

VALIDACIÓN DEL GENOTIPADO DEL FACTOR RH MEDIANTE TÉCNICAS NO INVASIVAS

J. Muncunill, J. Martínez, C. Ballester, L. González^a, O. Ayllón^b, R. Ruiz de Gopegui^a, A. Vila, A. Gutiérrez, A. Galmés, J. Besalduch

*Servei d'Hematologia i Hemoteràpia, ^aServei d'Obstetrícia i Ginecologia i ^bServei d'Anàlisi Clínic.
Hospital Universitari de Son Dureta. Palma de Mallorca*

Introducción: El descubrimiento de fragmentos de ADN libre de células de origen fetal presentes en el plasma materno ha supuesto un elemento clave en el desarrollo de nuevas técnicas de detección, no invasivas, dirigidas al diagnóstico prenatal. Diferentes estudios demuestran que la sensibilidad de la PCR cuantitativa a tiempo real (RT-PCR) es capaz de identificar fragmentos del gen Rh a partir de las 12 semanas de gestación. En el caso de fetos Rh+ estos fragmentos de ADN se encuentran presentes en el plasma materno de madres Rh-. De esta manera las técnicas no invasivas tienden a sustituir a la técnicas invasivas (biopsia de corion y/o amniocentesis) debido a que presentan un menor riesgo para el feto además de poder ser más precoz el diagnóstico (12 vs 16 semanas de la amniocentesis).

Material y métodos: A fin de validar la técnica, se ha procedido a realizar en cinco embarazadas Rh- de tercer trimestre, cuando las cantidades de ADN circulante procedentes del embrión son mayores, a extraer el ADN libre de células, con el kit de Qiagen Qiaamp DNA Blood, a partir de muestras de 10 ml de sangre periférica en EDTA. Se realiza una RT-PCR multiplex con sondas Taqman en Lightcycler 2.0. La RT-PCR permite amplificar pequeños fragmentos inferiores a 100 pares de bases de ADN pertenecientes a los exones 5 y 7 del gen Rh. Se ha utilizado como controles positivos de la RT-PCR, sangre conocida como Rh+, como control negativo sangre de dos madres Rh- con hijos Rh- y como control blanco agua bidestilada.

Resultados: Se han validado 5 casos de embarazadas Rh-. En dos de ellas el feto resultó Rh+ y en tres Rh- con una fiabilidad total en el grupo Rh. Posteriormente, se procederá a continuar con la validación hasta alcanzar los 3 meses de gestación, donde se pondrá a prueba la potencia de la sensibilidad del método propuesto.

Conclusión: La amplificación de fragmentos de ADN pertenecientes a los exones 5 y 7 del gen Rh a partir del plasma materno de madres Rh- se presenta como un método eficiente y de alta sensibilidad en la predicción del Rh fetal mediante el uso de técnicas no invasivas dentro del diagnóstico molecular. En este trabajo se presenta un estudio de validación mediante RT-PCR multiplex (exones 5 y 7) de la predicción del status Rh fetal de madres RH negativas cercanas al parto a fin de validar la técnica propuesta. En todos los casos estudiados hasta el momento la fiabilidad del método ha sido del 100%.