

## ESTUDIO ESPECTROFOTOMETRICO DEL LIQUIDO AMNIOTICO EN ISOINMUNIZACION

VIII CONGRESO COLOMBIANO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA - Manizales, Diciembre 1969

Este Trabajo en las diferentes etapas de su realización, contó con la valiosa colaboración de los doctores: Edith González Franco, Residente III Depto. Obstetricia y Ginecología, Univ. Javeriana; Jorge Villarreal Mejía, Ex-Jefe Depto. Obstetricia y Ginecología, Univ. Javeriana; Luis Santamaría Páez, Prof. Asistente, Depto. Obstetricia y Ginecología, Univ. Nacional; y Cecilia González de Caro, Sub-Jefe Laboratorio Clínico, Univ. Javeriana. - Las Curvas Espectrofotométricas fueron hechas en el Laboratorio Clínico del Hospital San Ignacio.

*Dr. Uriel Acero Rodríguez\**

Interesados en el estudio de isoinmunización fetal y dada la ausencia de medios de diagnóstico y pronóstico adecuado de ella, iniciamos en 1965 el estudio espectrofotométrico del líquido amniótico en el Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario San Ignacio, en colaboración con el Instituto Materno Infantil de Bogotá.

Los doctores Liley (1), Howell y Flowers (2), Walker (3), Bevis (5), Evans (6), Freda (7) han demostrado la utilidad del análisis espectrofotométrico del líquido amniótico, determinando la concentración de bilirrubina en casos de isoinmunización, como medida del grado de padecimiento en el feto.

Walker (4), anota predicción exacta de la gravedad de la enfermedad en el 91% de los casos cuando el análisis se efectúa entre las 32 a 34 semanas de embarazo. La prueba tiene valor ilimitado, según él, después de la semana 35 pues el pigmento bi-

lirrubínico en el líquido amniótico es depurado de manera más eficiente por la placenta, a menos que el feto esté gravemente lesionado.

Basados en las anteriores observaciones elaboramos el presente trabajo, fijando los siguientes objetivos:

1. Hacer el diagnóstico de isoinmunización in útero.

2. Establecer el pronóstico fetal y la conducta a seguir durante el embarazo y el parto.

3. Verificar en nuestro medio, la efectividad del análisis espectrofotométrico del líquido amniótico para diagnóstico y pronóstico de la enfermedad.

---

\* Prof. Auxiliar Depto. de Obst. y Gin. Universidad Javeriana.

Exponemos el análisis espectrofotométrico del líquido amniótico como diagnóstico y pronóstico en isoinmunización fetal. Estudiamos 170 pacientes y concluimos que este método es de utilidad para el manejo de incompatibilidad por Factor Rh y Grupo Sanguíneo.

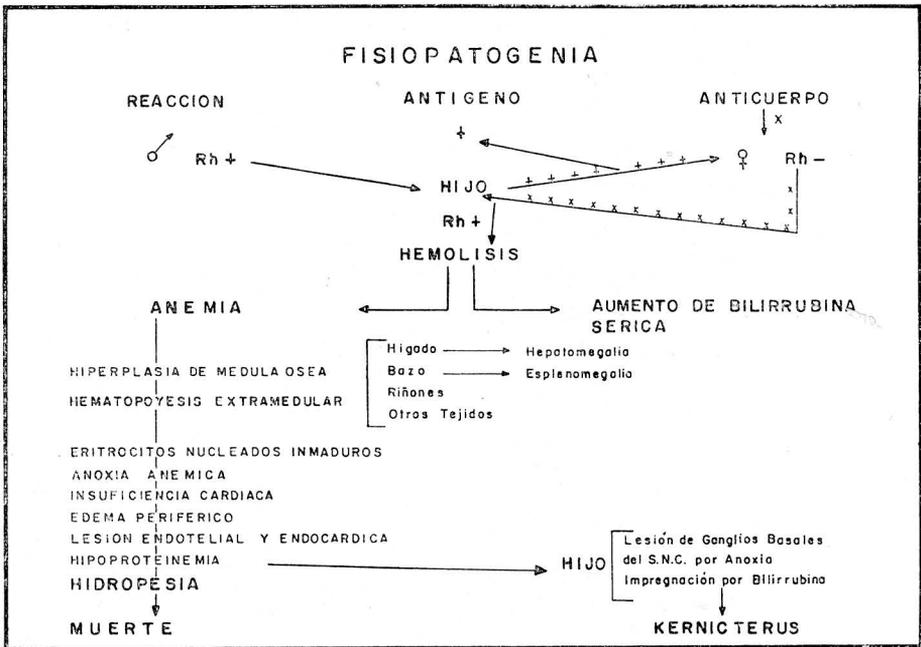
4. Investigar la frecuencia de isoinmunización en las pacientes que asisten al servicio prenatal del Hospital San Ignacio.

5. Impartir educación a las madres isoinmunizadas, en aspectos básicos de la entidad que sufren.

Desde la observación de Landsteiner y Wiener (8), en 1940 cuando probaron la existencia de un antígeno Rh con un anticuerpo producido en animales inyectados con glóbulos rojos de Macacuss Rhesus, son muchas las investigaciones que se han

hecho sobre la isoinmunización y es bien conocido el mecanismo antígeno-anticuerpo que la origina.

Presentamos a continuación un esquema de la fisiopatogenia de la entidad con el fin de recordar cómo en el líquido amniótico se van a encontrar diferentes pigmentos biliares, entre los cuales el más importante para la entidad que nos ocupa es la bilirrubina y el método más eficiente en la actualidad, aceptado universalmente, para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad es el espectrofotométrico.



**Metodología**

**A - Selección de pacientes**

A las pacientes Rh negativas se les investigan los antecedentes de isoinmunización, se les ordena Coombs indirecto y clasificación sanguínea del marido.

Se practica amniocentesis a aquellas pacientes con alguno de los antecedentes enumerados a continuación:

1. Multigestantes Rh negativas quienes hayan tenido recién nacidos con una de las siguientes entidades: Ict-

tericia neonatal severa, exanguino transfusión, hidrops fetalis, mortinatos, kernicterus, o muertes neonatales por isoinmunización.

2. Coombs positivos en diluciones mayores de 1/8.

3. Multigestantes y primigestantes con antecedentes de transfusión incompatible.

4. Pacientes Rh positivas con cualquiera de los anteriores antecedentes que presenten incompatibilidad ABO.

La amniocentesis deberá practicarse de la semana 28 en adelante, a excepción de pacientes con Coombs positivos por encima de 1/64 o muertes tempranas in útero, en las cuales se practicará a partir de la semana 20.

Como veremos en el análisis de las pacientes estudiadas por esta metodología, no fué posible seguirla estrictamente

como es lo aconsejable, debido a la consulta prenatal tardía en la mayoría de ellas, lo cual nos hizo practicar amniocentesis en tiempo avanzado de embarazo.

### B - Técnica

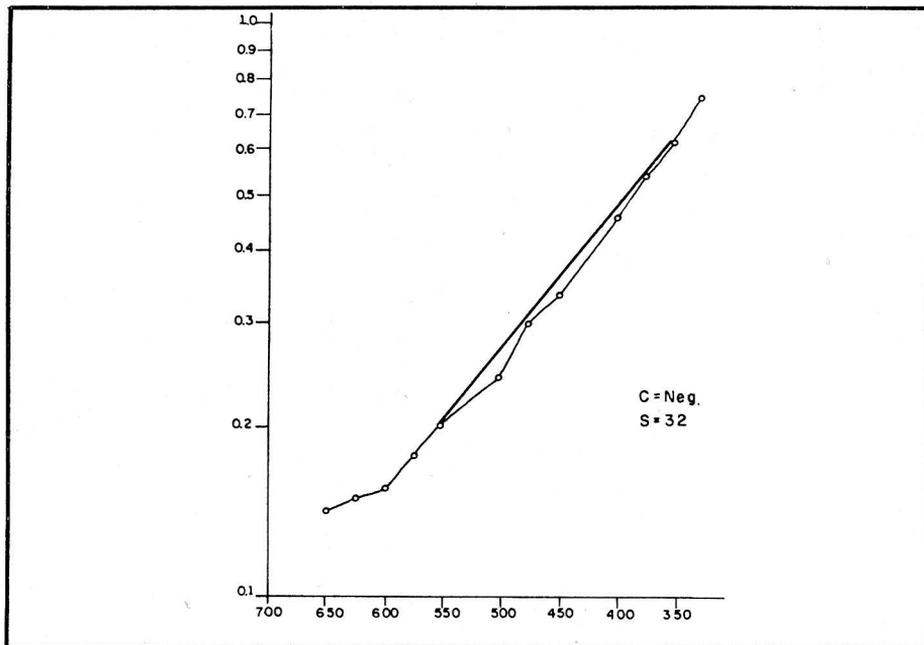
La técnica utilizada en la amniocentesis fué la siguiente:

1. Evacuación espontánea de la vejiga.

2. Asepsia de la región abdominal.

3. Anestesia local con Xilocaína al 1% en las primeras pacientes, abandonada luego, por no considerarla necesaria.

4. Se utiliza un equipo estéril con aguja Nº 18-20 de punción lumbar; se practica la punción a dos o tres traveses de dedo por debajo del ombligo, 2.5 a 5 centímetros de la línea media, en el lado opuesto a aquel



en que está situado el dorso del feto.

Se extraen de 8 a 10 centímetros de líquido amniótico el cual se protege de la luz con papel amarillo u oscuro.

5. En el laboratorio se trata el líquido en la siguiente forma:

a. Se centrifuga 6 minutos a alta velocidad.

b. Se filtra con papel de filtro Whatman N° 42.

c. Sin diluir se hace una gráfica en escala logarítmica en donde se marcan las densidades ópticas en longitudes de onda de 350 a 650 milimicras. Las muestras muy pigmentadas ses diluyen en agua destilada.

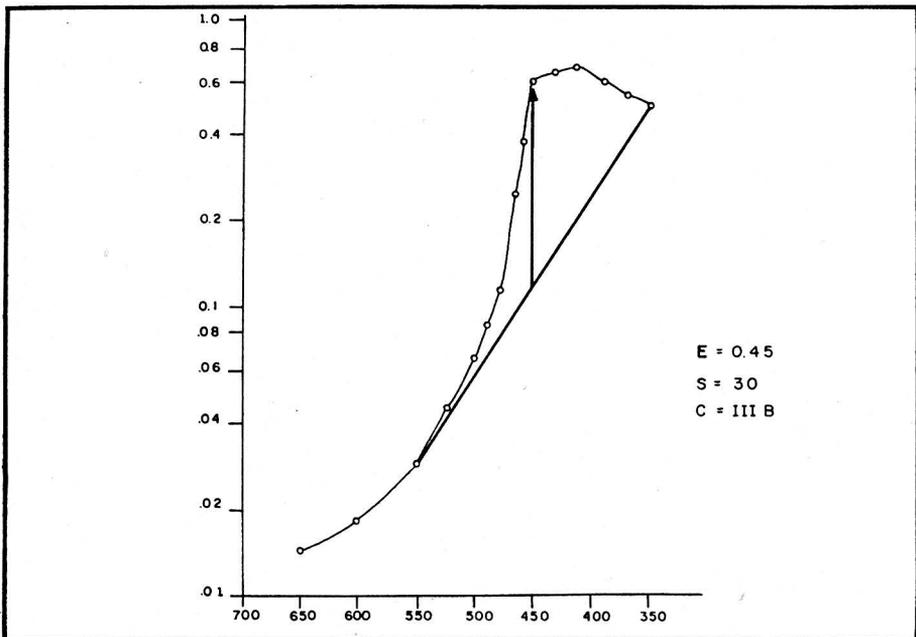
**C - Interpretación de la Curva Espectrofotométrica**

Se obtiene en la gráfica una curva más o menos lineal, progresiva de 550 a 350 milimicras.

Las curvas diagnósticas dependen de la desviación de densidad óptica que se aparta de la curva lineal normal.

La espiga o aumento en la curva del espectro de absorción a 450 milimicras, Bevis (9) corresponde a la bilirrubina; su lectura se traslada a una gráfica standard ideada por Liley (1) y modificada por Evans (6), con la cual establecemos el diagnóstico y pronóstico de la severidad de hemólisis fetal.

Esta gráfica standard se divide en tres zonas de acuerdo al grado de densidad óptica de la espiga a 450



milimicras, variando ligeramente según las semanas de gestación:

La zona inferior de la gráfica corresponde a un grado mínimo de hemólisis.

La zona media sugiere enfermedad moderada a grave y se ha subdividido en C y D.

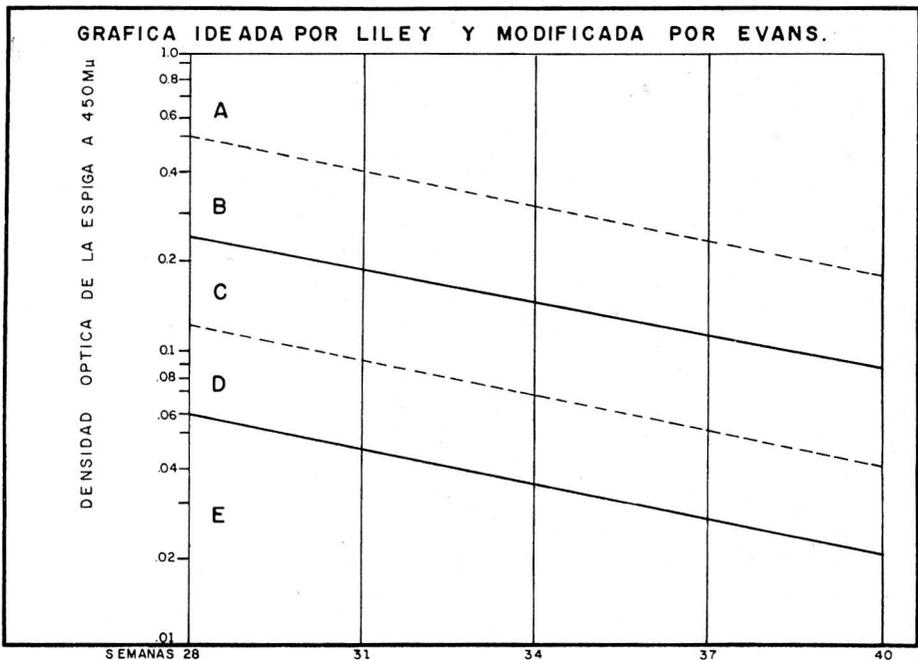
La zona alta nos indica un grado severo de eritroblastosis con Hidrops Fetalis o muerte in útero, dividida también en A. y B.

Estas tres zonas nos da un índice diagnóstico e indica la conducta a se-

guir ya que sugiere la gravedad de la hemólisis.

Freda (10) nos da cifras semejantes a las seguidas por los anteriores autores, pero nosotros creemos que la gráfica tal como la hemos explicado es más exacta, por lo cual la adoptamos en nuestro estudio.

Un aumento de la espiga sugiere enfermedad grave de acuerdo al sitio que le corresponde; su disminución en cambio, indica eritroblastosis más benigna.



**D - Causas de error**

Deben tenerse en cuenta los errores que se pueden presentar en la elaboración de esta curva para su adecuada interpretación, a saber:

1. Exposición del líquido amniótico a la luz indirecta por varias horas o al sol por 15 minutos.
2. Contaminación del líquido amniótico con sangre.

3. Sangre fetal debido a la mayor cantidad de pigmentos concentrados en el suero.

Estos errores se evitan siguiendo estrictamente las normas antes enunciadas.

#### E - Coombs indirecto

El estudio del título de anticuerpos Rh maternos se había tenido como procedimiento único para determinar el grado de hemólisis intrauterina, por ello, en este trabajo hacemos una comparación entre las cifras de Coombs indirecto y la curva espectrofotométrica. Creemos, como muchos autores, que un Coombs indirecto positivo demuestra únicamente que la madre ha sido sensibilizada por un feto Rh positivo o por inyección de sangre incompatible.

Evans (6) ha observado que un aumento en el título de anticuerpos Rh

no comprueba el diagnóstico de eritroblastosis fetal ni indica su gravedad. Se ha visto aumento progresivo del título materno de anticuerpos Rh durante la gestación con feto Rh negativo, cuando el cónyuge es Rh positivo, heterocigote y la mujer ha sido sensibilizada previamente; pero no se ha dilucidado la causa de este fenómeno paradójico.

#### Material

El estudio cubre a 246 pacientes a las cuales se practicaron 293 amniocentesis. Se estudiaron completamente 170 pacientes, según el cuadro siguiente:

Como apreciamos en el cuadro anterior, las 170 pacientes estudiadas corresponden a:

|                            |    |
|----------------------------|----|
| Hospital U. San Ignacio    | 92 |
| Instituto Materno Infantil | 74 |
| Hospital Militar Central   | 2  |
| Particulares               | 2  |

|                   | HOSPITAL UNIV.<br>SAN IGNACIO | INSTITUTO MA-<br>TERNO INFANT. | HOSPITAL MI-<br>LITAR CENTR. | PARTICULARES | TOTALES |
|-------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------|---------|
| CASOS ESTUDIADOS  | 92                            | 74                             | 2                            | 2            | 170     |
| CASOS INCOMPLETOS | 9                             | 4                              |                              | 10           | 23      |
| CASOS PERDIDOS    | 18                            | 31                             |                              |              | 49      |
| CASOS EN ESTUDIO  | 4                             |                                |                              |              | 4       |
| TOTALES           | 123                           | 109                            | 2                            | 12           | 246     |

Sobre este grupo estudiado se basa el presente trabajo.

En 10 de 12 pacientes particulares no fué posible completar el estudio, debido a faltas en la historia del parto y del recién nacido.

Los casos incompletos y perdidos del Hospital San Ignacio e Instituto Materno Infantil son debidos a la no asistencia de los pacientes a los hospitales para el parto, o a historias incompletas de los recién nacidos.

### Incidencia de Isoinmunización

Si tenemos en cuenta el período de elaboración de este trabajo, comprendido entre Julio de 1965 a Septiembre de 1969, lapso en el cual se han registrado en el Hospital San Ignacio 5.139 nacimientos, obtenemos una incidencia de isoinmunización de 0,95%. Sin embargo, esta cifra es muy relativa puesto que no todas las pa-

cientes Rh negativas o con problemas de isoinmunización han sido consignadas en este trabajo. La proporción en el Instituto Materno Infantil se puede descartar puesto que allí la falta de asistencia al prenatal es mayor y no creemos que los porcentajes sean significativos.

### Antecedentes de Isoinmunización

A continuación consignamos los antecedentes de importancia en la isoinmunización, estos datos son indispensables en la elaboración de la historia clínica puesto que constituyen un parámetro en el cual se puede basar la conducta a seguir, en caso de muerte temprana in útero, para la inducción del parto.

Podemos apreciar que de las 121 pacientes con curva negativa, 77 presentaban antecedentes negativos de isoinmunización y las 44 restantes positivos.

| ANTECEDENTES DE ISOINMUNIZACION |             |             |         |
|---------------------------------|-------------|-------------|---------|
|                                 | C. NEGATIVA | C. POSITIVA | TOTALES |
| ICTERICIA PATOLOGICA            | 13          | 3           | 16      |
| EXANGUINO-TRANSFUSION           | 10          | 5           | 15      |
| KERNICTERUS                     | 2           | 1           | 3       |
| HIDROPS- FETALIS                | 1           | 1           | 2       |
| MORTINATO                       | 8           | 10          | 18      |
| MUERTE NEONATAL                 | 10          | 4           | 14      |
| NEGATIVOS                       | 77          | 25          | 102     |
| TOTALES                         | 121         | 49          | 170     |

De las 49 con curva positiva, en 25, los antecedentes fueron negativos y en las otras 24 se encontraron positivos.

Lo anterior nos indica que los antecedentes son muy importantes de tener en cuenta pero en nuestro grupo no guardaron relación directa entre su positividad y el tipo de curva espectrofotométrica.

### Paridad

Se clasifican las pacientes estudiadas según su paridad. El hecho de haber estudiado 7 pacientes primigestantes, como lo indica el cuadro si-

guiente y 34 secundigestantes, sin antecedentes de transfusión incompatible, fué debido a que inicialmente quisimos adquirir experiencia en la amniocentesis para darnos cuenta de su inocuidad, por lo cual a toda paciente Rh negativa le practicamos punción para extracción de líquido amniótico. Posteriormente, una vez adquirida esta práctica, se estudiaron las pacientes según las pautas antes fijadas.

Es de anotar el haberse encontrado una primigestante con curva positiva I, sin antecedentes de transfusión incompatible pero cuyo hijo evolucionó satisfactoriamente; al respec-

| P A R I D A D      |   |                   |                   |         |
|--------------------|---|-------------------|-------------------|---------|
|                    |   | CURVA<br>NEGATIVA | CURVA<br>POSITIVA | TOTALES |
| PRIMIGESTANTES     |   | 6                 | 1                 | 7       |
| SECUNDIGESTANTES   |   | 24                | 10                | 34      |
| MULTIGESTANTES     | 3 | 12                | 10                | 22      |
|                    | 4 | 11                | 8                 | 19      |
|                    | 5 | 13                | 4                 | 17      |
| MULTIGESTANTES + 5 |   | 55                | 16                | 71      |
| TOTALES            |   | 121               | 49                | 170     |

Nº 3

to, recordamos lo expuesto por algunos autores, quienes dan 2% de iso-inmunización en primigestantes. Apreciamos la falta de relación entre la paridad y la positividad de las curvas espectrofotométricas, especialmente en las grandes multigestantes, lo cual

se puede explicar al revisar las historias clínicas, que demostraban antecedentes negativos en su mayoría.

### Incompatibilidad

En el cuadro siguiente anotamos las incompatibilidades de los padres

| INCOMPATIBILIDAD     |              |              |          |               |              |          |
|----------------------|--------------|--------------|----------|---------------|--------------|----------|
|                      | DE PADRES    |              |          | MATERNO-FETAL |              |          |
|                      | C. NE-GATIVA | C. PO-SITIVA | TOTA-LES | C. NE-GATIVA  | C. PO-SITIVA | TOTA-LES |
| FACTOR Rh.           | 97           | 38           | 135      | 90            | 42           | 132      |
| GRUPO                | 6            |              | 6        | 2             |              | 2        |
| COMBINADA            | 18           | 11           | 29       | 10            | 5            | 15       |
| SIN INCOMPATIBILIDAD |              |              |          | 19            | 2            | 21       |
| TOTALES              | 121          | 49           | 170      | 121           | 49           | 170      |

y las comparamos con la incompatibilidad materno-fetal encontradas posteriormente.

La incompatibilidad de los padres encontrada fué del 70,4% por factor Rh (Rho D). El 3,5% por grupo sanguíneo y el otro 17,1% combinada.

En el mismo cuadro apreciamos incompatibilidad materno-fetal por Rh en el 77,6% y sin incompatibilidad alguna en el 12,3%.

### Primera Amniocentesis

Se practicaron 218 amniocentesis en las 170 pacientes estudiadas. La época del embarazo en la cual se hizo la primera amniocentesis aparece detallada en el siguiente cuadro. Por él nos podemos dar cuenta de la consulta tardía prenatal de estas pacientes, ya que el 62,3% de las puncio-

nes fueron practicadas después de la semana 32. Esto va en detrimento de un buen estudio y naturalmente de una conducta apropiada. El ideal es que la primera amniocentesis se practique como se enunció en la metodología, en la semana 28, haciendo excepción de aquellas pacientes con Coombs en diluciones mayores de 1/64 o muerte temprana del feto en sus anteriores embarazos; lo cual permite indicar una terapéutica precoz y conseguir el fin que debe buscar el obstetra, como es el de lograr un feto vivo, lo más cerca posible al término, en condiciones satisfactorias para sobrevivir.

Antes de este tiempo de embarazo no creemos que se justifique practicar amniocentesis debido a que en la mayoría de los casos la hemólisis intrauterina no se verifica antes del quinto mes de gestación.

| PRIMERA AMNIOCENTESIS |                   |                   |         |
|-----------------------|-------------------|-------------------|---------|
|                       | CURVA<br>NEGATIVA | CURVA<br>POSITIVA | TOTALES |
| - 28 SEMANAS          | 9                 | 12                | 21      |
| 28 - 32 SEMANAS       | 23                | 20                | 43      |
| 33 - 36 SEMANAS       | 45                | 12                | 57      |
| 37 - 40 SEMANAS       | 44                | 5                 | 49      |
| TOTALES               | 121               | 49                | 170     |

N.S

### Criterio según Tipo de Curva

En 121 pacientes las curvas espectrofotométricas fueron negativas y en 49 positivas, así: 31 clasificadas como Curva I, 11 como Curva II y 7 como Curva III.

A muchas de estas pacientes les fué practicada una sola lectura espectrofotométrica, especialmente en los casos negativos debido a la consulta tardía prenatal. Las curvas positivas se repitieron de acuerdo a cada caso; sin embargo, no fue posible seguir un esquema apropiado como es lo ideal, generalmente por falta de colaboración de las pacientes.

Creemos que una sola curva espectrofotométrica, en caso de ser negativa, no descarta eritroblastosis fetal; ni lo contrario, que una curva positiva indique el grado de hemólisis intrauterina, especialmente en caso de obtener grados bajos en ella.

Es indispensable repetir la amniocentesis en forma seriada, según los criterios que exponemos a continuación:

En pacientes con curva negativa lo ideal es repetir la amniocentesis en la semana 32 y 36.

En curva I, cada tres semanas.

En curva II, cada dos semanas.

En curva III, es indispensable indicar una terapéutica urgente puesto que se considera un caso grave de hemólisis y por tanto la repetición de la curva se hará de acuerdo al tratamiento.

### Complicaciones

No hay que olvidar las posibles complicaciones que la amniocentesis conlleva como son: inducción del parto, punción de placenta, ruptura prematura de membranas, punción

fetal, hemorragia e infección; así mismo la punción puede introducir células fetales a la circulación de la madre al atravesar la placenta lo cual puede agravar el cuadro hemolítico o inclusive desencadenarlo, si aún no lo tiene.

En nuestro estudio no detectamos ninguna complicación de importancia, aunque estamos seguros de que en varias ocasiones puncionamos la placenta, no se desencadenó hemorragia que complicara el embarazo; las punciones fetales fueron varias pero ningún feto mostró lesión macroscópica evidente ni encontramos complicaciones en ellos. Una paciente con embarazo de 36 semanas inició trabajo de parto al siguiente día de la amniocentesis, talvez desencadenado por ésta o simplemente como coincidencia.

El aspecto del líquido amniótico fue hemático en 32 casos, lo que nos

hace suponer que hubo punción de la placenta o hemorragia de la pared uterina, sin que tuviéramos por esto complicación alguna; es aconsejable sin embargo evitar esta contingencia por el error en la lectura espectrofotométrica a que puede dar origen.

**Color del líquido amniótico**

Inicialmente creímos que el color del líquido amniótico tuviera relación con el grado de hemólisis intrauterina; en parte teníamos razón porque realmente hay cierta proporción en este sentido, pero obtuvimos 26 curvas positivas con líquido claro y 30 negativas con líquido amarillo, lo que descarta la relación estricta entre uno y otro (Ver cuadros Nos. 11, 12, 13 y 14).

**Presentaciones Fetales**

Las presentaciones fetales encontradas al practicar las 218 amniocen-

| CURVA<br>CORRELACION: COOMBS I<br>ASPECTO DEL RECIEN NACIDO |         |                      |                      |               |         |         |        |
|---|---------|----------------------|----------------------|---------------|---------|---------|--------|
|   |         |                      |                      | RECIEN NACIDO |         |         |        |
|   | TOTALES | COOMBS I<br>NEGATIVO | COOMBS I<br>POSITIVO | NOR MAL       | ANEMICO | EDEMAT. | MUERTO |
| CURVA NEGATIVA  | 121     | 88                   | 33                   | 114           | 5       | 1       | 1      |
| CURVA POSITIVA I  | 31      | 24                   | 7                    | 27            | 4       |         |        |
| CURVA POSITIVA II   | 11      | 2                    | 9                    | 3             | 8       |         |        |
| CURVA POSITIVA III  | 7       |                      | 7                    |               | 5       | 2       |        |
| TOTALES   | 170     | 114                  | 56                   | 144           | 22      | 3       | 1      |

No 9

tesis fueron: cefálicas en 187, podálicas en 25, y situaciones transversas en 6 casos.

Lo anterior nos demuestra que siempre que se haga el diagnóstico correcto de presentación fetal, la punción para extracción del líquido amniótico es factible, sin gran peligro para el feto.

### Correlación: Curva, Coombs I y Aspecto del Recién Nacido

Exponemos en este cuadro la correlación de las diferentes curvas obtenidas, con los exámenes de Coombs indirecto de cada paciente y el aspecto del recién nacido.

Podemos apreciar 33 pacientes con curva negativa y Coombs positivo, aspecto del recién nacido con alguna patología únicamente en 7. Así mismo en 26 pacientes con curva positiva I y II, el Coombs era negativo y

el resultado fetal en 12 casos, patológico, aunque benigno. En las pacientes con curva III los Coombs fueron positivos y se presentó patología fetal en todos los recién nacidos.

Si analizamos los datos anteriores podemos confirmar que el examen de Coombs indirecto no revela una proporción exacta al grado de eritroblastosis. La cifra mayor obtenida fue de 1/512 pero aún en diluciones tan altas no indica el grado de eritroblastosis; con lo anterior se quiere significar el poco valor pronóstico del Coombs, sin querer decir por ello que deje de ser un examen que ayude a configurar un buen diagnóstico, como lo apreciamos en las curvas III, en las cuales todas las pacientes tuvieron Coombs positivos en diluciones altas y el recién nacido confirmó el cuadro grave de eritroblastosis.

| P A R T O    |       |               |          |                   |         |         |
|--------------|-------|---------------|----------|-------------------|---------|---------|
|              |       | T R A B A J O |          | M E C A N I S M O |         |         |
| S.DE GESTAC. | CURVA | ESPONTAN.     | INDUCIDO | ESPONTAN.         | FORCEPS | CESAREA |
| - 32         | +     | 1             |          | 1                 |         |         |
| 32 - 36      | +     | 2             | 8        | 5                 |         | 5       |
| 37 - 40      | +     | 32            | 6        | 30                | 3       | 5       |
|              | -     | 117           | 2        | 108               | 5       | 6       |
| + 40         | -     |               | 2        | 2                 |         |         |
| TOTALES      | +     | 35            | 14       | 36                | 3       | 10      |
|              | -     | 117           | 4        | 110               | 5       | 6       |

En este cuadro podemos ver que en 117 pacientes con curva negativa el parto se desencadenó espontáneamente, lo mismo que en 35 con curva positiva.

Se practicaron 18 inducciones: 4 con curva negativa y 14 con curva positiva.

El mecanismo del parto fué: espontáneo en 146 pacientes, 8 con fórceps y a 16 les fué practicada cesárea.

El índice de inducciones, es bajo ya que tuvimos 49 pacientes con curvas positivas, 18 de las cuales correspondían a curvas II y III, lo que indicaría una terminación temprana del embarazo. Uno de los mecanismos para lograr obtener un feto en condiciones aceptables, ha sido desde que se conoce la entidad, la inducción del parto, la cual no se llevó a cabo en un número adecuado

de casos por la razón antes expuesta de consulta prenatal tardía.

Thomas Boggs (11) anota que según su experiencia, el embarazo acompañado de feto Rh positivo, al cual se permite la terminación espontánea, la frecuencia de mortinatos de niños hidrópicos será aproximadamente del 10%, en la primera sensibilización; del 40% en las gestaciones ulteriores cuando el primer niño eritroblastósico no fue mortinato ni hidrópico; y del 90% en los embarazos ulteriores cuando el primero culminó en un mortinato o un recién nacido hidrópico. Esta observación es semejante a la de Chown (12) quien fundándose en ellas ha clasificado las gestaciones de mujeres sensibilizadas en tres grupos de riesgo, a saber: bajo, intermedio y alto, según los antecedentes expuestos.

Si nosotros consideramos estas pautas y revisamos los antecedentes

## EVOLUCION DEL RECIEN NACIDO

|                       | CURVA<br>NEGATIVA | CURVA POSITIVA |    |     |
|-----------------------|-------------------|----------------|----|-----|
|                       |                   | I              | II | III |
| SATISFACTORIA         | 104               | 27             | 4  | 1   |
| ICTERICIA TRANSITORIA | 8                 |                | 1  |     |
| KERNICTERUS → VIVE    |                   |                | 1  |     |
| KERNICTERUS → MUERE   | 1                 |                |    |     |
| HIDROPS → MUERE       | 1                 |                |    | 2   |
| EXANGUINO → VIVE      | 7                 | 4              | 4  | 3   |
| EXANGUINO → MUERE     | 1                 |                | 1  | 3   |

de nuestras pacientes, en 68 de ellas había antecedentes de isoimmunización. Sin embargo, vemos que tan solo tres fueron edematosos y uno mortinato, lo que indica que no se cumplió el pronóstico enunciado por los anteriores autores.

**Evolución del Recién Nacido**

En el siguiente cuadro exponemos la evolución de los recién nacidos, de acuerdo a cada curva obtenida.

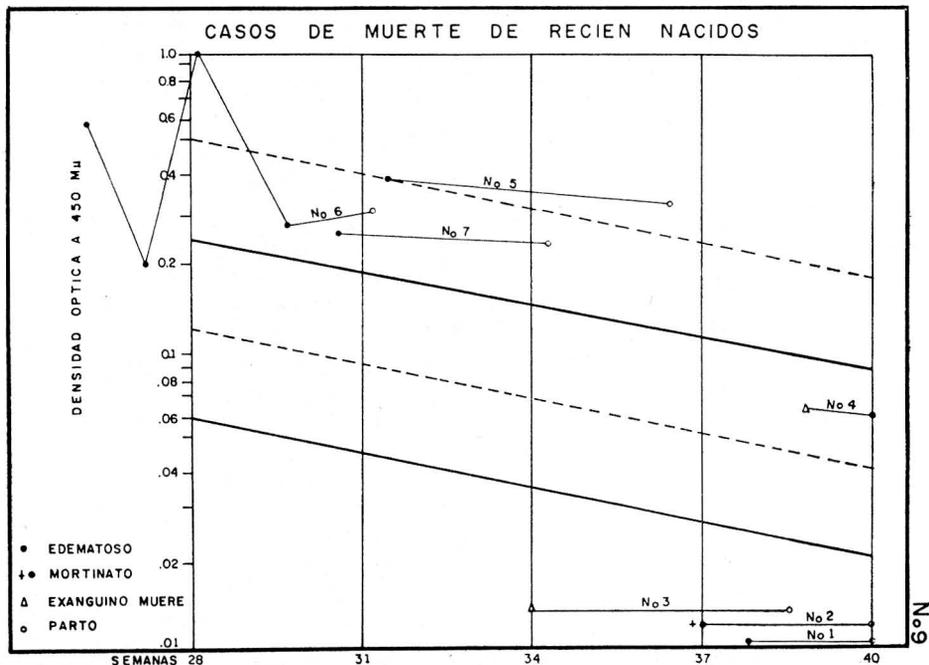
**Curva negativa:** Apreciamos evolución satisfactoria en 118 recién nacidos, correspondientes a pacientes con esta curva, 7 de las cuales necesitaron exanguino transfusión pero con sobrevivencia, 2 murieron, y 1 fué mortinato; estas tres historias las resumiremos posteriormente, porque creemos que quien verdaderamente valora la utilidad del método que hemos venido exponiendo es el recién nacido.

**Curva I.** De las 31 pacientes con curva I, todos los recién nacidos evolucionaron satisfactoriamente, necesitando 4 exanguino transfusión.

**Curva II.** De las 11 pacientes con curva II, 9 evolucionaron bien, 4 de ellos con exanguino transfusión, 1 más con kernicterus pero vive, y otro con exanguino y muere; este último caso se resumirá luego.

**Curva III.** De las 7 pacientes correspondientes a la curva III, 4 evolucionaron dentro de lo normal, siendo necesario a 3 practicarles exanguino transfusión, 2 nacen con hidrops fetalís y mueren y 1 muere después de exanguino transfusión; sus historias serán resumidas más adelante.

En resumen, se practicaron 23 exanguino transfusiones, 18 de los recién nacidos sobrevivieron a ellas y 5 murieron. Se aprecia en este cuadro un



aumento proporcional de exanguino transfusiones a medida que la curva se hace más patológica; así, por ejemplo, 6 recién nacidos con curva III requieren exanguino transfusión y apenas 1 necesita transfusión para corrección de anemia. En cambio, 8 de 121 con curva negativa necesitan de este procedimiento.

Los resultados expuestos anteriormente confirman de una manera general los pronósticos previstos para cada una de estas curvas.

### Casos de Muerte de Recién Nacidos

**CASO Nº 1.** G 7. Incompatibilidad Rh con antecedentes de isoinmunización (exanguino). Coombs positivo. Líquido amarillo. Parto espontáneo. Recién nacido: hidrops incipiente, no exanguino por falta de sangre, muere a las 5 horas.

**CASO Nº 2.** G 3. Incompatibilidad Rh con antecedentes de isoinmunización (mortinato). Coombs positivo. Líquido amarillo. Parto espontáneo. Recién nacido mortinato.

**CASO Nº 3.** G 7. Incompatibilidad Rh. Antecedentes de isoinmunización (muerte perinatal). Coombs negativo. Líquido claro. Parto espontáneo. Recién nacido: exanguinos tardías por parto fuera de hospital, hace kernicterus y muere.

Los anteriores casos con curvas negativas y evoluciones anotadas nos revelan la importancia de iniciar un estudio apropiado en pacientes multigestantes con antecedentes de isoinmunización para lograr una terapéutica adecuada, la cual en ninguno de los casos anteriores se hizo, ya que el estudio fué practicado tardíamente perdiendo valor la lectura espectrofotométrica. No hay que olvidar, como lo anotamos anteriormente, que la lectura espectrofotométrica del líquido amniótico después de la semana 34 va disminuyendo en su valor diagnóstico y pronóstico.

**CASO Nº 4.** G 4. Incompatibilidad Rh con antecedentes de isoinmunización (mortinatos). Coombs positivo. Líquido claro. Parto espontá-

neo. Recién nacido normal: exanguino transfusión a las 18 horas y 2 días más tarde muere.

Como se aprecia en la gráfica este caso corresponde a la curva II, el estudio del líquido amniótico fué practicado en la semana 39, por lo cual no se hizo terapéutica alguna para lograr obtener un niño en condiciones satisfactorias para ser tratado por el pediatra.

**CASO Nº 5.** G 4. Incompatibilidad Rh con antecedentes de isoinmunización (exanguino transfusión). Coombs positivo. Líquido amarillo. Parto inducido. Recién nacido: hidrops fetalís, tres exanguino transfusiones. Muere mes y medio después.

**CASO Nº 6.** G 9. Incompatibilidad Rh con antecedentes de isoinmunización (mortinato). Coombs positivo. Líquido amarillo (4 amniocentesis). Parto espontáneo. Recambio sanguíneo (reacción anafiláctica con 250 cc.). Recién nacido: hidrops fetalís, exanguino transfusión, muere 48 horas después.

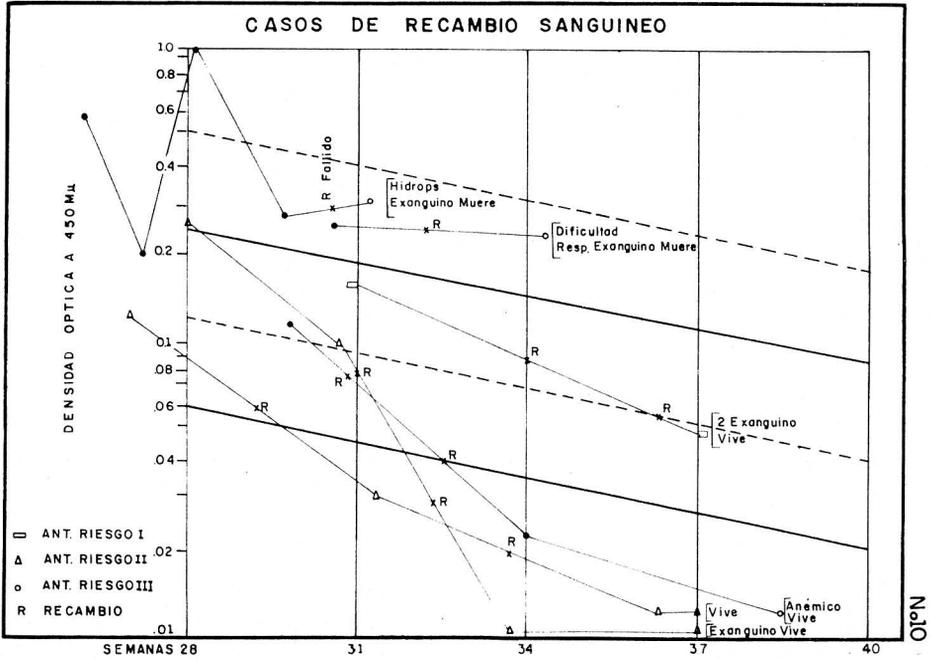
**CASO Nº 7.** G 5. Incompatibilidad Rh con antecedentes de isoinmunización (mortinato). Coombs positivo. Líquido amarillo. Parto inducido. Recién nacido: prematuro, exanguino transfusión, dificultad respiratoria, muere 20 horas más tarde.

El resultado de estos 3 casos confirma el pronóstico dado por la curva, la cual indicaba grado severo de eritroblastosis fetal. La evolución favorable de los 4 recién nacidos restantes, la atribuimos a la terapéutica usada de recambio sanguíneo que a continuación mencionamos.

### Casos de Recambio Sanguíneo

A 6 de las pacientes analizadas en este estudio se les practicó recambio sanguíneo, terapéutica ésta que fue motivo de una publicación de los doctores Santamaría y Amarís (13).

Como se aprecia en la gráfica obtuvimos con este procedimiento en los diferentes casos, una baja notoria de las curvas espectrofotométricas de control lográndose recién nacidos que



evolucionaron en 4 casos en forma satisfactoria, a pesar de estar clasificados entre riesgos intermedios y altos (según Chown). En un caso fué practicado recambio sanguíneo en la semana 32, verificándose el parto en la semana 34, se practica exanguino transfusión y muere posteriormente por dificultad respiratoria. En el caso restante evoluciona con curva III, se inicia recambio en la semana 30 siendo necesario suspenderla por reacción anafiláctica. El parto se verifica en la semana 31 obteniéndose recién nacido hidrópico que muere luego de exanguino transfusión.

La explicación de este fenómeno inmunológico no la sabemos, sin embargo, los resúmenes expuestos en la gráfica anterior, nos indican resultados satisfactorios con este procedimiento por lo cual no debemos olvidarlo, especialmente en aquellos medios hospitalarios, como el nuestro,

que carece de material adecuado para practicar otro tipo de tratamiento como serían las transfusiones in útero.

**Bilirrubinas del líquido amniótico**

En los primeros casos estudiados se determinaron las cifras de bilirrubinas del líquido amniótico por el método químico. Los datos obtenidos no guardaron relación alguna con las curvas espectrofotométricas ni con el resultado posterior de los recién nacidos. Sus cifras oscilaron de 0,15 a 1,60 mgs. de la semana 27 en adelante. Se hizo un total de 35 casos de determinación de estas bilirrubinas, con evolución satisfactoria de los recién nacidos, por lo cual no se continuó esta parte del estudio.

Mackey y Watson (14) son partidarios del análisis cuantitativo de la bilirrubina en el líquido amniótico y

comparan los resultados favorablemente con el examen espectrofotométrico. Sin embargo, Liley (15) y Meisenheimer (16) consideran que la estimación del pigmento por espectrofotometría es índice más exacto de la gravedad de la enfermedad. Evans, determinó químicamente la bilirrubina y concluye que el resultado es poco fidedigno.

### **Enfermedad hemolítica por ABO**

Los casos estudiados por incompatibilidad de grupo, 6 pacientes, evolucionaron satisfactoriamente tanto en su embarazo como en el recién nacido, sin necesidad de tratamiento alguno, lo cual está de acuerdo con la fisiopatología de la eritroblastosis por este mecanismo que generalmente no conlleva a lesión grave intrauterina.

### **Incompatibilidad combinada**

En 29 pacientes existía incompatibilidad combinada de los padres, la cual se demostró en 14 recién nacidos con relación a la madre; 10 con curva negativa y 4 con curva positiva I.

Los recién nacidos, productos de estos embarazos, en cuanto al aspecto y evolución fueron satisfactorios, habiendo necesidad tan solo en un caso de practicar exanguino-transfusión. Lo anterior está de acuerdo con lo expuesto por Levine (17, 18) quien llama la atención acerca de la acción protectora sobre el sistema ABO en enfermedad hemolítica dependiente de factor Rh y otros factores sanguíneos; esto es, que tiende a impedir la sensibilización por Rh protegiendo al feto contra la enfermedad hemolítica por este factor.

### **Resumen**

Se expone la fisiopatogenia de la isoimmunización para aclarar lo que varios autores han informado sobre la presencia de bilirrubinas en el líquido amniótico y su estudio por el método espectrofotométrico.

Se da un criterio de las pacientes a quienes se debe efectuar este estudio y se enuncia su técnica así como la interpretación de la curva obtenida.

Se estudian 170 pacientes, 121 con curvas negativas; 49 con curvas positivas discriminadas así: 31 con curva I, 11 con curva II, 7 con curva III, en un período de 50 meses.

Se resume en los cuadros 11, 12, 13 y 14 los aspectos más importantes que se deben tener en cuenta en el estudio de la paciente isoimmunizada y se correlaciona con las diferentes curvas obtenidas y el recién nacido, quien es el que verdaderamente indica la utilidad del método expuesto.

Se exponen los resúmenes de las historias de aquellas pacientes cuyos recién nacidos presentaron patología grave de isoimmunización; así mismo se hace mención de la terapia usada en 6 pacientes a las cuales les fué practicado recambio sanguíneo.

Finalmente se hace un comentario sobre la determinación bioquímica de bilirrubinas en el líquido amniótico; los hallazgos encontrados en enfermedad hemolítica por ABO y con incompatibilidad combinada de grupo sanguíneo y Rh.

| RESUMEN: CORRELACION CURVAS NEGATIVAS |               |                  |      |       |       |       |           |            |             |
|---------------------------------------|---------------|------------------|------|-------|-------|-------|-----------|------------|-------------|
|                                       |               | ASPECTO DEL R.N. |      |       |       |       | EVOLUCION |            |             |
|                                       |               | TOT.             | NOR. | ANEM. | EDEM. | MUER. | NOR.      | EXAN. VIVE | EXAN. MUER. |
| PARIDAD                               | PRIMIGESTANTE | 6                | 6    |       |       |       | 6         |            |             |
|                                       | MULTIGESTANTE | 115              | 108  | 5     | 1     | 1     | 107       | 7          | 1           |
| ANTECEDENTES DE ISOINMUNIZACION       | POSITIVOS     | 45               | 38   | 5     | 1     | 1     | 38        | 6          | 1           |
|                                       | NEGATIVOS     | 76               | 76   |       |       |       | 73        | 1          |             |
| COOMBS INDIRECTO                      | POSITIVO      | 33               | 27   | 4     | 1     | 1     | 27        | 5          | 1           |
|                                       | NEGATIVO      | 88               | 88   |       |       |       | 86        | 2          |             |
| ASPECTO DEL LIQUIDO AMNIOTICO         | CLARO         | 91               | 88   | 3     |       |       | 85        | 5          | 1           |
|                                       | AMARILLO      | 30               | 26   | 2     | 1     | 1     | 28        | 2          |             |
| INCOMPATIBILIDAD                      | REAL Rh.      | 90               | 84   | 4     | 1     | 1     | 82        | 7          | 1           |
|                                       | COMBINADA     | 10               | 10   |       |       |       | 10        |            |             |
|                                       | GRUPO         | 2                | 2    |       |       |       | 2         |            |             |
|                                       | SIN           | 19               | 19   |       |       |       | 19        |            |             |
| PARTO                                 | ESPONTANEO    | 117              | 111  | 5     | 1     |       | 109       | 7          | 1           |
|                                       | INDUCIDO      | 4                | 3    |       |       | 1     | 4         |            |             |
| T O T A L E S                         |               | 121              | 114  | 5     | 1     | 1     | 113       | 7          | 1           |

No 11

| RESUMEN: CORRELACION CURVAS POSITIVAS I |               |                  |      |       |       |       |           |            |             |
|---|---------------|------------------|------|-------|-------|-------|-----------|------------|-------------|
|   |               | ASPECTO DEL R.N. |      |       |       |       | EVOLUCION |            |             |
|   |               | TOT.             | NOR. | ANEM. | EDEM. | MUER. | NOR.      | EXAN. VIVE | EXAN. MUER. |
| PARIDAD                                 | PRIMIGESTANTE | 1                | 1    |       |       |       | 1         |            |             |
|   | MULTIGESTANTE | 30               | 26   | 4     |       |       | 26        | 4          |             |
| ANTECEDENTES DE ISOINMUNIZACION         | POSITIVOS     | 8                | 5    | 3     |       |       | 5         | 3          |             |
|   | NEGATIVOS     | 23               | 22   | 1     |       |       | 22        | 1          |             |
| COOMBS INDIRECTO                        | POSITIVO      | 9                | 6    | 3     |       |       | 6         | 3          |             |
|   | NEGATIVO      | 22               | 21   | 1     |       |       | 21        | 1          |             |
| ASPECTO DEL LIQUIDO AMNIOTICO           | CLARO         | 22               | 19   | 3     |       |       | 19        | 3          |             |
|   | AMARILLO      | 9                | 8    | 1     |       |       | 8         | 1          |             |
| INCOMPATIBILIDAD                        | REAL Rh.      | 26               | 24   | 2     |       |       | 23        | 3          |             |
|   | COMBINADA     | 3                | 1    | 2     |       |       | 2         | 1          |             |
|   | GRUPO         |                  |      |       |       |       |           |            |             |
|   | SIN           | 2                | 2    |       |       |       | 2         |            |             |
| PARTO                                   | ESPONTANEO    | 30               | 27   | 3     |       |       | 27        | 3          |             |
|   | INDUCIDO      | 1                |      | 1     |       |       |           | 1          |             |
| T O T A L E S                           |               | 31               | 27   | 4     |       |       | 27        | 4          |             |

No 12

| RESUMEN: CORRELACION CURVAS POSITIVAS II |               |                  |      |      |       |       |           |           |           |           |
|--|---------------|------------------|------|------|-------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|  |               | ASPECTO DEL R.N. |      |      |       |       | EVOLUCION |           |           |           |
|  |               | TOT.             | NOR. | ANEM | EDEM. | MUER. | NOR.      | EXAN VIVE | EXAN MUER | KERN VIVE |
| PARIDAD                                  | PRIMIGESTANTE |                  |      |      |       |       |           |           |           |           |
|  | MULTIGESTANTE | 11               | 3    | 8    |       |       | 5         | 4         | 1         | 1         |
| ANTECEDENTES DE ISOINMUNIZACION          | POSITIVOS     | 11               | 3    | 8    |       |       | 5         | 4         | 1         | 1         |
|  | NEGATIVOS     |                  |      |      |       |       |           |           |           |           |
| COOMBS INDIRECTO                         | POSITIVO      | 9                | 2    | 7    |       |       | 4         | 3         | 1         | 1         |
|  | NEGATIVO      | 2                | 1    | 1    |       |       | 1         | 1         |           |           |
| ASPECTO DEL LIQUIDO AMNIOTICO            | CLARO         | 3                | 1    | 2    |       |       | 2         | 1         |           |           |
|  | AMARILLO      | 8                | 2    | 6    |       |       | 3         | 3         | 1         | 1         |
| INCOMPATIBILIDAD                         | REAL Rh.      | 9                | 2    | 7    |       |       | 4         | 3         | 1         | 1         |
|  | COMBINADA     | 2                | 1    | 1    |       |       | 1         | 1         |           |           |
|  | GRUPO         |                  |      |      |       |       |           |           |           |           |
|  | SIN           |                  |      |      |       |       |           |           |           |           |
| PARTO                                    | ESPONTANEO    | 3                | 1    | 2    |       |       | 2         |           | 1         |           |
|  | INDUCIDO      | 8                | 2    | 6    |       |       | 3         | 4         | 1         |           |
| T O T A L E S                            |               | 11               | 3    | 8    |       |       | 5         | 4         | 1         | 1         |

Nº13

| RESUMEN: CORRELACION CURVAS POSITIVAS III |               |                  |      |      |       |       |           |           |           |  |
|---|---------------|------------------|------|------|-------|-------|-----------|-----------|-----------|--|
|   |               | ASPECTO DEL R.N. |      |      |       |       | EVOLUCION |           |           |  |
|   |               | TOT.             | NOR. | ANEM | EDEM. | MUER. | NOR.      | EXAN VIVE | EXAN MUER |  |
| PARIDAD                                   | PRIMIGESTANTE |                  |      |      |       |       |           |           |           |  |
|   | MULTIGESTANTE | 7                |      | 5    | 2     |       | 1         | 3         | 3         |  |
| ANTECEDENTES DE ISOINMUNIZACION           | POSITIVOS     | 7                |      | 5    | 2     |       | 1         | 3         | 3         |  |
|   | NEGATIVOS     |                  |      |      |       |       |           |           |           |  |
| COOMBS INDIRECTO                          | POSITIVO      | 7                |      | 5    | 2     |       | 1         | 3         | 3         |  |
|   | NEGATIVO      |                  |      |      |       |       |           |           |           |  |
| ASPECTO DEL LIQUIDO AMNIOTICO             | CLARO         | 1                |      | 1    |       |       |           | 1         |           |  |
|   | AMARILLO      | 6                |      | 4    | 2     |       | 1         | 2         | 3         |  |
| INCOMPATIBILIDAD                          | REAL Rh.      | 7                |      | 6    | 1     |       | 1         | 3         | 3         |  |
|   | COMBINADA     |                  |      |      |       |       |           |           |           |  |
|   | GRUPO         |                  |      |      |       |       |           |           |           |  |
|   | SIN           |                  |      |      |       |       |           |           |           |  |
| PARTO                                     | ESPONTANEO    | 2                |      | 1    | 1     |       |           | 1         | 1         |  |
|   | INDUCIDO      | 5                |      | 4    | 1     |       | 1         | 3         | 1         |  |
| T O T A L E S                             |               | 7                |      | 5    | 2     |       | 1         | 4         | 2         |  |

Nº14

**Resumen y Conclusiones**

1. La frecuencia de isoinmunización encontrada en el Hospital Universitario San Ignacio fue de 0,95%.

2. Los casos graves de isoinmunización por Rh encontrados en el presente trabajo fueron de 4,1%.

3. La frecuencia realmente baja de isoinmunización por Rh brinda poca oportunidad para que el médico que practica la Obstetricia, adquiera gran experiencia en este campo. Así lo comprobamos al tener durante estos 4 años de estudio tan solo 7 casos que revistieron gravedad.

La lectura espectrofotométrica del líquido amniótico es uno de los métodos más útiles en el estudio de sensibilización por Rh; sin embargo, el procedimiento entraña cierto riesgo para la madre e hijo por lo cual conviene efectuarlo en Centros que tengan experiencia e interpreten adecuadamente las curvas. Una sola punción tiene un valor muy relativo, se aconseja practicar punciones seriadas a partir de la semana 28, de acuerdo a la curva obtenida tal como lo mencionamos en el trabajo.

4. El estudio anterior, nos confirma la utilidad de la gráfica de Liley modificada por Evans para el diagnóstico y pronóstico según el tipo de curva.

5. La prueba de Coombs indirecto guarda cierta relación con la severidad del proceso de isoinmunización, pero no constituye un método adecuado para determinar el grado de eritroblastosis fetal.

6. La incompatibilidad combinada de Rh y Grupo sanguíneo hace que el pronóstico de la entidad se haga más benigno, así lo comprobamos en 14 casos estudiados.

7. Los recambios sanguíneos en la madre demostraron utilidad en 4 de los 6 casos en los cuales se practicó; desconocemos la razón para su utilidad pero recomendamos su uso en aquellos sitios en donde otra terapéutica esté vedada por falta de recursos.

8. El estudio de la bilirrubina del líquido amniótico por medios químicos no demostró utilidad alguna.

9. Las anteriores consideraciones nos hacen concluir que el buen éxito del obstetra en obtener un feto vivo en condiciones satisfactorias para sobrevivir, puede ser alcanzado si se toman en cuenta los procedimientos de que hemos hecho mención, aún sin tener en nuestras manos la facilidad de procedimientos terapéuticos que en otros Centros Hospitalarios se están practicando. No por ello, los debemos olvidar puesto que constituyen la salvación de algunos hijos en ciertos casos en los cuales estarían indicados, pero que en un futuro próximo, posiblemente sean resueltos con los nuevos procedimientos de Inmunología.

10. Sería óptimo que todas las mujeres sensibilizadas fueran asistidas en Centros en los cuales exista un equipo de médicos que conozcan y tengan experiencia en el manejo de estas pacientes.

**Summary**

1. The isoinmunization frequency found at the Hospital Universitario San Ignacio was 0,95%.

2. The severe Rh isoinmunization cases found in this investigation were 4.1%.

3. The real low Rh isoinmunization frequency gives little opportunity for the Obstetrician to acquire a good

experience in this matter. That was proved by having only seven severe cases in the four years that lasted this study.

Spectrophotometric study of the amniotic liquid is one of the most useful methods for studying Rh sensitization; however, the procedure involves a certain risk for mother and child, so it should be made in experienced Centers that can adequately read the curve. Only one puncture has a very relative value, to systematic punctures are recommended, after the 28th week, according to the curve obtained, as it is mentioned in the paper.

4. The preceding study confirms the usefulness of the Liley graphic, modified by Evans, for diagnosis and prognosis according to the curve line.

5. Indirect Coomb's test has a certain relationship with the isoinmunization seriousness, but it is not an adequate method for establishing the level of faetal erythroblastosis.

6. Combined Rh and blood group incompatibility produces a more benign prognosis, as was proved in the fourteen cases studied.

7. The mother's blood reexchanges were useful in four of six cases, in which they took place; we ignore the reason of their usefulness but we recommend its use in places where there are not resources for other type of therapy.

8. The study of bilirubin in the amniotic liquid by chemical means was not useful at all.

9. The preceding considerations bring forth the conclusion that the obstetrician's success in delivering a live faetus in satisfactory survival conditions can be obtained if the pro-

cedures above mentioned are taken into account, even without having all the therapeutical means practised in other Hospitals. Notwithstanding, we should not forget them because they mean life to certain children in some cases, but in the near future, these might be resolved with new forthcoming immunological procedures.

10. It would be excellent that all sensitized women attended centers where there is a group of doctors that have knowledge of this problem and can handle those patients.

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) LILEY, A. W.: Liquiour amni analysis in the management of the pregnancy complicated by rhesus sensitization. *Am. J. Obst. & Gynecol.* 82: 1359, 1961.
- (2) HOWELL, D. y FLOWERS, CH.: Adelantos recientes en el tratamiento de la enfermedad hemolítica del recién nacido. *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas* 7: 945, 1964.
- (3) WALKER, A. H.: Liquour amni-studies in the prediction of Haemolytic disease of the newborn. *Brit. M. J.* 2: 376, 1957.
- (4) WALKER, A. H. y JENNISON, R. F.: Antenatal prediction of haemolytic disease of the newborn. *Brit. M. J.* 2: 1152, 1962.
- (5) BEVIS, D. C. A.: The antenatal prediction of hemolytic disease of the newborn. *Lancet.* 1: 395, 1952.
- (6) EVANS, T. N.: Cuando debe dar a luz una muer Rh sensibilizada? *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas.* 7: 968, 1964.
- (7) FREDA, V. J. y CARTER, B. A.: Sistema ABO de grupos sanguíneos y la relación que guarda con la enfermedad hemolítica. *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas.* 7: 968, 1964.
- (8) LANDSTEINER, K. y WEINER, A. S.: Agglutinatable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 43: 223, 1940.
- (9) BEVIS, D. C. A.: Blood pigments in the hemolytic disease of the newborn. *J. Obst. & Gynec. Brit. Emp.* 63: 68, 1956.

- (10) FREDA, V. J.: The Rh problem in obstetrics and a new concept of its management using amniocentesis and spectrophotometric scanning of amniotic fluid. *Am. J. Obst. and Gynec.* 92: 348, 1965.
- (11) BOGGS, T. R. Jr.: Mortalidad y morbilidad de la enfermedad hemolítica del recién nacido. *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas.* 7: 933, 1964.
- (12) CLOWN, B.: The place of early induction in the management of erythroblastosis fetalis. *Canad. M.A.J.* 7: 252, 1958. Citado por Boggs T. R. Jr., *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas.* 7: 939, 1964.
- (13) SANTAMARIA, L. y AMARIS, A.: Exanguino transfusión materna e isoinmunización. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología.* Vol. 4, 293, 1965.
- (14) MACKEY, E. V. y WATSON, D.: The prognostic value of bilirubin levels of amniotic fluid in the rhesus iso-immunized pregnancies. *M. J. Australia,* 49: 942, 1962.
- (15) LILEY, A. W.: Errors in assessment of hemolytic disease from amniotic fluid. *Am. J. Obst. & Gynec.* 86: 485, 1963.
- (16) MEEISENHIMER, H. R.: Amniotic fluid analysis in prenatal diagnosis of erythroblastosis fetalis. *Obst. & Gynec.* 23: 485, 1964.
- (17) LEVINE, P.: The influence of the ABO system of Rh hemolytic disease. *Human Biolog.,* 30: 14, 1958. Citado por Freda, V. J. y Carter, B. A. *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas.* 7: 968, 1964.
- (18) LEVINE, P.: Profilaxis de la isoinmunización al factor Rh. *Revista El Médico de Colombia.* Año 14 N° 1, Pág. 19, Oct. 1969.