

G E N E T I C A

IDENTIFICACION DE LOS SUBGRUPOS A_1B , $A_{int}B$ Y A_2B MEDIANTE AGLUTINACION CUANTITATIVA

Marín Rojas Rafael A.*
Ballar Calvo Ana M.**

SUMMARY

In order to allow their identification, the quantitative agglutination technique was utilized to define the agglutination patrons in a group of blood types: 12 of A_1B , 9 of $A_{int}B$ and 6 of A_2B subgroups. It was used an Anti A serum, of human origin with a titer of 1/1024 and properly diluted accord with the analyzed subgroup. The obtained results were: 357 DH_{50} , 13 DH_{50} and 6 DH_{50} for the A_1B , $A_{int}B$ and A_2B subgroups respectively. That allow us to define a clear differentiation between the groups, in contrast with the lightly difference obtained between the last two subgroups of A, in the absence of B.

INTRODUCCION

Con la clasificación de los subgrupos A_1 y A_2 no se presenta ningún problema en la literatura pero cuando se incluye al A_{int} surge una serie de discrepancias. Salmon y Cartron no lo incluyen como un fenotipo corriente del sistema ABO y solo los mencionan como un fenotipo especial con toda una problemática de definición (9). La Asociación Americana de Bancos de Sangre y Linares tienen una posición similar cuando mencionan que los dos principales subgrupos de A lo son el A_1 y el A_2 (1,6) contrariamente a lo que sucede en Costa Rica donde demostramos que el A_{int} es más frecuente que el A_2 y que el $A_{int}B$ tiene una importante prevalencia, por lo que debemos tener muy

clara su caracterización (8). La reacción con anti A, utilizando aglutinación en tubo, no nos da diferencia alguna entre los tres subgrupos, mientras que si usamos la reacción en lámina obtenemos mejores resultados pero sin llegar a la certeza, ya que algunos A_{int} o $A_{int}B$ reaccionan con menos intensidad que el A_1 mientras que otros lo hacen en forma similar (1,8). Si recurrimos a una técnica más sensible como es la aglutinación cuantitativa (10) no encontramos resultados que nos ayuden a resolver el problema. Así, Salmon y Cartron reportan una pequeña diferencia entre A_1B y A_2B y no incluyen el $A_{int}B$ (9). Gibbs-Akeroyd utilizan diluciones de suero anti A para encontrar las DH_{50} con varios subgrupos y obtienen una

* Depto. de Microbiología e Inmunología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.
** Clínica Marcial Fallas, C.C.S.S.

buena separación del A_1B respecto al $A_{int}B$ y al A_2B , pero entre estos dos últimos sus resultados no son concluyentes (5), pero debe tomarse en consideración que solo analizan 5 muestras de ambos subgrupos. Por lo anterior realizamos el presente trabajo, siguiendo los lineamientos de estos últimos autores, pero con un número mayor de muestras.

MATERIALES Y METODOS

Se recolectaron 12 sangres A_1B , 9 $A_{int}B$ y 6 A_2B , las cuales se conservaron en solución de Alsever hasta su uso, en un plazo no mayor de 15 días. Un suero anti A, de origen humano y con título de 1/1024, se congeló en alícuotas a $-25^{\circ}C$ hasta su utilización. Para las células A_1B se realizaron diluciones de 1/200, 1/300, y 1/400, para las $A_{int}B$ el suero se diluyó 1/10, 1/20 y 1/40 y para las A_2B utilizamos 1/2, 1/8 y 1/16. Para cada dilución las muestras se montaron en duplicado, al igual que el respectivo control y para cada prueba se hizo una lectura doble en una cámara cuentaglobulos, de acuerdo con la técnica previamente descrita (5,7), la cual ha sido bastante utilizada para estudios de anticuerpos y antígenos de grupo sanguíneo (3,4,7,11,12,13,15). Las lecturas de cada dilución se promediaron para obtener solo una curva, para cada uno de los subgrupos, en un papel semilogarítmico en donde se utiliza el próbito del porcentaje de aglutinación contra el logaritmo de la concentración del suero (1/dilución), como ya ha sido descrito (2,7).

CUADRO 1

PORCENTAJE DE AGLUTINACION, PROBITOS Y DH_{50} DE ERITROCITOS A_1B , $A_{int}B$ Y A_2B CON SUERO ANTI A

SUBGRUPO	DILUCIONES: %/PROBITO			DH_{50}
A_1B	1/200: 72%/5.5	1/300: 57%/5.2	1/400: 45%/4.9	1/357
$A_{int}B$	1/10: 54%/5.1	1/20: 42%/4.8	1/40: 27%/4.4	1/13
A_2B	1/2: 67%/5.4	1/8: 44%/4.9	1/16: 33%/4.5	1/6

RESULTADOS

En el cuadro 1 se puede apreciar el porcentaje promedio de aglutinación, con su respectivo próbito, que se obtiene con cada una de las diluciones hechas con cada uno de los subgrupos estudiados. Se indica también aquella dilución que produce un 50% de aglutinación lo que equivale a una unidad o dosis hemaglutinante 50% (DH_{50}). De este último valor podemos deducir el número de DH_{50} que tiene el suero sin diluir y la cantidad del mismo que contiene 1 DH_{50} , para cada uno de los subgrupos analizados. Así, con eritrocitos A_1B obtenemos 357 DH_{50}/ml y 1 DH_{50} está contenida en 0.0028 ml. del suero anti A. Con hematíes $A_{int}B$ dicho suero tiene 13 DH_{50}/ml y 1 DH_{50} equivale a 0.0077 ml del mismo. Por último, con células A_2B obtenemos solo 6 DH_{50}/ml y 1 DH_{50} es igual a 0.166 ml del suero anti A. Correlacionando las DH_{50} de los tres subgrupos obtenemos $A_1B/A_{int}B = 27.5$, $A_1B/A_2B = 59.5$ y $A_{int}B/A_2B = 2.2$.

DISCUSION

La separación o identificación de los subgrupos no tiene mucha importancia médica pero si la tiene en el cam-

po médico-legal y antropológico ya que la capacidad de exclusión, en casos de paternidad discutida, cambia de acuerdo con la frecuencia de los subgrupos y por otra parte la prevalencia de los mismos varía en las diferentes razas humanas (1,6,14). Como ya se mencionó, la separación de los tres subgrupos estudiados es casi imposible si utilizamos solo suero anti A en pruebas de lámina o tubo (1,6). Con los resultados obtenidos en este trabajo, con una técnica de aglutinación cuantitativa, podemos hacer una clarísima diferenciación entre el subgrupo A_1B y los dos restantes y una buena separación entre estos dos últimos.

RESUMEN

Se analizó un grupo de sangres A, 12 del subgrupo A_1B , 9 del $A_{int}B$ y 6 del A_2B , mediante la técnica de aglutinación cuantitativa, para definir patrones de aglutinabilidad que permitan su identificación. Se utilizó un suero anti A, de origen humano, con un título de 1/1024 el cual fue convenientemente diluido de acuerdo al subgrupo analizado. Se obtuvo un resultado de 357 DH_{50} , 13 DH_{50} y 6 DH_{50} para los subgrupos A_1B , $A_{int}B$ y A_2B respectivamente, lo que nos permite una clara

diferenciación entre ellos, contrastando esto con la ligera diferencia obtenida entre los dos últimos subgrupos de A, cuando están en ausencia de B.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) American Association of Blood Banks. Technical Manual. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, U.S.A. 8ed. 1981; 105-107.
- 2) Boyd William C. Fundamentals of Immunology. Interscience Publishers, Inc. New York, USA. 3 ed., 1956, 705.
- 3) Cartron, J.P., Gerbal, A., Hughes-Jones, N.C. and Salmon, C. Relationship Between Red Cell Agglutinability and Antigen Site Density. *Immunology*. 1974; 27: 723-727.
- 4) Gibbs, M.B. and Akeroyd, J.H. Quantitative Immunohematologic studies of Hemagglutination, I. Assay of the Isoagglutinin Anti-A. *J. Imm.* 1958; 82 : 568-576.
- 5) Gibbs, M.B. and Akeroyd, J.H. Quantitative Immunohematologic studies of Hemagglutination, II. Assay of the Agglutinin A. *J. Imm.* 1958; 82 : 577-584.
- 6) Linares, J. Inmunohematología y Transfusión. Principios y Procedimientos. Editorial Cromotip CA. Caracas, Venezuela. 1986; 63-66.
- 7) Marín-Rojas, R.A. Cuantificación de la depresión alélica en el grupo A₁ B. *Rev. Méd. de CR y CA*. 1997; LIV (540): 149-151.
- 8) Marín Rojas, R.A., Sáenz, M., Serrato, M.A. y Solano, D. Distribución de los subgrupos de A en la población de Costa Rica. *Rev. Cost. Cienc. Méd.* 1985; 6 (3): 119-121.
- 9) Salmon, Ch. and Cartron, J.P. Interaction in AB Heterozygotes. IN: CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science. Blood Banking. CRC Press, Inc., Florida USA. 1977; Vol. 1 : 71-78.
- 10) Salmon, Ch., López, M., Cartron, J.P. and Bouguerra, A. Quantitative and Thermodynamic Studies of Erythrocytic ABO Antigens. *Transfusion* 1976; 16 (6): 580-593.
- 11) Solomon, J.M. Comparison of Fetal and Adult ABH Antigens by the Quantitative Hemagglutination Technic. *Transfusion*. 1963; 3: 185-191.
- 12) Solomon, J.M., Gibbs, M.B. and Bowdler, A.J. Methods in Quantitative Hemagglutination, Part I. *Vox Sang.* 1965, 10: 54-72.
- 13) Solomon, J.M. Gibbs, M.B. and Bowdler, A. J. Methods in Quantitative Hemagglutination, Part II. *Vox Sang.* 1965; 10 : 133-148.
- 14) Walker, R.H., Probability in The Analysis of Paternity Test Results. IN: Paternity Testing, American Association of Blood Banks, Louisiana USA, 1978; 69-123.
- 15) Wilke, M.H. and Becker, E.L. Quantitative Studies in Hemagglutination. *J. Imm.* 1955; 74 : 192-204.