



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

**ABORDAJE INMUNOHEMATOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD
HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO POR INCOMPATIBILIDAD ABO**

**IMMUNOHEMATOLOGICAL APPROACH TO HEMOLYTIC DISEASE
OF THE NEWBORN DUE TO ABO INCOMPATIBILITY**

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE SEGUNDA
ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN HEMOTERAPIA Y BANCO DE
SANGRE**

AUTORA:

ANGELA MARIA FASABI FERRER

ASESOR:

EDVIN SANTIAGO TRUJILLO

LIMA – PERU

2024

ASESOR DE TRABAJO ACADÉMICO.

Lic. T. M. EDVIN SANTIAGO TRUJILLO

Código Orcid. 0000-0003-0118-1643

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios por estar siempre conmigo cuando más lo necesito en mi vida, a mis amados padres quienes siempre han estado muy orgulloso de mi. Nunca perdieron su fe y siempre me apoyaron a salir adelante en los momentos más difíciles, sin ustedes no habría llegado tan lejos los quiero.

Este trabajo tiene una dedicación especial para mi hermanita Tania Fasabi Ferrer por la fortaleza que nos demostró bajo las adversidades que se le presentaron en la vida y pudo salir adelante junto con su familia.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a todos las personas que han ayudado a que este trabajo salga adelante, con su experiencia, apoyo, y amistad.

A mi hermano Freddy Rubén Fasabi Ferrer por siempre ser no solo un hermano, sino un verdadero amigo.

A mi asesor Edvin Santiago Trujillo, quien me ha guiado y enseñado con cariño, paciencia y por su magnífica dedicación.

Y a cada una de las personas que de una u otra manera, influyeron y aportaron un granito de arena a mi formación profesional.

DECLARACIÓN DEL AUTOR

Yo, Angela María Fasabi Ferrer, identificada con DNI 41680372, Egresada del Programa de Segunda Especialidad Profesional en Hemoterapia y Banco de Sangre de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (FMAH-UPCH), autor de la monografía titulada: Abordaje Inmunohematológico de la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido por Incompatibilidad ABO.

Declaro que: Esta monografía presentada para la obtención del Título en Hemoterapia y Banco de sangre es original siendo resultados de mi trabajo personal, el cual no he copiado de otro trabajo de investigación, ni utilizado ideas, formulas, ni citas completas” stricto sensu “, así como ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc. (en versión digital o impresa). Caso contrario, menciono de forma clara y exacta su origen o autor. Tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.

La monografía que pongo en consideración para evaluación para evaluación no ha sido presentada anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni ha sido publicada en sitio alguno. Soy consciente de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, es objeto de sanciones universitaria y/o legales, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en la monografía. Asimismo, me hago responsable ante la universidad o terceros, de cualquier irregularidad o daño que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declaro. De identificarse falsificación, plagio fraude o que la monografía haya sido publicada anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, responsabilizándome por todas las cargas pecuniarias o legales que se deriven de ello sometiéndome a las normas establecidas y vigentes de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

ABORDAJE INMUNOHEMATOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD
HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO POR INCOMPATIBILIDAD
ABO

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	www.heraldopenaccess.us Fuente de Internet	6%
2	123dok.org Fuente de Internet	3%
3	pt.scribd.com Fuente de Internet	2%
4	Michelle L. Erickson. "Alloimmunization in Pregnancy", Elsevier BV, 2020 Publicación	1%
5	Ruth Perez. "Extrinsic defects leading to increased erythrocyte destruction—immune causes", Elsevier BV, 2020 Publicación	1%
6	www.aabb.org Fuente de Internet	1%
7	donsak.sru.ac.th Fuente de Internet	1%
8	R. D. Christensen, V. L. Baer, B. C. MacQueen, E. A. O'Brien, S. J. Ilstrup. "ABO hemolytic disease of the fetus and newborn: thirteen years of data after implementing a universal	1%

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO	3
CAPÍTULO I ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO POR INCOMPATIBILIDAD ABO	4
1.1 Sistema ABO.....	4
1.1.1 Antígenos del Sistema ABO	4
1.1.2 Anticuerpos del sistema ABO	6
1.2 Enfermedad hemolítica del Recién nacido por incompatibilidad ABO.....	8
1.2.1. Fisiopatología	8
1.2.2 Epidemiología	12
CAPÍTULO II PRUEBAS INMUNOHEMATOLÓGICAS	14
2.1 Grupo sanguíneo	14
2.1.1 Grupo sanguíneo materno	14
2.1.2 Grupo sanguíneo del recién nacido	14
2.2 Prueba de Coombs	15
2.2.2 Coombs indirecto.....	18
2.3 Titulación de anticuerpos ABO Materno	19
2.4 Elución	21
CAPITULO III.....	23
CONCLUSIONES	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

RESUMEN

En los años recientes la incompatibilidad ABO ha emergido como causa significativa de la Enfermedad Hemolítica del recién nacido (EHRN), conocida como *Eritroblastosis fetalis*, lo que conlleva a morbilidad y mortalidad neonatal; la patogénesis de esta enfermedad involucra el pasaje a través de la placenta de los anticuerpos IgG anti-A, anti-B y anti-A, B resultando en lisis de los hematíes neonatales.

La EHRN, si no es detectada a tiempo y tratada oportunamente, puede llegar a complicaciones fatales.

La EHRN por incompatibilidad ABO puede estar acompañada de diferentes grados de signos clínicos: anemia, ictericia, hiperbilirrubinemia, hepatomegalia y otras complicaciones, incluso la muerte. El tratamiento prenatal incluye parto prematuro, transfusión sanguínea intrauterina, etc., y el tratamiento posnatal incluye fototerapia, exanguíneo transfusión, etc.

Entre las pruebas inmunohematológicas actualmente utilizadas para el diagnóstico oportuno de la EHRN, tenemos los grupos sanguíneos ABO y Rh, la prueba de Coombs directa e indirecta, la titulación de anticuerpos IgG anti-A y anti-B, y en algunos casos la técnica de elución.

Según la revisión realizada, ninguna de ellas ofrece por sí sola un diagnóstico definitivo de la EHRN por incompatibilidad ABO, si no, por el contrario, muchas de ellas realizadas en conjunto brindan una mayor posibilidad al diagnóstico oportuno.

El objetivo de este estudio descriptivo es revisar y analizar los diferentes abordajes sobre la EHRN en los protocolos actuales.

Palabras claves: Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido, Incompatibilidad ABO, pruebas inmunohematológicas.

ABSTRACT

In recent years, ABO incompatibility has emerged as a significant cause of Hemolytic Disease of the Newborn (HDN), known as Erythroblastosis fetalis, leading to neonatal morbidity and mortality; the pathogenesis of this disease involves the passage through the placenta of anti-A, anti-B and anti-A, B IgG antibodies resulting in lysis of neonatal red blood cells.

EHRN, if not detected in time and treated promptly, can lead to fatal complications.

HDN due to ABO incompatibility may be accompanied by different degrees of clinical signs: anemia, jaundice, hyperbilirubinemia, hepatomegaly and other complications, even death. Prenatal treatment includes premature delivery, intrauterine blood transfusion, etc., and postnatal treatment includes phototherapy, exchange transfusion, etc.

Among the immunohematological tests currently used for the timely diagnosis of HDN, we have the ABO and Rh blood groups, the direct and indirect Coombs test, the titration of anti-A and anti-B IgG antibodies, and in some cases the elution technique.

According to the review, none of them alone offers a definitive diagnosis of HDN due to ABO incompatibility; on the contrary, many of them performed together provide a greater possibility of a timely diagnosis.

The objective of this descriptive study is to review and analyze the different approaches to NHRD in current protocols.

Keywords: Hemolytic Disease of the Newborn, ABO incompatibility, immunohematological tests.

INTRODUCCIÓN

La EHRN por incompatibilidad ABO (IcABO) es en la actualidad la más común (1) y suele ser un problema del recién nacido en lugar del feto. La EHRN-IcABO está casi restringido en su totalidad a bebés de grupos A, B y AB nacidos de madres O con anticuerpos inmunes de tipo IgG anti-A, anti-B, o anti-A, B. Aproximadamente el 15% a 25% de los embarazos pueden tener incompatibilidad ABO, y solo desarrollan la EHRN aproximadamente el 10% (2).

Generalmente, la EHRN-IcABO es reportado como leve con hiperbilirrubinemia, sin anemia significativa, siendo la hiperbilirrubinemia una de las causas más comunes de readmisión hospitalaria, esto debido a la tendencia actual de alta hospitalaria precoz (2, 3).

Las diferentes etnias, regiones y entornos médicos pueden afectar la incidencia de la EHRN-IcABO, éstos muestran cifras entre 2–5% de las incompatibilidades ABO entre madres y recién nacidos (4). En Italia, las madres experimentaron incompatibilidad ABO con su recién nacido en una tasa de 11%, pero la EHRN-IcABO ocurrió solo en el 2.5% de los recién nacidos. Ambas tasas son más elevadas en la raza negra (5). En caucásicos, la incompatibilidad ABO entre el recién nacido y la madre ocurre en el 10–15% de los embarazos, y solo 1-2.5% de recién nacidos desarrollan EHRN-IcABO. Las variaciones en la incidencia de la incompatibilidad ABO pueden ser atribuidos también a la débil expresión de la mayoría de los antígenos del grupo sanguíneo A y B en los hematíes fetales; los antígenos A y B también pueden ser expresados en otros tejidos, a los que podrían unirse los anticuerpos. Además, cada una de las subclases de inmunoglobulinas tienen

diferentes propiedades biológicas que afectan su potencial patógeno La IgG3 tiene más eficiencia en el transporte a través de la placenta, en comparación con otras subclases de IgG, que pueden ser responsables de la enfermedad (6).

La Academia Estadounidense de Pediatría ha informado que la incompatibilidad del grupo sanguíneo con prueba de Coombs directa (PCD) positiva es uno de los factores de riesgo más importantes para la hiperbilirrubinemia grave. La EHRN-icABO clínicamente observable generalmente se diagnostica por ictericia grave en los primeros días de vida, seguida de una PCD positiva (7).

Según Herschel et al., la PCD como prueba de detección de anticuerpos IgG presentes en los hematíes de un individuo tiene poca sensibilidad (50%) en la identificación de recién nacidos que desarrollarán ictericia clínicamente significativa (8).

La prueba de eluído se realiza si los resultados de la PCD son negativos, lo que compensa los defectos de la PCD en la identificación de la EHRN causada por el anticuerpo del sistema ABO (9).

Esta monografía abarca la descripción del desarrollo de la EHRN-icABO y el empleo de las pruebas inmunohematológicas utilizadas en diferentes protocolos; mencionando su utilidad, desempeño analítico a la luz de la literatura científica actual.

OBJETIVO

- Analizar y comparar los diferentes protocolos de abordaje laboratorial de la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO.

CAPÍTULO I

ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO POR INCOMPATIBILIDAD ABO

1.1 Sistema ABO

En el sistema ABO, hay 4 tipos principales de grupo sanguíneo: A, B, AB y O. Landsteiner en 1900 describió los grupos A, B y O. El cuarto grupo sanguíneo AB fue descrito en 1902 por Decastello y Sturli. Es el primer sistema de grupo sanguíneo descrito y el más importante en la práctica transfusional (10).

1.1.1 Antígenos del Sistema ABO

El gen ABO está ubicada en el cromosoma 9q34.1-34.2, incluyendo 7 exones con una longitud de 18,000-20,000 pares de bases (11) y son los responsables de producir las transferasas GTA y GTB (12).

La síntesis de los antígenos requiere al menos dos pasos fundamentales:

El primero, es la síntesis del antígeno H, sustrato aceptor de los glúcidos A y B que las glicosiltransferasas (GTA y GTB) transportan (12). El antígeno H es generado por adición de la fucosa en un enlace α 1,2 a una galactosa terminal en una cadena de tipo 1-4. Es la estructura que corresponde al tipo de sangre O (11, 13) es el precursor del antígeno A y B, constituye la base sobre la que actúan los genes A y B para formar los respectivos antígenos. Si no se dispone de estructura H debido a la ausencia de H - transferasa, en consecuencia, los genes A y B, si la persona los posee, no pueden expresarse (14). Esta situación ocurre en las secreciones de los no

secretores de ABH y en los hematíes de fenotipos deficientes en H (fenotipo Bombay) (12).

Los loci H son funcionales en los hematíes y los loci secretores son funcionales en los epitelios gastrointestinales, recibiendo su nombre de los antígenos de grupo sanguíneo secretados producidos a partir de glicoconjugados secretados (11, 13).

La segunda; es la síntesis tanto de la estructura del antígeno A o B. Después de la síntesis de la estructura H, las transferasas A y B, los cuales difieren de 4 aminoácidos, utilizan la estructura H para sintetizar los antígenos A y B en las cadenas de tipo 1 a 4. La transferasa A transfiere N-acetilgalactosamina (GalNAc) al antígeno H, generará antígeno A mientras que la transferasa B transfiere D-galactosa (Gal) al antígeno H, produciéndose el antígeno B y aquellas personas que cuenten con ambas transferasas, serán antígenos A y B, tendrán el grupo AB. El alelo O solo se diferencia del alelo A en la delección de Guanina en la posición 261, lo cual conlleva un cambio en la lectura genética y da como resultado una proteína sin actividad transferasa (11, 13). Por tanto, el antígeno H queda sin modificación (12).

Los antígenos A y B inician su desarrollo a partir de la quinta semana de vida fetal, pero incrementan su expresión lentamente: al momento del nacimiento, menos del 50% de los antígenos adultos están presentes, lo cual resulta en una incapacidad para diferenciar subgrupos en el recién nacido; los niveles adultos de antígenos A y B usualmente no llegan antes de los 2 a 4 años aproximadamente (11, 13).

Además de la presencia de antígenos ABO en los hematíes y en forma soluble en varios fluidos, los antígenos A, B y H se encuentran en concentraciones variables en células epiteliales, linfocitos, plaquetas y órganos como el hígado. Esto revela el

rol clave que juega el grupo sanguíneo ABO no solo en la medicina transfusional, sino también en la práctica del trasplante (13).

1.1.2 Anticuerpos del sistema ABO

Acorde a los descubrimientos de Landsteiner, los anticuerpos anti-A, anti-B están presentes en el plasma de individuos que tienen ausencia del antígeno correspondiente en los hematíes y también existe el anti-A,B, el cual no es una simple mezcla de anti-A y anti-B sino un tercer anticuerpo con reacción con un antígeno A y B, conocido también antiguamente como el antígeno C; el sistema ABO es el único sistema sanguíneo en el cual, si un antígeno está ausente en un individuo, el anticuerpo correspondiente está presente siempre en el plasma de individuo adulto sano (10).

Los anticuerpos del sistema ABO surgen poco después del nacimiento al exponerse el recién nacido a agentes ambientales cuya composición antigénica es similar a los antígenos A y B que se encuentran en los hematíes humanos, su desarrollo puede tomar de 3 a 6 meses. En consecuencia, al momento del nacimiento, los niveles de anticuerpos anti-A y anti-B son indetectables debido a un sistema inmune pobremente desarrollado. Se cree que se producen en respuesta a antígenos de bacterias similares a los antígenos A y B, que están presentes en el intestino y en ciertos alimentos. Con la edad, los títulos de anticuerpos tienden a disminuir, en el adulto mayor, los títulos ABO pueden ser débiles o no demostrables (10).

La concentración de estos anticuerpos varía ampliamente. Los anticuerpos del sistema ABO son principalmente de naturaleza IgM, también existen IgG e IgA. Estos anticuerpos siguen las características generales de los anticuerpos IgM

(reaccionan mejor a temperatura ambiente o inferior, son capaces de activar el complemento y son aglutininas salinas) (13).

La IgM y la IgA de los anticuerpos ABO no atraviesan la placenta. Sin embargo, las versiones de IgG cruzan la placenta de forma activa. Por lo tanto, los anticuerpos anti-A, anti-B y anti-A, B se pueden encontrar en el suero de prácticamente todos los lactantes, ya que dichos anticuerpos están presentes en la circulación materna y podrían ser causantes de la EHRN (10, 13). Las personas del grupo O adicionalmente presentan en su suero el anti-A, B; un anticuerpo de reacción cruzada que detecta una estructura común a los determinantes A y B (15), por lo general es un anticuerpo IgG, pero también puede ser IgM o IgA (16).

Con menor frecuencia, algunos individuos presentan grandes cantidades de anticuerpos ABO de naturaleza inmune o IgG. Normalmente, los individuos del grupo O tras una estimulación inmune por transfusión, embarazo o inyección de ciertas vacunas o toxoides (que contienen antígenos bacterianos de tipo A y B) los producen en grandes cantidades (10), resultando en un incremento del riesgo de transferencia placentaria de anticuerpos ABO durante el embarazo (13).

Además, las formas inmunes de los anticuerpos ABO (IgG) no son fácilmente inhibidas por los antígenos solubles A y B. Esto indica que el anticuerpo que surge debido a la sensibilización por hematíes incompatibles es capaz de detectar la sutil diferencia entre las cadenas precursoras de tipo I y de tipo II que producen los antígenos A y B. A diferencia de otros tipos de anticuerpos IgG, que tienen una temperatura óptima de reactividad a 37 °C, estos anticuerpos IgG ABO aglutinan los hematíes fácilmente a temperatura ambiente (13).

1.2 Enfermedad hemolítica del Recién nacido por incompatibilidad ABO

1.2.1. Fisiopatología

Los anticuerpos implicados en la EHRN-icABO podrían ser naturales IgM (anti-A, anti-B) o anticuerpos IgG como anti-A,B (17) o los anticuerpos inmunes, los cuales fueron desarrollados por consecuencia de la sensibilización inmunitaria durante el embarazo con incompatibilidad ABO, la cual puede darse mediante las hemorragias fetomaternas durante el embarazo, aborto espontáneo, interrupción del embarazo, procedimientos de diagnóstico invasivos, parto vaginal asistido o transfusiones previas (1, 18).

Se ha descrito en la literatura que la incidencia de hemorragias fetomaternas asintomáticas durante el embarazo puede llegar al 75%, la incidencia y grado de la hemorragia incrementa con el trimestre de embarazo; 7%, 16%, 29%; durante el primer, segundo y tercer trimestre, respectivamente; para la demostración de hematíes fetales en la circulación de la madre se empleó la técnica de elución ácida de Kleihauer-Betke (18).

Los hematíes fetales sensibilizados con IgG maternos son eliminados de la circulación fetal por los macrófagos del bazo fetal (hemólisis extravascular) y se desarrolla gradualmente una anemia. Como resultado del catabolismo de la hemoglobina se da lugar a la formación de la bilirrubina indirecta, produciéndose un incremento de la cantidad de bilirrubina indirecta, el cual puede atravesar la placenta y es removido por el hígado de la madre (19).

El proceso hemolítico puede resultar en anemia o hiperbilirrubinemia o ambos, lo que afecta la morbilidad y mortalidad fetal y neonatal (1).

Adicionalmente, se presenta hiperplasia eritroide en la médula ósea fetal y eritropoyesis extramedular en el bazo fetal, el hígado, los riñones y las glándulas suprarrenales. Como resultado de ello, muchos hematíes nucleados se liberan a la sangre periférica, así como la presencia de esferocitos y policromasia, pueden observados en estudio de la lámina periférica (19).

Si, la anemia es grave, puede provocar edema generalizado, ascitis, lo que puede llevar a una condición llamada hidrops fetal, el cual es mortal si no recibe tratamiento (19).

Antes del descubrimiento de la inmunoglobulina Rh (D) (RhIG), la EHRN debido a anti-D fue la causa más significativa de la mortalidad perinatal. La administración de RhIG a mujeres Rh (D) negativas durante el embarazo y poco tiempo antes del nacimiento del recién nacido D positivo ha contribuido a la reducción de la incidencia de la EHRN por Rh. Por tanto, actualmente, la EHRN-icABO es más frecuente que la EHRN Rh (D) y puede producirse durante el primer embarazo. A diferencia de la EHRN Rh, la EHRN-icABO es asintomática o produce hiperbilirrubinemia y anemia leve. En algunos lactantes de tipo A o B nacidos de madres de tipo O que producen anti-A y anti-B inmunes (IgG), capaces de atravesar la placenta se desarrolla la EHRN icABO que presenta un curso de enfermedad más leve que la EHRN Rh probablemente porque los antígenos A y B están poco desarrollados en los hematíes fetales y neonatales, y la presencia de los antígenos A y B en otras células y tejidos, reduce la cantidad de anticuerpos maternos dirigidos contra los hematíes fetales (20). La hemólisis debido a anti-A es más común que las hemolisis anti-B y los recién nacidos afectados usualmente presentan

la PCD positiva; sin embargo, la hemólisis debido a anti-B IgG puede ser severa y puede llevar a la exanguíneo transfusión (21).

El resultado de la PCD para el recién nacido con EHRN-icABO es solo débilmente positivo y puede ser negativo (20).

En un análisis reciente de la subclase de IgG en pruebas de Coombs directo que dieron positivos en recién nacidos ABO incompatibles, mostraron que la IgG2 era el anticuerpo predominante, el cual es pobremente transferido a través de la placenta y menos eficiente para causar hemólisis, mientras que, la IgG1 se observó en el 22% de los recién nacidos y mostró una proporción similar de hemolisis y severidad de hiperbilirrubinemia (22).

Además, los hematíes fetales presentan una débil expresión de antígenos A o B, lo que resulta en pocos sitios reactivos (23) esto explica la baja incidencia de hemólisis significativa en los recién nacidos afectados. Esto conlleva en la manifestación de la hiperbilirrubinemia como signo predominante de incompatibilidad (en lugar de anemia), el frotis de sangre periférica con frecuencia se asocia a la presencia de esferocitos y algunos eritroblastos, lo cual difiere de lo observado en la incompatibilidad Rh en la cual el frotis de sangre periférica presenta una gran cantidad de hematíes nucleados y pocos esferocitos (21).

Existen varias teorías del curso típicamente leve y autolimitante de EHRN:

- La enfermedad hemolítica grave por incompatibilidad ABO del recién nacido es poco frecuente en comparación con la enfermedad hemolítica Rh del recién nacido, explicado en base a que los antígenos ABH están ampliamente distribuidos en todo el cuerpo, mientras que los antígenos Rh, su presencia está restringida a los hematíes, por lo tanto, una proporción

menor de anticuerpos ABO está disponible para destruir a los hematíes del bebé, mientras que los anticuerpos Rh se concentran en los hematíes (18).

- La placenta expresa abundantemente los antígenos A y B, lo que potencialmente elimina la IgG de la circulación y reduce el título dentro de la circulación fetal (18, 24).
- La IgG anti-A y anti-B generalmente es IgG2, que es biológicamente inactivos, mientras que los anticuerpos Rh que participan en la EHRN suelen ser IgG1 e IgG3 (18, 24).
- Los hematíes sensibilizados por anticuerpos contra el sistema ABO son eliminados de la circulación por el hígado, debido a que este último, no es inmunológicamente competente y el hígado del bebé no está completamente desarrollado, se produce menos daño a los hematíes que en la EHRN por Rh (18).
- Los anticuerpos contra el sistema ABO se unen al complemento, dado que el complemento se desarrolla en el hígado y el hígado del bebé no es competente, hay menos complemento disponible para sensibilizar el hematíe del bebé; sin embargo, los hematíes que están sensibilizados por Rh son eliminados por el bazo de la madre, que es altamente inmunogénico, como resultado, la madre produce anticuerpos (18).
- Los antígenos ABH están se localizan más lejos de la membrana que los antígenos Rh; por lo tanto, las células sensibilizadas regresan a la circulación del bebé como esferocitos en lugar de ser lisados por el complemento como ocurriría en la EHRN por Rh (18).

- Los antígenos ABH no están completamente desarrollados al nacer y dan como resultado aglutinaciones más débiles, mientras que los antígenos Rh están bien desarrollados antes del nacimiento (18).

1.2.2 Epidemiología

En los países desarrollados, la incompatibilidad ABO es la mayor causa de EHRN, Sin embargo, en los países en desarrollo es aún el anti-D el anticuerpo más común encontrado en mujeres embarazadas causante de EHRN de moderado a grave (18).

En general, del 15-25% de todas las parejas feto/maternas son ABO incompatibles, pero la EHRN-icABO se limita aproximadamente del 1 al 10% de las mujeres del grupo O que presentan anticuerpos IgG prenatales elevados (25).

La prevalencia más alta de EHRN se presenta en los no caucásicos que entre los caucásicos por razones inciertas. La enfermedad hemolítica ABO se observa en el 0,3% y el 0,8% de los embarazos caucásicos, pero es más grave y frecuente entre el 3% y 5% en embarazos asiáticos o africanos (22).

Según Krog et al., en su estudio realizado con grupos casos y controles de madres del grupo sanguíneo O y recién nacido compatible con ABO (grupo control) versus madres y recién nacidos incompatibles (A/B) (grupo caso), reportó que hubo más recién nacidos con grupo B y un significativamente más alto número de no caucásicos en el grupo caso que en el grupo control (26).

La prevalencia del tipo de sangre es variable entre diferentes grupos étnicos. Por ejemplo, las poblaciones nativas americanas tienen una alta frecuencia de sangre tipo O, que oscila del 79% al 100%, mientras que las poblaciones oceánicas

muestran <1% tipo B (y AB) y las poblaciones africanas y asiáticas muestran las tasas más altas de sangre tipo B con un 25% y 20%, respectivamente (27).

A medida que las poblaciones migran, las instalaciones médicas de los nuevos países residentes deben adaptarse a diferentes tasas de incompatibilidad ABO (1).

CAPÍTULO II

PRUEBAS INMUNOHEMATOLÓGICAS

2.1 Grupo sanguíneo

El sistema ABO, representa una serie de antígenos de carbohidratos en la superficie de los hematíes, es la familia de grupos sanguíneos más importante para la compatibilidad con transfusiones. En el banco de sangre es una prueba crítica en la determinación del grupo sanguíneo ABO y Rh. Para determinar el sistema ABO se emplea una metodología de 2 pasos: la fase celular o directa, para determinar la presencia de antígenos A o B mediante el empleo de reactivos dirigidos contra estos antígenos y la metodología sérica o inversa, para determinar la presencia de anti-A y anti-B en el plasma, para ello emplea células de fenotipo conocido (28).

El propósito de las pruebas ABO de rutina es predecir la EHRN-icABO para que se pueda lograr un monitoreo selectivo de la ictericia (29).

2.1.1 Grupo sanguíneo materno

En Dinamarca, durante el primer trimestre de embarazo, se solicita a la gestante las pruebas de tipificación de grupo sanguíneo ABO y Rh. Si la gestante es Rh negativo, se realizará una prueba no invasiva de predicción fetal del grupo Rh a las 25 semanas (30).

2.1.2 Grupo sanguíneo del recién nacido

Las directrices publicadas recomiendan realizar pruebas ABO y/o RhD en muestra de cordón umbilical en tres situaciones: (1) en la tipificación RhD para determinar la elegibilidad para RhIG para madres RhD negativas; (2) establecer el papel de la incompatibilidad ABO en el contexto de ictericia neonatal clínicamente significativa (3); cuando la muestra materna no está disponible y el recién nacido experimenta ictericia grave de etiología desconocida y una Prueba de Coombs directo (+/-) (31).

Según Hajjaj et al., quien realizó una encuesta a 580 instituciones hospitalarias, encontró que el grupo sanguíneo ABO y Rh en cordón umbilical es determinado en 290 instituciones, representando el 97.8% de las instituciones que respondieron sobre las pruebas que realizan en cordón umbilical (32).

2.2 Prueba de Coombs

2.2.1 Coombs directo

La prueba de Coombs directo se utiliza para detectar la sensibilización de los hematíes con IgG y/o complemento. Aunque, no diagnostica hemólisis, es una herramienta común utilizada para identificar recién nacidos con isoimmunización o incompatibilidad ABO neonatal – materna (32).

Según Das et al, quien realizó en estudio prospectivo en 2856 embarazadas, halló 962 casos de incompatibilidad ABO (33.68%). La incompatibilidad O-A y la incompatibilidad O-B representaron el 13 y 12%, respectivamente. Los resultados del PCD, mediante el método de aglutinación en columna, fueron de 3.8% en todos los recién nacidos y 11.2% en recién nacidos con incompatibilidad ABO, sin

embargo, con el método convencional en tubo se obtuvieron 0.6% de PCD positivos en la población general y 2.4% entre los casos ABO incompatibles. Además, halló una relación estadísticamente significativa entre la hiperbilirrubinemia en un recién nacido con incompatibilidad ABO y los resultados de la PCD ($p < 0.001$), la hiperbilirrubinemia fue más alta entre los recién nacidos con incompatibilidad ABO con resultados positivos por el método de aglutinación en columna. La fuerza de aglutinación en el PCD por el método de aglutinación en columna fue mayor cuando la incompatibilidad fue O-A ($>3+$). La técnica en tubo mostró valores más altos de especificidad y valores predictivos positivos comparados con la técnica de aglutinación en tubo (98% vs. 93%; 47% vs. 34%, respectivamente), para la ocurrencia de hiperbilirrubinemia clínicamente significativa; mientras que la técnica de aglutinación en tubo mostró valores más altos de especificidad y valor predictivo negativo (51% vs. 11%; 96% vs. 93%). Asimismo, encontró un número mayor significativo de recién nacidos que requieren fototerapia en el grupo con resultado de PCD positiva que el grupo con resultados de PCD negativas (45.4% vs. 24.4%) (2). A diferencia de la aloinmunización Rh, la prueba de Coombs directo es positivo solo en el 20-40% de los recién nacidos con incompatibilidad ABO. En un estudio reciente se encontró que la prueba de Coombs directo tiene un valor predictivo de 23% y una sensibilidad de 86% para predecir hemólisis y necesidad de fototerapia, a menos que los hallazgos sean fuertemente positivos (4+), esto debido a que los hematíes tienen en su superficie menos expresión de antígeno tipo específico comparado con las células adultas. Los valores predictivos positivos de la combinación de pruebas (PCD, elución y titulación de anticuerpos) fue 94.12%, el cual es mucho mayor que lo reportado por cada prueba de forma individual (33).

Según Christensen et al., en su estudio realizado en 400 531 nacidos vivos, el 47% provenían de madres tipo O, de las cuales el 86% fueron O+. Por otro lado, solo los recién nacidos de madres O+ fueron parte de estudio. Entre los 42 529 recién nacidos de madre O+ con grupo sanguíneo determinado tuvieron la siguiente distribución: el 67.6% fueron de grupo O (Grupo control), 25.1% fueron grupo A y el 7.3% fueron grupo B (Grupo de estudio). Encontró que los recién nacidos de grupo A y B, nacidos de madres O+, tuvieron niveles picos más altos de bilirrubina sérica total durante los primeros 10 días después del nacimiento que los recién nacidos de grupo O, $p < 0.001$, lo cual representó un reingreso hospitalario. Los recién nacidos del grupo B tuvieron niveles ligeramente más altos de bilirrubina total sérica ($p < 0.001$). Los recién nacidos que presentaron PCD (+), independientemente de su tipo de sangre, tenían un pico de bilirrubina total sérica más alto que los que tuvieron la PCD (-). Un total de 1174 recién nacidos tuvieron reingreso hospitalario dentro de 10 días después del nacimiento para tratamiento por ictericia. Encontró que la tasa de riesgo de recién nacidos A y B, evaluados conjuntamente, tuvieron un riesgo similar de ser readmitidos. De este total, de recién nacidos readmitidos en para tratamiento de ictericia, los recién nacidos del grupo sanguíneo A o B tenían muchas más probabilidades de presentar la PCD (+) que los recién nacidos del grupo O (3).

Según Ma et al. encontró que un grupo de recién nacidos con EHRN-IcABO con PCD negativa desarrollaron anemia e ictericia más rápido y más severamente que los recién nacidos que no tenían EHRN-IcABO y de aquellos recién nacidos que eran del grupo con EHRN-IcABO con PCD positiva, asimismo la tasa de

exanguíneo transfusión fue más alta en el grupo con PCD negativa (28.5%) que aquellos que tuvieron PCD positiva (4.7%) (9).

2.2.2 Coombs indirecto

Los aloanticuerpos eritrocitarios se estudian mediante la técnica de detección de anticuerpos, también conocida como la prueba de antiglobulina indirecta o la prueba de Coombs indirecta. Se realiza empleando plasma/suero de un paciente incubado a 37 °C contra hematíes reactivos del grupo O que expresan antígenos contra los cuales existen aloanticuerpos de hematíes clínicamente significativos (28).

La tasa de aloinmunización a otros antígenos eritrocitarios, aunque bajos entre 0,15% y 1,1%, se han convertido en un mayor porcentaje de casos de aloinmunización materna y causas de la EHRN. Entre las mujeres aloinmunizadas, más del 80% de los anticuerpos no son RhD (34).

La detección se puede realizar mediante pruebas tradicionales con tubos simples o métodos más nuevos, como la tecnología de captura en fase sólida y aglutinación en columna (35). En la primera visita prenatal, a todas las mujeres embarazadas, se les debe realizar grupo sanguíneo, Rh y la búsqueda de aloanticuerpos mediante la prueba de Coombs indirecto, ya que existen otros sistemas de interés clínico aparte del Rh. Una vez identificado el anticuerpo debe investigarse si este se asocia a la enfermedad hemolítica del recién nacido, por ejemplo: en el sistema Lewis es muy frecuente la incompatibilidad, pero no tiene significación clínica, puesto que el anticuerpo es una IgM que no atraviesa la placenta (36). Los aloanticuerpos que se detectan en el tamizaje de anticuerpos prenatal deben ser identificados, ya que la

especificidad del aloanticuerpo es una pista de su riesgo potencial de hemólisis (1). Lamentablemente, esta prueba no forma parte de muchos protocolos; este error se sigue cometiendo con mucha frecuencia (36).

Según Olayanju et al. en su estudio realizado en 123 mujeres embarazadas entre 16 y 45 años identificó que el 12.2% de mujeres tenían anticuerpos detectables que causaban EHRN, la especificidad de los anticuerpos fue anti-K (5,33%), anti-k (3,20%), anti-Jsa (2, 13%), anti-C (3, 20%), y anti-E (2,13%). El autor concluye que durante la rutina se hace necesaria la determinación de estos anticuerpos y a su vez controlar su título en mujeres embarazadas para controlar o prevenir la morbilidad y mortalidad asociadas con EHRN (37).

2.3 Titulación de anticuerpos ABO Materno

Según Krog et al., en su estudio realizado con madres de grupo sanguíneo O, formó 3 grupos: (1) Grupo caso: 38 recién nacidos con incompatibilidad ABO, que recibieron fototerapia debido a hiperbilirrubinemia. (2) Grupo compatible: de 30 recién nacidos compatibles ABO que recibieron fototerapia por hiperbilirrubinemia. (3) Grupo control: con 38 recién nacidos ABO incompatible que no recibieron fototerapia. Encontró un título más alto de anticuerpos IgG ABO en el grupo Caso que en los grupos Compatible y Control. Además, halló una reducción significativa entre los títulos maternos anti-A y anti-B en el primer trimestre y al nacer en el grupo compatible y grupo control, de 43% a 27%, respectivamente; mientras que en el grupo Caso se mantuvieron constante (26).

Adicionalmente, Krog et. al. comparó los métodos de titulación de anticuerpos; una diferencia significativa fue hallada entre los métodos empleados (ensayo de captura en fase sólida y aglutinación en columna); según el punto de corte elegido, se

encontró diferentes valores para la sensibilidad y especificidad de las metodologías empleadas. En el primer trimestre de embarazo los títulos maternos fueron significativamente más altos en el grupo Caso, para el punto de corte de 128, se observó una sensibilidad de 100% y una modesta especificidad (52%) con el método ensayo de captura en fase sólida para la predicción del tratamiento de la hiperbilirrubinemia. Los anticuerpos maternos IgG al nacer fueron significativamente más altos en el grupo Caso, para el método aglutinación en columna se determinó un título de 256 dils como punto de corte para desarrollar hiperbilirrubinemia que requería tratamiento. La sensibilidad y especificidad encontrada en ese punto de corte fue de 84% y 74%, respectivamente. Para el método ensayo de captura en fase sólida, el punto de corte fue 128, con una sensibilidad y especificidad de 92% y 66%, respectivamente. En el primer trimestre los títulos de anti-A y anti-B tuvieron un modesto valor predictivo (VPP=0.65 y VPN=0.82) con el método de ensayo de captura en fase sólida, el cual mejoró con muestras tomadas al nacer (VPP=0.73 y VPN=0.93) (26).

Según Ding et al. en su estudio realizado en 725 mujeres embarazadas de grupo sanguíneo O Rh positivo entre 20 y 45 años, de vidas en grupos de primigrávida (n = 382, 52.7%) y no primigrávida (n = 343, 47.3%), evaluó los títulos de anticuerpos ABO de las mujeres embarazadas con Rh positivo y esposos de tipo no O Rh positivo, esta evaluación fue realizada a partir de la 16va semana de gestación y revisada mensualmente. Las tasas positivas de la EHRN-icABO fueron 0,0% (0/0) cuando el título es <1/64; 0,0% (0/0) cuando el título es 1/64, 38,5% (40/104), cuando el título es, 1/128; 53,0% (35/66) cuando el título es 1/256; 81,3% (26/32) cuando el título es 1/512 y 93,8% (15/16) cuando el título es >512; con una

diferencia que fue estadísticamente significativa ($P < 0,05$). Además, reportó 21 casos de EHRN en grupo de mujeres primigrávidas y este riesgo aumento con el número de embarazos (títulos de IgG más altos) y que la ocurrencia de la EHRN no estuvo relacionada al tipo de sangre, A o B del esposo de la madre embarazada (4).

2.4 Elución

La elución de hematíes se emplea para evaluar la especificidad de un anticuerpo unido a una superficie de los hematíes. El método de elución ácida se emplea con frecuencia para liberar anticuerpos de los hematíes, en un ambiente ácido la interacción entre hematíes y anticuerpos se debilita permitiendo que los anticuerpos eritrocitarios previamente unidos se acumulen en el plasma, luego el sobrenadante concentrado de anticuerpos se hace reaccionar con un panel de hematíes para identificar la especificidad del anticuerpo (28). La elución es necesaria cuando el diagnóstico de EHRN es dudoso, como en casos raros de ABO incompatibilidad con un PCD negativo (1). Según Jain et al. reportó 3 casos de enfermedad hemolítica severa del recién nacido ABO, que requirieron exanguíneo transfusión por hiperbilirrubinemia, los recién nacidos fueron tipificados como A+ y sus madres fueron O+, los tres recién nacidos tuvieron PCD (+); en la elución por calor de los hematíes neonatales, se produjo reacción positiva con las células A, lo que sugiere un anticuerpo anti-A (23).

El método de Lui, es una técnica de elución, al igual que las otras técnicas de elución, se basa en la modificación fisicoquímica del medio de reacción. En este método, los hematíes se congelan de $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10 minutos. A medida que los hematíes se congelan, se forman cristales de hielo extracelulares que atraen agua

a su entorno. Esto aumenta la osmolaridad del líquido extracelular restante, que luego extrae agua de los hematíes. Los hematíes se reducen, lo que da lugar a la lisis. A medida que se rompen las membranas, el anticuerpo se disocia. Este método se utiliza principalmente para la investigación de la enfermedad hemolítica ABO del feto y del recién nacido (38), luego de que el eluato es separado del estroma celular mediante la centrifugación, solo la fase antiglobulina es realizada para la detección del anticuerpo (39).

Según Ma et al. en su realizado en 21 recién nacidos, concluye que ante la sospecha clínica de EHRN con un resultado de PCD negativa, se debe realizar una prueba de elución para descartar o confirmar el diagnóstico para ayudar a prevenir la morbilidad resultante de la hiperbilirrubinemia (9).

CAPITULO III

PROTOSCOLOS ACTUALES

Según Das et al. en su estudio prospectivo en 2856 embarazadas, halló 962 casos de incompatibilidad ABO (33.68%) y confirmó la especificidad del anticuerpo con el eluato y encontró los siguientes valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos (17%, 76%, 67% y 24%, respectivamente) (2). Según las recomendaciones para la prevención y tratamiento de la enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido de la Sociedad Italiana del grupo de trabajo de Ginecólogos y obstetrcices, publicadas el 2015, proponen realizar investigaciones al nacer en casos de sospecha de EHRN por incompatibilidad ABO:

Cuando la madre es del grupo O y presenta la PCD positiva o evidencia clínica (ictericia) de hemólisis neonatal, en ausencia de causas conocidas, se debe realizar la tipificación del grupo sanguíneo ABO/RhD. En las células de la sangre del cordón umbilical y en el suero materno titular, las IgG anti-A y/o anti-B. El diagnóstico de la EHRN-icABO es esencialmente clínico: esto debido a que, a pesar de la incompatibilidad ABO y la presencia de IgG anti-A y/o anti-B en el suero de la madre, la PCD es negativa o indeterminada (24).

La determinación y título de la IgG anti-A o anti-B deben realizarse, después de haber escindido las isoaglutininas anti-A y/o el anti-B presentes en el suero materno con sustancias reductoras como el 2-mercaptoetanol (2-ME) o dithiotreitól (DTT), o utilizando otras sustancias neutralizantes disponibles comercialmente (24).

Si los hematíes del cordón umbilical son positivos para la PCD, se sugiere que la IgG (anti-A y/o anti-B) adherida a los hematíes neonatales se eluyan. La técnica más recomendable para eluir IgG anti-A y anti-B es la desarrollada por Lui. Otro método que es rápido y da resultados útiles, es la elución por calor (24).

Estas recomendaciones tienen una categoría 2C según se describe en el documento, dado que la mayoría de la evidencia deriva de un análisis observacional con resultados menos consistentes u opiniones de expertos. Se requieren mayores investigaciones para consolidar o cambiar las conclusiones presentadas (24).

Por otro lado, la guía para la detección, manejo y prevención de hiperbilirrubinemia en recién nacidos a término y prematuros tardíos de la Sociedad Canadiense Pediátrica, señala que las pruebas realizadas a todos los recién nacidos de grupo sanguíneo y PCD empleando la sangre de cordón umbilical no mejoran los resultados clínicos en comparación cuando se realizan únicamente en bebés cuyas madres pertenecen al grupo O, además señala que realizar las pruebas a todos los bebés cuyas madres son de grupo O no mejora los resultados en comparación con realizar las pruebas solo a aquellos con ictericia clínica, estas pautas se brindan con un nivel de evidencia 2b, es decir esta información fue tomada de estudios exploratorios de cohortes con buenos estándares de referencia (40).

Según la Guía Clínica Práctica, para el manejo de la ictericia neonatal del Ministerio de Salud de Malasia, recomienda realizar PCD en recién nacidos A o B, quienes resulten clínicamente ictericos, de madres de grupo sanguíneo O; señala que la incompatibilidad ABO fetomaterna con PCD positiva tiene mayor riesgo para resultados adversos que cuando la PCD es negativa (OR=4.5, 95% IC 1.3 a 15.4),

este enunciado tiene un nivel de evidencia II2, es decir, la información fue obtenida de estudios de cohorte bien diseñados o estudios analíticos de caso-control, preferiblemente de más de un centro o un grupo (41).

En la Guía de práctica clínica “Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation” de la Academia Americana de Pediatras (AAP), recomienda las siguientes pautas en el manejo de la hiperbilirrubinemia en el recién nacido de 35 semanas a más:

- a) Todas las mujeres embarazadas deber ser tipificadas para los sistemas sanguíneos ABO y Rh (D) y la realización de la detección sérica de anticuerpos isoimunes inusuales (Calidad evidencia B: los beneficios superan los daños).
- b) Si una madre no ha tenido grupo sanguíneo prenatal o es Rh negativo, debe realizarse una prueba directa de anticuerpos (o prueba de Coombs), tipo de sangre y el tipo Rh (D) en la sangre del bebé (cordón umbilical) se recomiendan fuertemente. (Calidad de la evidencia B: los beneficios superan los daños).
- c) Si la sangre materna es grupo O, Rh positivo, es optativo realizar pruebas en la sangre del cordón umbilical para el tipo de sangre del bebé y la prueba directa de anticuerpos, pero no es necesario siempre que exista una vigilancia adecuada, una evaluación de riesgos antes del alta y un seguimiento adecuado. (Calidad de la evidencia C: los beneficios superan los daños) (7).

CONCLUSIONES

1. La Enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO, representa en la actualidad, la EHRN más prevalente.
2. El curso clínico leve de la EHRN-icABO reportado en la literatura con lleva que existan escasos protocolos de trabajo frente a EHRN por incompatibilidad ABO.
3. El valor diagnóstico de las pruebas inmunohematológicas es mayor cuando son empleadas en conjunto que cuando son empleadas individualmente.
4. El uso de la sangre de cordón umbilical para las pruebas inmunohematológicas aún no tiene consenso.
5. Las pruebas inmunohematológicas empleadas en el diagnóstico de la EHRN son: la determinación del grupo sanguíneo y Rh de recién nacido y de la madre, titulación de anticuerpos de la madre, Coombs directo, Coombs indirecto, Elución (Prueba de elución de Lui modificado).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Basu S, Kaur R, Kaur G. Hemolytic disease of the fetus and newborn: Current trends and perspectives. *Asian Journal of Transfusion Science*. 2011; 5(1). Disponible en: <https://doi.org/10.4103%2F0973-6247.75963>
2. Das S, Shastry S, Chakravarthy PK, Baliga P. Clinical Implication of Immunohaematological Tests in ABO haemolytic disease of newborn: Revisiting an old disease. *Transfusion Medicine*. 2020;: p. 1-6. doi: [10.1111/tme.12718](https://doi.org/10.1111/tme.12718)
3. Christensen RD, Baer VL, MacQueen BC, O'Brien EA, ILstrup SJ. ABO hemolytic disease of the fetus and newborn: thirteen years of data after implementing a universal bilirubin screening and management program. *Journal of Perinatology*. 2018; 38: p. 517-525.
4. Ding Z, Zhang i, Li H. Application of IgG antibody titer and subtype in diagnosis and severity assessment of hemolytic disease of the newborn. *Translational Pediatrics*. 2022; 11(9): p. 1544-1551. doi: [10.21037/tp-22-385](https://doi.org/10.21037/tp-22-385)
5. Matteocci A, De Rosa A, Buffone E, Pierelli L. Retrospective analysis of HDFN due to ABO incompatibility in a single institution over 6 years. *Transfusion Medicine*. 2018.
6. Einarsdottir H, Ji Y, Visser R, Mo C, Luo G, Sherjon S, et al. H435-containing immunoglobulin G3 allotypes are transported efficiently across the human placenta: implications for alloantibody-mediated diseases of the newborn. *Transfusion*. 2014 maro; 54(3): p. 665-71.
7. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics*. 2004 julio; 114(1): p. 297-316. doi: [10.1542/peds.114.1.297](https://doi.org/10.1542/peds.114.1.297)

8. Herschel M, Karrison T, Wen M, Caldarelli L, Baron B. Evaluation of the direct antiglobulin (Coombs') test for identifying newborns at risk for hemolysis as determined by end-tidal carbon monoxide concentration (ETCOc); and comparison of the Coombs' test with ETCOc for detecting significant jaundice. *Journal of perinatology*. 2002 julio-agosto; 22(5): p. 341-347. Disponible en: [10.1038/sj.jp.7210702](https://doi.org/10.1038/sj.jp.7210702)
9. Ma H, Sheng h, u J. The Severity of Direct Antiglobulin Test Negative ABO Hemolytic Disease of Newborn: A Retrospective Analysis at a Tertiary Children's Hospital. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*. 2023 agosto. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12288-023-01689-4>
10. Kawthalkar S. *Essentials of Clinical Pathology*. 2nd ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd.; 2018.
11. Wang Y. *ABO-incompatible Organ Transplantation Haikou*: Springer; 2019.
12. Daniels G. *Human Blood Groups*. 3rd ed.: Wiley-Blackwell; 2013.
13. Quinley E. *Immunohematology: Principles&Practice* Miami: Jones&Bartlett Learning; 2020.
14. Coppo&Bae. Facultad de ciencias exactas y naturales y agrimensura. [Online].; 2014 [cited 2024 maro 18. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fexa.unne.edu.ar%2Fbiocquimica%2Ffisiologia.humana%2FAPUNTE%2520GS.pdf&psig=AOvVaw2eY2M1T4CNdeLarUwa9Dkm&ust=1710896636602000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CAYQn5wMahcKEwiYrJLjkP-EAxUAAAAAHQAAAAAQBA>.

15. Conger JD, Chan MM, DePalma L. Analysis of the repertoire of human B-lymphocytes specific for type A and type B blood group terminal trisaccharide epitopes. *Transfusion*. 1993; 33(3): p. 200-207.
16. Klein H, Anstee D. *Blood Transfusion in Clinical Medicine 11th* , editor. Oxford: Blackwell Publishing; 2005.
17. Harr R. *Medical Laboratory Science Review*. 4th ed. Philadelphia: F.A. Davis Company; 2013.
18. Esan A. Hemolytic Disorders of the Newborn, Current Methods of Diagnosis and Treatment: A Review Study. *Journal of Hematology Blood Transfusion and Disorders*. 2016; 3(008).
19. Fasano RM, Hendrickson JE, Luban NL. Alloimmune hemolytic disease of the fetus and newborn. In Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT. *Williams Hematology*. 9th ed. New York: McGraw-Hill; 2016. p. 847-862.
20. Leger RM, Borge PD. The positive direct antiglobulin test and immune-mediated hemolysis. In Fung M, Eder A, Spitalnik S. *Technical Manual*. 19th ed.; 2017. p. 385-411.
21. Luchtman-Jones L, Schwart A, Wilson D. The blood and hematopoietic system. In Fanaroff A, Martin R. *Neonatal-Perinatal Medicine-Diseases of the fetus and infant*. 8th ed. Maryland: Mosby; 2006. p. 1287-1356.
22. Kaplan M, Na'amad M, Kenan A, Rudensky B, Hammerman C. Failure to predict hemolysis and hyperbilirubinemia by IgG subclass in blood group A or B infants born to group O mothers. *Pediatrics*. 2009; 123: p. 132-137. doi: [10.1542/peds.2008-2617](https://doi.org/10.1542/peds.2008-2617)

23. Jain A, Malhotra S, Marawa N, Kumar P, Sharma R. Severe ABO hemolytic disease of fetus and newborn requiring blood exchange transfusion. *Asian Journal Transfusion Science*. 2018; 12(2): p. 176-179. doi: [10.4103/ajts.AJTS_106_17](https://doi.org/10.4103/ajts.AJTS_106_17)
24. Bennardello F, Coluzzi S, Curciarello G, Todros T, Villa S. Recommendations for the prevention and treatment of haemolytic disease of the foetus and newborn. *Blood Transfusion*. 2015; 13: p. 139-44. doi: [10.2450/2014.0119-14](https://doi.org/10.2450/2014.0119-14)
25. Kurian R. Prevalence of ABO Incompatibility in O Blood Group Mothers and Assessment of IgG Subclasses (IgG1 and IgG3) in them and its Correlation with Occurrence and Severity of ABO Hemolytic Disease of Newborn (ABO-HDN) in a Tertiary Health Care Centre in South India. Tesis doctoral. Christian Medical College; 2020.
26. Krog G, Donneborg M, Hansen B, Lorenzen H, Claussen F, Jensen K, et al. *Pediatric Research*. 2021; 90: p. 74-81. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41390-020-01232-5>
27. Margaglione M, Grandone E. Population genetics of venous thromboembolism. A narrative review. *Thrombosis and haemostasis*. 2011; 105(2): p. 221-231. doi: [10.1160/TH10-08-0510](https://doi.org/10.1160/TH10-08-0510)
28. Hendrickson J, Tormey C. Red Blood Cell Antibodies in Hematology/Oncology Patients. In Hendrickson J, Tormey C. *Hematology/Oncology Clinics of North America*.: Elsevier; 2016. p. 635-651.
29. White J, Qureshi H, Massey E, Needs M, Byrne G, Daniels G, et al. Guideline for blood grouping and red cell antibody testing in pregnancy. *Transfusion Medicine*. 2016. doi: [10.1111/tme.12299](https://doi.org/10.1111/tme.12299)

30. Hanefeld M, Risum G, Todsén A, Olsen M, Lausen B, Nikoline L, et al. Laboratory Monitoring of Mother, Fetus, and Newborn in Hemolytic Disease of Fetus and Newborn. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2021; 48: p. 306-315.
31. Health professionals in Queensland public and private maternity and neonatal services. *Queensland Clinical Guidelines*. Queensland; Queensland Clinical Guidelines Steering Committee; 2022. doi: [10.1159/000518782](https://doi.org/10.1159/000518782)
32. Hajjaj O, Clarke G, Lieberman L. Immunoematology testing using umbilical cord blood: review of the literature, survey of practice and guidance development. *Transfusion*. 2022; 62: p. 871–886. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/trf.16834>
33. Murray N, Roberts I. Haemolytic disease of the newborn. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition*. 2007 maro; 92(2): p. F83-8.
34. van der Shoot CE, Martine GH, Rijders JP, de Haas M, Christiaens G. Prenatal typing of Rh and Kell blood group system antigens: the edge of a watershed. *Transfusion medicine reviews*. 2003 enero; 17(1): p. 31-44. doi: [10.1053/tmrv.2003.50001](https://doi.org/10.1053/tmrv.2003.50001)
35. Gupta G, Balbuena-Merle R, Hendrickson J, Tormey C. Immunoematologic aspects of alloimmunization and alloantibody detection: A focus on pregnancy and hemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfusion and Apheresis Science*. 2020. doi: [10.1016/j.transci.2020.102946](https://doi.org/10.1016/j.transci.2020.102946)
36. Omeñaca F, de la Camara C, Valverde E. *Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la AEP: Neonatología*. Asociación Española de Pediatría; 2008.

37. Olayanju A, Chris N, Emmanuel A, Oyetunde A, Adebisi K, Okolo C. Prevalence of alloantibodies associated with haemolytic disease of the fetus and newborn in pregnant women at the Ekiti State University Teaching Hospital, Ado-Ekiti, Southwest Nigeria. *African Journal of Reproductive Health*. 2023 junio; 23(6s). doi: [10.29063/ajrh2023/v27i6s.9](https://doi.org/10.29063/ajrh2023/v27i6s.9)
38. American Association of blood bank. Technical Manual. 20th ed. Maryland: American Association of blood bank; 2020.
39. Feng CS, Kirkley KC, Eicher CA, De Jongh DS. The Lui elution technique. *Transfusion*. 1985; 25: p. 433-434.
40. Canadian Paediatric Society. Guidelines for detection, management and prevention of hyperbilirubinemia in term and late preterm newborn infants (35 or more weeks' gestation) – Summary. Ottawa; 2007. Report No.: POSITION STATEMENT (FN-2007-02).
41. Ministry of Health Malaysia. Management of Neonatal Jaundice. Clinical Practice Guideline. , Medical Development Division, Ministry of Health Malaysia; 2015.