

Analysis of Titer and Subtypes Antibody in ABO Incompatibility that Causes HDFN

Analisis Titer dan Subtipe Antibodi pada Inkompatibilitas ABO yang Menyebabkan HDFN

Sheila Nurrahmah¹, Heri Wibowo^{2*}, Ria Syafitri Evi Gantini³

¹Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, email: sheila_daras@yahoo.com

²Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, email: bowoheri04@gmail.com

³Unit Transfusi Darah Pusat Palang Merah Indonesia, Diploma 3 Teknisi Bank Darah Akademi Bakti Kemuliaan PMI, email: ria_prihanto@yahoo.com

INFO ARTIKEL

ARTICLE HISTORY:

Artikel diterima: 30 Desember 2021

Artikel direvisi: 26 Januari 2022

Artikel disetujui: 5 Maret 2022

KORESPONDEN

Heri Wibowo

email bowoheri04@gmail.com, Orcid

ID: 0000-0001-7708-5135

ORIGINAL ARTICLE

DOI:

<https://doi.org/10.30989/mik.v11i1.675>

Penerbit:

Universitas Jenderal Achmad Yani
Yogyakarta, Indonesia.

Artikel terbuka yang berlisensi CC-BY-SA.



ABSTRACT

Background: Hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) is a type of anemia in the fetus or newborn. Clinical features of HDFN such as hepatosplenomegaly, liver failure, ascites, at birth die from heart failure to brain damage. One of the most common causes is incompatibility of blood groups such as ABO. Differences in clinical manifestations that occur in HDFN are caused by differences in antibody titers and IgG subtypes.

Objective: The aim of this study was to determine the anti-A and anti-B antibody titers and the types of immunoglobulins that affect HDFN due to ABO incompatibility.

Methods: The sample used in this study was blood and umbilical cord blood from 30 pairs of mother-babies who had different blood groups. Titration examination by tube method and IgG subtype by ELISA method were performed on maternal samples.

Results: The correlation of total bilirubin levels with maternal Anti-A and Anti-B titers are $p=0.023$ and $p=0.001$, in addition there are significant increase in OD of Anti-A IgG1 and Anti-B IgG1 against elevated infant bilirubin levels.

Conclusion: IgG titers >8 causing hyperbilirubinemia, but no jaundice and IgG titers >16 causing hyperbilirubinemia to jaundice. The IgG subtype that plays a more role in causing clinical problems is IgG1.

Keywords: *ABO incompatibility, class and subtypes antibody, hemolytic disease of fetus and newborn, titer antibody.*

ABSTRAK

Latar Belakang: Hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) merupakan jenis anemia pada janin dan bayi. Gambaran klinis dari HDFN seperti anemia, hiperbilirubinemia, *jaundice*, hepatosplenomegali, gagal hati, asites, pada saat lahir meninggal karena gagal jantung hingga kerusakan otak. salah satu penyebab paling umum adalah inkompatibilitas golongan darah seperti ABO. Perbedaan manifestasi klinis yang terjadi pada HDFN disebabkan oleh perbedaan titer antibodi dan subtipe IgG.

Tujuan: Mengetahui titer antibodi anti-A dan anti-B dan jenis imunoglobulin yang mempengaruhi HDFN yang disebabkan inkompatibilitas ABO.

Metode: Sample yang digunakan adalah darah dan darah tali pusat dari 30 pasang ibu dan bayi yang memiliki golongan darah yang berbeda, Pemeriksaan titrasi dengan metode tabung dan subtipe IgG dengan metode ELISA.

Hasil: Terdapat pengaruh yang signifikan titer IgG anti-A $p=0.023$ dan Anti-B $p=0.001$ terhadap kadar bilirubin total, serta terdapat peningkatan OD IgG1 Anti-A dan IgG1 Anti-B yang signifikan terhadap bilirubin bayi.

Kesimpulan: Ibu dengan titer IgG >8 menyebabkan hiperbilirubinemia, tetapi tidak terjadi jaundice dan pada saat titer IgG meningkat menjadi >16 menyebabkan hiperbilirubin hingga jaundice. Subtipe IgG yang lebih berperan hingga menyebabkan masalah klinis adalah IgG1 dan IgG3.

Kata kunci: *hemolytic disease of fetus and newborn, inkompatibilitas abo, kelas dan subtipe antibody, titer antibody.*

PENDAHULUAN

Hemolytic disease of fetus and newborn (HDFN) merupakan jenis anemia pada janin atau bayi baru lahir. Gambaran klinis dari HDFN seperti hepatosplenomegali, gagal hati, asites, pada saat lahir meninggal karena gagal jantung hingga kerusakan otak. HDFN secara etiologis disebabkan oleh non imun dan imun. Penyebab non imun, seperti sel darah merah yang rusak karena infeksi *cytomegalovirus*, toksoplasmosis, sifilis dan beberapa jenis bakteri lain, kelainan bawaan sel darah merah seperti kelainan membran sel darah merah dan enzim, hemoglobinopati, kekurangan *Glucose-6phosphate dehydrogenase* (G6PD) dan *herediter spherocytosis*. Penyebab imun termasuk inkompatibilitas golongan darah (seperi ABO, Rhesus, Kidd, Duffy, Kell) dan penyakit autoimun bawaan.¹⁻³

Inkompatibel ABO merupakan ketidakcocokkan golongan darah ABO antara ibu dan bayi. HDFN terjadi karena ibu memiliki golongan darah O dengan janin yang memiliki golongan darah A/B, sistem imun ibu mengidentifikasi sel darah merah janin sebagai benda asing dan membuat antibodi yang spesifik. Antibodi tersebut masuk ke tubuh janin dan melisis sel darah merah sehingga menyebabkan anemia, penyakit kuning, hiperbilirubin, pada kasus yang parah dalam menyebabkan kerusakan otak yang fatal.⁴

Terdapat 3 cara aloimunisasi pada ibu hamil yang dapat menyebabkan ibu menghasilkan antibodi IgG, yakni paparan lingkungan terhadap zat-zat seperti antigen ABO yang terdapat dialam, pendarahan fetomaternal yang menyebabkan sel darah merah janin dari kehamilan sebelumnya masuk ke sirkulasi darah ibu dan sensitisasi ibu

untuk menghasilkan antibodi IgG anti-ABO, selain itu juga karena transfusi darah yang inkompatibel ABO.⁵

HDFN karena inkompatibel ABO dapat terjadi pada kehamilan pertama, berbeda dengan HDFN inkompatibel Rhesus yang biasanya terjadi pada kehamilan berikutnya. Bayi yang lahir dari ibu yang inkompatibel golongan darah ABO tidak semua mengalami abortus, manifestasi klinis yang umum terjadi yakni hiperbilirubinemia. Bhat dan Kumar menemukan dari 878 kelahiran, 151 diantaranya bayi yang lahir dari inkompatibel ABO dan 46 bayi yang mengalami hiperbilirubinemia, akan tetapi terdapat 25 bayi yang darahnya terjadi hemolisis pada saat diperiksa di laboratorium.⁶ Yahya, et al pada tahun 2017 melakukan penelitian di RS Dr. Hasan Sadikin Bandung pada 95 bayi baru lahir, terjadi hiperbilirubinemia pada 11.6% bayi yang disebabkan oleh inkompatibel ABO.⁷

Perbedaan manifestasi klinis yang terjadi pada HDFN disebabkan oleh perbedaan titer antibodi dan subtipe IgG, akan tetapi terdapat perbedaan pada setiap etnik.⁸⁻¹⁰ Penelitian yang dilakukan Bakkeheim, et al tahun 2009 di Norway, menyebutkan bahwa titer IgG antibodi anti-A dan anti-B ibu yang dapat memprediksi terjadi HDFN jika titernya ≥ 512 ,¹¹ akan tetapi Akanmu et al melakukan penelitian di Lagos jika titer antibodi A dan B 8 sudah dapat menyebabkan HDFN pada 4.3% kelahiran dari inkompatibel ABO.¹²

Antibodi yang dapat melewati plasenta hanya antibodi kelas IgG, akan tetapi IgG memiliki 4 subtipe yang berbeda, yakni IgG1, IgG2, IgG3 dan IgG4. Subtipe IgG memiliki kemampuan yang berbeda untuk menghancurkan sel darah merah, IgG1 dan IgG3 memiliki kemampuan untuk berikatan dengan Fc-reseptor sel fagosit dan dapat

menyebabkan hemolisis, akan tetapi IgG3 memiliki kemampuan yang lebih dibandingkan dengan IgG1.⁹

Berbagai macam penelitian yang telah dilakukan tentang titer dan subtipe antibodi IgG yang telah dilakukan di beberapa Negara asing, namun di Indonesia belum diketahui titer antibodi dan subtipe IgG yang mempengaruhi terjadinya HDFN. Sehingga pada penelitian ini akan dilakukan pemeriksaan titer antibodi dan subtipe IgG nya untuk mengetahui patofisiologinya di Indonesia.

BAHAN DAN CARA PENELITIAN

Subjek yang termasuk adalah ibu dan bayi yang berbeda golongan darah dengan usia kehamilan 36 sampai dengan 40 minggu.

Penelitian ini telah lulus kaji etik Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel darah ibu sebanyak 5 cc dilakukan, lalu dipisah menjadi 2 tabung (tabung EDTA dan tabung plain) serta pengambilan darah talipusat bayi sebanyak 3 cc.

Pemeriksaan Titrasi IgG

Pemeriksaan titer IgG dengan titrasi metode tabung.

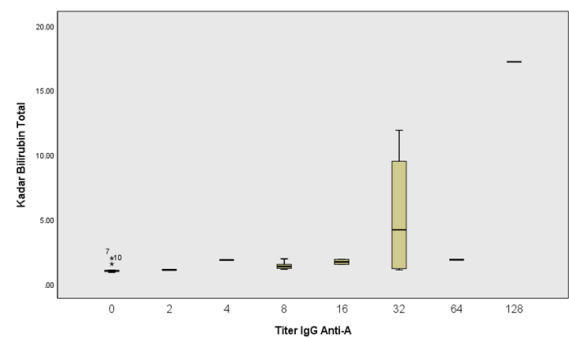
Deteksi Subtipe IgG

Deteksi subtipe IgG menggunakan metode indirect ELISA. menggunakan sistesis antigen yakni *Blood Type A dan B BSA* dari *Dextra Laboratories* serta *Mouse anti human IgG1, IgG3 dan IgG4* dari *Invitrogen* (MH1715, MH1732,

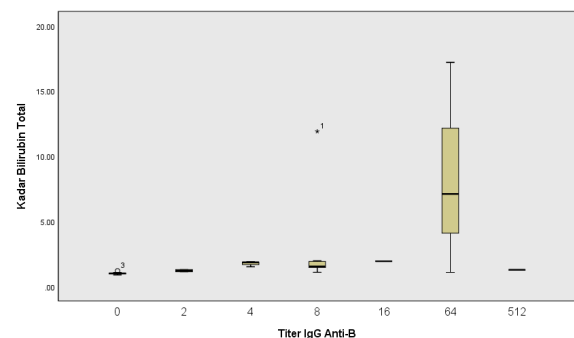
MH174). OD dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan titrasi antibodi ini untuk mengetahui titer anti-A dan anti-B ibu. Hasil dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

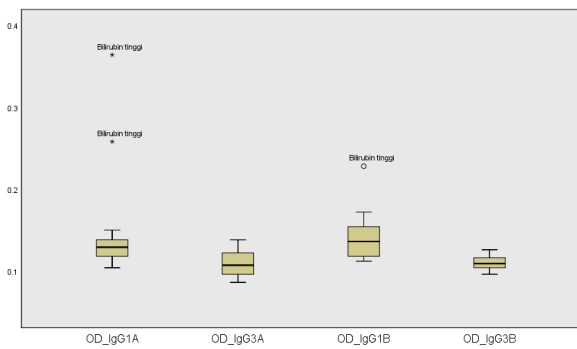


Gambar 1. Korelasi Titer IgG Anti-B dengan Kadar Bilirubin



Gambar 2. Korelasi Titer IgG Anti-B dengan Kadar Bilirubin

Hasil analisa pada Gambar 1 dan 2 dapat disimpulkan bahwa kadar bilirubin pada subjek bayi yang lahir pada kelompok dengan ibu yang memiliki titer Anti-A dan anti-B yang tinggi menunjukkan kadar bilirubin meningkat signifikan dan berlanjut dengan ibu yang memiliki titer anti-A dan anti-B yang lebih rendah tidak mengalami kenaikan yang signifikan. Sehingga dapat diketahui terdapat pengaruh kadar bilirubin total terhadap titer Anti-A dan Anti-B ibu ($p=0.023$ dan $p=0.001$).



Gambar 3. Korelasi OD IgG1 Anti-A, IgG3 Anti-A, IgG1 Anti-B dan IgG3 Anti-B dengan Kadar Bilirubin Hasil analisa Gambar 3, dimana terdapat peningkatan OD IgG1 anti-A dan IgG1 anti-B yang signifikan terhadap kadar bilirubin bayi yang tinggi.

HDFN terjadi karena sel darah merah bayi masuk ke sirkulasi darah ibu, sehingga menginisiasi sistem imun ibu untuk teraktifasi yang dimediasi oleh limfosit. Sel T helper ibu berinteraksi dengan MHC kelas II yang diekspresikan oleh sel darah merah bayi. Setelah interaksi awal, sel T helper menginisiasi limfosit B untuk merangsang respon imun humoral.¹⁰ Antibodi pertama yang diproduksi adalah IgM sebagai respon primer terhadap antigen dan terbentuk pada periode 4 minggu hingga 3 bulan. Selama respon imun sekunder terdapat peralihan kelas IgM menjadi IgG.¹³

Antibodi yang dapat melewati plasenta hanyalah IgG, transfer IgG dimediasi oleh reseptor neonatal (FcRn).¹⁴ Immunoglobulin diangkut oleh FcRn dari sinsitiotrofoblas yang juga melindungi IgG dari katabolisme protein serum normal. Pada trimester pertama, transfer lebih sedikit, namun meningkat secara eksponensial pada trimester kedua dan ketiga. Konsentrasi rata-rata pada janin pada minggu ke-24 kehamilan adalah 1.8 g/dL. Tingkat antibodi IgG lebih tinggi pada janin dari pada ibu menjelang aterm. Meskipun keempat

subkelas IgG dapat melewati plasenta, IgG3 dan IgG1 lebih efisien dalam hemolisis sel darah merah daripada IgG2 dan IgG4.¹⁵

Titer IgG ibu dari bayi yang memiliki hiperbilirubinemia tetapi tidak terjadi *jaundice* adalah <32 dan titer ibu dari bayi yang memiliki hiperbilirubinemia serta terjadi *jaundice* adalah ≥ 32 . Titer IgG anti-A dan anti-B yang dimiliki ibu dari bayi yang memiliki hiperbilirubinemia hingga *jaundice* dari penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Dharmayani, et al di Indonesia dan Akmu, et al di Lagos yakni 8 sudah dapat menyebabkan HDFN pada 4.3% kelahiran dari inkompatibel ABO,^{12,15} akan tetapi hasil titer dari penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Usha dan Sulochana di India¹⁶ serta Ye et al.¹⁷ Bao et al melakukan penelitian di Cina, jika ibu memiliki titer IgG Anti-A dan Anti-B ≥ 32 maka akan beresiko terjadi HDFN.¹⁸ Penelitian lain juga dilakukan di Cina oleh Li et al di Cina dan Bakkeheim di Norway menyimpulkan jika titer IgG ibu ≥ 512 berasosiasi dengan *jaundice* pada bayi.^{11,19} Hal tersebut terjadi karena titer IgG ibu cenderung meningkat pada trimester ketiga kehamilan. Oleh karena itu, pemeriksaan antenatal titer IgG anti-A dan anti-B ibu dapat secara signifikan memprediksi terjadinya HDFN-ABO, meskipun hal itu juga tergantung faktor lain seperti densitas plasenta, antigen permukaan sel darah merah dan sub tipe IgG.¹¹

IgG1 ditemukan lebih dominan pada ibu dengan bayi hiperbilirubinemia yang disertai dengan *jaundice*. Hasil penelitian ini mirip dengan penelitian yang dilakukan Zhou et al di Cina,

mereka menemukan ibu dengan titer lebih dari 64 dan konsentrasi subtype IgG1 dan IgG3, khususnya IgG1 secara signifikan mempengaruhi HDN-ABO.²⁰ Studi yang berbeda dilakukan oleh Kaplan et al di California dengan menggunakan sampel darah tali pusat bayi, mereka menyimpulkan identifikasi subtype IgG pada darah tali pusat tidak memprediksi terjadinya hemolisis pada inkompatibilitas ABO pada bayi.²¹

Konsentrasi subtype IgG sangat bergantung pada usia janin dan transport aktif melewati plasenta. Konsentrasi IgG1 lebih dulu naik daripada IgG3 pada usia kehamilan, terjadi peningkatan rasio IgG1, IgG3 dan IgG4 pada trimester ketiga. Konsentrasi IgG2 pada darah tali pusat mengalami defisiensi, karena Fc-reseptor di sel sinsitotrofoblas di jaringan plasenta berikatan dengan IgG1 dengan afinitas yang lebih kuat daripada dengan IgG2.²²⁻²³

KESIMPULAN

Titer IgG ibu >8 menyebabkan hiperbilirubinemia, tetapi tidak terjadi gejala klinis *jaundice*. Titer IgG ibu >16 menyebabkan hiperbilirubinemia dan juga *jaundice*. Subtipe IgG yang lebih berperan hingga menyebabkan masalah klinis adalah IgG1.

TERIMA KASIH

1. UKK PPM Laboratorium Terpadu Universitas Indonesia.
2. Unit Transfusi Darah Pusat Palang Merah Indonesia.

3. Departemen kebidanan dan anak RSUP Nasional Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta.
4. RS Budi Kemuliaan Jakarta.

KEPUSTAKAAN

1. Fasano RM. *Hemolytic disease of the fetus and newborn in the molecular era*. Semin Fetal Neonatal Med 2016; 21(1): 28-34.
2. Watchko JF. *Common hematologic problems in the newborn nursery*. Pediatr Clin North Am 2015; 62(2): 509-24.
3. De Haas M, Thurik FF, Koelewijn JM, Van der Schoot CE. *Haemolytic disease of the fetus and newborn*. Vox Sang. 2015; 109: 99-113.
4. Delaney M, Matthews DC. *Hemolytic disease of the fetus and newborn: managing the mother, fetus, and newborn*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2015; 2015: 146-51.
5. Erhabor O. *Haemolytic disease of the foetus and new born due to ABO blood group incompatibility between mother and their babies in specialist hospital sokoto, Nigeria*. SF Obstet Women Health J. 2018; 1(2): 1-6.
6. Bhat YR, Kumar CGP. *Morbidity of ABO haemolytic disease in the newborn*. 2012; 32(2): 93-6.
7. Yahya N, Yuniati T, Lubis L. *Characteristics of neonatal hyperbilirubinemia at west java's top referral hospital, Indonesia*. AMJ. 2017; 4(2):167-71.
8. Watchko JF. *Common Hematologic Problem in The Newborn Nursery*. Pediatr N AM. 2015; 62 (2): 509-24.
9. Hunt, Js, Baeck ML, Hardman JT, Tegtmeier GE, Byer W. *Characterization of human erythrocyte alloantibodies by IgG subclasses and monocyte interaction*. In. Ukita M, Takahashi A, Nunotani T, Kihana T, Watanabe S, Yamada N. *IgG subclasses of anti-A and anti-B antibodies bound to the cord red cells in ABO incompatible pregnancies*. Vox Sang. 1989; 56: 181-86.
10. Brouwers HA, Overbeeke MA, van Ertbruggen I, Schaasberg W, Alsbach GP, van der Heiden C, et al. *What is The Best Predictor of The Severity of ABO-Haemolytic Disease of*

- The newborn?* Lancet Lond Engl. 1988 Sep 17;2(8612):641–4.
11. Bakkeheim E, Bergerud U, Schmidt-Melbye AC, Akkök ÇA, Liestøl K, Fugelseth D, et al. *Maternal IgG anti-A and anti-B titres predict outcome in ABO-incompatibility in the neonate.* Acta Paediatrica. 2009; 98: 1896-901.
 12. Akanmu AS, Oyedeji OA, Adeyemo TA, Ogbenna AA. *Estimating the risk of ABO hemolytic disease of the newborn in Lagos.* J Blood Transfus. 2015; 2015: 560738.
 13. Klein GH, Anstee D. *Mollison's blood transfusion in clinical medicine.* 12th ed. UK: Wiley.
 14. Schur PH. *IgG subclasses. A Historical Perspective.* Monogr Allergy. 1988;23:1–11
 15. Dharmayani D, Gatot D, Rohsiswatmo R, Tridjaja B. *Serological Profile and Hemolytic Disease in Term Neonates with ABO Incompatibility.* Paediatr Indones. 2009 Aug 31;49(4):219–23.
 16. Usha KK, Sulochana PV. *Detection of High Risk Pregnancies with Relation to ABO Haemolytic Disease of Newborn.* Indian J Pediatr. 1998 Dec;65(6):863–5.
 17. Ye HH, Huang HH, Wang XL, Pi YJ. *Analysis of Correlation between IgG Titer of Pregnant Women and Neonatal Hemolytic Complications of Different Blood Groups.* Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2017; 25(5): 1532-1536.
 18. Bao R, Wang S, Yang Q. *Clinical Study of The Relationship between Prenatal Antibody Titer and Hemolytic Disease of Newborn.* Int J Clin Exp Med 2017;10(1):1637-1642.
 19. Li P, Pang LH, Liang HF, Chen HY, Fan XJ. *Maternal IgG anti-A and anti-B titer levels screening in predicting ABO hemolytic disease of the newborn: a meta-analysis.* Fetal Pediatr Pathol. 2015; 34: 341–50.
 20. Chen JY, Ling UP. *Prediction of the Development of Neonatal Hyperbilirubinemia in ABO Incompatibility.* Zhonghua Yi Xue Za Zhi Chin Med J Free China Ed. 1994; 53(1): 13–8.
 21. Kaplan M, Merlob P, Regev R. *Israel Guidelines for The Management of Neonatal Hyperbilirubinemia and Prevention of Kernicterus.* J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc. 2008; 28(6): 389–397.
 22. Wu Q, Zhang Y, Liu M, Wang B, Liu S, He C. *Correlation of Fc(gamma)RIIa (CD32) Polymorphism and IgG Antibody Subclasses in Hemolytic Disease of Newborn.* Neonatology. 2009 ;96(1): 1–5.
 23. Leger RM. *In Vitro Cellular Assays and Other Approaches Used to Predict The Clinical Significance of Red Cell Alloantibodies: A Review.* Immunohematology. 2002; 18(3): 65–70.