SERVICIO DE GINECO-OBSTETRICIA DEL
HOSPITAL GENERAL DE LA S.S.A.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A

ROSA DE GUADALUPE BRAVO RODRIGUEZ

MEXICO, D. F.

1978



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE: PROF. MAGDALENA ACOSTA SEGURA.

VOCAL: PROF. ERNESTINA BALLESTEROS RUEDA.

SECRETARIO: PROF. SOCORRO CAO ROMERO MARTINEZ.

1º SUPLENTE: PROF. CARMEN REYNA BORDES.

2º SUPLENTE: PROF. GUILLERMO RENDON PADILLA.

Sitio donde se desarrolló el tema:

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO DE LA S.S.A.

Nombre completo del sustentante:

ROSA DE GUADALUPE BRAVO RODRIGUEZ

Nombre completo del asesor del tema:

PROF. MAGDALENA ACOSTA SEGURA.

Nombre completo del supervisor técnico:

Q.B.P. JESUS LEONCIO BRAVO GONZALEZ.

Con todo mi amor y gratitud:

A mi padre que me ha guiado con su ejemplo, y a mi madre que estando con Dios, vive en mi corazón.

A mis hermanos Dolores, Jesús, Miriam, Alma y Beatriz, que me han apoyado incondicionalmente.

A Oscar, que me ha brindado su compañía y su cariño.

Agradezco sinceramente a la Profesora Magdalena Acosta Segura por haberme dirigido en la realización del presente trabajo.

Y a todos mis maestros, de quienes he adquirido los conocimientos que han hecho posible mi formación académica.

INDICE

INTRODUCCION.

CAPITULO I: Generalidades.

- a) Antecedentes históricos.
- b) Ictericias en el recién nacido.
- c) Isoantígenos.
- d) Isoinmunización materno-fetal.
- e) Métodos para la detección de anticuerpos en los pro
blemas de isoimmunización materno-fetal.

CAPITULO II: Material y métodos.

- a) Equipo.
- b) Material: reactivos y material biológico.
- c) Técnica.
- d) Interpretación

CAPITULO III: Resultados.

CAPITULO IV: Discusión y conclusiones.

CAPITULO V: Bibliografía.

INTRODUCCION.

Al tener oportunidad de aportar mi colaboración personal a la realización de los exámenes de gabinete que rutinariamente se practican en el Laboratorio de la Unidad de Pediatría del Hospital General de la S.S.A. a los recién nacidos en la Unidad de Ginecobstetricia del mismo Hospital, nos llamó la atención la frecuencia de ictericias, que a juicio del personal médico ameritaban emplear medidas terapéuticas diversas y establecer controles de evolución. Sin recurrir a la comparación estadística estricta con otros centros de atención ginecobstétrica similares, definitivamente se estimaba mayor frecuencia de ictericias en este servicio, por lo cual creímos útil tratar de investigar las causas, a fin de establecer las bases para una conducta médica adecuada en cada caso.

Los diagnósticos asentados en el terreno de la probabilidad, señalando casi siempre como causa de la ictericia una incompatibilidad materno-fetal referente a los sistemas ABO y o Rh, daban la impresión de una elevada proporción no acorde con la literatura.

Por otro lado, habiéndose adoptado como medida terapéutica usual la exsanguinotransfusión cuando la bilirrubina indirecta se elevaba a cifras de 20 mg o superiores, con la consecuente utilización de recursos materiales y personal médico especializado, además del riesgo que este recurso implica para el recién nacido ya de por sí en precarias condiciones de salud,

planteó la conveniencia de proyectar como objetivo principal, intentar demostrar la existencia de la mencionada incompatibilidad y valorar sus consecuencias, o demostrar que el problema de hiperbilirrubinemia era tal, que efectivamente debían adoptarse tales medidas terapéuticas.

Esto a su vez condujo a la necesidad de revisar la literatura médica mas reciente referente a enfermedad hemolítica del recién nacido.

CAPITULO I

Generalidades.

a) ANTECEDENTES HISTORICOS:

El problema de isoinmunización materno-fetal se conoce desde hace mucho tiempo. Los investigadores notaron que algunos niños recién nacidos sufrían una enfermedad con ciertas características en común, entre las cuales podemos citar las siguientes: anemia, hiperplasia eritroide con presencia de eritroblastos, esplenomegalia e ictericia. También se dieron cuenta de que esta enfermedad rara vez se presentaba en productos de primera gestación, y aparecía e iba aumentando en severidad en los productos siguientes, llegando en ocasiones, a ocurrir la muerte del feto "in utero" (29).

En 1932 Diamond, Blackfan y Baty sugirieron que a esta enfermedad podría llamársele "eritroblastosis fetal", sin embargo entonces a nadie se le hubiera ocurrido pensar que el origen de esta enfermedad fuera inmunológico (3, 25).

Levine y Stetson fueron los primeros en sugerir la posibilidad de una isoinmunización en la patogénesis de la enfermedad. El mecanismo que Levine propuso y demostró en 1941 era el siguiente: el antígeno fetal contra el cual se inmuniza la madre es el antígeno eritrocítico de grupo Rhesus que ya había sido identificado por Landsteiner y Wiener en 1940 (25).

Realizaron el siguiente estudio: investigaron el factor Rh de 153 ma

dres cuyos recién nacidos padecieron la enfermedad y encontraron que el 92 % (142) de éstas eran Rh negativo; mientras que si hubieran tomado una población al azar, se esperaría que sólo el 15 % fuera Rh negativo. Actualmente se sabe que la isoinmunización no sólo es causada por el antígeno Rh, sino también por otros antígenos eritrocíticos, lo cual explica por qué el 8 % restante de las madres en las que no se demostró incompatibilidad en el sistema Rh, tuvieron productos afectados (3).

Para que el mecanismo propuesto por Levine quedara probado absolutamente, fue necesario:

(a) Demostrar los anticuerpos en el suero de las madres cuyos hijos padecieron la enfermedad, y que estos anticuerpos reaccionaran con los eritrocitos del niño.

(b) Demostrar que la producción de anticuerpos se relaciona con el embarazo.

(c) Demostrar que las células del recién nacido fueran el verdadero inmunógeno.

(d) Demostrar que los anticuerpos maternos son capaces de cruzar la placenta y reaccionar con las células del feto (29).

Coombs fue quien demostró la existencia de los anticuerpos mediante la introducción de la prueba de la antiglobulina en 1946 (11), y descubrió además que sólo los anticuerpos anti-Rh incompletos pueden cruzar la placenta,

ya que los completos casi nunca se encuentran en la sangre de cordón.

La prueba concluyente de la predicción de Levine fue el encontrar eritrocitos fetales en la circulación materna durante el embarazo cuando la placenta estaba lesionada.

Witebsky demostró que la isoimmunización por embarazo y la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN), como se llamó posteriormente a la eritroblastosis fetal, no son producidas exclusivamente por el antígeno Rh, sino que también pueden ser causadas por antígenos de otros sistemas como el ABO (29).

Estos conocimientos permitieron que a partir de 1942 se pudiera comenzar a tratar de combatir la enfermedad, gracias a la práctica de la exsanguinotransfusión, que consiste en substituir la sangre Rh positiva del niño en vías de lisis, por sangre Rh negativa, que no puede reaccionar con los anticuerpos maternos. Así se bloquea el proceso de destrucción eritrocítica, y en la mayoría de los casos se logra salvar al recién nacido (25).

A partir de 1940 se han ido encontrando otros antígenos eritrocíticos, y aún antígenos de glóbulos blancos, aunque la isoimmunización no siempre ocurre debido a que el inmunógeno puede ser débil, o estar disminuida la respuesta inmune de la madre (29).

Entre 1950 y 1953 se reconoció que la bilirrubina no conjugada es responsable de la ictericia. Después de numerosas discusiones lle-

gó a adoptarse la interrupción terapéutica del embarazo con el fin de disminuir el número de muertes "in utero".

En 1961 se describió el examen espectrofotométrico del líquido amniótico, éste fue perfeccionado por Liley y es importante, ya que permite seguir una vigilancia adecuada de la afección del feto con enfermedad hemolítica durante la gestación. La transfusión intrauterina, introducida también por Liley en 1963 representó otro progreso importante (11). También en 1961 Finn y col. en Inglaterra y en 1962 Gorman Freda y Pollack en Estados Unidos, iniciaron estudios para determinar la manera de impedir la inmunización de individuos "con riesgo". Desde entonces, se han desarrollado numerosas investigaciones en todo el mundo que indican que la inyección de globulina gamma anti-D a mujeres "con riesgo" (pero no inmunizadas) dentro de las 72 horas posteriores al parto es capaz de protegerlas, en la mayoría de los casos, contra la inmunización (6). Sin embargo, aún en la actualidad se ha continuado estudiando con interés la inmunología del embarazo. El estímulo para que estas investigaciones continúen ha sido tratar de encontrar nuevos métodos para prevenir la EHRN, ya que aún se llegan a presentar algunos casos de cierta gravedad (7).

Un concepto nuevo e interesante sobre la inmunología del embarazo es el que ha sido sugerido por Kalis y Dagg en 1964 y por Hellström y col. en 1969, en el cual mencionan que cada embarazo parece ser un ejemplo de un sistema

inmunológico conocido como un "facilitamiento", lo cual explicaría por qué la madre no rechaza a su feto, mientras que sí rechazaría un trasplante genéticamente similar al feto. Sugieren que el útero es un sitio inmunológicamente privilegiado, o que la gran cantidad de hormonas ahí presentes durante el embarazo, actúan como agentes inmunosupresores; pero ninguna de estas suposiciones ha sido probada. De acuerdo al pensamiento actual, la madre reacciona inmunológicamente contra el feto de dos maneras: por una respuesta celular que es de rechazo, y por la producción de anticuerpos circulantes bloqueadores que es de protección. Esta doble respuesta ocurre también en otras situaciones y se conoce como un fenómeno de facilitamiento.

También podría ser que los anticuerpos bloqueadores no se requieran para proteger al feto de un rechazo por parte de la madre, sino más bien ser necesarios para proteger la placenta de una destrucción. Hay cierta evidencia de que los anticuerpos maternos reaccionan con la placenta, ya que ha podido encontrarse gran cantidad de IgG y otras proteínas en la membrana basal del trofoblasto humano (Mc. Cormick 1971).

También se ha podido probar que en las células de trofoblasto humano hay antígenos HL-A (?).

Durante el embarazo, la madre produce anticuerpos leucocitarios anti-HLA, debido a que los leucocitos portadores de los antígenos paternos, después de atravesar la barrera placentaria llegan a alcanzar el sis

tema inmunológico de ésta. Esto ocurre en aproximadamente el 20 % de todos los embarazos. Estos isoanticuerpos leucocitarios inducidos mediante el embarazo han resultado útiles para tipificar tejidos y si son suficientemente específicos pueden contribuir a clasificar inmunológicamente a un posible donador y un receptor de un órgano a transplantar. Por otra parte, se ha dado poca importancia a estos isoanticuerpos por parte de ginecólogos y obstetras, y quizá sería interesante su papel en algunos posibles problemas como por ejemplo: nacimiento de productos muertos, abortos, nacimientos prematuros, anomalías congénitas o eritroblastosis fetal (10).

b) ICTERICIAS EN EL RECIÉN NACIDO:

Se llama ictericia al color amarillo adquirido por la piel y mucosas, por lo tanto la ictericia es un signo y no una enfermedad (11).

Para comprender el problema de ictericia en los recién nacidos, resulta útil explicar primero el metabolismo de los pigmentos biliares. Este metabolismo comprende varias etapas, que son: formación de la bilirrubina, su transporte desde el plasma hasta las células hepáticas, su conjugación y transporte desde las células hepáticas a los canalículos biliares y finalmente su excreción.

Formación de la bilirrubina:

La vida media de los eritrocitos es de aproximadamente 120 días, al ca

bo de los cuales éstos son destruidos en el sistema reticuloendotelial de la médula ósea, el bazo, el hígado y algunos ganglios linfáticos. Hay liberación de hemoglobina y ésta se desdobra dando tres componentes: el hierro, que queda en el organismo y vuelve a utilizarse en la síntesis de nueva hemoglobina; la globina, que sigue el camino catabólico de las proteínas, y el hem, molécula de protoporfirina que se abre y forma una cadena tetrapirrólica, la bilirrubina (20).

Cuando existe hemólisis intravascular. la hemoglobina libre en el plasma se combina con una proteína sérica, la haptoglobina (Hp). El complejo haptoglobina-hemoglobina se elimina del plasma por el sistema reticuloendotelial donde la hemoglobina es degradada a bilirrubina (23). También la hemopexina, que es una glucoproteína, puede captar el hem libre en la circulación y el complejo hem-hemopexina es eliminado por el hígado (Sears 1970). La hemopexina es sintetizada en el hígado (18).

La bilirrubina que se formó a partir del grupo hem, es un pigmento relativamente insoluble en agua a pH fisiológico, pero soluble en cloroformo y otros solventes orgánicos. A este pigmento se le llama comúnmente bilirrubina indirecta, libre o no conjugada.

Transporte de la bilirrubina a las células hepáticas:

Una vez que se ha formado, la bilirrubina libre pasa al plasma y ahí circula gracias a que se une a la albúmina. Llega a los sinusoides hepáticos

y entra al hígado mediante un sistema de transporte activo, después de haber se disociado de la albúmina.

Conjugación de la bilirrubina:

Ya dentro de la celdilla hepática, la bilirrubina se transforma en compuestos solubles en agua; esto es necesario para que la bilirrubina pueda ser excretada por la bilis. Este pigmento hidrosoluble da la reacción de Van der Bergh directa positiva, por eso se llama bilirrubina directa o conjugada.

Normalmente, no debe existir bilirrubina directa en el suero ni en la orina, ya que es excretada totalmente por la bilis.

La bilirrubina se conjuga principalmente con el ácido glucurónico y probablemente, aunque en menor grado, con el radical sulfato u otros como el metilo y la glicina.

El ácido glucurónico en su forma activada o de "alta energía" como ácido uridín difosfoglucurónico (UDPGA) se une a la molécula de bilirrubina en presencia de la enzima glucuronil transferasa, que existe en el sistema retículo endoplásmico liso de las células hepáticas. La reacción ocurre entre dos moléculas de ácido glucurónico y una de bilirrubina libre, y lo que se forma es el diglucurónido de bilirrubina o bilirrubina conjugada.

Transporte de la bilirrubina desde las células hepáticas hasta los canaliculos biliares:

Una vez que la bilirrubina se ha conjugado, se concentra cerca de la superficie canalicular de las celdillas hepáticas y de ahí pasa, a través de la

membrana y mediante un proceso activo y unidireccional, hacia el canalículo biliar. Durante su tránsito por la celdilla hepática desde el sinusoides hasta el canalículo biliar, la bilirrubina sufre modificaciones.

En base a estudios recientes se sabe que las células hepáticas poseen un verdadero aparato excretor de la bilis, constituido por el retículo endoplásmico liso (donde se conjuga la bilirrubina); el aparato de Golgi; lisosomas que contienen pigmento biliar y que son un sitio de depósito y almacenamiento; y los canalículos biliares, que son porciones de pared celular especializadas y que contienen numerosas microvellosidades a través de las cuales se excretan los pigmentos biliares y el agua en que aparecen disueltos en la bilis.

Excreción de la bilirrubina conjugada:

De los canalículos biliares, la bilirrubina pasa a los conductos biliares intrahepáticos y de éstos a los extrahepáticos; y así llega como integrante de la bilis al intestino.

Ya en el intestino, la bilirrubina conjugada no puede ser absorbida por la mucosa intestinal ni por la vesícula biliar, por lo tanto viaja hasta llegar al íleon terminal e intestino grueso (12).

En el recién nacido, los mecanismos por los cuales puede aparecer ictericia son los siguientes:

I. Ictericia por destrucción excesiva de glóbulos rojos:

Hay producción excesiva de bilirrubina en la enfermedad hemolítica del

recién nacido debido a incompatibilidad e isoimmunización materno-fetal. Este mecanismo se explicará de una manera mas amplia en el siguiente inciso.

También ocurre en el caso de esferocitosis congénita, debido a que los hematíes, por un defecto congénito son demasiado frágiles.

II. Ictericias por conjugación defectuosa de la bilirrubina:

Ocurre en el caso de la ictericia "fisiológica" (algunos autores usan el mas adecuado nombre de ictericia por inmadurez funcional del hígado). En estos casos el niño nace normal y la ictericia aparece entre las 24 y 72 horas. Aproximadamente un 40 % de recién nacidos presenta niveles de bilirrubina sérica de 4 mg % o más durante su primera semana de vida extrauterina y esto se debe a que los recién nacidos tienen poca capacidad de conjugar el ácido glucurónico. Esto se ha confirmado mediante el siguiente experimento: Se da a los recién nacidos acetanilida, la cual debe conjugarse con el ácido glucurónico y el producto conjugado, glucuronido de acetyl para amino fenol debe excretarse por la orina y ahí puede cuantificarse. Las cantidades que excreta el recién nacido de ese producto son mínimas, pero a medida que el niño va creciendo van aumentando, hasta que aproximadamente a los 3 meses excreta un 80 % en 24 horas.

Otro caso de conjugación defectuosa de bilirrubina en el recién nacido ocurre en Síndrome de Crigler-Najjar, Se trata de una enfermedad hereditaria en la cual hay deficiencia de glucuronil transferasa. Esta enfermedad se

caracteriza porque el paciente presenta niveles elevados y constantes de bilirrubina indirecta y muy frecuentemente kernicterus, es decir, daño neurológico irreversible por la unión de la bilirrubina a las neuronas.

También en el Síndrome de Lucey-Driscoll o hiperbilirrubinemia familiar transitoria hay deficiencia en la conjugación de la bilirrubina. ~~Es~~ probable que se deba a la presencia en el suero sanguíneo del paciente, de un esteroide de origen materno, que interfiera con la conjugación de la bilirrubina.

También puede deberse a la presencia en la leche materna de un esteroide que inhiba la actividad de la glucuronil transferasa.

Los fármacos como novobiocina, ácido flabaspídico, rifamicina y bunamio idil también inhiben la glucuronil transferasa.

Se han descrito algunos casos de mixedema congénito que cursan con ictericia por conjugación defectuosa; pero ésta desaparece si se administra extracto tiroideo.

III. Ictericia por defecto en la excreción de la bilirrubina:

Puede ser de dos tipos: intrahepática o posthepática.

Las de tipo intrahepática pueden ser por:

- Defecto congénito en el transporte de la bilirrubina del hepatocito al canalículo biliar (Síndrome de Dubin-Johnson) (12).

- Lesión hepatocelular, como ocurre en las hepatitis por infecciones intrauterinas como herpes, sífilis, sepsis, toxoplasmosis y citomegalovirus (18, 23).

- Colestasis intrahepática: atresia congénita intrahepática de los conductos biliares, o por el Síndrome de "bilis espesa".

Las posthepáticas pueden ser por:

- Atresia congénita extrahepática de los conductos biliares.
- Tumores (12).

No existe un nivel de bilirrubina que delimite el que se haga aparente la ictericia. Generalmente se dice que con 4 mg % el tinte ya es notable, pero como se trata de una apreciación subjetiva, ésta puede estar influida por numerosos factores: el explorador, la luz, el color de la piel del niño, etc. Además es importante recordar que la ictericia está dada por la impregnación de los tegumentos por este pigmento extravascular (11).

La causa mas común de ictericia en el recién nacido es la que se produce por inmadurez funcional del hígado o "ictericia fisiológica" que se describe en el párrafo II. y le siguen en frecuencia la enfermedad hemolítica del recién nacido por isoimmunización materno-fetal, atresia congénita de las vías biliares extrahepáticas y la hepatitis por inclusión citomegálica. Las demás se presentan rara vez.

Para establecer el diagnóstico, el médico debe considerar los datos clínicos, datos del laboratorio, datos histológicos, radiológicos y datos proporcionados por la laparatomía exploratoria (12).

En el caso de la enfermedad hemolítica del recién nacido, la ictericia:

aparece debido a que hay destrucción de eritrocitos unidos a anticuerpo y esto conduce a una producción elevada de bilirrubina.

La bilirrubina sérica en sangre de cordón mayor de 5 mg % ya sugiere destrucción excesiva de eritrocitos fetales. Debido a que la capacidad del hígado fetal para conjugar la bilirrubina se ha desarrollado sólo parcialmente al momento del nacimiento y a que la influencia protectora de la función hepática materna para limitar los niveles de bilirrubina sérica en el feto cesa al nacer el niño, los niveles de bilirrubina en él no aumentan rápidamente sino hasta que ha nacido y entonces pueden llegar a alcanzar valores críticos en cosa de horas (26).

La bilirrubina no conjugada y no unida a albúmina, puede pasar al líquido cefalorraquídeo y producir Kernicterus, o sea depósito del pigmento en las neuronas (11).

En el tratamiento de la ictericia neonatal, se ha venido usando cada vez más la fototerapia, que consiste en exponer al recién nacido a la luz. Sin embargo aún hay controversia acerca de su empleo. Recientemente se han hecho revisiones sobre la manera en que actúa y sus limitaciones. Es probable que la fototerapia actúe oxidando la bilirrubina y pueda causar excreción hepática de la bilirrubina no conjugada. Funciona como terapia en neonatos prematuros, pero hay cierta inquietud acerca de los efectos de los productos de degradación de la bilirrubina, y se ig-

nora su efecto a largo plazo; esto ha hecho dudar a los pediatras acerca de su empleo.

La fototerapia no ha sido muy efectiva para controlar los incrementos rápidos de la bilirrubina sérica como ocurre en isoimmunización por Rh. En cambio reportes recientes indican que puede ser efectiva en la ictericia por incompatibilidad en el sistema ABO y sólo cuando los niveles de bilirrubina continúen en aumento se recurre a la práctica de exsanguinotransfusión (17).

Se ha reportado también que algunas sustancias ayudan a disminuir la ictericia, como: ácido orótico, enzimas que favorezcan la conjugación, fenobarbital y agar; pero su efectividad no se ha comprobado totalmente (2, 17).

c) ISOANTIGENOS:

Al hablar de un antígeno, nos referimos a una substancia capaz de provocar una respuesta inmune tanto humoral como celular, en el hombre o en cualquier vertebrado inmunológicamente competente. Generalmente los antígenos son substancias de alto peso molecular y de naturaleza protéica o carbohidratos; o bién cualquier substancia (hapteno) conjugada con una protefina (3).

En el presente trabajo, los antígenos mas importantes que discutiremos son los isoantígenos, que son llamados así por ser substancias que provienen de otros individuos de la misma especie.

Los mas importantes isoantígenos en el hombre son los eritrocíticos. Estos pueden llegar a provocar isoimmunización mediante dos vías: una de ellas

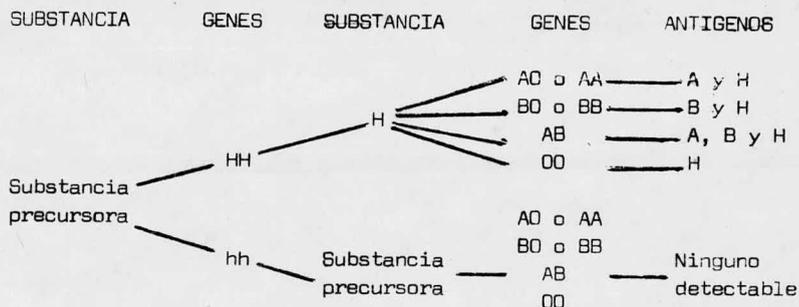
es mediante el embarazo; cuando una mujer que carece de algún antígeno eritrocítico procrea un feto que sí lo posea, ya que los ha heredado del padre, y los eritrocitos fetales llegan a alcanzar la circulación materna. La otra vía sería mediante una transfusión: al transfundirle sangre que posea antígenos eritrocíticos a una persona que carezca de ellos, la persona quedará inmunizada y producirá isoanticuerpos contra la sangre que recibió.

Los antígenos eritrocíticos que se consideran mas importantes son los del sistema ABO y los del sistema Rh.

Los antígenos del sistema ABO fueron descubiertos por Landsteiner en 1900 como resultado de un experimento que hizo con seis colegas suyos: Les tomó muestras de sangre y suspendió los hematíes en solución salina, y puso cada suero en contacto con cada una de las suspensiones globulares, obteniendo por resultado que algunas de las mezclas aglutinaran y otras no. Siguiendo estas reacciones se obtuvieron tres patrones que correspondieron a los grupos A, B y O. Posteriormente, sus discípulos Von Decastello y Sturli descubrieron un cuarto y mas raro patrón de aglutinación que correspondió al grupo AB.

Los antígenos A y B, al igual que otros antígenos de los grupos sanguíneos son la expresión de genes heredados.

El siguiente esquema nos muestra los caminos que al final conducen a los antígenos de glóbulos rojos (A y B), y los genes que intervienen para que esto ocurra (19). (esquema tomado del libro Blood Groups in Man de R.R. Race).



La secuencia comienza a partir de un precursor mucopolisacárido, que por acción del gene H se transforma en substancia H, que a su vez es en parte convertida por los genes A o B al correspondiente antígeno. El gene O es inactivo, es decir, no efectúa conversión alguna. El gene h también es inactivo, e incapaz de producir substancia H que pudiera ser transformada por los genes A o B al correspondiente antígeno, o ser dejada como tal por el gene O. Ya que tanto la substancia H como los antígenos A y B se forman del mismo material básico y a éste se van adhiriendo glúcidos para dar lugar al antígeno, se ha sugerido que la manera como actúan los genes es controlando la síntesis de proteínas que son enzimas específicas capaces de provocar la adhesión de las subunidades o carbohidratos al material básico (19). Así, la enzima que actúa cuando está presente el gene H, es la alfa-L fucosil transferasa, que permite que la fucosa se una a la substancia precursora; en este caso se obtiene la substancia H. A esta substancia H pueden adherirse otros azúcares mediante las enzimas alfa-N acetil D galactosaminil y D galactosil transferasas, si están presentes los genes A y B respectivamente. Entonces se tendrá

que la substancia H se caracteriza por tener fucosa unida al material precursor, el antígeno A tiene n-acetil galactosamina y el antígeno B posee galactosa.

Con respecto a los antígenos del sistema Rh, éstos se descubrieron casi simultáneamente por diferentes investigadores.

Landsteiner y Wiener en 1940, cuando inyectaron glóbulos rojos de Macacus rhesus a conejos y cobayos y probando los sueros que contenían el anticuerpo, vieron que éstos no sólo aglutinaban los glóbulos rojos de Macacus rhesus, sino también el 85 % aproximadamente de los glóbulos rojos de los humanos. (25).

Un año mas tarde, Levine y Stetson observaron una reacción post-transfusional muy fuerte en una mujer tipo O, que había recibido sangre de su marido y que nunca antes había sido transfundida, pero que había estado embarazada en dos ocasiones, en la última dando a luz un producto que nació muerto. Al probar el suero de la paciente con los glóbulos rojos de su esposo, vieron que éstos aglutinaban y lo mismo ocurría con los glóbulos rojos de 80 de 104 donadores. Poco después se supo que el antígeno que poseían estos glóbulos rojos era el mismo descrito por Landsteiner y Wiener (19).

Dentro del sistema Rh se conocen los antígenos C, D, E, c y e, siendo considerado el D como el mas importante.

Los antígenos Rh son configuraciones moleculares definidas, repetidas en muchos lugares de la superficie del glóbulo rojo. La composición química

de esa porción de la membrana no ha sido definida claramente (19).

Finalmente mencionaremos a los antígenos linfocíticos humanos (HL-A) que son isoantígenos que se encuentran en leucocitos, plaquetas y todos los órganos del cuerpo y cuyo papel principal consiste en que intervienen en los fenómenos de histocompatibilidad y son los responsables de que en un trasplante, un órgano sea rechazado.

Estos antígenos pueden identificarse esencialmente mediante dos técnicas: la linfocitotoxicidad y la fijación de complemento (c') sobre plaquetas (8).

d) ISOINMUNIZACION MATERNO FETAL:

La isoinmunización materno fetal es causada, como ya se mencionó anteriormente, por antígenos eritrocíticos fetales, que llegan al torrente circulatorio de la madre. Cuando estos antígenos son raros en una población, se llaman "privados". Los pocos hombres que tengan tales antígenos, son potencialmente capaces de procrear fetos que serían incompatibles con casi cualquier mujer. Si el antígeno es fuerte, los hijos de esta pareja padecerán enfermedad hemolítica por isoinmunización y esto hace que se favorezca la eliminación de tal antígeno en la población.

Si por el contrario, se trata de un antígeno común en la población o antígeno "público", habrá muy pocas mujeres que no lo posean, y éstas procrearían fetos incompatibles, con casi cualquier pareja; si el antígeno es fuerte, la tendencia en este caso es a eliminar a los individuos que carezcan de

dicho antígeno.

El primer tipo de enfermedad hemolítica por isoimmunización materno fetal que se conoció es el causado por el antígeno D del sistema Rh. Después se supo que otros antígenos como el A y el B también causan la enfermedad. Actualmente se conocen numerosos antígenos eritrocíticos capaces de inmunizar a la madre y causar la enfermedad; muchos de éstos antígenos se han nombrado como la familia en que se descubrieron, y así tenemos antígenos como el Kell, Duffy, Kidd, Lutheran, Lewis y Diego (26).

En el presente trabajo se estudiarán problemas por incompatibilidad en los sistemas ABO y Rh, por lo que sólo se discutirán las isoimmunizaciones por los antígenos de estos sistemas.

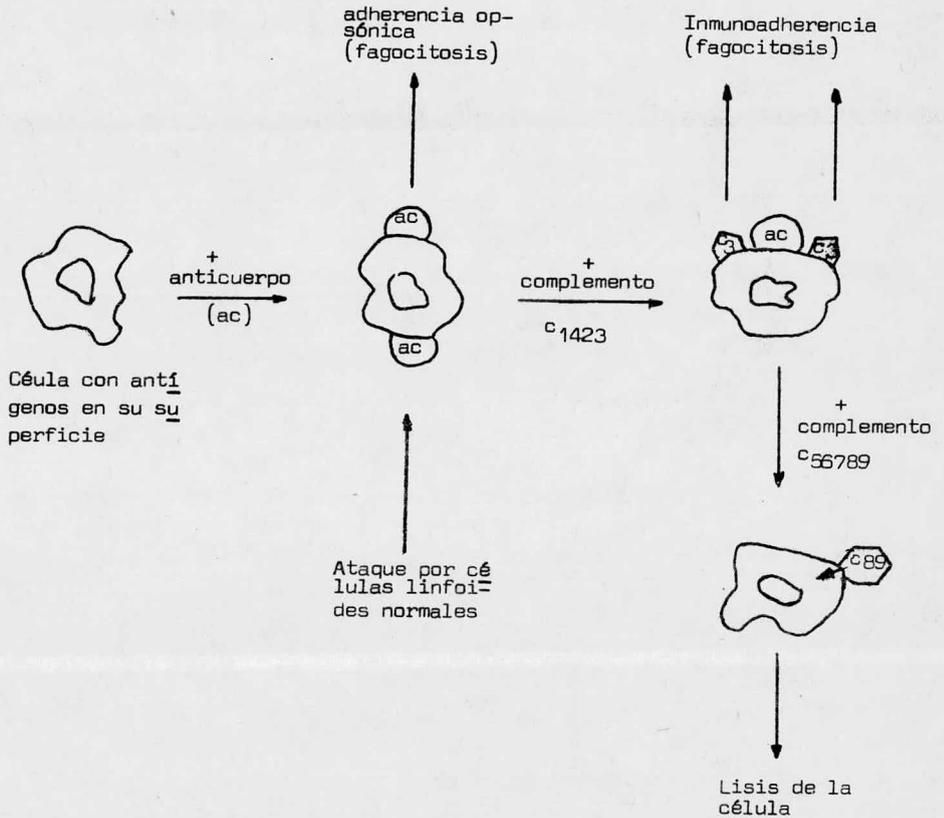
ENFERMEDAD ISOINMUNE CAUSADA POR ANTICUERPOS ANTI-D DEL SISTEMA Rh.

Para entender la enfermedad por Rh se requiere conocer la naturaleza y actividad de los anticuerpos relacionados con ella. Los primeros anticuerpos que aparecen en la respuesta inmune al antígeno D son de clase IgM, pero después éstos son reemplazados por anticuerpos de clase IgG y probablemente algunos IgA. Es importante saber que los eritrocitos sensibilizados con anticuerpo anti-Rh son destruidos "in vivo" aceleradamente. Aunque concentraciones altas de anticuerpo anti-Rh de clase IgM causan aglutinación en solución salina, los anticuerpos de clase IgG no lo hacen, e incluso pueden bloquear la aglutinación de las IgM en solución salina. Debido a esto, los anticuerpos anti-Rh de clase IgG se llaman también anticuerpos incompletos o

"bloqueadores". El hecho de que sí puedan aglutinar eritrocitos tratados con tripsina nos indica que en realidad no son univalentes, sino que sólo son "funcionalmente univalentes" en solución salina (26).

Debido a que sólo las IgG atraviesan la placenta, los anticuerpos de esta clase son los únicos responsables de la enfermedad por Rh. Hasta hace poco se desconocía la manera por la cual causan destrucción acelerada de los glóbulos rojos. Cuando se sensibilizan eritrocitos D positivos marcados con anticuerpos IgG y luego se inyectan a adultos D negativos, estas células son removidas de la circulación y minutos después se localizan en el bazo. Se adhieren a los macrófagos, probablemente a través de sitios citofílicos en el anticuerpo. La adherencia conduce a daño en la membrana de los eritrocitos (26). El mecanismo por el cual ocurre la destrucción de los hematíes es el siguiente: cuando en una célula, como es el caso de glóbulo rojo, los antígenos se encuentran en su superficie, al combinarse los antígenos con el correspondiente anticuerpo, la célula será dañada y morirá debido a que queda "preparada" para ser destruída fácilmente por los fagocitos. Esto puede ocurrir directamente mediante la unión con la fracción Fc del anticuerpo, o por inmunoadherencia mediante su unión con el complemento hasta C_3 . La muerte del eritrocito también puede ocurrir debido a la activación total del sistema del complemento hasta C_8 y C_9 , produciéndose la lisis del glóbulo (21).

El siguiente esquema, tomado del libro Essential Immunology de Ivan Roitt nos muestra claramente el mecanismo que hemos explicado:



La transferencia a través de la placenta de un número considerable de hemáties fetales hacia la madre, lo cual se ha podido demostrar ya que se han encontrado hemáties fetales en la circulación materna gracias a que la hemoglobina fetal puede diferenciarse por sus propiedades ácido y alcalino resistentes (8), ocurre preferentemente en los últimos días del embarazo y siempre durante el parto (21). El paso de hemáties fetales hacia la madre

se favorece si la placenta está infartada. Debido a esto, el primer feto in compatible nace, y generalmente escapa a la enfermedad; y los primeros anticuerpos aparecen pocos días después del parto. La respuesta anamnésica, que frecuentemente es iniciada mediante un segundo feto incompatible, da como resultado la producción de anticuerpos que cruzan la placenta en cantidades cada vez mayores, comenzando a ocurrir esto en el tercer o cuarto mes de embarazo (26).

La destrucción acelerada de eritrocitos provoca un aumento compensador en la formación de eritrocitos y debido a esto; el número de eritroblastos también aumenta en la circulación. Ocasionalmente puede ocurrir esto en recién nacidos cuya médula ósea funciona deficientemente, y entonces se llega a una anemia bastante severa.

El paciente afectado por enfermedad hemolítica por Rh, especialmente el prematuro, presenta niveles bajos de hemoglobina, y frecuentemente anemia severa. En estos casos es posible que la eritropoyesis deprimida pueda resultar de un efecto supresivo del anticuerpo anti-Rh sobre las células hemopoyéticas (26).

Como ya se mencionó anteriormente, la severidad de la enfermedad varía y en ocasiones no ocurre, debido a la existencia de algunos mecanismos protectores.

Aproximadamente 1/3 de los individuos Rh negativo son incapaces de inmunizarse, no importa qué tan grande sea el estímulo (6). Esto podría expli

carse mediante la teoría de Burnett, que sugiere que los antígenos que actúan en un organismo inmunológicamente incompetente como lo es durante su vida intrauterina, son incapaces de desencadenar posteriormente la respuesta inmune a dicho antígeno (11). Esto significa que una madre Rh negativo que no responde inmunológicamente a su feto, e hija de una madre Rh positivo, probablemente durante su vida intrauterina estuvo en contacto con los eritrocitos Rh positivo maternos, por lo cual, posteriormente no reconoció el antígeno en los eritrocitos de su feto, y por lo tanto no respondió inmunológicamente a ellos.

Otro mecanismo protector aparece cuando además de la incompatibilidad por Rh hay incompatibilidad en el sistema ABO, ya que las células fetales serán rápidamente removidas de la circulación mediante los anticuerpos anti-A y anti-B naturales (6).

Además, parece ser que influye en la antigenicidad de los eritrocitos Rh positivos el genotipo; se ha demostrado que un genotipo cDE/cde es mas inmunogénico que uno CDe/cde (6).

DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD POR Rh:

a. Diagnóstico prenatal: En todos los embarazos resultantes de parejas incompatibles, la detección de anticuerpos en el suero de la madre mediante la prueba indirecta de la antiglobulina o de la papaína, es esencial para establecer el diagnóstico (8). Esta prueba debe efectuarse periodicamente entre el 3º y 8º mes.

Si el título de anticuerpos aumenta con rapidez y a niveles altos, esto indica no sólo que el feto es incompatible, sino que además hay riesgo de que desarrolle la enfermedad hemolítica (26).

Debido a que son muchos los factores que operan para determinar la severidad de la enfermedad, no existe una correlación perfecta entre el título de anticuerpos en el suero de la madre y la gravedad de la enfermedad. Se ha llegado a reportar casos de pacientes con títulos bajos cuyos fetos son severamente afectados y pacientes con títulos elevados y fetos poco afectados o Rh negativo no afectados; aunque esto no es lo común. Algunos autores han sugerido que en los casos en que sea posible, resulta útil detectar y titular los anticuerpos en el líquido amniótico (9).

También se ha reportado que la determinación del pigmento biliar en el líquido amniótico resulta útil en el manejo de embarazos complicados por isoinmunización Rh, de una manera especial determinar los niveles de bilirrubina y proteína, ya que en un embarazo normal, los valores se mantienen constantes; mientras que en los casos de enfermedad hemolítica la relación proteína/bilirrubina va en aumento, en proporción a la severidad de la enfermedad (1).

Por último, otra forma de estimar la evolución de la enfermedad es, como ya hemos mencionado anteriormente, el estudio espectrofotométrico del líquido amniótico, que consiste en la graficación de la absorbancia del líquido; obteniéndose una curva que representa la absorbancia del líqui

do amniótico mismo, mas los pigmentos presentes en él y se ha demostrado que existe una estrecha relación entre la absorción del pigmento biliar a la longitud de onda de 450 nm y la severidad de la enfermedad (1). Por otra parte, aquellas muestras de líquido amniótico contaminadas con sangre, también podrían aportar datos interesantes; por ejemplo, mediante el método de Kleinhauer Betke podría investigarse la presencia de hematíes fetales, y en caso de que se encontrara una cantidad considerable de éstos, se procedería a tipificarlos. En caso de encontrar que estos eritrocitos son Rh negativo, podrían suspenderse futuras innecesarias investigaciones (4).

Sin embargo, a pesar de las ventajas que presentan los estudios en líquido amniótico, es muy importante tener en cuenta que en aproximadamente 1/3 de las pacientes sometidas a amniocentesis, los daños causados a la placenta llegan a producir suficiente hemorragia feto-materna como para provocar un aumento considerable en los títulos del anticuerpo, lo cual traería consecuencias muy desfavorables para el feto (9).

b. Diagnóstico postnatal: La prueba directa de Coombs positiva nos sirve para demostrar anticuerpos de clase IgG unidos a los eritrocitos circulantes del recién nacido. Aunque esta prueba no es una medida cuantitativa de la cantidad de anticuerpo o de la avidéz del mismo, si es muy importante para establecer el diagnóstico de la enfermedad por Rh aunque no nos indique el curso que seguirá su desarrollo postnatal.

Otro parámetro, quizá el mas apropiado para establecer la severidad de la enfermedad al momento del nacimiento es el valor de la concentración de la hemoglobina en el cordón umbilical tomada al momento del parto. Se ha encontrado que valores de 10 g % o menos de hemoglobina frecuentemente van asociados a enfermedad moderada o severa. Debido a que la función del hígado varía en los diferentes neonatos, no existe una relación uniforme entre la velocidad de destrucción de eritrocitos y el aumento postnatal en los niveles de bilirrubina sérica. Sin embargo, al momento del nacimiento, el grado de anemia y los niveles de bilirrubina de una muestra tomada directamente de cordón, son los mejores parámetros combinados que pueden indicarnos qué tan severa es la enfermedad y que pronóstico se espera (26).

TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD POR Rh:

a. Tratamiento prenatal: Debido a que la muerte intrauterina del feto resulta principalmente a causa de la anemia, cuando el líquido amniótico está muy coloreado por la bilirrubina, lo cual indicaría un grado severo de hemólisis, puede insertarse un cateter en el peritoneo fetal a través de la pared abdominal y útero de la madre, con ayuda radiológica. Se inyecta paquete globular Rh negativo en el peritoneo del feto y de ahí los eritrocitos son absorbidos hacia la circulación fetal. Cuando esta transfusión intrauterina se ha llevado a cabo, el niño puede nacer con sólo eritrocitos Rh negativos en su circulación. También en estos casos debe tenerse en cuenta el riesgo que se corre de dañar al niño ya de por sí en malas condiciones.

En ocasiones, se recurre a la ruptura prematura de membranas, provocando el nacimiento prematuro del infante, de manera que la acción de los anticuerpos maternos cese (13, 9).

b. Tratamiento postnatal: En recién nacidos con enfermedad por Rh, las muertes tempranas (24 a 48 horas) se deben generalmente a paro cardíaco resultante de anoxemia. Las muertes que ocurren entre las 36 horas y 4 días, y que generalmente van asociadas con desarrollo de ictericia, pueden prevenirse mediante la práctica de la exsanguinotransfusión (25).

Siempre que haya evidencia de enfermedad hemolítica severa o moderada acompañada de ictericia temprana, deben determinarse los valores de bilirrubina lo mas pronto posible con el fin de valorar si se requiere efectuar la exsanguinotransfusión. En los casos menos severos, debe determinarse el nivel de la bilirrubina sérica a diferentes intervalos de tiempo.

Los beneficios de la exsanguinotransfusión son los siguientes:

(1) Mantener los niveles de bilirrubina sérica por debajo de los valores peligrosos.

(2) Remover tanto el anticuerpo libre como el anticuerpo unido a la superficie de los eritrocitos.

(3) Disminuir por un tiempo la producción de mas eritrocitos Rh positivo (26).

También se ha reportado que la administración de albúmina a recién nacidos ictericos aumenta la eficiencia de la exsanguinotransfusión, ya que la bilirrubina se une a la albúmina (11).

Mas adelante se explicará de una manera mas amplia en que casos está indicada la exsanguinotransfusión.

PREVENCION DE LA ISOINMUNIZACION POR Rh:

El rápido desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico, tratamiento y prevención en el campo de la EHRN por Rh ha permitido que actualmente esté en vías de erradicarse completamente la enfermedad. Esto se debe a la introducción de la gamma globulina anti-D aplicada a las madres Rh negativo antes de que transcurran 72 horas del parto, para prevenir que éstas sean inmunizadas por los eritrocitos fetales Rh positivo; esta medida preventiva en la mayoría de los casos funciona satisfactoriamente (28).

Los anticuerpos anti-D que se inyectan a la madre se unen a las determinantes antigénicas del eritrocito D positivo y entonces el antígeno D ya no es capaz de provocar respuesta inmune. El hecho de que en las condiciones que han demostrado ser favorables para causar inmunosupresión sólo el 5 % de las determinantes antigénicas de los eritrocitos D positivo estén bloqueadas por el anticuerpo, hace pensar que es probable que la acción de los anticuerpos anti-Rh sea causar la destrucción del glóbulo rojo, mas que inhibiendo los sitios antigénicos (15).

Por otra parte, Woodrow y col. han realizado un experimento que permite concluir que la protección no es específica sólo contra el antígeno cuyo correspondiente anticuerpo se inyecta. Este experimento consistió en inmunizar individuos Rh negativo y Kell negativo con eritrocitos D positivo y Kell

positivo; después se dividió a estos individuos en dos grupos: uno de control y otro experimental; a este último grupo se le inyectó después del estímulo antigénico anticuerpo anti-Kell de clase IgG. En el grupo control, la mayoría de los receptores produjo tanto anticuerpos anti-Kell como anti-D. En cambio en el grupo experimental, la mayoría de los individuos no produjo anticuerpos anti-Kell y tampoco anti-D. Esto nos sugiere además que en el mecanismo de protección está involucrado todo el eritrocito.

Otra parte de este mismo experimento consistió en marcar los eritrocitos que se inyectaron a los voluntarios con ⁵¹Cr y después se localizó a qué nivel son secuestradas estas células. En el caso del grupo al que se le administró anti-Kell, se encontró que los eritrocitos fueron removidos de la circulación y secuestrados predominantemente a nivel de bazo (27).

Las medidas que se sugiere seguir para prevenir la isoimmunización en las madres Rh negativo son las siguientes:

(1) Toda mujer Rh negativo que requiera protección debe recibirla. (La dosis protectora de anti-D es de 300 ug.)

(2) Debe protegerse a toda mujer Rh negativo después de un aborto. (En este caso la dosis protectora de anti-D es de 100 ug.)

(3) Proteger a toda mujer Rh negativo después de amniocentesis (La dosis protectora de anti-D es de 100 ug.)

(4) Proteger a la mujer que haya sufrido hemorragia transplacentaria produciéndose sangrado del feto hacia la madre de más de 30 ml. Esta situación

se presenta en sólo aproximadamente el 0.5 % de los casos. Estas mujeres deben recibir dosis mayores de globulina inmune anti-D (10 ug. por cada ml de sangre fetal). A pesar de estas medidas preventivas aún se reporta que hay "fallas" al emplear la inmunoglobulina anti-D, pero éstas casi siempre se deben a que las mujeres ya estaban inmunizadas desde antes y la medida preventiva se les aplicó demasiado tarde (28) y es muy poco probable que la "falla" se deba a una dosis inadecuada de anti-D (6).

Las mujeres D^u deben considerarse como Rh negativas y aplicarles los mismos conceptos.

Por último, es interesante mencionar la posibilidad que existe, en los casos en que los deseos de que el embarazo complicado por isoimmunización Rh llegue a término son muy grandes, de aplicar a la madre sustancias inmunosupresoras que disminuyan la respuesta inmune de rechazo hacia el feto, aunque se corre el riesgo de adquirir infecciones por estar deprimido el sistema inmunológico.

ENFERMEDAD ISOINMUNE CAUSADA POR ANTICUERPOS DEL SISTEMA ABO.

Esta afección se diferencia de la causada por el antígeno Rh en ser menos grave, las manifestaciones clínicas son mas discretas, la severidad no es progresiva y hay incertidumbre en su diagnóstico serológico, ya que si la isoimmunización por los antígenos A o B es fácil de demostrar, es por el contrario, muy difícil demostrar su influencia en la aparición de ictericia neonatal (8).

En la madre de un recién nacido que presenta enfermedad hemolítica por incompatibilidad en el sistema ABO, se ha puesto en evidencia, que además de los anticuerpos naturales (IgM) hay anticuerpos de tipo inmune (IgG); sin embargo se ha observado que estos anticuerpos de clase IgG también son relativamente frecuentes en el suero de sujetos normales.

En la mujer embarazada estos anticuerpos provienen:

- De una isoinmunización materno-fetal por vía transplacentaria que ocurre durante el embarazo, ya que puede llegar a haber paso de los hematíes fetales A o B a la madre O. El mecanismo es similar al del antígeno Rh. (8).

- De isoinmunización debida a accidentes transfusionales.

- De una heteroinmunización anterior al embarazo; este mecanismo explica la presencia de anticuerpos IgG tanto en hombres como en mujeres. La inmunización se debe al contacto del organismo con sustancias que tienen antígenos comunes con las sustancias de grupo sanguíneo A o B, como vacunas, extractos tisulares de uso terapéutico o microorganismos.

Lo anterior explica por qué la enfermedad hemolítica por A o B ocurre lo mismo al primer hijo que a cualquiera de los siguientes, por qué puede, en ocasiones, ocurrir sólo en uno de los hijos de una misma familia, y por qué no tiene un carácter de gravedad progresiva como ocurre en el caso de la enfermedad por Rh. Efectivamente, esta heteroinmunización generalmente es pasajera, y los anticuerpos "inmunes" no persisten mas que por uno o dos años.

El paso de los anticuerpos de la madre al hijo ocurre de manera similar a los anti-Rh. Sólo atraviesan la placenta los anticuerpos de clase IgG.

Estos anticuerpos, cuando penetran en el organismo del niño, no provocan mas que una hemólisis moderada, lo cual explica la ausencia de formas graves de la enfermedad. Esto no se revela sino hasta después del nacimiento, por una ictericia precoz, y frecuentemente de intensidad tan discreta que la enfermedad puede pasar desapercibida y sanar espontáneamente.

Entre las razones de esta hemólisis podemos citar las siguientes:

(1) La neutralización parcial de los anticuerpos por las células endoteliales vasculares y los tejidos del niño, ya que los antígenos de grupo A o B están presentes en casi todo el organismo.

(2) La fijación imperfecta de los anticuerpos sobre los hematíes.

(3) La débil actividad hemolítica de los anticuerpos, de manera que la destrucción intravascular de los hematíes es mínima,

Sin embargo, en cierto número de casos la hemólisis es suficientemente intensa como para provocar una anemia neonatal de gravedad mediana, y sobre todo, una fuerte hiperbilirrubinemia. Si existe además inmadurez hepática, el nivel de la bilirrubina libre en la sangre se eleva rápidamente.

En definitiva, el único peligro real de la enfermedad, reside en el riesgo de que las bilirrubinas lleguen a sobrepasar los límites de seguridad (8).

DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD POR ABO:

a. Diagnóstico prenatal: En este caso el diagnóstico prenatal sería inútil y no ajustado a la realidad. Inútil porque la enfermedad no causa problemas tan graves como en el caso de la enfermedad por Rh y no ajustado a la realidad porque la presencia de anticuerpos inmunes en la madre no implica necesariamente la existencia de enfermedad hemolítica; ni siquiera la presencia de un feto incompatible.

b. Diagnóstico después del nacimiento: Se sospechará de enfermedad hemolítica por AB en los recién nacidos que presenten ictericia caracterizada por su precocidad e intensidad y se demuestre que hay incompatibilidad en el sistema ABO y no en el Rh. Las siguientes etapas para establecer el diagnóstico incluyen:

- Descubrir en la sangre de la madre anticuerpos inmunes anti-A o anti-B, mediante la prueba indirecta de Coombs después de haber neutralizado los anticuerpos naturales con sustancias de Witebsky. Sin embargo, el descubrir estos anticuerpos en la madre no prueba que el niño tenga la enfermedad, ya que pueden provenir de embarazos anteriores o heteroinmunización.

- Poner en evidencia los anticuerpos en la sangre del recién nacido probando la fijación de los anticuerpos inmunes de origen materno sobre los hemáties del infante. Para esto se han propuesto varias técnicas, sin embargo hasta ahora ninguna es enteramente satisfactoria (8).

- Otra forma de investigar los casos sospechosos de enfermedad por AB, es mediante la prueba del 2 mercaptoetanol (2-ME), introducida por Voak y Bowley

en 1969; o empleando el ditiotreitól (DTT), que funciona de la misma manera que el 2-ME (5).

- Kúsnierz ha empleado una combinación de varias técnicas, que dan una base para que probablemente en el futuro sea posible mediante nuevas pruebas diagnosticar la enfermedad por AB, ya que efectuando una separación cromatográfica de los sueros en estudio diferenció las clases de inmunoglobulinas y empleando técnicas enzimáticas en cada porción encontró que:

Los anticuerpos de clase IgG en el suero de las madres que tienen fetos muy afectados, son activos en medio salino.

En los casos de enfermedad hemolítica severa, los sueros de las madres contienen además de los anticuerpos de clase IgG, anticuerpos de clase IgA (13).

Resulta interesante hacer notar que en este caso de enfermedad por AB, la prueba directa de la antiglobulina no resulta útil para detectar la sensibilización de los eritrocitos del niño. Voak y Williams han realizado investigaciones tratando de encontrar a qué se debe esta falla y han concluido que el pequeño tamaño molecular de los anticuerpos IgG, junto con la relativamente gran distancia que separa las determinantes antigénicas "A" del eritrocito fetal, parece ser la causa de que esta reacción nunca dé fuertemente positiva (24).

Finalmente, Nelson y Friedman han encontrado que en el caso de enfermedad hemolítica neonatal por AB el estudio espectrofotométrico del líquido

amniótico no tiene validez, ya que no hay modificaciones en él (16).

TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD HEMOLITICA POR ABO:

Ya sea que se confirme o no la enfermedad hemolítica por incompatibilidad en el sistema ABO, la exsanguinotransfusión está indicada siempre que la bilirrubina llegue a alcanzar niveles críticos.

Si se decide la exsanguinotransfusión, ésta debe practicarse con sangre en la cual se hayan bloqueado los anticuerpos naturales mediante la adición de sustancias de Witelsky y excluido los donadores que posean anticuerpos inmunes, así como los antígenos frente a los cuales está inmunizado pasivamente el recién nacido (8).

INDICACIONES PARA LA EXSANGUINOTRANSFUSION:

Debido a que esta medida terapéutica está indicada siempre que los niveles de bilirrubina sérica lleguen a alcanzar valores peligrosamente altos, ya sea que la incompatibilidad sea en el sistema ABO, en el Rh o no se haya demostrado, se ampliará un poco la información sobre los criterios en que se basa el médico para tomar la decisión de recurrir a esta práctica.

El objeto de la exsanguinotransfusión, como ya se estableció anteriormente es eliminar la mayor cantidad posible de bilirrubina y anticuerpos anti-eritrocíticos circulantes en el niño y mejorar la capacidad de oxigenación.

La exsanguinotransfusión está indicada:

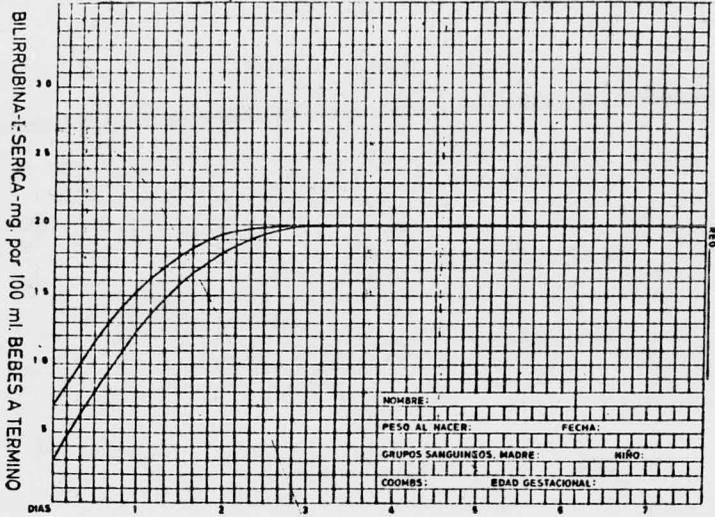
1. En enfermedad hemolítica con anemia severa, hepatoesplenomegalia, trombocitopenia con petequias debe efectuarse la exsanguinotransfusión de inmediato, sin esperar los resultados de los exámenes de laboratorio.

2. En casos de isoimmunización materno fetal por Rh o ABO se recomienda como base el criterio de McKay (cuadro 1) y las curvas de Allen Diamond (cuadros 2 y 3), ayudados por el grado de hemólisis dado por el aumento de la bilirrubina indirecta de 0.25 mg. por hora o más en prematuros y de 0,75 mg. por hora o más en niños a término y sin problemas agregados.

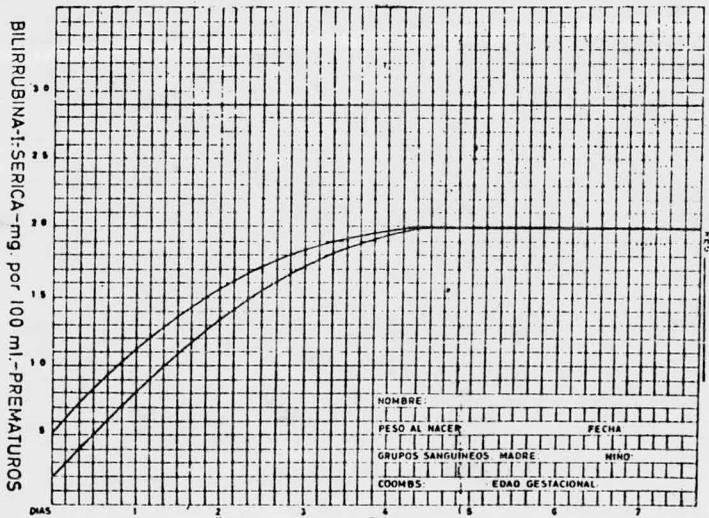
Cuadro 1. CRITERIO DE MCKAY.

<i>Observación</i>	<i>Considere exsanguino</i>	<i>Exsanguino</i>	
AL NACIMIENTO			
Antecedentes	Neg. exsanguino	Exsanguino o kernicterus	Grave o muerte
Títulos anti Rh	Menor 1:64	Mayor 1:64	
Estado clínico	Normal	Prematuro o inducción prematura del parto	Ictericia o hidrops fetal
Hb cordón	Mayor de 14 g	12 a 14 g	Menor de 12 g
Bilirrubina cordón	Menor de 4 mg	4 a 5 mg	Mayor de 5 mg
DESPUES DEL NACIMIENTO			
Hb capilar	Mayor de 12 g	Menor de 12 g	Menor de 12 g
Bilirrubina	Menor de 18 g	18-20 mg	20 en las 24 hs., ó 22 en las 2 determ. con interv. 6-8 hs. kernicterus

Cuadro 2. CURVAS DE ALLEN Y DIAMOND



Cuadro 3.



3. En los casos de ictericia por causas diferentes a las ya mencionadas, además de las curvas de bilirrubina de Allen y Diamond deben considerarse los siguientes datos:

- (a) Niños sanos y a término con niveles de bilirrubina de 25 mg/100 ml o mas
- (b) Niños sanos prematuros con niveles máximos de bilirrubina de 22 mg/100 ml
- (c) Niños enfermos a término con niveles máximos de bilirrubina de 20 mg/100 ml
- (d) Niños enfermos prematuros con niveles máximos de bilirrubina de 18 mg/100 ml
- (e) Prematuros de menos de 1,800 g con niveles máximos de bilirrubina de 15 mg/100 ml
- (f) Signos de Kernicterus con cualquier nivel de bilirrubina (22).

e) METODOS PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS EN LOS PROBLEMAS DE ISOINMUNIZACION MATERNOFETAL:

Quizá la prueba mas útil para demostrar los anticuerpos en los problemas de isoimmunización, es la prueba de la antiglobulina o prueba de Coombs. El fundamento y descripción de esta prueba se mencionarán posteriormente.

Debido a que los hematíes tratados con enzimas proteolíticas se vuelven aglutinables por numerosos anticuerpos incompletos IgG, también se ha ido generalizando el empleo de estas enzimas, para demostrar tales anticuerpos en el suero materno. Las enzimas que se emplean mas frecuentemente son la papaína, tripsina y bromelina. A continuación se describen algunas técnicas de las mas importantes para demostrar los isoanticuerpos en los problemas de isoimmunización.

El descubrimiento e identificación de isoanticuerpos irregulares se logra poniendo en práctica numerosas técnicas y empleando, en los casos en que se desconozca la especificidad del anticuerpo, un "panel" de hematíes representativo del mayor número posible de isoantígenos. Estos hematíes se ponen en contacto con el suero en estudio. En el caso más restringido, para los problemas de isoimmunización materno-fetal, este panel debe contener hematíes que al menos posean los antígenos de grupo Rh CcDEe y si es posible el antígeno Kell. Los anticuerpos demostrados deben titularse (8).

1. TÉCNICA DE LOS HEMATÍES TRATADOS CON PAPAÍNA.

- Preparación de los hematíes: La papaína usualmente viene en frasco ampola en forma de polvo liofilizado. Rehidratar añadiendo 1 ml de solución salina isotónica.

- Añadir a un volumen de la solución de papaína, un volumen igual de paquete globular lavado tres veces.

- Incubar la mezcla durante 1 hora a 37°C.

- Lavar tres veces los hematíes tratados y preparar una suspensión al 2 % de éstos en solución salina.

- Llevar a cabo la reacción propiamente dicha colocando en un tubo de 12x75 mm 2 gotas del suero problema o de su dilución en presencia de 2 gotas de suspensión de hematíes tratados con papaína e incubar esta mezcla a 37°C durante 1 hora.

- Efectuar la lectura observando si ha ocurrido aglutinación.

Titulación de anticuerpos: Se efectúa la reacción sobre una serie de diluciones del suero en estudio en incrementos de 2 en solución salina. El título de anticuerpos es igual al recíproco de la última dilución en que se presenta aglutinación visible macroscópicamente.

Resultados: Las aglutinaciones debidas a la presencia de un anticuerpo generalmente son nítidas. Sin embargo, el tratamiento de los hematíes con enzimas puede dar lugar a una aglutinación débil y no específica, por lo que es necesario preparar un testigo negativo constituido por los mismos hematíes tratados con papaína y un suero libre de anticuerpos.

2. TECNICA DE LOS HEMATIES TRATADOS CON BROMELINA.

La bromelina es una enzima proteolítica que se obtiene de la piña y cuyo empleo es fácil y eficaz. Para usarla se han propuesto dos técnicas:

Primera técnica:

- Preparar una solución de bromelina conteniendo 0.02 g por ml de solución salina isotónica.
- Llevar a cabo la reacción colocando en un tubo de 12x75 una gota del suero problema, una gota de la suspensión de G. R. al 2 % en solución salina y una gota de la solución de bromelina.
- Dejar la mezcla 15 minutos a temperatura ambiente.
- Centrifugar durante 2 minutos a 1,000 r.p.m.

- Agitar el tubo suavemente para desprender el paquete celular.
- Efectuar la lectura de las aglutinaciones macroscópicamente.

En este caso se recomienda también emplear un testigo positivo y uno negativo. El testigo negativo se prepara empleando un suero libre de anticuerpos y el testigo positivo empleando un suero que contenga anticuerpos anti-D incompletos.

Segunda técnica: (Esta consiste en tratar previamente los hematíes con bromelina y usarlos posteriormente)

- Preparar una solución de bromelina al 5 % (p/v) en amortiguador de fosfato de pH 5.5.
- Lavar tres veces los hematíes a tratar.
- Poner en contacto un volumen del paquete celular lavado con $1\frac{1}{2}$ volumen de la solución de bromelina.
- Incubar esta mezcla a 37°C durante 15 minutos.
- Volver a lavar tres veces los hematíes y suspenderlos en solución salina isotónica hasta tener una suspensión al 2 %.
- Efectuar la reacción colocando en un tubo de 12x75 2 gotas de hematíes tratados con bromelina y 2 gotas del suero problema.
- Dejar esta mezcla a 37°C durante 1 hora.
- Efectuar la lectura macroscópica de las aglutinaciones sin centrifugar y de preferencia comparando contra un testigo negativo.

3. TÉCNICA DE LOS HEMATÍES TRATADOS CON TRIPSINA.

La tripsina se emplea para tratar los hematíes de igual forma que la segunda técnica de los hematíes tratados con bromelina.

- Preparar una solución de tripsina al 0.1 % en solución salina.
- A 10 ml de la solución anterior, se añade 2.5 ml de amortiguador de Sorensen de pH 7.3. (Esta solución de tripsina se conserva a -20°C).
- Tratar los hematíes con tripsina, incubando a 37°C durante 20 minutos.
- Lavar tres veces los hematíes tripsinizados y suspenderlos en solución salina isotónica, de manera que la suspensión quede al 2 %.
- Llevar a cabo la reacción de igual manera que en el caso de los hematíes tratados con bromelina.
- Interpretar los resultados de igual manera que en los demás casos en que se emplean enzimas proteolíticas.

4. PRUEBA DE UNGER.

Esta prueba no es más que una combinación de dos de las técnicas mencionadas: la de los hematíes tratados con tripsina y la prueba indirecta de Coombs.

- Colocar en un tubo de 12x75 mm 4 gotas del suero en estudio y 2 gotas de hematíes tratados con tripsina en suspensión al 3 % en solución salina isotónica.
- Incubar esta mezcla durante 1 hora a 37°C .
- Lavar los hematíes tres veces.
- Añadir, sobre el paquete celular lavado, 2 gotas de suero de Coombs.
- Agitar suavemente hasta resuspender los hematíes.

- Volver a incubar otra hora a 37°C.

- Con una pipeta Pasteur, recoger, sin agitar, la mezcla de hematíes y suero de Coombs.

- Depositarla y extender suavemente hasta formar un círculo de aproximadamente 1 cm de diámetro sobre la placa con excavaciones.

- Efectuar la lectura de la aglutinación macroscópicamente.

La prueba de Unger es un método muy sensible, pero que requiere de un testigo negativo y una gran habilidad para efectuar la lectura macroscópica sobre la placa con excavaciones (8).

5. PRUEBA INDIRECTA DE COOMBS.

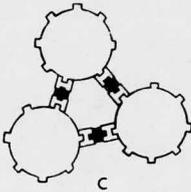
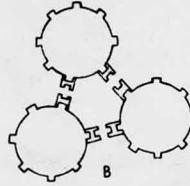
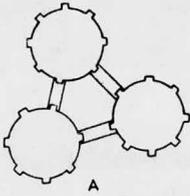
Mediante esta prueba es posible detectar anticuerpos tanto incompletos como completos en el suero de la paciente Rh negativo con probable feto Rh positivo.

El fundamento de esta prueba es el siguiente:

Los anticuerpos completos (IgM) presentes en el suero de las madres aglutinan eritrocitos que posean el antígeno correspondiente, en medio salino.

Los anticuerpos incompletos (IgG) no son capaces de aglutinar a los eritrocitos que posean el antígeno correspondiente debido a su pequeño tamaño. Sin embargo, si a los eritrocitos sensibilizados con los anticuerpos de clase IgG presentes en el suero problema se añade suero de Coombs (antiglobulina humana), este reactivo actúa uniendo las moléculas de anticuerpo incompleto de diferentes eritrocitos y entonces sí ocurre la aglutinación.

Esto puede apreciarse de una manera clara en el siguiente dibujo:



 ANTICUERPO IgM
 ANTICUERPO IgG
 ANTICUERPO ANTIGLOBULINA HUMANA

- A. Aglutinación de los eritrocitos suspendidos en solución salina, por los anticuerpos de clase IgM (completos).
- b. Fijación de los anticuerpos de clase IgG sobre los sitios antigénicos de los eritrocitos, en medio salino.
- C. Aglutinación de los eritrocitos sensibilizados con anticuerpos de clase IgG mediante la adición de suero de Coombs (20).

Método para detectar anticuerpos en el suero materno mediante la prueba indirecta de Coombs.

- Preparar una suspensión al 2 % de glóbulos rojos lavados previamente tres veces en solución salina isotónica. Estos eritrocitos deben contener los antígenos contra los cuales está inmunizada la madre.

- En dos tubos de 12x75 mm marcados con "S" para salina, y "A" para albúmina bovina. Colocar dos gotas del suero problema en cada uno.

- Agregar a cada tubo dos gotas de la suspensión de glóbulos rojos lavados.

- Agregar, al tubo marcado con "A" tres gotas de solución de albúmina bovina al 22 %.

- Mezclar bien ambos tubos e inmediatamente centrifugarlos a 1,000 rpm durante 1 minuto. La centrifugación inmediata evita el fenómeno de prozona.

- Desprender suavemente el sedimento de los glóbulos.

- Observar si hay aglutinación macroscópica. En caso de ser negativa o débilmente positiva, resuspender los eritrocitos e incubar ambos tubos a 37°C durante 15 a 30 minutos.

- Centrifugar nuevamente y observar si hay aglutinación (o hemólisis).

La reacción de aglutinación positiva, nos indica la presencia de aglutininas salinas en el suero problema.

En caso de que ambas sean negativas, descartar el tubo marcado con "S" y continuar con el "A".

- Lavar cuatro veces los glóbulos del tubo "A".

- Resuspenderlos en la solución salina remanente luego de escurrir en el último lavado.

- Añadir dos gotas de suero de Coombs. Mezclar bien y centrifugar.

- Desprender suavemente el sedimento y observar macroscópicamente si hay aglutinación.

Preparar los siguientes controles:

Control negativo:

- En un tubo colocar solución salina en lugar de suero antihumano.

Control positivo:

- Se prepara añadiendo una gota de suero humano anti-Rh (Anti-D) diluido 1:16 en solución salina, a una gota de glóbulos Rh positivos (D), lavados y en suspensión al 2 %. Incubar la mezcla durante 2 minutos a 37°C, y continuar como indica la técnica para buscar anticuerpos incompletos.

Interpretación: La aglutinación o hemólisis indica la presencia de anticuerpos incompletos en el suero problema.

Titulación de anticuerpos:

- Preparar diluciones en incrementos de 2, del suero problema y llevar a cabo las reacciones descritas con cada dilución del suero. El título es la máxima dilución del suero en que se produce aglutinación.

En los casos de incompatibilidad en el sistema ABO, los anticuerpos inmunes pueden detectarse y titularse en el suero de la madre empleando las pruebas de Coombs indirecta y la de los hematíes tratados con papaína, pero teniendo la precaución de eliminar previamente los anticuerpos naturales mediante el empleo de sustancias de Witebsky. Esto se consigue mezclando 0.5 ml de suero con 0.5 ml de sustancia de Witebsky y dejando la mezcla a 4°C durante 2 horas o de preferencia toda la noche.

También pueden ponerse en evidencia los anticuerpos inmunes anti-A o anti-B mediante el empleo del 2-mercaptoetanol o mediante el ditioneitol.

PRUEBA DEL 2 MERCAPTOETANOL.

Esta fue introducida por Voak y Bowley en 1969. Su fundamento es el siguiente: el 2-mercaptoetanol es un producto del grupo de los mercaptanos que tiene capacidad reductora y cede iones hidrógeno electropositivos que son captados por enlaces donde las fuerzas electrostáticas son mas débiles. Gracias a esta propiedad el 2-ME (a molaridad adecuada) degrada las moléculas IgM, que son 19 S, transformándolas en subunidades 7 S, con lo cual pierden sus propiedades inmunológicas específicas; por el contrario, el 2-ME no modifica las globulinas IgG. Así, los sueros tratados con 2-ME sólo conservan las propiedades específicas de estas últimas siendo posible detectar anticuerpos inmunes (5).

Para efectuar esta prueba se necesita una solución de 2-mercaptoetanol 1/6 mol/litro en amortiguador de fosfato de pH 7, y la técnica para efectuar la reacción es la siguiente:

- Mezclar a partes iguales, en dos tubos de 12x75 marcados "A" y "B", suero problema y solución de 2-ME (habitualmente en volúmenes de 0.2 ml.)
- Dejar la mezcla en reposo durante 2 horas a 37°C.
- Añadir al tubo marcado "A", 0.2 ml de una suspensión de hematíes del grupo A al 5 % y lavados tres veces. Añadir al tubo "B" 0.2 ml de una suspensión de hematíes lavados tres veces al 5 % y del grupo B.
- Dejar en reposo a 37°C durante 2 horas.

- Centrifugar a 1,000 rpm durante 1 minuto y efectuar la lectura macroscópica de la aglutinación.

Titulación de los anticuerpos: Se preparan diluciones en incrementos de 2 de los sueros que hayan dado lectura positiva, empleando para esto la solución de 2-ME 1/6 mol/litro y se lleva a cabo la reacción anteriormente descrita con cada una de las diluciones. El título es la dilución mas alta en que se presente aglutinación (5).

CAPITULO II

Material y Métodos

a) TECNICA PARA LA DETERMINACION DE BILIRRUBINAS.

Material:

Micropipetas de 50 microlitros.

Tubos de ensayo de 13x100 y de 12x75 mm.

Pipetas graduadas de 1 ml y de 5 ml.

Equipo:

Espectrofotómetro Coleman Jr. con cubetas de 9x75 mm.

Reactivos:

Solución diazo "A" (solución de ácido sulfanílico y ácido clorhídrico).

Nitrito de sodio al 5 %.

Solución diazo reactivo (solución diazo "A" y nitrito de sodio).

Metanol Q.P.

Patrones de referencia (Versatoles pediátricos).

Material biológico:

Se trabajó con los sueros de 100 pacientes recién nacidos y seleccionados al azar en base a que clínicamente presentaron ictericia temprana, o pacientes hijos de madres con antecedente de isoimmunización.

METODOLOGIA:

Fundamento: La bilirrubina al combinarse con las sales de diazonio forma un complejo azoado de color morado, de intensidad proporcional a su concentración.

Procedimiento:

Preparar los siguientes reactivos de trabajo:

Nitrito de sodio al 0.5 %. Este se prepara diluyendo 1:10 el nitrito de sodio al 5 %, en agua destilada. Este reactivo es estable 10 días en refrigeración y en frasco ámbar.

Diazo reactivo: Se prepara momentos antes de usarse, agregando 0.30 ml de nitrito de sodio al 0.5 % a 10 ml de la solución diazo "A".

Rehidratar un vial de Versatol pediátrico de concentración de bilirrubina conocida con agua destilada.

Colocar en cubetas marcadas:	Blanco del Problema	Problema	Blanco del Estándar	Estándar
Agua destilada	0.50 ml	0.50 ml	0.50 ml	0.50 ml
Solución diazo "A"	0.20 ml	- - - -	0.20 ml	- - - -
Diazo reactivo	- - - -	0.20 ml	- - - -	0.20 ml
Suero problema	0.05 ml	0.05 ml	- - - -	- - - -
Versatol pediátrico	- - - -	- - - -	0.05 ml	0.05 ml

Mezclar evitando formar espuma y dejar desarrollar el color durante 5 minutos a temperatura ambiente. En el espectrofotómetro, leer el problema en D.O. a 550 nm de longitud de onda, ajustando a 0 con el blanco. Con esta lectura se calcula la bilirrubina directa.

Alcohol metílico	0.75 ml	0.75 ml	0.75 ml	0.75 ml
------------------------	---------	---------	---------	---------

Mezclar y dejar desarrollar el color durante 20 minutos a temperatura ambiente. Leer el problema a longitud de onda de 550 nm en D.O. ajustando a 0 con el blanco del problema. Con esta lectura se calcula la bilirrubina total. Leer también a la misma longitud de onda la D.O. del estándar, ajustando a 0 con el

blanco del estándar.

Interpretación:

La bilirrubina directa se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$B.D. = \frac{D.O. \text{ del problema}}{D.O. \text{ del estándar}} \times \text{conc. del estándar} : 2 = \text{mg}/100 \text{ ml}$$

La bilirrubina total se calcula aplicando la siguiente fórmula:

$$B.T. = \frac{D.O. \text{ del problema}}{D.O. \text{ del estándar}} \times \text{conc. del estándar} = \text{mg}/100 \text{ ml}$$

La bilirrubina indirecta se calcula de la siguiente manera:

$$B.I. = \text{Bilirrubina total} - \text{Bilirrubina directa} = \text{mg}/100 \text{ ml}$$

Los límites normales de bilirrubina total para la población estudiada son hasta de 8 mg/100 ml.

b) TECNICA PARA LA TIPIFICACION DE ERITROCITOS.

Material:

Pipetas Pasteur.

Placa de vidrio con excavaciones.

Palillos de madera.

Caja de visualización.

Reactivos:

Sueros anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D (anti-Rh₀), anti-C (anti-rh'), anti-E (anti-rh"), anti-c (anti-hr'), y anti-e (anti-hr").

Material biológico:

Sangre de los 100 recién nacidos mencionados y sangre de sus madres.

METODOLOGIA:

Sistema A, B, -O.

Fundamento: Los sueros anti-A, anti-B y anti-AB aglutinan los hematíes de los grupos sanguíneos correspondientes, pero no aquellos del grupo O. La agrupación inversa puede realizarse ya que los sueros de las personas tipo O poseen anticuerpos llamados "naturales" anti-A y anti-B; las personas tipo A, poseen anticuerpos anti-B; y las personas tipo B, anticuerpos anti-A. Sin embargo, es muy importante recordar que los anticuerpos "naturales" comienzan a aparecer en el hombre aproximadamente a los 3 meses de edad, por lo que la prueba de agrupación inversa sólo puede practicarse en personas que ya han producido estos anticuerpos.

Procedimiento:

Colocar una gota de cada uno de los sueros tipificantes en diferentes excavaciones de la placa.

Añadir una gota de suspensión de eritrocitos al 10 %.

Mezclar con aplicadores de madera extendiendo hasta formar un círculo de aproximadamente 2.5 cm de diámetro.

También es importante preparar un testigo negativo, en el cual se sustituye el suero tipificante por albúmina bovina al 30 %.

Rotar la placa y examinar macroscópicamente en busca de aglutinación durante un período de tiempo que no exceda de 2 minutos.

Las reacciones de agrupamiento inverso se efectúan colocando una gota del suero problema en contacto con una gota de suspensión de eritrocitos tipo A₁

el 2 %; y una gota de suero problema con una gota de suspensión de eritrocitos tipo B al 2%. Se busca aglutinación macroscópica.

Interpretación:

La aparición de aglutinación en los casos en que se mezcló eritrocitos con sueros tipificantes específicos, y la ausencia de aglutinación en el caso en que se mezcló con albúmina bovina, nos indica que los eritrocitos poseen los antígenos correspondientes a los sueros tipificantes con los que aglutinaron.

La ausencia de aglutinación al mezclar eritrocitos del paciente con el suero tipificante, nos indica que el eritrocito carece de tal antígeno.

En las siguientes tablas se indican los resultados de las pruebas realizadas con los 4 grupos sanguíneos (Tabla I), y los resultados que se espera encontrar en las reacciones de agrupamiento inverso (Tabla II).

Tabla I

Glóbulos rojos probados con:

Anti-A	Anti-B	Grupo sanguíneo
+	-	A
-	+	B
+	+	AB
-	-	O

(+) = aglutinación positiva

(-) = ausencia de aglutinación

Tabla II

Suero probado con:		Anticuerpo presente	Grupo sanguíneo
Glóbulos A ₁	Glóbulos B		
-	+	anti-B	A
+	-	anti-A	B
-	-	ninguno	AB
+	+	anti-A y anti B	O

Sistema Rh.

Fundamento: Los sueros tipificantes anti-C, anti-D, anti-E, Anti-c y anti-e en presencia de eritrocitos que posean los correspondientes antígenos, provocan la aglutinación de los mismos.

Procedimiento:

Para investigar el factor Rh₀(D): precalentar la placa con excavaciones a aproximadamente 40 a 45°C y colocar en una excavación una gota de suero tipificante anti-D.

Añadir 2 gotas de eritrocitos en suspensión al 50 %.

Mezclar con un aplicador de madera, extendiendo la mezcla de manera que se forme un círculo.

Colocar la placa sobre una caja de visualización (40 a 45°C).

Oscilar suavemente de atrás hacia adelante por un período que no exceda de dos minutos y observar en busca de aglutinación.

En este caso también debe prepararse un testigo negativo en el cual se substituye el suero tipificante por albúmina bovina al 30 %.

En los casos en que la prueba con el suero anti-D sea negativa, debe efectuarse la prueba para detectar el antígeno Du, que se describirá posteriormente.

Para la búsqueda de los antígenos C, E, c y e en los hematíes, se trabaja de la misma manera que para el caso del antígeno D, sólo que empleando en este caso los sueros tipificantes correspondientes y a una temperatura de 45 a 50°C.

Interpretación:

Reacción con suero anti-Rh₀
(anti-D)

+	Rh ₀ (D)	Presente
-	Rh ₀ (D)	NO está presente

Reacción con suero anti-rh'
(anti-C)

+	rh' (C)	Presente
-	rh' (C)	NO está presente

Reacción con suero anti-rh"
(anti-E)

+	rh" (E)	Presente
-	rh" (E)	NO está presente

Reacción con suero anti-hr'
(anti-c)

+	hr' (c)	Presente
-	hr' (c)	No está presente

Reacción con suero anti-hr"
(anti-e)

+	hr" (e) Presente
-	hr" (e) No está presente

(+) = aglutinación
(-) = ausencia de aglutinación

Prueba para la búsqueda del factor Du.

Fundamento: Los glóbulos rojos Du generalmente presentan reacciones negativas o muy débilmente positivas con suero tipificante anti-D; sin embargo, después de exponerlos a un suero anti-D dan la reacción positiva de Coombs.

Procedimiento: Preparar una suspensión de glóbulos rojos problema al 2 % lavados previamente en solución salina.

Colocar en un tubo de 12x75 mm 2 gotas de la suspensión de glóbulos rojos.

Añadir una gota de suero humano anti-D y mezclar bien.

Incubar el tubo a 37°C durante 15 minutos.

Lavar 3 veces los glóbulos con solución salina y luego de escurrir bien el líquido del último lavado, resuspenderlos en la gota de solución salina remanente.

Agregar 2 gotas de suero anti-humano (reactivo de Coombs).

Mezclar bien y centrifugar durante 1 minuto a 1,000 rpm.

Desprender suavemente los glóbulos sedimentados y observar si hay aglutinación macroscópica.

El control negativo se trabaja igual que el problema, pero usando glóbulos rojos Rh negativo y el testigo positivo empleando glóbulos rojos Rh positivo.

Interpretación: Si no se presenta aglutinación en los glóbulos rojos problema, se consideran Rh negativos.

La aglutinación de los eritrocitos del paciente indican la presencia del factor Du. En los casos de pacientes con prueba directa de Coombs positiva para cualquier otro anticuerpo, la aglutinación encontrada por este método se invalida.

c) TECNICA DE LA PRUEBA DIRECTA DE COOMBS.

Material:

Pipetas Pasteur.

Tubos de ensayo de 12x75 mm

Equipo:

Centrífuga.

Reactivos:

Solución salina isotónica.

Albúmina bovina al 30 %.

Suero anti-humano (reactivo de Coombs).

Material biológico:

Eritrocitos de los 100 recién nacidos mencionados.

METODOLOGIA:

Fundamento: Debido a que, como ya se ha mencionado, los anticuerpos IgG de la madre atraviesan la placenta, éstos llegan al sitio donde se encuentran los glóbulos rojos fetales y se unen a ellos "sensibilizándolos" y al añadir el

suero de Coombs, éstos aglutinar, según el mecanismo descrito en la página 46.

Procedimiento:

Preparar una suspensión de glóbulos rojos al 2 % en solución salina. Los glóbulos deben lavarse previamente cinco veces en solución salina, con el objeto de eliminar las proteínas del plasma.

Colocar dos gotas de la suspensión en un tubo de 12x75 mm

Añadir dos gotas de reactivo de Coombs.

Mezclar bien y centrifugar a 1,000 rpm durante 1 minuto.

Desprender suavemente el botón y observar si hay aglutinación macroscópica.

Preparar los siguientes controles:

Negativos: El primero de ellos se prepara añadiendo a uno de los tubos, albúmina bovina en lugar de reactivo de Coombs; y el otro empleando glóbulos rojos normales al 2 % en lugar de los glóbulos rojos problema.

Positivo: Se prepara de igual forma que el control positivo de la prueba indirecta de Coombs, descrita en el capítulo anterior.

Interpretación: La aglutinación de los eritrocitos del paciente por el reactivo de Coombs, indica que éstos se encontraban sensibilizados por anti-cuerpo.

CAPITULO III

Resultados

TABLA I

PACIENTES QUE REQUIRIERON EXSANGUINOTRANSFUSION. (EST).

PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD (fenotipo)
1. M.C.M.	24 hs (pre-EST)	0.55 mg	17.15 mg	+++	CDE
	48 hs (post-EST)	2.15 mg	9.00 mg		
	72 hs (post-EST)	5.70 mg	13.00 mg		
	96 hs (post-EST)	9.40 mg	7.60 mg		
2. M.R.B.	24 hs (pre-EST)	0.30 mg	11.70 mg	+	A
	48 hs (pre-EST)	1.90 mg	16.30 mg		
	72 hs (pre-EST)	1.00 mg	17.70 mg		
	96 hs (post-EST)	1.60 mg	14.20 mg		
3. C.G.	24 hs (pre-EST)	0.35 mg	17.15 mg	+	B
	48 hs (post-EST)	0.65 mg	9.75 mg		
	60 hs (post-EST)	1.25 mg	15.95 mg		
4. G.N.C.	24 hs (pre-EST)	0.95 mg	19.50 mg	+	A
	48 hs (pre-EST)	1.50 mg	19.90 mg		
	54 hs (post-EST)	0.80 mg	15.50 mg		
	72 hs (post-EST)	0.90 mg	17.30 mg		
	96 hs (post-EST)	1.50 mg	17.20 mg		
	110 hs (post-EST)	0.55 mg	13.65 mg		
5. I.M.V.	24 hs (pre-EST)	0.65 mg	15.15 mg	-	A
	48 hs (post-EST)	0.80 mg	9.60 mg		
6. J.R.R.	36 hs (pre-EST)	0.65 mg	23.35 mg	+	A
	48 hs (post-EST)	0.45 mg	11.05 mg		
	60 hs (post-EST)	1.15 mg	18.05 mg		

TABLA I (continuación)

	PACIENTE	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD (fenotipo)
7.	J.G.	96 hs (pre-EST) 120 hs (post-EST) 144 hs (post-EST)	1.60 mg 1.40 mg 1.50 mg	22.20 mg 15.80 mg 10.00 mg	-	No se demostró
8.	C.D.T.	120 hs (pre-EST) 144 hs (post-EST)	0.65 mg 1.00 mg	24.55 mg 16.80 mg	+	No se demostró
9.	M.C.O.O.	12 hs (pre-EST) 24 hs (pre-EST) 34 hs (post-EST) 40 hs (post-EST) 46 hs (post-EST) 56 hs (post-EST) 64 hs (post-EST) 80 hs (post-2°EST)	0.65 mg 0.45 mg 0.65 mg 1.15 mg 0.80 mg 0.65 mg 1.00 mg 0.30 mg	3.15 mg 9.25 mg 8.75 mg 16.05 mg 17.00 mg 18.05 mg 19.30 mg 14.20 mg	+++	CD
10.	M.N.B.	48 hs (pre-EST) 60 hs (pre-EST) 72 hs (pre-EST)	0.55 mg 0.65 mg 0.80 mg	17.25 mg 20.15 mg 20.00 mg	+	A
11.	A.G.R.	24 hs (pre-EST) 48 hs (post-EST) 72 hs (post-EST) 78 hs (post-2°EST)	0.65 mg 0.80 mg 1.00 mg 0.55 mg	19.80 mg 17.00 mg 23.50 mg 13.65 mg	++	A Ec
12.	G.M.F.	0 hs (pre-EST) 12 hs (pre-EST) 24 hs (pre-EST) 48 hs (post-EST) 72 hs (post-EST)	0.65 mg 0.65 mg 0.65 mg 0.80 mg 0.15 mg	4.45 mg 7.45 mg 11.55 mg 9.90 mg 10.90 mg	+++ +	CDE

	PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD (fenotipo)
13.	M.S.G.	24 hs (pre-EST) 48 hs (pre-EST) 72 hs (post-EST)	0.80 mg 1.30 mg 0.75 mg	19.20 mg 23.50 mg 15.25 mg	-	B
14.	E.B.G.	0 hs (pre-EST) 12 hs (post-EST) 24 hs (post-EST) 36 hs (post-EST)	0.80 mg 0.80 mg 0.10 mg 0.95 mg	3.90 mg 10.80 mg 10.10 mg 9.85 mg	+	A
15.	C.H.P.	24 hs (pre-EST) 48 hs (post-EST) 72 hs (post-EST)	0.40 mg 0.50 mg 0.40 mg	22.00 mg 19.50 mg 17.00 mg	+	A
16.	J.G.D.	24 hs (pre-EST) 48 hs (pre-EST)	0.70 mg 1.10 mg	17.70 mg 20.70 mg	+	A C
17.	B.U.P.	48 hs (pre-EST) 72 hs (post-EST)	0.55 mg 0.45 mg	22.45 mg 15.45 mg	+	A

TABLA II

PACIENTES EN QUE SE ENCONTRO HIPERBILIRUBINEMIA Y ANTICUERPOS.

	PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD (fenotipo)	
	1.	M.B.R.	24 hs.	0.55 mg	11.65 mg	+	A
	2.	P.P.M.	50 hs.	0.45 mg	12.85 mg	+	E c
	3.	M.E.S.S.	24 hs.	0.55 mg	10.65 mg	+	No se demostró
			72 hs.	0.80 mg	14.60 mg		
			96 hs.	0.90 mg	14.10 mg		
			120 hs.	1.60 mg	13.40 mg		
	4.	P.M.	48 hs.	0.55 mg	10.95 mg	+	No se demostró
I	5.	J.M.B.	24 hs.	0.55 mg	9.85 mg	+	A
B							
I	6.	M.M.O.	24 hs.	0.90 mg	15.40 mg	+	A E c
			36 hs.	0.80 mg	12.95 mg		
	7.	R.F.H.	48 hs.	0.65 mg	7.75 mg	+	A
	8.	M.G.L.	48 hs.	0.80 mg	13.80 mg	+	B
			72 hs.	1.25 mg	12.05 mg		
	9.	T.H.A.	48 hs.	0.35 mg	9.05 mg	+	No se demostró
	10.	M.C.M.	48 hs.	1.60 mg	13.00 mg	+	No se demostró
	11.	L.S.L.	48 hs.	0.65 mg	13.15 mg	+	A

TABLA II (continuación)

	PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD: (fenotipo)
12.	L.E.L.	48 hs. 72 hs.	0.50 mg 1.00 mg	12.10 mg 13.20 mg	+	C e
13.	I.G.L.	48 hs. 120 hs.	0.50 mg 1.75 mg	15.75 mg 11.75 mg	+	A e
14.	I.C.G.	32 hs. 80 hs.	0.60 mg 0.80 mg	13.20 mg 13.40 mg	+	B
15.	G.M.Ch.	96 hs.	0.65 mg	15.15 mg	+	C e
16.	E.C.A.	5 hs. 12 hs. 24 hs.	0.90 mg 0.55 mg 0.70 mg	3.15 mg 5.65 mg 9.90 mg	+	CDE
17.	J.A.D.	48 hs.	1.65 mg	11.95 mg	+	A
18.	E.H.G.	48 hs.	0.65 mg	10.25 mg	+	B
19.	S.R.C.	15 hs. 24 hs.	0.90 mg 1.30 mg	9.30 mg 14.90 mg	+	A
20.	C.Ch.B.	24 hs. 48 hs.	0.80 mg 0.80 mg	15.10 mg 13.30 mg	+	CDE
21.	A.M.H.B.	24 hs.	1.50 mg	10.50 mg	+	A
22.	J.G.G.	72 hs.	0.95 mg	8.05 mg	+	No se demostró

TABLA II (continuación)

	PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD (fenotipo)
23.	C.J.F.	48 hs.	0.95 mg	18.05 mg	+	A
24.	S.B.V.	120 hs.	0.80 mg	19.80 mg	+	No se demostró
25.	E.J.L.	70 hs.	0.40 mg	18.85 mg	++	A
26.	L.P.R.	24 hs.	0.40 mg	17.00 mg	+	A
		30 hs.	0.40 mg	18.00 mg		
		48 hs.	0.80 mg	11.60 mg		
27.	S.M.R.	24 hs.	0.80 mg	8.60 mg	+	A
28.	M.H.M.	24 hs.	0.95 mg	13.15 mg	+	A
		37 hs.	0.40 mg	13.70 mg		
29.	A.L.M.	2 hs.	0.45 mg	3.85 mg	+++	D
		24 hs.	0.55 mg	4.15 mg		
		36 hs.	1.15 mg	7.55 mg		

TABLA III

PACIENTES QUE PRESENTARON HIPERBILIRRUBINEMIA Y AUSENCIA DE ANTICUERPOS DEMOSTRABLES POR LA PRUEBA DE COOMBS.DIRECTA.

	PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS. DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD: (fenotipo)
1.	C.M.G.	24 hs.	0.40 mg	12.20 mg	-	A
		48 hs.	0.55 mg	14.85 mg		
		60 hs.	0.80 mg	11.80 mg		
2.	D.C.	24 hs.	0.65 mg	8.75 mg	-	No se demostró
3.	A.R.B.	24 hs.	1.90 mg	9.90 mg	-	No se demostró
4.	M.L.R.A.	95 hs.	1.40 mg	11.60 mg	-	No se demostró
5.	F.U.G.	120 hs.	1.50 mg	15.30 mg	-	No se demostró
6.	E.S.Ch.	36 hs.	1.15 mg	11.45 mg	-	No se demostró
7.	M.U.T.	48 hs.	1.40 mg	11.90 mg	-	No se demostró
8.	S.R.Q.	96 hs.	1.50 mg	12.30 mg	-	No se demostró
9.	S.P.M.	48 hs.	0.80 mg	17.90 mg	-	No se demostró
		72 hs.	1.40 mg	16.80 mg		
		96 hs.	1.15 mg	14.65 mg		
		120 hs.	1.50 mg	10.00 mg		
10.	A.Q.L.	96 hs.	0.65 mg	15.15 mg	-	No se demostró
11.	O.T.R.	12 hs.	0.65 mg	6.25 mg	-	CDE

TABLA III (continuación)

	PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD: (fenotipo)
12.	M.D.R.	48 hs.	1.25 mg	10.55 mg	-	C e
13.	J.C.B.	48 hs.	0.20 mg	9.90 mg	-	No se demostró
14.	G.G.M.	48 hs.	0.85 mg	7.85 mg	-	No se demostró
15.	M.L.R.	48 hs. 72 hs.	0.65 mg 1.00 mg	9.05 mg 10.80 mg	-	No se demostró
16.	B.G.P.	48 hs.	1.00 mg	8.90 mg	-	No se demostró
17.	T.A.A. (*)	72 hs.	0.65 mg	8.75 mg	-	No se demostró
18.	R.A.M.	48 hs.	0.55 mg	9.15 mg	-	No se demostró
19.	M.C.S.A.	48 hs.	0.55 mg	7.85 mg	-	No se demostró
20.	G.S.M.	36 hs. 48 hs.	0.45 mg 0.55 mg	5.85 mg 10.15 mg	-	No se demostró
21.	T.P.P.	24 hs.	1.15 mg	13.45 mg	-	B c.
22.	R.E.A.J.	72 hs.	0.45 mg	11.05 mg	-	No se demostró
23.	D.M.G.R.	60 hs. 70 hs. 96 hs. 144 hs.	1.00 mg 0.90 mg 0.80 mg 1.50 mg	10.80 mg 13.30 mg 13.40 mg 15.70 mg	-	No se demostró

TABLA III (continuación)

	PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD: (fenotipo)
24.	R.T.B.	48 hs. 72 hs. 96 hs.	0.80 mg 1.60 mg 1.25 mg	12.20 mg 12.20 mg 13.25 mg	-	No se demostró
25.	G.Z.C.	72 hs. 96 hs. 144 hs. 156 hs. 168 hs.	0.55 mg 0.90 mg 1.25 mg 0.90 mg 1.15 mg	14.85 mg 17.30 mg 17.45 mg 15.90 mg 14.25 mg	-	No se demostró
26.	M.A.G.	96 hs.	1.25 mg	15.95 mg	-	A c
27.	A.M.G.	48 hs. 60 hs. 72 hs.	0.65 mg 1.00 mg 1.25 mg	14.35 mg 14.80 mg 16.95 mg	-	No se demostró
28.	A.S.	24 hs. 48 hs.	0.55 mg 0.80 mg	12.60 mg 12.20 mg	-	A E e
29.	M.B.	0 hs.	0.55 mg	2.95 mg	-	D
30.	J.E.C.	12 hs.	0.35 mg	6.65 mg	-	No se demostró
31.	E.V.R.	24 hs.	0.50 mg	5.85 mg	-	No se demostró
32.	E.B.R.	24 hs.	0.20 mg	9.80 mg	-	B
33.	E.M.C.	72 hs.	1.10 mg	13.30 mg	-	No se demostró

TABLA III (continuación)

	PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD: (fenotipo)
34.	C.C.C.	24 hs.	0.55 mg	7.75 mg	-	No se demostró
35.	E.A.G.	24 hs.	0.55 mg	12.95 mg	-	c
36.	V.C.A.	36 hs.	0.45 mg	9.75 mg	-	No se demostró
37.	R.R.R.	48 hs.	0.50 mg	12.20 mg	-	No se demostró
38.	C.F.G.	48 hs.	0.45 mg	11.30 mg	-	c
39.	G.T.R.	48 hs.	0.50 mg	13.40 mg	-	A c
40.	S.V.	24 hs.	0.50 mg	9.30 mg	-	No se demostró
41.	M.P.G.	48 hs.	0.90 mg	20.30 mg	-	A
		72 hs.	0.90 mg	19.10 mg		
		80 hs.	1.10 mg	18.20 mg		
42.	E.S.Z.	59 hs.	0.20 mg	9.20 mg	-	No se demostró
43.	M.H.M.	48 hs.	1.10 mg	13.00 mg	-	No se demostró
44.	S.P.	24 hs.	0.80 mg	12.50 mg	-	No se demostró
45.	R.A.P.	96 hs.	1.20 mg	17.20 mg	-	C
46.	L.S.R.	96 hs.	0.45 mg	16.95 mg	-	No se demostró

TABLA III (continuación)

	PACIENTE:	EDAD:	BIL. DIR.	BIL. IND.	COOMBS DIRECTO	INCOMPATIBILIDAD: (fenotipo)
47.	L.S.A. (*)	60 hs.	2.05 mg	15.10 mg	-	A C
48.	M.G.P.	72 hs. 96 hs.	0.95 mg 1.15 mg	15.95 mg 19.45 mg	-	A
49.	M.C.J. (*)	48 hs.	1.50 mg	13.10 mg	-	E c
50.	M.S.E.	24 hs.	0.30 mg	10.10 mg	-	C D E
51.	A.D.V.	48 hs.	1.10 mg	17.30 mg	-	No se demostró
52.	C.T.A.	72 hs.	0.70 mg	14.70 mg	-	E c
53.	E.R.R.	120 hs.	0.80 mg	20.40 mg	-	E c
54.	Z.D.Z.	48 hs.	0.70 mg	16.70 mg	-	B

- 73 -

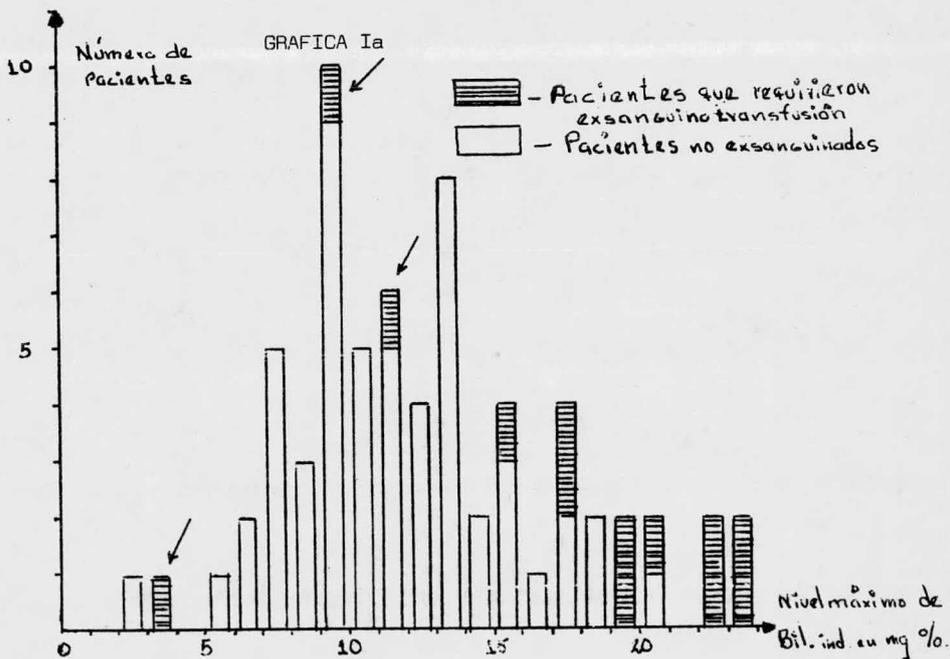
(*)	Pacientes que fallecieron:	Diagnósticos finales:
17.	T.A.A.	Septicemia (meningitis purulenta)
47.	L.S.A.	Septicemia
49.	M.C.J.	Prematurez

Para que resulte mas fácil discutir los resultados obtenidos, se estimó conveniente correlacionar entre sí, algunos de los datos encontrados, como son: resultado de la prueba directa de Coombs, niveles máximos de bilirrubina indirecta encontrados en cada paciente, edad del mismo, e incompatibilidad demostrada.

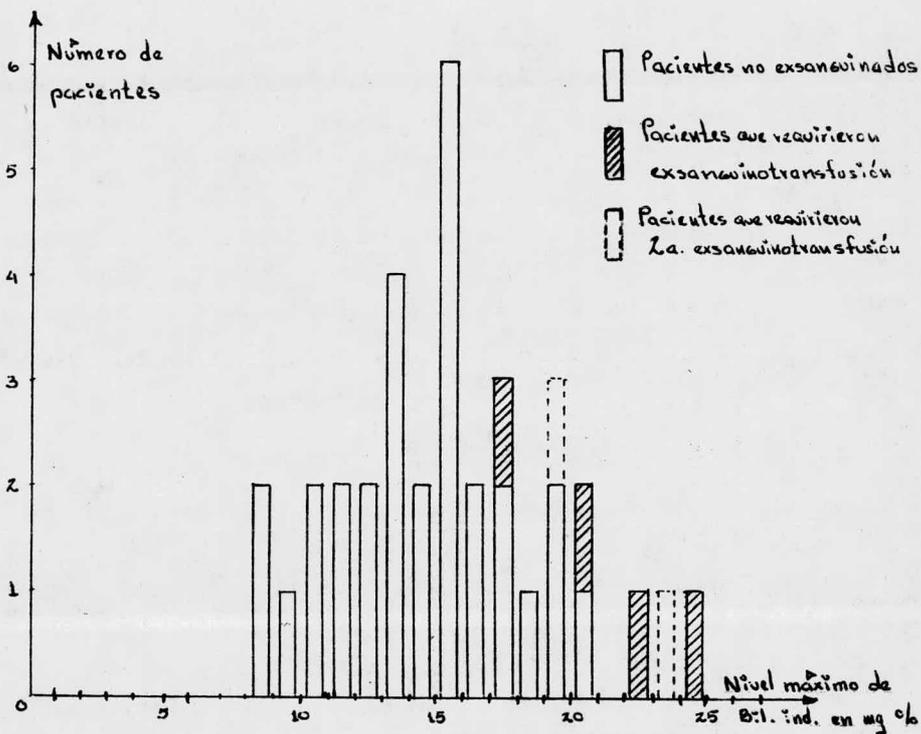
De esta manera se obtuvieron las siguientes gráficas:

Gráficas Ia y Ib: Frecuencia de niveles máximos de bilirrubina indirecta encontrados y número de casos en que fue necesario exsanguinar.

Teniendo en cuenta que para poder considerar una "hiperbilirrubinemia" como tal en un recién nacido, es muy importante la edad del mismo, en la gráfica Ia se colocó a los pacientes de hasta 48 horas; y en la Ib a los pacientes de mas de 48 horas.

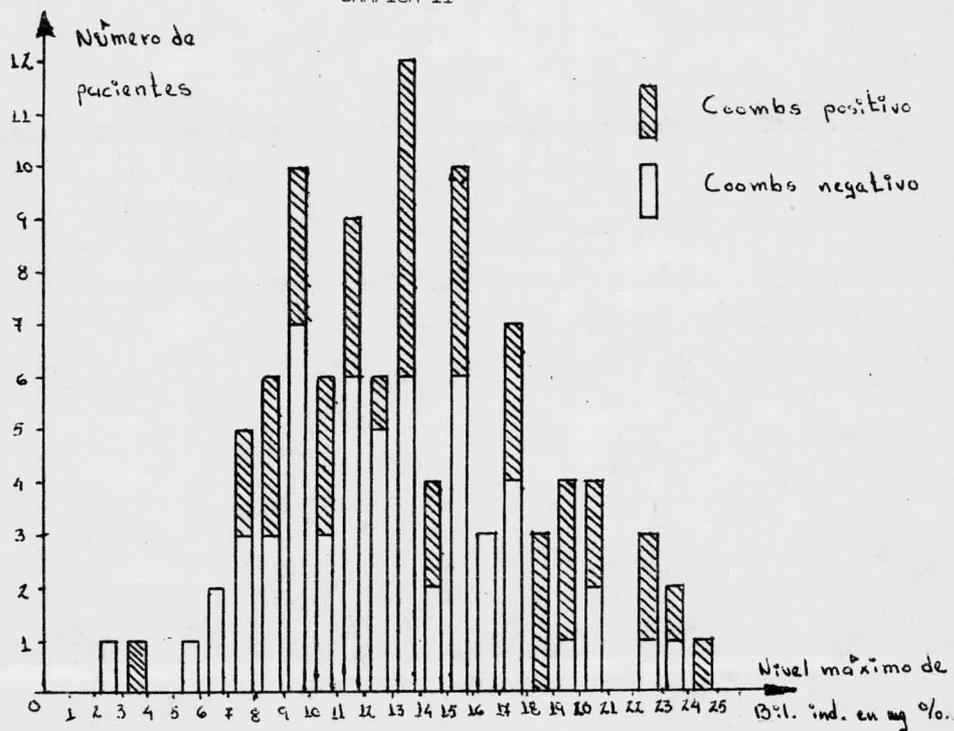


GRAFICA Ib



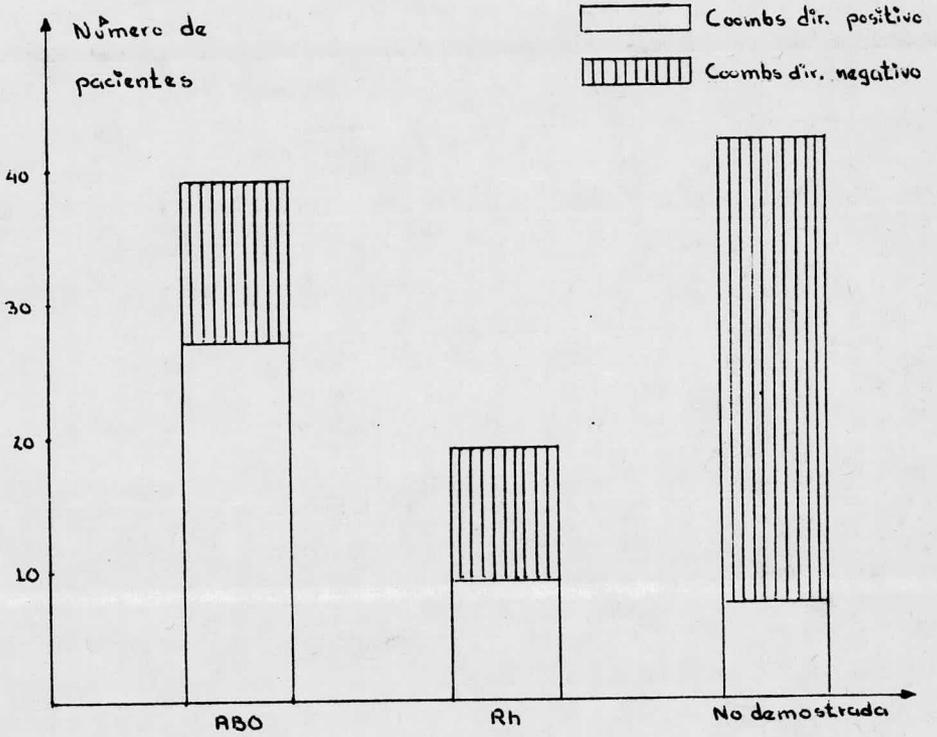
Gráfica II: Concordancia entre niveles máximos de bilirrubina indirecta y resultado de la prueba directa de Coombs.

GRAFICA II



Gráfica III: Concordancia entre el tipo de incompatibilidad demostrada con los resultados de la prueba directa de Coombs.

GRAFICA III



DISCUSION;

Se revisaron las tablas de resultados y se observó que de los 17 pacientes de la Tabla I, que fueron exsanguinados:

10 presentaron incompatibilidad de grupo "A", siendo en 9 de ellos la prueba directa de Coombs positiva.

2 pacientes presentaron incompatibilidad de grupo "B" y sólo en uno de ellos fue positiva la prueba directa de Coombs.

3 pacientes presentaron incompatibilidad en el sistema Rh (incluso el antígeno D) y en los 3 la prueba de Coombs fue positiva intensa.

2 pacientes presentaron ictericia severa, sin que se demostrara incompatibilidad en los sistemas mencionados.

De los 29 pacientes de la Tabla II de resultados, pacientes con prueba de Coombs directa positiva y que no fueron exsanguinados:

14 presentaron incompatibilidad de grupo "A".

3 presentaron incompatibilidad de grupo "B".

6 presentaron incompatibilidad en el sistema Rh.

Y en 6 de ellos no se demostró incompatibilidad en los sistemas estudiados.

Finalmente, de los 54 pacientes mencionados en la Tabla III de resultados, con prueba directa de Coombs negativa y no exsanguinados:

7 presentaron incompatibilidad de grupo "A".

3 incompatibilidad de grupo "B".

10 incompatibilidad en el sistema Rh. Y en el resto (34 pacientes) no se demostró incompatibilidad en dichos sistemas.



Al revisar los expedientes de los 100 pacientes encontramos que aproximadamente el 20 % de ellos, independientemente de si presentaron incompatibilidad o no, cursaron con procesos infecciosos asociados a su problema de ictericia, e incluso 2 de los recién nacidos fallecieron debido a septicemia. El principal tipo de infección que se presentó fue intestinal y en algunos casos meningitis y septicemia; los microorganismos aislados mas frecuentemente fueron: E. coli patógeno, y en algunos casos Salmonella o Shigella. En la mayoría de los casos, el tratamiento oportuno y adecuado con antibióticos fue capaz de controlar la infección. Resulta interesante notar que los niveles de bilirrubina de pacientes que cursaron con proceso infeccioso no difieren de aquellos reportados en pacientes con evolución favorable que sólo cursaron con su problema de ictericia.

Otra observación interesante es que, generalmente, cuando la incompatibilidad es en el sistema ABO y hay positividad de la prueba directa de Coombs, ésta es débil; en cambio, cuando la incompatibilidad es en el antígeno D del sistema Rh y el Coombs directo es positivo, lo es intensamente. En estos casos, si la prueba es débilmente positiva o negativa, es debido a que quizá la madre no es capaz de inmunizarse hacia dicho antígeno, cosa que ocurre frecuentemente cuando la abuela materna ha sido Rh positivo; o probablemente a que la madre se está reportando falsamente como Rh negativo siendo Du positivo y por lo tanto incapaz de inmunizarse.

También se observó que en los niños que se exsanguinaron, inmediatamente después de haber terminado el proceso se aprecia una baja en los niveles de

bilirrubina indirecta, sin embargo, poco tiempo después estas cifras vuelven a aumentar y finalmente a disminuir. Esto se debe a que al efectuar el recam bio de sangre, éste no se consigue en su totalidad, ya que quedan eritrocitos fetales atrapados en algunos vasos sanguíneos o venas y éstos son destruidos poco después de que se ha efectuado la exsanguinotransfusión; pero una vez que esto ocurre y al menos mientras permanecen los eritrocitos administrados al niño, ya no hay lisis de éstos.

Por otra parte, se revisaron las gráficas de resultados Ia y Ib y se obser vó que la mayor parte de los pacientes que se exsanguinaron fueron de menos de 48 horas y efectivamente la mayoría presentó niveles elevados de bilirrubina indirecta; sin embargo, se puede observar que en la gráfica Ia hay 3 pacientes (señalados con una flecha) en los que probablemente no estaba justificado recu rrir a esta medida terapéutica, sino que debieron hacerse nuevos estudios durante intervalos de tiempo razonables. Por el contrario, se ve también en la gráfica Ia, que hay pacientes con niveles superiores a los 18 mg/100 ml de bilirrubina indirecta que no fue necesario exsanguinar, ya que en estos casos sí se repitieron los exámenes de laboratorio y se observó que dichas cifras no iban en aumento.

En la gráfica II se observó cierta relación entre la hiperbilirrubinemia y la positividad de la prueba directa de Coombs, ya que a medida que los niveles máximos de bilirrubina indirecta encontrados aumentan, aumenta también el número de resultados positivos de la prueba de Coombs.

Por último, se observó en la gráfica III que existe cierta relación entre

la presencia de incompatibilidad y la positividad de la prueba de Coombs, ya que:

En los 39 casos en que hay incompatibilidad de grupo ABO, la mayoría (27 pacientes) dieron resultado de la prueba de Coombs positiva.

En los 19 casos de incompatibilidad en el sistema Rh, hubo 9 resultados positivos.

Y en los 42 pacientes en los que no se demostró incompatibilidad, la mayoría (35 de ellos), dieron resultados negativos para la prueba de Coombs. En estos casos la hiperbilirrubinemia ocurrió probablemente debido a inmadurez funcional hepática del niño, y en algunos de los casos no hubo tal hiperbilirrubinemia, sino más bien una mala clasificación del paciente.

CONCLUSIONES:

1. De 100 pacientes recién nacidos, que clínicamente presentaron ictericia temprana, en el 31 % se demostró incompatibilidad de grupo "A", en el 8 % de grupo "B", en el 19 % del sistema Rh y en el 42 % no se demostró incompatibilidad.
2. En el 4 % de los pacientes el Coombs directo fue positivo intenso (+++ o ++++), en el 39 % fue positivo débil (+ o ++) y en el 57 % fue negativo.
3. Los valores de bilirrubina indirecta mas frecuentemente encontrados fueron de entre 13 y 14 mg/100 ml (Grafica II).
4. El valor de bilirrubina indirecta mas alto encontrado fue de 24.55 mg/100 ml en un paciente de 120 horas (Gráfica II).
5. En tres casos de pacientes de 0 a 48 horas que fueron exsanguinados, en nuestra opinión no se justificó esta conducta médica, ya que los niveles de bilirrubina indirecta eran de 3.90, 9.25 y 11.55 mg/100 ml (Gráfica Ia).
6. Los niveles de bilirrubina indirecta mas altos con los que no se decidió exsanguinar fueron 20.3 y 20.4 mg/100 ml (Gráficas Ia y Ib).
7. De lo anterior y de la literatura revisada, podemos afirmar que siempre es indispensable valorar los riesgos que se corren al decidir recurrir a medidas terapéuticas como la exsanguinotransfusión, y lo mismo podría decirse de algunos procedimientos de diagnóstico como la amniocentesis, ya que probablemente en estos casos, mas bien podría dañarse al niño que ayudarlo.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bartsch, F. K. 1971. Bilirubin in the amniotic fluid. Ann. Ostet. Ginecol. 92: 482.
- 2.- Blum, D. 1973. Agar in control of hyperbilirubinemia. J. Pediatr. 83: 345.
- 3.- Boyd, W. C. 1966. Fundamentals of Immunology. Interscience Publishers. U.S.A. 272. 4a edición
- 4.- Britt, R.P. 1972. Liquor bilirubina levels in Rhesus haemolytic disease. Br. Med. J. 3: 588.
- 5.- Buñuel, C. 1973. Aplicación de la prueba del 2 mercaptoetanol al diagnóstico y predicción de la enfermedad hemolítica del recién nacido por conflicto ABO. Sangre 18: 15.
- 6.- Clarke, C. A. 1972. Blood group incompatibility between mother and foetus. Clin. Sci. 43: 1.
- 7.- Edwards, R. G. 1972. Immunology of pregnancy. Acta. Endocrinol. (suppl.) 166: 506.
- 8.- Goudemand, M. 1970. Eléments d'Immuno-hématologie. Flammarion Médecine-Sciences Paris. 2a edición
- 9.- Hoffbauer, H. 1971. Antibody titres in blood and amniotic fluid. Ann. Ostet. Ginecol. 215: 199.

- 10.- Hoppe, I. 1973. Pregnancy induced leukocyte (HL-A) antibodies.
Arch. Gynaekol. 215: 199.
- 11.- I.M.S.S. 1973. Resúmenes del curso monográfico sobre isoinmunización materna y enfermedad hemolítica fetal por incompatibilidad sanguínea. Hospital de Ginec Obstetricia No. 1. México D.F.
- 12.- Jinich, H. B. 1970. El enfermo icterico. 3a.edición. Editorial Interamericana. México. 147.
- 13.- Kúsniierz, G. 1974. Chromatographic separation and serological analysis of antibodies in the sera of mothers with ABO incompatibility. Arch. Immunol. Ther. Exp. 22: 161.
- 14.- Merger, R. 1972. Fetomaternal incompatibility in the Rh system. Haemolytic disease of the foetus. J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. 1: 105.
- 15.- Mollison, P. L. 1971. The role of Rh antibodies in causing haemolytic disease of the newborn and in preventing it. J. Clin. Pathol. 24: 479.
- 16.- Nelson, G. H. 1972. Spectrophotometric analysis of amniotic fluid in ABO incompatibility. Am. J. Obstet. Gynecol. 112:860.

- 17.- Phototherapy in neonatal jaundice. 1972. Br. Med. J.
2: 62.
- 18.- Pranker, T. A. 1976. Clínica Hematológica. Anemias Hemolíticas. Salvat Editores. España.
- 19.- Race, R. R. y R. Sanger. 1970. Blood Groups in Man. Blackwell Scientific Publications. Oxford England. 5a edición.
- 20.- Rapaport, S. I. 1971. Introduction to Hematology. Harper y Row Publishers. L. A. Calif. U.S.A. 1a edición.
- 21.- Roitt, I. M. 1971. Essential Immunology. Blackwell Scientific Publications. Oxford England. 1a edición
- 22.- Salas, A. m. 1970. Indicaciones de la exsanguinotransfusión por hiperbilirrubinemia en el recién nacido. Bol. Med. Hosp. Inf. 23: 803.
- 23.- Smith, C. H. 197 . Hematología Pediátrica. Salvat Editores S.A. España. 2a edición
- 24.- Voak, D. 1971. An explanation of the failure of the direct antiglobulin test to detect erythrocyte sensitization in ABO haemolytic disease of the newborn and observations on pinocytosis of IgG anti-A antibodies by

- infant (cord) red cells. Br. J. Haematol. 20: 9.
- 25.- Wiener, A. S. 1963. An Rh-Hr syllabus. The types and their applications. Grune and Stratton Inc. N. York U.S.A. 2a edición.
- 26.- Wieser, R.S., Q. N. Myrvik y N. N. Pearsall. 1969. Fundamentals of Immunology. Philadelphia U.S.A. 263. 1a edición.
- 27.- Woodrow, J.R. 1975. Mechanism of Rh immune prophylaxis: an experimental study of specificity of immunosuppression. Br. Med. J. 2: 57.
- 28.- Zipursky, A. 1975. Prevention of Rh immunization. Can. Med. Assoc. J. 113: 227.
- 29.- Zmijewski, Ch. M. 1968. Immunohematology. Appleton Century Crofts. N. y. U.S.A.