

Producción

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

EVALUACIÓN DE LOS REACTIVOS HEMOCLASIFICADORES MONOCLONALES CUBANOS HEMO CIM ANTI-A Y HEMO CIM ANTI-B EN PACIENTES VIH/SIDA

Lic. Ananidia Rivero,¹ Lic. Liliana Pérez,¹ Dr. Alejandro Álvarez,¹ Téc. Yondel Torranzo,¹ Dra. Teresita Serrano,¹ Lic. Rafael Magadán² y Lic. Lilia Suárez³

RESUMEN

Se describe un estudio realizado con los hemoclasificadores monoclonales cubanos Hemo CIM anti-A y anti-B producidos por el Centro de Inmunología Molecular (CIM) y comercializados por CIMAB S.A, para ser evaluados en pacientes VIH/SIDA. Se analizaron un total de 130 pacientes en el Servicio de Transfusiones del Instituto "Pedro Kourí". Se utilizaron en paralelo los antisueros policlonales de producción nacional (Laboratorios Betera) y los reactivos monoclonales comerciales producidos y donados por *International Blood Group Reference Laboratory*; Bristol, UK. Se demostró que los reactivos Hemo CIM anti-A y Hemo CIM anti-B se comportaron de forma similar a sus homólogos comerciales y policlonales. Al comparar la efectividad de la aglutinación para los 3 reactivos pudimos comprobar que con el reactivo monoclonal, Hemo CIM anti-A y anti-B se obtuvieron los mejores resultados expresados en cruces.

Descriptor DeCS: ANTICUERPOS MONOCLONALES; TEST DE HEMAGLUTINACIÓN, VIH.

El empleo de los anticuerpos monoclonales (AcM) mono-específicos, con título elevado en lotes idénticos y producidos en grandes cantidades, constituye un gran aporte para la serología de los grupos sanguíneos al abrir la posibilidad de obtener reactivos que

reconocen las variantes débiles, además de evitar las inmunizaciones de donantes voluntarios, las cuales plantean muchos problemas éticos por el riesgo de transmisión de determinadas infecciones por vía sanguínea (VHB y VHC HTL-I/II, citomegalovirus, VIH) y por la frecuencia con que

¹ Instituto "Pedro Kourí"

² Centro de Inmunología Molecular.

³ Instituto de Hematología e Inmunología.

aparecen en estos donantes enfermedades del tipo autoinmune. Con esta tecnología se reducen los costos técnicos, pues se elimina la evaluación de un gran número de pequeñas donaciones requeridas para la producción de los antisueros policlonales (AcP).¹⁻³

La producción de AcM es altamente laboriosa en la etapa inicial de generación, caracterización, selección y evaluación de los clones que secretan anticuerpos adecuados como reactivos hemoclasificadores; sin embargo, una vez logrado lo anterior, la producción continua de estos reactivos es muy simple y requiere poco tiempo, pues a una concentración establecida cada anticuerpo tiene una potencia, avidéz y especificidad conocida.⁴⁻⁶

Los riesgos y beneficios de las transfusiones sanguíneas en pacientes VIH/SIDA son muy similares a los pacientes seronegativos al VIH, por lo que esta práctica terapéutica es la más frecuentemente utilizada para la anemia que presentan estos pacientes. Ellos están expuestos a múltiples eventos aloinmunes relacionados con la ocurrencia de anticuerpos contra grupos sanguíneos.^{7,8}

En este trabajo se comparan, como una opción alternativa, los nuevos hemoclasificadores Hemo-CIM anti-A y Hemo-CIM anti-B comercializados por CIMAB S.A con respecto a los reactivos monoclonales comerciales producidos y donados por *International Blood Group Reference Laboratory*, Bristol, UK., y los AcP de producción nacional de los Laboratorios BETERA, que son los más frecuentemente utilizados en la práctica transfusional, en nuestro caso, en pacientes VIH/SIDA.

MÉTODOS

SUJETOS Y ESPECÍMENES

El ensayo se realizó con 130 muestras de sangre obtenidas de pacientes VIH/SIDA

hospitalizados en el Instituto "Pedro Kourí" (IPK) en el período julio-agosto 1998, que se clasificaron en 2 grupos: pacientes con transfusiones previas a 6 meses y pacientes no transfundidos.

El tubo del hemograma se centrifugó a 2 000 rev/min durante 5 min a temperatura ambiente, el plasma se guardó a -20 °C para realizar comprobación con grupo reverso. Se eliminó el anillo blanco de células mononucleares, se lavaron los glóbulos con solución salina al 0,9 % y se centrifugaron a 1 500 rev/min 2 veces.

Se prepararon las suspensiones de células al 2 % de los pacientes para las técnicas de hemaglutinación en tubo y en placa, y al 35 % para la técnica en lámina.⁹

REACTIVOS

Se utilizaron en paralelo y por personas diferentes cada una con una técnica, los reactivos a probar Hemo-CIM anti-A y Hemo-CIM anti-B, los AcP de producción nacional de los Laboratorios BETERA y reactivos monoclonales comerciales producidos y donados por *International Blood Group Reference Laboratory*, Bristol, UK.

Las muestras se probaron por la técnica de hemaglutinación en tubo, lámina y placa.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Para interpretar los resultados se utilizó la nomenclatura siguiente: 3+ si se observa un grumo grande y sobrenadante claro; 2+ muchos grumos pequeños y grandes y sobrenadante claro; 1+ muchos grumos pequeños y sobrenadante coloreado; y 0 no aglutinación.

RESULTADOS

De los pacientes analizados en el Servicio de Transfusiones del Laboratorio Clínico del IPK, 101 no estaban transfundidos y 29 habían recibido al menos una transfusión en el período de 6 meses anteriores. Para la información nos auxiliábamos con entrevistas personales y revisión de historias clínicas en el Departamento de Archivo del hospital. Se obtuvieron los mismos resultados con los reactivos anti-A y anti-B y sus homólogos comerciales y policlonales (tabla 1). La frecuencia de los grupos sanguíneos encontradas fue: 37 con fenotipo celular A, 25 con fenotipo celular B, 1 con fenotipo celular AB y 67 con fenotipo celular O, lo que coincide con la frecuencia que aparece en la población normal.¹⁰

Aunque no se encontraron discrepancias, la aglutinación de eritrocitos provocada por los hemoclasificadores Hemo CIM anti-A y Hemo CIM anti-B es más nítida y precisa y se obtiene en menor tiempo, y al analizar la calidad de aglutinación se observó visualmente su efectividad (tabla 2).

DISCUSIÓN

La producción de reactivos AcP humanos para el tipaje de los grupos sanguíneos es una tarea muy laboriosa y prolongada, durante la cual es necesario evaluar si los sueros de las diferentes extracciones realizadas a las personas sensibilizadas tienen anticuerpos aglutinadores de interés. Los lotes obtenidos presentan gran variabilidad. Los AcP son una mezcla de IgM, IgG y IgA con diferente actividad como aglutininas y avides, y las técnicas realizadas con estos reactivos requieren de un tiempo de incubación más largo con respecto a los reactivos monoclonales.⁵

Se han informado varios AcM dirigidos contra antígenos de los grupos sanguíneos del sistema ABO humano obtenidos en ratón,¹¹⁻¹³ y después de varios ensayos de terreno se han usado como hemoclasificadores.¹⁴ Por otra parte, a los hemoclasificadores Hemo CIM anti-A y Hemo CIM anti-B se les realizó un ensayo de terreno con el cual se demostró que las características funcionales de los reactivos

TABLA 1. Reactivos evaluados por la técnica de hemaglutinación en lámina, tubo y placa con muestras de pacientes VIH/SIDA

Fenotipo Celular	N	AcM CIM		AcM Bristol		Policlonal BETERA	
		Anti-A	Anti-B	Anti-A	Anti-B	Anti-A	Anti-B
A	37	37	0	37	0	37	0
B	25	0	25	0	25	0	25
AB	1	1	1	1	1	1	1
O	67	0	0	0	0	0	0
Total	130	37	25	37	25	37	25

TABLA 2. Porcentaje de muestras que aglutinaron según la técnica de lámina para cada reactivo

Antisueros	% de muestras (n = 130)		
	+	++	+++
CIM anti-A	2,7	5,4	91,8
CIM anti-B	8,0	4,0	88,0
Bristol anti-A	29,7	54,0	16,2
Bristol anti-B	20,0	44,0	36,0
BETERA anti-A	75,7	18,9	5,4
BETERA anti-B	60,0	32,0	8,0

se ajustan a los requerimientos de calidad descritos en sus especificaciones; al aplicar estos reactivos en una muestra más amplia y de diferentes procedencias se obtuvieron resultados similares a sus homólogos comerciales y policlonales, con una especificidad del 100 %.¹⁵

Los pacientes VIH/SIDA presentan frecuentes anomalías hematológicas, la más común es la anemia severa, por lo que requieren de múltiples transfusiones como terapia. Al realizar la comparación de los 3 reactivos no se obtuvieron discrepancias,

por lo que concluimos que los reactivos hemoclasificadores Hemo CIM anti-A y Hemo CIM anti-B se pueden utilizar en el tipaje del sistema ABO en pacientes VIH/SIDA. Al comparar la efectividad de la aglutinación para los 3 reactivos, pudimos comprobar que con el reactivo monoclonal, Hemo CIM anti-A y anti-B producidos por el CIM, obtuvimos los mejores resultados en cuanto a aglutinación se refiere, expresada en cruces. Se escogió para el análisis la técnica de lámina por ser la más rápida y más frecuentemente utilizada en los servicios de transfusiones.

SUMMARY

A study conducted with the Cuban anti-A and anti-B Hemo CIM monoclonal hemoclassifiers produced by the Center of Molecular Immunology (CMI) and commercialized by CIMAB S.A. to be evaluated in HIV/AIDS patients is described. 130 patients were analyzed at the Service of Transfusions of "Pedro Kouri" Institute. The polyclonal antisera of national production (Betera Laboratories) and the commercial monoclonal reagents produced and donated by the International Blood Group Reference Laboratory; Bristol, UK, were used at the same time. It was proved that the anti-A Hemo CIM and anti-B Hemo CIM reagents behaved similarly to their commercial and polyclonal homologues. On comparing the effectiveness of the agglutination for the 3 reagents, we were able to verify that the best results expressed in crosses were obtained with the anti-A and anti-B Hemo CIM monoclonal reagents.

Subject headings: ANTIBODIES, MONOCLONAL; HEMAGGLUTINATION TESTS; HIV.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Voak D. Monoclonal antibodies as blood grouping reagents. *Bailliers Clin Haematol* 1990;3:219-42.
2. Harlow E, Lane D. Growing hybridomas. *Antibodies. A laboratory manual.* Cold Spring Harbor: Laboratory, 1988:271-6.
3. Scott ML, Voak D. Monoclonal antibodies to human red blood cell group antigens. *WHO Course in International Blood Group Reference Laboratory, Bristol, UK* 2-6 June, 1997:365-385.
4. Oriol R. The anti A, anti B and anti A, B monoclonal antibodies. *Blood cell biochemistry.* New York: Plenum, 1995;vol 6:43-5.
5. WHO Course in International Blood Group Reference Laboratory, Bristol, UK 2-6 June, 1997. Documento de Consulta en CIMAB S.A.
6. US Food and Drug Administration. Points to consider in design and implementation of field trials for blood grouping reagents and anti-human globulin. Docket No. 91N-0467, March, 1992A:1-6.
7. Friedli F, Rieben R, Wegmuller E, Moerenhout, Nydegger UE. Normal levels of allo-but increased of potentially autoreactive antibodies against ABO histo-blood group antigens in AIDS patients. *Clin Immunol Immunopathol* 1996;80(1):96-100.

8. Popovsky MA, Benson K, Glassman AB. Transfusion practices in human immunodeficiency virus infection. *Transfusion* 1995;35:612-6.
9. Beattie K. ABO discrepancies. En: Mollory D, ed. *Immunoematology methods and procedures*. Rockville: American National Red Cross, 1993:1.1-119.
10. Bencomo A, Alfonso Y, Alfonso ME, González R, Fernández J, Ballester A. Frecuencia de los grupos sanguíneos A₁, A₂, A_{int}, A_{el}, B y O en donantes de sangre. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1997;13:124-31.
11. Edelman L. Los anticuerpos monoclonales en inmunohematología, interés científico, aplicaciones prácticas y aspectos económicos de los reactivos empleados para la determinación de los grupos sanguíneos. Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI). Simposio Latinoamericano sobre la sangre y sus derivados. Conference Room Paper NRLA/83/117/18, Cartagena, Colombia, noviembre, 1984.
12. Urnadiz MP, Cuadrado E, Garrido F. Informe sobre el I Taller Internacional (y Simposio) sobre anticuerpos monoclonales contra antígenos de los eritrocitos y moléculas relacionadas. *Inmunología* 1989;7:93-8.
13. Beck ML, Korth J, Kirkegaard J, Pierce S. Anomalous results of ABO blood grouping with monoclonal reagents. *Transfusion* 1993;33:624.
14. Oriol R, Samuelsson BE, Messeter L. Antibodies serological behavior and immunochemical characterization. *J Immunogenet* 1990;17:279-99.
15. Suárez L, Rivero R, Bencomo A, Díaz T, González JM, Díaz T, et al. Ensayo de terreno de anticuerpos monoclonales hemoclasificadores obtenidos en Cuba. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1997;13:63-9.

Recibido: 5 de noviembre de 1999. Aprobado: 20 de enero del 2000.

Lic. *Ananidia Rivero*. Laboratorio de Diagnóstico Clínico. Subdirección de Atención Médica, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Teléf.: (537) 220634. Fax: (537) 246051 y 220633. e-mail:ananidia@ipk.sld.cu