

71

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

TITULACION DE ANTICUERPOS NATURALES EN
DONADORES POTENCIALES DE SUEROS ANTI-A
Y ANTI-B.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A

MA. DE LA CONCEPCION MARGARITA CAYON Y LOPEZ

1 9 7 5



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

	PRASIDENTE	Marilena Acosta Segura
	VOCAL	Arnestina Callesteros Rueda
Jurado asignado	SECRETARIO	Socorro Cao Romero Martínez
	1er.SUPLENTE	Carmen Reyna Bordes
	2do.SUPLENTE	Guillermo Rendón

Sitio donde se desarrolló el tema: Banco de Plasma de la División Travenol

Nombre completo y firma del sustentante: Ma. de la Concepción Margarita Cayón y López

Nombre completo y firma del asesor del tema: Marilena Acosta Segura

Nombre completo y firma de supervisor: Dr. Miguel Coronado

Agradezco al Dr. Rafael Coronado G.
la ayuda prestada para la realiza-
ción del presente trabajo.

A MIS PADRES

A MIS ABUELOS

A MI ESPOSO E HIJOS

A MIS HERMANOS

A MIS MAESTROS

INTRODUCCION.-

En la preparación de sueros tipificantes estandarizados y estabilizados para el comercio es indispensable la utilización de sujetos cuya capacidad para responder a la inmunización nos proporcionen sueros con títulos suficientemente elevados.

Estos sueros generalmente se preparan inmunizando personas con sustancia de grupo específicas para provocar una respuesta inmune, después se extrae de la sangre de los donadores el suero y mediante un proceso específico de purificación se obtienen los sueros tipificantes para los diversos grupos sanguíneos.

Actualmente no existe una manera de predecir quienes son sujetos cuyos sueros después de la inmunización contengan títulos suficientemente elevados y quienes no.

En un principio se inmunizaba a cualquier persona, pero se observó que no todos reaccionaban de la misma manera, por lo que pensamos estudiar la base del problema, investigando cual es el título de anticuerpos naturales presentes en los donadores que pretendíamos inmunizar, para demostrar si existía alguna relación entre el título basal de anticuerpos y la respuesta al estímulo.

Este trabajo de tesis trata de establecer la --

relación que puede existir entre el título inicial y la respuesta a la inmunización. Pensando que sería de gran utilidad para el futuro poder predecir con exactitud quienes son los sujetos mas adecuados para producir los sueros tipificantes.

CAPITULO I

GENERALIDADES

- a) Anticuerpos naturales
- b) Inmunocorpusculos

GENERALIDADES.-

En 1875 Landois descubrió que cuando mezclaba e ritrocitos de un animal como por ejemplo un borrego con el suero de otro animal como el perro e incubaba la mezcla a -- 37 ° C, los eritrocitos eran lisados en dos minutos. Un cuarto de siglo después se descubrieron diferencias serológicas en la sangre de diferentes miembros de una misma especie. Erlich y Morengroth (1900) encontraron que inyectando eritrocitos de una cabra a otra cabra se podía provocar la formación de anticuerpos hemolíticos (isohemolisinas) y Landstainer (1900 1901) (3) encontró que en los seres humanos existían anti--- cuerpos naturales (isoaglutininas) que podían reaccionar con eritrocitos de otros seres humanos. Así fue como se descu--- brieron los grupos ABO. En 1928 Landstainer y Levine encon--- traron tres nuevos antígenos humanos, produciendo inmunoanti--- cuerpos contra estos antígenos inyectando diferentes mues--- tras de eritrocitos en conejos. Al primero de estos tres an--- tígenos le llamaron M para indicar que se habían identifica--- do con sueros inmunes, de la misma manera descubrieron el --- grupo N y S.

El factor Rh fue descubierto mas tarde por Landstainer y Weinwer(1940-1941) (4) de un modo semejante al de

los grupos anteriores, ellos buscaban un antígeno similar -- que estuviera presente en los glóbulos rojos del mono rehsus y los glóbulos rojos del hombre y tuvieron éxito.

La mayoría de los otros sistemas de grupos sanguíneos fueron descubiertos al encontrar inmunoanticuerpos - en las madres o en los niños con padecimiento hemolítico, así como en pacientes que habían recibido transfusiones múltiples.

En la tabla No. 1 se esquematiza el descubrimiento de los principales sistemas de grupos sanguíneos.

ANTICUERPOS.-

Los anticuerpos están constituidos por proteínas conocidas como globulinas, de las cuales las principales son: IgG, IgA e IgM.

Los anticuerpos de los grupos sanguíneos pueden dividirse en dos grandes categorías:

Tabla 1.- Descubrimiento de los principales sistemas de grupos sanguíneos

Grupo Sanguíneo		Primeros ejemplos de anticuerpos de un sistema definido		
Nombre	Año en que se descubrió	Encontrado en el suero de	Detectado por:	
			Aglut.de erit.en sol.salina	Prueba de la anti-globulina
ABC Lewis (Le)	1901 1946	Sujetos normales	Si	-
MNS P	1926 1926	Conejos inyectados con eritrocitos humanos	Si	-
Rh (Rh)	1941	a) Conejos y cobayos inyectados con eritrocitos de mono rhesus b) Madres de hijos - con enfermedad hemolítica de recién nacido.	Si Si	- -
Lutheran (Lu)	1945	Pacientes transfundidos	Si	-
Kell (K) Duffy (Fy) Kidd (JK) Diego (Di) YT Aubenger (Au) Xg Lombrock	1946 1950 1951 1955 1956 1961 1962 1965	Pacientes transfundidos o en madres con hijos con enfermedad hemolítica del recién nacido	No	Si
I	1956		Si	

La prueba de antiglobulina fue introducida en 1946
- no se ha hecho

ANTICUERPOS	}	Naturales	{ Se encuentran en sujetos que no han recibido un estímulo antigénico
		Immunes	{ Se encuentran en sujetos que han recibido un estímulo antigénico. Como una transfusión sanguínea y en la isoimmunización materno-fetal.

Los anticuerpos naturales residen en la IgM tratándose de los sueros del grupo ABO en tanto que los anticuerpos naturales frente a los demás grupos residen en la IgA, los anticuerpos inmunes fundamentalmente residen en la IgG. Una diferencia importante desde el punto de vista clínico es que la IgG pueden atravesar la barrera placentaria mientras que las demás no pasan la barrera placentaria, así que solamente las IgG son capaces de producir un daño al feto.

El comportamiento serológico de las IgG, IgA e IgM son diferentes; Las IgM aglutinan los eritrocitos en solución salina mientras que las IgG no pueden aglutinar los eritrocitos en solución salina y por esto se les dice incompletos.

El término incompleto fué introducido en 1940 -

por Pappenheimer (7) para los anticuerpos de caballo contra ovalbúmina que no producían una precipitación visible pero que inhibían la reacción de un suero precipitante. Este término se introdujo en los grupos sanguíneos en 1944 por Race (8) para describir el comportamiento de los anticuerpos en el sistema Rh que no podían aglutinar las células Rh positivas suspendidas en solución salina pero que bloqueaban la aglutinación subsecuente de eritrocitos con sueros aglutinante anti-Rh.

ANTICUERPOS NATURALES.-

Se dice que un anticuerpo es natural si se encuentra en el suero de un individuo que no ha tenido contacto con el antígeno específico. Los mas comunes y mejor conocidos son el anti-A y el anti-B. Pero se encuentran anticuerpos naturales en otros sistemas de grupos sanguíneos.

Los anticuerpos naturales reaccionan mejor a temperaturas inferiores a la temperatura del cuerpo humano, y muchos de estos anticuerpos son inactivos a mas de 25°C.- Algunos de estos anticuerpos se unen al complemento, esta propiedad parece que esta asociada a la especificidad de grupo.

En la enfermedad hemolítica del recién nacido se ha demostrado que existe una reacción de hipersensibilidad de tipo citotóxico.

Quando un antígeno esta presente en la superficie de la célula, la combinación con el anticuerpo refuerza la destrucción de la célula promoviendo el contacto con los fagocitos ya sea por la reducción de la carga de la superficie, o por opsonización directamente através del Fc ó bien - por la inmunoadherencia por la unión C3. La muerte de la célula puede también ocurrir mediante la activación del sistema completo del complemento hasta C3 y C9 produciéndose daño directo a la membrana. Aunque en el caso de los anticuerpos hemolíticos, la simple activación de un sitio del complemento es suficiente para causar la lisis del eritrocito, otras células parecen tener mecanismos que contrarrestan esta acción por lo que se necesitan de varios sitios activos del complemento para abatir éstos.

Esta reacción de hipersensibilidad de tipo citotóxico se muestra gráficamente en la figura No.1.

Algunos autores proponen que los anticuerpos naturales anti-A y anti-B en realidad son heteroaglutininas producidas como una respuesta inmune a sustancias antigénicas similares a las sustancias de los grupos sanguíneos humanos. Así sabemos que las bacterias contienen una sustancia muy semejan

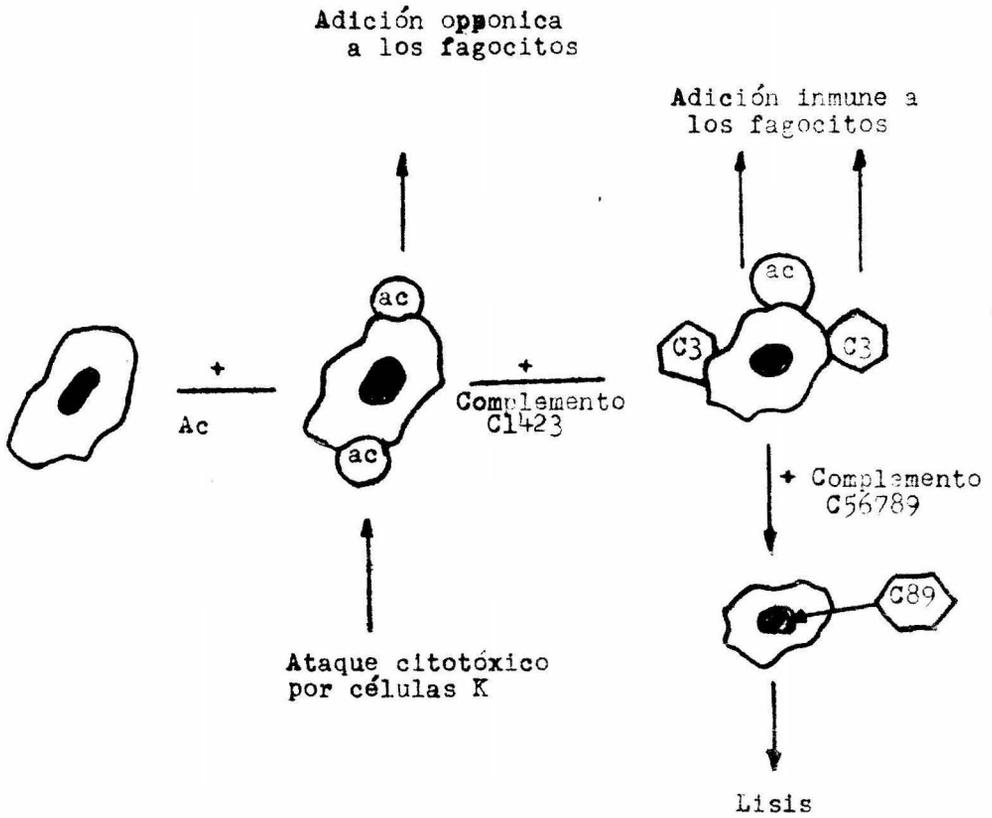


Fig.1.- Hipersensibilidad de tipo citotóxico.

te a la sustancia A y B y dichos antígenos pueden ser inala--
dos o ingeridos.

Aunque el estímulo de la formación de las agluti--
ninas se adjudica al ambiente. Springer et. al. (1959) (9) a--
puntan que la respuesta depende de factores de tipo genético.

Es difícil considerar como se forman los anti--
cuerpos anti-A y anti-B ya que existen dos clases de anticuer--
pos naturales: crioanticuerpos que son IgM y los inmunoanti--
cuerpos (IgG, IgA e IgM). Parece posible que una cantidad de
células específicas están involucradas en la formación de los
anticuerpos naturales y estas células no son estimuladas por
algún antígeno.

Los anticuerpos naturales parece que estan in---
fluenciados por las variaciones de las estaciones. Se han he--
cho unas cuantas observaciones en el hombre por Stone y Sahw
(10) y ellos encontraron que las isoaglutininas anti-A y anti-
B eran mas bajas en el mes de Febrero y Junio con un promedio
de título de 1:16 y estaban en su máximo en el mes de Agosto
con un título de 1:512.

En la tabla No. 2 se muestran las principales
características de las inmunoglobulinas.

Tabla 3.- Las principales inmunoglobulinas

	IgG	IgA	IgM
Comportamiento serológico como anticuerpos frente a los eritrocitos	Anticuerpos incompletos lisis por activación del complemento.	Anticuerpos completos e incompletos	Anticuerpos completos (aglutininas)
Estímulo antígeno por:	Transfusión o embarazo	Transfusión o embarazo	Frecuentemente son anticuerpos naturales
Atraviesa la barrera placentaria	si	no	no
Vida Media	23 días	5.1 días	5.3 días
Concentración normal en suero mg/100 ml adulto (IGN valor para México)	300-1500 3050-17250 U.I./ml	100-350 5059-20325 U.I./ml	70-150 8050-17250 U.I./ml
Concentración normal en plasma mg/100 ml (recién nacido)			
Forma molecular	$\gamma_2 \kappa_2$ ó $\gamma_2 \lambda_2$	$\alpha_2 \kappa_1$ ó $\alpha_2 \lambda_1$	$(\mu_2 \kappa_2)_5$ ó $(\mu_2 \lambda_2)_5$
Peso molecular	140,000	170,000 + polímeros	900,000- 1,000,000 + polímeros
Movimiento electroforético	γ lenta	β lenta	β lenta
Disolución en agua	Soluble	Soluble	Insoluble (aglutulina)
Contenido de Carbohidratos	2.9%	7.5%	11.8%
Capacidad Gm(en la cadena H)	Si	No	No
Inmunogenética(en la cadena H)	Si	Si	Si
Reacción de los anticuerpos con tratamiento con SH 2 en pH 7	No	parcial	Si

INMUNOANTICUERPOS.-

Se entiende por inmunoanticuerpos los encontrados en sujetos en los cuales se sabe de antemano que han recibido un estímulo antigénico, ya sea por una transfusión o bien por isoimmunización materno-fetal.

En condiciones normales la mujer embarazada no presenta complicaciones durante la gestación, sin embargo si llegará a existir un traumatismo y por alguna causa pasara sangre del feto a la madre, si son de diferente grupo sanguíneo la madre recibirá un estímulo antigénico. En el momento del parto, en los embarazos normales es cuando pasa sangre del niño al torrente circulatorio de la madre y es en este momento cuando recibe el estímulo antigénico.

Para evitar este estímulo antigénico en el caso del grupo Rh (D) antes de que transcurran 72 hrs. del parto deberá aplicarse el suero anti-D. Estos anticuerpos neutralizan a los eritrocitos fetales y consecuentemente se anula el estímulo antigénico. Esto mismo deberá hacerse en caso de aborto.

En el caso de los grupos A y B esta neutralización se lleva a cabo mediante los anticuerpos naturales anti-A y/o anti-B presentes en el suero materno.

Después del estímulo con un antígeno de grupo

sanguíneo, el primer anticuerpo que se produce será IgM después se produce IgG y posteriormente la inmunoglobulina que predomina en el suero sera la IgG. Este patrón de respuesta es el mas común en el sistema Rh pero no es el mismo en todos los sistemas de grupos sanguíneos. Por ejemplo en el sistema ABO la respuesta depende del receptor de que se trate, en los grupos A y B tienden a formarse IgM predominantemente, mientras que en los sujetos del grupo O se forma IgG asi como IgM anti-A y anti-B. En el sistema Lewis los immunoanticuerpos casi invariablemente son IgM y después de este estímulo no se produce IgG.

Se sabe muy poco acerca de la producción de anticuerpos con relación a la IgA.

Los anticuerpos contra antígenos polisacáridos persisten con un título elevado por muchos meses después de la inyección del antígeno.

Allen y Kabat (1958) (2) inyectaron subsecuente mente sustancia porcina A o una mezcla de sustancia porcina A y sustancia A y B de caballo dos días consecutivos a hombres voluntarios del grupo O y B. Inicialmente hubo un aumento del título equivalente a 20 veces la cantidad de nitrógeno precipitable. En algunos sujetos este nivel se mantuvo de 2 a 3 meses.

En todos los sujetos la concentración de anticuerpos decayó a un nivel estable al término de dos años pero este nivel era 4 ó 5 veces mayor que antes de la inmunización.

CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS.-

MATERIAL BIOLÓGICO.-

El presente trabajo se efectuó en un grupo de donadores profesionales normales del sexo masculino y femenino, dentro de las especificaciones que marcan los reglamentos de la Secretaría de Salubridad y Asistencia, a saber: mayores de 18 años y menores de 56, con un peso mínimo de 60Kg en el momento de la donación, sin antecedentes clínicos de hepatitis y paludismo, con reacciones para brucelosis, sífilis y hepatitis por suero homólogo negativos. Con una concentración de hemoglobina de 12 g/100ml y por ser donadores profesionales se les permite dar 500 ml de sangre total cada 36 días como máximo.

A cada donador con estas características se le tomó una muestra de sangre de 3 a 5 ml con 1 ó 2 gotas de anticoagulante.

Posteriormente y a pesar de conocer los grupos sanguíneos de los donadores por medio de sus expedientes, se procedió a retipificar a cada una de las muestras y a centrifugarlas para separar el plasma sobrenadante donde se efectuó la prueba de titulación de anticuerpos naturales.

Cada día se estudiaron cuatro muestras de cada uno de los grupos A, B y O, o mínimo 2 muestras, si no se juntaban las cuatro de cada grupo, como sucedió en ocasiones - con el grupo B. Siempre se exigió que la muestra de plasma no presentara hemolisis ni lipemia.

EQUIPO.-

Centrífuga modelo "SERO-FUGE" de velocidad constante a 2000 rpm.

Lámpara con iluminación lateral.

MATERIAL.-

Tubos de centrífuga de 15 ml.

Tubos de ensaye de 12 x 75 mm.

Pipetas de 0.1 ml divididas en 1/100 y 1/1000.

Gradilla para tubos de 12 mm de Ø.

REACTIVOS.-

EDTA en solución al 5%.

Solución salina isotónica.

Suspensión al 5% de eritrocitos tipo A, B y A₁B

PREPARACION DE REACTIVOS.-

EDTA.- Se pesan 5 g de EDTA se ponen en un matríz aforado de 100 ml y se afora con agua destilada hasta la marca.

Solución salina isotónica.- 0.9g de NaCl se ponen en un matríz aforado de 100 ml y se afora con agua destilada hasta la marca.

Suspensiones de eritrocitos.- Los eritrocitos que se usaron siempre fueron recolectados el mismo día o sea "frescos" Se retipificaron y se lavaron con solución salina un mínimo de 3 veces según el aspecto del sobrenadante y se utilizaron a una concentración del 5%.

METODO.-

1.- Preparación de las diluciones:

a) Se rotularon 10 tubos de 12x75mm en forma progresiva del 1 al 10.

b) Con una pipeta de 0.1 ml se colocó en cada tubo 0.1 ml de solución salina isotónica.

c) Al tubo No.1 se le agregó 0.1 ml de plasma problema. Agitando suavemente para obtener una mezcla homogénea.

d) Del tubo No. 1 se tomó una alícuota de 0.1 ml y se pasó al tubo No2. Se agitó suavemente y se tomó otra alícuota de 0.1 ml y se paso al tubo No 3 y así sucesivamente obteniendose diluciones en incrementos de dos.

e) Se conservó la última alícuota de 0.1 ml por si era necesaria una mayor dilución.

2.- Reacción.-

a) Una vez obtenidas las diluciones de los -- plasmas, se agregó 0.1 ml de las suspensiones de eritrocitos correspondientes.

- b) se agitaron suavemente para su mezcla.
- c) Se centrifugaron a 2000 rpm durante 20 seg.
- d) Se procedió a leer contra una fuente de luz.
- e) Se dejaron los tubos en reposo durante 15 min.

a temperatura ambiente.

f) Se recentrifugaron a 2000 rpm 20 seg.

g) Para comparar los resultados una segunda persona volvió a leer las reacciones.

3.- Interpretación.-

a) La aglutinación se valoró en una escala de 1 a 4 cruces.

b) Se consideró como positiva la reacción de un tubo cuando era de 2 cruces en adelante.

c) La mayor dilución en la que se observó aglutinación clara (2 cruces). Se consideró como el título de anticuerpos presentes en el suero.

NOTA.-

Las muestras con títulos superiores a 1:256 se le determinó anticuerpos anti-Rh y se les sometió a una prueba de "Panel", con células del grupo 0 que en conjunto poseían los 32 antígenos sanguíneos más conocidos y se les determinó anticuerpos inmunes de grupo por titulación y bloqueo de anticuerpos naturales con sustancia de Witebsky. Encontrándose en

en 12 casos la presencia de éstos como causa del título elevado. Por este motivo no se incluyeron en el trabajo. Ya que la presencia de inmunoanticuerpos hizo suponer que se trataba de personas transfundidas o con problemas de inmunización materno-fetal.

CAPITULO III

R E S U L T A D O S

Tabla 1.- Algunas características de la población estudiada

	GRUPO SANGUINEO		
	A	B	O
Mujeres	176	141	202
Hombres	88	85	65
TOTAL	264	226	267

Tabla 2.- Frecuencia de Títulos obtenidos en cada grupo sanguíneo.

Título	A	B	O
1:1	2	7	-
1:2	4	6	1
1:4	13	25	1
1:8	55	54	19
1:16	69	68	51
1:32	61	42	72
1:64	56	21	83
1:128	4	2	38
1:256	-	1	1
1:512	-	-	-
1:1024	-	-	1

Tabla 3.- Frecuencia de títulos obtenidos en el grupo ▲ en Hombres y Mujeres.

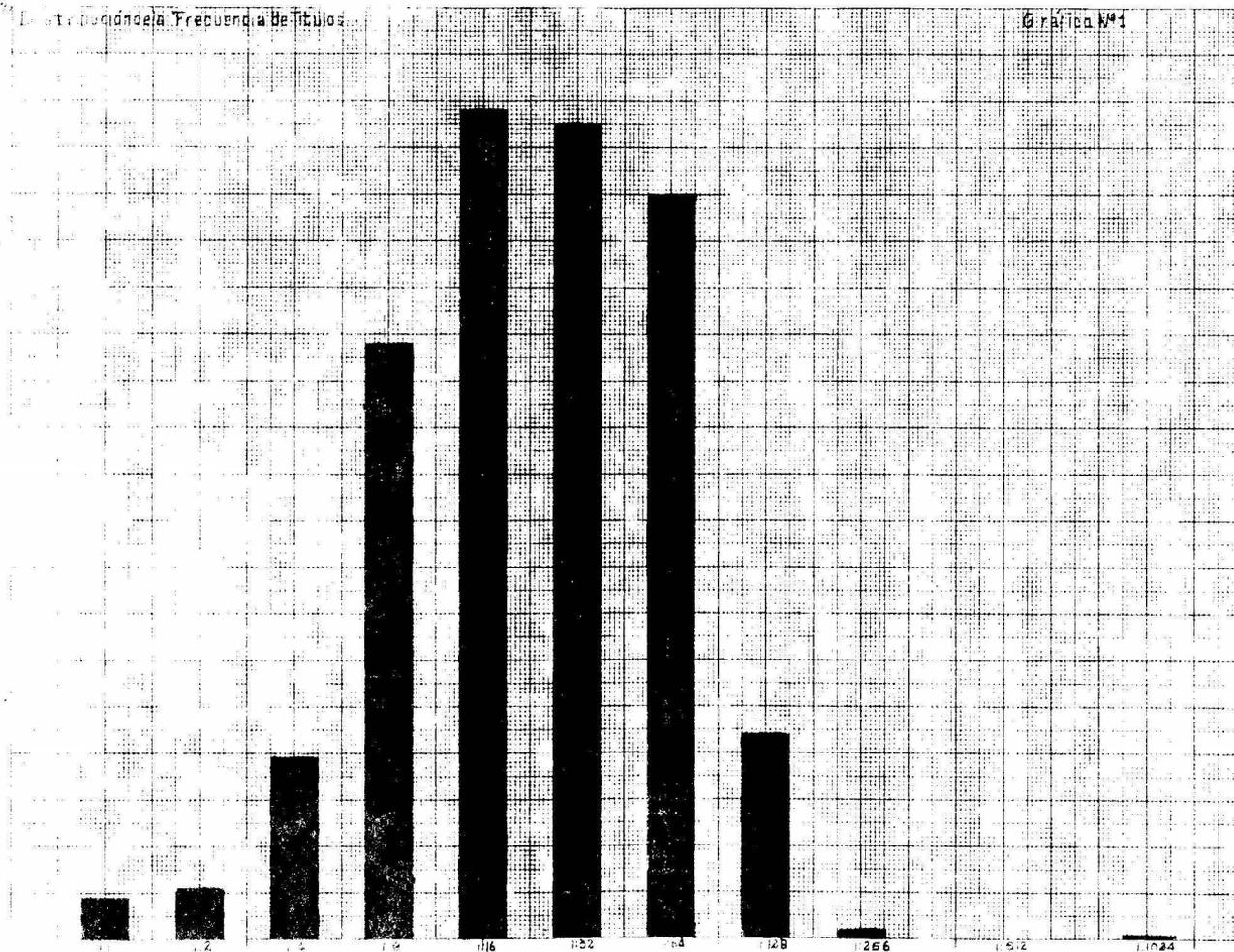
Título	Hombres	Mujeres
1:1	1	1
1:2	2	2
1:4	6	7
1:8	22	33
1:16	29	40
1:32	11	50
1:64	16	40
1:128	1	3

Tabla 4.- Frecuencia de títulos obtenidos en el grupo B en Hombres y Mujeres.

Título	Hombres	Mujeres
1:1	2	5
1:2	4	2
1:4	11	14
1:8	22	32
1:16	23	45
1:32	15	27
1:64	8	13
1:128	-	2
1:256	-	1

Tabla 5.- Frecuencia de títulos obtenidos en el grupo0 en Hombres y Mujeres.

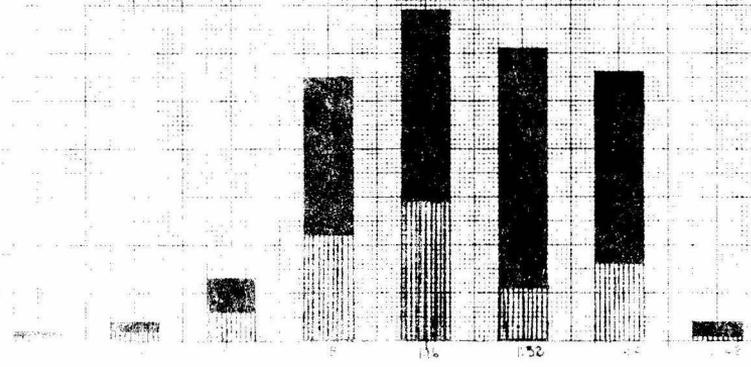
Título	Hombres	Mujeres
1:1	-	-
1:2	1	-
1:4	1	-
1:8	5	14
1:16	20	31
1:32	13	59
1:64	19	64
1:128	5	33
1:256	1	-
1:1024	-	1



Tipos de gastos obtenidos
de la prop. de los Hombres y Mujeres.

Gráfica N° 2

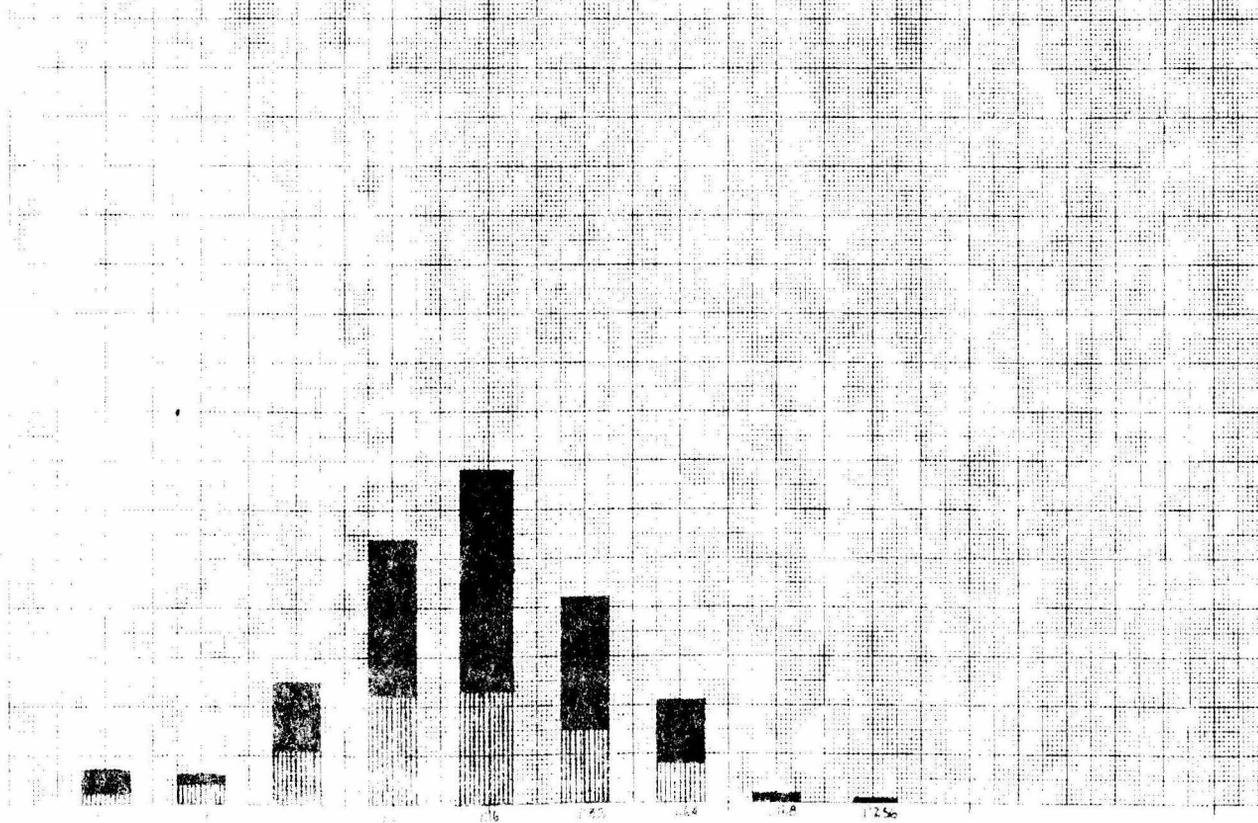
Hombres
Mujeres



Distribución de títulos obtenidos
en el grupo de enterañones y mujeres.

Gráfica N° 3

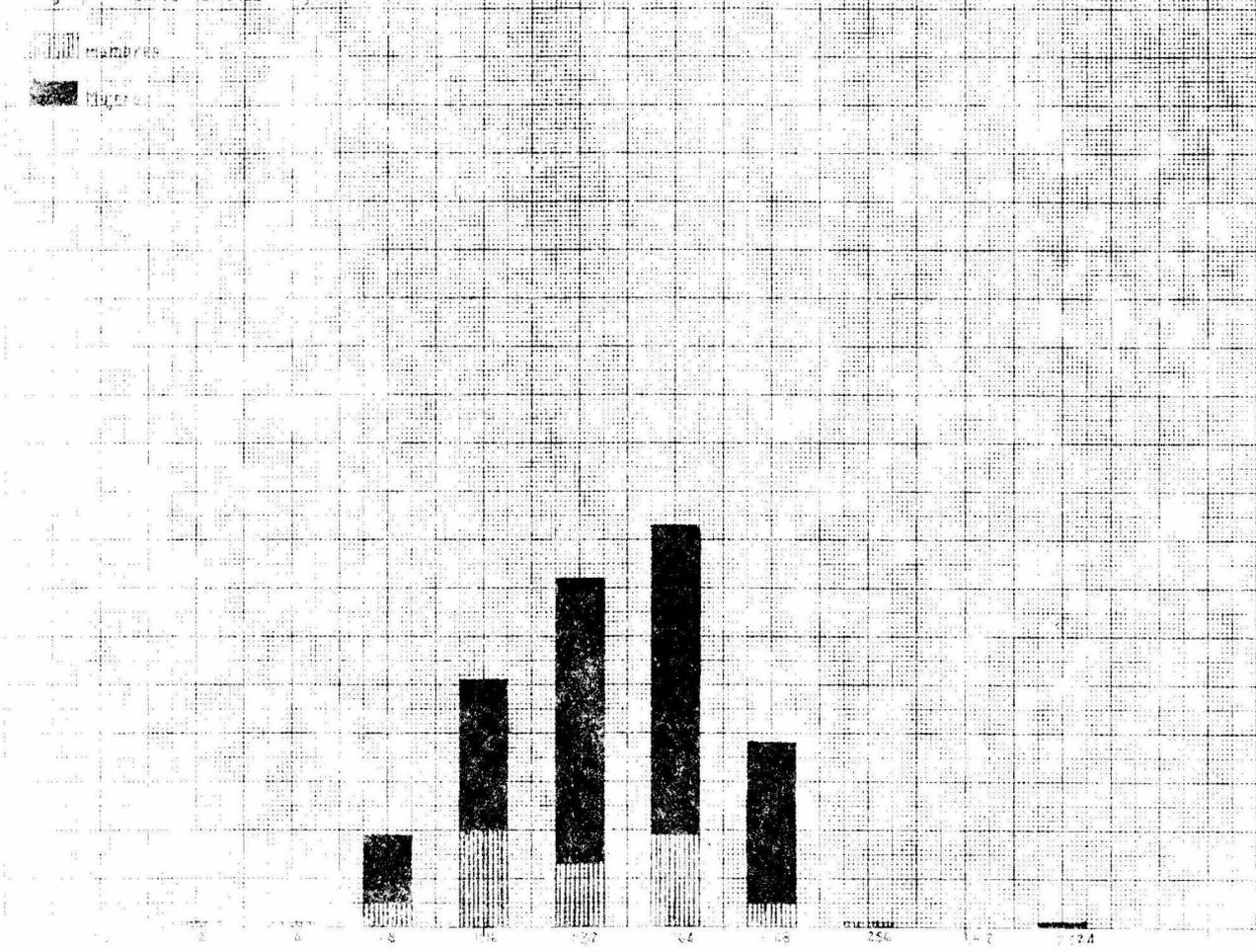
□ Hombres
■ Mujeres



Elaboración de los datos de
la encuesta de los hombres y mujeres.

Gráfica N.º 4

■ hombres
■ Mujeres



CAPITULO IV

DESCRIPCION Y RESULTADOS

DISCUSION.-

La población estudiada en cuanto al número de integrantes tomando en cuenta el sexo fue diferente. Siendo el grupo de las mujeres el de mayor número.

El obtener el título de antivuerpos naturales se hizo como un preámbulo para la elección de posibles candidatos para un programa de obtención de sueros tipificantes, lo que es en realidad de gran utilidad pues permite economizar esfuerzos para su producción.

Ahora bien, el título de anticuerpos naturales presenta en la población estudiada una curva de distribución casi normal como se muestra en la gráfica No. 1 Sin embargo se observaron diferencias importantes con respecto al sexo y a los grupos sanguíneos de los individuos.

No sabemos exactamente que mecanismos o determinantes puedan influir en estas diferencias. Se podría pensar en algún componente de tipo genético, ya que independientemente del grupo sanguíneo las mujeres presentaron títulos mas elevados que el grupo de los hombres, esto concuerda con el hecho de que los niveles normales de IgM que es la inmunoglobulina en la que residen estos anticuerpos es también mayor en las

mujeres comparativamente con los hombres.

Posteriormente en base a este estudio se procedió a inmunizar a los donadores con título basal alto y se comprobó que eran los que tenían una mayor capacidad para formar immunoanticuerpos.

RESUMEN.-

Actualmente no existe una forma de predecir con exactitud que sujetos son aptos a entrar en un programa de inmunización para obtención de sueros tipificantes.

En el presente trabajo se estableció la relación existente entre el título basal de anticuerpos naturales y la respuesta a la inmunización. Se observó que existen diferencias entre los grupos sanguíneos así como entre hombres y mujeres obteniendo el grupo de las mujeres los títulos más elevados.

CAPITULU 7

C O N C L U S I O N E S

CONCLUSIONES.-

a) No todos los grupos tienen títulos basales de anticuerpos naturales semejantes. Existe una variación de acuerdo con los grupos sanguíneos.

b) El grupo O es el que presenta mayor número de títulos elevados.

c) Existe una diferencia básica entre hombres y mujeres ya que éstas presentan, sin importar el grupo sanguíneo títulos más elevados que los hombres. Probablemente influyan componentes genéticos.

d) En el grupo B los dos sexos mostraron títulos más bajos.

e) Nuestros resultados indican que aquellas personas que tienen un título basal de 1:32 en el grupo B y de 1:64 en los otros dos grupos son los aptos y consecuentemente los que se escogen y dan sueros tipificantes con títulos satisfactorios.

Desgraciadamente para este programa de inmunización no es posible emplear mujeres, pues se provocaría una iso-inmunización que acarrearía problemas de incompatibilidad, --- cuando la mujer quedara embarazada pudiendo producir daño al feto.

TABLE OF CONTENTS

1. Adinolfi. Some serological characteristics of the normal incomplete cold antibody. *Immunology* 2: 31, 1965.
- 2.-Allen, P. Z. and Ka at, E.A.: Persistence of circulating antibodies in human subjects immunized with dextran, levan and blood group substances. *J. Immunol.* 80: 495, 1958.
- 3.- Landstainer, K. and Levine, P.: Further observations on individual differences of human blood. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.* 24: 941, 1927.
- 4.- Landstainer, K. and Weiner, A. S. : An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera rensus blood *Proc. Soc. Spx. Biol. Med* 43: 223, 1940.
- 5.- Levine, P., Katzin, E.M. and Bunhan, L.: Atypical warm isoagglutinins. *Proc. Soc. Exp. Biol. (NY)* 45 : 346, 1940.
- 6.- Mollison, P.L. Blood transfusion and clinical medicine. 4th. Ed. Blackwell 1967.
- 7.- Pappenheimer, A.M: Anti-egg albumin antibody in horse. *J. Exp. Med.* 71 : 263, 1940.
- 8.- Race, R.R.: An incomplete antibody in human serum. *Nature (Lond)* 1953 : 771, 1944.
- 9.- Springer, C. F. and Morton, R.E. and Forbes, M.: Origin of anti-human blood groups F agglutinins in white leghorn chicks. *J. Exp. Biol.* 110 : 121. 1979.

- 10.- Stone, W. H. and Snaw D.H.: Seasonal variation of naturally occurring iso-antibodies of man. *Comun. 6th Cong. Europ. Soc. Haemat. Copenhagen 1957.*
- 11.- Watkins, W.: Blood group substances. *Sci. 152: 172, 1966.*
- 12.- Weiner, A.S.: Origin of naturally occurring haemagglutinins and haemolysins: a review. *J. Immunol. 66: 287, 1951.*
- 12.- Witebsky, et. al.: Potent typing sera produced by treatment of donors with isolated blood group specific substances. *Proc. Spc. Exp. Biol. (NY) 55: 167, 1944.*