

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMÍCAS Y FARMACIA



**PREVALENCIA Y ESPECIFICIDAD ANTIGÉNICA DE ANTICUERPOS  
ERITROCITARIOS IDENTIFICADOS DURANTE EL EMBARAZO, EN MUJERES  
QUE ASISTIERON A CONTROL PRENATAL A UN HOSPITAL DE  
MATERNIDAD DEL SEGURO SOCIAL DE LA CIUDAD DE GUATEMALA, EN  
JUNIO DE 2017**

Débora Ibeth Velásquez Picot

Maestría en Banco de Sangre y Medicina Transfusional

Guatemala, Octubre de 2018

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMÍCAS Y FARMACIA



**PREVALENCIA Y ESPECIFICIDAD ANTIGÉNICA DE ANTICUERPOS  
ERITROCITARIOS, IDENTIFICADOS DURANTE EL EMBARAZO, EN MUJERES  
QUE ASISTIERON A CONTROL PRENATAL A UN HOSPITAL DE  
MATERNIDAD DEL SEGURO SOCIAL DE LA CIUDAD DE GUATEMALA, EN  
JUNIO DE 2017.**

Trabajo de graduación presentado por  
Débora Ibeth Velásquez Picot

Para optar al grado de Maestra en Artes  
Maestría en Banco de Sangre y Medicina Transfusional

Guatemala, Octubre de 2018

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	DECANO
M.A. Elsa Julieta Salazar de Ariza	SECRETARIA
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	VOCAL I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	VOCAL II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	VOCAL III
BR. Andreina Delia Irene López Hernández	VOCAL IV
BR. Carol Andrea Betancourt Herrera	VOCAL V

CONSEJO ACADÉMICO

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

Rubén Dariel Velásquez Miranda, Ph.D.

María Ernestina Ardón Quezada, MSc.

Jorge Mario Gómez Castillo, MA.

Clara Aurora García González, MA.

Silvia María Morales Cabrera, MSc.

## **DEDICATORIA**

Agradezco a Dios por la fortaleza, la salud, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente; por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante el período de estudio y por haberme dado la oportunidad de culminar con éxito otra meta, que me permite el crecimiento profesional.

Agradezco a mi Familia, por el apoyo incondicional, muchas gracias, por haberme permitido tener una carrera para mi futuro, sin ellos, no hubiese logrado concluir con éxito esta meta.

Y a mis hijos, por ser el pilar fundamental de mi vida, por ser mi fuente de inspiración y superación, este trabajo ha sido posible gracias a ellos; de manera especial a Madelaine Gabrielle, pues ella fue el principal soporte en este proceso.

## RESUMEN

La presencia de anticuerpos eritrocitarios en mujeres se produce posterior a tener contacto con eritrocitos a través de transfusiones sanguíneas, embarazos o abortos que ocasionan hemorragia feto materna (HFM) (Laitano, 2013).

La prevalencia de los anticuerpos eritrocitarios depende de la frecuencia de los sistemas sanguíneos en la población. Se estima que a nivel mundial, la prevalencia de anticuerpos eritrocitarios es entre el 0.2% y 2.7 %. Entre los anticuerpos que son capaces de causar EHRN están los del sistema Rh, Kell, Duffy, Lewis, MNS (Vásquez Rojas, Castillo Espinosa, Pavez Espinoza, Maldonado Rojas, & Mena Leiva, 2015) (Pahuja, Gupta, Pujani, & Jain, 2011).

La enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido (HERN), es causada por la presencia de anticuerpos eritrocitarios maternos de la clase IgG, que se transportan a través de la placenta, se unen con los antígenos fetales, producen la lisis celular y la anemia fetal (Laitano, 2013).

La determinación del anticuerpo a través del Coombs Indirecto, es el principal recurso para valorar el grado de aloinmunización materna y el potencial grado de afectación fetal, con el objetivo de brindar la atención médica oportuna (Lambertino M & Villegas G, 2014).

No hay datos en el país que determinen la prevalencia de anticuerpos eritrocitarios en embarazadas; el presente estudio, determinó la prevalencia y especificidad antigénica de los anticuerpos identificados durante el embarazo, en pacientes que asistieron al Hospital de Maternidad del Seguro Social en la Ciudad de Guatemala, para realizar las pruebas de control prenatal en el mes de junio de 2017.

Se tamizó un total de 460 pacientes, se obtuvo el historial obstétrico y transfusional y se procesó el Coombs Indirecto para la identificación de anticuerpos eritrocitarios; cuando esté salió positivo, se identificó el anticuerpo con paneles de 11 células, con y sin papaína; su respectivo fenotipo y el título del anticuerpo.

La prevalencia de anticuerpos eritrocitarios en embarazadas fue de 1.09%. La especificidad antigénica de los anticuerpos identificados se detalla a continuación: anti-RhD en el 40 %, anti-RhE en el 40% y anti Fya en 20%. Todos, clínicamente significativos y capaces de causar EHRN.

## INDICE

1.INTRODUCCIÓN.....	1
2.ANTECEDENTES.....	3
2.1.Historia .....	3
2.2 Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido (EHRN).....	4
2.2.1 Fisiopatología de la Enfermedad Hemolítica del Recien Nacido (EHRN).....	4
2.2.2 Rasgos clínicos de la EHRN.....	6
2.3 Isoinmunización .....	8
2.3.1 Isoinmunización durante el embarazo .....	8
2.3.2 Patogénesis de la sensibilización materna .....	8
2.4 Clasificación de los anticuerpos eritrocitarios.....	9
2.5 Anticuerpos capaces de producir EHRN .....	9
2.5.1 Anticuerpos del sistema Rh. ....	9
2.5.2 Anticuerpos del sistema Kell.....	10
2.5.3 Anticuerpos del sistema Cellano (k; k2).....	11
2.5.4 Anticuerpos del sistema MNS.....	11
2.5.5 Anticuerpos del sistema Duffy .....	12
2.5.6 Anticuerpos del sistema Kidd .....	12
2.5.7 Isoinmunización por múltiples anticuerpos .....	13
2.6 Riesgos de isoinmunización materna.....	13
2.6.1 Factores que estimulan la sensibilización materna.....	14
2.7 Evaluación prenatal .....	16
2.7.1 Antecedentes: .....	16
2.7.2 Pruebas inmunohematológicas .....	16
2.8 Protocolo de tamizaje .....	21
2.8.1 Procedimientos para la identificación de anticuerpos .....	22

2.9 Profilaxis de la isoimmunización Rh .....	23
2.9.1 Dosis e indicaciones de la inmunoglobulina anti-D .....	24
3.JUSTIFICACION.....	26
4.OBJETIVOS.....	27
5.METODOLOGÍA .....	27
6.RESULTADOS .....	32
7.DISCUSION.....	35
8.CONCLUSIONES .....	39
9.RECOMENDACIONES.....	39
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	40
11.ANEXOS.....	43



## 1. INTRODUCCIÓN

En cada embarazo, aborto o transfusión sanguínea, las pacientes tienen contacto con eritrocitos extraños, conocido como sensibilización o isoimmunización materna, que consiste en la producción de anticuerpos por parte de la madre, que están dirigidos hacia un antígeno de los hematíes fetales; estos antígenos están ausentes en la madre y, por tanto, son de origen paterno (Laitano, 2013).

La unión de los anticuerpos maternos con los antígenos fetales, produce la destrucción de los hematíes por el sistema retículo-endotelial fetal, dando como resultado lo que clínicamente se conoce como anemia fetal o neonatal a lo que se le ha llamado Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido (EHRN) (Laitano, 2013).

La enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN), se caracteriza por el acortamiento de la vida media de los hematíes fetales, debido a la acción de anticuerpos maternos que atraviesan la placenta. A pesar del término EHRN, el proceso comienza en la vida intrauterina, por lo que se ha propuesto el nombre de enfermedad hemolítica del feto y recién nacido (Vásquez, Tello, Cualchi, & Perugachi, 2017).

De los más de 300 grupos sanguíneos conocidos, solo algunos son considerados clínicamente significativos; de ellos, el antígeno Rh(D) es el causante del 25 al 30 % de los casos, es el más estudiado y el único con la opción de tener Inmunoglobulina anti-D como profilaxis, lo que permitiría reducir los casos de EHRN a causa de este anticuerpo. Sin embargo, aúnes el principal anticuerpo identificado en casos de EHRN a nivel mundial. Otros antígenos capaces de causar HERN son Rh-E, Rh-e, Rh-C, Rh-c, Kell, Kiddy Duffy (Armando Cortés Buelvas, Graciela León de Gonzalez, Manuel Muñoz Gomez, s. f.) (Martinez, Yubelkis Tatiana, & Estrada Díaz, 2015).

La frecuencia de anticuerpos eritrocitarios en la etapa prenatal a nivel mundial es del 0.04% al 10%. La variabilidad en las tasas de aloimmunización depende de la expresión de los grupos sanguíneos en la población, tasas de nacimientos, abortos y los métodos usados para el tamizaje de anticuerpos (Karim, Moiz, & Kamran, 2015).

Se estima que cada año más de 350,000 casos de enfermedad por Rh pueden ocurrir en el mundo, y aproximadamente 276,000 casos son por incompatibilidad Rh feto materna (Zipursky & Bhutani, 2015).

El anti- RhD es el anticuerpo identificado con mayor frecuencia; otros anticuerpos identificados en casos de EHRN son: anti Rh-E, anti Rh-e, anti Rh-c, anti RhC, anticuerpos del sistema kell, Kidd, MNS y Duffy (Roux, rosales, & Rosales, 2000).

El principal anticuerpo causante de EHRN alrededor del mundo es el anti-RhD; entre los avances en Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido, el principal se ha enfocado a la prevención, a través de la Inmunoglobulina anti-D, con el objetivo de prevenir la sensibilización por el RhD, para ello, es primordial administrar en dosis adecuadas cada vez que exista una exposición al antígeno Rh-D (Pillonel et al., 2012).

El presente estudio determinó la frecuencia y especificidad antigénica de los anticuerpos identificados durante el embarazo, en pacientes que asistieron a su control prenatal, en un Hospital de Maternidad del Seguro Social, en junio de 2017, en la Ciudad de Guatemala; estos datos permitirán determinar cuáles son los anticuerpos eritrocitarios que están presentes en la población de embarazadas guatemaltecas.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Historia

En Francia, en 1609, en un caso de gemelos, uno de ellos, mortinato por hidrops y el segundo, severamente icterico, muere después con características de kernicterus (F., Behnke G, & Carrillo T, 2011).

En 1932, Diamond *et al* unifican en una sola entidad llamada hidrops, lo que se conocía hasta el momento como *icterus gravis neonatorum* y anemia neonatal. En 1938 se supone la presencia de un anticuerpo materno contra la sangre fetal, aunque se creía que el antígeno era la hemoglobina fetal (F., Behnke G, & Carrillo T, 2011).

En 1940, Landsteiner y Wiener descubren la existencia del Rh. En 1941 Levine describe una reacción hemolítica en una madre y descubre que el feto posee un antígeno presente en el padre, pero ausente en la madre (M & Villegas , 2014).

En 1946, Wallerstein publica la exanguínotransfusión neonatal de glóbulos rojos. En 1954, Allen y Chown mostraron que el nacimiento prematuro disminuye las complicaciones de la anemia e hiperbilirrubinemia (F., Behnke G, & Carrillo T, 2011).

En 1958, Cremer publica su experiencia con la fototerapia en Inglaterra, quien observó que los prematuros ictericos que reciben la luz solar directa, presentan mejorías notables más rápida que los prematuros que no la reciben (F., Behnke G, & Carrillo T, 2011).

En el año 1958, Kleihauer demostró la existencia de la hemorragia feto materna (HFM), al confirmar la presencia de glóbulos rojos fetales en sangre materna, por la técnica que hoy lleva su nombre (F., Behnke G, & Carrillo T, 2011).

En 1961, Liley da a conocer resultados obtenidos con la transfusión intrauterina, en el manejo de los fetos severamente enfermos con esta enfermedad. En el mismo año, Freda comunica sus resultados con la administración de Inmunoglobulina anti-D (F.,

Behnke G, & Carrillo T, 2011). (M & Villegas , 2014).

## **2.2 Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido (EHRN)**

La enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) se caracteriza por el acortamiento de la vida media de los hematíes fetales, debido a la acción de anticuerpos maternos que atraviesan la placenta. A pesar del término EHRN, el proceso comienza en la vida intrauterina, por lo que se ha propuesto el nombre de enfermedad hemolítica del feto y recién nacido (Vásquez et al., 2017).

### **2.2.1 Fisiopatología de la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido (EHRN)**

La incompatibilidad sanguínea materno fetal es una complicación inmunológica de la gestación y produce afectación fetal en diferentes estadios del embarazo; de allí su clasificación: si afecta al feto se denomina Enfermedad hemolítica perinatal (EHP); y si afecta al Recién Nacido se denomina Enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) (Laitano, 2013). (De Haas, Thurik, Koelewijn, & van der Schoot, 2015).

Si el feto tiene presente el antígeno en el glóbulo rojo, los anticuerpos maternos se unirán y producirán la destrucción de glóbulos rojos fetales en el bazo fetal, esto provoca anemia fetal que inducirá una compensación de eritropoyesis. Sin embargo, esto puede ser insuficiente (De Haas et al., 2015).

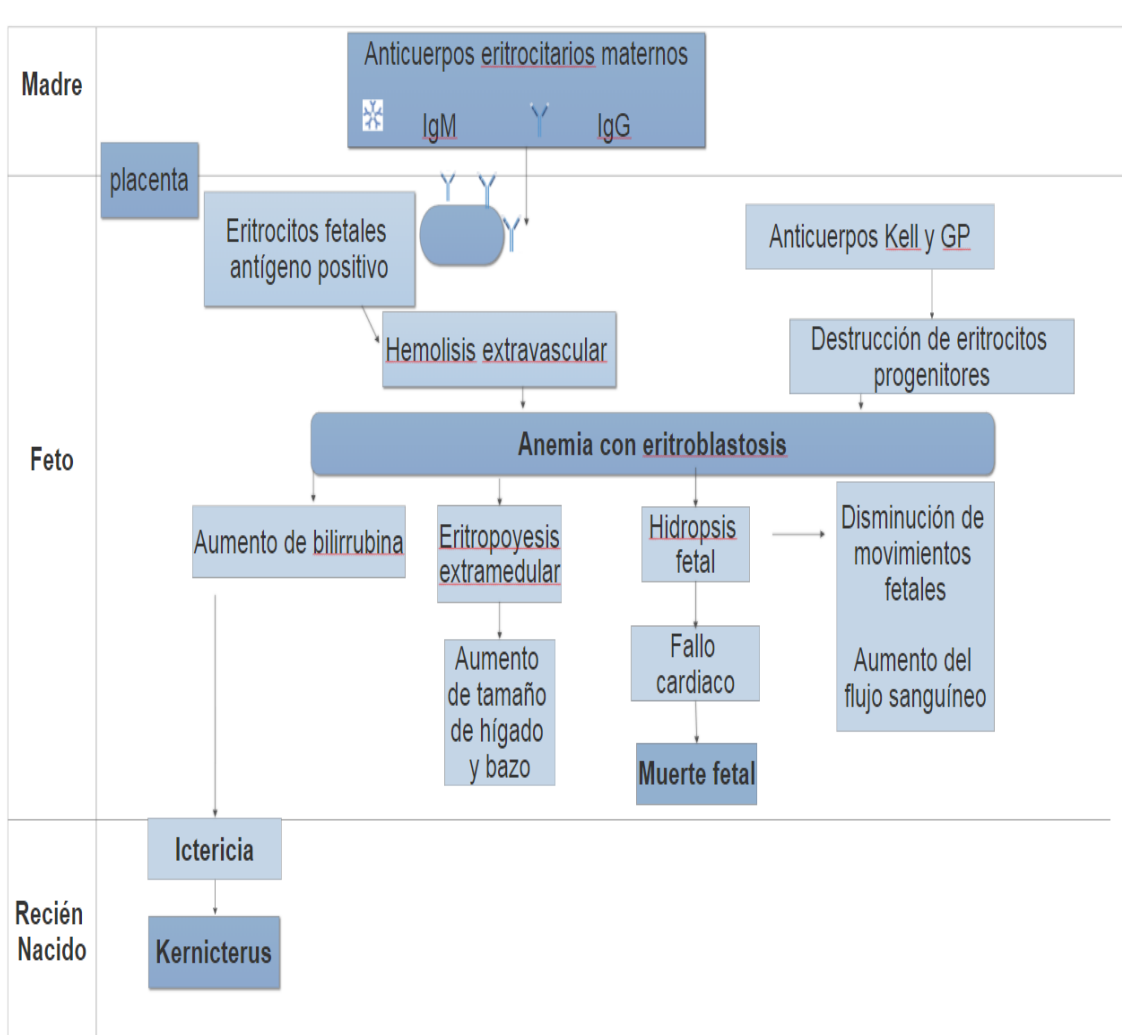
Para compensar la anemia, el cuerpo provoca una circulación hiperdinámica en el feto que causa cardiomegalia y, finalmente, hidropesía fetal; una condición que consiste en edema en la piel y cavidades fetales. La hemólisis de los glóbulos rojos fetales produce niveles elevados de bilirrubina. Como la bilirrubina pasa a la placenta, el exceso de bilirrubina se elimina a través de la circulación materna durante el embarazo (De Haas et al., 2015).

Después del nacimiento, la hemólisis continúa, pero el hígado relativamente inmaduro del neonato no puede conjugar suficientemente el exceso de bilirrubina; esto, puede

ocasionar hiperbilirrubinemia grave y, cuando no se trata, puede provocar incluso daños al sistema nervioso central irreversibles, una condición conocida como kernicterus. Esta condición se caracteriza por la deposición de bilirrubina en los núcleos basales y los núcleos del tallo cerebral y, está correlacionado con morbilidad a largo plazo, que puede consistir en una grave forma de parálisis cerebral, problemas de audición y deficiencias psicomotoras (De Haas et al., 2015) (van Rossum et al., 2015).

Cuando la presencia o el desarrollo de anticuerpos eritrocitarios no se detecta durante el embarazo, la única característica clínica inespecífica e impredecible de HERN durante el embarazo, es la disminución de movimientos fetales o muerte fetal repentina, mientras que después del nacimiento puede ocurrir la ictericia neonatal (De Haas et al., 2015)

**FIGURA No. 1**  
**FISIOPATOGENESIS DE LA EHRN**



(De Haas et al., 2015)

### 2.2.2 Rasgos clínicos de la EHRN

La EHRN se inicia durante la vida intrauterina, por la hemólisis de los hematíes fetales recubiertos de anticuerpos. La anemia resultante conlleva una disminución de la capacidad de transporte de oxígeno y, como mecanismo de compensación, una hiperplasia intramedular de la serie roja y liberación a sangre periférica de formas inmaduras, lo que se conoce como eritroblastosis fetal (Vásquez et al., 2017).

Cuando la capacidad de compensación de la médula es superada, aparece la hematopoyesis extra medular en hígado y bazo, lo que origina distorsión de la circulación portal, hipertensión portal y ascitis. La hipoalbuminemia causada por la disminución de la síntesis de albúmina en el hígado da lugar a una disminución en la presión oncótica con la aparición de edema generalizado, ascitis, e incluso derrame pleural y pericárdico lo que se llama hidrops fetalis. Entre las manifestaciones también se encuentra la cardiomegalia, hemorragia pulmonar, y otras (Vásquez et al., 2017).

La bilirrubina generada por la hemólisis, es eliminada en el feto a través de la placenta. Sin embargo, si en el neonato se supera la capacidad de eliminación, presentará ictericia intensa y signos de afectación neurológica lo que se conoce como icterus gravis neonatorum (Vásquez et al., 2017).

El nivel de hemoglobina y el recuento de hematíes del cordón frecuentemente disminuidos, no siempre se correlacionan con la gravedad de la enfermedad. En la sangre periférica, los hematíes presentan macrocitosis, anisocitosis y poiquilocitosis. Los reticulocitos pueden representar el 30-40 % de la serie roja en RN no tratados, pudiendo ser bajos en aquellos que reciban transfusión intrauterina (TIU). Los esferocitos se ven sobre todo en casos de enfermedad por incompatibilidad ABO (Vásquez et al., 2017).

La amenaza más grave de la hiperbilirrubinemia del neonato es el daño cerebral, conocido como kernícterus. La bilirrubina no conjugada es particularmente tóxica para el tejido cerebral en que se deposita, especialmente, en los ganglios basales, el tálamo, el cerebelo, la sustancia gris y la espina dorsal. El mecanismo por el que la bilirrubina libre pasa al cerebro en el RN no está del todo claro, pero el nivel de albúmina sérica, el pH sanguíneo y la hipoxia parecen ser factores decisivos (Vásquez Rojas et al., 2015).

El nivel de bilirrubina necesario para producir kernícterus se desconoce, pero raramente se produce daño cerebral si la bilirrubina es menor de 20 mg/dl, en RN prematuros, este límite parece ser menor (Vásquez et al., 2017).

Existen diferentes grados de afectación: 45-50% de los casos padece una enfermedad tan

leve que no requiere tratamiento; 25-30 %, aunque no desarrollan hidrops, padece una anemia moderada y pueden desarrollar intensa ictericia, con el consiguiente riesgo de kernicterus; 20-25% desarrolla hidrops fetal, 10-12 % antes de la 34 semanas de gestación y 10-13 % tras la semana 34. Por ello, es preciso detectar y tratar a estos fetos que, de otra manera, tendrían alta mortalidad o probabilidad de daño cerebral irreparable (Vásquez et al., 2017).

### **2.3 Isoinmunización**

Se define como Isoinmunización, a la producción de anticuerpos en un organismo que ha recibido un antígeno procedente de otro individuo de la misma especie, a través de trasplantes de órganos, transfusiones de sangre y/o durante el embarazo (Gonzalez, 2005).

#### **2.3.1 Isoinmunización durante el embarazo**

Consiste en la producción materna de anticuerpos, dirigidos hacia un antígeno de membrana de los eritrocitos fetales, que están ausentes en la madre y por tanto, de origen paterno, esta producción de anticuerpos se da como respuesta a una sensibilización previa (Navarro, Carmona Samper , & Fiol Ruiz , 2013).

#### **2.3.2 Patogénesis de la sensibilización materna**

La primera fase de la respuesta inmune materna requiere que la sangre fetal en grandes volúmenes, estén en contacto con la madre; el apareamiento de anticuerpos se da entre 6 a 12 semanas y en algunas ocasiones hasta 6 meses. Es mediada por anticuerpos de tipo IgM con peso molecular de 900.000 UI, por lo que, no atraviesan la barrera placentaria (López & Cortina Rosalez , 2000).

La segunda fase requiere el contacto con el antígeno por segunda vez; en este caso, la aparición de anticuerpos de tipo IgG con peso molecular de 160.000 UI tienen la capacidad de atravesar la placenta y desencadenar una reacción en pocos días y solo requieren el contacto con un bajo volumen de sangre fetal; estos anticuerpos se fijan en el



eritrocito fetal y se inicia el proceso hemolítico. Para desarrollar la segunda etapa en el caso del RhD, se requieren tan solo de 0.3 ml de Sangre (Serra & Mallfré, 2015),(Escobar Hi Fong, 2015).

## **2.4 Clasificación de los Anticuerpos Eritrocitarios**

De acuerdo al tipo de anticuerpos responsables de la hemólisis, se pueden clasificar en tres categorías:

Anticuerpos del sistema ABO:

Anti-A, Anti-B.

Anticuerpos del sistema Rh:

Anti-D, -c, -C, -C<sup>w</sup>, -C<sup>x</sup>, -e, -E, E<sup>w</sup>, ce, -Ce<sup>s</sup>, -Rh32, -Go<sup>a</sup>, -Be<sup>a</sup>, -Evans, LW.

Anticuerpos atípicos o irregulares:

Anti-Kidd, Kell, Duffy, Anti-K, -k, -Ku, -Kp<sup>a</sup>, -Kp<sup>b</sup>, -Js<sup>a</sup>, -Js<sup>b</sup>, -Fya, -Fy3, -Jk<sup>a</sup>, -Jk<sup>b</sup>, -M, -N, -S, -s, -U, -Vw, -Far, -M<sup>v</sup>, -Mit, -Mt<sup>a</sup>, -Mur, Hil, -Hut, -Ena, -PP<sub>1</sub>P<sup>k</sup>, -Lu<sup>a</sup>, -Lu<sup>b</sup> Lu9, -Di<sup>a</sup>, -Di<sup>b</sup>, -Yt<sup>a</sup>, -Yt<sup>b</sup>, -Do<sup>a</sup>, -Co<sup>a</sup>, Wr<sup>a</sup>(Laitano, 2013).

## **2.5 Anticuerpos capaces de producir EHRN**

Reconocidos por la ISBT, existen más de 300 antígenos eritrocitarios agrupados en más de 32 sistemas eritrocitarios. Los anticuerpos del sistema ABO, entre otros, pueden causar incompatibilidad materno fetal y EHRN (Lawicki, Covin, & Powers, 2017).

A continuación se describen los sistemas con anticuerpos capaces de causar EHRN:

### **2.5.1 Sistema Rh**

La EHRN causada por anticuerpos del sistema Rh, suele ser severa, en particular por el antígeno D. (Torres, Vasquez Martinez, & Baptista Gonzalez, 2014).

Los anticuerpos del sistema Rhesus se describen a continuación:

La presencia del antígeno D determina el grupo "RhD positivo" y la ausencia del antígeno D determina el grupo "RhD negativo" (Javiera Fuenzalida., 2014), (De Haas et al., 2015).

Los anticuerpos del sistema Rh son: Rh-C, Rh c, Rh E, Rh e, Rh D y otros 45 más; este sistema es el segundo en importancia clínica, después del sistema ABO (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

La mayoría de los anticuerpos Rh son de clase IgG, aunque algunos tienen un componente IgM; y son clínicamente significativos, es decir, son capaces de causar hemólisis por transfusión y Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido. Aproximadamente el 20% de personas Rh negativo, expuestas a sangre con Rh positivo, principalmente en sala de emergencias, sala de operaciones, unidad de cuidados intensivos; se sensibilizará, es decir, que formará anticuerpos anti-D, con tan solo recibir tan 0.5 ml de sangre con Rh positivos(Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

Los anticuerpos Anti-D y anti-c son capaces de causar HERN severa, mientras que anti-C, anti-E y anti-e usualmente causan HERN moderada o leve (Gonzalez, 2005).

### 2.5.2 Sistema Kell

El sistema del grupo sanguíneo Kell, contiene más de 25 antígenos que se designan por nombre propio, letra abreviada o número; los principales son: K (K1 [Kell]) yk (K2 [Cellano]). (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

El antígeno K es fuertemente inmunogénico y pocos casos se han reportado de anticuerpos naturales de anti-K; la mayoría son como consecuencia a transfusiones o embarazos (Armando Cortés Buelvas, Graciela León de Gonzalez, Manuel Muñoz Gomez, s. f.).

Otros anticuerpos del sistema Kell, incluyen anti-Kpa, anti-Kpb, anti-Jsa y anti-Jsb, que pueden producir EHRN, tanto de forma inmediata como tardía. Debido a que los antígenos de Kell se expresan muy temprano durante la eritropoyesis, los anticuerpos anti-Kell puede causar destrucción de células precursoras de eritrocitos y clínicamente puede suprimir la eritropoyesis. Por lo tanto, estos anticuerpos pueden provocar anemia sin hemólisis y bilirrubina elevada(Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### 2.5.3 Sistema Cellano (k; K2)

Existen pocos casos reportados en la literatura de enfermedad hemolítica perinatal secundaria a la presencia de este antígeno, con cuadros de leves a severos. Los títulos de anticuerpos no se relacionan con la gravedad de la enfermedad. Distintos autores sugieren que este antígeno se comportaría en forma similar a Kell produciendo supresión a nivel de la médula (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### 2.5.4 Sistema MNS

El sistema MNS está compuesto por 40 antígenos, entre ellos solamente M, N, S, s y U se han asociado a enfermedad hemolítica perinatal (Fuenzalida & Carvajal, 2014).

El sistema de grupo sanguíneo MNS está conformado por los antígenos M, N, S, s y U; los anticuerpos contra estos antígenos pueden ser clínicamente significativos, especialmente anti-S, anti-s y anti-U, mientras que anti-M rara vez es clínicamente significativo y anti-N no se considera clínicamente significativo. Los antígenos S y s son sensibles a quimotripsina y pronasa, ficina, papaína y pronasa (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009), (Goolfed, 2004).

#### a. Anticuerpo anti M

Es un anticuerpo de tipo IgM y se presenta como una aglutinina en frío y reactividad a 37 ° C; rara vez se ha asociado con reacciones transfusionales hemolíticas y EHRN (Fuenzalida & Carvajal, 2014).

La conversión a IgG ocurre en raras ocasiones, pero se ha asociado a enfermedad hemolítica perinatal. Los anticuerpos anti-M están presentes en 10% de los embarazos con tamizaje positivo; sin embargo, rara vez se asocia con EHRN. Se han reportado pocos casos por este anticuerpo, la mayoría de los casos son leves y solamente requieren fototerapia, sin embargo, hay casos reportados de enfermedad severa. Ninguna de las publicaciones relaciona los títulos de anticuerpos con la gravedad de la enfermedad. Cabe destacar la importancia de solicitar la diferenciación del anticuerpo en IgM o IgG, dado que solo IgG puede atravesar la barrera placentaria y causar enfermedad fetal (Javiera Fuenzalida., 2014).

### **b. Anticuerpo Anti-N**

Es un anticuerpo de tipo IgM y no se ha asociado con reacciones transfusionales hemolíticas o HERN. Son de origen natural, no requieren exposición previa al antígeno para la formación; muestra un efecto de dosificación, es decir, reacciona a los glóbulos rojos con una doble dosis de antígeno, con mayor intensidad que a aquellos con dosis única de antígeno (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### **c. Anticuerpos Anti-S, Anti-s y Anti-U**

Los anticuerpos anti-S, anti-s y anti-U son anticuerpos IgG que se forman en respuesta a la estimulación y se asocian con transfusión hemolítica reacciones y HERN (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### **2.3.5 Sistema Duffy**

La proteína del antígeno Duffy muestra un efecto de dosificación, lo que significa que hay mayor cantidad de antígenos Fya en eritrocitos de un individuo que es homocigoto para el alelo Fya que en los eritrocitos de un individuo que es heterocigoto. La frecuencia del antígeno Duffy varía significativamente entre grupos raciales (Fuenzalida & Carvajal, 2014).

Los antígenos del sistema Duffy son: Fya y Fyb y son sensibles a tratamiento enzimático proteolítico. Los antígenos Duffy se detectan entre la 6ta y 7ma semana de gestación (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

Los anticuerpos Duffy casi siempre son IgG; en muy pocos casos son IgM. Los anticuerpos IgG tienen la capacidad de activar el complemento y causar reacciones transfusionales hemolíticas o HERN de leves a severas (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### **2.5.6 Sistema Kidd**

El sistema Kidd está compuesto por dos antígenos, el Jka y Jkb. Estos anticuerpos, se han identificados en reacciones transfusionales agudas, crónicas y EHRN. Es poco

frecuente y suele provocar la enfermedad leve y de buen pronóstico; pocos casos han reportado severos incluso con resultado de pérdida fetal (Javiera Fuenzalida., 2014).

Los antígenos Kidd se detectan a las 11 semanas de gestación y están desarrollados al nacer. Estos antígenos también se expresan en células endoteliales de la médula del riñón humano (Gonzalez, 2005).

Los anticuerpos Anti-Kidd no son comunes y generalmente se encuentra con anticuerpos de otros sistemas. Debido a que su título a menudo disminuye por debajo del límite de detección, a menudo reaccionan débilmente, pueden volverse indetectables durante el almacenamiento y reaccionan solo con células homocigóticas(Fuenzalida & Carvajal, 2014).

Los anticuerpos Kidd pueden ser difíciles de identificar y son responsables de aproximadamente un tercio de todas las reacciones transfusionales hemolíticas tardías, que pueden ser severas. Los anticuerpos son principalmente IgG, pero pueden ser parcialmente IgM. Los anticuerpos anti-Kidd rara vez causan HERN y, cuando lo hacen, suelen ser leves (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### **2.5.7 Isoinmunización por múltiples anticuerpos**

Existe la inmunización materna por múltiples anticuerpos. Los cuadros documentados de EHRN más graves, han sido en pacientes con anti-D acompañado de anti-C o anti-E (Javiera Fuenzalida., 2014).

## **2.6 Riesgos de Isoinmunización Materna**

La implementación de pruebas de compatibilidad, ha disminuido la Isoinmunización por transfusión sanguínea, siendo esta, la segunda causa de Isoinmunización. El embarazo se ha convertido en la principal causa de sensibilización (Fuenzalida & Carvajal, 2014).

## **2.6.1 Factores que estimulan la sensibilización materna**

### **a. Antigenicidad del anticuerpo**

Aunque potencialmente cualquier anticuerpo puede producir esta complicación, el antígeno que más frecuentemente induce una inmunización y el más antigénico es el RhD (C & C, 2014).

Los anticuerpos que son capaces de producir EHRN grave, son los de especificidad anti-C, y anti-k. También la estructura, distribución tisular y densidad del antígeno tienen un papel determinante que condiciona la producción final, o no, de la hemólisis (Transfusional., 2014), (Hillyer, Shaz, Zimring, & Abshire, 2009).

El anticuerpo Anti-D se correlaciona con el mayor riesgo de mortalidad fetal y morbilidad y el riesgo es mucho más bajo cuando está asociada a otros anticuerpos eritrocitarios maternos, con la excepción de anti-K. Un estudio, realizado en embarazadas de los Países Bajos, demostró que el Anti-Des el causante del 26% de casos de EHRN, los anticuerpos Anti-c en 10%, los anticuerpos Anti-E en 2% y anticuerpos dirigido contra otro antígeno del Rh en el 5% de los embarazos (De Haas et al., 2015).

### **b. Eventos inmunizantes**

El contacto con sangre por transfusiones, embarazos o abortos es considerados como eventos inmunizantes; para ello, es necesario que la sangre que recibe, tenga presente algún antígeno que carezca el paciente que la recibe. Las transfusiones de unidades Rh (D) positiva a mujeres Rh (D) negativas en edad fértil, son capaces de crear anti D, por lo tanto, aumenta el riesgo de EHRN. La transfusión de plasma o plaquetas también son capaces de sensibilización, ya que, los eritrocitos presentes en plaquetas o granulocitos constituyen un estímulo inmunizante(Fasano, 2016).

Se recomienda que las mujeres en edad fértil sean transfundidas con eritrocitos C negativo y/o K negativo, si carecen de estos antígenos, si han tenido embarazos previos o abortos (García Tejerizo & Gomez Torranzo , 2002).

### **c. Hemorragia Feto Materna (HFM)**

El 75% de las embarazadas presentan HFM en algún momento del embarazo y/o del parto; esta hemorragia habitualmente es baja, pero el 1% de los casos puede ser de hasta 5 ml y el 0,25% alcanza volúmenes tan altos como 30 ml. También hay diferencias en la incidencia de la HFM en los diferentes trimestres del embarazo: se sabe que hay 3% de riesgo en el primer trimestre (0,03 ml); 12% en el segundo trimestre (generalmente menos de 0,1 ml) y hasta 46% en el tercer trimestre, ocasionalmente hasta 25 ml (F., Behnke G, & Carrillo T, 2011).

### **d. Respuesta inmune**

Ella dependerá de varios factores, como la inmunogenicidad del antígeno, volumen y número de episodios hemorrágicos, la capacidad de respuesta de cada gestante y que se haya realizado la profilaxis de forma adecuada (García Tejerizo & Gomez Torranzo , 2002).

De acuerdo a la respuesta inmune de cada paciente se clasifican como respondedoras o no respondedoras. La razón por la cual mujeres con riesgo no desarrollan esta sensibilización, todavía no está clara, existen teorías que apuntan hacia una supresión de células T y la inducción de un estado de tolerancia por pequeñas cantidades de antígenos; otra teoría supone la posibilidad de que existan bajos títulos de anti-D y que no pueden ser detectados por los métodos de diagnóstico disponibles. Se plantea que entre 25 y 30 % de las mujeres D-negativas son no respondedoras; el resto, como respondedoras (López & Cortina Rosalez , 2000).

La capacidad de respuesta inmune de la madre es muy variable durante el embarazo, influenciada por el sistema mayor de histocompatibilidad clase II. Sólo 16 % de madres D negativas no protegidas se sensibiliza durante el embarazo de un feto D positivo (Vásquez et al., 2017).

### **e. Genotipo paterno**

El genotipo paterno influye en la inmunización materna, ya que, el antígeno heredado al feto es de origen paterno (García, 2009).

### **f. Características del antígeno Fetal**

Algunas características del antígeno como la eficiencia en el paso de los anticuerpos a través de la placenta y la madurez funcional del bazo fetal, entre otros (Vásquez et al., 2017).

## **2.7 Evaluación prenatal**

### **2.7.1 Antecedentes**

#### **a. Obstétricos**

Es importante conocer el historial de Traumatismos abdominales, abortos, estudios invasivos, inmunoprofilaxis anti D, embarazos previos, historial de neonatos con ictericia, entre otros, que puedan causar sensibilización (Lambertino M & Villegas G, 2014).

#### **b. Hemoterapéuticos**

Se refiere a algún evento inmunizante relacionado con transfusiones de cualquier componente sanguíneo. Es primordial investigar historial de transfusiones previas, ya que, puede producirse anemia fetal más grave, debido a que, el estímulo antigénico primario que suponen la sangre transfundida es superior al que conlleva la hemorragia transplacentaria por embarazo. Los anticuerpo producidos por transfusión son más potentes, con capacidad de inducir mayor afectación fetal (Transfusional., 2014).

### **2.7.2 Pruebas Inmunoematológicas**

Las pruebas disponibles en la actualidad son muy sensibles, por lo que son capaces de detectar anticuerpos que han sido desarrollados anteriormente por embarazos, abortos o transfusiones; sin embargo, cuando están en muy bajo nivel, puede ser que no sean detectables (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).



## **a. Grupo ABO y Rh de los progenitores**

### **Gruposanguíneo ABO**

Incluyen A, B, AB y O. Los anticuerpos correspondientes a estos grupos sanguíneos están presentes en el suero de la mayoría de las personas sin exposición previa a glóbulos rojos, es decir, se forman de manera natural (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### **Grupo sanguíneo D**

El antígeno D también denominado tipo Rh (D) es el más inmunogénico de los antígenos eritrocitarios; es el segundo en importancia en medicina transfusional seguido del ABO (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

El antígeno D tiene la complejidad molecular que le permite estar expresado como D completo, como D débil o D parcial, por lo que las pruebas para detectar antígenos D débil se realiza en la fase de Inmunoglobulina anti-D humana, que requiere tiempo, reactivos y controles; también se pueden emplear técnicas automáticas que son suficientemente sensibles para la detección de D débil, de modo que no es necesaria otra prueba para su confirmación (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009), (Armando Cortés Buelvas, Graciela León de Gonzalez, Manuel Muñoz Gomez, s. f.).

## **b. Fenotipo de los glóbulos rojos del paciente**

En el proceso de investigación del anticuerpo, la realización del fenotipo es útil, ya que, si el paciente carece de un antígeno en su fenotipo, entonces él paciente es capaz de formar un anticuerpo contra ese antígeno. Por el contrario, si el paciente tiene un antígeno en su fenotipo, entonces no crea un anticuerpo contra ese antígeno; a menos que se trate de un auto anticuerpo (Arbeláez García, 2009).

La producción de células rojas comerciales destinadas para investigación de anticuerpos, son producidas con reactivos monoclonales, lo que

permite la detección cuando estén presentes, aún en muy bajo volumen (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### **c. Detección de Anticuerpos eritrocitarios**

Los anticuerpos eritrocitarios distintos de anti-A y anti-B, son clasificados como anticuerpos irregulares y están presentes en la población en general en 1.2% a 3.5%; ello depende de la edad, el número de transfusiones previas o embarazos y la expresión antigénica de los grupos sanguíneos en la población (Lambertino M & Villegas G, 2014), (Arbeláez García, 2009).

La aloinmunización puede ser por exposición durante el embarazo o transfusión de hemocomponentes y por otro lado, por anticuerpos que se desarrollan de forma natural, es decir, no se producen por exposición previa, sino que pueden ser ejemplo de mimetismo antigénico (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

Las pruebas disponibles para la detección de anticuerpos eritrocitarios se listan a continuación: la prueba antiglobulina indirecta, rastreo de anticuerpos, prueba cruzada o a través de un eluato, este último permite extraer anticuerpos que recubren a los eritrocitos del paciente para su posterior identificación (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

Cuando se detecta la presencia de un anticuerpo, se debe determinar la especificidad antigénica de el o los anticuerpos presentes, las pruebas disponibles para ello permiten la identificación a través de la comparación de reacción con paneles de células eritrocitarias; que pueden ser comerciales o caseras (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### **d. Especificidad del Anticuerpo**

Es la capacidad del anticuerpo para unirse a un antígeno determinado; y así identificar el anticuerpo. Para realizarlo, se pone en contacto el

plasma del paciente con un panel de reactivos que contiene eritrocitos con antígenos conocidos (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

La especificidad del anticuerpo se determina al compararla reacción obtenida cuando el anticuerpo se pone en contacto con los antígenos conocidos de eritrocitos. Por ejemplo, si hay aglutinación de glóbulos rojos positivos que coincida con el patrón del antígeno K, el plasma del paciente contiene un anti-K. Una vez que la especificidad del anticuerpo se determina, se evalúa la importancia clínica del anticuerpo identificado (Arbeláez García, 2009).

Si se determina que un anticuerpo es clínicamente significativo y está asociado con HERN, entonces es necesario realizar las pruebas prenatales apropiadas; entre ellas, determinar el título del anticuerpo (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

#### **e. Título del anticuerpo**

La determinación de los títulos maternos es la cuantificación del anticuerpo presente, se cuantifica para determinar el grado de inmunización; es la principal herramienta en la evaluación de la madre con sensibilización previa y su resultado es expresado en el número de diluciones y se reporta como: 1:8, 1:16, 1:32... Un título crítico se define como el punto en el que existe un riesgo significativo de hidrops fetal (Lambertino M & Villegas G, 2014)(Vásquez et al., 2017).

El título o cuantificación del anticuerpo en la madre es útil para evaluar el grado de inmunización de la madre y el límite crítico a partir del cual están indicadas otras pruebas para valorar la afectación fetal. La concentración de IgG aumenta progresivamente en la primera mitad de la gestación; a partir de la 22-24 semanas, la concentración fetal de IgG se eleva de forma exponencial (Valdes, 2003).

Para una mejor correlación, las titulaciones se deben realizar en el mismo laboratorio, utilizar células del mismo fenotipo y la misma tecnología. Las titulaciones son seriadas y se compara el resultado actual con el precedente (Valdes, 2003).

La primera titulación sirve de valor de referencia para las siguientes titulaciones; se considera un aumento significativo del título un incremento en dos diluciones, lo cual puede ser indicativo de progresión de la inmunización materna y previsible afectación fetal. Los laboratorios deben definir el título crítico, para justificar el uso de técnicas invasivas que puedan afectar al feto a través de una hemorragia transplacentaria (Gonzalez, 2005).

Cuando el título de anti-D es inferior a 1/16 hasta el final de la gestación, hay pocas posibilidades de muerte fetal o neonatal; cada laboratorio deberá determinar el valor crítico de cada anticuerpo, ajustado a las condiciones de trabajo (Martín Fularte, 1998). (Mallon, Neill, Biggerstaff, Kelly, & Scott, 2018).

Para anticuerpos diferentes del anti-D, no se han definido títulos críticos; la mayoría de los casos más severos se han detectado con títulos mayores o iguales a 1:16, aunque hay reporte de casos con títulos menores para el anti-c, por ejemplo, en algunos anticuerpos, no se ha demostrado relación entre el título de anticuerpos y la gravedad de la EHRN (Martinez, Yubelkis Tatiana , & Estrada Díaz, 2015 ).

Se recomienda que con los títulos de anticuerpos, mayores de 1/16 y menores de 1/128, realizar control serológico mensual, investigar el fenotipo/genotipo paterno y genotipo Rh (D) fetal en el segundo trimestre, además del control obstétrico (Escobar Hi Fong, 2015).

Cuando el título de anti-D sea inferior a 1/16 hasta el final de la gestación, hay pocas posibilidades de muerte fetal o neonatal. La EHRN será, por lo

regular, leve o moderada. Pueden existir diferencias en cuanto al valor crítico del título, por lo que cada laboratorio deberá determinar el valor crítico de esta prueba, ajustándolo a sus condiciones de trabajo.

(Martinez, Yubelkis Tatiana , & Estrada Díaz, 2015 ).

Cada laboratorio, debe definir el título crítico, por debajo del cual se sabe que el feto puede desarrollar hemolisis. No existen suficientes casos reportados para definir el título y que compruebe la asociación, aunque se ha determinado que el título crítico para anti-D oscila entre 8 y 16. Para otros anticuerpos, el valor de la titulación no está estandarizado, aunque se han identificado casos de EHRN con títulos de 1:2 (Lambertino M & Villegas G, 2014)(Laitano, 2013)(Vásquez et al., 2017).

## **2.8 Protocolo de tamizaje prenatal**

Para asegurar la detección de aloinmunización en la etapa pre natal, en muchos países han establecido protocolos de tamizaje que incluye dos o incluso tres tamizajes a lo largo del embarazo (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

La repetición de la prueba como tamizaje a lo largo del embarazo, está destinada a detectar respuestas primarias que pueden ocurrir durante el embarazo y respuestas secundarias en mujeres previamente inmunizadas (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

La sensibilidad de las pruebas de tamizaje para detección de anticuerpos, ha permitido la detección de anticuerpos en el primer trimestre con 75 % de sensibilidad. Para incrementar la sensibilidad, puede considerarse un segundo tamizaje; sin embargo, hay estudios que demuestran que no han sido detectado casos de HERN en un segundo tamizaje, al menos con un número pequeño de pacientes (Koelewijn, Vrijkotte, van der Schoot, Bonsel, & de Haas, 2008).

## **2.9 Procedimientos para la Identificación de anticuerpos eritrocitarios**

### **2.9.1 Muestra**

La identificación del anticuerpo se puede realizar en suero o plasma. Se prefieren las muestras de sangre anticoagulada con EDTA, ya que evitan los problemas asociados con la absorción in vitro de componentes del complemento por glóbulos rojos, que puede ocurrir en muestras coaguladas, (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

### **2.9.2 Metodología para la identificación de anticuerpos eritrocitarios**

Existen varias metodologías para la detección por aglutinación, entre ellas, las usadas con mayor frecuencia actualmente son: la técnica de tubo, la técnica de gel y el método de fase sólida (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

#### **a. Metodología en gel**

Los sistemas comerciales suelen emplear tarjetas o tiras de microtubos que permiten realizar varias pruebas simultáneas. Con esta técnica, el suero o plasma del paciente y las células del panel se colocan en la cámara de reacción que se encuentra en la parte superior de la columna. La tarjeta se incuba a 37° C entre 15 minutos y una hora, para permitir que se produzca la unión entre el antígeno y el anticuerpo; luego, se centrifuga durante 10 minutos, en ese tiempo, los glóbulos rojos son forzados a salir de la cámara de reacción y atravesar la columna de gel que contiene SAGH anti-IgG. Si la unión ha ocurrido durante la fase de incubación, el SAGH reacciona con las células recubiertas de anticuerpo, resultando en la aglutinación. Las células aglutinadas quedarán atrapadas dentro del gel, ya que los aglutinados son demasiado grandes para pasar a través de los espacios entre sus partículas.; si no se produjo aglutinación, las células formarán un botón en la parte inferior del microtubo (Buelvas, Gonzalez, Gomez, 2012).

#### **b. Métodos moleculares**

A través de la identificación del ADN obtenido de leucocitos de sangre periférica se puede superar algunas limitaciones de las técnicas serológicas; esta técnica, permite la

identificación del antígeno que está en el eritrocito a través de pruebas de ADN (García, 2009).

Las tecnologías moleculares de alto rendimiento en el campo de la medicina transfusional, hacen posible determinar múltiples polimorfismos de nucleótido único del antígeno del glóbulo rojo. Hay varias plataformas de genotipado a escala masiva en uso y en desarrollo en América del Norte y Europa, con una plataforma única actualmente aprobada por la FDA y que incluye genotipos para Rh (CcEe), Kell (K / k), Kidd (Jka / Jkb), Duffy (Fya / Fyb), Duffy-GATA, MNS (M / N, S / s), Luterano (Lua / Lub), Diego (Dia / Dib), Colton (Coa / Cob), Dombrock(Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

## **2.10 Profilaxis de la Isoinmunización RH**

La inmunoglobulina anti-D es un método efectivo para prevenir la isoinmunización por anti-D, indicada en gestantes Rh-D negativo, no sensibilizadas, cuya pareja es Rh-D positivo o cuando se desconoce el grupo de la pareja (Lambertino M & Villegas G, 2014).

En el Reino Unido, la dosis depende del momento de la gestación en que se produce la hemorragia durante el embarazo; así, se administran 50 g (250 U) si ocurre antes de la semana 20 de gestación; y si ocurre después de la semana 20, se administran 100 g (500 U). Esta dosis estándar es suficiente para hemorragias menores de 4 ml de sangre, incrementándose la dosis a 125 U en el caso de hemorragias de mayor volumen (Lambertino M & Villegas G, 2014).

La Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) recomienda la cuantificación de la hemorragia para ajustar la dosis. La Asociación Americana de Obstetricia y Ginecología (ACOG) recomienda la cuantificación sólo en los casos de gestación múltiple, abruptio placentae, placenta previa y extracción manual de la placenta. Si se sospecha HFM intermitente es importante repetir la dosis a intervalos de 6 semanas, ya que niveles bajos de inmunoglobulina anti-D pueden, paradójicamente, incrementar la respuesta inmune en la presencia de un estímulo antigénico (Cubana, Inmunol, & Rosales, 2000).

Se recomienda hacer la cuantificación de la hemorragia por la técnica de elución ácida de Kleihauer o equivalente, técnica de rosetas o por citometría de flujo (Cubana et al., 2000).

### **2.10.1 Dosis e indicaciones de la Inmunoglobulina Anti-D**

La dosis óptima, el momento de administración y las indicaciones han sido objeto de estudio por los distintos grupos de Norteamérica, Reino Unido y Canadá, hasta la realización de documentos de consenso y guías de administración, cuya rigurosa aplicación permitiría la erradicación casi total de la EHRN causada por anti-RhD (Cubana et al., 2000), (López & Cortina Rosalez , 2000).

Un principio general es que 20 g (100 U) de anti-D protegen frente a 1 ml de sangre Rh-D positivos. La administración de la Inmunoglobulina anti-D a mujeres D negativas no inmunizadas previamente, en las 72 h tras cada alumbramiento de un recién nacido D positivo, previene la inmunización en la mayoría de los casos. Sin embargo, 1,8 % de las mujeres con riesgo desarrollan anti-D y, de éstas, el 92 % lo hace a partir de la 28 semana de gestación. La adición de una dosis de 300gms en esta semana de gestación disminuye la sensibilización al 0,12 %. La dosis de 300 g postparto protege frente a la exposición de 15 ml de sangre D positivos; del 0,24 % de las mujeres que tienen una hemorragia superior a esta cantidad en el parto sólo el 30 % quedará sensibilizada, por lo que, el fallo con esta dosis ocurrirá en el 0,08 %. En EE.UU. todas la mujeres D negativas reciben 300 g (1.500 U) de anti-D entre la 28 y la 35 semana de gestación en todos los embarazos. Si el neonato es D positivo, esta dosis se repite tras el parto. En la mayoría de los países Europeos se administra una dosis inferior, 200-250 g (1.000-1.500 U) a la 28 semana y se repite a la 34 semana. Esta dosis se reduce aún más en el Reino Unido donde consideran que 100 g a la 28 y 34 semanas confieren la misma protección. Teóricamente, las dosis divididas tienen la ventaja de mantener un nivel elevado de anticuerpos a lo largo del tercer trimestre. Sin embargo, y en la práctica diaria, suponen un riesgo por falta de cumplimiento al requerir una mayor adherencia por parte de las embarazadas (Vásquez et al., 2017).



En los casos de mujeres con expresión débil del antígeno D, sólo está justificada la profilaxis en los casos de D parcial, con falta de uno o más epítopes. Sin embargo, si solamente existe una menor expresión del antígeno (Dw), se debe considerar a la madre como Rh-D positivo. En el caso en que no se pueda diferenciar, para mayor seguridad se tratará como si fuera Rh-D negativa (Vásquez et al., 2017).

La administración rigurosa en tiempo y dosis de la inmunoprofilaxis anti-D debe ser una prioridad, ya que fallos de administración constituyen, aún hoy en día una importante causa de inmunización por RhD (Vásquez et al., 2017).

### 3. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación determinó la prevalencia de anticuerpos eritrocitarios durante el embarazo, en pacientes que asistieron a control prenatal en un Hospital de Maternidad del Seguro Social de la Ciudad de Guatemala, ya que es importante identificar los anticuerpos que están presentes en mujeres en estado de gravidez en la población y determinar la especificidad antigénica con el objetivo de conocer si son clínicamente significativos y su capacidad de producir Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido.

Cuando existen anticuerpos eritrocitarios durante el embarazo, se pone en riesgo al feto o el recién nacido, siempre y cuando el anticuerpo sea capaz de producir Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido. La falta de documentación de casos de EHRN, por los sub registros, impide conocer la prevalencia real de esta enfermedad en la población neonatal; sin embargo, la identificación de los anticuerpos en la etapa prenatal, permitirá llevar el control prenatal adecuado para disminuir los riesgos y complicaciones del feto y del recién nacido.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo General**

Estimar la prevalencia y la especificidad antigénica de anticuerpos eritrocitarios identificados en embarazadas que asistieron para control prenatal a un Hospital de Maternidad del Seguro Social de la ciudad de Guatemala en el mes de Junio del 2017.

### **4.2 Objetivos específicos**

- a. Caracterizar a las embarazadas que asistieron para su control prenatal durante el mes de Junio de 2017 al Hospital de Maternidad del Seguro Social en la Ciudad de Guatemala.
- b. Caracterizar a las embarazadas a las que se identificó la presencia de anticuerpos eritrocitarios.

## 5. METODOLOGIA

### 5.1 Unidades de análisis

Pacientes que asistieron al Hospital de Maternidad del Seguro Social de la Ciudad de Guatemala para su control prenatal durante el mes de Junio del 2017.

Se realizó un muestreo por conveniencia que incluyó a 460 embarazadas que asistieron al Hospital de Maternidad del Seguro Social, en el mes de Junio del 2017, para realizar pruebas del control prenatal.

### 5.3 Criterios de inclusión

Pacientes que asistieron a su primera cita al Laboratorio clínico para realizar pruebas de control prenatal, con registro del historial obstétrico y transfusional.

### 5.4 Consentimiento informado

De forma verbal se pidió el consentimiento a cada una de las pacientes, previo a ser encuestadas; a continuación se describe el contenido del consentimiento:

“Se está realizando un estudio que busca la presencia de anticuerpos desarrollados por embarazos o por recibir sangre, para lo cual, se le tomará una muestra de sangre y se le pedirán algunos datos. El resultado de la prueba realizada será enviado al expediente para que esté disponible cuando pase con su ginecólogo y le pueda decir el resultado”.

### 5.5 Diseño experimental

Estudio transversal.

## 6.5 Recursos

### 5.6.1 Recurso humano

Técnicos del Laboratorio clínico y Banco de Sangre.

Jefe del Banco de Sangre del Hospital de Maternidad.

Jefe del Laboratorio Clínico del Hospital de Maternidad.

Secretaria del Banco de Sangre.

Catedrática de Curso de Seminario

### **5.6.2 Materiales:**

Tubos al vacío con anticoagulante EDTA de 4 ml.  
Agujas para extracción de muestra al vacío, con sistema Vacutainer.  
Ligaduras para torniquete.  
Algodón.  
Alcohol.  
Curitas.  
Marcadores permanentes, color negro.  
Lapiceros color negro  
Hojas bond tamaño carta.  
Folder tamaño carta.  
Caja de fastener.  
Engrapadora.  
Grapas.  
Etiquetas de 4 x 7.  
Tarjetas de metodología gel LISS/Coombs.  
Tarjeta Buffer Gel.  
Células comerciales marca BIO RAD I, II, III.  
Panel extendido con y sin papaína de 11 células, marca BIO-RAD.  
Paneles Enzimáticos de 11 Células, conPapaína, marca BIO-RAD.  
Fotocopias de Cartas Antigénicas de los Paneles.

### **5.6.3 Equipo**

Equipo automatizado para Inmunoematología IH 500.  
Computadora.  
Impresora de papel.  
Impresora de etiquetas.  
Centrifuga para 12 Tubos.  
Gradillas para tubos.

### **5.6.4 Herramientas para recolección de datos.**

Encuesta de historial obstétrico (ver anexo 1).

Libros de Excel para tabulación de resultados.

## **5.7 Procedimiento:**

### **5.7.1 Toma de Muestra**

- Se llenó el Historial Obstétrico de cada una de las pacientes (anexo 1).
- Se tomó una muestra de sangre 4 ml de sangre completa con sistema Vacutainer y recolectada en tubo al vacío con anticoagulante EDTA.
- Se ingresaron los datos de las paciente en el sistema informático para banco de sangre y se le asignó un número de muestra, este número es correlativo y es irrepitible (Nombre completo, Número de afiliación y número de muestra).
- Las muestras fueron centrifugadas por 5 minutos a 3000 RPM.
- La muestra se ingresó en el equipo (IH 500)y se solicitó realizar la prueba de Coombs Indirecto de tres células.
- Una vez el equipo tuvo los resultados, fueron validados y enviados automáticamente al sistema del Banco de Sangre.
- Los resultados fueron impresos y se enviaron al expediente médico de cada paciente.

## **5.8 Metodología:**

La identificación de anticuerpos eritrocitarios se realizó con la prueba de Coombs Indirecto, con metodología de aglutinación en columna de gel, marca Bio-Rad; cuando esta fue positiva, se determinó la especificidad del anticuerpo a través del panel de identificación con y sin papaína, el respectivo título del anticuerpo y el fenotipo de la paciente.

### **5.8.1 Rastreo de anticuerpos eritrocitarios Coombs Indirecto:**

La prueba se realizó en tarjetas de ID-Card Liss/Coombs y con panel de 3 células comerciales, fenotipadas por el fabricante.

### **5.8.2 Identificación del anticuerpo eritrocitario Panel Normal**

Se utilizaron tarjetas ID-LISS/Coombs y panel extendido de 11 células, las células

comerciales marca Bio-Rad fenotipadas por el fabricante.

### **5.8.3 Identificación del anticuerpo eritrocitario Panel enzimático**

Para realizar la identificación del anticuerpo se utilizaron tarjetas ID-Card “NaCl, enzyme test and cold agglutinins” y panel extendido de 11 células con papaína marca Bio-Rad y fenotipadas por el fabricante.

### **5.8.4 Fenotipo Rh + Kell**

El fenotipo se realizó en tarjetas de Rh-subgrupos + K marca Bio-Rad.

### **5.8.5 Medidas estadísticas**

Se calcularon las siguientes medidas estadísticas: Prevalencia de anticuerpos eritrocitarios.

### **5.8.6 Análisis de datos**

Los datos fueron ingresados en un libro de Excel y exportados al sistema EpiInfo 7, para calcular: prevalencia, porcentajes y medidas de tendencia central.

## 6. RESULTADOS

460 embarazadas asistieron en el mes de junio de 2017 para su control prenatal; el grupo más numeroso correspondió a pacientes con más de dos embarazos, con 279 (60.94%) pacientes, dentro de este grupo, solo se encontró una paciente con seis partos, siendo el máximo número de partos; el segundo grupo más numeroso correspondió a pacientes que no han tenido embarazos previos con el 36.09% (n: 166) (ver Tabla No.1).

La edad gestacional se clasificó por trimestres, la mayor cantidad de pacientes se encontró en el 1er y 3er trimestre de embarazo con 186 (40.44 %) y 211 (45.85%) respectivamente (ver tabla No.1).

Las pacientes que tuvieron antecedentes transfusionales como riesgo de sensibilización fueron seis, que corresponde al 1.30 % (ver Tabla No.1).

Solo el 13.9 % (64 pacientes) podrían haber sido sensibilizadas por abortos previos; 11.52% con un aborto y el 2.17% con dos abortos (ver Tabla No.1).

Solamente el 3.67% (n:15) pacientes reportaron historial de Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido EHRN (ver Tabla No.1).



**Tabla No. 1 Caracterización de las pacientes que acudieron al Hospital de Maternidad para realizar pruebas de control prenatal en junio de 2017.**

<b>Característica</b>	<b>Número</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Partos</b>		
Nulípara	166	36.49
Primípara	15	2.56
Múltipara	279	60.95
<b>Trimestre</b>		
1ro.	186	40.44
2do	63	13.7
3ro	211	45.86
<b>Transfusiones</b>		
Si	6	1.30
No	454	98.70
<b>Abortos</b>		
Si	64	13.91
No	396	86.09
<b>EHRN previo</b>		
Si	15	3.67
No	279	60.65
No Aplica	166	35.70

La prevalencia de anticuerpos irregulares en embarazadas que asistieron a control prenatal a un Hospital de Maternidad del Seguro Social de la ciudad de Guatemala en junio de 2017 fue de 1.09 %.

La especificidad antigénica de los anticuerpos identificados fue: Anti-D (40%), Anti-E (40%) y Anti-Jka (20%); todos clínicamente significativos y capaces de causar EHRN( Armando Cortés Buelvas, Graciela León de Gonzalez, Manuel Muñoz Gomez, s. f.)(verTabla 2).

Cinco anticuerpos eritrocitarios fueron identificados en cinco pacientes; la caracterización de estas pacientes se describe en la Tabla 2. Las pacientes que presentaron anticuerpos eritrocitarios tenían más de dos embarazos previos, ninguna reportó haber recibido la Inmunoglobulina anti-D, ni transfusiones sanguíneas y solo una reportó dos abortos.

**Tabla 2: Caracterización de embarazadas en las cuales fueron identificados anticuerpos eritrocitarios.**

No.	Edad gestacional (semanas)	Historial obstétrico y transfusional					Tamizaje Inmunohematológico				
		Partos	Abortos	Inmunoglobulina anti-D	Transfusiones	EHRN previo	Grupo ABO y Rh	Fenotipo Rh + Kell	Rastreo	Anticuerpo	Título
127	31	3	2	No	No	Si	O Negativo	Cce	Positivo	Anti-D	1/1024
878	21	5	0	No	No	No	A Positivo	Cce	Positivo	Anti-E	1/256
661	15	4	0	No	No	No	O Positivo	Ce	Positivo	Anti-E	1/128
477	36	2	0	No	No	No	A Negativo	Ce	Positivo	Anti-D	1/1024
829	36	3	0	No	No	No	O Positivo	CcEe	Positivo	Anti Jka	1/1024

\*EHRN: enfermedad hemolítica del Recién nacido, se refiere a hijos previos que al momento de nacer padecieron de esta enfermedad.

\*Inmunoglobulina anti-D: se refiere a haber recibido la inmunoprofilaxis.

En la tabla No.2, la paciente No. 127, presenta un anti-D con un historial obstétrico muy interesante; con grupo sanguíneo O Rh-D negativo, con anti-D en título de 1,024, con tres partos, dos abortos, sin haber recibido Inmunoglobulina anti-D y con historial de EHRN; tuvo cinco eventos inmunizantes y estaba embarazada por sexta vez; hubiese sido interesante darle seguimiento a este caso, en la etapa prenatal y post natal y documentar los hallazgos en el Recién Nacido.

## 7. DISCUSION DE RESULTADOS

Para determinar la prevalencia de anticuerpos eritrocitarios en embarazadas, se tamizó a la totalidad de pacientes que asistieron a control prenatal a un Hospital de Maternidad de la Ciudad de Guatemala, en el mes de Junio del 2017; se encontró una prevalencia de anticuerpos eritrocitarios de 1.2%. Prevalencias similares se reportan en otros países como Holanda, con 2.7%; Arabia Saudita con 1.92%; Suecia con 0.4%; Israel con 0.2%; China con 0.79%; Holanda con 2.71%; en el Reino Unido con 1% , 1.8 % en Pakistan, Irlanda con 0.53%, Suiza con 0.57% (Pahuja et al., 2011)(Lambertino M & Villegas G, 2014).

La fisiopatología de la aloinmunización requiere contacto previo con antígenos eritrocitarios de otra persona, es decir una sensibilización previa, ya sea por transfusiones sanguíneas, abortos o embarazos. El 36.49% de las pacientes, no han tenido sensibilizaciones previas, es decir, un tercio de la población incluida en el estudio, no reporta haber tenido sensibilización previa, por lo tanto, la probabilidad de identificar anticuerpos eritrocitarios es casi nula; al respecto, hay estudios realizados con embarazadas multíparas, por ejemplo, en la India, donde tamizaron a 3,577 mujeres multíparas y la prevalencia fue de 1.25%; hay otros estudios que tamizaron a la totalidad de embarazadas, por ejemplo, en el Sur de Pakistan donde se tamizaron a 1000 embarazadas que acudieron para su control prenatal, todas ellas en el primer trimestre de embarazo y reportaron prevalencia de 1.8%. En Olomuc, se tamizó a todas las pacientes que llegaron para control pre natal, 45435 embarazadas y se determinó prevalencia de 1.5%. La bibliografía demuestra que estudios realizados con poblaciones muy diferentes en número, en características demográficas y con exposición a factores diferentes; y la prevalencia reportada es muy similar (Pahuja et al., 2011)(Koelewijn et al., 2008).(Martinez, Yubelkis Tatiana , & Estrada Díaz, 2015 ).

Existen más de 300 anticuerpos eritrocitarios reconocidos por la ISBT y solo los anticuerpos que han comprobado ser clínicamente significativos son importantes para ser identificados en la etapa prenatal. Aunque potencialmente cualquier anticuerpo eritrocitario puede producir esta complicación, los anticuerpos que son identificados con mayor frecuencia y que son capaces de generar una respuesta inmune, y por ende, son

clínicamente significativos son los del sistema Rhesus (D, d, E, e, C, c) y anticuerpos irregulares, entre estos, los anticuerpos del sistema Duffy, MNSS, Lewis y Kidd (De Haas et al., 2015)(Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009), (Fuenzalida & Carvajal, 2014).

El objetivo del estudio fue determinar la especificidad antigénica de los anticuerpos presentes en la población de embarazadas en la etapa prenatal; se encontró que el Anti-D y Anti-E; ambos del sistema Rh, están presentes en el 40% respectivamente. En el 20% de los casos está presente Anti Fya, clasificado como anticuerpo irregular.

Los anticuerpos eritrocitarios identificados con mayor frecuencia, en el embarazo en varios países, son los del sistema Rh; En Houston Texas, con datos de 3 meses, reportó: anti-M, anti-Lea, anti-E, anti-D y anti-Fya. En Holanda se identificó en 78% de los casos, los siguientes anticuerpos: anti C, anti c, anti-E, anti-K y anti-Jka. Los anticuerpos identificados en Pakistán fueron: anti-M, anti-E, anti-C y anti-e y en Nigeria: anti-C, anti-E, anti-Jsb, anti-K (Jeremiah, Mordi, Buseri, & Adias, 2011), (Karim et al., 2015), (Zalpur et al., 2014), (Koelewijn et al., 2008), (Fuenzalida & Carvajal, 2014).

En reportes de salud pública, se ha determinado que el anti-D sigue siendo el principal causante de hiperbilirubinemia y muerte neonatal alrededor del mundo; en Arabia Saudita se encontró que el anti-RhD está presente en 20% de embarazadas; en India en el 27%; en República Checa en el 2.6%; Turkia: 8.7%, Tailandia: 10%. En Nicaragua se identificó en 54.6% y en Pakistán 20 % (Fasano, 2016)(Zipursky & Bhutani, 2015), (Karim et al., 2015), (Martinez, Yubelkis Tatiana, & Estrada Díaz, 2015).

En el Hospital de la Universidad de Toronto, se dio seguimiento al nacimiento de bebés de madres con anti-D, determinan que 33% de estos bebés no requirieron tratamiento, 24% fallecieron por kernicterus, hidrops fetales o problemas relacionados y 29% con hiperbilirrubinemia severa. Los pacientes con EHRN que tienen acceso a atención de salud suelen estar en salas de Cuidado Intensivo con fototerapia y transfusiones, que suelen ser necesarias en la mayoría de los casos; se ha asociado la presencia de anti-D como la principal causa de daño cerebral por hiperbilirrubinemia en neonatos con OR de 48.6 (Zipursky & Bhutani, 2015), (Insunza F, Behnke G, & Carrillo T, 2011).

El uso de la Inmunoglobulina anti-D produciría una protección del 90% en el segundo embarazo y reducción de sensibilización por anti-D; sin embargo, la disponibilidad y el uso como profilaxis pre natal y pos natal es un tema de debate en muchos países del mundo (Körmöczi & Mayr, 2014), (Pillonel et al., 2012)(Fasano, 2016)(Zipursky & Bhutani, 2015).

La razón por la cual el Anti-D se ha identificado en embarazadas en muchos países del mundo es difícil de identificar; Zipursky y Bhuttani han planteado el hecho que el uso de la Inmunoglobulina anti-D, no está siendo aplicada en todos los casos, se debe al poco acceso en Centros de Salud; por otro lado, en los casos en los que se aplica, no se calcula la dosis relacionada con la cantidad de la hemorragia feto maternal, lo que podría influir por el hecho que no sea aplicada de forma correcta (De Haas et al., 2015), (Zipursky & Bhutani, 2015).

Aunque hay registros que el Anti-RhE puede ser de origen natural, es más frecuente su presencia por sensibilización previa, se ha comprobado en pocos casos publicados y está presente en títulos bajos y en la mayoría de casos está acompañado del anti-RhD (Lambertino M & Villegas G, 2014).

El anti-E ha sido reportado en varios casos de aloinmunización materna a nivel mundial; en un estudio realizado en Pakistan, se encontró que el Anti-E está presente en el 5% de las embarazadas. Otro estudio realizado en Olomuc, identificó al anti-E como el anticuerpo más frecuente identificado en 5.7% de casos; en Nicaragua se identificaron en 0.3% y en Nigeria en 3% (Holusková I, Lubušký M, Studničková M, 2013), (Hendrickson, Tormey, & Shaz, 2014), (Martinez, Yubelkis Tatiana , & Estrada Díaz, 2015 ).

En estudios publicados se ha demostrado que la mayoría de los recién nacidos con enfermedad hemolítica perinatal por anti-E desarrollan la enfermedad levemente estando presente en títulos bajos 1:2, sin embargo, existen casos en los que se ha detectado en muy pequeña cantidad y causó EHRN severa (Fuenzalida & Carvajal, 2014), (Armando Cortés Buelvas, Graciela León de Gonzalez, Manuel Muñoz Gomez, s. f.).

El anticuerpo anti-Duffy Fya ha sido identificado como uno de los más frecuentes de los

anticuerpos identificados en la etapa prenatal; aunque no hay muchos casos documentados, en Managua se identificaron en consulta prenatal solo en 1 % de las pacientes; en Holanda, se ha identificado en muy pocas ocasiones y asociado a casos de EHRN severas, con requerimiento de transfusión sanguínea y fototerapia; en Pakistán y Nigeria hay casos reportados por este anticuerpo(Hendrickson et al., 2014), (Martinez, Yubelkis Tatiana , & Estrada Díaz, 2015 ), (Karim et al., 2015), (Laitano, 2013), (Jeremiah et al., 2011).

Cuando se identifica la presencia de un anticuerpo eritrocitario clínicamente significativo y asociado con HERN es necesario identificar el título del anticuerpo La determinación de los títulos maternos es la cuantificación del anticuerpo presente, para determinar el grado de sensibilización. Un título crítico, este es el título en el cual existe un riesgo significativo de hidrops fetal; aun no hay títulos críticos establecidos para los anticuerpos clínicamente significativos, excepto para el anti-D, sin embargo, se considera crítico cuando el anticuerpo está presente en títulos mínimos. Los cinco anticuerpos identificados en esta investigación, están presentes en títulos mayores a 1/16. Existen reportes de casos de EHRN con títulos muy bajos, por lo que, es necesario dar seguimientos a estos casos para determinar si existe asociación entre el título del anticuerpo y las complicaciones presentadas por el Recién Nacido (Lambertino M & Villegas G, 2014), (Vásquez et al., 2017), (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

## **8. CONCLUSIONES**

Este fue el primer estudio en el país reportado a cerca de la investigación e identificación de anticuerpos eritrocitarios durante el embarazo, en la población guatemalteca.

La prevalencia de anticuerpos eritrocitarios identificados en embarazadas que asistieron a control prenatal a un Hospital de Maternidad del Seguro Social de la ciudad de Guatemala en el mes de Junio del 2017 fue de 1.09%.

La especificidad antigénica de los anticuerpos eritrocitarios identificados fue: anti-RhD40%, anti-RhE 40%y anti-fya 20%; todos clínicamente significativos y capaces de causar EHRN.

## **9. RECOMENDACIONES**

Se considera como limitante el tiempo de muestreo, ya que en un mes solo se tamizaron 460 pacientes.

Ampliar el tiempo de estudio permitirá obtener más datos y aumentará la posibilidad de identificar los anticuerpos presentes en esta población.

En futuras investigaciones, se recomienda el muestreo por un período de tiempo más extenso, para aumentar la población tamizada; asimismo, incluir solo a pacientes con embarazos previos, abortos y/o transfusiones.

Es importante realizar estudios de seguimiento pre y pos natal a todas las pacientes en las cuales se identifiquen anticuerpos eritrocitarios y determinar la asociación de cada anticuerpos con EHRN leve, moderada o severa.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Arbeláez, C. (2009). Fundamentos de genética e inmunología para bancos de sangre y medicina transfusional. *Medicina & Laboratorio*, 15 (No.1), 37-68.
- Buelvas, A., Gonzalez, G., & Muñoz, M. (2014). *Aplicaciones y Práctica de la Medicina Transfusional Tomo I*. Colombia: GIEMSA.
- Lopez, M., & Rosales, C. (2000). Enfermedad hemolítica perinatal, *Revista cubana hematología, inmunología y hemoterapia* 16 (No. 3), 161-183.
- De Haas, M., Thurik, F., Koelewijn, M., & van der Schoot, C. (2015). Haemolytic disease of the fetus and newborn. *Vox Sanguinis*, 109 (No. 2), 99-113.
- Diaz, E., Hernandez, G., & Martinez, P. (2015). Importancia De Anticuerpos Irregulares En Medicina Transfusional. *Seminario para optar al título de licenciatura en Bioanálisis Clínico. Universidad autónoma de Nicaragua, Managua UNAM-Managua*. Managua, Nicaragua.
- Fasano, R. (2016). Hemolytic disease of the fetus and newborn in the molecular era. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 21 (No.1), 28-34.
- Fuenzalida, J., & Carvajal, J. (2014). Manejo de la embarazada con isoinmunización por anticuerpos irregulares. *Revista Chilena de obstetricia y ginecología*, 79(No.4), 315-322.
- Golfed, J., López, M., Wikman, D., Miller, A., & Viano, L. (2014). *Microtécnica De Aglutinación en Gel Fundamentos Y Técnicas Básicas*. Uruguay: Prado.
- Hendrickson, J., Tormey, C., & Shaz, B. (2014). Red blood cell alloimmunization mitigation strategies. *Transfusion Medicine Reviews*, 28 (No.3), 137-144.
- Holusková I, Lubušký M, Studničková M, P. M. (2013). Incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women in olomouc region. *Ceska Gynekol*, 78, 56-71.
- Insunza F, A., Behnke G, E., & Carrillo T, J. (2011). Enfermedad hemolítica perinatal: manejo de la embarazada RhD negativo. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 76 (No.3), 165-172.
- Jeremiah, Z., Mordi, A., Buseri, F. I., & Adias, T. (2011). Frequencies of maternal red blood cell alloantibodies in Port Harcourt, Nigeria. *Asian journal of transfusion science*, 5 (No.1), 39-41.
- Karim, F., Moiz, B., & Kamran, N. (2015). Risk of maternal alloimmunization in Southern Pakistan - A study in a cohort of 1000 pregnant women. *Transfusion and Apheresis*



- Science*, 52 (No.1), 99-102.
- Koelewijn, M., Vrijkotte, M., Van der Schoot, E., Bonsel, J., & de Haas, M. (2008). Effect of screening for red cell antibodies, other than anti-D, to detect hemolytic disease of the fetus and newborn: a population study in the Netherlands. *Transfusion*, 48 (No.5), 941-952.
- Körmöcz, G., & Mayr, W. (2014). Responder individuality in red blood cell alloimmunization. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* 41 (No.6), 446-451.
- Laitano, G. (2013). Enfermedad hemolítica del recién nacido por anticuerpos antieritrocitarios maternos, *Revista de ciencia y tecnología*. 12, 106-116.
- Lambertino, R., & Villegas M. (2014). Aloimmunización Rh en mujeres gestantes, una mirada al diagnóstico y a su aproximación terapéutica. *Revista mexicana de ginecología y obstetricia*, 82 (No.4), 744-754.
- Lawicki, S., Covin, R., & Powers, A. (2017). The Kidd (JK) Blood Group System. *Transfusion Medicine Reviews*. 31 (No.3), 165-172
- Mallon, J., Neill, O., Biggerstaff, F., Kelly, B., & Scott, G. (2018). Guideline Anti-D, *Southern health and social care trust*. 1-13.
- Pahuja, S., Gupta, S. K., Pujani, M., & Jain, M. (2011). The prevalence of irregular erythrocyte antibodies among antenatal women in Delhi. *Blood Transfusion*, 9 (No.4), 388-393.
- Rossum, H., de Kraa, N., Thomas, M., Holleboom, G., Castel, A., & van Rossum, P. (2015). Comparison of the direct antiglobulin test and the eluate technique for diagnosing haemolytic disease of the newborn. *Practical Laboratory Medicine*, 3. 17-22.
- Vásquez, Y., Tello, B., Cualchi, A., & Perugachi, J. (2017). *Enfermedad Hemolítica del recién nacido. XLVI Reunion nacional de la AEHH y XX Congreso Nacional de la SETH. Programa educacional* (Vol. 1).
- Vásquez, M., Castillo, D., Pavez, Y., Maldonado, M., & Mena, A. (2015). Frecuencia de antígenos del sistema sanguíneo Rh y del sistema Kell en donantes de sangre. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 31 (No.2), 160-171.
- Zalpuri, S., Middelburg, A., Schonewille, H., De Vooght, K., Le Cessie, S., Van Der, G., & Zwaginga, J. (2014). Intensive red blood cell transfusions and risk of alloimmunization. *Transfusion*, 54 (No.2), 278-284.
- Zipursky, A., & Bhutani, V. K. (2015). Seminars in Fetal & Neonatal Medicine Impact of

Rhesus disease on the global problem of bilirubin-induced neurologic dysfunction.  
*Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 20 (No.1), 2-5.

## **11. ANEXOS**

**ANEXO 1**  
**Formulario de historial gineco obstétrico y transfusional**

**HISTORIAL GINECO OBSTETRICO**

**DATOS DE LA PACIENTE**

Nombre: \_\_\_\_\_

Registro Médico 

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

**HISTORIAL OBSTETRICO**

Embarazos	1	2	3	4	5	+ 5		
Abortos	0	1	2	3	4	5		
Semanas de embarazo	0-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-15	36

**SENSIBILIZACIONES PREVIAS**

EHRN	SI	NO	NO SABE	NO APLICA
Inmunoglobulina D	SI	NO	NO SABE	NO APLICA
Transfusiones	SI	NO		

**RESULTADOS**

Rastreo de anticuerpos	
Identificación	
Título	
Fenotipo	

## **ANEXO 2**

### **Investigación de anticuerpos irregulares en medio LISS/coombs**

#### **CELULAS COMERCIALES:**

Se utilizaron células comerciales I-II-III fenotipadas por el fabricante. Los requerimientos de configuración antigénica de los eritrocitos de prueba son rigurosos, para asegurar la detección de todos los anticuerpos clínicamente significativos (Golffed, López, Wikman, Miller, & Viano, 2014)

Para los sistemas Rh, MNSs, Duffy y Kidd la dotación antigénica está presente en forma homocigota. También esta presentes los antígenos Lewis y, el menos frecuente que puede estar presente es el antígeno Kpa (Golffed et al., 2014)

#### **PROCEDIMIENTO**

1. Se dejó que los hematíes de prueba y las muestras a analizar alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.
2. Se marcaron los microtubos correspondientes de la tarjeta ID-Card Liss/Coombs con el nombre o número de la muestra a analizar.
3. Se retiraron la lámina de sellado sólo de los microtubos que se utilizaron, manteniendo la ID-tarjeta en posición vertical.
4. Se pipetearon 50µl de cada reactivo de las células comerciales (vial I y II y III) en el micro tubo correspondiente.
5. Para el control, se pipetearon 50µl de la propia suspensión de hematíes de la muestra en el correspondiente micro tubo.
6. Se añadieron 25µl de plasma o suero del paciente a cada micro tubo.
7. Se incubaron la tarjeta ID-Card durante 15 minutos, a 37°C.
8. Se centrifugaron la tarjeta ID-Card durante 10 minutos.
9. Se procedió a leer y registrar los resultados.
10. Las reacciones obtenidas se transcribieron en la Tabla de antígenos.

11. Se comprobó que el número de lote de los hematíes reactivo I-II o I-II-III corresponde con el número de lote indicado en la Tabla de antígenos. (Golffed et al., 2014).

## **ANEXO 3**

### **Identificación de Anticuerpos irregulares**

#### **PANEL DE CÉLULAS**

Son paneles de glóbulos rojos seleccionados con una composición de antígeno conocida para los principales grupos sanguíneos presentes con mayor frecuencia, principalmente el Rh, Kell, Kidd, Duffy y MNS.

Esos glóbulos rojos generalmente se obtienen de un proveedor comercial, por lo general son grupo O, y se conoce la composición antigénica de cada una de las células (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

Un panel debería permitir identificar la mayoría de los anticuerpos clínicamente significativos y tener la capacidad de detectar las reacciones negativas para eliminar la presencia de anticuerpos (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

#### **PANEL DE CÉLULAS TRATADOS CON ENZIMAS**

Son útiles en la detección de anticuerpos, ya que confirman la presencia de un anticuerpo o detectan anticuerpos adicionales; el principio es el uso de enzimas que destruyen o alteran los antígenos glóbulos rojos que son sensibles a las enzimas.

Las enzimas más comúnmente utilizadas son: ficina, papaína, tripsina y bromelina y destruye o altera los antígenos del grupo sanguíneo Duffy y MNS y Xga, JMH, Ch, Rg, S, Yta, Mg, Mia / Vw, Cla, Jea, Nya, JMH, algunos Ge e Inb.

Estas células permiten potencializar la reacción de antígenos del grupo sanguíneo Rh, Kidd, Lewis y ABO; destruye o altera los antígenos de Kell, Lutheran, Dombrock y Cromer y los antígenos Yta, JMH, Kna, McCa, Yka, LWa y LWb (Shaz, Hillyer, Zimring, & Abshire, 2009).

#### **PROCEDIMIENTO**

1. Se dejó que las células comerciales y las muestras alcanzaran la temperatura ambiente antes de usarlos.
2. Se marcaron las tarjetas "Liss/Coombs" con el nombre o número del paciente o donantes en quien queremos identificar el anticuerpo irregular.
3. Se numeraron del 1 al 6 la primera tarjeta y del 7 al 11 y AC (autocontrol) en la segunda tarjeta.

4. Se retiró la lámina de sellado solo de los microtubos a utilizar y se mantuvo la ID-Card en posición vertical.
5. Se pipeteo de cada vial numerado del 1 al 11, una gota (50µl) a cada micro tubo igualmente numerado.
6. En el último micro tubo (número 12) destinado a autocontrol (AC), se pipeteó 50µl de la propia suspensión de hematíes.
7. A todos los microtubos se les agregó 25µl del plasma o suero del paciente
8. Se incubó por 15 minutos a 37°C en la incubadora, ambas tarjetas.
9. Se centrifugó por 10 minutos, ambas tarjetas.
10. Se procedió a leer y transcribir los resultados en la Tabla de antígenos (Golffed et al., 2014).

## **IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES CON PANEL ENZIMÁTICO**

1. Se marcaron los microtubos correspondientes de la ID-Card “NaCl, enzyme test and cold agglutinins” con el nombre o número del paciente o donante en estudio.
2. Se retiró el papel aluminio de todos los micro tubos.
3. Se pipetearon 50µl de cada tipo de eritrocitos de prueba “ID-Dia Panel I-II-III P” papainizados en los microtubos correspondientes identificados como I, II y III.
4. Para el autocontrol, se pipetearon 50µl de la propia suspensión de eritrocitos del paciente en el micro tubo destinado como AC (Auto Control) y agregue 25µl de Papaína.
5. Se añadieron 25µl de plasma o suero del paciente o donante a cada micro tubo.
6. Se incubó la tarjeta ID-Card durante 15 minutos a 37°C en la incubadora.
7. Se centrifugo la tarjeta durante 10 minutos en la ID-Centrifuge.
8. Se procedió a leer y transcribir los resultados obtenidos (Golffed et al., 2014).

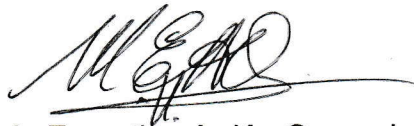


## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

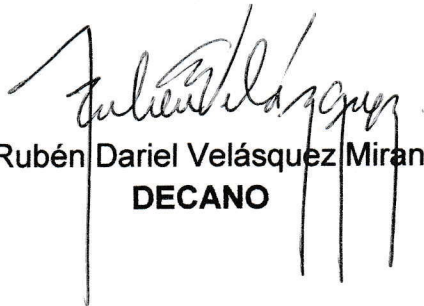
- Una reacción negativa indica la ausencia de anticuerpos irregulares detectables en el suero o plasma del paciente.
- Una reacción positiva indica la presencia de anticuerpos irregulares. Introduzca las reacciones obtenidas en la cartilla de antígenos y verifique que el número de lote de los eritrocitos de prueba corresponde al número de lote indicado en la Tabla de antígenos.
- El patrón de reacciones y la configuración de antígenos puede indicar el tipo de anticuerpo presente.
- Una reacción positiva a algunas células y un autocontrol negativo, sugieren la presencia de un anticuerpo específico.
- Si existe una reacción positiva a todas las células y un autocontrol positivo, compare los patrones de reacción de las muestras con la reacción de algún anticuerpo.
- Si las reacciones fuesen más intensas que el autocontrol, podría sugerir la presencia de un aloanticuerpo subyacente.
- En la identificación de anticuerpos: El patrón de reacciones y la configuración de antígenos permiten en la mayoría de los casos identificar el tipo de anticuerpo presente.
- Una reacción positiva a TODOS las células y un autocontrol negativo, puede deberse a reacciones no específicas o indicar la presencia de un aloanticuerpo contra un antígeno de elevada frecuencia.
- Una reacción positiva a todas las células y un autocontrol positivo, se debe probablemente a un auto anticuerpo.
- El que exista una reacción positiva a todas las células y un autocontrol positivo, pero uno o más células muestran reacciones más intensas que el autocontrol, puede indicar la existencia de un aloanticuerpo subyacente, por lo que se deberán ampliar los estudios(Golffed et al., 2014), (Martín Fularte, 1998).



Débora Ibeth Velásquez Picot  
**AUTOR**



MSc. María Ernestina Ardón Quezada  
**DIRECTORA**



Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda  
**DECANO**