

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA**



**“DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE SUB GRUPOS
SANGUÍNEOS A₁ Y A₂ MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE
LECTINAS ANTI A₁ Y ANTI H EN DONANTES DE SANGRE Y
PACIENTES QUE ACUDEN AL BANCO DE SANGRE DEL
HOSPITAL DE CLINICAS UNIVERSITARIO”**

ELABORADO POR: ANA MARIA VILLALOBOS QUIÑONES

TESINA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA

***La Paz – Bolivia
2002***

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA**



**“DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE SUB GRUPOS
SANGUÍNEOS A₁ Y A₂ MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE
LECTINAS ANTI A₁ Y ANTI H EN DONANTES DE SANGRE Y
PACIENTES QUE ACUDEN AL BANCO DE SANGRE DEL
HOSPITAL DE CLINICAS UNIVERSITARIO”**

ELABORADO POR:

UNIV. ANA MARIA VILLALOBOS QUIÑONES

ASESORA:

DRA. ANA ALICIA RODRÍGUEZ BERTÓN

***La Paz – Bolivia
2002***

DEDICATORIA

Con todo mi amor, al buen Hacedor DIOS y Señor Nuestro, por ser el Apoyo Espiritual.

Con todo mi amor, a la Base de mi vida, mi Familia en especial a mis Padres por todo Su Cariño y Comprensión.

AGRADECIMIENTOS

A mi Asesora, Doctora Ana Alicia Rodríguez Bectón quien me brindo su valiosa colaboración y orientación durante el desarrollo de este trabajo.

A los Doctores, Técnicos y demás Personal del Laboratorio del Hospital de Clínicas Universitario por toda su colaboración.

Al Personal de Banco de Sangre del Hospital de Clínicas donde se llevo a cabo el procesamiento de este trabajo, por su cooperación brindada.

A mis Hermanos Rodolfo, Gabriel y Julia quienes estuvieron en los buenos y malos momentos de mi vida ¡GRACIAS!

TABLA DE CONTENIDO

- I. INTRODUCCIÓN
- II. DISEÑO TEORICO
 - A. MARCO REFERENCIAL
 1. Modelo teórico
 2. Antecedentes generales sobre el problema
 3. Descripción del ámbito de estudio
 4. Descripción del ámbito de investigación
 5. Fundamento de la Técnica
 - B. MARCO TEORICO
 - C. MARCO CONCEPTUAL
- III. OBJETIVOS
 - A. OBJETIVO GENERAL
 - B. OBJETIVOS ESPECIFICOS
- IV. DISEÑO METODOLOGICO
 - A. POBLACION EN ESTUDIO
 - B. MUESTRAS
 - C. DETERMINACIÓN DE SUBGRUPOS A1 Y A2
 - D. ANÁLISIS DE DATOS

V. RESULTADOS

VI. CONCLUSIONES

VII. DISCUSIÓN

VIII. RECOMENDACIÓN

IX. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

ANEXOS

INDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. DISEÑO TEORICO	3
A. MARCO REFERENCIAL	3
1. Modelo teórico	3
2. Antecedentes generales sobre el problema	4
3. Descripción del ámbito de estudio	14
4. Descripción del ámbito de investigación	15
5. Fundamento de la Técnica	15
B. MARCO TEORICO	16
C. MARCO CONCEPTUAL	22
III. OBJETIVOS	25
A. OBJETIVO GENERAL	25
B. OBJETIVOS ESPECIFICOS	25
IV. DISEÑO METODOLOGICO	26
A. POBLACION EN ESTUDIO	26
B. MUESTRAS	26

C	DETERMINACION DE SUBGRUPOS A1 Y A2	27
D	ANÁLISIS DE DATOS	27
V.	RESULTADOS	28
VI	CONCLUSIONES	32
VII	DISCUSIÓN	33
VIII	RECOMENDACIÓN	35
IX.	REVISION BIBLIOGRAFICA	36
ANEXOS		

INDICE DE GRAFICOS

Página

Grafico No 1. Estructura Química de la Sustancia H (Tipo I y II)	8
Grafico No 2. Estructura Química de los Antígenos A y B	9
Grafico No 3. Estructura Química de los Precursores para los Antígenos ABO	17

INDICÉ DE TABLAS

	Página
TABLA No 1. Enzimas de los Genes A,B y H	9
TABLA No 2. Subgrupos de A	11
TABLA No 3. Antígenos y Anticuerpos del Sistema ABO	19
TABLA No 4. Frecuencia de los Grupos Sanguíneos ABO en Poblaciones Seleccionadas	21

RESUMEN

El presente trabajo se llegó a realizar en el Hospital de Clínicas Universitario donde se determinó la frecuencia de subgrupos sanguíneos A1 y A2 mediante la utilización de lectinas anti A1 y anti H, durante el período de enero a mayo del año 2001.

La población en estudio estuvo constituido por todos los donantes de sangre y pacientes de los grupos sanguíneos A y AB que acuden al Banco de Sangre de dicha institución, donde no se efectuó diferenciación racial ni se consideraron otras variantes infrecuentes del grupo sanguíneo A. Así como también cabe resaltar que el sistema ABO se considero como dato adicional.

Las muestras estuvieron constituidos por sangre que se obtuvieron mediante la técnica de venipuntura en el caso de pacientes externos y en donantes de sangre la cantidad de muestra requerida fue de 3 a 5 ml de sangre recogida sin anticoagulante, los cuales fueron procesados en el laboratorio de Inmunohematología de dicha institución.

Para la determinación de todas las muestras se realizaron técnicas que permitieron obtener resultados satisfactorios tanto en la prueba directa en placa como en la prueba directa en tubo, la cual fue considerado como la "Regla de Oro" debido a que presenta mayor sensibilidad por efectuarse suspensiones precisas y la prueba inversa en tubo constituyo un método confirmatorio de las pruebas directas en placa y tubo.

De un total de 399 muestras del grupo sanguíneo A fueron analizados 134, de los cuales el mayor porcentaje correspondieron al subgrupo A1 (93,28%) y en menor porcentaje correspondieron a los subgrupos A2 (5,22%) y Aint (1,49%), en función a la interpretación de resultados señalados por la línea comercial Dia - Med. Estos datos obtenidos son similares a estudios realizados por diferentes autores.

I. INTRODUCCIÓN

En nuestro país (Bolivia),no se tiene mayor conocimiento de trabajos de investigación efectuados en cuanto a la determinación de subgrupos sanguíneos A (A_1 y A_2) en cambio, el estudio de las frecuencias de los subgrupos A_1 y A_2 a ocupado un lugar importante en la inquietud científica e investigativa de estudiosos del apasionado ámbito de la inmunohematología en diferentes países del mundo. Es así que en el año 1997 investigadores cubanos dieron a conocer la frecuencia de los grupos sanguíneos A_1 , A_2 , A_{int} , A_{el} , B y O.

El estudio de los grupos sanguíneos, adquirió gran importancia, desde que descubrieron en 1901 la presencia de aglutininas en la sangre por Karl Landsteiner y Shattock. En 1907, Jansky determinó los cuatro grupos sanguíneos O, A, B y AB, y Moss revisó el trabajo en 1910. Posteriormente Von Dungern y Hirzfeld en 1911 describieron los subgrupos A_1 , A_2 , $A_1\bar{B}$ y $A_2\bar{B}$ no fueron menos importantes, y por supuesto el sistema Rh descrito por Wiener en 1940 fue por demás trascendente. Su importancia radica principalmente en el logro de transfusiones sanguíneas seguras donde tanto el sistema ABO y Rh deben ser los mismos, es decir, que sean compatibles tanto donante como receptor para no ocasionar alteración ninguna en el receptor.

” Es además muy importante la identificación de los donantes de sangre que pertenecen a los subgrupos débiles de A con objeto de evitar que sean erróneamente clasificados como donantes del grupo sanguíneo O ”.

Si se transfundiera de uno de los subgrupos de A indicados a un receptor grupo O; podría tener lugar a una reacción transfusional. De igual manera sucedería si se transfundiera sangre A_1 a un receptor A_2 aunque la literatura refiere que esta reacción suele ser poco severa y muy rara, debido al bajo porcentaje de individuos A_2 que expresan la aglutinina anti - A_2 .

Además de todo lo anteriormente mencionado, la determinación de los grupos sanguíneos, que al principio se limitaban a la selección de donantes y receptores para la transfusión sanguínea, se ha extendido a la determinación de exclusión de paternidad y también al ámbito de la criminología.(7)

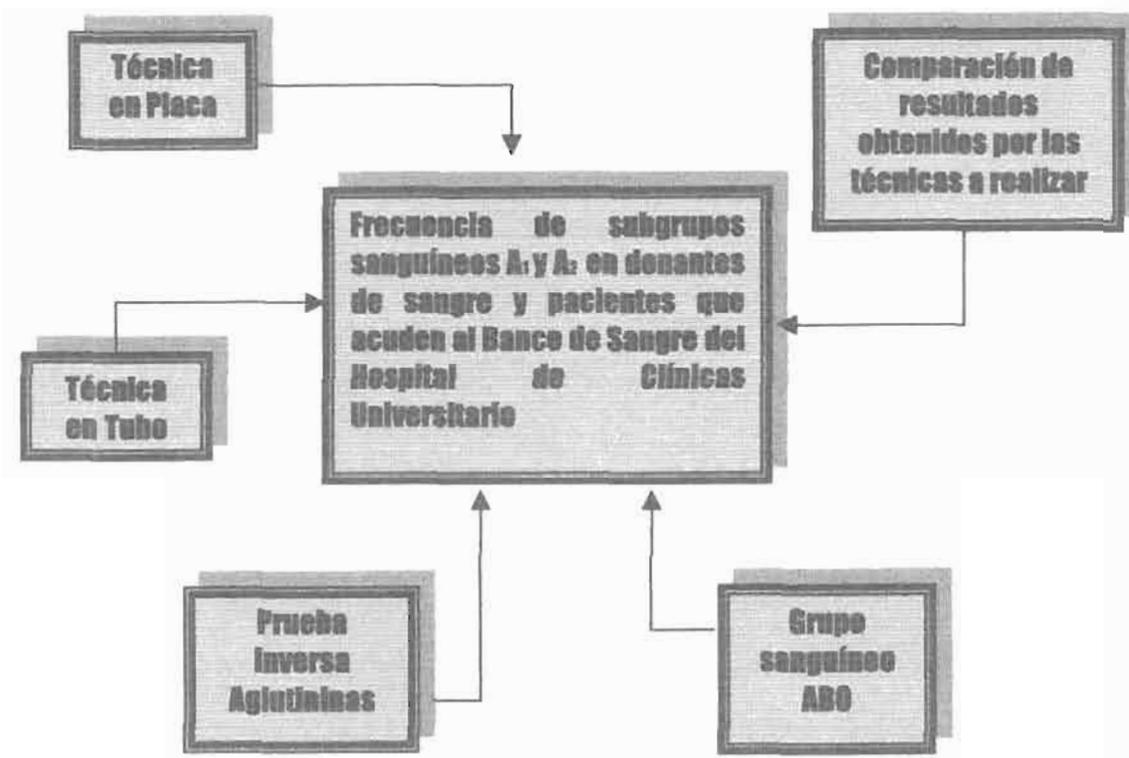
Finalmente, se hace notar que el Hospital de Clínicas Universitario pasa a ser el centro de salud idóneo para llevar a cabo el presente trabajo de investigación en todos los donantes de sangre y pacientes que acuden al Banco de Sangre puesto que constituye el Centro Normativo Nacional de Referencia (Ley 1687 de Bancos de Sangre y Medicina Transfusional , año 1996). De manera adicional la elaboración del presente trabajo se justifica plenamente ya que no se tienen antecedentes de estudios realizados respecto a la determinación de subgrupos sanguíneos A_1 y A_2 en nuestra población, por ello en esta oportunidad, los esfuerzos estarán concentrados a someter a un análisis profundo y evaluación de los resultados obtenidos, para aportar de esta manera importante información científica.

El aporte de la presente investigación, radica principalmente en demostrar la importancia de la implementación de la prueba directa en Tubo por la eficacia que presenta en la obtención de resultados y en el buen manejo del instrumento siguiendo rigurosamente los pasos establecidos de la metodología a usarse en los bancos de sangre en los cuales se efectuó la tipificación de grupos sanguíneos.

II. DISEÑO TEORICO.

A. Marco referencial.

1. Modelo teórico.



2. Antecedentes generales sobre el problema.-

A principios del siglo XX se llevo a cabo un descubrimiento crucial en Medicina Transfusional, Kart Landsteiner demostró que cuando se combinaban dos muestras de sangre, en algunos casos se mezclaban sin presentar signos apreciables de reacción, pero en otros se producía una evidente aglutinación de los glóbulos rojos.

Esta aglutinación se atribuyo a la presencia de antígenos en los glóbulos rojos y anticuerpos en el suero. Más tarde se comprobó que existían dos antígenos eritrocitarios: A y B.

La superficie de los eritrocitos humanos contiene gran número de diferentes determinantes antigénicos; los cuales son productos directos o indirectos de los genes.

Erase una vez cuando el ábaco se consideraba el último avance en instrumentos para calcular y podíamos contar todos los antígenos del grupo sanguíneo sin dificultad, los símbolos alfabéticos servían perfectamente bien, para designarlos, desde el comienzo del alfabeto, el antígeno A, después el B. ¿Qué podía ser mas fácil? . La denominación O supuestamente significaba la ausencia de antígenos, sólo que más adelante se descubrió uno al que se llamó H en los hematíes del grupo O, y en diferentes grados, en aquellos de otros grupos sanguíneos, se lo llamó H por "humano".(7)

De esta manera nace el sistema ABO, pero en la actualidad se describen más de veinte sistemas de grupos sanguíneos, dentro de cada sistema de grupos

sanguíneos, los antígenos son heredados al parecer como productos de un gen sencillo, de un conjunto de genes sencillos, o de un conjunto estrechamente ligados entre sí.

Se han descrito más de 400 antígenos eritrocitarios, cada antígeno está definido por un anticuerpo específico que reacciona con él. Adicionalmente, en el suero se encuentran dos tipos de anticuerpos: anti - A, que reacciona con los glóbulos rojos del grupo A y anti - B, que aglutina a los del grupo B.

Los anticuerpos séricos anti-A y anti-B varían de acuerdo con lo antígenos eritrocitarios:

- ∞ Si los glóbulos rojos tienen antígeno A (**grupo A**) el suero tiene anticuerpo anti - B.
- ∞ Si los glóbulos rojos tienen antígeno B (**grupo B**) el suero tiene anticuerpo anti - A.
- ∞ Si los glóbulos rojos tienen antígenos A y B (**grupo AB**) el suero no tiene anticuerpos anti - A, ni anti - B, y finalmente,
- ∞ Si los glóbulos rojos no tienen antígenos A ni B (**grupo O**), el suero tiene anticuerpos anti - A y anti - B. (7)

Junto con el Sistema de grupos sanguíneos A, B y O, el Sistema Rh es de vital importancia en Medicina Transfusional. La principal diferencia entre el sistema ABO y el sistema Rh es la siguiente: en el sistema ABO, las aglutininas responsables de producir reacciones transfusionales se presentan de forma espontánea, mientras que en el sistema Rh, la persona debe exponerse primero de

*forma muy intensa a un antígeno del sistema Rh (fundamentalmente el **antígeno D**), habitualmente mediante transfusión de sangre, o en el caso de la mujer gestante cuyo producto presenta el antígeno D, y ella carece de él . (Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido).(4)*

De manera básica será importante mencionar que la presencia de los antígenos A, B y O en los hematíes depende de la herencia de los genes alélicos A, B y O. Un gen H situado en un locus separado codifica la sustancia precursora sobre la que actúan los productos de los genes A y B. Estas son enzimas que actúan como transferasas específicas. El producto del gen H es una enzima que produce sustancia H, las transferasas de los genes A y B son enzimas que convierten la sustancia H en antígeno A o B. El gen O es un alelo silencioso que no altera la estructura de la sustancia H, por tanto , los individuos del grupo O tienen grandes cantidades de sustancia H en sus células(6)

Los antígenos A y B son detectables al nacer, si bien no están plenamente desarrollados.

Los antígenos pertenecientes al sistema ABO no solo están presentes en los hematíes, sino también en muchas otras células del organismo, así como en la mayoría de sus líquidos (leche, orina, saliva, etc.). En cuanto a su estructura química se presentan como glucoproteínas y glucolípidos.

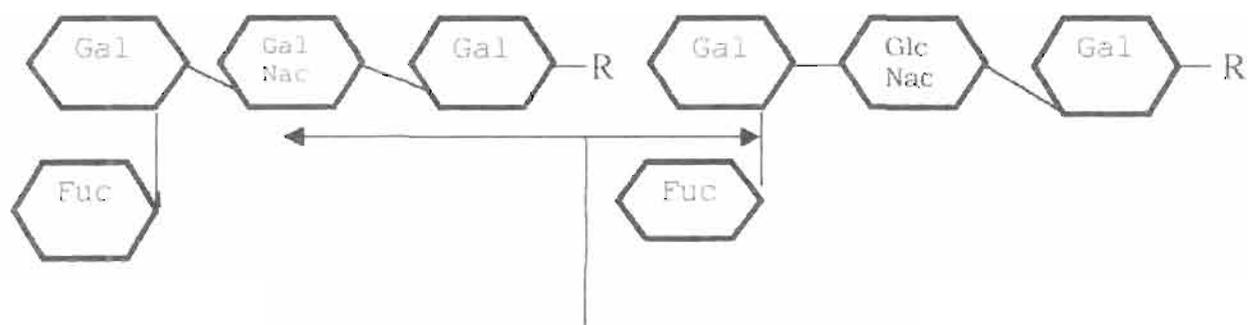
*En lo que respecta al sistema ABO, los glóbulos rojos pueden exhibir uno de estos antígenos en su superficie, los dos, o ninguno de ellos. Dando lugar a los **grupos sanguíneos A, B, AB y O**. Los antígenos ABO de los hematíes derivan de las*

cadena de precursores de sustancias H tipo II, mientras que, los antígenos ABO del plasma provienen de los precursores de tipo I y de tipo II.(1)

La sustancia H, precursora de los antígenos A y B se forma por adición de una fucosa (Fuc) a la galactosa terminal (Gal) ya sea en las cadenas tipo I o en las de tipo II. Después de añadirse la fucosa a las cadenas de tipo II, la estructura que se obtiene se denomina H de tipo II. Se han identificado cuatro clases de H de tipo II, H₁ y H₂ son simples cadenas " rectas " de glucolípidos, mientras que los tipos H₃ y H₄ tienen cadenas ramificadas.(1)

GRAFICO N. 1

Estructura química de la sustancia H (Tipo I y II)



ENZIMA 1,2 FUCOSIL TRANSFERASA

↑
GEN H

GAL = Galactosa

Nac Glc = N- Acetil glucosamina

Fuc = Fucosa

La especificidad de los antígenos A y/o B, está determinada por adición de un monosacárido específico a la Galactosa terminal de la sustancia H. El antígeno A se forma mediante la adición de la N- Acetil-galactosamina (Gal - Nac); el antígeno B por la adición de la galactosa (Gal) (1)

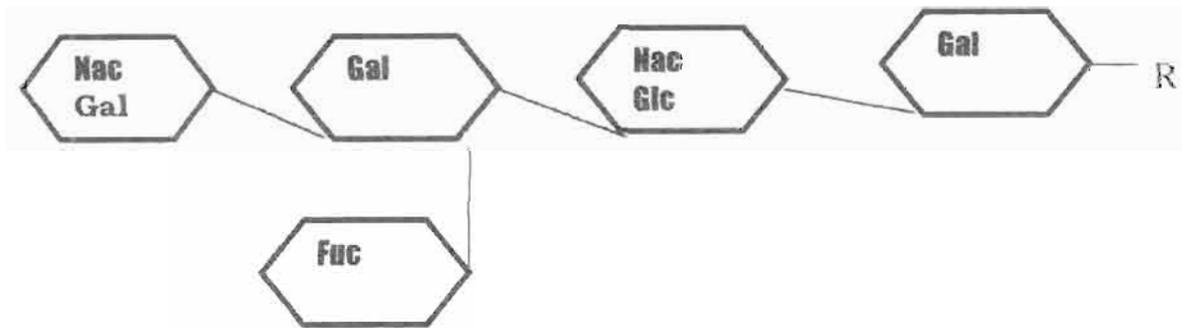
TABLA N° 1

Enzimas de los genes A, B y H

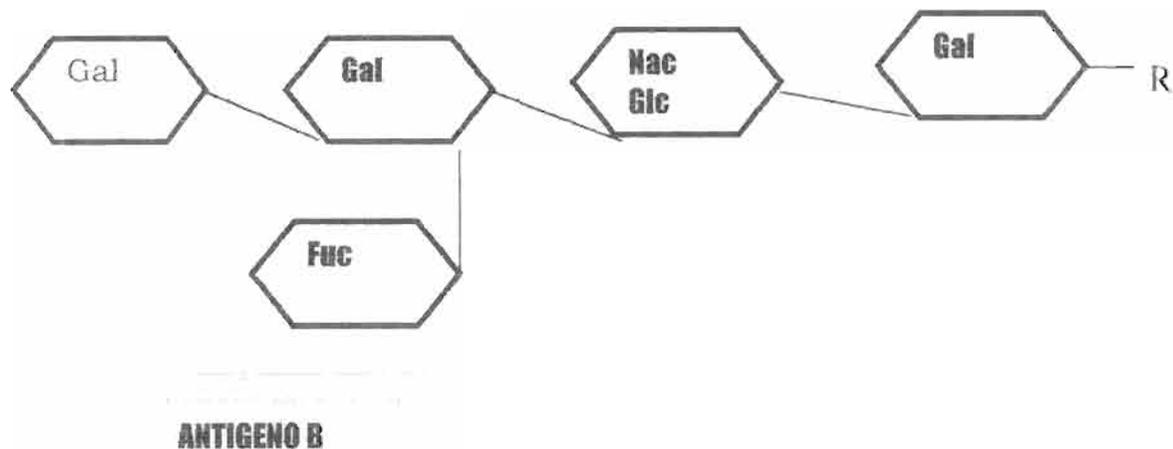
GEN	ENZIMA	AZUCAR ACONDICIONADO
A	1,3 N-ACETIL GALACTOSAMINIL TRANSFERASA	Nac Gal
B	1,3 GALACTOSIL TRANSFERASA	Gal
H	1,2 FUCOSIL TRANSFERASA	Fuc

GRAFICO N. 2

Estructura química de los antígenos A y B



ANTIGENO A



Las enzimas que añaden los azúcares mencionados están codificadas por los genes A y B respectivamente

Otro aspecto importante a ser considerado por el lector de la presente tesina, es precisamente la característica importante que presenta el fenotipo A, y es precisamente que, puede dividirse en dos sub grupos: A_1 y A_2 . Aproximadamente el 80 % de los individuos del grupo A tienen el fenotipo A_1 y el 20 % el fenotipo A_2 , estos porcentajes están definitivamente relacionados con características genéticas y raciales de los individuos. Más adelante se hará referencia al hecho de que entre estos dos subgrupos existen diferencias cualitativas y cuantitativas.

Todos los conceptos mencionados anteriormente son de vital importancia para comprender claramente las diferencias entre los subgrupos sanguíneos A_1 y A_2 .

Los individuos pertenecientes al grupo sanguíneo A, producen antígeno A, a partir de todas las cadenas H de tipo II (H_1 , H_2 , H_3 y H_4). Los individuos A_2 producen antígeno A solamente a partir de precursores H_1 y H_2 , mientras que los individuos

A₁ lo hacen a partir de los precursores H₁,H₂,H₃ y H₄. Por tanto los individuos A₁ presentan más cantidad de antígeno A por hematie que los individuos A₂. (2)

TABLA No 2

SUBGRUPOS DE A		
Fenotipo	A₁	A₂
Frecuencia	80 %	20 %
Substancia precursora	H₁ H₂ H₃ H₄	H₁ H₂
Número de sitios antigénicos en el eritrocito	850.000	240.000
Anticuerpo pre - sente en el suero	Anti-B	Anti-B Anti- A₁ 3 %

Aproximadamente el (2 – 3 %) de los individuos A₂ y el 25 % de los individuos A₂B producen un anticuerpo denominado anti- A₁, este anticuerpo reacciona con los hematíes A₁, pero no reacciona con los hematíes A₂.

Los hematíes pertenecientes al subgrupo A_3 presentan un modelo característico de aglutinación cuando reaccionan con el suero anti-A; algunos de los hematíes son aglutinados mientras que otros no lo son, es decir, ofrecen una imagen de doble población. El fenotipo A_3 presenta una frecuencia de 1 por 1000.

Subgrupos más raros o variantes de A son: A_{end} , A_{firm} , A_{int} , A_{bantua} , A_{el} , A_x (A_4 , A_{ss} , A_z y A_o) A_m .(3)

También es importante mencionar que recientemente se ha demostrado que sustancias con las propiedades de los anticuerpos anti-A y anti-B están ampliamente distribuidas en la naturaleza y que actúan como aglutininas activas contra los antígenos ABO.

Los extractos de varias semillas poseen potentes aglutininas particularmente anti-A y anti-H.

Los extractos de **Dolichos biflorus** y **Phaseolus lunatas** aglutinan con mucha avidez a las células A_1 y A_1B y débilmente a A_2 , no produciendo aglutinación con los demás subgrupos de A. En especies de **Ulex europeaeus** y **Lotus tetragonolobus** se encuentra anti-H que aglutina a los hematíes O y A_2 . Los hematíes A_1 y A_1B dan reacciones débiles o negativas.(6)

El estudio de la frecuencia de los subgrupos A_1 y A_2 ha ocupado un lugar importante en la inquietud científica e investigativa de estudiosos del apasionado ámbito de la inmunohematología en diferentes países del mundo. Es así que en el año 1997 investigadores cubanos dieron a conocer la frecuencia de los grupos sanguíneos A_1 , A_2 , A_{int} , A_{el} , B y O en 2107 donantes de sangre ,clasificados en 1261 blancos,569 mestizos y 277 negros. El grupo sanguíneo A_1 predominó en los

blancos y el fenotipo A_{el} se identificó únicamente en este grupo racial. Los grupos sanguíneos B y A_{mi} fueron más frecuentes en los negros. En este grupo racial se observó una alta incidencia de fenotipos con deficiencia de sustancia H , que originó un aumento de la frecuencia de los grupos A_2 y del A_2B en relación con el A_1B . El grupo sanguíneo O fue más frecuente en los mestizos en relación con los blancos. Las frecuencias génicas calculadas expresaron resultados similares a los observados en las frecuencias fenotípicas. (11)

También se investigó la deficiencia de sustancia precursora H de los grupos sanguíneos A y AB , en 547 donantes de sangre (397 blancos y 150 negros). Se estimó el rango de puntuación de la aglutinación de un grupo control de 40 donantes, correspondientes a los grupos sanguíneos A_1 , A_2 , A_1B y A_2B . En el suero de los donantes deficientes de H se determinó la presencia de anticuerpos eritrocitarios. En los donantes blancos el grupo A_1 predominó sobre el A_2 de forma contraria ocurrió en los negros. En los dos grupos raciales estudiados, tanto para el grupo A como el AB , se encontraron variantes deficientes de H codificados por los genes A_1 y A_2 . En toda la muestra se halló una mayor frecuencia de variantes deficientes A_2B , especialmente en los negros. No se observaron anticuerpos anti- H en el suero de las variantes. (12)

Los subgrupos de A_1 y A_2 se determinaron con el empleo de las Lectinas anti- A_1 de *Dolichos biflorus* (Menarini) y anti- H de *Ulex europaeus* (Menarini), según las instrucciones del productor. Los eritrocitos que reaccionaron con cuatro cruces de aglutinación con el anti- A_1 y no reaccionaron con el anti- H se clasificaron como fenotipo A_1 , mientras que se consideraron como fenotipo A_2 los que no reaccionaron con el anti- A_1 y mostraron dos cruces de aglutinación con el anti- H .

En 1911 Von Dungern y Hirszfild describen estos subgrupos de A: A_1 , A_2 , A_1B y A_2B , donde casi todos los sueros Anti-A (de donadores B) contienen dos anticuerpos anti-A: A y A_1 ; Anti-A aglutina a los hematies de los subgrupos A_1 , A_2 , A_1B y A_2B ; mientras que A_1 aglutina solamente las sangre A_1 y A_1B .

El anticuerpo A_1 se encuentra en el suero del (2 – 3 %) de los sujetos A_2 y en aproximadamente el 26 % de los A_2B . A_2 reacciona más débilmente que A_1 con anti-A y aun cuando se ha sugerido que la diferencia entre ambos es solamente cuantitativa se admite en general su naturaleza cualitativa. (8)

3. Descripción del ámbito de estudio

El Banco de Sangre se encuentra en el Hospital de Clínicas Universitario que está ubicado en la Avenida Saavedra N° 2245 – Miraflores. Para brindar la mejor atención posible a los donantes de sangre, ha sido dividido en diferentes áreas; estas son: Recepción y Secretaria, Consultorio Clínico para donantes, Toma de Muestras, Area de Flebotomías, Laboratorio de Inmunoematologia, Area de refrigerio, Area de Hemoterapia y sala de descanso.

De igual manera forman parte del Banco de sangre el Área de Fraccionamiento Sanguíneo y el Laboratorio de Inmunoserologia.

El plantel profesional esta conformado por Médicos Especialistas en Hematologia, Bioquímicos especializados en Inmunologia e Inmunoematologia y Bancos de Sangre, Técnicos de Laboratorio, Secretaria, Administrador y personal de Limpieza.

4. Descripción del ámbito de investigación .

Para realizar la determinación de los subgrupos sanguíneos A_1 y A_2 mediante la utilización de Lectinas anti- A_1 y anti-H, tanto en los donantes de sangre y pacientes que acuden al Banco de Sangre del Hospital de Clínicas Universitario, se requiere de cómodos ambientes y sillones especialmente diseñados para extracciones sanguíneas.

Para dicha determinación se trabajara en el laboratorio de Inmunohematología; ambiente que tiene los equipos y reactivos necesarios para la óptima realización de la técnica que permitirá obtener resultados satisfactorios.

5. Fundamento de la técnica.

Uso de Lectina anti- A_1 (*Dolichos biflorus*) -

Los subgrupos de mayor importancia dentro del grupo A, son el A_1 y el A_2 . Serológicamente los hematíes A_2 presentan menor expresión del antígeno A que los hematíes A_1 . Dentro del fenotipo A_2 el gen A es codificado por la N-acetil Galactosamina Transferasa, se caracteriza por ser menos eficaz para convertir las cadenas activas H en antígeno A.

*La lectina anti- A_1 es un extracto purificado de granos (semillas) de *Dolichos biflorus* que contiene aglutininas contra los subgrupos A_1 y A_1B . El reactivo no aglutina los hematíes de los subgrupos A_2 y A_2B y de otros subgrupos.*

Uso de Lectina anti-H (Ulex europaeus).-

La lectina anti-H es un extracto preparado a partir de Ulex europaeus en buffer salino, contiene aglutininas contra el antígeno H. Su utilización mediante la técnica en tubo permite identificar la presencia del antígeno H en hematíes y en saliva. El antígeno H se encuentra expresado en la membrana de hematíes en diferentes cantidades dependiendo del grupo sanguíneo (sistema ABO). Se expresa en mayor cantidad en hematíes grupos O, A_{1m}, A₂ y el grupo que expresa menor cantidad es el A₁B y A₂

B- Marco Teórico

Los eritrocitos poseen en su membrana sustancias antigénicas cuya estructura está determinada genéticamente; éstas pueden identificarse serológicamente mediante anticuerpos específicos . Se distinguen dos tipos de anticuerpos: inmunes y naturales. Los anticuerpos inmunes se producen por el proceso de inmunización y se distinguen distintos tipos, con características propias. Los anticuerpos naturales, a diferencia de los anteriores, se presentan en el plasma de un individuo sin el estímulo antigénico previo; es decir, se presentan natural y espontáneamente.(5)

Pertencen a la categoría de anticuerpos naturales los del sistema ABO, hecho que facilitó que fuera el primero en descubrirse. La mayoría de los demás, como ocurre en el sistema Rhesus, son de sensibilización, (para que aparezcan se debe producir una inmunización previa) .

La primera observación de la aglutinación de los hematíes humanos por el suero humano fue hecha por Landsteiner, como ya se mencionó anteriormente. Los anticuerpos ABO se presentan regularmente en la sangre cuando está ausente el antígeno correspondiente.

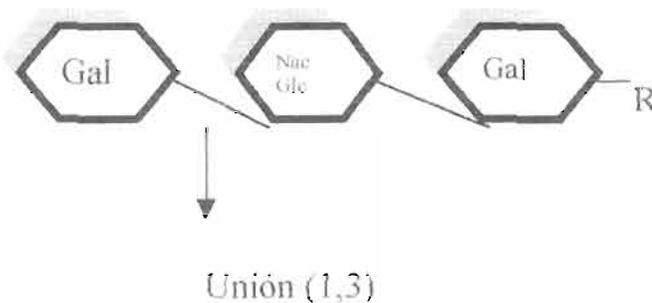
Existen dos tipos posibles de sustancias precursoras para los antígenos ABO: tipo I y tipo II. Ambos constan de azúcares idénticos, pero la unión de los azúcares terminales difiere en ambos.

El precursor del tipo I tienen una galactosa terminal (GAL) unida a una N-acetil glucosamina sub terminal (Glc-Nac) por una unión 1, 3. Esos mismos azúcares se unen mediante un enlace 1,4 en el precursor del tipo II.(2)

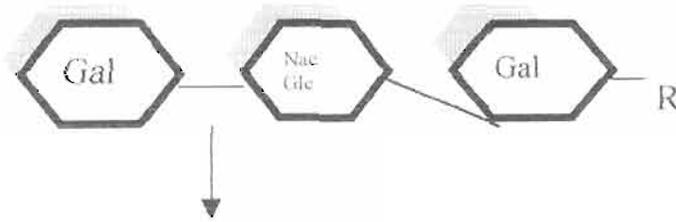
GRAFICO N. 3

Estructura química de los precursores para los antígenos ABO.

Precursor de tipo I



Precursor de tipo II



Unión (1,4)

El niño comienza a producir sus anticuerpos entre los tres y seis meses de edad, alcanzan su título máximo entre los cinco y diez años; luego comienzan a declinar muy gradualmente. El hallazgo de anticuerpos en recién nacidos indica que han sido transferido pasivamente por la circulación materna durante la vida fetal. Estos anticuerpos también pueden ser detectados en la saliva.

No se conoce el origen de anti-A y anti-B , discutiéndose si son determinados genéticamente o son el producto de la inmunización del individuo por sustancias A y B del medio ambiente; (Alimentos, bacterias, etc).

TABLA No 3

Antígenos y Anticuerpos del sistema ABO			
Grupo	Subgrupo	Antígenos eritrocitarios	Anticuerpos
O	-	Ninguno	Anti-A Anti-A ₁ Anti-B
A	A ₁ A ₂	A + A ₁ A	Anti-B Anti-B Anti-A ₁
B	-	B	Anti-A
AB	A ₁ B A ₂ B	A + A ₁ + B A B	Anti-A ₁

El grupo sanguíneo A puede ser subdividido en los subgrupos A₁ y A₂ en base al número de sitios antigénicos-A , sobre el eritrocito. Aproximadamente 80% de las personas A y AB pertenecen al subgrupo A₁. La elevada densidad del antígeno sobre los eritrocitos A₁ se traduce en la formación de una especificidad antigénica nueva. Pero relativamente débil, tal vez como consecuencia de la interacción de dos

oligosacàridos A, estrechamente adyacente. Las personas A_2 y en especial A_2B pueden tener anticuerpos anti- A_1 .

Puesto que los anticuerpos anti- A_1 son débiles, no siempre son prácticos para la diferenciación entre A_1 y A_2 . La distinción por lo general se hace empleando sustancias llamadas Lectinas

En un estudio (Instituto de Hematología e Inmunología ciudad de la Habana - Cuba "Frecuencia de los grupos sanguíneos A_1 y A_2 y de las variantes deficientes de sustancia H en donantes de sangre de raza blanca ") realizado se indica que aproximadamente el 80% de los Europeos del grupo A pertenecen al subgrupo A_1 y el resto es casi totalmente del subgrupo A_2 (11).

La diferencia se pone de manifiesto al enfrentarlo con la Lectina de Dolichos biflorus. Cuando la Lectina se diluye de forma adecuada, únicamente aglutina a los hematíes A_1 , si se utiliza un extracto muy concentrado, se consigue aglutinar algunas muestras de A_2 de adulto, pero no las de un A_2B adulto o las de sangre de cordón A_2 .

Los azúcares inmunodominantes son idénticos en A_1 y A_2 , pero el anti- A_1 reacciona sólo con los hematíes en los que los sitios A se encuentran suficientemente próximos. Ciertos estudios cuantitativos indican que se necesitan como mínimo $2,5-4 \times 10^5$ sitios A para que se produzca la aglutinación por reactivos anti- A_1

TABLA N° 4

Frecuencia de los grupos ABO en algunas poblaciones seleccionadas

Población Características	% de los distintos fenotipos						especiales
	N° estudiado	0	A ₁	A ₂	B	A ₁ B	
Indios sud- Americanos	100	0	0	0	0	0	Todos 0
Vietnamitas Aborígenes A ₂	45	21.4	0	29.1	4.5	0	Ausencia de
Australianos A ₂ y	44.4	55.6	0	0	0	0	Ausencia de
Germanos	42.8	32.5	9.4	11	3.1	1.1	B
Bengalíes	22	22.2	1.8	38	14.8	0.9	B es la más Frecuente
Japoneses	18.2	36.1	18	4.8	6.3	6.2	A ₂ muy frecuente

Se reconocen a veces, algunas formas de A, más débiles, incluso que el A₂: los hematíes A₃, estos son aglutinados parcialmente por el suero anti-A de un donante del grupo B, dando una imagen de doble población ; cuando se utiliza suero del grupo O , la aglutinación es algo más visible, aunque sigue siendo débil ; el suero de donantes A₃ suele contener anti- A₁.

C. Marco Conceptual

- ▲ **Aglutinación:** Agregado de células o partículas debido a una formación entrelazada, que ocurre cuando el antígeno reacciona con el anticuerpo. Se puede ver a simple vista en el tubo de ensayo, o también haciendo uso del microscopio.
- ▲ **Aglutinina;** anticuerpo formado en la sangre, capaz de producir aglutinación contra antígenos específicos. Ej.; el anti – Rh, aglutinina que no existe normalmente en la sangre, pero que se produce en una mujer Rh – embarazada de un feto Rh+ o después de múltiples transfusiones con sangre Rh+.
- ▲ **Anticuerpo;** son glucoproteínas presentes en plasma y líquidos intersticiales que el organismo elabora ante la entrada de un antígeno y que tienen la capacidad de unirse específicamente al mismo. Son producidos y secretados por células plasmáticas resultantes de la activación y diferenciación de linfocitos B. Se tienen 5 clases, IgG, IgM, IgD, IgA e IgE.

▲ **Antígenos;** Son sustancias capaces de inducir la producción de anticuerpos con gran especificidad para reaccionar con ellos.

En la naturaleza existen o pueden obtenerse a partir de ciertas sustancias, fracciones capaces de reaccionar con los anticuerpos pero no-de generarlos, (haptenos).

▲ **Anti – A;** anticuerpo que reacciona contra el antígeno principal del grupo sanguíneo A

▲ **Anti-H;** es un anticuerpo poco frecuente, que aparece en individuos con un fenotipo muy raro Oh (Bombay) en forma de hemolisina y como aglutinina casi tan activa a 37 grados centígrados como a cero grados centígrados.

▲ **Determinantes antigénicos;** es la zona restringida de la molécula antigénica que determina su especificidad. Dado que pueden tener varios determinantes antigénicos diferentes en una molécula, la inoculación de esta originara en el receptor anticuerpos con distinta especificidad.

▲ **Enzima;** sustancia capaz de acelerar o provocar ciertos procesos químicos sin sufrir ninguna modificación. Son complejos orgánicos que catalizan reacciones bioquímicas y están compuestos por un grupo prostético o coenzima, que tienen especificidad funcional, y un grupo prostético o apoenzima, con especificidad de sustrato.

▲ **Estandarización;** procedimiento que se sigue para poner “ a punto ” una técnica y a partir de la estandarización puede ser utilizada con igual probabilidad de obtener resultados satisfactorios. En términos generales

implica la comparación de una técnica frente a otra de la cual se tienen conocimiento de su rendimiento.

- ▲ **Fenotipo;** *conjunto de las propiedades manifiestas de un organismo, sean o no hereditarias. Grupo de individuos de aspecto semejante pero de diferente constitución genética.*

- ▲ **Frecuencia;** *Numero de casos que ocurren en una determinada población por unidad de tiempo. Repetición reiterada de un acto o suceso.*

- ▲ **Lectinas;** *son extractos de semillas de plantas, que reaccionan selectivamente con algunos antígenos del grupo sanguíneo que son carbohidratos.*

- ▲ **Reacción transfusional;** *son alteraciones que se produce durante la venoclasia, de forma inmediata o tardía. Así se pueden observar: reacciones hemolíticas por sangre incompatible; reacciones febriles que no son hemolíticas, que son ocasionadas por anticuerpos citotóxicos aglutinantes en el receptor, dirigidos contra antígenos de leucocitos del donador.*

- ▲ **Título;** *grado, valor o proporción. En términos aplicados a reacciones de aglutinación, sería la mayor dilución de un suero que aún evidencia reacción de aglutinación.*

III. OBJETIVOS.

A. Objetivo General

- Determinar la frecuencia de subgrupos sanguíneos A_1 y A_2 mediante la utilización de Lectinas anti- A_1 y anti-H en donantes de sangre y pacientes que acuden al Banco de Sangre del Hospital de Clínicas Universitario, de la ciudad de La Paz- Bolivia, durante el periodo de Enero a Mayo del año 2001

B. Objetivos Específicos.

- Estandarizar la técnica directa en placa y efectuar la técnica directa en tubo para la determinación de los subgrupos sanguíneos A_1 y A_2 mediante la utilización de Lectinas anti- A_1 (Dolichos biflorus) y anti-H (Ulex europeus).

- Validar la prueba inversa identificando aglutininas en suero mediante la utilización de un panel celular (eritrocitos de fenotipo conocido) A_1 y A_2 , como método confirmatorio de las técnicas directas en placa y tubo.

- Determinar la Eficacia de la técnica directa en tubo y la técnica inversa vs. la técnica directa en placa, y a su vez comparar los resultados obtenidos entre estas técnicas.

- *Determinar la frecuencia de grupos sanguíneos ABO en donantes de sangre y pacientes que acuden al Banco de Sangre del Hospital de Clínicas Universitario, de la ciudad de La Paz durante el periodo de Enero a Mayo del año 2001.*

IV. DISEÑO METODOLÓGICO.-

A. Población en Estudio.-

La población en estudio estuvo constituido por todos los donantes de sangre y pacientes de los grupos sanguíneos A y AB que acudan al Banco de Sangre del Hospital de Clínicas Universitario, durante los meses de Enero a Mayo del año 2001. No se efectuó diferenciación racial (blancos,mestizos,etc), ni se consideraron otras variantes infrecuentes del grupo sanguíneo A.

B. Muestras.

Las muestras estuvieron constituidos por sangre que se obtuvieron mediante la técnica de venipuntura, en el caso de pacientes externos y donantes de sangre, la cantidad de muestra requerida fue de 3 a 5 ml de sangre recogida sin anticoagulante, para su posterior centrifugación y separación en paquete globular y suero, mismos que fueron almacenados por separado en tubos de ensayo de vidrio con tapones de goma cuidadosamente identificados con el respectivo número de muestra que se asignó a todos y cada uno de los donantes y pacientes incluidos en la

presente investigación. Las muestras se conservaron a menos cuatro grados centígrados hasta el momento de su procesamiento

C. Determinación de Subgrupos A_1 y A_2

Para la determinación de subgrupos sanguíneos A_1 y A_2 mediante la utilización de Lectinas anti - A_1 y anti - H en donantes de sangre y pacientes que acuden al Banco de Sangre del Hospital de Clínicas, se llegó a preparar una suspensión de los hematíes problema al 5% con solución fisiológica para la prueba directa en Tubo, al cual se dispenseo 50 ul del reactivo anti - A_1 y se añadió al mismo 50 ul de la suspensión de hematíes al 5%. Con el uso de las Lectinas anti - H se siguió los mismos pasos, pero se utilizo el doble del reactivo anti - H (100 ul).

Para la prueba directa en Placa, se colocaron dos gotas de muestra en la placa y se añadió una gota del reactivo anti - H y anti - A_1 se homogenizo con una varilla y se observo la aglutinación.

En la prueba Inversa en Tubo como método confirmatorio, se determinaron las aglutininas presentes en el suero de las muestras mediante la utilización de un panel celular (eritrocitos de fenotipo conocido A_1 y A_2), donde se siguen los mismos pasos que la prueba directa en Tubo (Ver Anexo III).

D. Análisis de Datos.

Después del procesamiento de las muestras de los donantes de sangre y pacientes que acuden al Banco de Sangre del Hospital de Clínicas

Universitario, se realizó el análisis de los datos obtenidos por las diferentes Técnicas utilizadas: prueba directa en Tubo, en Placa y la prueba Inversa.

V. RESULTADOS . -

Después de la realización de la parte practica de la presente investigación se obtuvieron los siguientes datos:

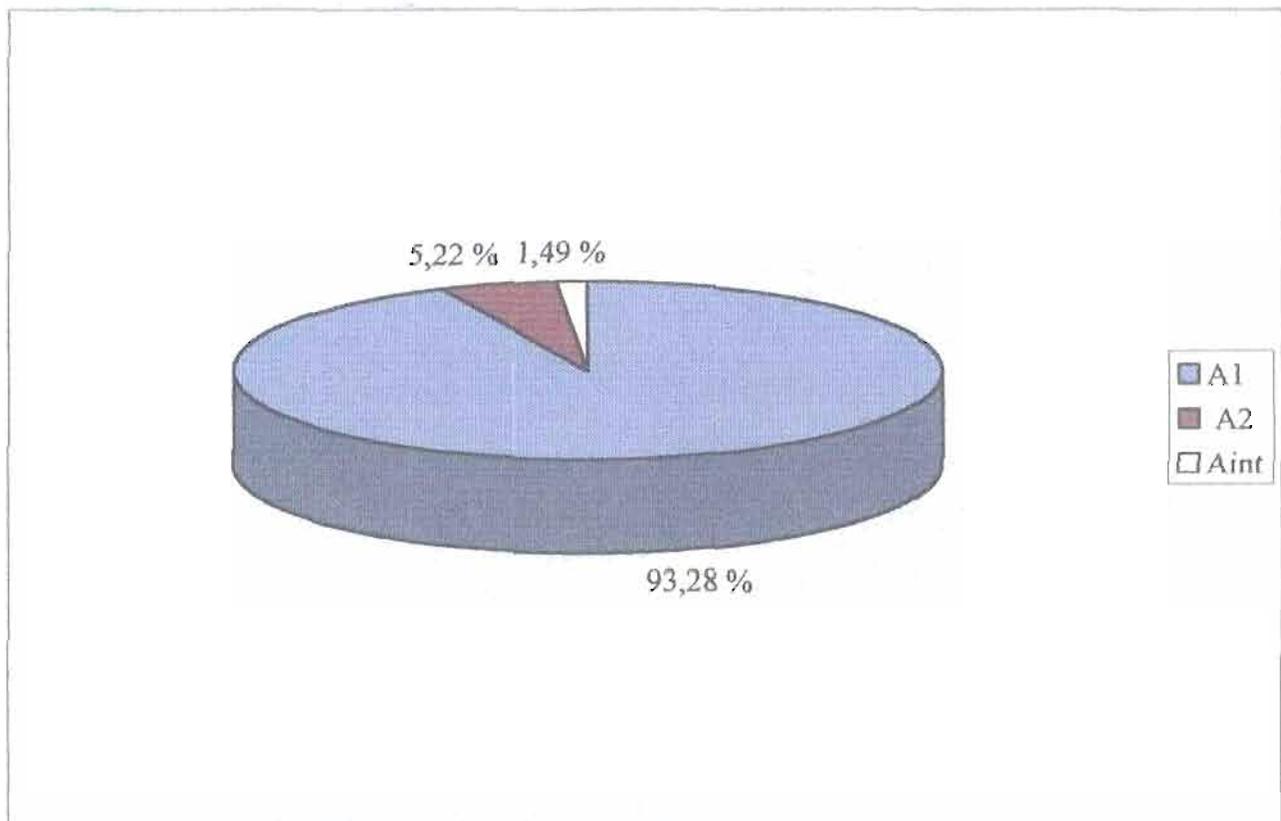
- *La técnica convencional utilizada para determinar la frecuencia de subgrupos sanguíneos fue estandarizada, siguiendo las instrucciones provistas por la línea comercial Dia-Med (Diagnostika – Suiza).*

De un total de 399 muestras del grupo sanguíneo A; fueron analizadas 134 muestras representativas de las cuales, el mayor porcentaje correspondieron al subgrupo A_1 , y en menor porcentaje correspondieron a los subgrupos A_2 y A_{int} en función a la interpretación de resultados señalados por la línea comercial Dia- Med. Donde se puede observar en el siguiente Grafico (Ver Tabla – Anexo IV)

GRAFICO I

Frecuencias Fenotípicas de los Subgrupos A (A_1 , A_2 y A_{int}) obtenidos mediante la Técnica Convencional

Hospital de Clínicas Universitario, Enero – Mayo / 2001



Se consideraron las muestras A_1 cuando presentaron 3 a 4 cruces de aglutinación para con anti- A_1 y 0 cruces de aglutinación con anti-H, las muestras que presentaron 1, 2 y hasta 3 cruces de aglutinación con anti-H y 0 cruces con anti- A_1 , fueron consideradas A_2 ; finalmente las muestras que

presentaron aglutinación débil (de 1 a 2 cruces de aglutinación) con ambas lectinas (anti - A₁ y anti-H), fueron tipificadas como A intermedio..

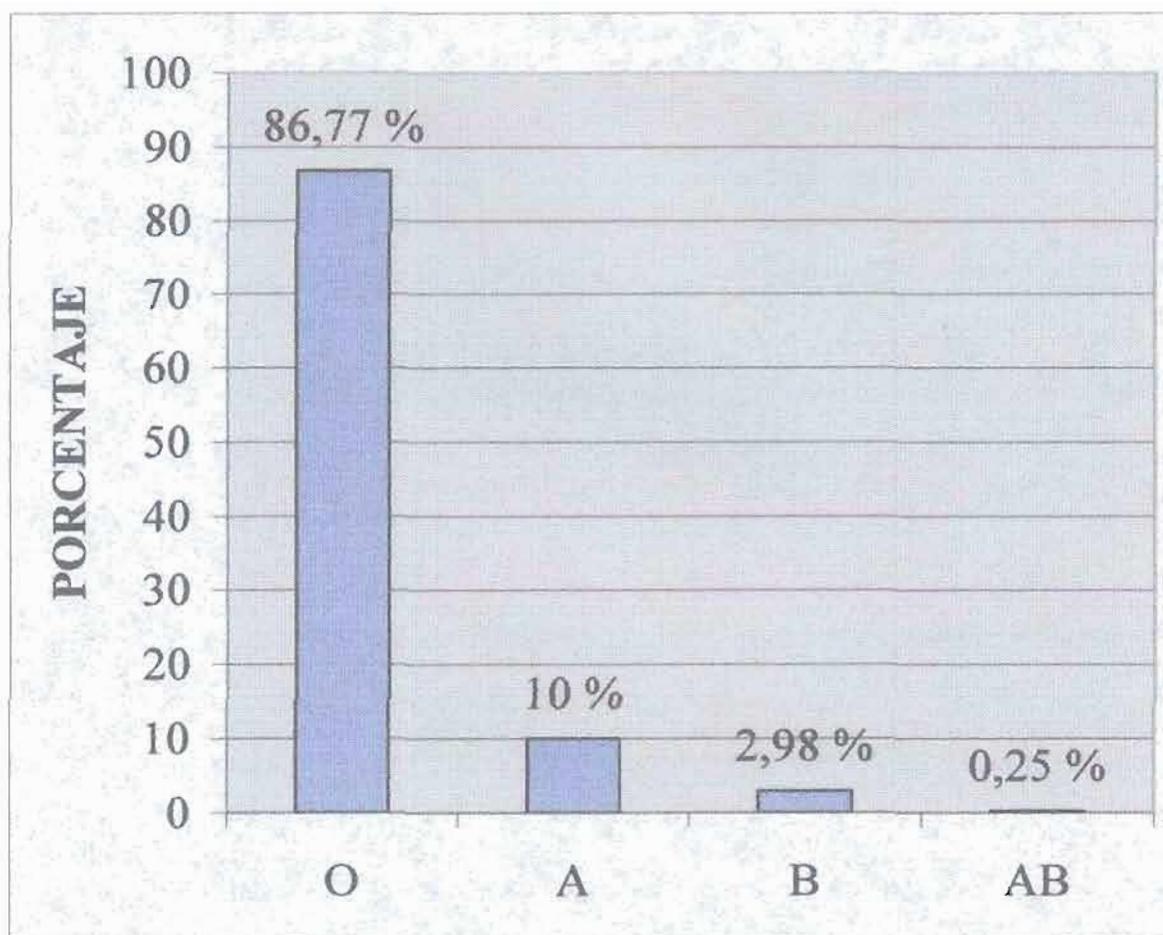
Para la determinación de todas las muestras se realizaron técnicas, que permitieron obtener resultados satisfactorios tanto en la prueba directa en placa como en la prueba directa en tubo, haciendo uso para este cometido de Lectinas (anti-A₁ y anti-H), las cuales constituyen anticuerpos específicos para la determinación de los subgrupos sanguíneos A₁ y A₂.

- La prueba inversa en tubo constituyó un método confirmatorio de las pruebas directas en placa y tubo, siendo un aporte importante para dar validez al resultado obtenido por las pruebas anteriormente mencionadas. Se utilizó para esta determinación un panel celular (eritrocitos de fenotipo conocido A₁ y A₂.), efectuando la determinación de aglutininas.*
- Evaluando los resultados obtenidos de las muestras de donantes de sangre y pacientes, la prueba directa en tubo debe ser considerada como la “ Regla de Oro ” (Standard Gold) en la determinación de subgrupos sanguíneos A₁ y A₂, debido a que presentó mayor sensibilidad por efectuarse suspensiones precisas de la muestra de sangre a diferencia de la técnica directa en placa, en la que se utilizó sangre total.*
- De forma adicional las frecuencias observadas de los grupos sanguíneos ABO fueron : 3990 muestras de donantes de sangre y pacientes que acudieron al Banco de Sangre del Hospital de Clínicas Universitario entre los meses de enero a mayo (2001),de éstas ,el mayor porcentaje de muestras corresponde al grupo sanguíneo O ,siendo tipificadas en menor*

porcentaje los grupos sanguíneos A, B y AB, los cuales se pueden observar en el siguiente gráfico (Ver Tabla – Anexo V).

GRAFICO II

Distribución Porcentual de Grupos Sanguíneos ABO, de Pacientes y Donantes que acuden al Banco de Sangre del Hospital de Clínicas Universitario, La Paz, Enero – Mayo / 2001



VI. CONCLUSIONES. -

La presente investigación concluye con lo siguiente.

- *La técnica directa en tubo se llegó a efectuar, así como la prueba directa en placa, se llegó a estandarizar en el presente estudio, para la determinación de subgrupos sanguíneos A_1 y A_2 , mediante el uso correcto de aglutininas (Lectinas Anti- A_1 y Anti -H), adicional a la correcta interpretación de los resultados , siguiendo los parámetros establecidos por la línea comercial Dia - Med .Llegando a obtener resultados concordantes con las dos técnicas utilizadas.*

- *En cuanto a la prueba inversa en tubo para la determinación de aglutininas, en la que se utilizo necesariamente un panel celular (eritrocitos de fenotipo conocido A_1 y A_2) , se concluye que puede constituirse en un excelente método confirmatorio para las pruebas directas en tubo y placa , siendo los resultados un importante aporte adicional que valida el informe final de la determinación de los subgrupos sanguíneos A_1 y A_2 .*

- *La prueba directa en tubo presenta mayor confiabilidad del resultado obtenido en relación a la prueba directa en placa, ya que se realizaron suspensiones de las muestras de sangre y se consigue con esto equiparar la cantidad de antígeno y anticuerpo, evitando por tanto el fenómeno de prozona y postzona que podría presentarse en la técnica en placa, debido a un exceso de antígeno o anticuerpo al utilizar sangre total.*

- *En cuanto a la frecuencia de los grupos sanguíneos en el sistema ABO mediante los parámetros estadísticos obtenidos, inferimos una predominancia del grupo sanguíneo O. Los demás grupos sanguíneos se encuentran presentes en menor porcentaje.*
- *Mediante la utilización de Lectinas Anti- A_1 y Anti-H, se pudo determinar la frecuencia de los Subgrupos A, tanto en donantes de sangre como en pacientes durante el periodo de Enero a Mayo del 2001, llegando a obtener una mayor frecuencia del subgrupo A_1 (93,28%), y en menor frecuencia el subgrupo A_2 (5.22%), también se llegó a observar otro fenotipo que es el Aint con una frecuencia del 1.49%*

VII. DISCUSIÓN. -

En el presente estudio que se realizó, del total de muestras obtenidas del grupo sanguíneo A, solo se llegó a procesar un número de muestras representativas, esto se debe a la falta de recursos económicos para la compra de los reactivos (Lectinas anti - A_1 , anti - H y el panel celular) por el costo que estos representan.

De las frecuencias obtenidas, en relación a los subgrupos sanguíneos A_1 y A_2 . Se pudo inferir una predominancia del subgrupo sanguíneo A_1 (93.28 %) y A_2 (5.22%) en menor porcentaje, junto a Aint (1.49 %) (el cual no ha sido parte del estudio).

Estos datos obtenidos son similares a estudios realizados por diferentes autores, así por ejemplo. Los investigadores cubanos que en el año 1997 dieron a conocer la frecuencia de estos subgrupos sanguíneos, donde presento mayor frecuencia A_1

(80%)(raza blanca) y menor frecuencia en A_2 (20 %). En la raza negra se obtuvo mayor porcentaje de A_2 . Donde para la obtención de estos datos se utilizaron Lectinas. En el trabajo realizado no se llego a distinguirlos por raza.

En relación a la frecuencia de los grupos sanguíneos ABO, se pudo observar la predominancia del grupo sanguíneo O. Los demás grupos se encuentran presentes en menor frecuencia, siendo similar estos datos a los obtenidos por los distintos autores e investigadores. (J. G. Kelton, investigadores cubanos).Lo cual se confirma una vez mas el predominio de este grupo sanguíneo en nuestro medio.

VIII. RECOMENDACIÓN.

Es de gran importancia indicar algunas recomendaciones, a los lectores de la presente tesina :

- ▲ *Concientizar a las autoridades de salud, Bioquímicos y Técnicos de Laboratorio, sobre la importancia que tiene, el realizar la prueba directa en tubo para la determinación de grupos sanguíneos y subgrupos sanguíneos mediante la cual se llega a obtener resultados confiables.*

- ▲ *También es importante recalcar que para la obtención de resultados satisfactorios, se sugiere que las muestras sean procesadas el mismo día de su recolección, tanto para la prueba directa y para la prueba inversa, se deben considerar también una serie de medidas para su realización (ver Anexo - VI).*

IX. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.

1. J.G. Kelton ; TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA , BASES TEORICAS Y APLICACIÓN CLINICA ; Ediciones Doyma ; Barcelona , Madrid , Buenos Aires , México , Santiago de Chile . 1986 ; Paginas. 39 – 42.
2. Mirolí Alejandro; HEMOTERAPIA, Editorial El Ateneo, segunda edición, Argentina 1985
3. Mollison P. L. ; TRANSFUSION DE SANGRE EN MEDICINA CLINICA ; Editorial Reverte S. A. ; Barcelona – Bogota – Buenos Aires – Caracas – México ; 1987 ; Paginas 328 – 331 , 338 , 355 .
4. Dr. Peset Llorca V. ; LA TRANSFUSIÓN DE SANGRE ; Editorial Científica Medica ; Barcelona ; Tercera edición ; Paginas 21 – 24.
5. Roitt Ivon M. ; INMUNOLOGIA ESENCIAL ; sexta Edición ; Edit. Jima S. A. ; Buenos Aires – Caracas – Bogota – Sao Paulo – Montevideo – Santiago – Lima – Quito ; 1988 .
6. Sans J. Sabrafen ; HEMATOLOGIA CLINICA ; Segunda Edición ; Ediciones Doyma S. A. ; Barcelona – España ; 1988 ; Capitulo 8 y 9.
7. Sanger Ruth ; LOS GRUPOS SANGUÍNEOS HUMANOS ; México D. F ; 1952 ; Paginas 16 – 17 , 26 – 28 .

8. Stites Daniel P. ; INMUNOLOGIA BASICA Y CLINICA ; Sexta Edición ; Editorial El Manual Moderno S. A. de C. V. : México D. F. ; 1988 ; Pág. 302 – 303 .

9. Vives Joan Lluís y Aguilar Joseph Lluís ; MANUAL DE TÉCNICAS DE LABORATORIO EN HEMATOLOGIA ; Salvat editores S. A. ; Barcelona – Madrid – Buenos Aires – Bogota – Caracas – Lima – México – Miami – Quito – Río de Janeiro – San Juan de Puerto Rico – Santiago de Chile ; 1987 ; Paginas 367 – 369 .

10. OPS – OMS ; CURSO DE CAPACITACION A DISTANCIA ; Servicio Departamental de Salud – La Paz ; Abril 2000 ; Paginas 27 – 29 , 1.1 .

11. Instituto de Hematología e Inmunología ; Ciudad de la Habana Cuba ; 1997 .

12. <http://infonew.sld.cu/revistas/hih.hih> 06297.ht

ANEXO - I

RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA CONVENCIONAL

Prueba directa en Placa y Tubo

Prueba Inversa en Tubo

N ^o de muestra	Técnica en tubo		Técnica en placa	Observaciones
	Prueba inversa	Prueba directa	Prueba directa	
1	Al	Al	Al	
2	Al	Al	Al	
3	Al	Al	Al	
4	Al	Al	Al	
5	Al	Al	Al	
6	Al	Al	Al	
7	Al	Al	Al	
8	Al	Al	Al	
9	Al	Al	Al	
10	Al	Al	Al	
11	Al	Al	Al	
12	Al	Al	Al	
13	Al	Al	Al	
14	Al	Al	Al	
15	Aint	Aint	Aint	
16	Al	Al	Al	
17	Al	Al	Al	
18	Al	Al	Al	
19	Al	Al	Al	
20	Al	Al	Al	
21	Al	Al	Al	
22	Al	Al	Al	
23	Al	Al	Al	
24	Al	Al	Al	
25	Al	Al	Al	

26	A1	A1	A1	
27	A1	A1	A1	
28	A2	A2	A2	
29	A2	A2	A2	
30	A1	A1	A1	
31	A1	A1	A1	
32	A2	A2	A2	
33	A1	A1	A1	
34	A1	A1	A1	
35	A1	A1	A1	
36	A1	A1	A1	
37	A1	A1	A1	
38	A1	A1	A1	
39	A1	A1	A1	
40	A1	A1	A	
41	A1	A1	A1	
42	Aint	Aint	Aint	
43	A1	A1	A1	
44	A1	A1	A1	
45	A1	A1	A1	
46	A1	A1	A1	
47	A1	A1	A1	
48	A1	A1	A1	
49	A1	A1	A1	
50	A1	A1	A1	
51	A1	A1	A1	
52	A1	A1	A1	
53	A1	A1	A1	
54	A1	A1	A1	
55	A1	A1	A1	
56	A1	A1	A1	
57	A1	A1	A1	
58	A1	A1	A1	
59	A1	A1	A1	
60	A1	A1	A1	
61	A1	A1	A1	
62	A1	A1	A1	
63	A1	A1	A1	
64	A1	A1	A1	

65	A1	A1	A1	
66	A1	A1	A1	
67	A1	A1	A1	
68	A1	A1	A1	
69	A1	A1	A1	
70	A1	A1	A1	
71	Aint	Aint	Aint	
72	A1	A1	A1	
73	A1	A1	A1	
74	A1	A1	A1	
75	A1	A1	A1	
76	A1	A1	A1	
77	A1	A1	A1	
78	A1	A1	A1	
79	A1	A1	A1	
80	A1	A1	A1	
81	A1	A1	A1	
82	A1	A1	A1	
83	-	A1	A1	Muestra insuficiente (suero)
84	A1	A1	A1	
85	A1	A1	A1	
86	A1	A1	A1	
87	A1	A1	A1	
88	Aint	Aint	Aint	
89	A1	A1	A1	
90	A1	A1	A1	
91	A1	A1	A1	
92	A1	A1	A1	
93	A1	A1	A1	
94	A1	A1	A1	
95	A1	A1	A1	
96	A1	A1	A1	
97	A1	A1	A1	
98	A1	A1	A1	
99	A1	A1	A1	
100	A1	A1	A1	
101	A1	A1	A1	
102	A2	A2	A2	
103	A1	A1	A1	

104	A1	A1	A1	
105	A1	A1	A1	
106	A1	A1	A1	
107	A1	A1	A1	
108	A2	A2	A2	
109	A1	A1	A1	
110	A1	A1	A1	
111	A1	A1	A1	
112	A1	A1	A1	
113	A1	A1	A1	
114	A1	A1	A1	
115	A1	A1	A1	
116	A1	A1	A1	
117	A2	A2	A2	
118	A1	A1	A1	
119	A1	A1	A1	
120	A1	A1	A1	
121	A1	A1	A1	
122	A1	A1	A1	
123	A1	A1	A1	
124	A1	A1	A1	
125	A1	A1	A1	
126	A1	A1	A1	
127	A1	A1	A1	
128	A1	A1	A1	
129	A1	A1	A1	
130	A1	A1	A1	
131	A1	A1	A1	
132	A1	A1	A1	
133	A1	A1	A1	
134	A1	A1	A1	

ANEXO - II

MATERIALES , EQUIPOS Y REACTIVOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACIÓN DE SUBGRUPOS SANGUÍNEOS DE A MEDIANTE EL USO DE LECTINAS

1. Materiales.

Material biológico:

Muestra de sangre total obtenida mediante la técnica de venipuntura, sin anticoagulante donde se separa por centrifugación el paquete eritrocitario y el suero para las determinaciones a realizar.

Material suplementario necesario:

- *Placas de vidrio para 12 determinaciones*
- *Lupa*
- *Aplicadores plásticos*
- *Varillas de plástico descartables*
- *Tubos de ensayo de vidrio*
- *Micro pipetas (20 – 50 – 100 – 200 ul)*
- *Puntas descartables de micro pipetas*
- *Soporte para punta descartables*
- *Gradilla para tubos de ensayo*

2. Equipos.-

- *centrifuga serológica (Serofuge)*
- *Rhesuscopio*

3. Reactivos.-

- *Lectina anti- A₁ (Dolichos biflorus) Marca Dia Med Diagnostika Suiza (No. Catalogo 100405) solución estéril de Cl Na al 0.9%.Frasco de 5 ml. Conservante Na N₃ menor al 0.1 %
Temperatura de conservación de 2-8° C*

- *Lectina Anti-H (Ulex europaeus) Marca Dia Med Diagnostika
Procedencia Suiza (No. Catalogo 100502)*

Controles: Panel celular de eritrocitos de fenotipo conocido A₁ y A₂

*I.D.- Dia Cell ABO A₁ x 10 ml (003620) A₂ x 10 ml (003621) Dia
Med-ID Micro Typing System.*

ANEXO - III

PROCEDIMIENTOS PARA LAS PRUEBAS DIRECTAS EN TUBO, PLACA E INVERSA

Procedimiento para la prueba directa en placa.-

- ▲ *Colocar dos gotas de muestra en la placa.*
- ▲ *Añadir una gota del reactivo Anti-H y Anti- A₁.*
- ▲ *Homogenizar con la varilla.*
- ▲ *Observar la aglutinación.*

Procedimiento para la prueba directa en tubo:

1 Lectina Anti-A₁

- ▲ *Identificar en un tubo de ensayo de vidrio el numero correspondiente de muestra.*
- ▲ *Dispensar 50 ul (una gota) del reactivo Anti-A₁ en el tubo de ensayo.*
- ▲ *Dispensar 50 ul (una gota) de la suspensión de hematíes al 5% (previamente preparada).*
- ▲ *Homogenizar y centrifugar un minuto a 1000 rpm.*
- ▲ *Resuspender el sedimento de hematíes y proceder a la lectura macroscópica.*
- ▲ *Anotar el resultado obtenido.*

2 Lectina Anti-H

- ▲ *Lavar los eritrocitos con solución fisiológica.*

TABLA - ANEXO IV

Frecuencias fenotípicas de los subgrupos A (A_1 , A_2 y Aint) ,obtenidos mediante la técnica convencional.

Hospital de Clínicas Universitario, Enero – Mayo /2001

Subgrupos sanguíneos A	Número	Porcentaje (%)
A_1	125	93.28
A_2	7	5.22
Aint	2	1.49
Total	134	99.99

TABLA - ANEXO V

Distribución por meses de grupos sanguíneos ABO, de pacientes y donantes que acuden al Banco de sangre del Hospital de Clínicas Universitario, La Paz , Enero – Mayo /2001

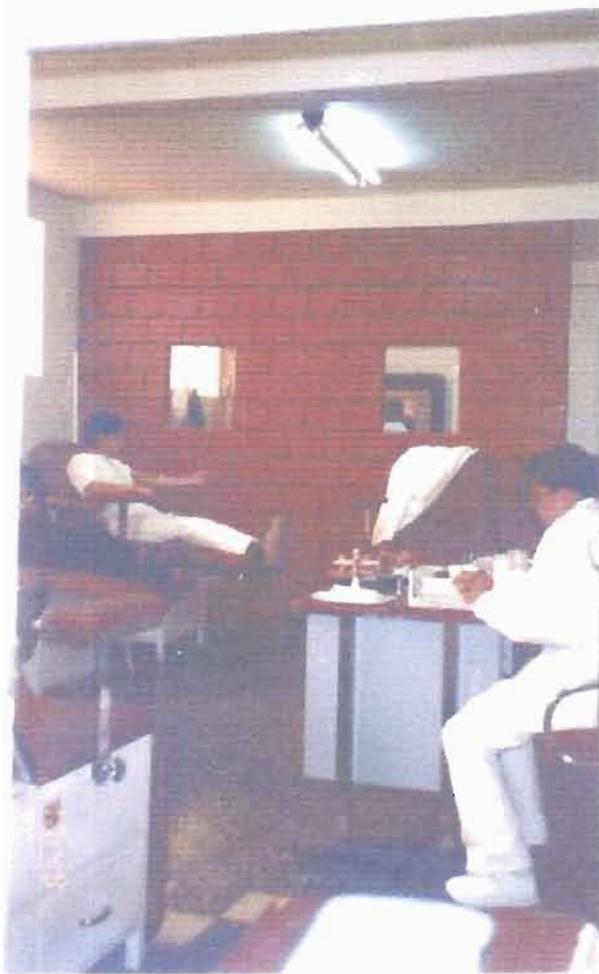
MES	GRUPOS SANGUÍNEOS								Total	
	O		A		B		AB			
	Cantidad	%	Cantidad	%	Cantidad	%	Cantidad	%	Cantidad	%
Enero	490	87,81	52	9,32	15	2,69	1	0,18	558	100
Febrero	697	88,34	67	8,49	22	2,79	3	0,38	789	100
Marzo	893	85,62	122	11,69	23	2,21	5	0,48	1043	100
Abril	628	84,86	83	11,22	28	3,78	1	0,14	740	100
Mayo	754	87,67	75	8,72	31	3,61	0	0	860	100
Total	3462	86,77	399	10	119	2,98	10	0,25	3990	100

ANEXO VI

Si se llegaran a procesar en los siguientes siete días, las muestras obtenidas de la población en estudio, deberán conservarse a menos cuatro grados centígrados separando el suero del paquete celular, y que finalmente si se llegaran a procesar en un tiempo mayor a siete días deberán ser refrigeradas a menos 20 grados centígrados, aunque no es lo ideal ya que se pudo comprobar que el título de anticuerpos (aglutininas), va disminuyendo, y por tanto que la reacción de aglutinación se va debilitando y se va haciendo cada vez más difícil su interpretación.

ANEXO VII

BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL DE CLINICAS UNIVERSITARIO



ANEXO VIII

DONANTE DE SANGRE PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO ABO Y SUBGRUPOS SANGUÍNEOS DE A



ANEXO IX

MATERIAL UTILIZADO PARA EL PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS



ANEXO X

PROCESAMIENTO DE LA PRUEBA DIRECTA EN PLACA MEDIANTE LECTINAS

