

Artículos originales

Instituto de Hematología e Inmunología

TÍTULO Y CONCENTRACIÓN DE IgG ANTI D EN LA ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL FETO Y EL RECIÉN NACIDO

Dra. María Elena Alfonso Valdés,¹ Dr. Víctor H. Cortés Rodríguez,¹ Lic. Patricia Hernández Díaz,² Lic. Antonio Bencomo Hernández,¹ Lic. Yalile Alfonso Valdés,¹ Dra. Girelda Cordero López,³ Dra. Sonia Águila⁴ y Téc. Lisette Orbeal Aldama¹

RESUMEN

La predicción prenatal de la enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido (EHFRN) y la severidad de esta, por métodos no invasivos, es de gran importancia para la adopción temprana de medidas que eviten o minimicen el daño fetal. Se realizó un estudio retrospectivo de datos de las historias clínicas y resultados de laboratorio de 14 mujeres Rh D negativas, en el que se analizó la relación entre los títulos de anticuerpos IgG anti D séricos, determinados por la prueba de anti-inmunoglobulina indirecta durante los 3 trimestres del embarazo y la afectación del feto-neonato por EHFRN. Se introdujo un método inmunoenzimático para medir la concentración de IgG anti D en los sueros conservados en el laboratorio, correspondientes al final del último trimestre del embarazo. Se concluyó que las variaciones de los títulos de anticuerpos entre los trimestres I-II y I-III son valiosas para la predicción de afectación fetal-neonatal. La concentración de IgG anti D fue mayor de 4 UI/mL en todos los casos con afectación clínica y aumentó de acuerdo con la severidad de la enfermedad. Se propone introducir este método en el seguimiento de embarazadas Rh D negativas.

Descriptores DeCS: ERITROBLASTOSIS FETAL/prevención y control; GLOBULINA INMUNE RHO(D); TEST DE ELISA.

La enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido (EHFRN) es una condición en la cual se reduce la vida media

de los eritrocitos del feto o el neonato debido a la acción de aloanticuerpos (aloAcs) eritrocitarios maternos que

¹ Instituto de Hematología e Inmunología.

² Laboratorios BETERA.

³ Facultad "Enrique Cabrera".

⁴ Hospital Ginecoobstétrico "Eusebio Hernández".

atravesan la barrera placentaria. La EHFRN comienza durante la vida intrauterina, puede ser severa y causar anemia intensa en el feto, la cual puede llevar a hidropis y óbito fetal o a hiperbilirrubinemia, íctero y aún kerníctero en el recién nacido.¹⁻³

La patogenia de la EHFRN consta de 3 estadios: aloinmunización materna, transferencia de inmunoglobulina G (IgG) al feto y destrucción de los hematíes fetales.

La aloinmunización por antígenos (Ags) eritrocitarios se produce como consecuencia del contacto del sistema inmune de un individuo con antígenos presentes en los hematíes de otro individuo, de los cuales él carece.^{4,5}

La transferencia de Acs maternos a la circulación fetal ocurre a través de la placenta; la única Ig capaz de atravesar la barrera placentaria es la IgG, de la cual sólo se transfieren pequeñas cantidades durante el primer trimestre de gestación.

Aproximadamente un tercio de las embarazadas con aloAcs anti Rh D contiene solo IgG, la mayor parte de las restantes contiene una mezcla de IgG₁ + IgG₃ anti D.⁶ Esta última combinación se asocia con frecuencia a EHFRN severa.^{1,7,8}

Los aloAcs responsables de la EHFRN pueden estar dirigidos contra antígenos de varios sistemas de grupos sanguíneos, entre ellos ABO, Rh, Kell, Duffy, Kidd y MNSs. En Europa y Norteamérica, incluida Cuba, el aloAc más comúnmente asociado con EHFRN severa es el anti Rh D, seguido por anti c y anti K, y es además la causa más común de muerte por dicha patología. Muestra de ello es que el 60 % de los infantes con prueba de antiglobulina directa (PAD) positiva debido a anti D, necesitan exanguinotransfusión, mientras que sólo el 30 % de los que presentan anti-c requieren de este proceder.^{1,3,9-12}

En toda mujer embarazada Rh D negativa, se debe investigar la presencia de aloAcs anti Rh (D) durante la captación del embarazo (entre las 12 y 16 semanas). De detectarse aloAcs se debe determinar su especificidad, así como el título y/o concentración sérica. En estos casos, se debe determinar el grupo sanguíneo a la pareja para determinar si posee el Ag eritrocitario contra el que la embarazada está sensibilizada. En caso de detectarse aloAc anti D, se debe repetir el título y/o concentración durante los 3 trimestres del embarazo, mensualmente hasta las 28 semanas y posteriormente cada 15 días, incluso en mujeres primíparas se pueden detectar ocasionalmente anticuerpos producto de abortos o transfusiones previas.²

En los niños nacidos de mujeres que presentan aloAcs eritrocitarios de importancia clínica, se debe realizar el diagnóstico de EHFRN, mediante la PAD. Si la prueba es positiva, se deben determinar los niveles de Hb y bilirrubina.^{1,2,13} En la práctica es difícil definir sólo por el íctero y la anemia si existe hemólisis inmune, ya que en la mayoría de los recién nacidos hay un aumento de la concentración de bilirrubina sérica en los 2 ó 3 primeros días de vida y existe una progresiva disminución de la concentración de hemoglobina que continúa por un período de 2 a 3 meses.² Algunos autores consideran las cifras elevadas de bilirrubina indirecta por encima de 342 mmol/L como un buen criterio para practicar exanguinotransfusión en infantes con PAD positivas.¹⁴

La inmunoprofilaxis con anti D, los avances en la medicina fetal, y el alto nivel del manejo obstétrico, así como de los cuidados intensivos neonatales, han permitido lograr una reducción significativa de la mortalidad por esta enfer-

medad en las últimas 3 décadas en el mundo desarrollado.^{1,15,16}

No existe un método único capaz de predecir el 100 % de los casos de EHFRN, por lo que el nivel de aloAcs y su variación, así como los antecedentes de EHFRN anterior, suelen ser elementos predictivos útiles. Existen varias técnicas no invasivas que miden y/o caracterizan los anticuerpos séricos maternos y son útiles para predecir la severidad de la EHFRN, entre las que se encuentran técnicas serológicas tales como la prueba de antiglobulina indirecta (PAI) y la cuantificación de anti D con el empleo de un analizador automatizado, ensayo inmunoenzimático (ELISA) y la citometría de flujo. Todas ellas tienen un valor predictivo limitado. Otros ensayos *in vitro* intentan mimetizar las condiciones en que se produce la hemólisis de los glóbulos rojos fetales en la EHFRN. Entre ellos se encuentran el ensayo monocítico-macrofágico y la prueba de citotoxicidad celular dependiente de Acs (ADCC).¹⁷⁻²²

Otros métodos diagnósticos empleados son los estudios fetales por ultrasonografía, amniocentesis o a través de tomas de muestras de sangre fetal. Los 2 últimos tienen la desventaja de ser invasivos, y por lo tanto, pueden aumentar el riesgo fetal.^{2,16,21,22}

Algunos autores señalan que las pruebas cuantitativas se correlacionan mejor con la severidad de la enfermedad que los títulos de anticuerpos. En estudios realizados en países como el Reino Unido, se ha encontrado correlación entre los niveles de anti D materno cuantificados por el autoanalizador y la severidad de la enfermedad. Un nivel de anti D mayor de 4 UI/mL es considerado significativo para provocar la destrucción mediada por células, cuando se ha utilizado el autoanalizador.^{3,7,23} Sin embargo, se han encontrado altos niveles de aloAcs en

algunos casos de EHFRN leves y niveles de aloAcs relativamente bajos en casos con afectación severa, lo que sugiere que la severidad de la afectación está asociada con otros factores en adición al de la concentración de Ac.²²

Los ensayos inmunoenzimáticos se han utilizado para la detección de numerosas reacciones Ag-Ac y se emplean en nuestro país en numerosos centros de salud con múltiples fines. Su sensibilidad es comparable con la del radioinmunoensayo, los reactivos empleados por lo general tienen una conservación prolongada, su lectura es fácil y los resultados se pueden medir en microgramos por mililitros. Mediante esta técnica se puede determinar la concentración de aloAcs anti D en suero, por lo que se puede emplear con propósitos clínicos en el monitoreo de la inmunización feto-materna.^{24,25}

En Cuba nunca se han aplicado métodos para cuantificar la concentración de IgG anti D en el suero materno, por lo que el seguimiento de la embarazada aloinmunizada se realiza a través del título de anticuerpos por PAI; tampoco contamos con estudios en los que se relacionen los títulos de anticuerpo o la variación de estos con el desarrollo de signos de enfermedad hemolítica en el feto y recién nacido, por lo que se decidió la realización de este trabajo.

MÉTODOS

Se revisaron las historias clínicas de 14 púerperas Rh D negativas con parejas Rh D positivas, a las que previamente se les había realizado el estudio inmunohematológico de seguimiento durante el

embarazo en el Laboratorio de Inmunohematología del Instituto de Hematología e Inmunología.

En el laboratorio se recogieron los datos siguientes:

- Nombre y apellidos.
- Número de historia clínica.
- Grupo ABO y Rh.
- Resultados de la PAI en los 3 trimestres de embarazo.
- Título de IgG anti D por PAI.

De las historias clínicas se recolectaron los datos siguientes:

- Antecedentes obstétricos (embarazos, partos y abortos).
- Antecedentes de fetos/niños anteriormente afectados por EHFRN.
- Trastornos en el curso del embarazo.
- Signos de afectación por EHFRN del feto/niño del último embarazo, tales como: disminución de la cifra de Hb, aumento de las cifras de bilirrubina indirecta, hepatoesplenomegalia, PAD positiva, necesidad de fototerapia, necesidad de transfusión intraútero o exanguinotransfusión, hidropis fetal, muerte fetal/neonatal.
- Grupo sanguíneo del niño.

Según el grado de afectación del feto/niño, se dividieron los casos en 4 grupos:¹⁵

1. Afectados severos: casos en que ocurrió muerte fetal/neonatal o hidropis fetal.
2. Afectados moderados: casos con algún grado de hepatoesplenomegalia, anemia moderada, ictericia severa con riesgo de kerníctero si no se efectúa tratamiento; estos casos necesitaron transfusión intraútero o exanguinotransfusión.
3. Afectados leves: casos con anemia leve (> 100 g/dL), bilirrubina inferior a 340 $\mu\text{mol/L}$, que no requirieron

tratamiento o solo requirieron fototerapia o transfusión sencilla.

4. No afectados: casos sin signos clínicos o de laboratorio de EHFRN.

Se cuantificó la concentración de IgG anti D empleando un método de ELISA en todos los sueros maternos del último trimestre del embarazo.

Método de ELISA para la cuantificación de IgG anti D²⁴

Se emplearon microplacas de poliestireno con 96 pozos de fondo en U recubiertas previamente con albúmina sérica bovina al 2 % en solución amortiguadora de fosfato de sodio (SAF-ASB al 2 %) incubadas durante toda la noche a 4 °C. La solución se eliminó antes del uso de la placa en el ensayo.

Fase de sensibilización: en cada pozo se depositaron 20 μL de eritrocitos humanos Rh D positivos al 4 % en SAF a pH 7,3; posteriormente en 8 de los pozos se añadieron 40 μL de diluciones dobles del estándar internacional de anti D (lote 68/419), con una concentración de anti D de 1,2 $\mu\text{g/mL}$; en otro pozo un suero control con una concentración de anti D de 10 $\mu\text{g/mL}$ y en los restantes triplicados de cada una de las muestras de suero de las embarazadas obtenidas durante el tercer trimestre, diluidas 1/200 en SAF. Se utilizó como control negativo un suero AB de donante masculino sano. La placa se incubó a 37 °C durante 30 minutos.

Después de la incubación, todos los pozos se lavaron 3 veces con SAF y se centrifugaron cada vez a 1 000 rev/min durante 2 min a 20 °C.

Reacción antiglobulínica: se añadieron en cada pozo 50 μL de suero de carnero anti IgG humana conjugado con fosfatasa alcalina (Sigma), diluido 1/600 en

SAF-ASB al 2 %. Después de incubar durante 30 minutos a 37 °C, se lavaron los pozos de la forma antes descrita.

Reacción enzimática: se añadieron 50 µL de solución de sustrato p nitrofenil fosfato de sodio (Sigma) a cada pozo, disuelto a una concentración de 1 mg/mL en solución amortiguadora de carbonato/bicarbonato 0,05 M (Na₂CO₃ /NaHCO₃) con 2mM MgCl₂; pH 9,8 y se incubó la placa durante 20 minutos a 37 °C.

Se centrifugó a 1 000 rev/min durante 5 minutos a 20 °C, y se transfirieron 40 µL de sobrenadante de cada pozo a los correspondientes pozos de una nueva placa que contenía 40 µL de formaldehído al 10 %.

Se midió la densidad óptica (DO) a 405 nm en cada uno de los pocillos de esta nueva placa, en un espectrofotómetro ANTHOS.

Con el uso de las diluciones del estándar internacional de anti D se determinaron las concentraciones de IgG anti D. Se realizó una regresión lineal y se determinó el cálculo de la correlación, mediante la recta de mejor ajuste para los puntos obtenidos, en la que los valores de y correspondían con los de la DO y los de x con los del logaritmo de la concentración de Ac. La concentración obtenida en µg/mL se convirtió a UI/mL, considerando que 1 µg = 5 UI.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para aplicar las pruebas estadísticas se llevaron los valores a comparar a logaritmo neperiano (de base 2).

Para las comparaciones entre 2 grupos se empleó el estadígrafo t de Student y para las comparaciones entre 3 o más grupos el análisis de varianza (ANOVA), en ambos casos para un intervalo de confianza $\alpha = 0,05$.

Para evaluar la correspondencia entre los valores de títulos y cuantificación de anticuerpos se realizó una correlación lineal

y posteriormente se aplicó la t de Student para n-1 grados de libertad, para verificar si era significativo el valor de r obtenido.

RESULTADOS

De los 14 casos estudiados, 10 presentaron afectación clínica neonatal o fetal (2 leve, 4 moderada y 4 severa) y 4 no presentaron afectación (tabla 1).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los antecedentes obstétricos de embarazos, partos y abortos en los casos con afectación neonatal/fetal y los casos no afectados.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,02$) entre los antecedentes de embarazo en el grupo con afectación moderada y el grupo con afectación severa, no así entre los antecedentes de partos y abortos por separado.

No se observaron diferencias significativas entre los títulos de anticuerpos anti D del primer trimestre de embarazo en los casos afectados y no afectados (tabla 2). Sin embargo, se observaron diferencias significativas ($p < 0,004$) entre los títulos de anti D del tercer trimestre de embarazo en los casos afectados y no afectados (tabla 2).

También se encontraron diferencias significativas ($p < 0,01$) en la variación entre el título final e inicial de anti D, en los casos afectados y no afectados (tabla 3).

No se observaron diferencias significativas entre la variación del título final de anti D en relación con el inicial, en los grupos con diferente grado de afectación clínica.

Se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0,006$) entre la variación del título de anti D del segundo trimestre con relación al primero, en los casos afectados y no afectados (tabla 3) y entre los grupos con diferente grado de afectación.

TABLA 1. Antecedentes obstétricos, título y concentración de la Ig G anti D en los casos estudiados

Caso No.	Grado de severidad	Antecedentes obstétricos			Título de Ig G anti D (trimestres)			Concentración UI/mL
		E	P	A	I	II	III	
2	Leve	3	1	1	0	64	256	4,65
9	Leve	8	4	3	0	32	32	6,00
3	Moderada	3	2	0	4	8	64	12,00
4	Moderada	4	1	2	64	256	512	5,00
6	Moderada	3	1	2	64	128	512	7,50
10	Moderada	3	1	1	1	8	64	512
1	Severa	5	1	3	8	32	256	23,00
5	Severa	4	0	3	64	64	128	36,40
7	Severa	5	2	2	16	16	256	17,90
14	Severa	4	1	2	64	128	512	120,50
8	No afectado	4	1	2	Puro	Puro	Puro	98,55
11	No afectado	4	1	2	8	8	16	3,00
12	No afectado	4	0	3	64	64	64	2,00
13	No afectado	4	1	2	2	2	2	3,50

E: embarazos; P: partos; A: abortos.

TABLA 2. Comparación en los títulos de IgG anti D en los trimestres I y III entre el grupo de afectados y no afectados

Grado de afectación	Título de IgG anti D (trimestres)	
	I ($\bar{X} \pm DS$)	III ($\bar{X} \pm DS$)
No afectados	18,75 \pm 30,17	20,75 \pm 29,48
Afectados	29,2 \pm 30,13	304 \pm 194,10
Significación	NS	P < 0,003

TABLA 3. Comparación de la variación del título de Ig G anti D en el grupo de afectados y no afectados

Grado de afectación	Variación del título de IgG anti D (trimestres)	
	III-I ($\bar{X} \pm DS$)	II-I ($\bar{X} \pm DS$)
No afectados	2 \pm 3,81	0
Afectados	274,8 \pm 179,9	50 \pm 56,38
Significación	P < 0,006	P < 0,01

No se observaron diferencias significativas entre los valores de la concentración de anticuerpos anti D determinados por ELISA en el tercer

trimestre, en casos afectados y no afectados, así como entre los grupos con diferente grado de severidad.

Todos los casos con afectación clínica presentaron concentraciones de IgG anti D mayores que 4 UI/mL.

Se observa un incremento en los valores de la concentración a medida que aumenta la severidad clínica de los casos estudiados (tablas 1 y 4).

TABLA 4. Valores centrales y de dispersión de la concentración de IgG anti D materna según la severidad de la EHFRN

Grado de severidad	Concentración de IgG anti-D (UI/mL) ($\bar{X} \pm DS$)
Leve	5,325 \pm 0,9545
Moderada	8,5 \pm 4,11
Severa	29,5 \pm 48,04

No existió correlación entre el título de anticuerpo anti D determinado por la PAI en el tercer trimestre y la cuantificación de este por ELISA.

DISCUSIÓN

La predicción prenatal de la EHFRN y su severidad, a través del estudio de los aloAcs séricos maternos, es de gran importancia para el éxito en el manejo clínico de esta enfermedad y permite la adopción temprana de medidas encaminadas a disminuir la morbiletalidad en el feto o el recién nacido. Un fallo en la predicción de la EHFRN a través de los estudios *in vitro* de los aloAcs del suero materno, puede conducir al empleo de procedimientos invasivos en fetos no afectados o con EHFRN leve, con el consiguiente aumento de los riesgos del embarazo como la hemorragia transplacentaria, que conduce a la exacerbación de la aloinmunización materna y el peligro de anemia fetal.²²

En nuestro medio sólo contamos con los antecedentes de afectación de embarazos previos y los títulos de Acs anti D, determinados por la prueba de antiglobulina indirecta, para la predicción de la severidad de la EHFRN, previo al empleo de la ultrasonografía o de pruebas invasivas fetales. No conocemos antecedentes en la literatura científica cubana de investigaciones en las que se estudie la relación entre los títulos de Acs maternos y las manifestaciones clínicas de EHFRN, por lo que no es posible comparar los resultados de este estudio con otras experiencias nacionales.

Los antecedentes obstétricos generales no resultaron de valor en el análisis de la muestra seleccionada. Dos de las mujeres estudiadas presentaban antecedentes de embarazos anteriores con fetos/niños afectados por EHFRN, una de ellas tuvo un niño con afectación severa y la otra uno no afectado, el cual resultó ser Rh D negativo. Debido al pequeño número de la muestra, no se pudo realizar un análisis estadístico de este factor predictivo.

El título de Ac anti D materno por PAI se emplea como una medida de la respuesta de Ig G materna. El título crítico se define como aquel en el cual existe riesgo importante de desarrollar hidropis fetal; muchos centros usan un valor del título entre 8 y 32 para su definición de valor crítico, a partir del cual indican técnicas invasivas.²⁶ El título de aloAcs anti Rh D determinado al inicio del embarazo no fue útil para la predicción de la afectación o grado de severidad, ya que se comportó de forma similar en los grupos con afectación y sin ella; los casos de afectación moderada y severa tuvieron títulos iniciales que fluctuaron entre 4 y 64. El valor del título de aloAcs en el tercer trimestre del embarazo fue significativamente más alto en los casos afectados en relación con los no afectados, por lo que se decidió analizar la influencia de la variación entre los títulos en los diferentes trimestres de embarazo en la predicción de la EHFRN y su grado de severidad. El incremento en el título de aloAcs en el tercer trimestre en relación con el primero, fue significativamente mayor en los casos con afectación clínica, en comparación con los no afectados (tabla 2), pero se comportó de manera similar en los grupos con diferente grado de afectación, lo que refleja la utilidad de este parámetro en la presencia o no de la enfermedad, pero no en el grado de severidad de esta. La diferencia fue también significativa cuando se analizó el incremento de los títulos de anti D en el segundo trimestre en relación con el primero (tabla 2), tanto entre los grupos con afectación y sin ella, como entre los de diverso grado de afectación. Este resultado permite proponer la diferencia entre el título de anti D del segundo y primer trimestre como un elemento de valor predictivo de la EHFRN y el grado de severidad de esta, útil además porque permite hacer una estimación en un período poco avanzado del embarazo. Estos hallazgos coinciden con otros informes.²

En Cuba no se aplicaba ninguna técnica de cuantificación de Acs anti Rh D para el seguimiento de las embarazadas Rh D negativas; estas técnicas suelen tener una mejor correspondencia con el curso clínico de la enfermedad que los métodos serológicos,³ por lo que se cumplió con el objetivo de introducir un ensayo inmunoenzimático para la determinación de la concentración sérica de IgG anti D en embarazadas Rh D negativas, como parte del desarrollo del programa de prevención de la EHFRN. El ensayo inmunoenzimático es un método ampliamente utilizado en nuestro sistema de salud con fines diagnósticos, los reactivos y equipamientos necesarios para su ejecución en la cuantificación de anti D están disponibles, con la única excepción del estándar internacional de anti D. Lo anterior, sumado a la relativa economía del método, hace factible su generalización para estos fines. Otros métodos empleados para la cuantificación de anti D tienen varias dificultades para su aplicación en nuestro medio. La cuantificación de anti D por analizador automático, a pesar de ser la más ampliamente utilizada, tiene la desventaja de su alto costo y de ser una técnica de hemaglutinación que detecta tanto Acs IgG como Ig M, estos últimos sin valor clínico en la EHFRN, porque no son capaces de atravesar la barrera placentaria. El método de citometría de flujo, que al igual que el de ELISA detecta sólo los Acs IgG, tiene un alto grado de sensibilidad y seguridad, pero tiene la desventaja de su alto costo.²⁰

Se cuantificó la concentración de IgG anti D en las muestras obtenidas en el tercer trimestre del embarazo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de concentración de IgG anti D en el grupo sin afectación clínica y en el grupo afectado (tabla 4), porque uno de los casos no afectados presentó un valor

de concentración muy elevado, sin embargo, en el resto de los casos, las concentraciones de IgG anti D fueron inferiores a 3,50 UI/mL (tabla 1). La presencia de altas concentraciones de Acs en mujeres que tienen niños sin manifestaciones clínicas, e incluso Rh D negativos, se ha observado por otros autores;²⁷ en esta casuística el caso con concentración elevada fue el único de los no afectados en que el niño era del grupo Rh D positivo, lo que puede explicar el valor de concentración a pesar de no haber daño fetal, ya que puede haber coexistido un aumento en la producción de aloAc con un fallo en el paso transplacentario de la IgG materna. El fallo en el paso transplacentario se puede deber a trastornos en el mecanismo de transporte, características genéticas del R Fc gamma, presencia de Acs HLA inhibitorios o a las subclase de Ig producida, ya que sólo las Igs IgG₃ e IgG₁ son capaces de atravesar la barrera y producir daño fetal.²²

Por otra parte, se observó un aumento en los valores de concentración a medida que aumentó la severidad clínica de los casos, lo que se hace más apreciable cuando se comparan los valores obtenidos en los casos leves y moderados en conjunto con los obtenidos en los casos severos (tabla 4). Estos resultados evidencian que la concentración de Ig G determinada por ELISA puede tener valor para el pronóstico de la severidad de los casos.

Los valores de concentración en los casos con afectación clínica se encuentran todos por encima de 4,7 UI/mL, lo que se corresponde con lo informado en la literatura para la predicción de severidad clínica.^{1,2,26}

Varios investigadores^{8,18} han observado una falta de correspondencia entre los valores de los títulos de aloAcs y su concentración sérica, determinada por métodos de cuantificación como el ELISA o el autoanalizador; esta observación

también se describe aquí, ya que no se encontró correlación entre los títulos de Acs detectados en el tercer trimestre del embarazo y los valores de concentración sérica determinados por ELISA en la muestra estudiada.

Todos los autores coinciden en que no existe un método infalible para la predicción de la EHFRN. La EHFRN es un proceso complejo, en el que la severidad de cada caso individual está determinada por un conjunto de factores combinados, los que se deben tener en cuenta para predecir la afectación clínica a partir de ensayos que

midan o caractericen los Acs en la circulación materna. Entre estos factores se encuentran las subclases y grado de glicosilación de los Acs maternos; la estructura, densidad del sitio, madurez del desarrollo y distribución tisular de los Acs de grupo sanguíneo; la eficiencia del transporte de la IgG materna al feto, la madurez funcional del bazo fetal, polimorfismos que afectan la función del receptor Fc y la presencia de Acs inhibitorios relacionados con el sistema principal de histocompatibilidad (HLA).²²

SUMMARY

The prenatal prediction of the hemolytic disease of the fetus and newborn and the severity of this disease by non-invasive methods is highly important for the early adoption of measures that avoid or minimize fetal damage. We made a retrospective study of medical histories data and lab results of 14 Rh D-negative women in which the relationship between serum anti-D IgG antibodies titers, determined by indirect antiglobulin test during the three pregnancy trimesters, and the effects of the hemolytic disease on fetus and newborn was analyzed. An immunoenzymatic method was introduced to measure anti-D IgG concentrations in lab-preserved sera collected at the end of the last pregnancy trimester. It was concluded that the variations of antibody titers from the first to the second trimester and from the first to the third trimester are useful for the prediction of fetal-neonatal effects. Anti-D IgG concentration was higher than 4 UI/mL in all the cases with clinical affection and increased with the severity of the disease. This method is proposed to be introduced in the follow-up of RhD negative pregnant women.

Subject headings: ERYTHROBLASTOSIS , FETAL/ prevention and control; RHO(D) IMMUNE GLOBULIN; ENZYME- LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Silva M de, Derrick T. Haemolytic disease of the newborn and its prevention. En: Marcela Contreras ed. ABC of transfusion. 3ra. ed. London: BMJ Publishing Group, 1998:29-33.
2. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M, eds. Blood transfusion in clinical medicine, 9na ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1993:543-90.
3. Hadley AG. In vitro assays to predict the severity of hemolytic disease of the newborn. *Transfus Med Rev* 1995;9:302-13.
4. Issitt PD. Applied blood groups serology. 3ra de. Miami:Montgomery Scientific, 1985.
5. Heddle NM, Klama L, Frassetto R, O'Hoski P, Leamon B. A retrospective study to determine the risk of red cell alloimmunization and transfusion during pregnancy. *Transfusion* 1993;33:217-20.
6. Pollock JM, Bowman JM. Anti-Rh D Ig G subclasses and severity of Rh hemolytic disease of the newborn. *Vox Sang* 1990;59:176-9.

7. Garner SF, Gorick BD, Lai WY, Brown D, Taverner J, Hughes-Jhones NC, et al. Prediction of the severity of haemolytic disease of the newborn. *Vox Sang* 1995;68:169-76.
8. Downing Y, Bomilov IM, Templeton JG, Fraser RH. A retrospective study of red cell maternal antibodies by chemiluminescence. *Vox Sang* 1996;71:226-32.
9. Depalma L, Luban NL. Alloimmune hemolytic disease of the newborn. En: Beutler E, Litchman MA, Coller BS, Kipps TJ, eds, *Williams Hematology*. 5ta. de. New York: Mc Graw Hill, 1995:697-703.
10. Caine ME, Mueller HE. Cell sensitization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:85-90.
11. Giannacopoulo CH, Relakis K, Kalmanti M. Severe anemia due to cell alloimmunization. *Haematologia Budap* 1997;28:173-5.
12. Fourmaintraux A, Vitrac D, Mariette JB, Brunel F. The Kophenotype and fetal maternal alloimmunization. *Arch Fr Pediatr* 1993;50:779-81.
13. Brocteur J. Rh negative newborn infants with positive direct Coomb's test. *Rev Fr Transfus* 1968;11:175-87.
14. Ozment E, Erdem G, Topeu M, Yurdakok M, Tekinalp G, Genc D. Long term follow-up of indirect hyperbilirubinemia in full-term Turkish infants. *Acta Paediatr* 1996;85:1440-4.
15. Catalan MA. Conceptos actuales en diagnóstico y tratamiento de la enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido. *Rev Argent Transfus* 1996;22:23-37.
16. Avent ND. Antenatal genotyping of the blood groups of the fetus. *Vox Sang* 1998;74:365-74.
17. Lucas GF, Hadley AG, Nance SJ, Garratty G. Predicting hemolytic disease of the newborn: a comparison of the monocyte monolayer assay and the chemiluminescence test. *Transfusion* 1993;33:484-7.
18. Hadley AG, Kumpel BM, Leader KA, Poole GD, Fraser ID. Correlation of serological, quantitative and cell mediated functional assays of maternal alloantibodies with the severity of haemolytic disease of the newborn. *Br J Haematol* 1991;77:221-8.
19. Kumpel BM. A simple non-isotopic method for quantitation of red cell -bound immunoglobulin. *Vox Sang* 1990;59:34-9.
20. Hildén J, Backteman K, Nilsson, Emerudh J. Flow-cytometric quantitation of anti -D antibodies. *Vox Sang* 1997;72:172-6.
21. Urbaniak SJ, Greiss MA, Crawford RJ, Fergusson MJC. Prediction of the outcome of Rhesus hemolytic disease of the newborn: Additional information using ADDC assay. *Vox Sang* 1984;46:323-9.
22. Hadley AG. A comparison of in vitro tests for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Vox Sang* 1998;74:375-83.
23. Bromilov IM, Downing SA, Walkinshaw SA, Welch CR, Duguid JKM. A case of unexplained mild Rh (D) hemolytic disease in utero. *Transfus Med* 1995;5:31-5.
24. Hernández Díaz P, Martín González O. Cuantificación de IgG anti D por microELISA. *Rev Argent Transfer* (en prensa).
25. Ruiz M, Carbonell F, Platas C, Padilla A. An enzyme-linked antiglobulin test for assessing anti-D immunoglobulin preparations. *Biologicals* 1990;18:89-95.
26. Moise KJ. Changing trends in the managements of red cell alloimmunization in pregnancy. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:421-8.
27. Hopkins DF. Maternal anti-Rh(D) and the D-negative fetus. *Am J Obstet Gynec* 1970;108:268-72.

Recibido: 6 de octubre de 1999. Aprobado: 23 de noviembre de 1999.

Dra. *María Elena Alfonso Valdés*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf: (537)578268. Fax: (537)338979. e-mail:ihidir@hemto.sld.cu