UNIV DIAG 2000;1(2):22-4

Obtención de sustancia específica de grupo AB a partir de meconio

Lic. Jorge Luis Leyva Torres[1], Téc. Elvira Gallardo Rodríguez[2], Lic. Alicia Luberta Lugo[3] y Téc. Ibraín Reyes Valdés[4]

RESUMEN

La sustancia específica de grupo AB se utiliza para la estimulación de donantes destinados a la obtención de plasma hiperinmune para la producción de sueros hemoclasificadores del sistema ABO. Está constituida por mucopolisacáridos solubles en agua que se encuentran en altas concentraciones en los órganos secretores como las glándulas salivales, mucosa gastrointestinal, etc. y en el meconio; y constituyen una forma de presentarse en el organismo las sustancias A, B y O (H) de los grupos sanguíneos. Se describió la extracción a partir de meconio según la técnica recomendada por *Robert Wall* y otros. Se obtuvo un producto con títulos adecuados, transparente, entre verde claro a incoloro, estéril y resultados satisfactorios en los ensayos de toxicidad y pirógenos, que cumple los requisitos establecidos para inyectables.

Palabras clave: Sustancia de grupo, Meconio, Isoinmunización.

La química ha demostrado que las sustancias A, B y H de los grupos sanguíneos se presentan en el organismo con diferentes características: una que es soluble en solventes orgánicos y se encuentra en los glóbulos rojos y otra como mucopolisacáridos solubles en agua (sustancia de grupo).[1,2]

Esta sustancia de grupo no se encuentra en todos los individuos; está presente en 75 % de los sujetos a los que se les denomina «secretores» y ausente en 25 % que son los «no secretores», es estable al calor, su concentración más alta la podemos encontrar en los órganos secretores: glándulas salivares, páncreas, mucosa gastrointestinal, vesículas seminales y en el meconio y se pueden obtener tanto de origen humano como animal.[1-3]

La sustancia de grupo por su composición no constituye un antígeno, pero unida a los anticuerpos naturales de carácter proteico que poseen los individuos hacen que esos productos de combinación sean verdaderos antígenos y actúen como estimulantes de la respuesta inmune.[2]

La sustancia de grupo se utiliza para la inmunización de donantes destinados a la obtención de plasma hiperinmune para la producción de los sueros hemoclasificadores del sistema ABO. También tiene utilidad como neutralizadora de las aglutininas naturales anti-A y anti-B, con aplicación en hemoterapia para lograr plasma y componentes carentes de estas aglutininas y en la búsqueda de anticuerpos inmunes del sistema ABO al carecer de efecto neutralizantes sobre estos anticuerpos.[2,4]

MÉTODOS

El meconio se obtiene de recién nacidos sanos en el salón de parto del Hospital Ginecoobstétrico «Eusebio Hernández» por personal capacitado, se recoge de forma individual en bolsas de nailon, junto con una muestra de sangre de la madre sin anticoagulante después del parto.

Las muestras de sangre se utilizan para los controles virológico y microbiológico de la madre: pruebas VIH, HBsAg, HCV y VDRL. En el caso de muestras positivas el meconio correspondiente a estas se desecha.

El meconio se preserva individualmente y se homogeniza con 25 a 50 mL de fenol 0,3 % y se conserva a 4 °C; utilizando una muestra de esta suspensión se identifica la sustancia específica presente por la técnica de inhibición de las aglutininas.[4]

[1] Licenciado en Bioquímica.
[2] Técnico en Inmunohematología.
[3] Licenciada en Bioquímica.
[4] Técnico en Procesos Biológicos.

Una vez identificados, se colectan de acuerdo con el grupo a que pertenecen (A, B y AB) y se conservan a 4 °C hasta su utilización. Los que no presentan sustancia de grupo se desechan.

La obtención de la sustancia específica se realiza por el método descrito por *Robert Wall* y otros.: Los meconios de grupo A, B y AB se mezclan en iguales proporciones, se homogenizan y esto se precipita con acetato de sodio y etanol. Se diluye con agua destilada apirogénica y posterior tratamiento con carbón activado. Se repite la precipitación con etanol y acetato de sodio y dilución con solución salina fisiológica, 3 veces y se dializa contra agua destilada a 4 °C durante 3 d, haciendo 2 ó 3 cambios al día.

Se determina la potencia de la sustancia por la técnica de inhibición en tubo, se prueban diluciones seriadas dobles en solución salina de la sustancia frente a suero anti-A y anti-B con títulos de 1:16, incubación 30 min a temperatura ambiente y centrifugación a 1 000 rpm durante 1 min.[4] Se diluye con solución salina hasta valores entre 128 y 1024 y se ajusta el pH entre 6,8 a 7,0 con cloruro de calcio 8,6 %.

Se clarifica por filtración a través de fibra de vidrio y membranas de 0,2 y 0,1 µ hasta obtener el producto transparente y entre verde claro a incoloro.

El proceso de esterilización se realiza por filtración hasta membrana de 0,1 µ y se envasa en bulbos de vidrio por 10 mL con 5 mL del producto.

Los ensayos para el control de la calidad fueron los siguientes:

Potencia: Se realiza según la técnica de inhibición en tubo.[4]

Control microbiológico: Prueba de esterilidad según U.S.P. 23.[6]

Toxicidad: Según B.P. 93.[7]

Pirógenos: Según U.S.P 24.[8]

Se realizó el estudio de estabilidad con 3 lotes de sustancia de grupo AB, se utilizó un bulbo de cada lote cada 3 meses.

Los ensayos realizados correspondieron con las especificaciones de calidad necesarias para establecer la durabilidad del producto: potencia y pH.

RESULTADOS

Se obtuvo la sustancia específica de grupo AB con la calidad requerida:

Características físicas: transparente y libre de partículas.
Título: entre 128 y 1024
Toxicidad y pirógenos: negativo
Control microbiológico: estéril

Los resultados obtenidos en las pruebas de toxicidad y pirógenos y en el control microbiológico fueron satisfactorios.

En las tablas 1, 2 y 3 se refleja el comportamiento de la estabilidad de los 3 lotes en un período de 3 años, donde se observa que los parámetros de calidad se mantienen similares e invariables en el tiempo para cada lote.

TABLA 1. Estudio de estabilidad del lote 71001

Fecha	Potencia		pH
	A	B	
2/97	128	256	6,8
5/97	128	256	6,8
8/97	128	256	6,8
11/97	128	256	6,8
2/98	128	256	6,8
5/98	128	256	6,8
8/98	128	256	6,8
11/98	128	256	6,8
2/99	128	256	6,8
5/99	128	256	6,8
8/99	128	256	6,8
11/99	128	256	7,0

TABLA 2. Estudio de estabilidad del lote 71002

Fecha	Potencia		
	A	B	pH
3/97	512	102	46,8
6/97	512	102	46,8
9/97	512	102	46,8
12/97	512	102	46,8
3/98	512	102	46,8
6/98	512	102	46,8
9/98	512	102	46,8
12/98	512	102	46,8
3/99	512	102	46,8
6/99	512	102	46,8
9/99	512	102	46,8
12/99	512	102	46,8

TABLA 3. **Estudio de estabilidad del lote 71003**

Fecha	Potencia		pH
	A	B	
5/97	512	512	6,8
8/97	512	512	6,8
11/97	512	512	6,8
2/98	512	512	6,8
5/98	512	512	6,8
8/98	512	512	6,8
11/98	512	512	6,8
2/99	512	512	6,8
5/99	512	512	6,8
8/99	512	512	6,8
11/99	512	512	6,9
2/00	512	512	7,0

DISCUSIÓN

La sustancia específica de grupo AB se obtuvo con la calidad requerida que cumple con las especificaciones establecidas para su utilización en humanos. Los resultados satisfactorios obtenidos en las pruebas de toxicidad y pirógenos y en el control microbiológico avalan el producto para su utilización en la inmunización de donantes.

Del estudio de estabilidad se concluye que la sustancia específica de grupo AB, obtenida en estas condiciones, tiene un período de durabilidad de al menos 2 años (teniendo en cuenta el porcentaje de cobertura).

SUMMARY

The specific substance of group AB is used for stimulating donors destined for attaining hyperimmune plasma for producing hemoclassifiers of ABO system. This substance is made up by water soluble mucopoly saccharide which are found in high concentrations in the secretory organs such as the salivary glands, gastrointestinal mucosa and in meconium. They constitute the way in which the blood groups A, B, and O (H) are present in the body. The extraction of this substance from meconium using the technique recommended by Robert Wall et al. is described. The product obtained has adequate titles, is transparent, between light green and colorless and sterile. In the toxicity trials, the results were good, the pyrogens meet the established requirements for inyectable agents.

Keywords: group substance, meconium, isoimmunization

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kabat EA. Blood Group Substances: Their chemistry and inmunochemistry, New York: Academic Press INC. Publishers; 1956: 103,104,127,139.
2. Margni Anibal Ricardo. Inmunología e Inmunoquímica, 4ta ed.: Editorial Médica Panamericana; 1989:61-64.
3. American Association of Blood Banks. Manual Técnico, 12° ed. Argentina: Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunología 1997; 589-590.
4. Code of Federal Regulations Food and Drugs: Additional standard for human blood and blood products 1995; 21 (Pt 680):171-174.
5. Propop O, Uhlenbruck G. Human Blood and Serum Groups, London: Maclaren and Sons; 1969.
6. U. S. Pharmacopoeia National Formulary: Microbiological test 1993; U.S.P. 23 (NF 18): 1681.
7. B. Pharmacopoeia: Toxicity. Vol 2. 1993; B.P. 93:1190.

Recibido: 10 de enero del 2001. Aprobado: 22 de febrero del 2001.

Lic. *Jorge Luis Leyva Torres.* Avenida 29 No. 23814 Apartamento 53, e/ 238 y 240, Reparto San Agustín, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba.