



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

"IDENTIFICACION DE DONADORES HIPERINMUNES NATURALES
PARA LA PRODUCCION DE ANTISUEROS
HEMOCLASIFICADORES ABO"

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

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





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 está 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.

INDICE

INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	5
GENERALIDADES.....	6
MATERIAL Y METODOS.....	21
RESULTADOS.....	36
DISCUSION.....	49
CONCLUSIONES.....	51
BIBLIOGRAFIA.....	52

INTRODUCCION

En los últimos años la infraestructura tecnológica de los laboratorios clínicos de nuestro país ha venido sufriendo creciente deterioro. En estos laboratorios se realizan las pruebas regulares que demandan los servicios médicos para el diagnóstico, seguimiento y control de los pacientes. Aquí también se da servicio a la población aparentemente sana, ejerciendo la medicina preventiva. Por lo tanto es de suma importancia que los laboratorios de análisis clínicos, incluyendo los de atención primaria, produzcan resultados confiables. Es obvio que si un paciente recibe datos discrepantes cuando se realizan las mismas pruebas de manera sucesiva, el resultado es la desconfianza y el desprestigio de los laboratorios implicados. Por esta razón se pone énfasis en los programas de control de calidad. Los materiales, instrumentos y equipo con los que se trabaja deben de conservarse en condiciones que aseguren su óptima calidad, entendiendo que se seleccionaron y se adquirieron racionalmente. Especialmente para los pequeños laboratorio privados y para los dispensarios de salud es mayormente difícil porque los precios han llegado a ser inalcanzables, incluyendo las crecientes cuotas para el mantenimiento y reposición de piezas y reactivos puesto que en su mayoría son de importación. Los laboratorios hospitalarios institucionales se han visto obligados a reducir sus presupuestos drásticamente y en ocasiones reducen la batería acostumbrada de análisis.

La importación por la cercanía con el mayor y más poderoso fabricante, nos fué siempre fácil, barato y rápido importarlo todo, hasta las cosas insignificantes. Hoy en la austeridad, estamos tratando de substituir importaciones. Falta decidir con juicio qué es lo que se puede y qué es lo que no se puede importar para no detenerse ni menos retroceder en la investigación biomédica y en los servicios de atención a la salud. (1).

De lo anterior se deduce que el perfeccionamiento ó importación de los antisueros ABO manufacturados comercialmente han incrementado considerablemente su costo e incluso su abastecimiento, por este motivo se realizó este trabajo con el objeto de identificar a donadores hiperinmunes naturales para la producción de antisueros hemoclasificadores ABO. Y con la finalidad de producirlos a nivel institucional, apoyados no por mas de control de calidad, recursos y disponibilidad de la institución. Teniendo como resultado la seguridad de obtener sueros hemoclasificados ABO, de buena calidad y bajo costo.

A principios de siglo cuando se establecieron las bases del sistema ABO, arrancó la producción de antisueros comerciales, dichos reactivos se han perfeccionado, hallazgos posteriores demostraron la presencia de sistemas diferentes al ABO. No obstante el uso de antisueros ABO sigue siendo de gran importancia y utilidad preponderante en los servicios de atención a la salud y jurídicos en los siguientes casos:

1). Prevención de las reacciones provocadas por las transfusiones sanguíneas, incluso las anemias hemolíticas adquiridas y otros accidentes o enfermedades de variable importancia.

2). Diagnóstico y prevención de la eritroblastosis fetal (Enfermedad hemolítica del recién nacido).

3). Exámenes médico-legales como:

a). Identificación de las manchas de sangre.

b). Exclusión de la paternidad.

c). Falsas pretensiones de maternidad.

d). Esporádicas equivocaciones de recién nacidos en hospitales u otras instituciones, como en el caso de lactantes robados. (2,3,4)

La presente tesis: IDENTIFICACION DE DONADORES HIPERINMUNES NATURALES PARA LA PRODUCCION DE ANTISUEROS HEMOCLASIFICADORES ABO, es un estudio de 100 donadores de diferentes grupos ABO, aparentemente sanos, sin sensibilizaciones aparentes antes del estudio, comparando los resultados de este estudio con los obtenidos en antisueros comerciales.

El estudio fué realizado en el servicio de banco de sangre del Instituto Nacional de Pediatría (INP), dependiente de la Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA), en un período comprendido entre los meses de agosto a noviembre de 1988.

Los exámenes de laboratorio para realizar este estudio incluyen:

- A). Determinación de grupo sanguíneo (Prueba directa e inversa).
- B). Pruebas de avidéz.
- C). Titulación de anticuerpos. (Potencia)
- D). Pruebas de especificidad de los antisueros contra eritrocitos conocidos A₁, A₂, B y O.

OBJETIVOS

1. Investigar la presencia de donadores hiperinmunes naturales de los grupos ABO en nuestra población.
2. Obtener a "grosso modo" una incidencia de los donadores hiperinmunes en la población que ocurre al Instituto Nacional de Pediatría.
3. Realizar las técnicas mas apropiadas para la identificación de donadores hiperinmunes.
4. Sistematizar el procedimiento para la obtención de antisueros, realizando las técnicas recomendadas por la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB).

GENERALIDADES

DESCUBRIMIENTO

Los primeros pasos en el estudio de los grupos sanguíneos fueron dados por Landois, quien en 1875 señalaba que si los glóbulos rojos de una especie eran mezclados con el suero sanguíneo proveniente de otra especie se producía un fenómeno de aglutinación y/o hemólisis. En 1890, Ehrlich y Morgenroth observaron igual fenómeno, pero en animales de la misma especie. Fué Karl Landsteiner en 1901 quien primero señaló la aglutinación de los glóbulos rojos humanos por el suero proveniente de otras personas, dando lugar este hallazgo al descubrimiento del sistema ABO, el cual fué completado más tarde en 1902 por Von Decastello y Stuarly, quienes descubrieron el cuarto grupo del sistema; el grupo AB.

Landsteiner demostró que los glóbulos rojos contenían por lo menos dos factores, designados como aglutinógenos A y B, con los cuales se podían explicar los cuatro grupos que existían y así postuló que cada persona podía tener uno de ellos (A ó B), ambos (AB) ó ninguno (O). Reconoció la presencia de anticuerpos en el suero y señaló la relación recíproca que había entre ellos y los antígenos presentes en los glóbulos rojos demostrando que cuando un determinado antígeno estaba ausente, su correspondiente anticuerpo se encontraba en el suero ó plasma. (Cuadro 1) (5)

CUADRO 1

ANTIGENOS Y ANTICUERPOS DEL SISTEMA ABO

GRUPO SANGUINEO	ANTIGENOS	ANTICUERPOS
O	H	Anti-A, B
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A y B	Ninguno

El interés biológico en los grupos sanguíneos aumentó considerablemente al saberse que se trataba de caracteres heredados. No obstante que en 1908 Ottenberg y Epstein habían sugerido el carácter hereditario de los aglutinógenos, todavía en 1909 Beteson afirmada "Son muy escasas las pruebas de la herencia Mendeliana de características normales en el hombre".

No fué sino hasta 1910 que Von Dungern y Hirsz-feld irrefutablemente probaron que la herencia de los grupos sanguíneos se ajustaba a las leyes de Mendel, con lo cual quedó, expedito el camino para que en 1924 el matemático Bernstein estableciera con rigor las leyes de su transmisión. (6)

HERENCIA

La herencia en el sistema ABO es controlada de acuerdo a las leyes de Mendel. Estas leyes fueron el producto de la observación y del razonamiento matemático, establecieron las bases de la genética moderna y pueden resumirse en los siguientes principios:

- Existen partículas que gobiernan los rasgos hereditarios, los cuales son transmitidos de una generación a la siguiente.

- Todo individuo posee dos de dichas partículas para cada rasgo ó característica, pero sólo una de ellas está contenida en cada gameto. (Ley de segregación).

- Un individuo que posee dos partículas desiguales para un determinado rasgo, solamente puede demostrar el efecto de uno solo (Concepto de dominancia). Esto no afecta su transmisión a la siguiente generación.

- La distribución de un par de estas partículas es independiente de los otros pares (Ley de distribución independiente). De esta manera, la presencia de las partículas de un determinado gameto es el resultado de la distribución al azar de las partículas contenidas en el individuo.

- Los resultados del apareamiento o cruce son descritos en términos de probabilidad matemática.

La herencia en el sistema ABO esta mediada por cuatro genes comunes: A_1 , A_2 , B y O y una serie de genes alelos menos frecuentes como son A_x , A_m , etc. En la gran mayoría de los casos, la herencia es directa y la combinación de los tres alelos A, B y O, determinan los cuatro grupos sanguíneos: A, B, AB y O. La forma es que estos genes controlan la producción de los antígenos ABO fue reconocida por Bernstein en 1924, cuya teoría, con pequeños cambios, continúa siendo aceptada. El se ñaló que cada individuo hereda dos genes ABO, uno de cada padre, y que estos genes determinarán la presencia de los antígenos ABO en los glóbulos rojos de las personas. (7,8)

La presencia del antígeno A ó B en los glóbulos rojos puede ser determinada mediante pruebas serológicas empleando los antisueros apropiados y de esta manera, se pone en evidencia la existencia del gen que controla la presencia del correspondiente antígeno.

El gen O es silente y su existencia es deducida por la ausencia de los antígenos A y B en la membrana eritrocitaria. Por mucho tiempo su presencia no pudo ser demostrada cuando está asociado con el antígeno A y B, debido a que los reactivos anti-A y anti-B no pueden diferenciar las formas heterocigotas (AO-BO) de las homocigotas (AA-BB). Estudios recientes demuestran que es posible detectar la presencia del gen O en individuos heterocigotos, mediante la determinación de una proteína que reacciona inmunológicamente pero no posee ninguna actividad enzimática. Esta proteína se ha encontrado sólo en el plasma de las personas del grupo O y en heterocigotos AO y BO. La existencia de CRM (Proteína de Reacción Cruzada) en plasmas O y en heterocigotos AO y BO pero

no en homocigotos AA y BB, son incompatibles con algún modelo no alelico para el locus ABO. Los genes que gobiernan la expresión de los grupos sanguíneos deberán ser alelos verdaderos. (9)

Individuos cuyo fenotipo es AB poseen dos genes A y B, y en aquellos del grupo O, genotípicamente deben ser homocigotos OO. En estos dos, la determinación del fenotipo ABO revela el genotipo de la persona. Los estudios familiares ayudan a revelar la presencia del alelo O, así como la de los subgrupos débiles de A ó B.

En el siguiente cuadro se expone la herencia del sistema ABO, de acuerdo a los principios enunciados.

HERENCIA DE LOS GRUPOS SANGUINEOS DEL SISTEMA ABO

FENOTIPOS (DE LOS PADRES)	GENOTIPOS (DE LOS PADRES)	HIJOS POSIBLES	
		FENOTIPOS	Y GENOTIPOS
A X A	AA X AA	A	A AA
	AA X AO	A	AA - AO
	AO X AO	A - O	AA-AO-OO
B X B	BB X BB	B	BB
	BB X BO	B	BB - BO
	BO X BO	B - O	BB-BO-OO
AB X AB	AB X AB	AB - A - B	AB-AA-BB

ANTIGENOS DEL SISTEMA ABO Y SU EXPRESION GENOTIPICA

La expresión genotípica de los antígenos ABO pueden variar con la edad, raza, interacción de genes alelos, herencia de alelos comunes ó de alelos raros, de genes modificadores ó de enfermedades que causan cambios reversibles ó irreversibles. Resultados no usuales, como un patrón de campo mixto puede ser evidenciado en las pruebas celulares para la determinación del sistema ABO, el cual puede representar una población de células de la misma especificidad pero de diferente espectro de reactividad, debida a la menor cantidad de determinantes antigénicos presentes en los eritrocitos, como sucede en los fenotipos débiles de A y B. Otras veces, el campo mixto representa una población de células de diferentes especificidades como por ejemplo, después de transfusiones, de transplante de médula ósea isóloga, de transfusiones feto maternas, transfusión fetal intrauterina, de quimerismo en gemelos etc. (10)

DESARROLLO

Para el momento del nacimiento los antígenos del sistema ABO no están completamente desarrollados y por consiguiente, la reacción de las células fetales con los sueros reactivos puede ser de intensidad menos a la observada en las células adultas. Ello se debe a que la cantidad de antígeno A ó B en las células rojas del recién nacido, es sustancialmente menos que el encontrado en las células adultas. Con respecto a las transfusiones específicas A y B en los precursores del recién nacido ó, a la deficiencia de la sustancia precursora de los glóbulos rojos para su conversión en antígenos A y B. Tilley y colaboradores, encontraron en sue-

ros de recién nacidos de transferasas ABH iguales ó superiores a los hallados en adultos; Por consiguiente si las transferasas son normales. La causa del escaso desarrollo de los antígenos A y B es de otra índole Romano y colaboradores sostienen que tal deficiencia es debida más que a la falta de transferasas específicas, a la carencia del sustrato (Sustancia H) para su conversión en los antígenos correspondientes. Lo demostraron incubando glóbulos rojos O de adultos y de recién nacidos con uridín-difosfato-galactosa (UDP-galactosa) y suero de grupo B, con lo cual, ambas células se convirtieron en grupo B. la determinación del número de puntos o sitios antígenos en la membrana demostró, que mientras las células de O de adulto habían generado más de 200 000 antígenos B por glóbulo rojo, las O de recién nacido sólo habían formado entre 40 000 a 70 000. (11)

Es entre los 2 a 4 años de edad, cuando se logra el completo desarrollo de dichos antígenos y a partir de ese momento, su expresión ó fuerza antigénica permanece constante por el resto de la vida.

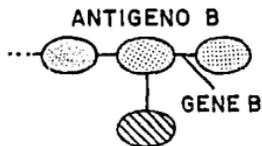
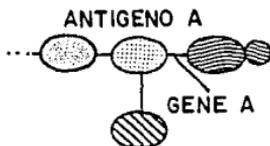
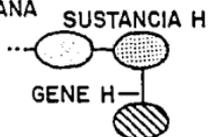
QUIMICA DE LOS ANTIGENOS SANGUINEOS ABO.

Las moléculas de los grupos sanguíneos sobre los eritrocitos están formadas por un solo polisacárido grande unido a esfingolípidos de la membrana. Al polisacárido se suman los diversos azúcares que forman los antígenos A y B. La adición de fucosa mediante una fucosiltransferasa crea la sustancia H que no es un antígeno en los individuos normales (Todos los individuos poseen la sustancia H y, por ende no responden inmunológicamente a ella). La sustancia H es un precursor obligatorio para la expresión de los genes A ó B. La fucosiltransferasa necesaria para la producción de sustancia H está bajo control de los genes (Gene H) diferente de los genes ABO. La adición de N-actilgalactosamina a la galactosa terminal de la sustancia H crea el antígeno A. El gene A codifica la enzima responsable de esta adición. (Los individuos que carecen del gene A y que, por lo tanto, carecen del antígeno A en sus eritrocitos son capaces de formar anticuerpos a ella; en realidad, todas estas personas tienen anticuerpos naturalmente adquiridos que se atribuyen a la exposición a la sustancia A ambiental). En los individuos que poseen el gene B, hay adición de galactosa a la galactosa terminal de la sustancia H y se crea en antígeno B. (12)

Existen pocos individuos que carecen de la fucosiltransferasa necesaria para agregar a la fucosa y crear la sustancia H. Dichos individuos raros son el grupo O (Sus eritrocitos carecen del antígeno A ó B). Los individuos con mutación, conocidos como fenotipo Bombay, pueden formar anti

ESTRUCTURA DE LAS MOLECULAS EN EL SISTEMA ABO

SUSTRATO: ESFINGOLIPIDO DE MEMBRANA



 N-ACETIL-GLUCOSAMINA

 GALACTOSA

 FUCOSA

 N-ACETIL-GALACTOSAMINA

cuerpos a la sustancia H y por lo tanto no recibirán transfusión de sangre tipo O.

ORIGEN

Los carbohidratos que forman la estructura antigénica A, B y H en la membrana de los glóbulos rojos, también están presentes en otros materiales biológicos. Por ejemplo, las bacterias inocuas en el medio ambiente, tienen en su estructura sustancias químicamente muy parecidas a los antígenos A, B y H de los humanos. De esta forma, el polvo, los alimentos y otros agentes ampliamente distribuidos constituyen un poderoso y persistente estímulo. Los humanos, con un sistema inmune normal reaccionan a este estímulo produciendo anticuerpos contra aquellos antígenos ABH, que no forman parte de su estructura celular. Por esta razón el anticuerpo anti-A se produce en personas de grupo O y B, y el anti-B en los de grupo O y A. Las personas del grupo AB, que contienen ambos antígenos, no forman dichos anticuerpos. La sustancia precursora H se encuentra presente en la estructura orgánica de muchos individuos, por lo cual, el anticuerpo anti-H es bastante raro. En cambio, las personas con el fenotipo Bombay (O_h), frecuentemente forman anti-H y aquellas de grupo A_1 y A_1B en quienes casi toda la sustancia H se ha transformado en A_1 , pueden formar anti-H pero con menor frecuencia.

El anticuerpo anti- A_1 presente en los individuos del grupo A y grupo B parece que contiene dos actividades anti-A separables: anti-A y anti- A_1 . El anti-A reacciona con hematíes A_1 y A_2 mientras que el anti- A_1 lo hace solamente con células A_1 . El suero del grupo B puede ser absorbi-

do con células rojas A_1 para remover la actividad anti-A y dejar solamente el anti- A_1 ; el producto obtenido se denomina suero anti- A_1 absorbido y los glóbulos rojos que agutinen con este suero se clasifican como de grupo A_1 .

TIEMPO DE APARICION

El recién nacido no está en capacidad de sintetizar anticuerpos, por lo tanto, los anticuerpos anti-A y anti-B que se pueden encontrar en la sangre del cordón son de la clase IgG recibidos pasivamente de la madre. Si esta tiene anticuerpos anti-A ó anti-B inunes (IgG), pueden atravesar la placenta y aparecer en el niño, Anticuerpos de la clase IgM, anti-A y anti-B, no se detectan en el recién nacido sino en muy raras ocasiones; su síntesis comienza entre los 3 a 6 meses de edad, elevándose su producción hasta alcanzar los títulos mas altos entre los 5 a 10 años, para luego decrecer gradualmente. En gente de edad avanzada, los títulos de anti-A y anti-B son significativamente mas bajos que en adultos jóvenes. (11,12)

FRECUENCIA

En 1914 Hirsfeld y Hirsfeld señalaron que el sistema ABO tenía una distribución variable en los diferentes grupos étnicos y desde entonces, múltiples estudios que se han realizado y publicado en cada parte del mundo, señalan su importancia como marcadores genéticos y antropológicos. (13). A continuación se presenta un cuadro de la proporción de grupos ABO en varias ciudades mexicanas. (Cuadro 2). (14)

CUADRO 2

PROPORCION DE GRUPOS ABO EN POBLACION DE VARIAS CIUDADES MEXICANAS

GRUPOS	VALLE DE MEXICO	MONTERREY	PUEBLA
O	72.02	68.32	75.10
A ₁	18.85	21.45	18.44
A ₂	0.90	-	-
B	7.01	8.84	5.56
A ₁ B	1.13	1.37	0.80
A ₂ B	0.09	-	-

ANTICUERPOS DEL SISTEMA ABO

Las moléculas de proteína que se combinan específicamente con los antígenos se denominan anticuerpos; en conjunto, las proteínas con actividad de anticuerpos reciben el nombre de inmunoglobulinas. En el pasado se emplearon otras designaciones para estas proteínas por ejemplo, el término gammaglobulinas, que surgió de la observación de que la mayoría de las moléculas de anticuerpo séricas emigraban electroforéticamente en la región gamma. Todas las moléculas de inmunoglobulinas poseen una estructura común que consta de cuatro cadenas polipeptídicas, dos grandes y dos pequeñas. La cadena polipeptídica grande se denomina pesada ó H (Del inglés heavy) y la pequeña, liviana ó L. Las inmunoglobulinas humanas están clasificadas en cinco clases basadas en la estructura primaria de sus respectivas cadenas pesadas: IgG (Gamma), IgA (Alfa), IgM (Mu), IgD (Delta) ó IgE (Epsilon). Existen dos tipos de cadenas li

vianas. En el suero, aproximadamente el 65% de las moléculas de IgG tiene dos cadenas pesadas gamma y dos cadenas livianas kappa, mientras que el 35% tiene dos cadenas pesadas gamma y dos cadenas livianas lambda. La misma distribución se aplica para las moléculas de IgA e IgM circulantes. Aún no se ha establecido la relación Kappa/lambda para las moléculas de IgD e IgE.

Podríamos seguir exponiendo cada una de las propiedades de las inmunoglobulinas, pero la finalidad de esta tesis se enfoca hacia las inmunoglobulinas IgM responsables de los anticuerpos anti-A y anti-B.

La IgM tiene un peso molecular de aproximadamente 900 000 dalton. Cada molécula consta de cinco unidades idénticas de aproximadamente 180 000 daltons. compuestas de dos cadenas livianas kappa ó lambda y dos cadenas pesadas mu. Las mencionadas en último término poseen un peso molecular de alrededor de 70 000 daltons. Se forman cinco unidades monoméricas en un círculo a través de puentes disulfuro entre las cadenas pesadas de las subunidades para formar un pentámero. Además, la molécula de IgM contiene una cadena adicional: La cadena J ó de unión (Joining). Basándose en la presencia de diez unidades Fab, cabría esperarse que las moléculas de anticuerpo IgM tuvieran una valencia de fijación al antígeno. Si bien este valor se ha ya experimentalmente en algunas moléculas de anticuerpo IgM, no se encontró en todos los casos, observándose una valencia de cinco en otros. Esta disparidad en la valencia todavía no tiene explicación. La mayoría de los anticuerpos IgM, pero no todos, parecen ser incapaces

ces de interactuar con la secuencia de complemento clásica en presencia del antígeno. El sitio de fijación del componente está presente en la cadena pesada de la molécula de anticuerpo en el dominio Cmu4.

Existen dos tipos de unidades de oligosacáridos presentes en la IgM, "simple", que consta de manosa, N-acetilglucosamina, y "compleja", que está compuesta de manosa, N-acetilglucosamina, fucosa, galactosa y ácido siálico. Estas unidades de hidratos de carbono están unidas al dominio Cmu3.

La cadena J es un componente sólo de inmunoglobulinas poliméricas de muchas especies como la IgM y la IgA. Existen pocas diferencias entre las cadenas J de diversas especies basadas en la movilidad electroforética, la reactividad cruzada antigénica y el contenido uniforme de los aminoácidos. La cadena J fue reconocida por primera vez cuando se sometieron las inmunoglobulinas poliméricas al clivaje de puentes disulfuro y al posterior análisis mediante procedimientos electroforéticos. La cadena J aparecía como una banda de proteínas que emigraba anódicamente con mas rapidez que las cadena L de inmunoglobulinas. Luego se aisló esta fracción se prepararon antisueros a la cadena J. los estudios dirigidos con estos antisueros revelaron que los determinantes antigénicos de la cadena J rara vea eran accesibles en inmunoglobulinas poliméricas intactas. Los determinantes antigénicos de la cadena J se revelan después de la desnaturalización.

La cadena J consta aproximadamente de 118-125 residuos aminoácidos y de 7 a 8 residuos carbohidratos para un peso molecular de alre

dedor de 15 000 daltons. Un aspecto poco común de la composición de aminoácidos es la presencia de seis residuos cisteína. Según un modelo, dos residuos cisteína participan en la unión de la cadena J con dos de las cinco subunidades de la IgM; es probable que el resto se utilice para la formación de los puentes disulfuro intercatenarios. Es posible que la cadena J intracelular inicie la polimerización uniéndose a una subunidad de IgM a través de un puente disulfuro. Este proceso puede provocar la polimerización entre las otras subunidades. Después de agregarse la quinta subunidad, el círculo puede completarse por la unión de un grupo sulfhidrilo de la cadena μ con otro grupo sulfhidrilo de la misma cadena J.

Según los estudios de inmunofluorescencia y biosintéticos, parece que las células plasmáticas que participan en la producción de las inmunoglobulinas IgM (e IgA) sintetizan la cadena J. Esta puede constituir el factor que limita el ritmo de la síntesis de estas proteínas. (15,16,17)

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo representa el estudio de 100 donadores aparentemente sanos sin antecedentes transfusionales que concurrieron al servicio de Banco de Sangre del Instituto Nacional de Pediatría (INP) dependiente de la Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA), en un período comprendido entre los meses de agosto a noviembre de 1988. Las características de los donadores estudiados fueron: Donadores de ambos sexos, con edades comprendidas entre 18 a 40 años, aparentemente sanos, sometidos a exámen médico, sin alteraciones físicas (presión, pulso, y temperatura normales) sometidos a interrogatorio sobre hábitos sexuales, toxicomanías, enfermedades actuales, padecimientos anteriores, alergias, medicamentos administrados cuando menos dos meses anteriores a la donación, peso, talla, domicilio actual, procedencia etc.

El control del estudio inmunohematológico se realizó con antisueros comerciales, utilizados para la determinación de grupos sanguíneos así como la de células conocidas A₁, A₂, B y O proporcionadas por el Banco de Sangre del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social

ENSAYOS DE LABORATORIO

Se seleccionaron al azar donadores a los cuales se realizaron previamente los estudios de laboratorio como: Determinación de Hemoglobina mayor a 14 g/l, Hematocrito mayor a 40 por ciento, V.D.R.L. negativo, Brucella negativo, V.H.I. negativo, Hepatitis negativo, proteínas

normales y determinación de grupo y Rh. (14,18,19)

Se realizaron: Determinación de grupos sanguíneos, utilizando antisueros comerciales, prueba de avidéz con suspensiones de eritrocitos al 10%, titulación de anticuerpos con un método de microtitulación y concentración de eritrocitos al 2%, también se realizaron pruebas de especificidad de los sueros de donadores contra eritrocitos conocidos A₁, A₂, B y O.

TOMA DE MUESTRAS

La toma de muestras se realizó en todos los donadores que concurrieron al Banco de sangre del INP. Llevando a cabo en cada uno de estos donadores el exámen médico, interrogatorio, y pruebas de laboratorio, si alguno de estos exámenes se encuentra anormal, se descarta al donador e incluso si no posee venas adecuadas para la venopunción. Al realizar la venopunción, se extraen aproximadamente 10 ml. de sangre, los cuales se distribuyen en 2 tubos de ensayo uno con anticoagulante para realizar los estudios de hemoglobina y hematocrito y uno mas sin anticoagulante para realizar los estudios serológicos mencionados anteriormente. Para la punción es recomendable seguir el siguiente método:

1. Escoger y seleccionar una vena adecuada y visible inspeccionando ambos brazos, en este caso se selecciona la vena mas difícil, pues se deja la vena mas adecuada para realizar la venopunción de almacenamiento de las bolsas recolectoras de sangre.

2. Previa asepsia efectuar la venopunción adecuadamente, extraer la sangre, quitar la aguja y depositar la muestra sanguínea teniendo cuidado de no hacerlo tan rápidamente que se pueda hemolizar la muestra, pues una muestra hemolizada se considera inadecuada para cualquier estudio serológico.

3. En el tubo donde se recolecta la muestra sin anticoagulante, se deja formar el coágulo, después de lo cual, con un aplicador de madera, se separa el coágulo de las paredes del tubo y se procede a centrifugar a 3 000 r.p.m. durante 10 minutos y se separa el suero del paquete. Ambos se utilizan para la determinación de grupo y Rh.

El suero se fracciona y se utiliza para las demás determinaciones mencionadas anteriormente. (14,18,19)

DETERMINACION DE GRUPO SANGUINEO (DIRECTA E INVERSA)

1. FUNDAMENTO

En la membrana del eritrocito se encuentran una gran cantidad de antígenos de grupos sanguíneos, pertenecientes a varios sistemas.

La determinación de la presencia o ausencia de los antígenos A y/o B del sistema de grupos sanguíneos ABO es imprescindible.

En este sistema se encuentran regularmente en el suero, anticuerpos antitéticos a los antígenos eritrocitarios, por lo que la clasificación correcta de la sangre debe constar de:

La clasificación de los antígenos eritrocitarios con anticuerpos conocidos (suero anti-A, anti-B y anti-AB comerciales), y la clasificación de anticuerpos séricos con antígenos conocidos, (eritrocitos A₁, A₂, B y O). (2,5,8,20,21,22,23,24)

2. PROCEDIMIENTO

2.1 MATERIAL.

- Tubos de ensayo de 12X75 mm. y de 13X100 mm.
- Pipetas Pasteur.
- Gradilla para tubos de ensayo.

2.2 MATERIAL BIOLÓGICO.

- Sueros anti-A, anti-B y anti-AB.
- Eritrocitos conocidos A₁, A₂, B y O.
- Sangre venosa del donador sin anticoagulante

2.3 EQUIPO.

- Centrifuga.

2.4 REACTIVOS.

- Solución salina isotónica (SSI).

2.5 TÉCNICA.

- Centrifugar la muestra de sangre a 3 000 r.p.m. durante 10 minutos, para separar el suero de los eritrocitos.
- Marcar 10 tubos de 12 X 75 mm. del 1 al 10.
- A los tubos 1, 2, 3, 4, 5 y 10 agregar una gota de eritrocitos suspendidos en SSI al 2% del donador.
- A los tubos 6, 7, 8, 9 y 10 agregar dos gotas de suero del donador.
- Al tubo 1 agregar una gota de anti-A.
- Al tubo 2 agregar una gota de anti-B.
- Al tubo 3 agregar una gota de anti-AB.
- Al tubo 4 agregar una gota de anti-Rh.
- Al tubo 5 agregar una gota de control de anti-Rh.
- Al tubo 6 agregar dos gotas de eritrocitos A₁ al 2%.

- Al tubo 7 agregar dos gotas de eritrocitos A₂ al 2%.
- Al tubo 8 agregar dos gotas de eritrocitos B al 2%.
- Al tubo 9 agregar dos gotas de eritrocitos O al 2%.
- Al tubo 10 en el autotestigo (suero + eritrocitos susp
didos al 2% de donador). El uso de este autotestigo es con la finalidad
de observar que el donador no autoaglutine.
- Centrifugar todos los tubos a 3,500/rpm. aproximadamente
durante 30".
- Leer.

INTERPRETACION DE LA TECNICA

La ausencia de aglutinación se considera negativo.

La presencia de aglutinación se considera positivo.

El Antígeno insoluble puede ser un determinante antígeno intrínseco de la membrana celular de un eritrocito o la pared celular de una bacteria. En condiciones apropiadas la adición de antisueros da una reacción antígeno - anticuerpo sobre partículas las cuales manifiestan esta interacción por la aglutinación. Así en este proceso participan los determinantes antigénicos que son un constituyente intrínseco de la célula y a este fenómeno se denomina aglutinación activa y en el caso concreto de los eritrocitos: Hemoaglutinación. Un antígeno normalmente soluble puede combinarse con una variedad de partículas insolubles, como los eritrocitos, las partículas de bentonita (arcilla) ó las cuentas de látex de poliestireno, y, causa de eso, ser insoluble. La aglutinación que involucra determinantes antigénicos que no son un constituyente intrínseco de la partícula se denomina aglutinación pasiva.

Dada la versatilidad de la reacción de aglutinación es muy empleada para detectar la presencia de anticuerpo y para calcular la cantidad relativa de anticuerpo en un suero. Si bien el procedimiento no puede utilizarse para establecer la cantidad real, Si puede emplearse para comparar la potencia relativa de los distintos antisue ros.

TITULACION DE ANTICUERPOS

1. FUNDAMENTO

La reacción de aglutinación se realiza agregando un volumen constante de una suspensión de partículas que tienen determinantes antigénicos intrínsecos ó extrínsecos, a un volumen constante de suero diluido seriadamente.

Las variaciones de la prueba, por suspensiones celulares, técnicas de pipeteo, centrifugación, resuspensiones de botones celulares, y la lectura e interpretación de los resultados, pueden producir errores en la titulación de anticuerpos. Estos pueden reducirse pero no eliminarse, almacenando muestras de suero controladas para titularse nuevamente paralelamente con nuevas muestras de suero del mismo donador. No deberá observarse un cambio significativo en el título. En la reacción de aglutinación el contenido de anticuerpo de un antisuero se expresa como el título que representa el número recíproco de la dilución final del antisuero capaz de dar una aglutinación visible.

2. PROCEDIMIENTO

2.1 MATERIAL

- Tubos de 12 X 75 mm.
- Pipetas Pasteur.
- Pipeta serológica de 2 ml, graduada en 1/10.

- Micropipeta serológica de 0.1 ml.
- Gradilla para tubos de ensayo.

2.2. MATERIAL BIOLÓGICO

- Suero de donadores.
- Eritrocitos conocidos A₁, A₂, B y O.

2.3 EQUIPO

- Centrifuga.

2.4 REACTIVOS

- Solución salina isotónica.

2.5 TECNICA

- Marcar cuando menos 12 tubos de ensayo de 12 X 75 mm. del 1 al 12 para obtener las diluciones seriadas desde 1:1 hasta la dilución del 1:2048.

- Con una pipeta de 2 ml, agregar 0.1 ml de SSI a cada uno de los tubos.

- Con la micropipeta agregar 0.1 ml. de suero del donador al tubo # 1, mezclar, enjuagar la pipeta y secar, de la mezcla del tubo # 1 pasar 0.1 ml con la micropipeta al tubo # 2 y realizar el mismo procedimiento para los tubos subsecuentes.

- Con otra pipeta de 2 ml. agregar 0.1 ml. de eritrocitos correspondientes al anticuerpo titulado.

- Mezclar todos los tubos por agitación.
- Centrifugar en la serofuge durante 30".
- Leer y anotar.

INTERPRETACION DE LA TECNICA

Aunque los valores de titulación se expresen generalmente por la recíproca de la última dilución del suero que muestra una aglutinación definida 1+, existe otra conveniente forma de registrar esa información, que consiste en emplear un sistema de anotación numérica, además del valor de titulación convencional. Este procedimiento de anotación es especialmente valioso cuando se compara la reactividad de varios antisue- ros ante un mismo tipo de eritrocitos, ó a la reactividad de varios tipos de eritrocitos ante un mismo antisuero.

Muchos investigadores ingleses emplean la anotación numérica, pero los sistemas que recomiendan incluyen el exámen microscópico, procedimiento que no se emplea habitualmente en Estados Unidos para las titulaciones. En nuestros laboratorios se considera útil el siguiente sistema de anotación, basado en lecturas macroscópicas.

ANOTACION	GRADO DE AGLUTINACION	DESCRIPCION DE LA AGLUT.
10	+++ (4)	Un botón sólido de eritrocitos, sin ningún eritrocito libre; Fondo claro.
8	+++ (3)	Un grumo grande y escasos grumos pequeños; Fondo claro.
5	++ (2)	Numerosos grumos de regular tamaño y numerosos eritrocitos libres; Fondo ligeramente turbio.

3	+ (1)	Numerosos grumos pequeños y numerosos eritrocitos libres; Fondo turbio.
1	± (±)	Escasos grumos muy pequeños; Fondo turbio.
0	0 (-)	No hay aglutinación; Todos los eritrocitos están libres. Fondo turbio. (5)

AVIDEZ

1. FUNDAMENTO

La avidéz es una medida de la capacidad de reactividad y rapidez con la cual un anticuerpo se combina con su correspondiente antígeno. Para determinar la avidéz del antisuero se requiere una suspensión apropiada de eritrocitos, así como una cantidad adecuada de suero, estos se mezclan en un portaobjetos. Se toma el tiempo desde que se mezclan inicialmente y hasta la aparición del primer indicio de aglutinación, este se mide con un cronómetro. La reacción terminará con la formación de agregados celulares eritroides. (22).

La avidéz de un anticuerpo esta influenciada por:

- A. Selección de los eritrocitos de prueba (Fuerza antigénica).
- B. Medio en el cual se suspenden las células.
- C. La concentración de los eritrocitos en la suspensión celular.
- D. Reactividad de los anticuerpos.
- E. Temperatura.

2. PROCEDIMIENTO

2.1 MATERIAL

- Placas de aglutinación.
- Tubos de ensayo de 12 X 75 mm. y de 13 X 100 mm.
- Pipetas Pasteur.
- Aplicadores de madera.

2.2 MATERIAL BIOLÓGICO

- Sueros de donadores.
- Eritrocitos conocidos A₁, A₂, B y O.

2.3 EQUIPO

- Cronómetro

2.4 REACTIVOS

- Solución salina isotónica.

2.4 TÉCNICA

Se coloca una gota de suero en un extremo del centro del círculo de las placas de aglutinación (Diámetro aproximado del círculo de 25 mm). En el otro extremo del centro una gota de eritrocitos al 10%. sin que estas se mezclen, inmediatamente después preparar el cronómetro y con un aplicador de madera mezclar las dos gotas, en este momento se pone en marcha el cronómetro y cuando aparece el primer indicio de aglutinación se detiene el cronómetro.

INTERPRETACION DE LA TÉCNICA

Considerar el tiempo empleado desde la mezcla hasta la pequeña formación de aglutinaciones discretas. Nota. La suspensión de eritrocitos al 10% se elabora de la siguiente manera: 0.1 ml. del paquete glo- bular lavado previamente cuando menos 4 veces, diluidos con 0.9 ml de SSI.

ESPECIFICIDAD

1. FUNDAMENTO

La especificidad es la reacción selectiva de un anticuerpo con su correspondiente antígeno. Reaccionan mas fuertemente con aquellos antígenos que estimularon la producción de anticuerpos, cuando las reacciones son mas débiles, puede ser que se trate de antígenos relacionados. No ocurrirá ninguna reacción con aquellos antígenos con los cuales no hay una relación directa.

2. MATERIAL Y METODOS

El mismo que el empleado para la determinación de grupo sanguíneo, titulación de anticuerpos y avidéz.

3. TECNICA.

Se corrieron paralelamente a las técnicas empleadas.

INTERPRETACION DE LA TECNICA

La especificidad esta estrechamente relacionada con la potencia, fuerza del anticuerpo, esta puede ser medida por pruebas de avidéz y titulación.

No debe de existir aglutinación con células con las cuales no se identificaron los correspondientes anticuerpos. Un suero que posea anticuerpos B solo reaccionará con células B.

La Asociación Americana de Bancos de Sangre ha establecido las normas para evaluación de antisueros hemoclasificadores.

Titulos y avidéz minimos aceptables

Reactivo	Celulas	Tiempo de aglut. (avidéz)	Titulo
ANTI-A	A ₁	15"	256
	A ₂	30"	128
	A ₁ B	30"	128
	A ₂ B	45"	64
ANTI-B	B	15"	256

RESULTADOS

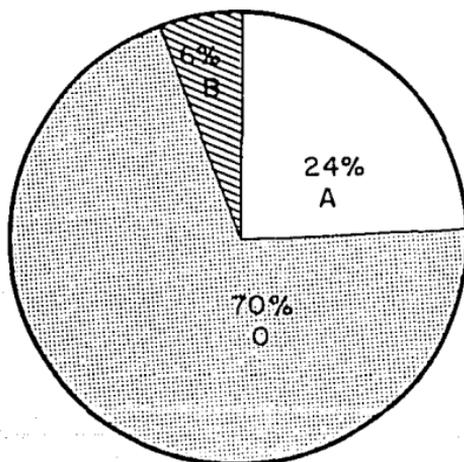
De la población estudiada de 100 donadores al azar, los cuales se sometieron previamente a exámen físico, interrogatorio y pruebas de laboratorio como: Determinación de hemoglobina, hematocrito, concentración media de hemoglobina corpuscular, V.D.R.L., Brucella, HIV, antígeno Australia y proteínas. Todos los exámenes mencionados y realizados a todos los donadores fueron normales.

Los estudios realizados para elaborar ésta tesis como: Determinación de grupo y Rh (Prueba directa e indirecta), titulación de anticuerpos, avidéz y especificidad, por ser datos muy heterogéneos se procuró una reordenación de datos para realizar un análisis a groso modo de acuerdo a una concentración de datos y gráficas de los resultados obtenidos.

Los grupos obtenidos fueron los siguientes: (Consultar tabla).

Grupo	Porcentaje
A	24 %
B	6 %
O	70 %
AB	-

**INCIDENCIA DE GRUPOS SANGUINEOS ABO
EN UNA POBLACION ESCOGIDA AL AZAR**



Con respecto a la titulación de anticuerpos y especificidad se obtuvieron los siguientes datos:

GRUPO	TITULO	HEMATIES A ₁	HEMATIES A ₂	HEMATIES B	HEMATIES O
O	1:1024	13	5	8	-
	1:512	10	8	9	-
	1:256	14	8	11	-
	1:128	18	11	18	-
	1:64	9	8	12	-
	1:32	6	30	12	-
A	1:1024	-	-	1	-
	1:512	-	-	3	-
	1:256	-	-	5	-
	1:128	-	-	7	-
	1:64	-	-	5	-
	1:32	-	-	3	-
B	1:1024	-	-	-	-
	1:512	-	-	-	-
	1:256	-	-	-	-
	1:128	1	-	-	-
	1:64	4	5	-	-
	1:32	1	1	-	-

A continuación se dan los resultados obtenidos de las titulaciones, avidéz y especificidad de los antisueros comerciales estudiados. Utilizados como control de este estudio.

ANTISUEROS COMERCIALES ABO.*

INMUTEC	0A43G7	30	ENE	89	ANTI-A
ORTHO	551554	7	MAYO	86	ANTI-B*
INMUTEC	AB30J7	30	ENE	89	ANTI-AB

0A43G7	1:32	1:68	1:1:8	1:256	1:512	1:1024	TIT	AVIDEZ	ANOT
A ₁	4+	4+	3+	2+	1+	-	1:512	13"	36
ANTI-A A ₂	3+	2+	1+	-	-	-	1:128	14"	16
B	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O	-	-	-	-	-	-	-	-	-
551554									
A ₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ANTI-B A ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	4+	4+	4+	3+	2+	1+	1:1024	11"	46
O	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AB30J7									
A ₁	4+	4+	4+	4+	3+	2+	1:1024	13"	53
ANTI-AB A ₂	4+	4+	3+	2+	1+	-	1:512	18"	36
B	4+	3+	2+	1+	-	-	1:256	23"	26
O	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* UTILIZADOS COMO CONTROL PARA ESTE ESTUDIO.

CONCENTRACION DE DATOS

	GRUPO	TIT. A ₁	ANOT.	AVIDEZ	TIT. A ₂	ANOT.	AVIDEZ	TIT. B	ANOT.	AVIDEZ	TIT. O
1	0	1:1024	60	7"	1:1024	51	6"	1:1024	53	10"	-
2	0	1:1024	60	10"	1:1024	56	12"	1:1024	44	12"	-
3	0	1:1024	53	12"	1:1024	46	16"	1:256	33	16"	-
4	0	1:1024	46	7"	1:1024	46	9"	1:128	8	12"	-
5	0	1:1024	46	8"	1:1024	46	9"	1:64	8	17"	-
6	0	1:1024	46	10"	1:512	36	16"	1:128	8	13"	-
7	0	1:1024	45	12"	1:512	36	16"	1:128	8	13"	-
8	0	1:1024	45	14"	1:512	29	19"	1:256	21	18"	-
9	0	1:1024	46	10"	1:256	36	9"	1:1024	46	11"	-
10	0	1:1024	46	7"	1:128	13	11"	1:256	26	14"	-
11	0	1:1024	36	10"	1:128	16	16"	1:64	8	15"	-
12	0	1:1024	56	14"	1:32	3	23"	1:512	29	20"	-
13	0	1:1024	58	12"	1:32	3	18"	1:128	16	29"	-

	GRUPO	TIT. A ₁	ANOT.	AVIDEZ	TIT. A ₂	ANOT.	AVIDEZ	TIT. B	ANOT.	AVIDEZ	TIT. O
14	0	1:512	36	15"	1:512	20	15"	1:512	36	20"	-
15	0	1:512	41	8"	1:256	26	10"	1:1024	53	12"	-
16	0	1:512	41	14"	1:256	19	22"	1:1024	51	16"	-
17	0	1:512	36	11"	1:256	26	14"	1:256	26	12"	-
18	0	1:512	36	17"	1:256	16	22"	1:256	22	20"	-
19	0	1:512	36	12"	1:128	8	17"	1:256	26	14"	-
20	0	1:512	36	9"	1:64	8	11"	1:256	26	14"	-
21	0	1:512	36	12"	1:32	3	19"	1:512	36	15"	-
22	0	1:512	36	10"	1:32	3	15"	1:512	36	12"	-

NOTA: ESTE CONCENTRADO DE DATOS SE ELABORO REORDENANDO LOS RESULTADOS OBTENIDOS AL AZAR.

	GRUPO	TIT. A ₁	ANOT.	AVIDEZ	TIT. A ₂	ANOT.	AVIDEZ	TIT. B	ANOT.	AVIDEZ	TIT. O
23	0	1:256	26	14"	1:512	36	12"	1:128	16	13"	-
24	0	1:256	26	14"	1:512	36	12"	1:128	16	13"	-
25	0	1:256	33	17"	1:512	22	19"	1:512	39	15"	-
26	0	1:256	46	13"	1:256	26	17"	1:1024	26	14"	-
27	0	1:256	26	13"	1:256	26	16"	1:1024	53	16"	-
28	0	1:256	26	10"	1:128	16	11"	1:128	16	13"	-
29	0	1:256	22	12"	1:128	11	16"	1:64	8	20"	-
30	0	1:256	26	16"	1:128	16	17"	1:64	8	44"	-
31	0	1:256	26	13"	1:128	13	17"	1:128	13	31"	-
32	0	1:256	26	20"	1:128	16	28"	1:128	16	29"	-
33	0	1:256	26	16"	1:128	16	18"	1:64	8	38"	-
34	0	1:256	26	16"	1:64	8	20"	1:32	3	25"	-
35	0	1:256	26	16"	1:64	8	22"	1:32	3	25"	-
36	0	1:256	21	22"	1:32	3	24"	1:128	14	21"	-

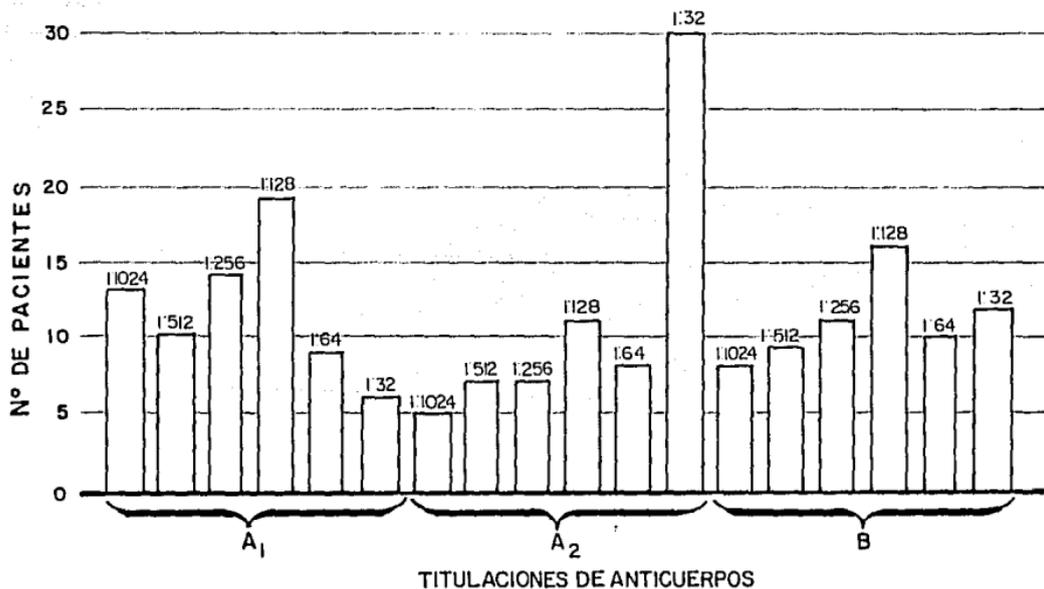
	GRUPO	TIT. A ₁	ANOT.	AVIDEZ	TIT. A ₂	ANOT.	AVIDEZ	TIT. B	ANOT.	AVIDEZ	TIT. O
37	0	1:128	13	15"	1:128	11	15"	1:32	3	21"	-
38	0	1:128	13	15"	1:128	11	17"	1:32	3	21"	-
39	0	1:128	16	14"	1:64	8	16"	1:256	26	19"	-
40	0	1:128	16	14"	1:64	8	14"	1:512	36	16"	-
41	0	1:128	17	17"	1:64	10	15"	1:32	3	16"	-
42	0	1:128	16	16"	1:64	8	20"	1:128	16	20"	-
43	0	1:128	16	14"	1:64	8	33"	1:1024	44	18"	-
44	0	1:128	16	15"	1:32	3	15"	1:64	8	19"	-
45	0	1:128	16	14"	1:32	3	16"	1:64	8	20"	-
46	0	1:128	16	18"	1:32	3	18"	1:512	36	15"	-
47	0	1:128	13	19"	1:32	3	18"	1:256	26	17"	-
48	0	1:128	16	14"	1:32	3	18"	1:32	3	15"	-
49	0	1:128	16	14"	1:32	3	18"	1:64	8	20"	-
50	0	1:128	16	23"	1:32	3	21"	1:32	3	21"	-
51	0	1:128	16	12"	1:32	3	23"	1:128	16	15"	-
52	0	1:128	8	22"	1:32	3	24"	1:256	16	22"	-

	GRUPO	TIT. A ₁	ANOT.	AVIDEZ	TIT. A ₂	ANOT.	AVIDEZ	TIT. B	ANOT.	AVIDEZ	TIT. O
53	0	1:128	16	16"	1:32	3	26"	1:64	8	22"	-
54	0	1:128	16	19"	1:32	3	29"	1:64	3	38"	-
55	0	1:128	16	17"	1:32	-	19"	1:128	16	21"	-
56	0	1:64	8	14"	1:32	3	17"	1:128	16	15"	-
57	0	1:64	8	17"	1:32	3	17"	1:128	16	19"	-
58	0	1:64	8	14"	1:32	3	16"	1:32	3	21"	-
59	0	1:64	8	21"	1:64	6	20"	1:256	26	18"	-
60	0	1:64	8	18"	1:32	3	22"	1:32	3	20"	-
61	0	1:64	8	15"	1:32	-	29"	1:256	26	13"	-
62	0	1:64	8	16"	1:32	3	19"	1:256	16	20"	-
63	0	1:64	8	26"	1:64	8	29"	1:512	32	30"	-
64	0	1:64	8	18"	1:32	3	21"	1:512	26	20"	-
65	0	1:32	3	23"	1:32	-	23"	1:32	-	21"	-
66	0	1:32	3	21"	1:32	-	19"	1:32	3	20"	-
67	0	1:32	3	16"	1:32	3	45"	1:128	16	21"	-
68	0	1:32	3	16"	1:32	3	26"	1:64	8	21"	-

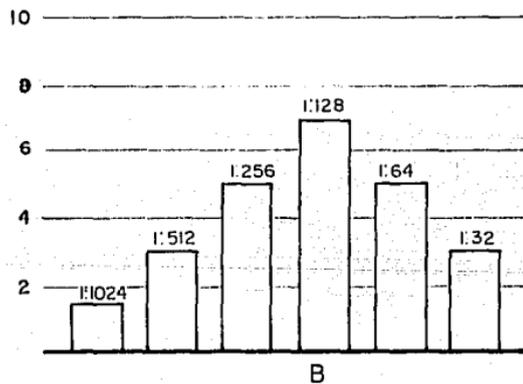
	GRUPO	TIT. A ₁	ANOT.	AVIDEZ	TIT. A ₂	ANOT.	AVIDEZ	TIT. B	ANOT.	AVIDEZ	TIT. O
69	0	1:32	8	29"	1:32	3	26"	1:32	3	26"	-
70	0	1:32	8	26"	1:32	3	24"	1:32	3	28"	-
71	Λ	-	-	-	-	-	-	1:1024	46	8"	-
72	Λ	-	-	-	-	-	-	1:512	36	11"	-
73	Λ	-	-	-	-	-	-	1:512	36	13"	-
74	Λ	-	-	-	-	-	-	1:512	36	14"	-
75	Λ	-	-	-	-	-	-	1:256	26	11"	-
76	Λ	-	-	-	-	-	-	1:256	26	8"	-
77	Λ	-	-	-	-	-	-	1:256	19	16"	-
78	Λ	-	-	-	-	-	-	1:256	24	15"	-
79	Λ	-	-	-	-	-	-	1:256	24	17"	-
80	Λ	-	-	-	-	-	-	1:128	16	21	-
81	Λ	-	-	-	-	-	-	1:128	16	21	-
82	Λ	-	-	-	-	-	-	1:128	16	20	-
83	Λ	-	-	-	-	-	-	1:128	16	20	-
84	Λ	-	-	-	-	-	-	1:128	16	14	-

	GRUPO	TIT. A ₁	ANOT.	AVIDEZ.	TIT. A ₂	ANOT.	AVIDEZ.	TIT. B	ANOT.	AVIDEZ.	TIT. O
85	A	-	-	-	-	-	-	1:128	16	14"	-
86	A	-	-	-	-	-	-	1:128	16	12"	-
87	A	-	-	-	-	-	-	1:64	8	30"	-
88	A	-	-	-	-	-	-	1:64	8	26"	-
89	A	-	-	-	-	-	-	1:64	8	26"	-
90	A	-	-	-	-	-	-	1:64	8	15"	-
91	A	-	-	-	-	-	-	1:64	3	29"	-
92	A	-	-	-	-	-	-	1:32	3	21"	-
93	A	-	-	-	-	-	-	1:32	3	21"	-
94	A	-	-	-	-	-	-	1:32	3	19"	-
95	B	1:128	11	19"	1:32	8	22"	-	-	-	-
96	B	1:64	11	18"	1:64	6	22"	-	-	-	-
97	B	1:64	8	23"	1:32	3	42"	-	-	-	-
98	B	1:64	8	20"	1:32	3	40"	-	-	-	-
99	B	1:64	8	17"	1:32	3	18"	-	-	-	-
100	B	1:32	5	22"	1:32	5	26"	-	-	-	-

FRECUENCIA DE TITULACIONES EN 70 DONADORES DEL GRUPO O



FRECUENCIA DE TITULACIONES EN 24 DONADORES DEL GRUPO A



DISCUSION

De los resultados obtenidos con la población escogida de 100 donadores al azar, con respecto a la incidencia de grupos sanguíneos ABO fue satisfactoria. A continuación se expone un cuadro comparativo entre los datos estadísticos obtenidos por el Banco de Sangre del Centro Médico Nacional de Diferentes Poblaciones de Ciudades Mexicanas y los resultados obtenidos en esta tesis.

Grupos	Valle de México	Monterrey	Puebla	INP (100 donadores)
O	72	68	75	70
A	19	21	18	24
B	7	9	6	6
AB	1	1	1	-

En este cuadro se observa que no existe una variación considerable con los datos obtenidos de otras poblaciones.

Los antisueros comerciales se sometieron a pruebas de estabilidad, con las recomendaciones de la AABB.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Con respecto a los títulos y avidez es conveniente comparar los resultados obtenidos de los antisueros comerciales utilizados para la determinación de grupos y los mínimos aceptables por la AABB.

Reactivo	ANTISUERO COMERCIAL		AABB	
	Título	avidez	Título	avidez
Anti-A	1:512	13"	1:256	15"
Anti-B	1:1024	11"	1:256	15"
Anti-AB*	1:512	18"	1:128	30"

* Es el resultado promedio obtenido con las células A₁, A₂ y B.

Se observa un título y avidez aceptable para los antisueros comerciales utilizados como control, esto nos hace reflexionar en que los anticuerpos IgM responsables de los grupos sanguíneos ABO son muy estables guardando las reglas de control de calidad establecidos por la AABB.

De los resultados obtenidos con los donadores observamos que mas del 50% ofrece títulos mínimos aceptables para utilizarse como antisueros hemoclasificadores.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos y la discusión realizada pone en evidencia que no importa el tamaño de la población para obtener porcentajes semejantes en cuanto a la incidencia de grupos sanguíneos ABO.

Por otro lado la mayoría de los sueros de donadores estudiados pone en evidencia que existe un porcentaje mas que suficiente de donadores, aunque no hiperinmunes si aceptables como para ser utilizados como donadores de reactivos hemoclasificadores, sin olvidar, claro está el hecho de que deben controlar rigurosamente todas las condiciones de almacenamiento y manejo con técnicas apropiadas de control de calidad recomendadas por la Asociación Americana de Bancos de Sangre.

En la introducción especifiqué el hecho de que nuestro país atravieza por una situación en la cual se requiere del ahorro de recursos, sin mermar la atención a que tiene derecho cada uno de los mexicanos, corresponde a los profesionales reflexionar sobre los recursos con los que cuenta el país y por ende el aprovechar lo que materialmente tenemos a la mano: Nuestros propios donadores, no se requiere de reactivos costosos para obtener reactivos Hemoclasificadores de buena calidad y bajo costo.

BIBLIOGRAFIA.

1. Castillo de Sánchez María Luisa: Fabricación local o importación de reactivos y equipo de laboratorio. Bioquímica. Vol 13. N° 2. 1988.
2. Robert M. Greendyke, MD. Introduction to Blood Banking third edition 1984. cap I.
3. Davidson-Wells. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio Tood Sanford. Salvat 1978. pags 263-267.
4. Kolmer. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. Interamericana 1961. cap 21. pag 491.
5. Nancy Allen, Manual de Inmunoematología. Hyland Laboratories. E.U.A. 1963.
6. Dunsford & Bowley. Technique in Blood Grouping. Second edition. Ed. Oliver and Boy. Vol 1. 1967.
7. Race, R.R. and Sanger, R.: Blood Groups in man. Philadelphia. F.A. Davis & Co. 5th edition. 1968. charpters I y II.
8. Linares B. Jesús: Inmunoematología básica aplicada en el Banco de sangre. 2da Edición. impreso en Venezuela.
9. Yoshida A. Identification of genotypes of blood group A and B Blood. 1980. 55: 119-123.

10. Hughes-Jones, N.C.: Nature of the reaction Between Antigen and Antibody. Brit. Med. Bull. 19, 171 1963.
11. Benacerraf/Unanue.: Inmunología. caps. 2, 3 y 4. Ed. Panamericana segunda edición 1986.
12. Lazar M Schwarts, M.D.: Blood Bank Technology. Second edition. The Williams & Wilkins Co. Baltimore 1977.
13. Mourante, Kopéc, Domanewskasobczok. The distribution of the human blood groups and other polimorfismos second edition. Ed Oxford University press 1976 London-New York-Toronto.
14. Dr. Héctor Rodríguez Moyado. Procedimientos básicos para la selección de un donador de sangre en la ciudad de México. Rev. Med. IMSS. Vol VIII, 131, 1968.
15. Capra, J.D. and Kehpe, J.M. Hypervariable regions, idiotypy and antibody-combining sites. Adv. Immunol 20: 1, 1975.
16. Davies, D.R. amd Metzger, H. Structural basis of antibody Function. Ann Rev. Immunol., I 87, 1983.
17. Natving, J.B. and Kunkel, H.G. Human Immunoglobulins: Classes subclasses, genetic variants and idiotypes. Adv, Immunol., 16: I 1973.

18. Diario Oficial de la Federación del 27 de mayo de 1987.
Legislación de Bancos de Sangre.
19. Quintanar de R.E. y Cols: "Utilidad del Laboratorio del Banco de Sangre en la Terapéutica Transfusional". Anuario de actualización en Medicina. 25 Hematología. IMSS. Vol IX, 1977.
20. Héctor Rodríguez Moyado y Elisa Quintanar García. Manual de Esquemas y Procedimientos Inmunoematológicos: Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional. IMSS.
21. Albarran de Stametelos Cecilia. Manual Técnico de Banco de Sangre. Ediciones Científicas. La Prensa Médica Mexicana.
22. Technical Methods and Procedures of the American Association of Blood Banks. Sixth Ed. AABB 1828. L. Street, N.W. Washington.
23. Mollison, P.L.; Blood Transfusion in Clinical Medicine, 5th. Ed. Blackweel, Oxford. 1972.
24. Wintrobe N.W. et. al: Clinical Hematology, 7th ed. Lea & Favi-
ger, Philadelphia, 1974.
25. J.G Kelton: Transfusión Sanguínea bases teóricas y aplicación
técnica. 1ra Edición; Ed. Doyma Barcelona España. 1986.