

PERSPECTIVAS

Existe por parte del personal que trabaja y/o colabora con el Proyecto, un marcado interés por alcanzar en su totalidad los objetivos propuestos, pero debido a que el material y equipo que han sido solicitados para el mismo no han sido proporcionados, se han entablado pláticas con la Dra. Toriello a fin de realizar un trabajo conjunto USAC-UNAM, en el que los antígenos se obtendrán por colaboración del Laboratorio de Micología de la UNAM y serán enviados al Laboratorio de Micología de la USAC, en donde nosotros procederíamos a estandarizar y utilizar en estudios seroepidemiológicos.

Esto sería mientras el equipo y material solicitado para el Proyecto, nos sea proporcionado por el IIQB. Con ello, no sólo se alcanzarán los objetivos propuestos para este año, sino se daría paso a nuevos estudios que están detenidos por el momento por no contar con los antígenos y antisueros necesarios para su ejecución.

REFERENCIAS

1. Rippon J. W. Medical Micrology, Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes. 3ed. Philadelphia: W. S. Saunders, 1974. Xii, 587p.

2. Kobayashi G.S. y Pappagianis D. Preparation and standarization of antigens of *H. capsulatum* y *C. immitis* Mycopath et Mycol. Appl. 1970; 41: 139-153.
3. Harrel W.R. et al. Procedural Manual for production of bacterial, fungal and parasitic reagents. Biological Reagents Section, Center for Disease Control. Atlanta, GA. 1973.
4. Scott Laboratories. Inc. Division of Microbiological Sciences. In Ficke Ville. RI 02823 Carson CA 90746.
5. Mayorga R. Coccidioidomycosis en América Central. II Simposium de coccidioidomycosis. Phoenix Arizona, 1965. 287-291 p.
6. Comunicación personal con la Dra. Conchita Toriello, jefe del Laboratorio de Micología, Depto. de Ecología Humana, Facultad de Medicina, UNAM. Agosto 1988.
7. Bodey G.P. y Fainstein V. Candidiasis. Raven Press, New York. 1985. 271p.

DETERMINACION DE LA INCIDENCIA Y FRECUENCIA DE ANTIGENOS DE GRUPOS SANGUINEOS EN DONADORES DE SANGRE

■ María de los Angeles Prado B. y
Gloria Hidalgo

RESUMEN

El objeto de este estudio, fue establecer la incidencia y la frecuencia de antígenos eritrocitarios en una población representativa de donadores de sangre. Para ellos, se tipificaron en 445 donadores del Banco de Sangre del Hospital General, los antígenos de siete sistemas sanguíneos: ABO, Rhesus, MNSs, Kell, Lewis, Duffy y P.

Los grupos sanguíneos O, A, B y AB fueron encontrados en 68.8, 19.6, 9.4 y 2.2% respectivamente. El subgrupo A₁ se presentó en el 80.4% de los donadores positivos para el antígeno A.

El orden descendente en que fueron encontrados los antígenos del sistema Rh fue: D en 97.7%, en 89.8%, C en 80.1%, c en 69.1% y E en 50%. Los fenotipos más frecuentes en la población fueron: C+c-E-e+D+ (25.2%), C+c+E+c+D+ (24.8%) y C+c+E-e+D+ (20.8%).

Los antígenos del sistema MNSs, M, N, S y s se presentaron en un 89.9%, 75.5, 42.7 y 50.1% respectivamente, siendo los fenotipos más frecuentes M+N+ (65.5%), M+N- (23.8%), S-s+ (31.9%) y S-s- (25%).

El antígeno Kell, el de más baja frecuencia en el estudio; se presentó en 3.1% de los donadores, mientras que el Cellano, el segundo en frecuencia después del D; se encontró en el 97.3% de los donadores, siendo el fenotipo más frecuentemente hallado el k-k+ en 93.7% de la población.

El fenotipo más frecuente del sistema Lewis, Le(a-b+), se presentó en 66.4% de los donadores, teniendo el antígeno Le^b mayor frecuencia que el Le^a.

Los antígenos Fy^a y P₁ de los sistemas Duffy y P, se encontraron en un 77.2 y 68.7% respectivamente.

Al conocer la distribución de estos antígenos en la población, se formó con la sangre de los donadores estudiados, un panel eritrocitos con antígenos conocidos, el cual fue conservado a -20°C por técnicas de congelación, y podrá ser utilizado en la detección de anticuerpos irregu-

lares en casos de incompatibilidad sanguínea en politransfundidos y mujeres multíparas así como en enfermedad hemolítica del recién nacido.

INTRODUCCION

Los grupos sanguíneos representan sistemas de determinantes antigénicos ubicados en la membrana del eritrocito. Los antígenos eritrocitarios se heredan de acuerdo a las leyes mendelianas simples.

Los anticuerpos contra los antígenos de grupos sanguíneos se han encontrado responsables de reacciones hemolíticas en pacientes politransfundidos, así como en el recién nacido. Los anticuerpos contra factores del sistema Rh (C, E, c, e), sistema Kell, Kidd, Duffy, MNSs, Diego y otros se han identificado como causantes de este último padecimiento, mientras que los anticuerpos contra los sistemas Lewis y Lutheran se asocian más frecuentemente a reacciones postransfusionales.

En Guatemala, se desconocía la incidencia y frecuencia de los antígenos de grupos sanguíneos en la población, existiendo únicamente algunos estudios sobre grupo ABO y antígeno D del sistema Rhesus, por lo que se identificaron los antígenos del grupo ABO (A, A₁, B, AB) y sistemas Rh (C, c, E, c, D), MNSs (M, N, S, s), P (P₁), Duffy (Fy^a), Kell (K, k) y Lewis (Le^a, Le^b), a través de la utilización de la técnica de aglutinación en tubo y de antisueros monoclonales comerciales.

Una vez conocida la presencia de los antígenos de cada sistema mencionado, se formó, con la sangre de los donadores estudiados, un panel de eritrocitos con antígenos conocidos (células rojas pantallas), el cual fue conservado y preservado por técnicas de congelación, para ser utilizado en estudios posteriores, en la determinación de anticuerpos contra antígenos de grupos sanguíneos, como causantes de reacción transfusional y enfermedad hemolítica del recién nacido.

MATERIALES Y METODOS

El universo de trabajo lo constituyeron 445 donadores de sangre, hombres y mujeres comprendidos entre las edades de 18 a 50 años, provenientes tanto del interior de la República, como de la ciudad capital,

y que asistieron al Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios.

Cada uno de ellos llenó una ficha con información de importancia al estudio. Seguidamente se les extrajo sangre para determinar por medio de la técnica de aglutinación en tubo, y con antisueros monoclonales de las casas Immucor, Gamma Biologicals y Ortho Diagnostics, los antígenos eritrocitarios, A, B, AB, A₁, D, C, E, c, e, M, N, S, s, P, K, k, Fy^a, Le^a, y Le^b. Una vez obtenidos los fenotipos de estos grupos sanguíneos se preparó un panel de células pantalla que se almacenó por técnicas de congelación a -20°C.

El presente estudio se realizó en el Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios, contando además con el apoyo del Departamento de Citohistología, de la Escuela de Química Biológica, Facultad de CC.QQ. y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Dentro del equipo de importancia empleado se encuentran: 1 centrífuga MLA, 1 centrífuga Clay Adams, 1 baño de Agua Memmert y 1 refrigeradora Prado S. A.

Los reactivos utilizados incluyen, además a los antisueros monoclonales antes mencionados: solución salina al 0.85%, citrato de potasio, glicerina, sodio dihidrogenofosfato 1 hidratado, sodio dihidrogenofosfato anhidro y antiglobulina humana poliespecífica.

A. Metodología

Se extrajo sangre a los 445 donadores, y se dejó coagular de 30 a 60 min., tiempo después del cual se centrifugó cada muestra de sangre, se separó el suero el cual fue debidamente identificado, y se prepararon suspensiones al 4% de eritrocitos, con un volumen final de 2 ml.

Una vez obtenidas las suspensiones para cada donador, se procedió a la identificación de los antígenos. Se utilizó la técnica de aglutinación en tubo, haciendo referencia a los procedimientos especificados por las casas comerciales Immucor, Gamma biologicals y Ortho diagnostics (1-9).

La identificación de los antígenos A, B, AB, A₁, D, C, E, c, e, Le^a y Le^b se realizó en medio salino, a temperatura ambiente, y los antígenos del sistema Rhesus, además, a 37°C.

La identificación de los antígenos S, s, K, k, y Fy^a se realizó por medio de la prueba de antiglobulina, después de incubar los tubos a 37°C por 15 min.

La identificación del antígeno P₁ se realizó una vez incubados los tubos a 4°C por 10 min.

Una vez determinado el fenotipo eritrocitario, se citó a los donadores, y en forma estéril se les extrajo sangre, la cual fue recolectada en solución ACD y se utilizó para la realización de un panel de células pantalla:

- Se disolvieron en 600 ml de agua destilada, 19.4 gr. de citrato de potasio, 3.1 gr. de NaH₂PO₄·2H₂O y 2.8 gr. de Na₂HPO₄
- Se añadieron 2 volúmenes de glicerina a 3 volúmenes de la solución de citrato amortiguada.
- Se centrifugó la sangre recolectada y se separó el sobrenadante del paquete de eritrocitos.
- Se agregó lentamente un volumen de solución de glicerina y citrato igual al volumen del paquete de eritrocitos, mezclándolos cuidadosamente, y se distribuyó la mezcla en volúmenes de 4 ml, en tubos de hemólisis, los cuales fueron congelados a -20°C.

RESULTADOS Y DISCUSION

La población de estudio consistió en 445 donadores que asistieron al Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios, durante los períodos comprendidos del 5 de agosto de 1987 al 7 de abril de 1988 y del 22 al 29 de julio de 1988. De éstos, 368 eran de sexo masculino y 77 de sexo femenino. 152 donadores se encontraban entre las edades de 18 y 25 años, 291 entre los 26 y 50 años y 2 mayores de 51.

La mayoría de los donadores incluidos en el estudio fueron de población mestiza originaria de los departamentos de Guatemala, Jutiapa, Escuintla, El Progreso, Sta. Rosa, San Marcos, Jalapa, Zacapa, Quetzaltenango, Chiquimula, Sacatepéquez, Mazatenango, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Quiché, Sololá, Huehuetenango y Totonicapán.

Del total de donadores, 402 no habían sido sometidos a procedimientos quirúrgicos, 426 expresaron no haber sido receptores de transfusión sanguínea y de las 77 mujeres donadoras de sangre, 55 refirieron no haber tenido embarazos, mientras que 22 habían tenido embarazos previos con partos normales, cesáreas o abortos espontáneos.

Para el grupo ABO se determinó que 306 fueron de tipo "O", 87 de tipo "A", 42 de tipo "B" y 10 de tipo "AB", lo que representa un 68.8, 19.6, 9.4 y 2.2% respectivamente. Estos datos concuerdan con los de Pérez-Folgar, quien estableció la frecuencia de estos antígenos en donadores de sangre de la ciudad de Guatemala, en 1983.

Los resultados obtenidos para los otros sistemas de antígenos eritrocitarios, se relacionaron con datos publicados en estudios similares, los cuales son basados en población Caucásica, a pesar de que la población guatemalteca es en su mayoría indígena y mestiza.

La incidencia de los antígenos del sistema Rhesus difiere con la encontrada en la población Caucásica, en la que se encuentra que los antígenos e, D y c tienen los mayores porcentajes (98, 85 y 80%), y C y E los menores (70 y 30%), mientras que en nuestra población se encuentra que el mayor porcentaje corresponde a D, e y C (97.7, 89.8 y 80.1%) y los menores a c y E (69.1 y 50%).

Los resultados obtenidos son importantes para estudios en los que se investiguen anticuerpos irregulares, ya que los antígenos D, e y C, por su alta frecuencia podrían considerarse como causantes de reacción transfusional en mujeres múltiparas y pacientes politransfundidos así como causantes de enfermedad hemolítica en recién nacidos.

Los fenotipos más frecuentes del sistema Rh, en la población de estudio son: C+c-E-e+D+ (25.2%), C+c+E+e+D+ (24.6%) y C+c+E-e+D+ (20.8%). La determinación de los fenotipos de este sistema fue importante pues permitió determinar que los genotipos más probables en la población guatemalteca son Dce/dce, DCe/DCe y DcE/dce.

En el sistema MNSs, el antígeno M se presentó en un 89.9%, N en 75.5%, s en 50.1% y S en 42.7%. Para los antígenos M y N del sistema MNSs los fenotipos más frecuentes son: M+N+, M+N-, M-N+, y para los antígenos S y s, S-s+, S-s-, S+s- y S+s-. Esto concuerda con los datos reportados para la raza Caucásica, a excepción de los fenotipos M-N- y S-s- para los cuales únicamente se menciona que son extremadamente raros, y en la población guatemalteca presentaron un 0.7 y 25% respectivamente.

Los resultados obtenidos son importantes ya que los anticuerpos contra los antígenos de mayor frecuencia encontrados (M y N), han sido reportados como causantes de enfermedad hemolítica del recién nacido así como causantes de reacciones transfusionales.

Con respecto al sistema Kell, el antígeno Kell se presentó en un 3.1%, mientras que el Cellano en 97.3%. El fenotipo que se encontró con mayor frecuencia, de este sistema, en el estudio fue K-k+, en 93.7% de los casos, luego K+k+ en 3.6%, K-k- en 2.4% y K+k- en 0.3%. Esto concuerda con los datos reportados para la raza Caucásica, con excepción del fenotipo K-k+ que se presenta en mayor porcentaje en dicha población.

Estos datos son de suma importancia ya que ambos antígenos pueden originar la formación de anticuerpos causantes de reacción transfusional y enfermedad hemolítica del recién nacido. Además, el antígeno k fue encontrado en segundo lugar en frecuencia después del antígeno D del sistema Rhesus, por lo que podría considerarse que puede ser una causa importante de reacción postransfusional antes que otros antígenos del sistema Rhesus.

Los antígenos del sistema Lewis, Le^a y Le^b fueron encontrados en un 6.4 y 70.5% respectivamente, siendo el fenotipo más frecuentemente encontrado el $Le(a-b+)$, presente en el 66.4% de la población.

Aunque los anticuerpos contra el antígeno Le^b no se han reportado como causantes de enfermedad hemolítica del recién nacido, puede causar dificultad en las pruebas cruzadas en la búsqueda de sangre compatible.

El antígeno Fy^a del sistema Duffy fue encontrado en un alto porcentaje (77.2%), y el antígeno P_1 del sistema P, en un 68.7%. Ambos antígenos se presentaron en un mayor porcentaje que el esperado.

En Guatemala, existe un uso indebido de la terapia transfusional, la cual conduce a la sensibilización de los pacientes, a diversos antígenos, incluyendo entre ellos, al Fy^a y a P_1 . Este último ha provocado la formación de anticuerpos en pacientes obstétricas, con historia de transfusiones previas.

El panel de células pantallas se formó con células provenientes de 10 donadores cuyos fenotipos se determinaron durante el estudio. Este panel se ideó de una forma funcional para la identificación de anticuerpos irregulares. Este quedó formado así:

PANEL DE CELULAS

Donador No.	Rh				MNSS				Kell		Lewis		Duffy P		
	C	c	E	e	D	M	N	S	s	K	k	Le^a	Le^b	Fy^a	P_1
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
2	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+
3	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-
4	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
5	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-
6	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+
7	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
8	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+

Pruebas de igualdad de proporciones fueron utilizadas para establecer la veracidad de las hipótesis planteadas.

Para la primera hipótesis, P_0 representó el 0.50 de donadores que presentaron separadamente los antígenos E, e, C, c y D del sistema Rhesus, de esta misma manera, P_0 representó el 0.50 de donadores que presentaron el fenotipo Lewis, $Le(a-b+)$ para la segunda hipótesis.

Para la tercera hipótesis, P_0 representó el 0.90 de donadores con fenotipo K-k+.

La proporción P_0 de 0.50 representó la presencia de cada antígeno del sistema MNSS (M, N, S, s) en la cuarta hipótesis, y de la misma forma, para la última hipótesis. (Con un α de 0.05).

De acuerdo al análisis estadístico, los valores de z calculados fueron mayores que el valor de z crítica (1.64), para los antígenos C, c, e y D del sistema Rhesus, y M y N del sistema MNSS, por lo que se rechazaron las hipótesis nulas y se concluyó que cada antígeno mencionado se presentó en más del 50% de los donadores estudiados. Sin embargo, para el antígeno E del sistema Rhesus, y para los antígenos S y s del sistema MNSS, los valores de z calculados fueron menores que el valor de z crítica

(1.64), por lo que se concluyó que el porcentaje teórico (50%) para ambos casos, es mayor que el porcentaje experimental.

Los porcentajes encontrados, de los fenotipos $Le(a-b+)$ del sistema Lewis, y K-k+ del sistema Kell (66.4 y 93.7% respectivamente), fueron mayores que los porcentajes teóricos de 50 y 90%.

Para los antígenos Fy^a y P_1 de los sistemas Duffy y P, los valores de z calculados, fueron mayores que el valor de z crítica (1.64), por lo que se rechazaron las hipótesis nulas, esto significa, que para cada uno de ellos, el porcentaje teórico (50%) es menor que el porcentaje experimental.

CONCLUSIONES

1. Los antígenos más frecuentes en la población de estudio son: D del sistema Rhesus (97.7%), k del sistema Kell (97.3%) y e del sistema Rhesus (89.8%).
2. Los antígenos de más baja frecuencia en la población de estudio son: K del sistema Kell (3.1%) y Le^a del sistema Lewis (6.4%).
3. Los antígenos A, A_1 , B, AB, del sistema ABO, D, e, C, c del sistema Rhesus, M y N del sistema MNSS, k del sistema Kell, Le^b del sistema Lewis, Fy^a del sistema Duffy y P_1 del sistema P, se presentaron en más del 50% de la población.
4. Los antígenos s y S del sistema MNSS, K del sistema Kell, Le^a del sistema Lewis, y E del sistema Rhesus, se presentaron en menos del 50% de la población.
5. El fenotipo presente en todos los casos de antígeno Rh negativo es D-D⁻.
6. La técnica de aglutinación en tubo es una técnica práctica y útil para la determinación de antígenos de grupos sanguíneos.
7. Debido a la alta frecuencia de los antígenos D, k, M, e, C, Fy^a , N, Le^b , c y P_1 , éstos pueden ser considerados como posibles causantes de incompatibilidad transfusional en politransfundidos y mujeres múltiples.
8. Los antígenos D, e, C, c del sistema Rhesus, M y N del sistema MNSS, k del sistema Kell, Le^b del sistema Lewis, Fy^a y P_1 de los sistemas Duffy y P, pueden ser considerados como posibles causantes de enfermedad hemolítica en el recién nacido.
9. Los fenotipos del sistema Rhesus, C+c-E-e+D+, C+c+E+e+D+ y C+c+E-e+D+ son los más frecuentes en la población de estudio.
10. Los genotipos del sistema Rhesus, más probables en la población de estudio son: Dce/dce, DCE/DcE y DCE/dce.
11. Los fenotipos M+N+, M+N-, S-s+ y S-s- son los más frecuentemente encontrados del sistema MNSS en la población de estudio.
12. Los fenotipos $Le(a-b+)$ y K-k+ de los sistemas Lewis y Kell son los más frecuentes en la población de estudio.

RECOMENDACIONES

- Propiciar la realización de estudios tales como "Determinación de anticuerpos irregulares como causantes de enfermedad hemolítica del recién nacido", "Determinación de anticuerpos causantes de reacciones hemolíticas en politransfundidos", "Incidencia y frecuencia de anticuerpos irregulares en mujeres múltiples", que permitan la utilización del panel de células.
- Destacar la importancia de los diversos antígenos de los grupos sanguíneos y su relación con la enfermedad, al desarrollar temas tales como "Detección de sustancias sanguíneas en secreciones", "Detección de antígenos eritrocitarios en úlcera péptica, anemia perniciosa, leucemia y carcinoma gástrico".
- Realizar estudios en la raza indígena sobre la frecuencia de estos antígenos, ya que ella constituye la mayoría de la población guatemalteca.