

Estudio inmunohematológico de la enfermedad hemolítica ABO

J. Cid Vidal y E. Elies Fibla

Centre de Transfusió i Banc de Teixits. Tarragona.

(*An Esp Pediatr* 2000; 53: 249-252)

Objetivo

La enfermedad hemolítica ABO puede manifestarse cuando existe incompatibilidad de grupo ABO entre la madre y el hijo. El objetivo del presente estudio fue analizar la incompatibilidad serológica ABO presente en nuestro centro, comparar 2 técnicas inmunohematológicas para su diagnóstico serológico y evaluar la repercusión de la incompatibilidad ABO en el hematocrito de la sangre de cordón umbilical.

Métodos

Se realizó el grupo ABO y Rh(D) en 881 muestras de sangre materna y de sangre de cordón. Con esta última se realizó la prueba de la antiglobulina directa (PAD), el eluido y el microhematócrito.

Resultados

La incompatibilidad ABO se dio en 134 (15,3%) casos. Ésta se detectó con la PAD y el eluido en un 31,6 y 68,4% de los casos estudiados, respectivamente ($p = 0,001$). El grupo con incompatibilidad ABO presentó unas cifras de hematocrito inferiores al grupo sin incompatibilidad, con una diferencia estadísticamente significativa ($44 \pm 7,8\%$ frente a $46,5 \pm 6,5\%$; $p = 0,029$).

Conclusiones

Aunque la enfermedad hemolítica ABO clínicamente significativa es rara, la incompatibilidad ABO se detecta con las técnicas serológicas comúnmente utilizadas y es causa de cierto grado de hemólisis en el recién nacido.

Palabras clave:

Enfermedad hemolítica ABO. Eluido. Prueba de la antiglobulina directa. Hematócrito.

IMMUNOHEMATOLOGIC STUDY OF ABO HEMOLYTIC DISEASE

Objective

ABO-hemolytic disease occurs when ABO-incompatibility is present between the mother and the fetus. The

objective of the present study was to analyze ABO-hemolytic disease in our center, to compare two serologic tests to diagnose it and to evaluate hematocrit values in cord blood samples.

Methods

ABO and Rh(D) group was found in 881 blood samples. Umbilical cord blood samples were obtained and direct antiglobulin test (DAT), eluate and microhematocrit were performed.

Results

ABO-incompatibility was found in 134 (15.3%) cases. DAT was positive in 31.6% of patients studied with ABO-incompatibility and the eluate identified the antibody in 68.4% of studied patients ($p = 0.001$). Hematocrit values were lower in the group with ABO-incompatibility than in the ABO-compatible group ($44 \pm 7.8\%$ vs. $46.5 \pm 6.5\%$; $p = 0.029$).

Conclusions

Although severe ABO hemolytic disease is rare, ABO incompatibility is detected with current serologic tests and it causes a certain degree of hemolysis in newborn infants.

Key words:

ABO hemolytic disease. Eluate. Direct antiglobulin test. Hematocrit.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) o eritroblastosis fetal ocurre cuando existe un paso transplacentario de anticuerpos maternos activos contra los antígenos eritrocitarios fetales. Como consecuencia, se produce un aumento de la destrucción de estos últimos con la aparición de anemia e hiperbilirrubinemia. Aunque se han identificado más de 60 antígenos eritrocitarios diferentes capaces de provocar una respuesta inmunitaria en un receptor adecuado, este trastorno se relaciona principalmente con el antígeno D del grupo Rh y con la incompatibilidad

Correspondencia: Dr. J. Cid Vidal. CTBT-Tarragona. Dr. Mallafré Guasch, 4. 43007 Tarragona.

Recibido en marzo de 2000.

Aceptado para su publicación en julio de 2000.

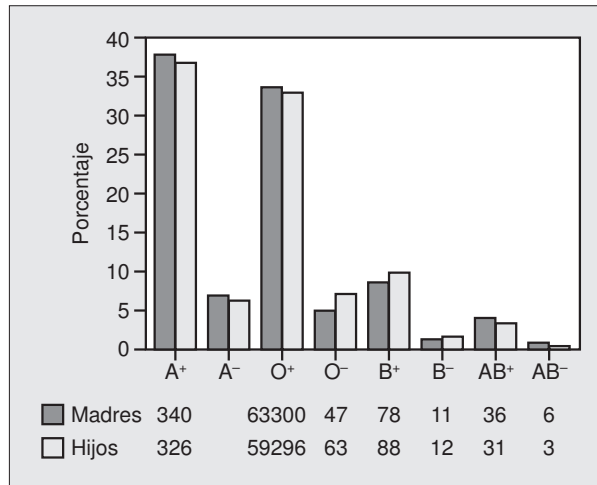


Figura 1. Distribución de los grupos sanguíneos en las madres e hijos.

debida a los factores ABO. A pesar del desarrollo de un método de prevención de la isoimmunización materna por el antígeno D del sistema Rh, la EHRN sigue siendo una causa importante de anemia e ictericia en el recién nacido¹.

La incompatibilidad ABO entre la madre y el feto produce un cuadro más leve que la incompatibilidad Rh(D) y se conoce como enfermedad hemolítica ABO. Salvo raras excepciones, la incompatibilidad se presenta sólo en el caso de una gestante de grupo O con hijo A o B. Esto es así porque los individuos adultos producen de forma natural anticuerpos de clase IgM contra el antígeno ABO del cual carecen, pero en el caso de individuos de grupo O, cierta cantidad del anticuerpo producido es de clase IgG. Así pues, la IgG anti-A,B presente en el suero de una gestante de grupo O podrá cruzar la placenta y unirse a los hematíes fetales².

Desde el punto de vista serológico, el estudio de la incompatibilidad ABO se basa en la realización de la prueba de la antiglobulina directa PAD¹, pero existen técnicas más recientes, como la elución, que permiten detectar un mayor número de casos^{3,4}.

El objetivo del presente estudio fue analizar la enfermedad hemolítica ABO presente en nuestro centro, comparar las dos técnicas serológicas más comúnmente utilizadas para su detección y evaluar la repercusión analítica de la incompatibilidad ABO en las cifras de hematocrito de la sangre de cordón.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras y técnicas de estudio

En el caso de la madre, se extrajeron 5 ml de sangre durante la primera hora posparto y se almacenaron con el anticoagulante EDTA. Se realizó la determinación del grupo ABO y Rh(D), así como una prueba de la anti-

globulina indirecta (PAI)¹. Cuando la PAI resultó positiva, se procedió a identificar el anticuerpo presente.

En el caso de la sangre de cordón, ésta se almacenó con citrato. Se determinó el grupo ABO y Rh(D). Con una pequeña muestra de sangre de cordón se realizó un microhematócrito.

En ambos casos, cuando el Rh(D) resultó negativo se realizó una segunda determinación con un reactivo capaz de detectar las variantes débiles del antígeno D. Se consideraron como Rh(D) negativo aquellas muestras con resultado negativo en ambas determinaciones, mientras que se consideraron como Rh(D) positivo aquellas con resultado positivo en una de las dos determinaciones.

La incompatibilidad ABO entre la madre y el hijo se definió como madre de grupo O e hijo de grupo A o B. El estudio serológico para confirmar la presencia de la IgG anti-A,B se realizó mediante la prueba de la antiglobulina directa (PAD)¹ y la elución del anticuerpo, por el método ácido³, con el reactivo comercial Elu-kit® II siguiendo las instrucciones proporcionadas por el proveedor.

Análisis estadístico

La comparación de variables cuantitativas y cualitativas se realizó con los tests de ANOVA y de McNemar, respectivamente⁵. Se utilizó para ello el paquete estadístico de SPSS para Windows 98, versión 8.0, SPSS, Chicago, IL.

RESULTADOS

Se analizaron 881 muestras durante el período comprendido entre marzo y octubre de 1999. La edad mediana de la población estudiada fue de 30 años (extremos 16-45). Hubo 4 muestras (0,45%) de sangre de cordón no valorables por problemas técnicos. En la figura 1 se recoge la distribución de grupos sanguíneos en las muestras maternas, así como en las de sangre de cordón. El grupo A positivo fue el más frecuente en ambos grupos, mientras que el grupo AB negativo fue el de menor frecuencia.

En 4 casos (0,45%) la PAI resultó positiva. Los anticuerpos irregulares responsables fueron: anti-D pasivo, anti-E, anti-M y anti-Le(b).

La incompatibilidad ABO ocurrió en 134 casos (15,3%). La PAD fue negativa cuando no existió incompatibilidad ABO mientras que la PAD resultó positiva en el 8,2% de los casos con incompatibilidad ABO (tabla 1). En la tabla 2 se presentan los resultados de la PAD y del eluido en 38 casos elegidos al azar que representan el 28,3% del total de casos con incompatibilidad ABO. Mientras la PAD fue positiva en 12 casos (31,6%), el eluido demostró la presencia del anticuerpo en 26 casos (68,4%), con una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,001$; test de McNemar).

En 423 muestras (48,2%) se obtuvo el hematócrito de la sangre de cordón con una media y desviación estándar de 46,2 y 6,8%, respectivamente. El grupo sin incompatibilidad ABO presentó unas cifras de hematócrito superiores al grupo con incompatibilidad ABO con una diferencia estadísticamente significativa ($46,5 \pm 6,5\%$ frente a $44 \pm 7,8\%$; $p = 0,029$; test de ANOVA).

DISCUSIÓN

Los trastornos hemolíticos neonatales son la principal causa de anemia aparecida en los primeros días de vida. Entre estos trastornos se encuentra la EHRN por incompatibilidad Rh(D) y la enfermedad hemolítica ABO. Esta última puede aparecer en el caso de una gestante de grupo O con un hijo de grupo A, B o AB. En nuestro estudio definimos la incompatibilidad ABO cuando una gestante de grupo O tuvo un hijo de grupo A o B ya que no apareció ningún caso de madre de grupo O con un hijo de grupo AB⁶.

En aproximadamente el 15% de los embarazos se produce una incompatibilidad ABO, aunque la enfermedad clínicamente significativa es rara². En nuestra serie, la incompatibilidad ABO apareció en 136 casos (15,4%), pero ningún recién nacido precisó transfusión de hematíes por tal hecho. Dos razones principales explican esta discrepancia. Por un lado, existe un desarrollo incompleto de los antígenos eritrocitarios ABO en el recién nacido. Por otro lado, las sustancias A y B no son exclusivas de la membrana eritrocitaria y sólo una pequeña fracción de IgG que cruza la placenta se unirá a los hematíes fetales⁷.

La incidencia de la enfermedad hemolítica ABO es variable según la población estudiada. En diferentes estudios, la incidencia fue menor en la población caucásica que en la población negra⁸ y que en ciertas poblaciones de América central⁹. En otro estudio, la población árabe presentó una incidencia similar a la población negra pero con una gravedad mayor que en la población europea¹⁰.

Desde el punto de vista serológico, el estudio de la enfermedad hemolítica ABO presenta ciertas particularidades que cabe comentar. Si se utilizan técnicas serológicas sensibles, siempre es posible encontrar pequeñas cantidades de IgG anti-A,B unidas a la membrana de los eritrocitos de los hijos en aquellos embarazos con incompatibilidad ABO¹¹. Este hecho queda ilustrado en nuestro estudio. Cuando existió incompatibilidad ABO, tan sólo el 8,2% de los casos presentaron una PAD positiva mientras que el 57,7% de los casos estudiados con PAD negativa presentaron un eluido positivo (tablas 1 y 2). La explicación de este hecho se debe a la diferente sensibilidad de las técnicas serológicas. La PAD que se practica de forma rutinaria permite detectar entre 100 y 500 moléculas de IgG por hematíe y entre 400 y 1.100 moléculas de C3d por hematíe. La elución, en cambio,

TABLA 1. Resultado de la prueba de la antiglobulina directa (PAD) según la compatibilidad ABO

	PAD positiva	PAD negativa
Incompatibilidad ABO	11	123
Compatibilidad ABO	0	745

TABLA 2. Resultado serológico de la incompatibilidad ABO

	Eluido positivo	Eluido negativo	Total
PAD positiva	11	1	12
PAD negativa	15	11	26
Total	26	12	38

PAD: prueba de la antiglobulina directa.

es un procedimiento que interfiere en la unión no covalente entre antígeno y anticuerpo y que mantiene este último unido a la membrana del hematíe. De esta forma, la unión se rompe y el anticuerpo queda libre, aumenta su concentración y se facilita su identificación^{1,3,4,12,13}.

Desde el punto de vista analítico, el estudio del hematócrito de la sangre de cordón también puede poner de manifiesto la incompatibilidad ABO. En nuestro estudio, los casos con incompatibilidad ABO presentaron un valor de hematócrito inferior que los casos sin incompatibilidad con una diferencia estadísticamente significativa. Otros estudios han demostrado en muestras de sangre de cordón con incompatibilidad ABO unos valores inferiores de hemoglobina así como valores mayores de reticulocitos y bilirrubina cuando se compararon con muestras sin incompatibilidad ABO¹⁴. Además, otros autores han descrito reacciones hemolíticas en prematuros transfundidos con hematíes isogrupo aunque la PAD fuera negativa¹⁵. Esto se debe a que, en prematuros, la prueba de la antiglobulina directa y el eluido casi siempre son negativos; sin embargo, puede existir un anticuerpo libre detectado por la prueba de la antiglobulina indirecta frente a hematíes A₁ o B, que provoque hemólisis de los hematíes A₁ o B transfundidos. El análisis conjunto de estos hechos demuestra que, si bien la enfermedad hemolítica ABO grave es infrecuente, un pequeño grado de destrucción eritrocitaria siempre existe, y cuando tal destrucción provoca anemia sintomática y se indica la transfusión de hematíes, éstos siempre deben ser de grupo O.

En conclusión, aunque la enfermedad hemolítica ABO clínicamente significativa es poco frecuente, las técnicas serológicas que se utilizan habitualmente son capaces de identificar la incompatibilidad ABO en un número elevado de casos y la repercusión analítica es constante.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vengelen-Tyler V. Technical manual (12.^a ed.). Bethesda: AABB, 1996.
2. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine (10^a ed.). Reino Unido: Blackwell Science, 1997.
3. Melvin JR, Sanfillipo JS, Dobra KW, Cronholm LS, Maldonado A. An improved method of acid elution and its application in obstetric and immunohematology. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 141: 25-29.
4. Álvarez A, Rives S, Montoto S, Sanz C, Pereira A. Relative sensitivity of direct antiglobulin test, antibody's elution and flow cytometry in the serologic diagnosis of immunehemolytic transfusion reactions. *Transfusion* 1999; 39: S59.
5. Sentis J, Pardell H, Cobo E, Canela J. Bioestadística (2.^a ed.). Barcelona: Masson, 1995.
6. Watkins WM, Greenwell P, Yates AD. The genetic and enzymatic regulation of the synthesis of the A and B determinants in the ABO blood group system. *Immunol Commun* 1981; 10: 83-100.
7. McCullough J. Transfusion medicine. Nueva York: McGraw Hill, 1998.
8. Kirkman NN. Further evidence for a racial difference in frequency of ABO hemolytic disease. *J Pediatr* 1977; 90: 717-720.
9. Cariani L, Romano EL, Martínez N, Montano R, Suárez G, Ruiz I et al. ABO-haemolytic disease of the newborn (ABO-HDN): factors influencing its severity and incidence in Venezuela. *J Trop Pediatr* 1995; 41: 14-21.
10. Al-Jawad ST, Keenan P, Kholeif S. Incidence of ABO haemolytic disease in a mixed Arab population. *Saudi Med J* 1985; 7: 41-45.
11. Voak D, Bowley CC. A detailed serological study on the prediction and diagnosis of ABO haemolytic disease of the newborn (ABO-HDN). *Vox Sang* 1969; 17: 321-326.
12. Voak D, Williams MA. An explanation of the failure of the direct antiglobulin test to detect erythrocyte sensitisation in ABO haemolytic disease of the newborn and observations on pinocytosis of Ig anti-A antibodies in infant (cord) red cells. *Brit J Haematol* 1971; 20: 9-16.
13. Álvarez A, Rives S, Montoto S, Sanz C, Pereira A. Relative sensitivity of direct antiglobulin test, antibody's elution and flow cytometry in the serologic diagnosis of immune hemolytic transfusion reactions. *Haematologica* 2000; 85: 186-188.
14. Rosenfield R, Ohno G. A-B hemolytic disease of the newborn. *Rev Hémat* 1955; 10: 231-236.
15. Falterman CG, Richardson J. Transfusion reaction due to unrecognised ABO haemolytic disease of the newborn infant. *J Pediatr* 1980; 97: 812-814.