

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE MEDICINA

CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
BIOQUÍMICA CLÍNICA

PREVALENCIA DEL FENOTIPO RH D DÉBIL EN POBLACIÓN  
AFROECUATORIANA QUE ACUDE AL CENTRO DE SALUD TIPO A  
SALINAS, CENTRO DE SALUD CARPUELA Y AL PUESTO DE  
SALUD CHALGUAYACU EN EL VALLE DEL CHOTA, 2019

NORA ALEJANDRA OSORIO GONZÁLEZ

JACKELINE ESTEFANÍA SAGASTI AVILÉS

DIRECTORA: Máster. Rosa Chiriboga Ponce.

QUITO, 2019

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, NORA ALEJANDRA OSORIO GONZÁLEZ, C.I.1726188038; autora del trabajo de graduación intitulado: Prevalencia del fenotipo Rh D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019, previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Facultad de Medicina-Carrera de Bioquímica:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

NORA OSORIO G.

NORA ALEJANDRA OSORIO GONZÁLEZ, C.I. 1726188038

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, JACKELINE ESTEFANÍA SAGASTI AVILÉS, C.I. 060400249-3; autora del trabajo de graduación intitulado: Prevalencia del fenotipo Rh D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019, previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Facultad de Medicina-Carrera de Bioquímica:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



JACKELINE ESTEFANÍA SAGASTI AVILÉS, C.I. 060400249-3

## DEDICATORIA

A Dios, a la Virgen Dolorosa, a mis ángeles (Virgilio Osorio, Sofía González, Isabella González) por escucharme cada vez que lo necesitaba, guiarme en cada paso que he dado hasta ahora y protegerme todos los días de mi vida.

A mi papá, Virgilio Nicolay Osorio Morocho quiero dedicarle este trabajo porque gracias a su esfuerzo y su amor me dio la mejor herencia que puedo tener en la vida, mi profesión. Es la persona que siempre me enseña que la constancia y la perseverancia son los mejores aliados, también me motiva todos los días para seguir adelante con la mejor energía. Él es mi héroe y mi ejemplo a seguir, sé que estará muy orgulloso de mí en cada paso que dé en mi vida profesión y siempre quiero que esté a mi lado tomando mi mano en todo momento. Te amo mucho papi.

A mi mamá, Miriam Del Carmen González González quien ha sido cómplice de esta etapa de mi vida, y por ser la persona que me brinda su confianza, amor y comprensión. La mujer que me enseñó a lograr mis objetivos con esfuerzo y dedicación. Sé que también estará orgullosa de cada paso que de ahora en adelante en mi vida profesional, y quiero que también esté a mi lado tomando mi mano. Te amo mujercita de mi vida.

A mis hermanos, Victoria, Nicolay y Sebastián, por siempre estar a mi lado, por estar pendientes de mí, ya que son lo más lindo que la vida pudo darme. Como hermanos no dejemos de apoyarnos, sacarnos una sonrisa, conversar y más que nada seguir queriéndonos hasta el final. Vendrán buenos y malos momentos pero sé que juntos lograremos grandes cosas, somos un cuarteto inseparable. Les amo.

A mis abuelitos, Luis Alfredo González y Dolores Veintimilla quienes son mi mayor motivación para lograr este objetivo de mi vida. Papi Lucho y Mami Yolanda esto va por ustedes, que nunca me falte un abrazo y su bendición. Siempre los llevo en mi corazón.

Nora Alejandra Osorio González

## DEDICATORIA

Quiero dedicar el presente trabajo de titulación a mi mamá, por ser el pilar fundamental de mi vida, por brindarme su cariño y apoyo incondicional, por todo el esfuerzo que ha realizado para ayudarme a culminar mi formación profesional, y sobre todo por toda la dedicación que ha demostrado hacia sus hijos durante toda su vida, eres lo más importante para mi mami.

A mi papá, por todo su esfuerzo y su cariño, por ofrecerme su ayuda y apoyo siempre que lo he necesitado y por su presencia constante durante toda mi vida. A mis abuelitos y mi tía Grimita por brindarme todo el amor y comprensión que necesitamos en los momentos difíciles y por enseñarme la importancia de compartir con tus seres queridos cada logro de la vida.

A mi hermano, porque a pesar de nuestras diferencias siempre ha estado para darme un abrazo, un detalle de cariño y defenderme siempre que lo he necesitado, te quiero.

A todas las personas que con todo su cariño me motivaron a finalizar mis estudios, a superarme y me tendieron su mano durante este proceso tan largo y difícil, se los agradezco con todo mi corazón.

Y, por supuesto, se lo dedico a Dios, por ayudarme a iluminar mi mente, fortalecerme y poner en mi camino los medios y las personas indicadas que hicieron de este periodo uno de los más enriquecedores y bonitos de mi vida.

Con mucho cariño,

Estefanía Sagasti Avilés

## **AGRADECIMIENTO**

Gracias a Dios, por ser nuestro guía en todo este camino y concedernos el privilegio de llegar a este momento tan importante de nuestra vida profesional, por nuestra vida y salud y la de nuestras familias, por las bendiciones recibidas durante la realización de este trabajo y durante toda la carrera, y por darnos toda la fuerza y paciencia para tomar decisiones y resolver cualquier dificultad que se haya presentado durante este proceso.

A nuestras familias, por brindarnos su amor, apoyo, paciencia y los medios necesarios para culminar este proyecto y durante el transcurso de toda la carrera.

A nuestra directora, Máster Rosa Chiriboga Ponce, por brindarnos su apoyo, tiempo y dedicación para lograr este objetivo, ya que gracias a su excelencia profesional se pudo culminar este estudio. Gracias Rosita por preocuparse y estar pendiente de cada paso que dábamos, por atribuir conocimientos para nuestra vida profesional, y sobre todo por ser una gran guía en este tiempo.

Al Dr. Harvi Reascos, en su momento director del Distrito 10D01- Ibarra- Pimampiro- San Miguel de Urququí por permitirnos realizar el estudio en la zona. Especialmente, a la Lic. Carmen Minda por apoyarnos con tanto entusiasmo en la realización de nuestra labor en la unidad de salud de Chalguayacu, y a las personas encargadas del centro y las unidades de salud por la apertura hacia la realización de la investigación.

A la Carrera de Bioquímica Clínica y a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por ofrecernos el espacio y las personas necesarias para nuestro crecimiento personal y profesional.

## RESUMEN

*Prevalencia del fenotipo Rh D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019.*

**Introducción:** El antígeno D presenta variaciones relacionadas a su expresión en la membrana del glóbulo rojo, que puede ser cuantitativa característica del fenotipo D débil o cualitativa del D parcial. Los glóbulos rojos con fenotipo D débil presentan una reducción de los antígenos y para su identificación requiere de etapas adicionales en pruebas de laboratorio. La determinación de las variantes de D es fundamental en medicina transfusional como prevención de reacciones adversas y enfermedad hemolítica del recién nacido, así como en poblaciones donde existe diversidad étnica como en Ecuador.

**Materiales y Métodos:** Se recolectaron 541 muestras sanguíneas en tres servicios de salud tipo A en Valle del Chota, durante los meses de abril, mayo y junio del año 2019. Se realizaron pruebas in vitro inmunohematológicas para la identificación del grupo ABO y subgrupos de A y factor Rh mediante la prueba de aglutinación en tubo y, para las variantes de D, fenotipos de Rh y antígeno K mediante la técnica en gel, utilizando controles internos de calidad para la confiabilidad de los datos. **Resultados:** se estableció que el grupo sanguíneo más prevalente en afroecuatorianos es el O D (positivo) con un 44,29%, mientras que el subgrupo A1 fue de 67,21% y A2 del 32,90%. El 92% de la población es D (positivo) y el 8% restante es D (negativo). La prevalencia de la variante D débil identificada fue del 4,80%, y fenotípicamente con cde/cde (r/r) clasificada como tipo 4.1-4.2. Se identificó que el 79% de la población posee una variante de D, presumiblemente DVI. El fenotipo de Rh más prevalente en población D (positivo) es cDe/cDe (R0/R0) y en la D (negativo) es cde/cde (r/r) con un 85.7%. También se observó una prevalencia del 97,20% del antígeno Cellano y 2,8% del antígeno K. **Conclusiones y Recomendaciones:** El estudio determinó la existencia de variantes del antígeno D (D débil y parcial), por lo que la identificación del factor Rh y sus fenotipos en la población afroecuatoriana es de suma importancia para los servicios de medicina transfusional, bancos de sangre y hospitales de la Ciudad de Ibarra. La información generada en este estudio será compartida con el Programa Nacional de Sangre como aporte a la garantía de calidad de una transfusión segura y la disponibilidad eficiente de componentes sanguíneos. Se recomienda realizar estudios genéticos en la población que confirme la presencia y tipo de las variantes de D en la población afroecuatoriana.

## ABSTRACT

*Prevalence of the weak Rh D phenotype in the Afro-Ecuadorian population that goes to the Type A Salinas Health Center, Carpuela Health Center and the Chalguayacu Health Post in the Chota Valley, 2019.*

**Introduction:** The D antigen presents variations related to its expression in the red blood cell membrane, which can be quantitative characteristic of the weak or qualitative D phenotype of partial D. Red blood cells with a weak D phenotype have a reduction in antigens and for their identification require additional stages in laboratory tests. The determination of the variants of D is fundamental in transfusion medicine as prevention of adverse reactions and haemolytic disease of the newborn, as well as in populations where there is ethnic diversity as in Ecuador. **Materials and Methods:** 541 blood samples were collected in three type A health services in Valle del Chota, during the months of April, May and June of the year 2019. The samples were analyzed in the Immunology / Blood Bank laboratory of the Clinical Biochemistry Career of the PUCE-Quito. Immunohematological in vitro tests were performed for the identification of the group and subgroups of ABO and Rh factor by the agglutination test and, for the D variants, Rh phenotypes and K antigen using the gel agglutination technique, using internal quality controls for data reliability. **Results:** It was established that the most prevalent blood group is O D (positive) with 44.29%. The frequency of subgroup A1 was 67.21% and subgroup A2 was 32.90%. It was determined that 92% of the population is D (positive) and the remaining 8% is D (negative). The prevalence of the identified weak D variant is 4.80%, and phenotypically with cde / cde (r/r) and all being of type 4.1-4.2. It was identified that 79% of the population possesses a variant of D, presumably variant DVI. The most prevalent phenotype in population D (positive) is cDe / cDe (R0 / R0) and the most prevalent in population D (negative) is cde / cde (r / r) with 85.7%. A prevalence of 97.20% of the Cellano antigen and a prevalence of 2.8% of the K antigen was found. The prevalence of each of the variables was established with respect to age, gender, pregnancy and locality. **Conclusions and Recommendations:** The study determined the existence of variants of the D antigen (weak and partial D), so the identification of the Rh factor and its phenotypes in the Afro-Ecuadorian population is of paramount importance for the services of transfusion medicine, blood banks and hospitals of the Ibarra city. The information generated in this study will be shared with the National Blood Program as a contribution to the quality assurance of a safe transfusion and the efficient availability of blood components. It is recommended to carry out genetic studies in the population that confirms the presence and type of D variants in the Afro-Ecuadorian population.

## TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I.....	10
1.1. JUSTIFICACIÓN .....	10
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
1.3. OBJETIVOS .....	13
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	13
1.3.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS.....	13
1.3.3. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO .....	13
CAPÍTULO II.....	14
2.1. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	14
2.1.1 Antecedentes.....	14
2.2. MARCO TEÓRICO .....	16
2.2.1. SISTEMA Rh .....	16
2.2.1.1. Genes y proteínas Rh .....	17
2.2.1.2. Caja Rhesus .....	17
2.2.1.3. Antígeno D negativo.....	18
2.2.1.4. Fenotipo D variante.....	18
2.2.1.5. Antígeno D débil .....	19
2.2.1.6. Antígeno D parcial .....	21
2.2.1.7. DEL.....	21
2.2.1.8. Fenotipo del Sistema Rh.....	21
2.2.1.9. Antígeno D débil asociado con antígenos C y E.....	22
2.2.1.10. Antígeno D débil y el sistema inmune .....	22
2.2.2 HERENCIA DEL SISTEMA Rh .....	23
2.2.3. DETECCIÓN DEL FACTOR Rh Y SUS FENOTIPOS .....	23
2.2.4. ABORDAJE DEL PACIENTE CON FENOTIPO D DÉBIL .....	24
2.2.5. ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL FETO Y RECIÉN NACIDO.....	25
2.2.6. SISTEMA KELL .....	26
2.3. MARCO CONCEPTUAL.....	27
CAPÍTULO III.....	29
3.1. MARCO METODOLÓGICO .....	29

3.1.1.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1.1.1.	Tipo de Estudio .....	29
3.1.1.2.	Tipo de Muestreo .....	29
3.1.1.3.	Tamaño de Muestra .....	29
3.1.1.4.	Criterios de Inclusión.....	30
3.1.1.5.	Criterios de Exclusión .....	31
3.1.1.6.	Análisis Estadístico .....	31
3.2.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	32
3.2.1.	Variables principales:.....	32
3.2.2.	Variable interviniente: .....	32
3.3.	MATERIALES Y PROCESO.....	44
3.3.1.	Materiales.....	44
3.3.2.	Reactivos.....	44
3.3.3.	Equipos .....	44
3.4.	PROCEDIMIENTO.....	45
3.4.1.	Fase Uno: .....	45
3.4.2.	Fase Dos: .....	45
3.4.3.	Fase Tres:.....	46
3.4.4.	Fase Cuatro: .....	47
3.4.4.1.	Preparación de la muestra .....	47
3.4.4.2.	Pruebas inmunohematológicas .....	48
3.4.5.	Base de datos .....	49
	CAPÍTULO IV .....	50
4.	CONTROL DE CALIDAD .....	50
4.1.	Pruebas de aglutinación monoclonales con antisueros ABO y Rh .....	50
4.2.	Tarjetas de gel Coombs Anti-IgG .....	52
4.3.	Tarjeta de gel Rh-Subgroups + K.....	53
4.4.	Comparación intraoperador .....	55
	CAPITULO V .....	57
5.	RESULTADOS .....	57
5.1.	Descripción de la Población de Estudio .....	57
5.2.	Determinación de grupo sanguíneo ABO-Rh .....	60

5.3. Frecuencia del antígeno D .....	63
5.4. Prevalencia de Variantes del antígeno D .....	65
5.5. Determinación de fenotipos del sistema Rh .....	68
5.6. Determinación del antígeno K.....	71
6. DISCUSIÓN.....	73
7. CONCLUSIONES .....	79
8. RECOMENDACIONES .....	80
9. BIBLIOGRAFÍA.....	81
10. ANEXOS.....	87

## LISTA DE TABLAS

Tabla N°1 Nomenclatura del Sistema Rh.....	16
Tabla N°2 Alelos D débiles .....	20
Tabla N° 4.1 Evaluación de la potencia en antisueros monoclonales ABO y Rh .....	50
Tabla N° 4.2 Evaluación de la avidéz en antisueros monoclonales ABO y Rh .....	51
Tabla N° 4.3 Evaluación de la especificidad de antisueros monoclonales ABO y Rh .....	52
Tabla N°4.4 Control de calidad de Tarjetas de gel Coombs-IgG .....	53
Tabla N°4.5 Control de calidad de Tarjetas de gel Rh-Subgroups+K.....	54
Tabla N°4.6 Comparación intraoperador del gel Coombs Anti-IgG .....	55
Tabla N°5.1. Distribución de la población según género, edad y zona natal. ....	58
Tabla N°5.2. Distribución del subgrupo A según el género y la edad .....	62
Tabla N°5.3. Subgrupo A asociado con el grupo sanguíneo A y AB .....	63
Tabla N°5.4. Antígeno D (positivo) y D (negativo) según localidad y género.....	64
Tabla N°5.5. Prevalencia del antígeno D débil de la población afroecuatoriana.....	65
Tabla N°5.6. Tipo de D débil relacionado con la localidad, género, fenotipo .....	65
Tabla N°5.7. Distribución del antígeno DVI por localidad .....	66
Tabla N°5.8. Distribución porcentual de los fenotipos del Sistema Rh .....	68
Tabla N°5.9. Distribución porcentual de los fenotipos del Sistema Rh según el género ...	69
Tabla N°5.10. Distribución poblacional del fenotipo del Sistema Rh según la localidad ...	70
Tabla N°5.11. Distribución del antígeno K según la localidad .....	72
Tabla N°5.12. Distribución del antígeno K en mujeres embarazadas.....	72

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: <i>Caja Rhesus</i> (b) y gen <i>RHD</i> y <i>RHCE</i> .....	17
Gráfico N°2: Genoma RhD-positivo y Genoma RhD-negativo.....	18
Gráfico N°3: Características del antígeno D débil .....	19
Gráfico N°4.1 Detección de antígenos CDE/cde- control de calidad interno .....	54
Gráfico N°4.2 Reacción Negativo .....	56
Gráfico N°4.3 Reacción Positiva ± .....	56
Gráfico N°4.4 Reacción Positiva 1+ .....	56
Gráfico N°4.5 Reacción Positiva 2+ .....	56
Gráfico N°4.6 Reacción Positiva 3+ .....	56
Gráfico N°4.7 Reacción Positiva 4+ .....	56
Gráfico N°5.1 Población de estudio según el género .....	57
Gráfico N°5.2 Mujeres embarazadas según los servicios de salud .....	59
Gráfico N°5.3 Distribución de los grupos sanguíneos y D(positivo) de la población .....	60
Gráfico N°5.4 Distribución de los grupos sanguíneos y D(negativo) de la población.....	61
Gráfico N°5.5 Distribución del subgrupo del antígeno A.....	61
Gráfico N°5.6 Distribución del antígeno D.....	63
Gráfico N°5.7 Rh D(positivo) en mujeres embarazadas según la edad.....	64
Gráfico N°5.8 Distribución porcentual de la variante DVI en la población .....	66
Gráfico N°5.9 Distribución porcentual de la variante DVI en mujeres embarazadas .....	67
Gráfico N°5.10 Distribución porcentual del antígeno K en la población.....	71

## ANEXOS

Anexo 1: Autorización de la Dirección de Inteligencia en Salud (DINS) del MSP .....	87
Anexo 2: Autorización del Distrito 10D01 Ibarra- Pimampiro- San Miguel de Urcuquí.....	88
Anexo 3: Aprobación del Comité de Ética de investigaciones en Seres Humanos-PUCE89	
Anexo 4: Aprobación del uso de laboratorio, infraestructura y equipo en la carrera de Bioquímica Clínica-PUCE .....	90
Anexo 5: Consentimiento y Asentimiento Informado .....	91
Anexo 7: Cuestionario.....	100
Anexo 8: Procedimiento estándar de toma de muestra del CLSI .....	101
Anexo 9: Preparación de la muestra para pruebas inmunohematológicas .....	102
Anexo 10: Procedimiento para la determinación de factor Rh.....	103
Anexo 11: Procedimiento para determinación de D débil por aglutinación en gel .....	103
Anexo 12: Procedimiento para la determinación de los fenotipos de Rh .....	104
Anexo 13: Procedimiento de control de calidad para determinación de D débil por aglutinación en gel.....	104
Anexo 14: Informe de resultados post-estudio .....	105
Anexo 15: Proceso de estudio .....	106

## LISTA DE SIGLAS

**ADN:** Ácido Desoxirribonucleico

**EHRN:** Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido

**FDA:** Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos

**IATA:** Asociación Internacional de Transporte Aéreo

**IBM:** International Business Machines Corporation

**MSP:** Ministerio de Salud Pública

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PAI:** Prueba de Antiglobulina Indirecta

**Rhlg:** inmunoglobulina Rh

**RHPT:** Reacciones Hemolíticas Post-transfusionales

**SPSS:** Statistical Package for the Social Sciences

## INTRODUCCIÓN

El factor Rh es parte del grupo sanguíneo de una persona, es una proteína integral de la membrana de los glóbulos rojos, y se conoce como antígeno D. Los Rh D positivos son aquellas personas que presentan dicha proteína en sus glóbulos rojos, y D negativos quienes no la presentan. El antígeno D presenta variaciones debido a su expresión en la membrana del glóbulo rojo, la que puede ser cualitativa (mutaciones) o cuantitativa (cantidad de sitios antigénicos) a esta variedad se le denomina D débil o Du. El antígeno D se encuentra en la proteína RhD, esta puede atravesar la membrana de los eritrocitos muchas veces exponiendo una parte en la superficie dando lugar a mutaciones o sustituciones de aminoácidos en la proteína, lo que se conoce como D parcial, mientras que si las mutaciones y/o sustituciones de aminoácidos se dan dentro de la membrana eritrocitaria o el citoplasma, se conoce como D débil (Flegel, 2007b). Las muestras sanguíneas con antígeno D Rh(negativo), ya sea en técnica de tubo, placa, gel o microplaca, deben ser confirmadas para el antígeno D débil mediante la prueba de antiglobulina humana indirecta (PAI) y para su identificación dentro del proceso de tipificación se requiere de etapas adicionales como: aumento en el tiempo de incubación, adición del suero antiglobulina humana y selección de reactivos anti-D monoclonales de acuerdo a la población, con la finalidad de evitar resultados equívocos y modificar procesos que no están bien definidos en todos los laboratorios clínicos y centros de salud que realizan pruebas de tipificación sanguínea (Dava et. al., 2018).

El Sistema ABO es el más importante en la transfusión sanguínea y en los trasplantes (Cortés, Muñoz-Díaz y León, 2014), en caso de que exista una incompatibilidad de hematíes ABO se pueden producir reacciones hemolíticas severas. En países como Colombia, Estados Unidos y África la población afrodescendiente tiene mayor frecuencia del antígeno O, mientras que el antígeno AB es menor.

El factor Rh es uno de los más importantes en las mujeres embarazadas, ya sea Rh D (positivo) o Rh D (negativo), ya que es el más polimórfico e inmunogénico. Este antígeno está relacionado con la enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, las reacciones de transfusión hemolítica y la anemia hemolítica autoinmune (Ba, Beley, Chiaroni, Bailly y Silvy, 2015). El fenotipo D (negativo) es menos frecuente en individuos afrodescendientes, mientras que el fenotipo D (positivo) es más frecuente en esta población. Las variantes D son frecuentemente encontradas en personas de ascendencia africana siendo menos frecuentes en población de origen europeo o asiático (Zacarias, et al., 2016a).

Debido a que la prevalencia de estas variantes D difiere de acuerdo a los grupos étnicos, estudios precedentes han buscado establecer su frecuencia en poblaciones heterogéneas. Zacarias, et. al (2016a) realizaron un estudio en Paraná, Brasil, donde hay una gran diversidad étnica y existe una contribución de genes africanos, determinando una frecuencia alta de estas variantes que le permitió identificar el impacto de éstas en los procesos de transfusión sanguínea en una población con una constitución étnica tan diversa. Por ello, es indispensable que se realicen estudios sobre estas variantes en Ecuador en individuos con contribución genética africana (Zacarias, et. al, 2016a).

En individuos con variante D existe el riesgo de aloinmunización anti-D, es por ello que las mujeres embarazadas portadoras de una variante D y/o sensibilizadas pueden producir EHRN grave en el feto e incluso puede ocasionar muerte fetal. Debido a esto el monitoreo inmunohematológico obstétrico es esencial, ya que las mujeres gestantes serán candidatas para recibir la dosis de gammaglobulina anti-D (Sandler, Chen, & Flegel, 2017).

El fenotipo Rh puede ayudar a predecir los tipos de variantes D (D débil y D parcial) ya que algunos están relacionados con haplotipos RH (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014). La expresión del antígeno “e” es más compleja y se encuentra mayoritariamente en personas de ascendencia africana (Westhoff, 2005a).

En el país no existen estudios sobre la determinación del Sistema Sanguíneo Kell en población afroecuatoriana. Este sistema está compuesto por seis conjuntos de antígenos antitéticos localizados en la superficie de los glóbulos rojos, siendo los más importantes el antígeno Kell y el Cellano (Chargoy, Azcona y Ramírez, 2016). En individuos afrodescendientes el antígeno k (Cellano) es el más frecuente. Específicamente, en el Valle del Chota gran parte de las mujeres se encuentran en edad fértil y/o en estado de gestación, por esta razón la identificación temprana de este antígeno ayudará a prevenir la enfermedad hemolítica del recién nacido, ya que se puede dar una incompatibilidad materno-fetal debido a la inhibición de la eritropoyesis (Canle, 2013).

En Ecuador los estudios sobre la frecuencia del Sistema ABO, factor Rh, fenotipo Rh, variantes D, y Sistema Kell relacionados con las regiones y etnias son escasos. Por otro lado, todos estos son heredados bajo procesos y leyes genéticas, por esta razón el estudio de la relación entre los sistemas sanguíneos y grupos étnicos, como la afrodescendiente, es fundamental para establecer un perfil de la distribución de frecuencias de grupos sanguíneos en el país, y así prevenir futuras transfusiones sanguíneas y evitar reacciones hemolíticas transfusionales inmediatas y tardías.

# CAPÍTULO I

## 1.1. JUSTIFICACIÓN

La determinación de las variantes del antígeno D es fundamental en medicina transfusional y en mujeres embarazadas, como prevención de reacciones adversas y la enfermedad hemolítica del recién nacido. Algunos estudios han determinado la existencia de variantes del antígeno D en poblaciones caucásicas, africanas y asiáticas debido a la mezcla racial (Martin, et. al., 2013; Luo, et. al., 2018). Sin embargo, existen escasos estudios en la población afroecuatoriana. En el Ecuador existe una diversidad étnica, por lo que el propósito de este estudio es determinar la prevalencia de la variante D débil que facilite la prevención de complicaciones en el embarazo y problemas transfusionales en esta población al recibir sangre incompatible.

En el estudio de Martín, et. al. (2013) se determinó que los factores étnicos influyen en la cantidad y tipo de mutaciones genéticas dando lugar a mayores polimorfismos del antígeno D. La variante D débil ha sido identificada mayoritariamente en la población africana y su identificación es necesaria, puesto que se han reportado casos de individuos portadores de esta variante que han generado anti-D. Es igual de importante la identificación de individuos con la variante D parcial, siendo capaces de producir aloanticuerpos anti-D tras una inmunización previa con glóbulos rojos D positivo. De igual manera, la identificación precoz de estas variantes en gestantes permite el tratamiento oportuno de las mismas con gammaglobulina anti-D. Es necesario tomar en cuenta que al ser paciente receptor, es decir, a quien se le realizará una transfusión sanguínea, se debe considerar como paciente Rh D(negativo), y al ser paciente donante, es decir a quien se le realiza la extracción de los componentes sanguíneos, debe ser considerado como paciente Rh D(positivo); esta variación en la identificación del antígeno D evitará posteriores aloinmunizaciones, es decir producción de anticuerpos irregulares que destruyen a los eritrocitos transfundidos o los del feto (Yazer, et. al., 2016)

Es de gran relevancia que cada banco de sangre y servicio de medicina transfusional evalúe sus estrategias de tipificación RhD dependiendo de las condiciones locales, en vista de que se pueden presentar estas discrepancias incluso con el uso de técnicas estandarizadas y reactivos certificados por los fabricantes. Así, en el estudio de Cayres, et. al. (2015) en un banco de sangre en Brasil, se enfatizó en el desafío que constituye la fenotipificación RhD debido a la cantidad de métodos y reactivos disponibles en el

mercado, y comparó la efectividad de tres métodos para la confirmación RhD mediante la prueba de antiglobulina indirecta, concluyendo que la implementación de una prueba confirmatorio mediante PAI en gel proporciona mejores resultados y constituye un progreso hacia las transfusiones seguras.

Por lo tanto, en nuestro país es indispensable establecer la importancia de variantes del antígeno D, es decir la precisión de los resultados de tipificación y la determinación de este en la población afroecuatoriana, ya que son críticos en los aspectos de seguridad de transfusiones sanguíneas. Además, implementar estrategias de identificación del grupo sanguíneo en mujeres embarazadas y nuevos algoritmos de tipificación sanguínea que aporten al Programa de Maternidad Gratuita para la protección de reacciones transfusionales y enfermedad hemolítica del recién nacido, así también permitirá la elección de reactivos para la detección de las variantes del antígeno D y su correcta identificación.

## **1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El antígeno D débil es definido como la expresión debilitada del D normal y para su identificación dentro del proceso de tipificación se requiere de etapas adicionales como: aumento en el tiempo de incubación, adición del suero antiglobulina humana y selección de reactivos anti-D de acuerdo a la población, con la finalidad de evitar resultados equívocos y modificar procesos que no están bien definidos en todos los laboratorios clínicos y centros de salud que realizan pruebas de tipificación sanguínea (Dava, et. al., 2018). La variante D débil presenta sustituciones de aminoácidos que afectan su expresión o exposición en la superficie de los glóbulos rojos dificultando la detección del mismo, una identificación errada del antígeno D es causa de aloinmunización y reacciones adversas a una transfusión sanguínea (Luo, et. al., 2018).

Una de las causas para que un individuo presente fenotipo D débil es la herencia de alelos RHD que codifican la producción de proteínas con cambios o sustituciones de aminoácidos, provocando una expresión menor de la proteína RhD y generando un antígeno D incompleto (Yazer, et. al., 2016), siendo esto común en individuos afrodescendientes (Gaspardi et. al., 2016). En Ecuador se desconoce la presencia del antígeno D débil en la población afroecuatoriana especialmente del Valle del Chota donde se localizan 21.505 individuos afrodescendientes (INEC, 2010). La investigación realizada por Baptista en el,

2005 determinó que la población afrodescendiente es portadora del antígeno D débil, constituyéndose un problema de salud por su relevancia clínica (Baptista, 2005).

Otro aspecto a considerar es la previsión de sangre compatible para esta población; en el Chota a nivel del Centro de Salud no se encuentra disponible el servicio de medicina transfusional, por lo que es necesario obtener información acerca de la prevalencia de la variante D débil en esta población con el fin de ofrecer estos resultados tanto a la población como al servicio de medicina transfusional del Hospital San Vicente de Paúl, lugar de referencia de los centros de salud cuando la población requiere transfusiones de sangre compatible o existen complicaciones en mujeres embarazadas y en recién nacidos.

En este contexto, se propone la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la prevalencia del fenotipo D débil en la población afroecuatoriana del valle del Chota que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y el Puesto de Salud Chalguayacu, 2019?

## **1.3. OBJETIVOS**

### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la frecuencia y tipos del antígeno D débil en la población afroecuatoriana que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, al Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en Valle del Chota, 2019.

### **1.3.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS**

- Determinar la frecuencia de portadores de antígeno D en los pobladores afroecuatorianos que acuden al Centro de Salud Tipo A Salinas, al Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en Valle del Chota, mediante la metodología de tubo.
- Establecer la frecuencia del antígeno D débil en los pobladores afroecuatorianos que acuden al Centro de Salud Tipo A Salinas, al Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en Valle del Chota, mediante la metodología en gel de Coombs.
- Determinar los fenotipos del sistema Rh de los pobladores afroecuatorianos que acuden al Centro de Salud Tipo A Salinas, al Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en Valle del Chota mediante metodología en tubo.
- Establecer los tipos del antígeno D débil de los pobladores afroecuatorianos que acuden al Centro de Salud Tipo A Salinas, al Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en Valle del Chota mediante análisis del fenotipo del sistema Rh.
- Relacionar la presencia del antígeno D débil con los fenotipos del sistema Rh, edad y género de los pobladores afroecuatorianos que acuden al Centro de Salud Tipo A Salinas, al Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en Valle del Chota.

### **1.3.3. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO**

El estudio se enfoca en la determinación de la frecuencia de la expresión del antígeno D débil y sus fenotipos en individuos afroecuatorianos mediante la aplicación de la técnica serológica en tarjetas de gel. No se realizarán estudios moleculares por los costos que implica.

## CAPÍTULO II

### 2.1. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

#### 2.1.1 Antecedentes

El sistema Rh está formado por 54 antígenos, de los cuales cinco son los principales responsables de la mayoría de las incompatibilidades y de la aparición de anticuerpos clínicamente significativos, son los antígenos D, C, c, E, e (Daniels, 2013a; AABB, 2012). Estos cinco antígenos son codificados por los genes RHD y RHCE y heredados bajo las leyes de Mendel, sin embargo, pueden sufrir variaciones genéticas y afectar directamente a la transcripción antigénica. Variaciones como delección, inserción o mutaciones puntuales perjudican a la expresión fenotípica del Factor Rh (D), siendo la eliminación total del gen RHD la que da origen al fenotipo D negativo común en el 10-23% en africanos y 70% en asiáticos. Así, las variaciones genómicas estructurales, entre estos dos genes de alta homología, constituyen la causa principal de las marcadas diferencias raciales con respecto a la expresión del fenotipo D negativo en la población. (Martin, et. al., 2013).

En vista de que la prevalencia de alelos RHD difiere significativamente entre grupos étnicos, un estudio realizado en donantes de sangre en el Estado de Paraná, sur de Brasil, donde existe población fenotípicamente blanca, con una contribución de genes africanos del 12.5%, y mulata, con una contribución del 49.5% de ascendencia africana, determinó la frecuencia de variantes RHD. De las 400 muestras de donantes analizadas se reportó la presencia del gen RHD en el 88,3%, 29 de estas muestras fueron caracterizadas con alelos D débiles y de acuerdo con el tipo, el 4,35% correspondieron al D débil tipo 1; el 0,29% al tipo 2; el 1,46% al tipo 3 y el 2,32% al tipo 4 (Zacarías, et. al., 2016a). Otro estudio que confirma la existencia de variantes de RHD y RHC+E en población brasileña caracterizada por un alto grado de mezcla entre descendientes de europeos, africanos y nativos americanos pero esta vez en una muestra de donantes de sangre de 80.961, superior a la anterior investigación, reporta el 0,52% de D débiles o discrepantes y determina que la mayoría de los alelos variantes de RHD fueron del grupo D débil tipo 4 heredados con diferentes alelos RHCE\*ce (Prisco, et. al., 2016).

Estudios realizados en poblaciones de ascendencia africana, han reportado la presencia de una directa correlación entre etnia y la variante débil de RHD. Uno de ellos, realizado

en el norte de Uganda sobre la prevalencia de variantes de RHD en donantes del Banco de Sangre Regional de Gulu, pertenecientes a varias tribus africanas, encontró que entre los 138 donantes Rh D negativo existe una prevalencia de las variantes de RHD del 0.7%, resultados concordantes con estudios precedentes obtenidos en poblaciones similares y con un tamaño de muestra mayor, donde el 6.5% en donantes en Ghana y el 2.1% de donantes del Banco de Sangre en Kenia (Ojok, et. al., 2017).

En el estudio realizado en los donantes del Banco de Sangre de la Cruz Roja Colombiana Seccional Antioquia, región en la que la población es una mezcla de amerindios, africanos y europeos, se determinó que del 14.04% de donantes identificados como Rh D negativos, el 0.83% correspondieron a Rh D débil, los que fueron confirmados mediante la prueba de antiglobulina indirecta (Tobón, 2017).

En Ecuador, un estudio retrospectivo (2011 a 2014) sobre la frecuencia de la variante D débil en donantes de sangre del Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, encontró el 2.02% de Rh D débil del total de donantes Rh D negativos (9411), con mayor frecuencia en los grupos en edad fértil entre 16-45 años y mayor prevalencia de donantes Rh D débil en la provincia de Pichincha y Guayas (Gallegos, 2016). Sin embargo, el estudio no estableció las características raciales de los individuos, ni consideró la literatura científica en base a la cual se evidencia que la prevalencia de RhD débil es alta en poblaciones de ascendencia africana, dejando abierto este campo a futuras investigaciones.

## 2.2. MARCO TEÓRICO

### 2.2.1. SISTEMA Rh

El Sistema Rh es uno de los más importantes debido a que es altamente inmunogénico y complejo con numerosos polimorfismos y alelos clínicamente significativos tanto en la práctica transfusional como en la enfermedad hemolítica del recién nacido (Vásquez, Castillo, Pavez, Maldonado y Mena, 2014). Por otra parte, los términos “Rh positivo” y “Rh negativo” hacen referencia a la presencia o ausencia del antígeno D en los eritrocitos. Dentro de este sistema se han descubierto cuatro antígenos, los cuales son: C y c antitéticos y el E y e. Estudios han demostrado que las variaciones étnicas y geográficas en alelos de los genes *RHD* y *RHCE* tienen implicancias en las prácticas transfusionales y obstétricas (AABB, 2012).

En la actualidad se toman en cuenta dos nomenclaturas para este sistema, las cuales son: Fisher, para la escritura ordinaria y Wiener, para el lenguaje oral. En la última, se toma en cuenta que aquellos que producen el antígeno D, serán R; y aquellos que no produzcan este antígeno serán r. Con respecto a los antígenos C, c, E y e se utiliza subíndices y superíndices para identificarlos (AABB, 2012). Tabla N°1

**Tabla N°1 Nomenclatura del Sistema Rh**

Fisher/Race	Weiner Rh- Hr
CDe	R <sub>1</sub>
cde	r
DcE	R <sub>2</sub>
cDe	R <sub>0</sub>
dcE	r''
Cde	r'
CDE	R <sub>z</sub>
CdE	r <sub>y</sub>

**Autor:** Héctor Baptista

**Fuente:** Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social

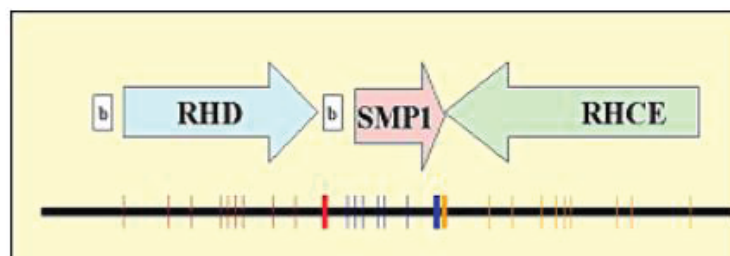
La importancia clínica de los grupos sanguíneos en inmunohematología se debe a la posibilidad de que los aloanticuerpos pueden ocasionar la destrucción de los hematíes transfundidos, o atravesar la placenta e inducir una hemólisis en el feto y en el recién nacido (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

### 2.2.1.1. Genes y proteínas Rh

Los genes *RHD* y *RHCE* codifican a las proteínas Rhesus RhD y RhCE. Ambas proteínas se expresan únicamente en la membrana de los eritrocitos (Flegel, 2007b) El gen *RHCE* es el primer gen descubierto, y luego el gen *RHD*. La diferencia entre estas dos proteínas es de 32-35 de 416 aminoácidos (Westhoff, 2007b). De los cuales, uno codifica el antígeno D y el otro 105 antígeno CE en varias combinaciones, tales como: ce, cE, Ce, o CE. Estos genes tienen 10 exones, y codifican proteínas que difieren en 32 a 35 aminoácidos. El Rh negativo tiene varios fenotipos, de los cuales la mayoría resultan de la supresión completa del gen *RHD*, por lo tanto, un individuo D- negativo induce la síntesis de anticuerpos con especificidad anti-D (AABB, 2012).

### 2.2.1.2. Caja Rhesus

El gen *RHD* y *RHCE* son homólogos aproximadamente en un 97% están ubicados en el brazo corto del cromosoma 1, región 34-36, banda 1 (1p34-36.1). El gen *RHD* esta flanqueado en ambos lados, es decir, en la región terminal 5' y 3' por dos secuencias de ADN de aproximadamente 9000 pares de bases a las cuales se denominan *cajas Rhesus* superior o *upstream* y la caja inferior o *downstream* (Baptista, Rosenfeld, Trueba, Reyes, y Jiménez, 2010).

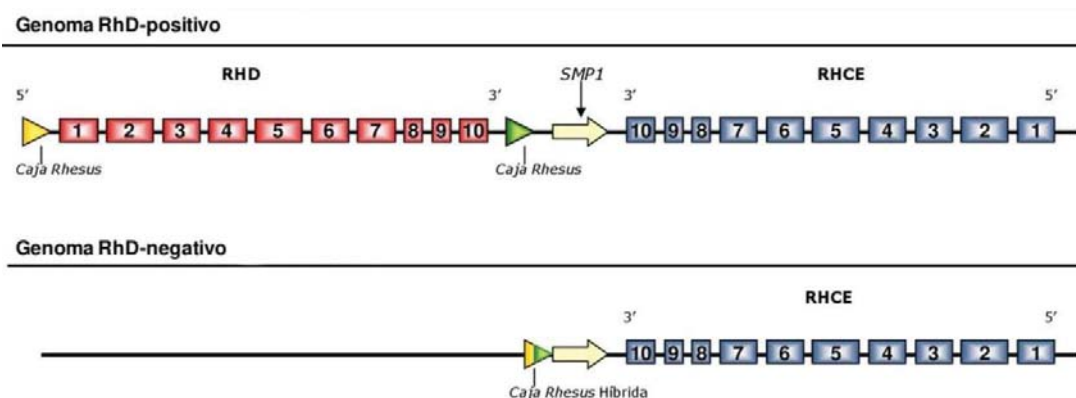


**Gráfico N° 1: Caja Rhesus (b) y gen RHD y RHCE**

**Autor:** Jazmín Cruz Reyes

**Fuente:** Caracterización genotípica del gen *RHCE*

La *caja Rhesus* híbrida es una nueva estructura que se da por la eliminación el gen *RHD* (Khosroshahi, Oodi, Namjou, Gholamali, y Amirizadeh, 2019) que es dominante en individuos con fenotipo Rh D (negativo) y sucede por el entrecruzamiento de la caja superior e inferior, la cual es igual a la a la terminación 5' de la caja Rh superior y la terminación 3' de la caja Rh inferior (Baptista, Rosenfeld, Trueba, Reyes, y Jiménez, 2010).



**Gráfico N°2: Genoma RhD-positivo y Genoma RhD-negativo**

**Autor:** Gloria Eugenia Barco A

**Fuente:** Hospital Pablo Tobón Uribe – Inmunohematología

### 2.2.1.3. Antígeno D negativo

El fenotipo D negativo es el resultado de una delección en el gen *RHD* producida por la caja Rhesus híbrida, que consiste en un entrecruzamiento desigual de las cajas Rhesus de dos haplotipos RH en “trans” (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014). En poblaciones asiáticas, es común un *RHD* intacta pero silenciada y en las poblaciones africanas, hasta un 66% de las personas con fenotipo D negativo tienen un *RHD* inactivo (el pseudogen *RHD* o *RHD* \*  $\Psi$ ) a causa de un codón de parada prematuro (Reid, Lomas-Francis, & Olsson, 2012). Aquellos individuos con dicho fenotipo no presentan anticuerpos naturales contra el antígeno D, por lo que pueden producir anticuerpos anti-D frente a cualquier exposición, es decir embarazo o transfusión sanguínea con un fenotipo positivo (Kim, et. al., 2015).

### 2.2.1.4. Fenotipo D variante

La expresión del antígeno D en los glóbulos rojos puede estar disminuida debido a variaciones fenotípicas que pueden ser cuantitativas, como el fenotipo D débil, o cualitativas, como el fenotipo D parcial (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014). Diferenciar estas

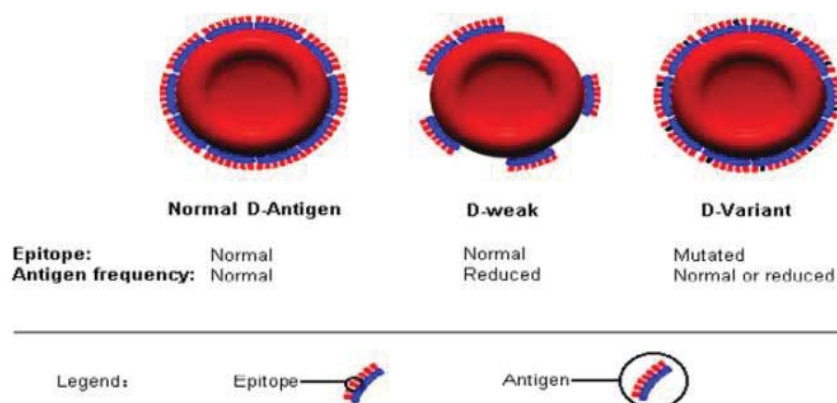
dos variantes a nivel serológico puede tornarse confuso y depende de las características del reactivo, por lo que se agrupa a estos fenotipos en uno solo denominado fenotipo D variante, consiguiendo un único enfoque (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014). Para poder clasificar estos fenotipos D variante en alelos D débil y alelos D parcial es necesaria una caracterización molecular, sin embargo, esto no resuelve como debe ser el manejo transfusional u obstétrico de los pacientes y es necesario basarse en evidencias clínicas para manejar cada alelo particularmente (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

Se ha establecido que la población africana tiene una mayor incidencia de fenotipos D variantes que la población caucásica, donde tan solo el 1% o 2% de la población posee estos alelos (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

### 2.2.1.5. Antígeno D débil

Los glóbulos rojos con fenotipo D débil poseen un número menor de sitios antigénicos que los D positivo, y presentan una reacción de aglutinación débil o negativa con reactivos monoclonales en medio salino. Por ello, actualmente se potencia esta reacción con reactivos Anti-D de tipo IgG en fase antiglobulina (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

En esta expresión ocurren mutaciones en los nucleótidos del RHD que inducen cambios en los aminoácidos intracelulares, o en la región transmembrana del RHD (AABB, 2012). Existen diferentes tipos de antígeno D débil que se pueden asociar con el fenotipo, por ejemplo: el tipo 1 y 3 se asocian al fenotipo CDe (r1); el tipo 2 y 5 se asocian al fenotipo cDE (R2), y por último el tipo 4.1 y 4.2 con el fenotipo cDe (Ro) (Aburto, 2013). Gráfico N°1



**Gráfico N°3: Características del antígeno D débil**

**Autor:** Geoff Daniels

**Fuente:** Essential guide to blood groups

Es importante clasificar a estos distintos alelos D débil, ya que se han descrito más de ochenta, siendo los más conocidos el tipo 1, 2, 3 y 4 en población caucásica, y de igual manera estos alelos se dividen en subtipos. El D débil tipo 4.2.0, conocido como DAR, se detecta con mayor frecuencia en la raza negra africana (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

Tabla N°2

**Tabla N°2 Alelos D débiles**

D débil	Haplotipo asociado
Tipo 1	<i>CDe</i>
Tipo 2	<i>cDE</i>
Tipo 3	<i>CDe</i>
Tipo 4.0	<i>cDe</i>
Tipo 4.1	<i>cDe</i>
Tipo 4.2. (DAR)	<i>cDe</i>
Tipo 5	<i>cDE</i>
Tipo 11	<i>CDe cDe</i>
D débil	Haplotipo asociado
Tipo 15	<i>cDE</i>
Tipo 19	<i>CDe</i>
Tipo 20	<i>cDE</i>
Tipo 38	<i>DCe</i>
Tipo 45	<i>DcE</i>
Tipo 67	<i>DcE</i>

**Autor:** Willy A. Flegel

**Fuente:** How I manage donors and patients with a weak D phenotype

### **2.2.1.6. Antígeno D parcial**

Los eritrocitos con fenotipo D parcial se identifican por la ausencia de uno o varios epítopes del antígeno D, por ello personas con este fenotipo pueden producir anticuerpos anti-D contra los epítopes que le faltan, después de una aloinmunización con eritrocitos D positivos. El fenotipo D parcial se ha clasificado en categorías desde DII a DVII, y algunas categorías nuevas, tales como DBT, DFR, DMH, DHAR, etc, de acuerdo a su reacción con anticuerpos anti-D, que puede ser débil (como el fenotipo DVI), igual al de un D completo (como el fenotipo DIII) o un D de expresión aumentada (como el fenotipo DIVa) (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

Algunos fenotipos D parcial, son el resultado de intercambios de aminoácidos entre los genes RHD y RHCE. Estudios anteriores han identificado que las variantes DII, DVII y DNB son fenotipos debido a mutaciones puntuales, mientras que DIIa, DII tipo IV, DIVa y DAR son mutaciones dispersas (AABB, 2012).

Específicamente, los eritrocitos DVI tienen gran relevancia clínica puesto que carecen de la mayoría de epítopes D. Los individuos portadores de esta variante se inmunizan con facilidad después de la exposición a glóbulos rojos D completos, pudiendo provocar RHPT o EHRN grave y muerte neonatal. Además, identificar la presencia de éste fenotipo es esencial en receptores y mujeres embarazadas, puesto que deben recibir glóbulos rojos D negativo y recibir la profilaxis con inmunoglobulina anti-D, respectivamente (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

### **2.2.1.7. DEL**

El fenotipo DEL es aquel en el que los glóbulos rojos expresan una cantidad mínima de antígeno D en la membrana, sin poder ser detectada por métodos serológicos convencionales. Los alelos DEL son el resultado de múltiples alteraciones genéticas, son más frecuentes en población asiática y están fuertemente asociados a la expresión concomitante del antígeno C o E. La gran mayoría de pacientes con fenotipo DEL son tipificados como D negativo, lo que pone en riesgo de aloinmunización a receptores D negativo (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

### **2.2.1.8. Fenotipo del Sistema Rh**

Los fenotipos de Sistema Rh están presentes en grupos étnicos específicos, tales como: un individuo con ascendencia europea va a expresar probablemente el fenotipo D<sub>Ce</sub>/ce (es decir R<sub>r</sub>). En cambio, un individuo de descendencia africana presentará un fenotipo D<sub>Ce</sub>/D<sub>ce</sub>, esto puede determinarse a través del uso de antisueros, pero, por otro lado, los antisueros no pueden determinar si se trata de un individuo homocigoto o heterocigoto.

Sin embargo, la cigosidad RHD se puede determinar mediante pruebas de biología molecular que investigan en el ADN la presencia de una delección del RHD o un RHD inactivo; esto ayuda a predecir la presencia del antígeno D, como por ejemplo en el feto, para tomar en cuenta el riesgo de EHRN. Dentro del fenotipo del Sistema Rh existen: Fenotipo Rh<sub>mod</sub>, D elevado, DEL, y RHD $\psi$  (AABB, 2012).

#### **2.2.1.9. Antígeno D débil asociado con antígenos C y E**

El gen RHCE tiene como productos a los antígenos C y E los cuales están presentes en individuos D negativos (AABB, 2012). En individuos que presenten el antígeno D débil es de importancia determinar los antígenos C y E, ya que la expresión del antígeno D es menor en presencia de C (Gallegos, 2016). Los alelos D débil tipo 1 y 3 están relacionados con el antígeno C y haplotipo R<sub>1</sub>, el alelo D débil tipo 2 está relacionado con el antígeno E y el haplotipo R<sub>2</sub>, y el alelo D débil tipo 4 está relacionado con el fenotipo C-c+E-e+ y el haplotipo R<sub>0</sub> (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

#### **2.2.1.10. Antígeno D débil y el sistema inmune**

La aloinmunización de eritrocitos se da cuando un individuo está expuesto a glóbulos rojos que presentan antígenos de grupos sanguíneos diferentes al suyo provocando diferentes consecuencias, como: enfermedad hemolítica del feto y recién nacido, reacciones de transfusión sanguínea y puede existir una complicación en la medicina de trasplante (Natukunda, Brand y Schonewille, 2010). De igual manera, se debe considerar que la malaria y el embarazo son las principales causas para realizar transfusiones sanguíneas en africanos.

La inmunogenicidad del antígeno D es elevada, pues existen casos en que individuos con sangre D negativa reciben sangre D positiva y pueden llegar a producir anti-D, debido a que en los individuos D negativos se puede dar la eliminación del gen RHD en forma

homocigota y que el polipéptido RhD muestra más de 30 aminoácidos, por lo cual no están presentes en el producto génico del gen RHCE de individuos con D negativo (Günther y Wolfgang, 2014)

Una variable para la aloinmunización de eritrocitos es la dosis del antígeno del grupo sanguíneo por glóbulos rojos, ya que en el caso del D débil poseen menos de mil hasta 30 sitios D dando la posibilidad de una aloinmunización anti-D (Günther y Wolfgang, 2014).

### **2.2.2 HERENCIA DEL SISTEMA Rh**

En el año 1990 Colin propuso la teoría actual acerca de la herencia del sistema Rh en la que se explica la existencia de dos genes, RHD y RHCE relacionados, y causantes del polimorfismo Rh positivo y negativo (Baptista, 2005). Respectivamente, el gen RHD codifica el antígeno D y el RHCE codifica los antígenos C/c y E/e en varias combinaciones (ce, cE, Ce, o CE) (AABB, 2012). El patrón de herencia del antígeno D es dominante, mientras que el de los antígenos CE es codominante, es decir es posible heredar ambos antígenos E/e y C/c y expresarlos en la superficie de los eritrocitos (Arbeláez, 2009).

Diferentes mutaciones del gen RHD en varios grupos étnicos son causantes de la falta o cambio en la expresión del antígeno D a nivel de la membrana eritrocitaria (Baptista, 2005). La supresión completa del gen RHD da lugar al fenotipo D negativo prevalente entre 15% y 17% en personas de raza blanca (AABB, 2012). De igual manera, más de 100 alelos diferentes del gen RHD provocan cambios en la expresión del antígeno D, dando lugar a fenotipos D débil, D parcial y Del, también presentes en diferentes grupos étnicos. Así, se estima que la incidencia de portadores del fenotipo D débil es más alta en individuos afrodescendientes, así como los portadores del fenotipo Del son mucho menos comunes en individuos de descendencia europea con una prevalencia del 0,027% (AABB, 2012).

### **2.2.3. DETECCIÓN DEL FACTOR Rh Y SUS FENOTIPOS**

A lo largo de los años se han ido desarrollando reactivos para la detección del antígeno D. Desde los primeros reactivos policlonales capaces de reconocer numerosos epítopes del antígeno D que han sido elaborados con anticuerpos provenientes de individuos inmunizados, hasta la aparición de reactivos a base de anticuerpos monoclonales específicos para un solo antígeno D, elaborados a partir de hibridomas o anticuerpos derivados de animales (AABB, 2012; Arbeláez, 2009).

Sin embargo, surgieron problemas con estos anticuerpos monoclonales específicos, ya que no eran capaces de detectar todos los eritrocitos D positivos, como las variantes del antígeno D. Para ello, la Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos (FDA) aprobó la distribución de reactivos anti-D que combinan un anticuerpo monoclonal IgM con un IgG monoclonal o policlonal con fragmentos del sistema del complemento (C3d) que trabajan bien tanto a temperatura ambiente como a 37 °C, útiles en la detección de los fenotipos D débiles (AABB, 2012). Actualmente se utilizan pruebas de aglutinación en columna con clones únicamente de IgM monoclonal, diseñados para dar una reacción diferencial con eritrocitos D débil y D parcial (AABB, 2012).

Por otro lado, para la detección de los fenotipos de Rh se utilizan reactivos fabricados principalmente con anticuerpos IgM monoclonales, como la mayoría de reactivos basados en la técnica de hemaglutinación (AABB, 2012). Estos reactivos comerciales contienen anticuerpos específicos para cada antígeno, en este caso anti-C, anti-c, anti-E y anti-e, que se mezclan con los eritrocitos en solución de la sangre a clasificar y se centrifugan obteniendo hemaglutinación con las células antígeno-positivas (AABB, 2012; Arbeláez, 2009).

#### **2.2.4. ABORDAJE DEL PACIENTE CON FENOTIPO D DÉBIL**

La detección del antígeno D débil depende fundamentalmente de las técnicas serológicas utilizadas, la sensibilidad de éstas y de la precaución en las lecturas de los resultados. Las recomendaciones para la correcta tipificación del paciente, incluyendo mujeres en estado de gestación y recién nacidos, enuncian que es necesario que se lleve a cabo una técnica en gel con anticuerpos anti-D monoclonales IgM que no aglutinen la variante DVI en cualquier muestra que sea sospechosa de D débil (Flegel, 2006a). De igual manera, las técnicas en tubo deben realizarse junto con una prueba de antiglobulina y una lectura minuciosa de los resultados.

En caso de que el receptor haya sido identificado con los alelos de D débil 1, 2, 3 o 4, el manejo del mismo comprenderá la transfusión de unidades de concentrado de glóbulos rojos D-positivas y, en el caso de mujeres embarazadas, pueden ser manejadas de manera segura como RhD positivas, porque no tiene riesgo de formarse anti-D y no es necesaria la profilaxis anti-D con inmunoglobulina Rh (Rhlg) (Flegel, 2006a). Sin embargo, pacientes

con un tipo de D débil 4.2, 5, 11, 15 deben ser transfundidos con unidades D-negativas y las mujeres embarazadas deben recibir la Rhlg, ya que la aloinmunización sucede en estas pacientes. Si el alelo de D débil del paciente no es determinado debe ser manejado individualmente a nivel molecular y se emite una tarjeta de identificación del paciente, que incluya su manejo clínico en el futuro (Flegel, 2006a).

Por otra parte, toda unidad donada por un paciente que posea el fenotipo D débil debe ser usada solo en pacientes D-positivos y, por lo tanto, el paciente debe poseer una tarjeta de identificación donde debe ser considerado como D-positivo si es donante (Flegel, 2006a).

### **2.2.5. ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL FETO Y RECIÉN NACIDO**

La enfermedad hemolítica del feto y recién nacido (EHRN) es un síndrome clínico que incluye anemia hemolítica, eritroblastosis, *Hydrops fetalis* e ictericia de gravedad variable. La etiología de esta enfermedad está relacionada con la presencia de anticuerpos maternos que pasan a la circulación fetal y causan la destrucción de los eritrocitos fetales (Cortés, Muñiz-Díaz, & León, 2014). Estos anticuerpos contra antígenos paternos presentes en los eritrocitos fetales pueden existir naturalmente, como es el caso de la EHRN por incompatibilidad ABO, o pueden aparecer como resultado de una inmunización o gestación previa, como es el caso de la EHRN por incompatibilidad Rh donde los anticuerpos anti-D maternos son de clase IgG y atraviesan la placenta (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

El anticuerpo anti-D es el responsable de la mayoría de los casos de EHRN. A pesar de la introducción de la profilaxis con inmunoglobulina Rh, que redujo radicalmente la incidencia de los casos de EHRN por incompatibilidad Rh, sigue ocurriendo esta enfermedad (Bernnardello, Coluzzi, Curciarello, Todros y Villa, 2015). Algunas de las razones son la inmunización anti-D a causa de una hemorragia fetal-materna oculta, falta de administración de Rhlg, cantidad de Rhlg mal administrada, errores en la tipificación de la mujer embarazada, puérpera o neonato y errores en la transfusión de mujeres en edad fértil (Bernnardello, Coluzzi, Curciarello, Todros y Villa, 2015). En este ámbito de la obstetricia, una mujer RhD- negativa o con una variante de D, como el antígeno D débil, se encuentra en riesgo de sensibilización si su bebé en gestación es RhD-positivo, y puede presentar EHRN por incompatibilidad Rh (Cortés, Muñiz-Díaz y León, 2014).

## 2.2.6. SISTEMA KELL

En la actualidad, se conoce que el sistema Kell está constituido por 32 antígenos numerados desde KEL1 a KELL5. El primer antígeno identificado es el denominado antígeno K o KEL1, y más tarde su antígeno antitético k o KEL2, conocido como Cellano, juntos constituyen los antígenos más importantes de este sistema, que incluye cinco pares (K/k, Js<sup>a</sup>/ Js<sup>b</sup>, K11/K17, K14/K24, VLAN/VONG) y un triplete (Kp<sup>a</sup>/ Kp<sup>b</sup>/ Kp<sup>c</sup>) de antígenos antitéticos Kell (AABB, 2012).

Estos antígenos altamente inmunogénicos se encuentran ubicados en una glicoproteína de membrana tipo II, la cual se encuentra ligada a la proteína Xk mediante un enlace disulfuro. Se conoce que la ausencia de la proteína Xk en la membrana de los glóbulos rojos conduce a una reducción en la expresión de las glicoproteínas Kell y antígenos Kell (AABB, 2012).

### **Anticuerpos Kell y su importancia clínica**

Los anticuerpos anti-Kell de tipo IgG y, principalmente subclase IgG1, se consideran clínicamente relevantes puesto que pueden provocar EHRN y RHPT agudas o tardías severas (AABB, 2012). Concretamente, el anti-K es el anticuerpo inmune más común después de los anticuerpos del sistema ABO y Rh. La mayoría de los anticuerpos anti-K son inducidos por embarazo o transfusiones sanguíneas previas, aunque se han descrito casos de anti-K de origen no inmune por sensibilización a infecciones microbianas (AABB, 2012).

En cuanto al manejo del paciente con anticuerpos anti-Kell es importante que el paciente sea transfundido con unidades de glóbulos rojos negativas para el antígeno K siempre que sea posible, así como a niñas y mujeres en edad fértil para evitar la EHRN severa (AABB, 2012).

## 2.3. MARCO CONCEPTUAL

**Aloinmunización:** Producción de anticuerpos como respuesta a la exposición de antígenos de eritrocitos diferentes a los propios a raíz de una transfusión incompatible (Molina y Kenneth, 2009).

**Enfermedad hemolítica del recién nacido:** Hace referencia a la reducción de la vida media de los glóbulos rojos fetales por anticuerpos maternos (Rodríguez, Hernández y García, 2004).

**Inmunogenicidad:** La capacidad de determinada sustancia de generar respuestas inmunes (Ministerio de Salud de Colombia, 2015).

**Inmunogénico:** Aquellos antígenos que son capaces de provocar una respuesta inmunológica mediada por anticuerpos si son inducidos como sustancias extrañas dentro de un huésped sensible (McPherson, Pincus, y Henry, 2011).

**Sensibilización:** Se da cuando un antígeno induce anticuerpos específicos o una respuesta inmune celular teniendo como resultado manifestaciones clínicas (Clínica Universidad de Navarra, 2015).

**Alelo:** Cada una de las formas que puede tener un mismo gen en un locus determinado dentro de un cromosoma (AABB, 2012).

**Gen:** Es una unidad de información que son heredados de padres a hijos, es decir es un segmento de ADN que codifica a una proteína (Morán, 2013).

**Grupo sanguíneo:** Antígenos ubicados sobre la superficie de la membrana de los glóbulos rojos, los cuales se pueden detectar por medio de un anticuerpo (AABB, 2012; Fundación banco de sangre y tejidos de las Islas Baleares, 2019).

**Factor Rh:** Proteína de transmembrana ubicada en la superficie de los glóbulos rojos que expresa el antígeno D que se encuentra en la sangre dando lugar a los fenotipos Rh D(positivo) y Rh D (negativo) (Cruz Roja Española, 2019).

**Tipo de sangre:** Aquel que se determina por los antígenos presentes en los glóbulos rojos, estableciendo cuatro tipos: A, B, AB, O (Cruz Roja Española, 2019).

**Polimorfismo:** Dos o más alelos en un locus, existentes en la misma población con una frecuencia apreciable (AABB, 2012).

**Mutación:** Acontecimiento que conduce a la producción de un gen alterado y un alelo nuevo o polimorfismo que no existía en los padres biológicos (AABB, 2012).

**Fenotipo:** Expresión observable de los genes heredados por una persona y que refleja la actividad biológica de los genes (AABB, 2012).

**Antígeno D:** Antígeno compuesto por numerosos epítopes D cuya expresión en la membrana del eritrocito está codificada por el gen RHD (AABB, 2012).

**D parcial:** Variante del antígeno D debida a genes híbridos caracterizada por la pérdida de partes del antígeno D en la membrana del eritrocito (AABB, 2012).

**D débil:** Variante del antígeno D caracterizada por la reducción de sitios antigénicos en la membrana del eritrocito (AABB, 2012).

## CAPÍTULO III

### 3.1. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1.1. MATERIALES Y MÉTODOS

##### 3.1.1.1. Tipo de Estudio

Estudio observacional descriptivo transversal, sin intervención o manipulación de las variables en estudio; descriptivo porque busca establecer la frecuencia de una característica en la muestra, frecuencia del antígeno D débil y de sus tipos, en función de la edad y del género de la población del Valle del Chota que acude a los centros y puesto de salud establecidos en la zona, y transversal porque las variables se miden en un periodo de tiempo establecido y en un único momento.

##### 3.1.1.2. Tipo de Muestreo

El muestreo fue de tipo aleatorio simple, se tomaron las muestras sanguíneas a la población que acudió a los centros y puesto de salud en diferentes días en el Valle del Chota.

##### 3.1.1.3. Tamaño de Muestra

Para el cálculo de la muestra, se partió de una población finita de 4361 afrodescendientes hombres y mujeres, que habitan en la zona y concurren regularmente al Centro de Salud Tipo A Salinas, al Centro de Salud Carpuela y al puesto de Salud Chalguayacu en el Valle del Chota, a la que se aplicó la siguiente fórmula para población finita y estimó una proporción:

$$n = \frac{N \times Z_{1-\alpha}^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + Z_{1-\alpha}^2 \times p \times q}$$

Donde:

N = Total de la población

$Z_{\alpha}^2 = 1.96^2$  (si la seguridad es del 95%)

p = proporción esperada (proporción de individuos que poseen en la población la característica de estudio)

q = (1 – p); proporción de individuos que no poseen esa característica

d = precisión o límite aceptable de error muestral

En la presente investigación:

N= 4361

Z<sub>α</sub>= 1.96 (para un intervalo de confianza del 95%)

p = 8.41% (0.0841). De acuerdo al estudio de Zacarias et al. (2016), la frecuencia de individuos que expresan el antígeno D débil es de 8.41% en población afrodescendiente.

q = (1 – p) = (1-0.0841) = 0.9159

d = precisión = 3% o 0,03.

Reemplazando en la fórmula indicada

$$n = \frac{4361 \times (1.96)^2 \times 0.0841 \times 0.9159}{0.03^2 \times (2618 - 1) + 1.96^2 \times 0.0841 \times 0.9159}$$

$$n = 541$$

**Decisión:** para un nivel de confianza del 95% y una precisión del 3%, el tamaño muestral para determinar la frecuencia del antígeno D débil en la población afroecuatoriana adulta que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y el puesto de salud Chalguayacu en el Valle del Chota es de 541 individuos afroecuatorianos, hombres y mujeres adultos, durante el periodo de estudio y que cumplan con los criterios establecidos para el estudio, que se mencionan a continuación.

#### 3.1.1.4. Criterios de Inclusión

- Hombres y mujeres entre 10 y 64 años inclusive que deseen participar libre y voluntariamente en el estudio y firmen el consentimiento informado
- Menores de edad entre 10 y 17 años que acepten participar libre y voluntariamente en el estudio y firmen el consentimiento informado junto con el consentimiento informado firmado por el representante legal.
- Individuos afroecuatorianos.

- Individuos afroecuatorianos nativos de la comunidad Chalguayacu, Carpuela y la parroquia de Salinas.
- Mujeres afroecuatorianas embarazadas en periodo de gestación que sean nativas de la comunidad Chalguayacu, Carpuela y la parroquia de Salinas.

#### **3.1.1.5. Criterios de Exclusión**

- Hombres y mujeres entre 18 y 64 años que no acepten participar en el estudio y no firmen el consentimiento informado.
- Menores de edad entre 10 y 17 años que no firmen el asentimiento informado y/o cuyo representante legal no firme el consentimiento informado.
- Individuos que no sean afroecuatorianos.
- Individuos afroecuatorianos que habiten en la comunidad Chalguayacu, Carpuela y la parroquia de Salinas, pero no sean nativos de estas zonas.
- Individuos cuyas muestras biológicas para el estudio no cumplan con las condiciones de calidad: presenten hemólisis y coágulos, que el volumen sea insuficiente para el análisis o que no se cumpla la relación volumen sanguíneo: anticoagulante.

#### **3.1.1.6. Análisis Estadístico**

Para el análisis estadístico de la información, se exportó la hoja de registro en Excel al programa estadístico IBM SPSS Statistics versión (64 bits) 20, en la que se trabajó la estadística descriptiva (frecuencias absolutas y relativas) para cada variable, así como para el cruce de variables sociodemográficas con los resultados de laboratorio, las mismas que se presentaron en tablas y gráficos respectivos y su significancia estadística por medio del análisis chi cuadrado. Estudio de la concordancia entre operadores se aplicó índice Kappa.

## **3.2. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

### **3.2.1. Variables principales:**

- Antígeno D
- Antígeno D débil
- Fenotipo del sistema Rh
- Tipos de antígeno D débil
- Edad
- Género

### **3.2.2. Variable interviniente: Grupo étnico**

### Operacionalización de Variables

Variables principales	Definición Operacional	Dimensión	Indicador	Escala	Tipo de variable	Técnica
Antígeno D	Antígeno evidenciado en la sangre por la aglutinación en la prueba de tipificación con antisuero anti-D.	Presencia o Ausencia	Frecuencia relativa (%)	Nominal Dicotómica	Cualitativa	Laboratorio Método de aglutinación en tubo
Antígeno D débil	Antígeno evidenciado en la sangre por la aglutinación en la prueba de antiglobulina humana.	Presencia o Ausencia	Frecuencia relativa (%)	Nominal Dicotómica	Cualitativa	Laboratorio Método de aglutinación en tubo y gel de Coombs
Fenotipo del sistema Rh	Presencia de los antígenos C/c y E/e evidenciada en la sangre por la prueba de tipificación con antisueros anti-C, anti-c, anti-E y anti-e	CDe/CDe CDE/CDE cDE/cDE cDe/cDe	Frecuencia relativa (%)	Nominal Politómica	Cualitativa	Laboratorio Método de aglutinación en tubo
Tipos de antígeno D débil	Tipo de antígeno D débil de acuerdo al análisis de los resultados fenotípicos del sistema Rh	Tipo 1 al 73	Frecuencia relativa (%)	Nominal Politómica	Cualitativa	Análisis del fenotipo del sistema Rh
Edad	Años cumplidos a la fecha de participación en el estudio	Rangos: 10-17 años 18-25 años 26-33 años	Frecuencia relativa (%)	Ordinal	Cualitativa	Encuesta

Género	El manifestado por el individuo al momento del estudio	34- 41 años 42- 49 años 50-57 años 58- 65 años	Hombre Mujer	Frecuencia relativa (%)	Nominal Dicotómica	Cualitativa	Encuesta		
<b>Variable interviniente</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Dimensión</b>	<b>Indicador</b>	<b>Escala</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Técnica</b>			
Grupo étnico	Valores y prácticas culturales que distinguen a los grupos de personas	Mestizo Afroecuatoriano Montubio Blanco Otros	Frecuencia relativa (%)	Nominal	Cualitativa	Encuesta			

### **3.3. MATERIALES Y PROCESO**

#### **3.3.1. Materiales**

- Guantes de manejo
- Tubos de ensayo de vidrio 10 x100 mm de 5 mL
- Pipetas Pasteur 1 mL
- Puntas plásticas para pipeta automática 10-100  $\mu$ L/100-1000  $\mu$ L
- Gradillas

#### **3.3.2. Reactivos**

- Antisuero Anti-D BIORAD
- Antisuero Anti-C BIORAD
- Antisuero Anti-c BIORAD
- Antisuero Anti-E BIORAD
- Antisuero Anti-e BIORAD
- Antiglobulina humana poliespecífica (Coombs) BIORAD
- Cloruro de sodio 0.85%
- Diluyente LISS BIORAD
- Tarjetas de técnica en gel LISS COOMBS BIORAD

#### **3.3.3. Equipos**

- ID- Centrífuga 12S II Dia-Med ID para tarjetas de técnica en gel
- Centrífuga serológica SERO-FUGE 2002 BECTON DICKINSON
- Incubadora marca GCA
- Pipeta automática volumen fijo de 50  $\mu$ L
- Pipeta automática volumen fijo de 25  $\mu$ L
- Pipeta automático volumen variable de 100-1000  $\mu$ L

### **3.4. PROCEDIMIENTO**

Ese estudio se realizó en cuatro fases:

#### **3.4.1. Fase Uno:**

El inicio del estudio demandó la obtención de los permisos, autorizaciones y aprobaciones previas a llevar a cabo el proyecto de investigación, por lo tanto, en una primera fase se tramitaron:

- Carta de interés por parte del presidente de la comunidad y los coordinadores del Centro de Salud tipo 1 Salinas, Centro de Salud Carpuela y el Puesto de Salud Chalguayacu en el Valle del Chota, para la realización del estudio luego de la presentación del proyecto por las estudiantes.
- Autorización por parte del director del Distrito 10D01 Ibarra- Pimampiro- San Miguel de Urcoquí para la realización del trabajo de titulación en las Unidades de Salud: Salinas, Carpuela y Chalguayacu del distrito de salud 10D01.
- Autorización del Comité de Ética de Investigaciones en Seres Humanos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (CEISH-PUCE) el 20 de Febrero del 2019.
- Autorización de la Dirección de Inteligencia en Salud (DINS) del Ministerio de Salud Pública del MSP, el 01 de Abril del 2019.

#### **3.4.2. Fase Dos:**

Una vez obtenidas las aprobaciones para el estudio, se inició la recolección de información y muestras biológicas, para lo cual se solicitó una reunión con el presidente de la comunidad y los pobladores para solicitarles la participación en el estudio indicándoles el propósito, ventajas, desventajas, la obtención de la muestra biológica, su uso, transporte, almacenamiento y desecho de esta, como de la confidencialidad de la información y entrega de resultados.

También se realizó una visita previa a los diferentes servicios médicos y se contactó con el director y personal a cargo de la atención de los individuos afroecuatorianos que allí acuden para concretar aspectos para la recolección de información y la toma de muestra sanguínea

de aquellas personas que acudan y deseen participar. Adicionalmente, se realizaron algunas visitas domiciliarias para brindar la misma información a los pobladores que no podían acudir a los centros de salud.

Si el individuo decidió participar en el estudio, se procedió a la lectura respectiva del consentimiento informado por las estudiantes quienes contestaron con suficiente detalle cualquier duda, inquietud o pregunta que les realizaron. Si el sujeto que aceptó es mayor de edad firmó individualmente y de forma libre y voluntaria el consentimiento informado, mientras que los sujetos menores de edad aceptaron su participación a través del asentimiento informado junto con la firma del consentimiento informado de su representante legal. En el caso de personas analfabetas, aceptaron su participación colocando su huella dactilar y las firmas de dos testigos en el consentimiento informado.

Para la recolección de la información se asignó un código alfanumérico a cada participante en sustitución de los identificadores (nombres y apellidos completos) y se creó una lista que conecta el código y el identificador por un cierto período de tiempo, la misma que fue resguardada por la directora del proyecto en formato físico y electrónico (esta última con clave de acceso a la hoja electrónica trabajada con Excel) y a las que tuvo acceso únicamente las investigadoras previa autorización de la directora del proyecto. La lista tanto física como electrónica será destruida una vez que se presenten los informes de resultados al director del Distrito 10D01 Ibarra- Pimampiro-San Miguel Urcuqui Salud y se realice la defensa oral y publicación del trabajo de titulación.

Una vez firmado el consentimiento informado, se le solicitó que contesten el cuestionario para recabar información sociodemográfica, para lo cual se utilizó el código alfanumérico asignado a cada participante con la finalidad de asegurar la confidencialidad de la información.

### **3.4.3. Fase Tres:**

Los individuos que quisieron participar libre y voluntariamente cumpliendo con los criterios de inclusión establecidos en el estudio, se tomó la muestra biológica en el sitio asignado por los directivos de los tres servicios de salud, tomando en consideración las medidas de bioseguridad, tales como: guantes, mandil, calzado con suela resistente a punción y protector de calzado, gafas de protección y gorro, como lo indica la OMS (OMS, 2014).

La muestra biológica utilizada fue sangre obtenida mediante la técnica de extracción por sistema al vacío en tubo con anticoagulante EDTA-K<sub>2</sub> (sólido) o EDTA-K<sub>3</sub> (líquido) por punción venosa de venas de antebrazo, para un volumen de 4 mL. La recolección de la muestra sanguínea se realizó una única vez en cada individuo que participó en el estudio y se realizó de acuerdo con el procedimiento operativo estándar del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI).

Identificación de la muestra sanguínea: los tubos de recolección con las muestras sanguíneas fueron etiquetados con código alfanumérico asignado a cada sujeto para asegurar la confidencialidad de la información y la fecha de la toma de muestra.

Almacenamiento y transporte: las muestras sanguíneas recolectadas durante el día asignado para el efecto fueron almacenadas a 4°C. Al terminar la jornada de trabajo se embalaron de acuerdo a las directrices y normativa IATA, es decir un sistema de triple embalaje, utilizando un recipiente secundario de icopor, envueltas previamente en papel absorbente o algodón para evitar posibles rupturas por choques y derrames. El recipiente secundario se colocó en una nevera de plástico (cooler) con geles refrigerantes que aseguren la temperatura entre 4°C y 8°C, las muestras fueron empacadas en un embalaje con ventilación. Además, se especificaron en el exterior de la caja: contenido, N° bultos y número de geles refrigerantes. Las muestras fueron trasladadas en cadena de frío hasta el laboratorio de Inmunología/Banco de Sangre de la Carrera de Bioquímica Clínica de la PUCE-Quito para su posterior procesamiento (IATA, 2013).

#### **3.4.4. Fase Cuatro:**

Una vez trasladadas las muestras biológicas desde los Centros y Puesto de Salud al laboratorio asignado de la Carrera de Bioquímica Clínica, se procedió a la preparación previa de la muestra y a la realización de las pruebas inmunohematológicas.

##### **3.4.4.1. Preparación de la muestra**

Una vez que las muestras sanguíneas tomaron la temperatura ambiente (20°C) se realizó el lavado de células y preparación de la suspensión de eritrocitos al 3% con solución fisiológica al 0.85% para la realización de las pruebas inmunohematológicas por la metodología en tubo.

De igual manera, para la metodología en gel se preparó la dilución de las células con diluyente LISS como paso previo a la realización de la prueba.

#### **3.4.4.2. Pruebas inmunohematológicas**

Determinación del factor Rh mediante prueba de aglutinación: en un tubo de vidrio se añadió una gota del antisuero anti-D y una gota de la suspensión de eritrocitos al 5%, se centrifuga 15 segundos a 3500 rpm y se observa a través de la luz, de manera que se formará un botón de células, mediante un suave movimiento del tubo, se determinará que, si el botón se desprende totalmente será negativo, pero si el botón se mantiene será positivo. Los resultados se anotaron en el cuaderno de laboratorio.

Determinación del antígeno D débil: en aquellas muestras Rh (-) se realizó la confirmación de D débil por metodología en gel. Para la técnica de aglutinación en gel, poner 50 µl de la solución de eritrocitos con LISS en el microtubo correspondiente de la tarjeta, añadir 50 µl de "ID-DiaClon Anti-D" para confirmación variantes D mediante PAI, incubar por 15 min a 37°C y centrifugar la tarjeta 10 min a 1030 rpm respetando todos los pasos del procedimiento, lectura e interpretación establecidos por la casa comercial BIO-RAD. Los resultados se anotaron en el cuaderno de laboratorio.

Determinación del fenotipo de Rh mediante la prueba de aglutinación: en todas las muestras recolectadas se realizó la determinación del fenotipo de Rh y antígeno K por metodología en gel. Para la técnica de aglutinación en gel, poner 10 o 12,5 µl de la solución de eritrocitos con LISS en todos los microtubos de la tarjeta, centrifugar la tarjeta 10 min a 1030 rpm respetando todos los pasos del procedimiento, lectura e interpretación establecidos por la casa comercial BIO-RAD. Los resultados se anotaron en el cuaderno de laboratorio.

Determinación de las variantes de D: en todas las muestras Rh (+) se realizó la identificación de la variante D por metodología en gel. Para la técnica de aglutinación en gel, añadir 50 µl de la suspensión de eritrocitos con LISS en el microtubo correspondiente de la tarjeta, añadir 50 µl de "ID-DiaClon Anti-D" para confirmación variantes D mediante PAI, incubar por 15 min a 37°C y centrifugar la tarjeta 10 min a 1500 rpm respetando todos los pasos del procedimiento,

lectura e interpretación establecidos por la casa comercial BIO-RAD. Los resultados se anotaron en el cuaderno de laboratorio

Determinación del tipo de D débil: se relacionaron los fenotipos de Rh CE/ce en haplotipos para establecer el tipo de fenotipo D débil así: D débil 1 y 3 se asocian al fenotipo CDe; cDE con el fenotipo 2 y 5 y por último el fenotipo cDe con el tipo 4.1 y 4.2 conocido como (DAR).

### **3.4.5. Base de datos**

Para el registro de la información se creó una base de datos en una página electrónica (Excel v.2013) en la que se ingresaron el código alfanumérico (nombres y apellidos completos) del individuo que participó en el estudio, las variables sociodemográficas codificadas (edad, sexo, grupo étnico y zona natal) y los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio.

## CAPÍTULO IV

### 4. CONTROL DE CALIDAD

#### 4.1. Pruebas de aglutinación monoclonales con antisueros ABO y Rh

Para la tipificación del sistema ABO, se utilizaron antisueros monoclonales anti-A, anti-B y anti-AB de la casa comercial Antec, lote 088077, 094057 y 286026, respectivamente, con fecha de caducidad 2019-08, y el antisuero anti-A1 Lectina de la casa comercial BIO-RAD, lote 118100301 con fecha de caducidad 2020-07-31. Para la tipificación del sistema Rh, se utilizó antisuero monoclonal anti-D de la casa comercial Antec, lote 129017 con fecha de caducidad 2019-08.

En el control de calidad de estos reactivos se evaluaron la potencia, que mide la capacidad del antisuero para reaccionar con sus respectivas células y la formación del aglutinado (Tabla N°4.1), avidez, que corresponde a la velocidad e intensidad de la reacción Ag-Ac al inicio de la aglutinación medida en segundos (Tabla N° 4.2) y especificidad, que corresponde a la capacidad del anticuerpo de reconocer únicamente su antígeno correspondiente (Tabla N° 4.3), de acuerdo al protocolo establecido por la AABB.

**Tabla N° 4.1 Evaluación de la potencia en antisueros monoclonales ABO y Rh**

Antisuero	Células	Título mínimo	Título obtenido
Anti-A	A1	1/256	1/256
	A2	1/32	1/32
	AB	1/128	1/256
Anti-B	B	1/256	1/128
	AB	1/64	1/32

	A1	1/256	1/256
Anti-AB	A2	1/64	1/32
	B	1/256	1/128
Anti-A1 Lectina	A1	1/64	1/64
	AB	1/64	1/32
Anti-D	D (positivas)	1/64	1/32

*Los títulos alcanzados aseguran la idoneidad de los reactivos.*

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

**Fuente:** (AABB, 2012)

**Tabla Nº 4.2 Evaluación de la avidéz en antisueros monoclonales ABO y Rh**

Antisero	Células	Tiempo de inicio de aglutinación (seg)	Tiempo obtenido
	A1	Hasta 15	3"
Anti-A	A2	Hasta 20	3"
	AB	Hasta 15	4"
	B	Hasta 15	4"
Anti-B	AB	Hasta 15	4"
	A1	Hasta 15	5"
Anti-AB	A2	Hasta 20	4"
	B	Hasta 15	2"
Anti-A1 Lectina	A1	Hasta 15	3"
	AB	Hasta 15	2"
Anti-D	D (positivas)	Hasta 30	6"

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

**Fuente:** (AABB, 2012)

**Tabla N° 4.3 Evaluación de la especificidad de antisueros monoclonales ABO y Rh**

Antisuero	Células	Ausencia de aglutinación
Anti-A	B	✓
Anti-B	A	✓
Anti-AB	O	✓
Anti-A1	A2	✓
Anti-D	D(negativas)	✓

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

## **4.2. Tarjetas de gel Coombs Anti-IgG**

Se utilizaron tarjetas de gel ID-Coombs Anti-IgG de la casa comercial BIO-RAD, lote 2433300407 con fecha de caducidad 2019-09-30. Para el control de calidad se verificó el estado de la tarjeta de acuerdo con las especificaciones del fabricante, observando que ninguna tarjeta presente signos de desecación, burbujas en el gel, sellado defectuoso, gotas de gel o de sobrenadante en la parte superior de los microtubos o en la superficie interior del aluminio de sellado. Además, para el control de calidad interno se utilizó la tarjeta junto con el reactivo ID-DiaClon Anti-D de la casa comercial BIO-RAD, lote 3553666201 con fecha de caducidad 220-04-30, y se evaluaron muestras D variantes positivas y negativas obteniendo los resultados esperados de acuerdo con el fabricante (Tabla N° 4.4).

**Tabla N°4.4 Control de calidad de Tarjetas de gel Coombs-IgG**

Grupo de pruebas	Temperatura de almacenamiento	Apariencia del gel	Aglutinación con células conocidas		
	18-25°C	Intacto	D variante	D positiva	D negativa
1er grupo	✓	✓	+ a +++	++++	x
2do grupo	✓	✓	+ a +++	++++	x
3er grupo	✓	✓	+ a +++	++++	x

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

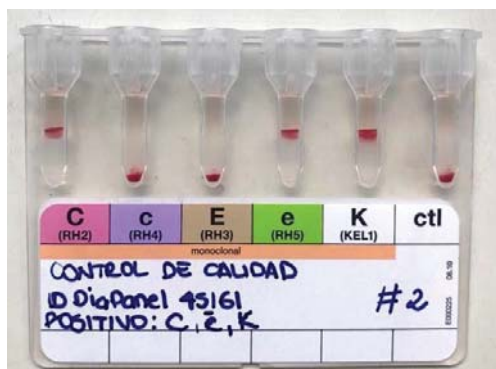
### 4.3. Tarjeta de gel Rh-Subgroups + K

Se utilizaron tarjetas de gel Rh-Subgroups + K para la determinación del fenotipo de Rh (antígenos C,c,E,e) y el antígeno K, de la casa comercial BIO-RAD, lote 37005515201 con fecha de caducidad 2020-04-30. Para el control de calidad se verificó la detección de los antígenos con células comerciales BIO-RAD, lote 06171.24.x, con fecha de caducidad 2019-06-30 (Tabla N°4.5) obteniendo los resultados esperados. (Imagen N°4.1).

**Tabla N°4.5 Control de calidad de Tarjetas de gel Rh-Subgroups+K**

Grupo de pruebas	Temperatura de almacenamiento	Apariencia del gel	Células comerciales			Lectura
	18-25°C	Intacto	ccD.EE	ccddEe	CCddeeK	Aglutinación
1er grupo	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2do grupo	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3er grupo	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti



**Gráfico N°4.1 Detección de antígenos CDE/cde- control de calidad interno**  
Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

#### 4.4. Comparación intraoperador

Se realizó la verificación cualitativa de las reacciones de aglutinación en las tarjetas de gel por medio de la comparación intraoperador de las lecturas y de la cartilla de lectura proporcionada por la casa comercial BIO-RAD. Se realizaron 54 lecturas por cada operador que corresponde al 10% del cálculo de la muestra, obteniendo una índice kappa de 0,829 ( $p=0.000$ ) entre la operadora 1 y la operadora 2 calificando la concordancia como muy buena, es decir que existe un alto grado de acuerdo, logrando la estandarización en las lecturas. (Imagen N°4.2) (Tabla N°4.6)

**Tabla N°4.6 Comparación intraoperador del gel Coombs Anti-IgG**  
**Medidas simétrica**

	Valor	Significación aproximada
Kappa	0,829	0,000
N de casos válidos	54	

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

#### **Grado de concordancia según el índice Kappa**

<b>Concordancia entre los resultados obtenidos con dos pruebas distintas</b>	<b>Valor del índice Kappa</b>
Deficiente	< 0,20
Regular	0,21 – 0,40
Moderada	0,41 – 0,60
Buena	0,61 – 0,80
Muy buena	0,81 – 1,00

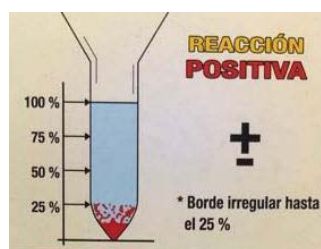
A continuación, se detalla la estandarización de lectura de reacción en tarjetas de gel realizada para el estudio.

Interpretación en gel

Control de calidad

Interpretación en gel

Control de calidad



**Gráfico N°4.2 Reacción Negativo**

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

**Gráfico N°4.3 Reacción Positiva ±**

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

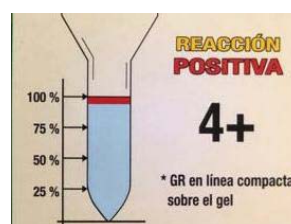


**Gráfico N°4.4 Reacción Positiva 1+**

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

**Gráfico N°4.5 Reacción Positiva 2+**

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti



**Gráfico N°4.6 Reacción Positiva 3+**

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

**Gráfico N°4.7 Reacción Positiva 4+**

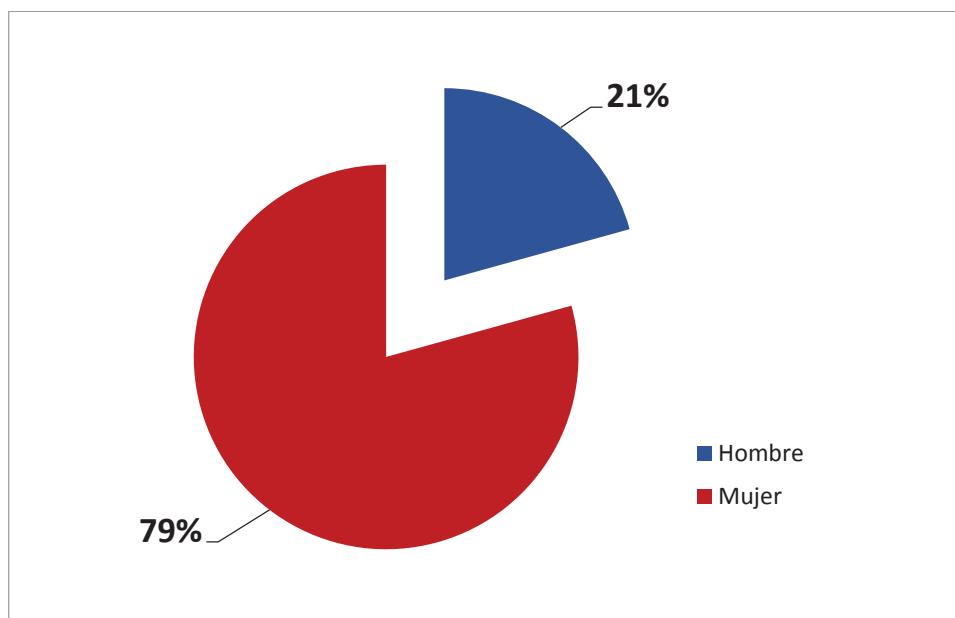
Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

## CAPITULO V

### 5. RESULTADOS

#### 5.1. Descripción de la Población de Estudio

En el estudio participaron un total de 541 personas, de las cuales 429 fueron mujeres (79,3%) y 112 hombres (20,7%). (Gráfico N°5.1)



**Gráfico N°5.1 Población de estudio según el género**  
Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

Los participantes fueron clasificados de acuerdo con el servicio de salud que acudieron relacionado directamente con la procedencia. Se visitaron tres servicios de salud: centro de salud tipo A1 (Salinas), unidad de salud tipo A (Chalguayacu) y (Carpuela). La edad de la población de estudio fluctuó entre 10 a 65 años. En Chalguayacu de las 226 mujeres que acudieron el 31,40% tienen de 18-25 años, similar al de Carpuela y Salinas. Sin embargo, en

Chalguayacu la frecuencia de hombres fue de 36,40% en edad de 10-17 años, similar al de Salinas, mientras que en Carpuela la frecuencia de asistencia de hombres es de 33,30% en edad de 58-65 años. (Tabla N°5.1)

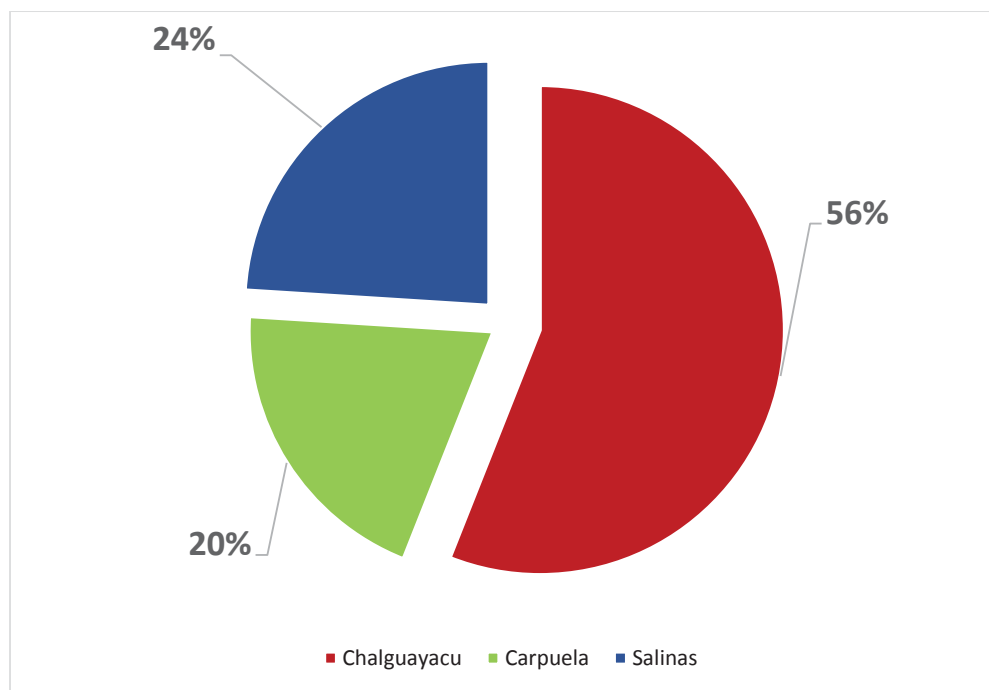
**Tabla N°5.1. Distribución de la población según género, edad y zona natal.**

		Género						
		Hombre		Mujer		Total		
		Recuento	%	Recuento	%	Recuento	%	
Chalguayacu	Edad	10-17	24	36,40%	39	17,30%	63	21,60%
	18-25	14	21,20%	71	31,40%	85	29,10%	
	26-33	8	12,10%	53	23,50%	61	20,90%	
	34-41	10	15,20%	26	11,50%	36	12,30%	
	42-49	1	1,50%	18	8,00%	19	6,50%	
	50-57	3	4,50%	12	5,30%	15	5,10%	
	58-65	6	9,10%	7	3,10%	13	4,50%	
	Total	66	100,00%	226	100,00%	292	100,00%	
Carpuela	Edad	10-17	1	6,70%	3	5,30%	4	5,60%
	18-25	3	20,00%	23	40,40%	26	36,10%	
	26-33	2	13,30%	7	12,30%	9	12,50%	
	34-41	2	13,30%	3	5,30%	5	6,90%	
	42-49	1	6,70%	6	10,50%	7	9,70%	
	50-57	1	6,70%	11	19,30%	12	16,70%	
	58-65	5	33,30%	4	7,00%	9	12,50%	
	Total	15	100,00%	57	100,00%	72	100,00%	
Salinas	Edad	10-17	15	48,40%	24	16,40%	39	22,00%
	18-25	4	12,90%	40	27,40%	44	24,90%	
	26-33	5	16,10%	29	19,90%	34	19,20%	
	34-41	2	6,50%	20	13,70%	22	12,40%	
	42-49	1	3,20%	12	8,20%	13	7,30%	
	50-57	1	3,20%	7	4,80%	8	4,50%	
	58-65	3	9,70%	14	9,60%	17	9,60%	
	Total	31	100,00%	146	100,00%	177	100,00%	

*Se observa la falta de concurrencia de población entre 42 a 49 años*

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

En el estudio también participaron mujeres en estado de gravidez procedentes de los tres servicios de salud en los que se realizaron el estudio. En Chaguayacu acudieron 14 (56%), 6 (24%) en Salinas y 5 (20%) en Carpuela. (Gráfico N° 5.2).



**Gráfico N°5.2 Mujeres embarazadas según los servicios de salud**

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

## 5.2. Determinación de grupo sanguíneo ABO-Rh

El grupo sanguíneo más frecuente en la población procedente de los tres servicios de salud fue el O D (positivo) con el 44,29%, seguido del grupo B D (positivo) con el 26,85% y el A D (positivo) con el 24,65%, mientras que el grupo AB fue el menos prevalente. (Gráfico N°5.3)

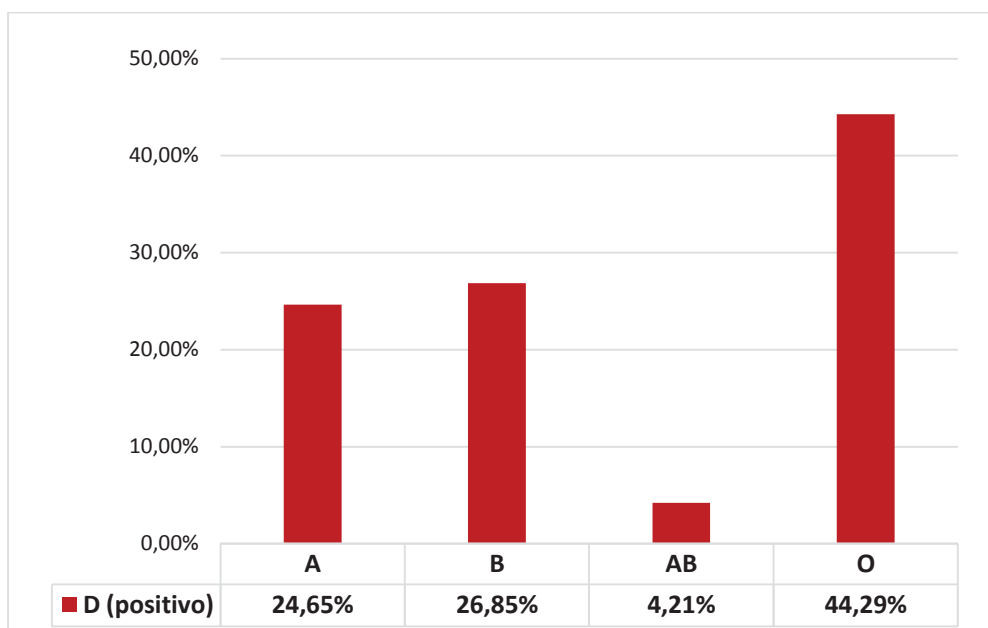
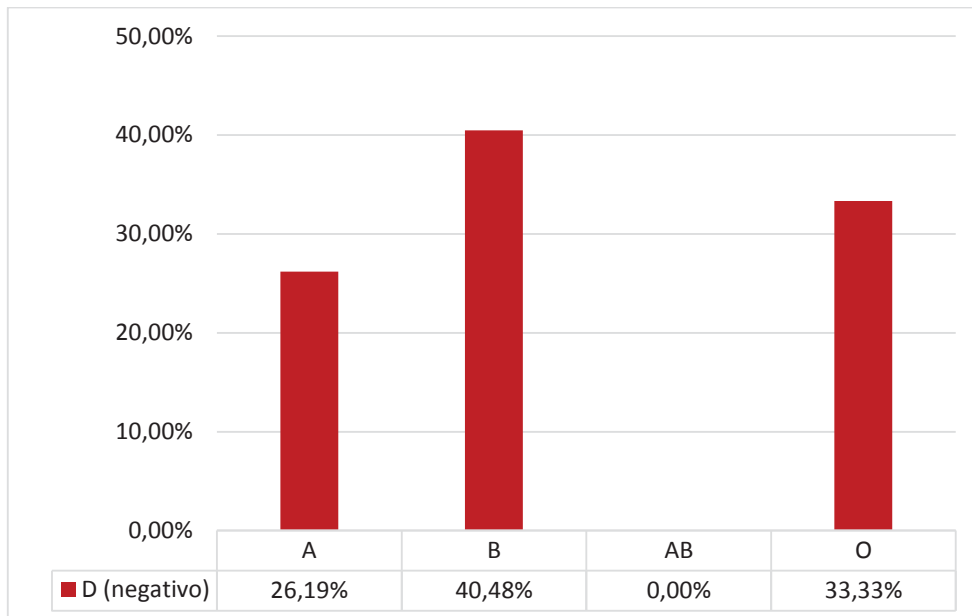


Gráfico N°5.3 Distribución de los grupos sanguíneos y D(positivo) de la población

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

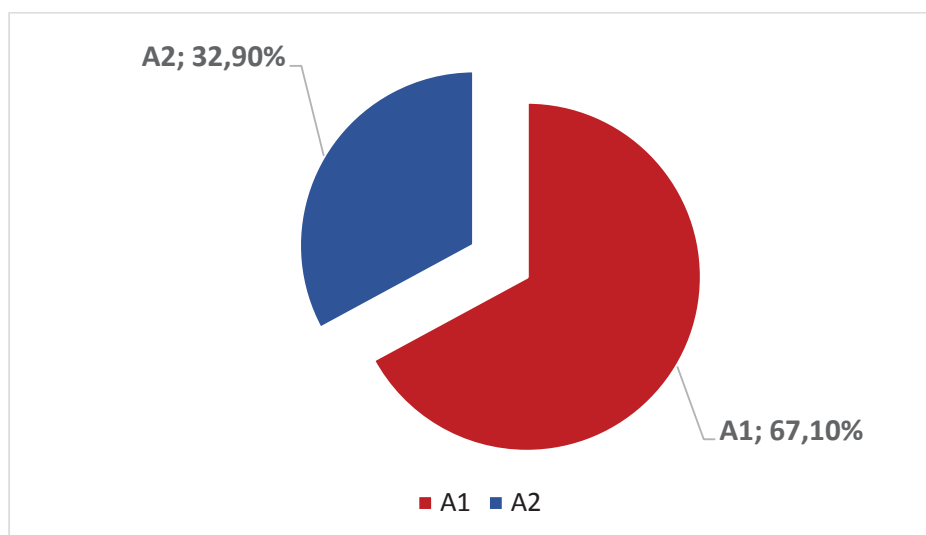
Por otro lado, el grupo sanguíneo más frecuente fue el B D (negativo) con el 40,48%, seguido del grupo O D (negativo) con el 33,33% y el A D (negativo) con el 26,19%. (Gráfico N°5.4)



**Gráfico N°5.4 Distribución de los grupos sanguíneos y D(negativo) de la población**

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

Se observa que existe un 24,65% de grupos A D (positivo) y el 26,19% de A D (negativo). Al analizar el subgrupo del antígeno A se estableció que el 67,10% corresponden al subgrupo A1 y el 32,90% al A2. (Gráfico N°5.5)



**Gráfico N°5.5 Distribución del subgrupo del antígeno A**

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

La distribución de los subgrupos de A es heterogénea, observándose una mayor frecuencia del antígeno A1 y A2 en hombres entre 10-17 años. En el caso de las mujeres se observó que el antígeno A1 se distribuye principalmente en el rango de edad comprendido entre 18-25 años, mientras que el antígeno A2 se encuentra en mujeres entre 10 a 33 años. (Tabla N°5.2)

**Tabla N°5.2. Distribución del subgrupo A según el género y la edad**

		Subgrupo A				
		A1		A2		
		Recuento	%	Recuento	%	
Hombre	Edad	10-17	7	35,00%	4	30,80%
		18-25	5	25,00%	3	23,10%
		26-33	0	0,00%	1	7,70%
		34-41	4	20,00%	3	23,10%
		42-49	1	5,00%	0	0,00%
		50-57	1	5,00%	1	7,70%
		58-65	2	10,00%	1	7,70%
		<b>Total</b>	20	100,00%	13	100,00%
Mujer	Edad	10-17	11	13,10%	5	13,20%
		18-25	27	32,10%	13	34,20%
		26-33	20	23,80%	13	34,20%
		34-41	9	10,70%	1	2,60%
		42-49	7	8,30%	2	5,30%
		50-57	4	4,80%	2	5,30%
		58-65	6	7,10%	2	5,30%
		<b>Total</b>	84	100,00%	38	100,00%

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

Se determinó que en el grupo sanguíneo A tiene mayor prevalencia el subgrupo A1 con el 86,50% (90), seguido del subgrupo A2 con el 86,30% (44) personas. En el grupo sanguíneo AB existe una menor frecuencia de los dos subgrupos del antígeno A. (Tabla N° 5.3.).

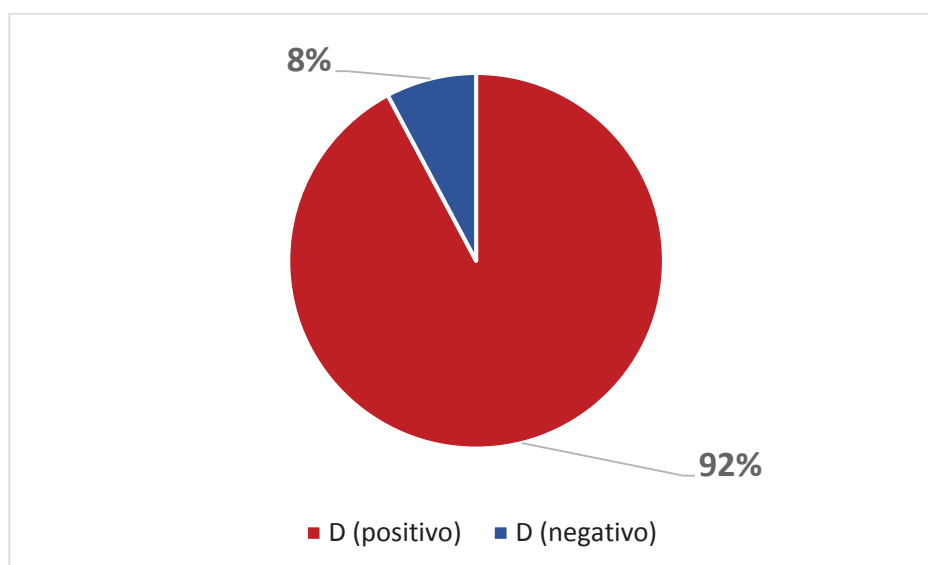
**Tabla N°5.3. Subgrupo A asociado con el grupo sanguíneo A y AB**

	Subgrupo A			
	A1		A2	
	Recuento	%	Recuento	%
<b>A</b>	90	86,50%	44	86,30%
<b>AB</b>	14	13,50%	7	13,70%

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

### 5.3. Frecuencia del antígeno D

La identificación inicial del antígeno D mediante la prueba en tubo determinó que el 92% de la población presentaba una reacción positiva clasificándose inicialmente como D (positivo), mientras que el 8% tuvo una reacción serológica negativa D (negativo). (Gráfico N°5.6)



**Gráfico N°5.6 Distribución del antígeno D**

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

El análisis de la distribución del antígeno D en relación con la procedencia y género se determinó que en Chalguayacu existe el 76,80% (205) mujeres portadoras de D (positivo) y 23,20% (62) hombres; Carpuela no se encontró el antígeno D (negativo) en hombres y las

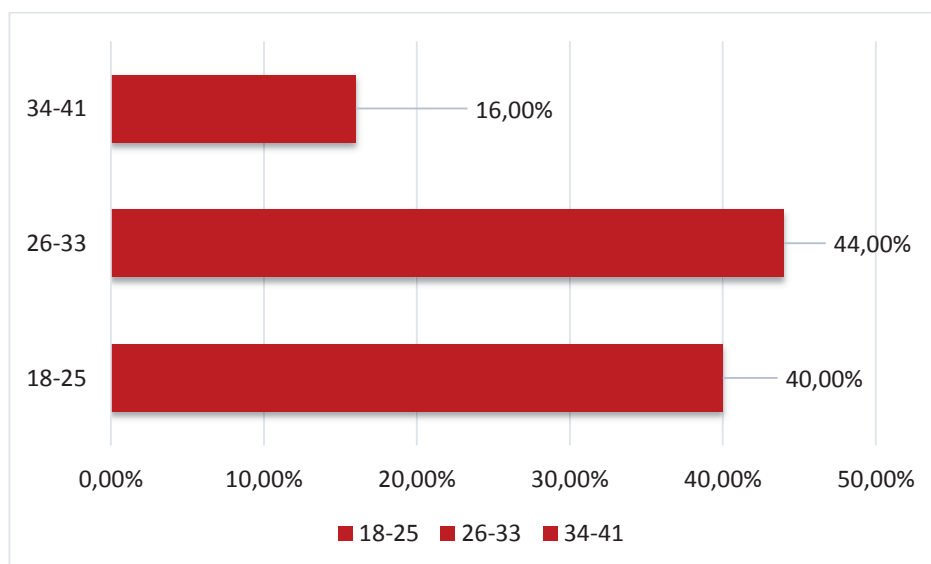
mujeres fueron D (positivo) en el 78,90% (56); mientras que en Salinas el 75% (12) mujeres fue tipificada como D (negativo) (Tabla N°5.4.)

**Tabla N°5.4. Antígeno D (positivo) y D (negativo) según localidad y género**

		<b>Rh</b>				
		<b>D (positivo)</b>		<b>D (negativo)</b>		
		Recuento	%	Recuento	%	
<b>Chalguayacu</b>	<b>Género</b>	<b>Hombre</b>	62	23,20%	4	16,00%
		<b>Mujer</b>	205	76,80%	21	84,00%
		<b>Total</b>	267	100,00%	25	100,00%
<b>Carpuela</b>	<b>Género</b>	<b>Hombre</b>	15	21,10%	0	0,00%
		<b>Mujer</b>	56	78,90%	1	100,00%
		<b>Total</b>	71	100,00%	1	100,00%
<b>Salinas</b>	<b>Género</b>	<b>Hombre</b>	27	16,80%	4	25,00%
		<b>Mujer</b>	134	83,20%	12	75,00%
		<b>Total</b>	161	100,00%	16	100,00%

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

Las 25 mujeres embarazadas fueron identificadas como Rh D (positivo) y sus rangos de edad fueron entre 18 y 41 años. (Gráfico N° 5.7)



**Gráfico N°5.7 Rh D(positivo) en mujeres embarazadas según la edad**

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

## 5.4. Prevalencia de Variantes del antígeno D

Se realizó el análisis de las variantes del antígeno D mediante el uso de tarjetas ID-Coombs Anti-IgG que de acuerdo con el inserto discriminan entre D débil y D variante DVI.

**D débil:** todas las personas identificadas inicialmente como Rh D (negativo) fueron sometidas a la prueba de Gel Coombs Anti-IgG, 4,80% (2) fueron confirmadas como D débil. (Tabla N°5.5)

**Tabla N°5.5. Prevalencia del antígeno D débil de la población afroecuatoriana**

		Recuento	%
<b>Antígeno D débil</b>	<b>Ausencia</b>	40	95,20%
	<b>Presencia</b>	2	4,80%
	<b>Total</b>	42	100,00%

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

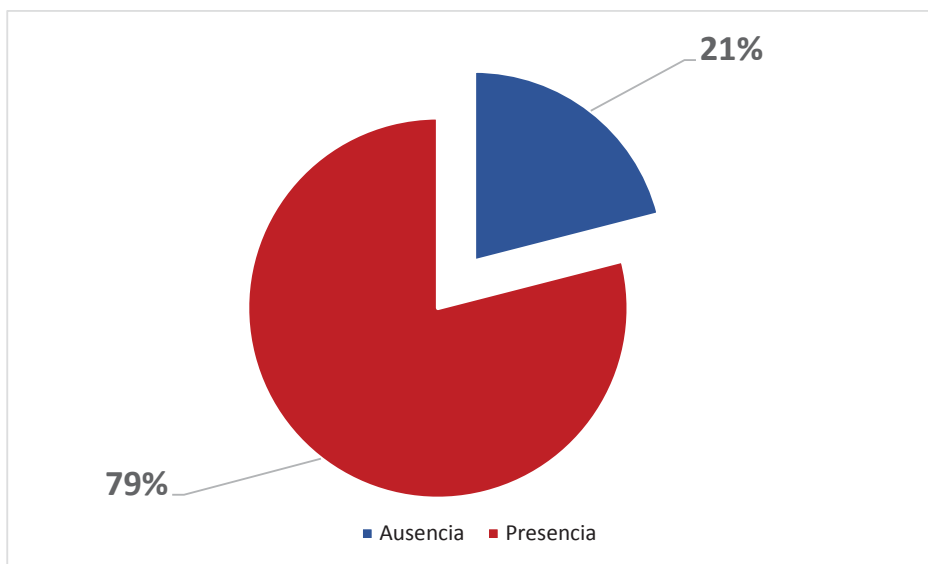
Las dos muestras confirmadas con el antígeno D débil proceden de dos servicios de salud, Chaguayacu y Salinas, son de género femenino, con fenotipo C-c+e+E- (r/r), perteneciente al tipo 4.1 -4.2. (Tabla N°5.6.)

**Tabla N°5.6. Tipo de D débil relacionado con la localidad, género, fenotipo Antígeno D débil**

	<b>Presencia</b>	<b>Género</b>	<b>Edad</b>	<b>Fenotipo</b>	<b>Tipo D débil</b>
	Recuento	Recuento	Recuento	Recuento	Recuento
<b>Chaguayacu</b>	1	Mujer	41 años	C-c+e+E- (r/r)	4.1 – 4.2
<b>Salinas</b>	1	Mujer	61 años	C-c+e+E- (r/r)	4.1 – 4.2

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

**D variante:** Un hallazgo importante fue la presencia de D variantes, identificándose que el 79% de los individuos presentan presumiblemente la variante DVI y el 21% son Rh D (positivos) confirmados. (Gráfico N°5.8)



**Gráfico N°5.8 Distribución porcentual de la variante DVI en la población**

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

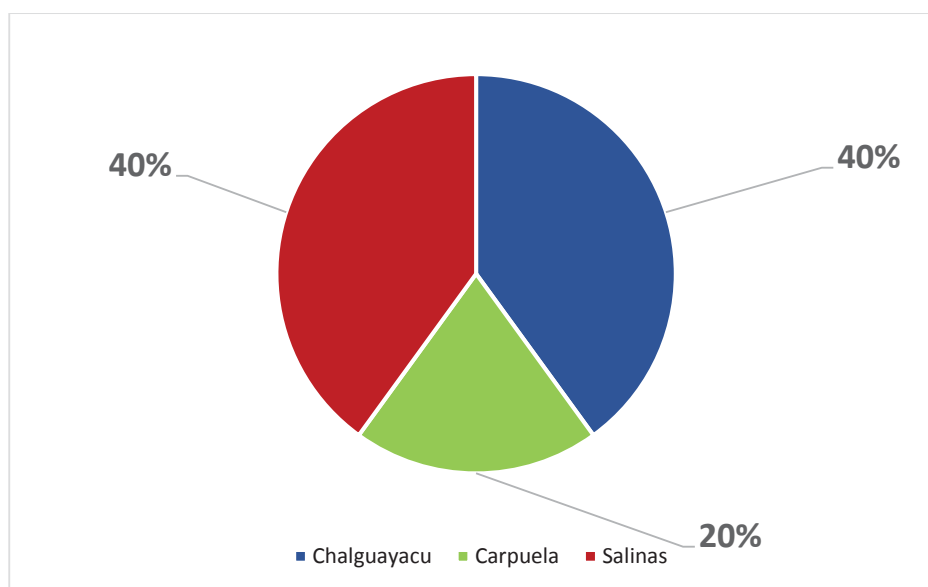
La localidad que presentó un mayor porcentaje de variante DVI fue Chaguayacu 46,2%, seguido de Salinas con el 38,30% y por último Carpuela con el 15,50%. (Tabla N°5.7.)

**Tabla N°5.7. Distribución del antígeno DVI por localidad**

	Antígeno DVI	
	Recuento	%
<b>Chaguayacu</b>	182	46,20%
<b>Carpuela</b>	61	15,50%
<b>Salinas</b>	151	38,30%
<b>Total</b>	394	100,00%

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

Todas las mujeres embarazadas presentaron la variante DVI y según la zona de procedencia se estableció que 6 pertenecen a Chaguayacu con el 40% similar a Salinas, y en menor cantidad en Carpuela siendo 3 mujeres embarazadas con el 20%. (Gráfico N°5.9)



**Gráfico N°5.9 Distribución porcentual de la variante DVI en mujeres embarazadas**

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

## 5.5. Determinación de fenotipos del sistema Rh

En el estudio se identificó los antígenos más relevantes del sistema Rh (CcDdeE) y se clasificaron en 5 fenotipos en base de la nomenclatura de Fisher-Race y Wiener, el fenotipo cDe/cDe (R0/R0) fue el más frecuente con el 36,70%, seguido de CDe/cDe (R1/R0) con el 29,70%, cDE/cDe (R2/R0) con el 20,60%, y los de menor frecuencia fueron: el fenotipo C+c+e+E+ (Rz/R0/R1/R2) con el 8%, seguido de CDe/CDe (R1/R1) con el 5%. Por otro lado, para Rh D(negativo) el de mayor frecuencia fue el fenotipo cde/cde (r/r) con el 85,70%, y los de menor frecuencia fueron: el fenotipo Cde/cde (r'/r) con el 9,50%, seguido del fenotipo cdE/cde (r''/r) con el 4,80%. (Tabla N° 5.8.)

**Tabla N°5.8. Distribución porcentual de los fenotipos del Sistema Rh**

		Recuento	%
Rh D(positivo)	C+c+e+E+ Rz/R0/R1/R2	40	8,00%
	C-c+e+E+ R2/R0	103	20,60%
	C-c+e+E- R0/R0	183	36,70%
	C+c-e+E- R1/R1	25	5,00%
	C+c+e+E- R1/R0	148	29,70%
<b>Total</b>			100%
Rh D(negativo)	C-c+e+E+ r''/r	2	4,80%
	C-c+e+E- r/r	36	85,70%
	C+c+e+E- r'/r	4	9,50%
<b>Total</b>			100%

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

También se determinó que en las mujeres el fenotipo de mayor frecuencia fue el de cDe/cDe (R0/R0) con el 41,0%, seguido de CDe/cDe (R1/R0) con el 26,3%, y el fenotipo cDE/cDe (R2/R0) con el 20,3%. De igual forma, en el género masculino se identificó al fenotipo cDe/cDe (R0/R0) con el 38,4%, seguido de CDe/cDe (R1/R0) con el 34,8% (Tabla N° 5.9.)

**Tabla N°5.9. Distribución porcentual de los fenotipos del Sistema Rh según el género**

		Género			
		Hombre		Mujer	
		Recuento	%	Recuento	%
Fenotipo Rh	C+c+e+E+ Rz/R0/R1//R2	6	5,40%	34	7,90%
	C-c+e+E+ R2/R0	18	16,10%	87	20,30%
	C-c+e+E- R0/R0	43	38,40%	176	41,00%
	C+c-e+E- R1/R1	6	5,40%	19	4,40%
	C+c+e+E- R1/R0	39	34,80%	113	26,30%
	<b>Total</b>	112	100,00%	429	100,00%

Sin embargo, al analizar los fenotipos en las mujeres embarazadas de la población se obtuvo que existe más frecuencia en el fenotipo cDe/cDe (R0/R0) con el 32%, mientras que el de menor frecuencia fue el fenotipo C+c+e+E+ (Rz/R0/R1/R2) con el 4%, similar al de la población femenina en general.

Se identificó que los fenotipos del sistema Rh se encuentran distribuidos en los tres servicios de salud siendo el fenotipo R0/R0 más frecuente en Chalguyacu y Carpuela; mientras que en Salinas el R1/R0 es el más frecuente. (Tabla N°5.10.)

**Tabla N°5.10. Distribución poblacional del fenotipo del Sistema Rh según la localidad**

	Fenotipo Rh		
	Chalguyacu	Carpuela	Salinas
(Rz/Ro/R1/R2)	18	5	17
(R2/R0)	56	14	33
(R0/R0)	109	28	46
(R1/R1)	9	5	11
(R1/R0)	75	19	54
(r <sup>rr</sup> /r)	1	0	1
(r/r)	21	0	15
(r <sup>r</sup> /r)	3	1	0
<b>Total</b>	<b>292</b>	<b>72</b>	<b>177</b>

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

## 5.6. Determinación del antígeno K

En este estudio se realizó un análisis adicional por la disponibilidad en las tarjetas de fenotipo que permitió establecer la presencia del antígeno K, perteneciente al Sistema Kell, por medio de una reacción de aglutinación en la tarjeta de gel Rh-Subgroups+K. Se identificó que del total de la población el 2,8% presenta el antígeno K, y el 97,2% presenta el antígeno cellano (k). (Gráfico N° 5.13)

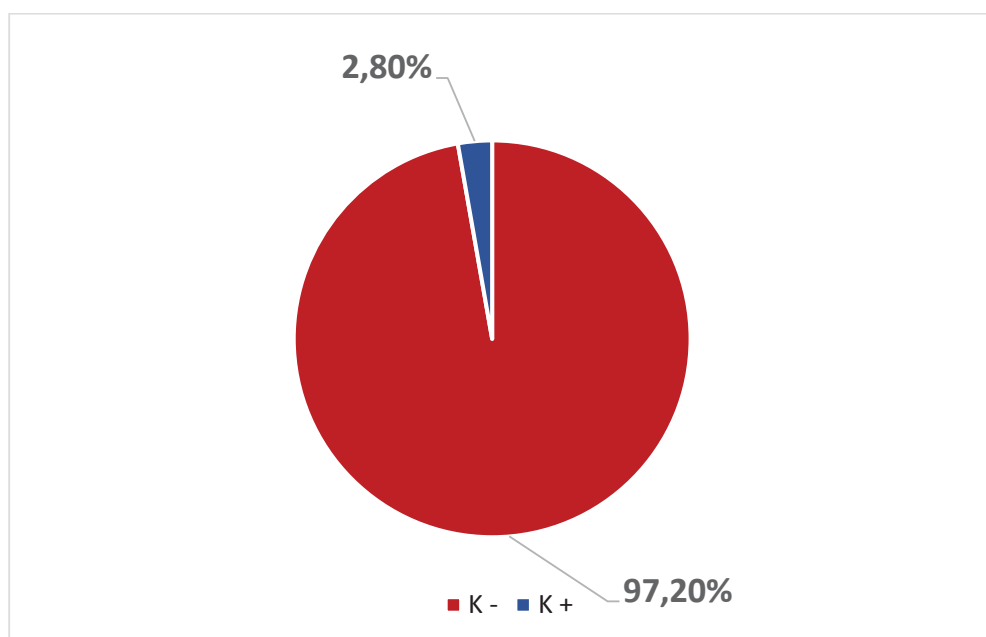


Gráfico N°5.10 Distribución porcentual del antígeno K en la población

Elaborado por: Nora Osorio y Estefanía Sagasti

El antígeno K se encuentra distribuido en las tres localidades, se observó que del total de 15 personas positivas para el antígeno K, 9 correspondieron a la localidad de Chaguayacu y 6 personas a la localidad de Salinas, mientras que en Carpuela no se encontraron casos de presencia del antígeno K (Tabla N° 5.11).

**Tabla N°5.11. Distribución del antígeno K según la localidad**

	K			
	Negativo		Positivo	
	Recuento	%	Recuento	%
<b>Chaguayacu</b>	283	53,8%	9	60,0%
<b>Carpuela</b>	72	13,7%	0	0,0%
<b>Salinas</b>	171	32,5%	6	40,0%
<b>Total</b>	526	100,0%	15	100,0%

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

Finalmente, se determinó que el antígeno k (Cellano) está presente en el 96% (24) de mujeres embarazadas de las tres localidades analizadas, y solo una mujer cuya localidad es Chaguayacu presentó el antígeno K+ (Tabla N° 5.12).

**Tabla N°5.12. Distribución del antígeno K en mujeres embarazadas**

	K			
	Negativo		Positivo	
	Recuento	%	Recuento	%
<b>Chaguayacu</b>	13	54,2%	1	100,0%
<b>Carpuela</b>	5	20,8%	0	0,0%
<b>Salinas</b>	6	25,0%	0	0,0%
<b>Total</b>	24	100,0%	1	100,0%

**Elaborado por:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti

## 6. DISCUSIÓN

En el año 2016, la Dirección Distrital 10D01 Ibarra, Pimampiro, San Miguel de Urcuquí-Salud informa que existen 23 unidades operativas tipo A que forman parte del Distrito 10D01, de las cuales 3 servicios de salud fueron visitados para el estudio, que son el Centro de Salud Tipo A1 Salinas, Unidad de Salud Carpuela Tipo A tipo A y la Unidad de Salud Chalguyacu Tipo A. Estos servicios de salud forman parte del Primer Nivel de Atención (MSP, 2014b). Durante el 2016 se ha reportado que han atendido mayoritariamente a adultos de 20-64 años, seguido de menores de edad entre 1-4 años, menores de 1 año, menores de edad de 5-9 años, de 15-19 años y de 10-14 años (MSP, 2016).

El total de la población de estudio fue de 541 personas afrodescendientes, de las cuales 429 fueron mujeres (79,3%) y 112 hombres (20,7%). Las mujeres en edad fértil, es decir de 15-49 años, son las que más acuden a estos servicios de salud debido a la planificación familiar, control prenatal adultas, control prenatal adolescentes, detección oportuna de cáncer (DOC) Mamario y de cérvico uterino, respectivamente (MSP, 2016), es por ello que en los tres servicios de salud se observa mayor frecuencia de mujeres que hombres. En Chalguyacu se presentan participantes menores de edad de 10-17 años en mayor frecuencia debido a que se realizaban controles escolares, como la toma de medidas antropométricas, evaluación clínica, atención odontológica, administración de micronutrientes, desparasitación, exámenes complementarios en caso de que sea necesario (Villacis, 2015).

En la medicina transfusional el hemocomponente más utilizado son los glóbulos rojos por lo que es importante conocer los sistemas sanguíneos más relevantes como son el Sistema ABO y el Rh. En el país existen varios estudios relaciones a estos sistemas, sin embargo, es esencial dar a conocer datos relevantes sobre estos sistemas en las diferentes etnias que existen en el Ecuador, tales como: mestizos, afroecuatorianos montubios, indígenas, blanco, además la etnia es mejor utilizada para la investigación de la raza (INEC, 2010).

La frecuencia de los grupos sanguíneos pertenecientes al sistema ABO en este estudio fue de 44,29% O D (positivo), 26,85% grupo B D (positivo). 24,65% A D (positivo) y 4,21% el grupo AB D (positivo), datos similares al estudio realizado por Carmona-Fonseca (2006) sobre la frecuencia de grupos sanguíneos ABO en la población del país de Colombia donde obtuvieron una frecuencia de los antígenos O, A, B, AB de 57%,20%,20%, 3% respectivamente en

pobladores afrocolombianos. De igual manera, un informe elaborado por Zarante, et. al (2000) sobre los grupos sanguíneos ABO en la población afrocolombiana indica que existe una mayor prevalencia en el grupo O del 58-79%, seguido del grupo A con el 16-23%, el grupo B con el 16-20% y el grupo AB con el 1-3%, estos datos son semejantes a los resultados obtenidos en este estudio, pero en población afroecuatoriana ya que el antígeno O tiene mayor frecuencia y una menor el antígeno AB en la población.

Un estudio realizado en Estados Unidos en el año 2004 de la frecuencia de los fenotipos ABO y Rh (D) en poblaciones de diferentes razas / grupos étnicos obtuvo como resultado que en la población afroamericana existía el 46% del grupo sanguíneo O D (positivo), seguido del A D (positivo) con el 24%, B D (positivo) con el 18,4% y AB D (positivo) con el 4%, siendo similar estos resultados a los obtenidos en este estudio en los grupos sanguíneo O y AB D (positivo). Por otro lado, la población afroamericana tuvo una mayor frecuencia del D (negativo) en el grupo O seguido del grupo A y el grupo B (Garratty, Glynn y McEntire, 2004), en contraste con los datos del presente estudio ya que la población afroecuatoriana tiene mayor frecuencia del D (negativo) en el grupo B seguido del grupo O y por último el grupo A.

Una investigación realizada en Honduras determinó que la mayoría de la población es portadora del grupo sanguíneo A con subgrupo A1 y menor frecuencia del subgrupo A2 (Grispan, 1983), en cambio en la población afroecuatoriana existen portadores del antígeno A en menor porcentaje que el grupo sanguíneo O, pero tienen una frecuencia similar al del estudio de Honduras en relación a subgrupos donde el 67,10% es de subgrupo A1 y 32,90% del subgrupo A2.

Como se ha mencionado la población de estudio es afroecuatoriana, este aspecto es importante, ya que el subgrupo A2B es más frecuente que el subgrupo A, de acuerdo con la literatura esto se debe a la presencia de un gen B fuerte que suprime la actividad del antígeno A1 (Shastri y Bhat, 2010). No obstante, los resultados obtenidos indican que para el grupo sanguíneo AB el subgrupo A2 estuvo presente únicamente en 7 personas afrodescendientes siendo este el 13,70%, mientras que para el grupo sanguíneo A el subgrupo A2 corresponde al 86,30% de los participantes que acudieron a los tres servicios de salud.

Según el Ministerio de Salud Pública la edad fértil en las mujeres se encuentra en el rango de 15-49 años (INEC y MSP, 2012), en el estudio se determinó que el subgrupo sanguíneo A esta mayoritariamente en las mujeres de 18-25 años, mientras que el subgrupo sanguíneo A2 está

en una edad de 10-33 años, dato que debe ser tomado en cuenta, a pesar de que los expertos mencionan que este antígeno es poco inmunógeno, además debe tomarse en cuenta que la edad reproductiva de la mujer inicia a partir de los 15 años y cuando existe multiparidad la probabilidad de aloinmunización es más alta (AABB, 2012).

En Ecuador, un estudio realizado sobre la frecuencia de subgrupos del antígeno A, determinó que el subgrupo del antígeno A1 y A1B es más frecuente en los hombres que en mujeres (Parra Jaramillo y Chiriboga-Ponce, 2016), en contraste con el presente estudio en el que la frecuencia de estos subgrupos es mayor en mujeres debido probablemente a la diferencia en cantidad de población, pues se obtuvo más participación de mujeres que de hombres.

A todos los participantes en este estudio se le realizó previamente a la toma de muestra sanguínea una encuesta en la cual se solicitaba escojan la etnia a la que consideran pertenecer, obteniéndose que el 100% de la población de estudio se reconocía como afroecuatoriana, al determinar la presencia del antígeno D los resultados determinaron que el 92% eran portadores del antígeno D, mientras que el 8% fue identificado como D (negativo). Estudios realizados reportan que las personas afrodescendientes están asociadas al fenotipo D (negativo) (Tobón, 2017). Sin embargo, otros estudios han demostrado lo contrario como el de Westhoff, en el 2005 que determinó que el antígeno D (negativo) es menos frecuente en individuos con antecedentes africanos (Westhoff, 2005a). También, el estudio de Carmona-Fonseca (2006) describió que el 97% de afrocolombianos tienen el antígeno Rh D (positivo), datos similares a este estudio.

En las mujeres embarazadas es de gran beneficio identificar el antígeno D de la madre o del feto dependiendo de los algoritmos implementados en cada país tomando en cuenta estudios epidemiológicos y estudios costo/beneficio existiendo una diversidad genética del sistema Rh en la población afrodescendiente. En la investigación realizada en afrodescendientes brasileños detectaron con técnicas poco invasivas en el feto una frecuencia del 3-5% el antígeno D (negativo) (Chinen, et. al., 2010). En este estudio se identificó que el 100% de las mujeres embarazadas participantes que acuden a los diferentes servicios de salud en el Valle del Chota presentaron el antígeno Rh D (positivo), aspecto que no descarta la posibilidad de que sus hijos sean Rh D (negativo). La determinación del factor Rh y detección de anticuerpos anti-D se debe realizar en el primer trimestre de embarazo (menor a 12 semanas) y se debe repetir la detección de anticuerpos a las 24-28 semanas de gestación en la mujeres con Rh D(negativo) no inmunizadas. El segundo análisis ayudará en el manejo de mujeres con

embarazos isoinmunizados, y evitará la enfermedad hemolítica del feto o recién nacido y administración innecesaria de la inmunoglobulina Rh (Abbey y Dunsmoor-Su, 2014).

La determinación de la prevalencia de las variantes del antígeno D en la población afroecuatoriana del Valle del Chota servirá de guía para el servicio de medicina transfusional y Banco de Sangre de Cruz Roja en la Ciudad de Ibarra, de igual manera a los hospitales y centros de salud de la ciudad. El antígeno D débil fue uno de los principales en investigar en la población, y se obtuvo que de todos los participantes que fueron Rh D (negativo) solo dos personas fueron confirmadas para D débil con la prueba de Gel Coombs Anti-IgG siendo correspondiente a un porcentaje de 4,80%. El estudio realizado por Martin, et al. (2013) reportó que en la población africana existe una frecuencia de este antígeno del 3-7% datos similares al presente estudio.

El antígeno D débil fenotípicamente puede ser clasificado en tipos D débil, así el tipo 4 se puede dividir en dos subtipos D débil tipo 4.0 y tipo 4.1 común en la población europea, mientras que en la de Portugal el D débil tipo 2 es el más prevalente, el D débil tipo 4.2 conocido como DAR es un alelo del D débil tipo 4 más prevalente en población africana (Flegel, 2006a). En este estudio el género que presenta este antígeno D débil son dos mujeres que acuden a los servicios de salud de Chalguayacu y Salinas. Se determinó la expresión fenotípica de este antígeno que fue el cde/cde (r/r) el cual corresponde al D débil tipo 4.1 – 4.2, resultados similares al estudio realizado por Zacarias et. al. (2016a), donde se reportó 29 muestras con fenotipo D débil, siendo 8 variantes D débil tipo 4 con genotipo cde/cde (r/r).

Por otro lado, es necesario tomar en cuenta que los D débil tipo 4.2 son más susceptibles a una aloinmunización alo-anti D (Flegel, 2006a), es por eso que estas pacientes deben ser tratados como Rh D (negativo) y transfundidos con eritrocitos Rh D (negativo) (Rizzo, et. al., 2012).

Los investigadores han determinado que la frecuencia del antígeno D parcial varía según el grupo étnico. La variante DVI es más frecuente en la población caucásica, mientras que las variantes de D parcial (DIIIa, DIIIb y DIVa) son más frecuente en la población afrodescendiente (Kabiri, Benajiba, Hajjout, Dakka, y Bellaoui, 2014). Tornándose importante identificar la frecuencia de las variantes D, en especial la variante parcial DVI, ya que esta se caracteriza por un número reducido de sitios antigénicos por célula.

En la población de estudio el 79% presentó presumiblemente la variante DVI, siendo este clínicamente importante, ya que este antígeno reacciona débilmente con el anti-D (Flegel, 2006a), además un estudio realizado por Rizzo, et al (2012) determinó que el D parcial produce la expresión de diferentes epítomos de proteínas y esto puede inducir la producción de anticuerpos específicos por lo que dichos pacientes deben ser considerados Rh D (negativos) y ser transfundidos con eritrocitos Rh D (negativos). Además, en los tres servicios de salud se obtuvo participantes con la variante DVI por lo que se los debe considerar como donantes D (positivo) pero como pacientes preferiblemente debe ser considerado como D (negativo) en caso de una transfusión sanguínea (Rizzo, et. al., 2012; AABB, 2012).

Las mujeres embarazadas (25) presentaron la variante parcial DVI en los tres servicios de salud, siendo el más alto Chalguyacu. A estas pacientes con el fenotipo DVI son propensas a producir anti-D y por lo tanto deben ser clasificadas como Rh D (negativo) y deben ser tratadas como Rh D (negativo) para una transfusión sanguínea en el caso que sea necesaria y la administración de inmunoglobulina anti-D durante el embarazo y después del parto de un bebé Rh D (positivo), ya que los glóbulos rojos carecen de epítomos D (Daniels, 2013b).

En Estados Unidos y en los Países bajos han determinado que no hay evidencia de que el antígeno DVI pueda inmunizar a la madre con Rh D (negativo) durante el embarazo o en el parto, por lo que se recomienda realizar una tipificación neonatal, siendo que el neonato será tratado como donante para la prueba, si este presenta la variante DVI se administrara a la madre inmunoglobulina anti-D (Daniels, 2013b).

En la población estudiada, el fenotipo de Rh que se expresó con más frecuencia en individuos D (positivo) fue el cDe/cDe (R0/R0) con un porcentaje del 36,7%, seguido del fenotipo CDe/cDe (R1/R0) con un 29,7%. El estudio de Nabil, et. al (2018) en Msila (Argelia) reportó un resultado semejante, obteniendo que el fenotipo R1/R0 ocupa el segundo lugar de los fenotipos más frecuentes en la población analizada con un 41.05%.

Por otro lado, de los 42 participantes D (negativo), el 85,7% presentó el fenotipo de Rh cde/cde (r/r), seguido del genotipo Cde/cde (r'/r) con un 9,5%; porcentajes similares a los reportados en el estudio de Martin, et. al (2003) en una población de Brasil con alto grado de mezcla racial, donde se encontró que el 92,3% de la población D (negativa) estudiada presentó el mismo fenotipo cde/cde (r/r), igualmente seguido del fenotipo Cde/cde con un 3,8%.

En relación con el sistema Kell, es de gran importancia clínica establecer la frecuencia de los principales antígenos, KEL1 y KEL 2 (Cellano), puesto que se encuentran involucrados con el desarrollo de reacciones hemolíticas postransfusionales (RHPT) agudas o tardías severas (AABB, 2012). En su gran mayoría, los anticuerpos anti-K son inducidos por transfusiones sanguíneas previas de glóbulos rojos antígeno K+ en pacientes que poseen antígeno Cellano, presente en la gran mayoría de la población (AABB, 2012). Por ello, en el presente estudio se identificó la frecuencia del antígeno K (KEL1), obteniendo que el 2.8% del total de la población analizada posee antígeno K, mientras que el 97,2% presenta el antígeno Cellano. Zacarias, et. al (2016b) presentaron un estudio en la región de Paraná, al sur de Brasil, donde los resultados se asemejan a los obtenidos en este estudio, el 92,03% presentó el antígeno Cellano y el 7,97% el antígeno K, siendo importante destacar que la mayoría de la población en Paraná (80,6%) presenta una contribución del 12,5% de genes africanos.

Los anticuerpos anti-K también pueden causar EHRN severa al ser inducidos por el embarazo, por ello en muchos países es de práctica habitual transfundir glóbulos rojos antígeno K negativo a niñas y mujeres en edad fértil (AABB, 2012). Por lo tanto, fue esencial la determinación de la frecuencia de estos antígenos, obteniendo que de las 25 mujeres embarazadas tan solo una presentó antígeno K+, mientras que los 24 restantes presentaron antígeno Cellano.

Determinar la frecuencia de los antígenos de este sistema y, en general, antígenos eritrocitarios cobra gran importancia en el momento en que los pacientes se encuentran aloimmunizados y corren el riesgo de enfrentarse a reacciones transfusionales severas. El riesgo aumenta cuando encontramos aloanticuerpos contra antígenos de alta frecuencia en la población, como en el caso del antígeno Cellano, y se torna complejo encontrar unidades de glóbulos rojos compatibles (Vásquez, Castillo, Pavez, Maldonado y Mena, 2015). Por ello, estudios en diversos países, así como el presente, buscan que cada servicio de medicina transfusional conozca su población e implemente algoritmos de fenotipificación que garanticen una transfusión segura, disminución de la mortalidad y morbilidad, y el correcto manejo de hemocomponentes.

## 7. CONCLUSIONES

- La población afroecuatoriana de las tres localidades de estudio en el Valle del Chota presenta una alta prevalencia del grupo sanguíneo O D (positivo), seguido del grupo B D (negativo), así como una alta prevalencia del fenotipo R0/R0 y el antígeno k.
- Existe la presencia de subgrupos de A en la población, con predominio del subgrupo A1.
- Se determinó que la población de estudio fue portadora mayoritariamente del antígeno D (positivo), mientras que el antígeno D (negativo) tuvo una baja frecuencia.
- La distribución del antígeno D (positivo) en los servicios de Chalguayacu, Carpuela y Salinas es más frecuente en el género femenino.
- El antígeno D (negativo) se encuentra distribuido tanto en hombres como mujeres de las tres localidades de estudio.
- Existe una escasa frecuencia del antígeno D débil en la población afroecuatoriana sin embargo debe realizarse su identificación por el riesgo de aloinmunización ya que fue detectado únicamente en mujeres y clasificado fenotípicamente como tipo 4.1-4.2 en la población afroecuatoriana.
- Se determinó que el fenotipo cde/cde (r/r) está presente en los casos de D débil tipo 4.1-4.2 encontrados en la población analizada.
- Un hallazgo importante fue la existencia de variantes del antígeno D en afroecuatorianos presumiblemente se trata de la variante DVI, siendo esta más frecuente en la localidad de Chalguayacu.
- Las mujeres embarazadas participantes en el estudio son portadoras de la variante D y pertenecen a las tres localidades de Chalguayacu y Salinas, y menor en Carpuela.
- En la población, el fenotipo de Rh más frecuente en individuos D (positivo) fue el fenotipo cDe/cDe (R0/R0), mientras que en individuos D (negativo) el fenotipo cde/cde (r/r) fue el más frecuente.
- El fenotipo cDe/cDe (R0/R0) se encuentra distribuido más frecuentemente en las localidades de Chalguayacu y Carpuela mientras que el R1/R0 es de mayor frecuencia en la localidad de Salinas.
- Se determinó que la población participante fue portadora mayoritariamente del antígeno k (Cellano), incluyendo la mayoría de las mujeres embarazadas identificadas.

## 8. RECOMENDACIONES

- Se recomienda al Programa Nacional de Sangre implementar proyectos en conjunto con otras instituciones con el fin de concientizar a la población nativa del Valle del Chota acerca de la importancia de conocer su grupo sanguíneo y factor Rh.
- Se recomienda incluir la determinación serológica de las variantes del antígeno D por ser muy frecuente en la población afroecuatoriana.
- Se recomienda realizar la fenotipificación completa de los fenotipos de Rh, por la diversidad de fenotipos encontrada en la población, y por el riesgo de aloinmunización al que se encuentra expuesta la población en edad fértil.
- Se recomienda al Programa Nacional de Sangre implementar la identificación del antígeno Kell en la población, ya que existen mujeres portadoras del fenotipo K (mayúscula).
- Se recomienda la inclusión en el Programa de Maternidad Gratuita la tipificación completa de mujeres ya que el análisis de estos puede ayudar a prevenir a tiempo cualquier complicación durante el embarazo y la enfermedad hemolítica del recién nacido.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- AABB. (2012). *Manual técnico*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina: Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología.
- Abbey, R., & Dunsmoor-Su, R. (2014). Cost-benefit analysis of indirect antiglobulin screening in Rh(D)-negative women at 28 weeks of gestation. *Obstetrics & Gynecology*, 123(5):938-45. doi: 10.1097/AOG.0000000000000224.
- Aburto, A. (2013). *Recomendaciones para la clasificación sanguínea RhD*. Instituto de Salud Pública de Chile. Recuperado de <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2013/04/RECOMENDACIONES%20PARA%20LA%20CLASIFICACION%20SANGU%20DNEA%20RhD.PDF>
- Arbeláez, C. (2009). Fundamentos de genética e inmunología para bancos de sangre y medicina transfusional. *Medicina & Laboratorio*, 15(1-2), 37-68. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2009/myl091-2d.pdf>
- Avent, N., & Reid, M. (2000). The Rh blood group system: a review. *Blood*, 15;95(2):375-87.
- Ba, A., Beley, S., Chiaroni, J., Bailly, P., & Silvy, M. (2015). RH diversity in Mali: characterization of a new haplotype RHD\*DIVa/RHCE\*ceTI(D2). *Transfusion*, 55;1423–1431. doi:10.1111/trf.13109.
- Baptista, H. (2005). El sistema Rh, una mirada al fondo. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 43(1), 3-8. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2005/ims051b.pdf>
- Baptista, H., Rosenfeld, F., Trueba, R., Reyes, E., & Jiménez, L. (2010). Identificación de la caja RH híbrida en el fenotipo Rh negativo de sujetos del valle de México. *Gac Méd Méx*, Vol. 146 No. 1.
- Bernardello, F., Coluzzi, S., Curciarello, G., Todros, T., & Villa, S. (2015). Recommendations for the prevention and treatment of haemolytic disease of the foetus and newborn. *Blood Transfusion*, 109-134.
- BIO-RAD. (2013). *ID- DiaClon Anti-D*. Obtenido de [https://www.bio-radsecretarea.com/documents/all/pdfs/B007531\\_09410\\_02.13\\_GEFISP.pdf](https://www.bio-radsecretarea.com/documents/all/pdfs/B007531_09410_02.13_GEFISP.pdf)
- BIO-RAD. (2014). *DiaClon Anti-D*. Obtenido de [https://www.bio-radsecretarea.com/documents/all/pdfs/B001057\\_11280\\_08.13\\_GEFISP.pdf](https://www.bio-radsecretarea.com/documents/all/pdfs/B001057_11280_08.13_GEFISP.pdf)
- BIO-RAD. (2018). *DiaClon Anti-CDE, -C, -E, -c, -e*. Obtenido de [https://www.bio-radsecretarea.com/documents/all/pdfs/B700014\\_10.13\\_GEFISP.pdf](https://www.bio-radsecretarea.com/documents/all/pdfs/B700014_10.13_GEFISP.pdf)

- BIO-RAD. (2018). *ID-Internal Quality Control*. Obtenido de [https://www.bio-radsecretarea.com/documents/all/pdfs/B009925\\_45341\\_10.13\\_GEFISP.pdf](https://www.bio-radsecretarea.com/documents/all/pdfs/B009925_45341_10.13_GEFISP.pdf)
- Canle, O. (2013). Mas Alla del ABO y Rh . *Servicio de Medicina* .
- Carmona-Fonseca, J. (2006). Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh en la población laboral del valle de Aburrá y del cercano oriente de Antioquia (Colombia). *Acta Med Colomb*, vol.31 no.1 Bogotá .
- Cayres, L., Castilho, L., Neves, O. V., Sippert, E., Gaspardi, A., Lobato, M., & Fernandes, M. (2015). Impact of a confirmatory RhD test on the correct serology typing of blood donors. *Revista Brasileira de Hematologia y Hemoterapia*, 302-305.
- Chargoy, E., Azcona, M., & Ramírez, R. (2016). Prevalencia del antígeno Kell (K+) en muestras obtenidas en un banco de sangre. *Revista de Hematología* , 7(2):114-122.
- Chinen, P., Nardoza, L., Martinhago, C., Camano, L., Daher, S., Pares, D., . . . Moron, A. (2010). Determinación no invasiva del grupo sanguíneo rh fetal, estado del antígeno D mediante análisis de ADN sin células en plasma materno: experiencia en una población brasileña. *Am J Perinatol*, (10): 759-62. doi: 10.1055 / s-0030-1253560.
- Clínica Universidad de Navarra. (2015). *Sensibilización*. Recuperado de [https://www.cun.es/es\\_EC/diccionario-medico/terminos/sensibilizacion](https://www.cun.es/es_EC/diccionario-medico/terminos/sensibilizacion).
- CLSI. (2017). *GP41-A6. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard -Sixth Edition*. Wayne, PA, Estados Unidos: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cortés, A., Muñiz-Díaz, E., & León, G. (2014). *Inmunohematología básica y aplicada*. Santiago de Cali: Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional.
- Cruz Roja Española. (2019). *Grupos sanguíneos*. Obtenido de <http://www.donarsangre.org/grupos-sanguineos/>
- Daniels, G. (2013a). *Human Blood Groups*. New Sussex, UK: Wiley-Blackwell
- Daniels, G. (2013b). Variants of RhD--current testing and clinical consequences. *Br J Haematol*, 161(4):461-70. doi: 10.1111/bjh.12275.
- Dava, N., Upadhyaya, A., Agarwal, N., Mehta, A., Choudhary, V., & Goyal, G. (2018). A rare case of hemolytic disease of newborn due to weak D (D unknown) antigen in child. *Asian Journal of Transfusion Science*, 12(1), 75-77. doi: 10.4103/ajts.AJTS\_21\_17

- Flegel, W. (2006a). How I manage donors and patients with a weak D phenotype. *Current Opinion in Hematology*, 13(6), 476-483. doi:10.1097/01.moh.0000245694.70135.c3
- Flegel, W. (2007b). The genetics of the Rhesus blood group system. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*, 5(2), 50–57. doi:10.2450/2007.0011-07.
- Fundación banco de sangre y tejidos de las Islas Baleares. (2019). *Grupos Sanguíneos*. Obtenido de [http://www.donasang.org/que-es-la-sang/es\\_grups-sanguinis.html](http://www.donasang.org/que-es-la-sang/es_grups-sanguinis.html)
- Gallegos, C. (2016). *Análisis retrospectivo de la frecuencia del antígeno d débil y su relación con los antígenos eritrocitarios del Sistema RH “c y e”, en donantes voluntarios de sangre del hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, 2011 al 2014*. (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. Recuperado de [http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/11415/Frecuencia%20del%20ant%C3%ADgeno%20D%20d%C3%A9bil%20en%20donantes%20de%20sangre\\_unlocked.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/11415/Frecuencia%20del%20ant%C3%ADgeno%20D%20d%C3%A9bil%20en%20donantes%20de%20sangre_unlocked.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Garratty, G., Glynn, S., & McEntire, R. (2004). ABO and Rh(D) phenotype frequencies of different racial/ethnic groups in the United States. *Transfusion*, 44(5):703-6. doi: 10.1111/j.1537-2995.2004.03338.x.
- Grispan, S. (1983). GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y Rh. *REV. MEDICA HONDUR.*, VOL. 51.
- Gaspardi, A., Sippert, E., Dorigan, M., Pellegrino, J., Costa, F., & Castilho, L. (2016). Clinically relevant RHD-CE genotypes in patients with sickle cell disease. *Blood Transfusion*, 14(5), 449- 454. doi:10.2450/2016.0275-15.
- Günther, F., & Wolfgang, R. (2014). Responder Individuality in Red Blood Cell Alloimmunization. *Transfus Med Hemother*, 41 (6): 446–451. doi: 10.1159 / 000369179.
- IATA. (2013). *Normas para el embalaje y transporte de muestras*. Comité Institucional de Bioseguridad Facultad de Medicina Clínica Alemana Universidad del Desarrollo. Recuperado de <http://medicina.udd.cl/files/2013/07/4b.-Transporte-muestras-biol%C3%B3gicas.pdf>
- INEC. (2010). *Resultados del Censo 2010 depoblación y vivienda en el Ecuador*. Obtenido de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Manu-lateral/Resultados-provinciales/imbabura.pdf>
- INEC y MSP. (2012). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición- ENSANUT 2012. Demografía, salud materna e infantil y salud sexual y reproductiva*. Obtenido de [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_Sociales/ENSANUT/SaludSexual\\_y\\_Reproductiva/141016.Ensanut\\_salud\\_sexual\\_reproductiva.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_Sociales/ENSANUT/SaludSexual_y_Reproductiva/141016.Ensanut_salud_sexual_reproductiva.pdf)
- Judd, W., Moulds, M., & Schlanser, G. (2005). Reactivity of FDA-approved anti-D reagents with partial D red blood cells. *Inmunohematology*, Vol 21: 4.

- Kabiri, Z., Benajiba, M., Hajjout, K., Dakka, K., & Bellaoui, H. (2014). Testing for Partial RhD with a D-Screen Diagast Kit in Moroccan Blood Donors with Weak D Expression. *J Blood Transfus*, 2014: 204301.
- Khosroshahi, B., Oodi, A., Namjou, S., Gholamali, T., & Amirizadeh, N. (2019 ). RHD Genotyping by Molecular Analysis of Hybrid Rhesus box in RhD-Negative Blood Donors from Iran. *Revista Indian J Hematol Blood Transfus*, 35 (1), 119-124. doi: 10.1007 / s12288-018-0992-3.
- Kim, Y., Kim, H., Baek, E., Kurita, R., Cha, H.-J., Nakamura, Y., & Kim, H. (2015). Rh D blood group conversion using transcription activator-like effector nucleases. *Nature communications*, 6(7451), 1-12. doi:10.1038/ncomms8451.
- Luo, X., Keller, M., James, I., Grant, M., Liu, S., Massey, K., Czulewicz, A., Li, Y. (2018). Strategies to identify candidates for D variant genotyping. *Blood Transfusion*, 16(3), 293-301. doi:10.2450/2017.0274-16.
- Martin, F., Chiba, A., Langhi, D., Nardoza, L., Chiatton, C., & Bordin, J. (2013). RHD gene polymorphisms in alloimmunized RhD-negative individuals with high rate of racial admixture. *Transfusion and Apheresis Sciences*, 48(1):113-6. doi: 10.1016/j.transci.2012.09.004.
- Ministerio de Salud de Colombia . (2015). *ABECÉ sobre la inmunogenicidad* . Recuperado de <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/MET/abc-inmunogenicidad.pdf>
- Ministerio de Salud Pública. (2014). *Reglamento interministerial de gestión de desechos sanitarios*. Recuperado de [https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/12/ACUERDO\\_MINISTERIAL\\_5186\\_REGLAMENTO\\_INTERMINISTERIAL\\_GESTI%C3%93N\\_DESECHOS\\_SANITARIOS.pdf](https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/12/ACUERDO_MINISTERIAL_5186_REGLAMENTO_INTERMINISTERIAL_GESTI%C3%93N_DESECHOS_SANITARIOS.pdf)
- Ministerio de Salud Pública. (2014). *De los establecimientos de salud*. Quito-Ecuador.
- Ministerio de Salud Pública. (2015). *Control Prenatal* . Obtenido de <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2014/05/GPC-CPN-final-mayo-2016-DNN.pdf>
- Ministerio de Salud Pública . (2016). *Rendición de cuenta 2016 Dirección Distrital 10D01 Ibarra, Pimampiro, San Miguel de Urcuquí-Salud*. Obtenido de [http://www.saludzona1.gob.ec/cz1/images/rendicion\\_cuentas/10D01Ibarra/1%20-%20PRESENTACION%20RENDICION%20DE%20CUENTAS%2010D01%20DEFINITIVO.pdf](http://www.saludzona1.gob.ec/cz1/images/rendicion_cuentas/10D01Ibarra/1%20-%20PRESENTACION%20RENDICION%20DE%20CUENTAS%2010D01%20DEFINITIVO.pdf)
- Molina, S., & Kenneth, M. (2009). Aloimmunización Rh: manejo anteparto. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 60(3), 262-273. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcog/v60n3/v60n3a07.pdf>

- Morán, A. (2013). *ADN, genes, cromosomas*. Recuperado de <http://www.dciencia.es/adn-genes-cromosomas/>
- McPherson, R., Pincus, M., & Henry, J. (2011). *Henry's Clinical Diagnosis and Management*. Philadelphia: ELSEVIER SAUNDERS.
- Natukunda, B., Brand, A., & Schonewille, H. (2010). Aloinmunización de glóbulos rojos desde una perspectiva africana. *Current Opinion in Hematology*, 17(6):565-70. doi: 10.1097/MOH.0b013e32833ec54b.
- Ojok, P., Oyet, C., Webbo, F., Nwambi, B., & Taremwa, I. (2017). Prevalence of RhD variants among blood donors at Gulu Regional Blood Bank, Gulu, Northern Uganda. *Journal of Blood Medicine*, 15(8), 151-154. doi:10.2147/JBM.S145550.
- OMS . (2014). *Recomendaciones para la toma segura y manipulación apropiada de muestras potencialmente infecciosas con agentes altamente patógenos*. Organización Mundial de la Salud. Recuperado de <http://www.anlis.gov.ar/inei/wp-content/uploads/2014/09/OPS-2014-toma-segura-muestras.pdf>
- Parra Jaramillo, K., & Chiriboga-Ponce, R. (2016). Frecuencia de subgrupos del antígeno A en donantes voluntarios de sangre . *Gaceta Médica de México*, 154:22-25.
- Prisco, C., Guilhem, J., De Paula, T., De Medeiros, R., Roche, F., & Castilho, L. (2016). RHCE variants inherited with altered RHD alleles in Brazilian blood donors. *Transfusion Medicine*, 26(4), 1-6. doi:doi: 10.1111/tme.12309.
- Reid, M., Lomas-Francis, C., & Olsson, M. (2012). Rh Blood Group System. En M. Reid, C. Lomas-Francis, & M. Olsson, *The Blood Group Antigen FactsBook* (págs. 147-262). Cambridge: Academic Press.
- Rizzo, C., Castiglia, L., Arena, E., Gangi, S., Mazzola, G., Caruso, C., & Vasto, S. (2012). Weak D and partial D: our experience in daily activity. *Blood Transfus* , (2): 235–236. doi: 10.2450/2012.0060-11.
- Rodríguez, A., Hernández, D., & García, J. (2004). Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido. *Revista Haematologica*, 81(1), 31-37.
- Sandler, G., Chen, L., & Flegel, W. (2017). Serological weak D phenotypes: A review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype. *British Journal of Haematology*, 10-19.
- Shastry, S., & Bhat, S. (2010). Imbalance in A2 and A2B phenotype frequency of ABO group in South India. *Blood Transfus*, 8(4): 267–270. doi: 10.2450/2010.0147-09.

- SIISE. (2010). *Etnia/autoidentificación*. Sistema Integrado de Indicadores Sociales del Ecuador. Recuperado de [http://www.siise.gob.ec/siiseweb/PageWebs/glosario/figlo\\_etnlen.htm](http://www.siise.gob.ec/siiseweb/PageWebs/glosario/figlo_etnlen.htm)
- Tobón, D. (2017). *Frecuencia de fenotipos Rh-negativos, Kell positivos y variantes D débiles en los donantes del Banco de Sangre de Cruz Roja Colombiana seccional Antioquia en el periodo comprendido entre enero y junio del 2017*. (Tesis de pregrado). Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Antioquia, Colombia. Recuperado de [http://www.colmayor.edu.co/archivos/254\\_frecuencia\\_de\\_fenotipos\\_rh\\_xjhttp.pdf](http://www.colmayor.edu.co/archivos/254_frecuencia_de_fenotipos_rh_xjhttp.pdf)
- Vásquez, M., Castillo, D., Pavez, Y., Maldonado, M., & Mena, A. (2014). Frecuencia de antígenos del sistema sanguíneo Rh y del sistema Kell en donantes de sangre . *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia* , vol.31 no.2. ISSN 1561-2996.
- Villacis, I. (2015). *“Estrategia de atención integral de salud escolar y perfil epidemiológico de los alumnos de la escuela Manuela Espejo del cantón Ambato 2013 - 2015*. (Tesis de posgrado). Universidad Autónoma de los Andes “UNIANDÉS”. Recuperado de <https://www.uniandes.edu.ec/web/wp-content/uploads/2016/04/Estrategia-de-atenci%C3%B3n-integral-de-salud-escolar-y-perfil-epidemiol%C3%B3gico-.pdf>
- Westhoff, C. (2005a). Review: the Rh blood group D antigen . . . dominant, diverse, and difficult. *Immunohematology* , Volume 21, number 4.
- Westhoff, C. (2007b). The Structure and Function of the Rh antigen Complex. *Seminars in hematology*, 44 (1), 42–50. doi: 10.1053 / j.seminhematol.2006.09.010.
- Yazer, M., Brunker, P., Bakdash, S., Tobian, A., Triulzi, D., Earnest, V., Harris, S., Delaney, M. (2016). Low incidence of D alloimmunization among patients with a serologic weak D phenotype after D+ transfusion. *Transfusion*, 56(10):2502-2509. doi: 10.1111/trf.13725.
- Zacarias, J., De Figueiredo, E., Laguila, J., Soares, G., Cavalcante, F., & Sell, A. (2016a). Frequency of RHD variants in Brazilian blood donors from Parana State, Southern Brazil. *Transfusion and Apheresis Science*, 120-124. doi: <https://doi.org/10.1016/j.transci.2016.04.016>.
- Zacarias, J. M., Volkweis, I., Laguila, J., & Sell, A. M. (2016b). Profile of Rh, Kell, Duffy, Kidd, and Diego Blood Group Systems among Blood Donors in the Southwest region of the Parana state, Southern Brazil. . *Transfusion and Apheresis Science*

## 10. ANEXOS

### Anexo 1: Autorización de la Dirección de Inteligencia en Salud (DINS) del MSP

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA



Coordinación General de Desarrollo Estratégico en Salud  
Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud

Oficio Nro. MSP-DIS-2019-0121-O

Quito, D.M., 01 de abril de 2019

**Asunto:** Respuesta a la solicitud de evaluación del protocolo MSPCURI000292-3: "Prevalencia del fenotipo RH D débil en población Afroecuatoriana que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019".

Señorita  
Nora Alejandra Osorio Gonzalez  
En su Despacho

De mi consideración:

En respuesta al oficio Nro. MSP-DIS-2019-2845-E, ingresado al Ministerio de Salud Pública el 26 de febrero de 2019, en el que las investigadoras Nora Alejandra Osorio González y Jackeline Estefanía Sagasti Avilés, investigadoras principales, remiten el protocolo del estudio observacional denominado: "*Prevalencia del fenotipo RH D débil en población Afroecuatoriana que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019*", codificado por la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud (DIS) como MSPCURI000292-3, cumpliendo los requisitos mínimos para la evaluación del mismo, se **APRUEBA** la versión adjunta del protocolo.

Le recordamos que una vez finalizada la investigación, es responsabilidad del investigador principal enviar a esta Dirección y al Programa Nacional de Sangre los resultados de la misma; así como, las publicaciones que se realicen como producto de este estudio.

La Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud, aprueba los protocolos de los estudios observacionales en el ámbito de sus competencias, en base a una revisión de la calidad metodológica y ética de los estudios. Sin embargo, el contenido, la autoría y la responsabilidad sobre los resultados del estudio corresponden al Patrocinador y al Investigador Principal, exonerando al Ministerio de Salud Pública de cualquier acción legal que se derive por esta causa.

El presente estudio se desarrollará en el Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y Puesto de Salud Chalguayacu, establecimientos de salud del Ministerio de Salud Pública que se encuentran bajo dependencia de la Coordinación Zonal 1, a quien ponemos en conocimiento para los fines pertinentes. Es importante recalcar que de acuerdo a lo indicado en el protocolo de investigación aprobado, los rubros serán asumidos en su totalidad por los investigadores del proyecto.

Cabe mencionar que si bien los resultados podrían contribuir a la salud pública, éstos no

Av. Quitumbe Ñan y Av. Amaru Ñan, Plataforma Gubernamental de Desarrollo Social  
Quito – Ecuador • Código Postal: 170146 • Teléfono: 593 (02) 3814-400 • [www.salud.gob.ec](http://www.salud.gob.ec)

## Anexo 2: Autorización del Distrito 10D01 Ibarra- Pimampiro- San Miguel de Urcuquí

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA



Dirección Distrital 10D01 Ibarra Pimampiro San Miguel De Urcuquí - Salud

Oficio Nro. MSP-CZ1-10D01-2018-0856-O

Ibarra, 28 de agosto de 2018

**Asunto:** RESPUESTA TRABAJO DE TITULACION PREVALENCIA DEL FENOTIPO RH D DEBIL EN POBLACION AFROECUATORIANA EN EL VALLE DEL CHOTA 2019

Doctor  
Santiago Escalante Vanoni  
Coordinador Carrera Bioquímica Clínica  
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA FACULTAD DE MEDICINA  
CARRERA DE BIOQUIMICA CLINICA  
En su Despacho

De mi consideración:  
Reciba un atento y cordial Saludo de parte del Distrito de Salud 10D01

En respuesta al Documento No. DR.SANTIAGOESCALANTEVANONI del 20 de Agosto del 2018. TRABAJO DE TITULACION PREVALENCIA DEL FENOTIPO RH D DEBIL EN POBLACION AFROECUATORIANA EN EL VALLE DEL CHOTA 2019

Se autoriza a las estudiantes, Nora Osorio Gonzáles y Estefanía Sagasti Aviles, de la carrera de Bioquímica Clínica, Facultad de Medicina, de la Pontificia Universidad Católica (PUCE) Quito. realicen su investigación, en las Unidades de Salud: Salinas, Carpuela y Chaguayacu del distrito de salud 10D01.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente



Dr. Harvi Gunther Reascos Paredes  
DIRECTOR DISTRITAL 10D01 IBARRA PIMAMPIRO SAN MIGUEL DE URCUQUI-SALUD

## Anexo 3: Aprobación del Comité de Ética de investigaciones en Seres Humanos-PUCE

Pontificia Universidad  
Católica del Ecuador

Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos



Quito, 20 de febrero de 2019  
Oficio-CEISH-674-2019

Señoritas estudiantes  
Nora Alejandra Osorio González  
Jackeline Estefanía Sagasti Avilés  
Carrera de Bioquímica Clínica de la Facultad de Medicina de la PUCE  
Presente.

Estimadas señoritas:

El Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la PUCE, en sesión del 14.02.2019, estudió el proyecto: **Prevalencia del fenotipo Rh D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019. Código 2018-18-MB.**

Este proyecto fue aprobado inicialmente por el Comité en la sesión del 22.11.2018, oficio CEISH-632-2018.

El Ministerio de Salud Pública solicitó que el CEISH-PUCE aprobara la corrección de ciertos cambios realizados en el estudio, por esta razón, el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la PUCE **APRUEBA DEFINITIVAMENTE** el proyecto en la sesión del 14.02.2019, por el tiempo estimado de duración que es de 8 meses.

Igualmente, con el fin de dar seguimiento, se solicita:

- Presentar la carta de aprobación de la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud.
- Comunicar por escrito al CEISH-PUCE el momento del inicio de la investigación.
- Entregar informe parcial y final cuando sea solicitado por el CEISH-PUCE.

Con nuestra consideración y estima,

Dra. Laura Arcos Terán  
Presidente

Mtr. Yan Arevalo Rico  
Secretario

LAT/yar

Av. 12 de octubre 1076 y Ramón Roca  
Apartado postal 17-01-2184  
Telf.: (593) 2 299 17 00 ext. 2917  
Quito - Ecuador



## Anexo 4: Aprobación del uso de laboratorio, infraestructura y equipo en la carrera de Bioquímica Clínica-PUCE

Pontificia Universidad  
Católica del Ecuador  
Facultad de Medicina  
Carrera de Bioquímica Clínica



Quito, 25 de septiembre de 2018.

Dr. Francisco Javier Pérez Puzmiño  
Decano de la Facultad de Medicina  
Pontificia Universidad Católica del Ecuador  
Presente.-

De nuestra consideración:

Nosotros, Nora Osorio González y Estefanía Sagasti Avilés, estudiantes de la carrera de Bioquímica Clínica de la Facultad de Medicina, por medio de la presente nos permitimos solicitar de la manera más comedida se nos autorice el uso del laboratorio 010 de Inmunología y Banco de Sangre y la centrífuga para geles que se encuentra en dicho laboratorio de la Carrera de Bioquímica Clínica durante los meses de febrero, marzo y abril de 2019; para el desarrollo del proyecto de investigación titulado "Prevalencia del fenotipo Rh D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas y al Puesto de Salud Chalguyacu en el Valle del Chota, 2019".

Agradeciéndole por su atención le anticipo mis agradecimientos

Atentamente,

NORA OSORIO G.

Nora Osorio González  
CC: 1726188038

  
Estefanía Sagasti Avilés  
CC: 0604002493



  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR  
Dr. Francisco Javier Pérez Puzmiño  
25/09/2018

## Anexo 5: Consentimiento y Asentimiento Informado

### PARTE I: CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ADULTOS PARTICIPANTES

**Título de la investigación:** Prevalencia del fenotipo RH D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al puesto de salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019

**Investigadoras principales:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti, Estudiantes de la Carrera de Bioquímica Clínica de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).

**Patrocinador de la investigación:** Francisco Javier Pérez Pazmiño, Decano de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).

**Introducción:** Existen diferentes tipos de sangre en cada persona por lo que es importante conocer cada uno de estos. En este estudio se requiere conocer el tipo de sangre de las personas de su comunidad que quieran participar, con el fin de proporcionar información útil en el caso que exista un embarazo o alguna complicación en su salud, como una operación o un accidente.

**Objetivo de la investigación:** Es conocer si usted tiene un tipo de sangre especial propio de personas afrodescendientes, ya que es heredada a partir de la mamá o el papá.

**Procedimiento:** Usted contestará un cuestionario sobre datos como edad, sexo, grupo étnico y zona natal. Además, se le extraerá sangre una sola vez, a través de un pinchazo en el antebrazo en un tubo pequeño de plástico (aproximadamente una cucharadita) apropiado para la recolección. Las investigadoras asistirán para la toma de la muestra al Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al puesto de salud Chalguayacu, en caso que sea necesario irán a los hogares. Luego, las muestras serán transportadas en recipientes apropiados a la ciudad de Quito a los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. En los laboratorios su sangre será analizada con los respectivos equipos, materiales y sustancias para conocer su tipo de sangre y obtener excelentes resultados. Es importante que usted sepa que una vez terminada la investigación su muestra de sangre será destruida.

**Duración:** La extracción de sangre será de 5 minutos, y también la aplicación del cuestionario será de 5 minutos.

**Participación voluntaria:** Su participación en el estudio es absolutamente voluntaria.

**Confidencialidad:** Toda la información recolectada será usada exclusivamente para este estudio y las muestras de sangre no serán almacenadas para futuras investigaciones. A cada muestra de sangre se le otorgará un código exclusivo para asegurar la confidencialidad.

**Beneficios (individual y social):** Usted no tendrá un beneficio directo ni inmediato. Sin embargo, la investigación beneficiará a usted y a su comunidad en el seguimiento de embarazos y en el caso de recibir sangre.

**Riesgos o molestias:** Es posible que se presente un pequeño dolor al momento de pinchar la piel con la aguja o al momento de retirarla. En caso de producirse un pequeño moretón en el lugar del pinchazo se le indicará las acciones correctivas.

**Costos, incentivos o recompensas:** La participación no tiene costo alguno y tampoco hay incentivos o recompensas para usted.

**Derecho a negarse o retirarse:** En caso de negarse a participar en este estudio, no habrá problema alguno. Usted puede dejar de participar en la investigación en cualquier momento que lo desee, en caso de que se le haya sacado la muestra de sangre, esta no será utilizada en este estudio ni en ningún otro y será destruida inmediatamente. Tampoco existirá alguna penalidad o perjuicio. Agradecemos que nos comunique.

**Manejo de datos y resultados:** De manera clara y oportuna, se entregará el informe de resultados aproximadamente seis meses después de la extracción de la muestra de sangre. Usted podrá acercarse al centro de salud o puesto de salud donde le realizaron la toma de muestra a retirar sus resultados que se entregarán a los coordinadores de cada centro y puesto de salud con su cédula o solo con sus nombres y apellidos, en caso de que haya sido tomada la muestra en su hogar los resultados serán entregados al centro de salud o puesto de salud correspondiente a su zona (Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela o puesto de salud Chalguayacu). Podrá ir a la recepción después del tiempo establecido en los horarios de atención de cada plantel. Una vez que usted reciba su informe de resultados el personal de salud le dará una breve explicación sobre estos.

**A quien contactar:** en caso de tener alguna pregunta acerca de esta investigación por favor contáctese con Nora Osorio Teléf. 0986074098, e-mail: [nora2704oso@gmail.com](mailto:nora2704oso@gmail.com) y Estefanía Sagasti, Teléf.: 0969082765, e-mail: [estefania.sagastiaviles@gmail.com](mailto:estefania.sagastiaviles@gmail.com). En caso de producirse un evento inesperado que requiera de atención médica se puede contactar con el centro de salud o puesto de salud de su localidad: Puesto de Salud Chalguayacu, Teléf.: (06)2673091, Coordinador del puesto de salud: Lucy Mery Rosero Embaquiño, e-mail: [lucyroec@hotmail.com](mailto:lucyroec@hotmail.com); Centro de Salud Salinas Tipo A, Teléf.: (06)2665189, Coordinador del centro de salud: Leyda Jahaira Chiran Rodríguez, e-mail: [jaha.rodriguez@yahoo.es](mailto:jaha.rodriguez@yahoo.es); Centro de Salud Carpuela, Teléf.: (06) 2637336, Coordinador del centro de salud: Irina Nicole Barragán Cisneros, e-mail: [scs.carpuela2017@gmail.com](mailto:scs.carpuela2017@gmail.com)  
Esta propuesta ha sido revisada y aprobada por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos-PUCE cuya tarea es asegurarse de que se proteja de daños a los participantes en la investigación. Si usted desea averiguar más sobre este comité, contáctese con el Secretario del Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la PUCE: Lic. Yan Arévalo Rico. Av. 12 de octubre 1076 y Ramón Roca, Quito. Edificio Administrativo, piso 3, oficina 327. Teléfono: 2991700 – Ext. 2917.

## PARTE II: FIRMA CONSENTIMIENTO INFORMADO DE ADULTOS PARTICIPANTES

Yo \_\_\_\_\_, declaro que he leído/me ha sido leído sobre la investigación “Prevalencia del fenotipo RH D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al puesto de salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019” y he comprendido los detalles claramente explicados y las preguntas que he hecho han sido respondidas satisfactoriamente.

Conozco y comprendo claramente que:

- Contestaré un cuestionario sobre mis datos de edad, sexo, grupo étnico y zona natal.
- La extracción de sangre tendrá una duración de 5 minutos, al igual que la aplicación del cuestionario tendrá una duración de 5 minutos.
- La participación es absolutamente voluntaria.
- La información será confidencial y se usará exclusivamente para este estudio.
- Se llevará un registro sobre los datos que proporcione en esta investigación, como: mi nombre, apellido, edad, sexo, grupo étnico y zona natal.
- En el futuro la comunidad se podrá beneficiar con los resultados obtenidos de la investigación en el seguimiento de embarazos y en el caso de recibir sangre.
- En el caso de alguna molestia o riesgo se me comunicará las acciones correctivas.
- La participación no tiene costo. Tampoco incentivos o recompensas para mí.
- Podré retirarme sin que me perjudique. Si así ocurriera, yo informaré las razones de la decisión.
- Nos informarán sobre los resultados.

Por lo tanto, estoy de acuerdo y autorizo a mi participación en la investigación.

**Nombres y apellidos del participante:** \_\_\_\_\_

**Firma o huella del participante:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_



**Nombres y apellidos del investigador:** \_\_\_\_\_

**Firma o huella del investigador:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_

En caso de que el participante no sepa leer ni escribir se solicita la firma de dos testigos:

**Nombres y apellidos del primer testigo:** \_\_\_\_\_

**Firma del primer testigo:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_

**Nombres y apellidos del segundo testigo:** \_\_\_\_\_

**Firma del segundo testigo:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_

## **PARTE I: CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PADRES DE FAMILIA Y /O REPRESENTANTE LEGAL DE MENORES DE EDAD**

**Título de la investigación:** Prevalencia del fenotipo RH D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al puesto de salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019

**Investigadoras principales:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti, Estudiantes de la Carrera de Bioquímica Clínica de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).

**Patrocinador de la investigación:** Francisco Javier Pérez Pazmiño, Decano de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).

**Introducción:** Existen diferentes tipos de sangre en cada persona por lo que es importante conocer cada uno de estos. En este estudio se requiere conocer el tipo de sangre de las personas de su comunidad que quieran participar, con el fin de proporcionar información útil en el caso que exista un embarazo o alguna complicación en su salud, como una operación o un accidente.

**Objetivo de la investigación:** Es conocer si usted tiene un tipo de sangre especial propio de personas afrodescendientes, ya que es heredada a partir de la mamá o el papá.

**Procedimiento:** Su hijo, hija o representado contestará un cuestionario sobre datos como edad, sexo, grupo étnico y zona natal. Además, se le extraerá sangre una sola vez, a través de un pinchazo en el antebrazo en un tubo pequeño de plástico (aproximadamente una cucharadita) apropiado para la recolección. Las investigadoras asistirán para la toma de la muestra al Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al puesto de salud Chalguayacu, en caso que sea necesario irán a los hogares. Luego, las muestras serán transportadas en recipientes apropiados a la ciudad de Quito a los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. En los laboratorios la muestra de sangre de su hijo, hija o representado será analizada con los respectivos equipos, materiales y sustancias para conocer su tipo de sangre y obtener excelentes resultados. Es importante que usted sepa que una vez terminada la investigación la muestra de sangre será destruida.

**Duración:** La extracción de sangre será de 5 minutos, y también la aplicación del cuestionario será de 5 minutos.

**Participación voluntaria:** La participación de su hijo, hija o representado en el estudio es absolutamente voluntaria.

**Confidencialidad:** Toda la información recolectada de su hijo, hija o representado será usada exclusivamente para este estudio y las muestras de sangre no serán almacenadas para futuras investigaciones. A cada muestra de sangre se le otorgará un código exclusivo para asegurar la confidencialidad.

**Beneficios (individual y social):** Su hijo, hija o representado no tendrá un beneficio directo ni inmediato. Sin embargo, la investigación beneficiará a su hijo, hija o representado y a su comunidad en el seguimiento de embarazos y en el caso de recibir sangre.

**Riesgos o molestias:** Es posible que su hijo, hija o representado presente un pequeño dolor al momento de pinchar la piel con la aguja o al momento de retirarla. En caso de producirse un pequeño moretón en el lugar del pinchazo se le indicará las acciones correctivas.

**Costos, incentivos o recompensas:** La participación no tiene costo alguno y tampoco hay incentivos o recompensas para usted.

**Derecho a negarse o retirarse:** En caso de que su hijo, hija o representado se negará a participar en este estudio, no habrá problema alguno. Su hijo, hija o representado puede dejar de participar en la investigación en cualquier momento que lo desee, en caso de que se le haya sacado la muestra de sangre, esta no será utilizada en este estudio ni en ningún otro y será destruida inmediatamente. Tampoco existirá alguna penalidad o perjuicio. Agradecemos que nos comunique.

**Manejo de datos y resultados:** De manera clara y oportuna, se entregará el informe de resultados de su hijo, hija o representado aproximadamente seis meses después de la extracción de la muestra de sangre. Podrá acercarse al centro de salud o puesto de salud donde le realizaron la toma de muestra a su hijo, hija o representado a retirar sus resultados que se entregaran a los coordinadores de cada centro y puesto de salud con su cédula o solo con sus nombres y apellidos, en caso de que haya sido tomada la muestra en su hogar los resultados serán entregados al centro de salud o puesto de salud correspondiente a su zona (Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela o puesto de salud Chalguayacu). Podrá ir a la recepción después del tiempo establecido en los horarios de atención de cada plantel. Una vez que usted reciba su informe de resultados el personal de salud le dará una breve explicación sobre estos.

**A quien contactar:** en caso de tener alguna pregunta acerca de esta investigación por favor contáctese con Nora Osorio Teléf. 0986074098, e-mail: [nora2704oso@gmail.com](mailto:nora2704oso@gmail.com) y Estefanía Sagasti, Teléf.: 0969082765, e-mail: [estefania.sagastiaviles@gmail.com](mailto:estefania.sagastiaviles@gmail.com). En caso de producirse un evento inesperado que requiera de atención médica nos pondremos en contacto con el centro de salud de su localidad: Puesto de Salud Chalguayacu, Teléf.: (06)2673091, Coordinador del puesto de salud: Lucy Mery Rosero Embaquingo, e-mail: [lucyroec@hotmail.com](mailto:lucyroec@hotmail.com); Centro de Salud Salinas Tipo A, Teléf.: (06)2665189, Coordinador del centro de salud: Leyda Jahaira Chiran Rodríguez, e-mail: [jaha.rodriguez@yahoo.es](mailto:jaha.rodriguez@yahoo.es); Centro de Salud Carpuela, Teléf.: (06) 2637336, Coordinador del centro de salud: Irina Nicole Barragán Cisneros, e-mail: [scs.carpuela2017@gmail.com](mailto:scs.carpuela2017@gmail.com)

Esta propuesta ha sido revisada y aprobada por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos-PUCE cuya tarea es asegurarse de que se proteja de daños a los participantes en la investigación. Si usted desea averiguar más sobre este comité, contáctese con el Secretario del Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la PUCE: Lic. Yan Arévalo Rico. Av. 12 de octubre 1076 y Ramón Roca, Quito. Edificio Administrativo, piso 3, oficina 327. Teléfono: 2991700 – Ext. 2917.

## **PARTE II: FIRMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DE PADRES DE FAMILIA Y /O REPRESENTANTE LEGAL DE MENORES DE EDAD**

Yo \_\_\_\_\_, declaro que he leído/me ha sido leído sobre la investigación “Prevalencia del fenotipo RH D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al puesto de salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019” y he comprendido los detalles claramente explicados y las preguntas que he hecho han sido respondidas satisfactoriamente.

Conozco y comprendo claramente que:

- Mi hijo, hija o representado contestará un cuestionario sobre mis datos de edad, sexo, grupo étnico y zona natal.
- La extracción de sangre tendrá una duración de 5 minutos, al igual que la aplicación del cuestionario tendrá una duración de 5 minutos.
- La participación es absolutamente voluntaria.
- La información será confidencial y se usará exclusivamente para este estudio.
- Se llevará un registro sobre los datos de mi hijo, hija o representado que proporcione en esta investigación, como: el nombre, apellido, edad, sexo, grupo étnico y zona natal.
- En el futuro la comunidad se podrá beneficiar con los resultados obtenidos de la investigación en el seguimiento de embarazos y en el caso de recibir sangre.

- En el caso de alguna molestia o riesgo que presente mi hijo, hija o representado se me comunicará las acciones correctivas.
- La participación no tiene costo. Tampoco incentivos o recompensas para él/ella ni para mí.
- Mi hijo, hija o representado podrá retirarse sin que le perjudique. Si así ocurriera, yo informaré las razones de la decisión.
- Nos informarán sobre los resultados.

Por lo tanto, estoy de acuerdo y autorizo a mi participación en la investigación.

**Nombres y apellidos del padre, madre o representante:** \_\_\_\_\_

**Firma o huella del padre, madre o representante:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_



**Nombres y apellidos del investigador:** \_\_\_\_\_

**Firma o huella del investigador:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_

En caso de que el/la representante legal no sepa leer ni escribir se solicita la firma de dos testigos:

**Nombres y apellidos del primer testigo:** \_\_\_\_\_

**Firma del primer testigo:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_

**Nombres y apellidos del segundo testigo:** \_\_\_\_\_

**Firma del segundo testigo:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_

## PARTE I: ASENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES DE EDAD

**Título de la investigación:** Prevalencia del fenotipo RH D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al puesto de salud Chalguayacu en el Valle del Chota, 2019

**Investigadoras principales:** Nora Osorio y Estefanía Sagasti, Estudiantes de la Carrera de Bioquímica Clínica de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).

**Patrocinador de la investigación:** Francisco Javier Pérez Pazmiño, Decano de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).

**Introducción:** La sangre es un líquido rojo que sale cuando te lastimas tu piel, y existen diferentes tipos de sangre en cada persona. En este estudio queremos conocer tu tipo de sangre y el de las personas de tu comunidad que quieran participar porque es importante para cuando tengas algún accidente.

**¿Cuál es el objetivo de la investigación?:** Conocer tu tipo de sangre.

**¿En qué consiste?:** Primero, contestarás un cuestionario sobre tu edad, sexo, grupo étnico y zona natal. Luego se te sacará una sola vez un poquito de sangre del antebrazo mediante un pinchazo en tu centro médico más cercano (Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al puesto de salud Chalguayacu) o en caso que sea necesario las investigadoras irán a tu casa. Después tu sangre viajara segura a nuestros laboratorios, que están en la ciudad de Quito. Tu sangre será analizada con los respectivos equipos, materiales y sustancias para conocer tu tipo de sangre y obtener excelentes resultados. Es importante que sepas que una vez que se termine este estudio tu muestra de sangre será destruida.

**¿Cuánto dura?:** Nos demoraremos 5 minutos en sacarte la sangre y te demorarás 5 minutos en responder el cuestionario.

**¿Es obligatorio participar?:** Sólo participarás si tú quieres.

**¿Es confidencial?:** Toda la información que nos proporciones será usada exclusivamente para este estudio y nadie conocerá tus datos.

**¿Cuál es el beneficio?:** No tendrás un beneficio al momento de sacarte la sangre, pero después de obtener los resultados del tipo de sangre el centro de salud lo puede usar en el caso que necesites recibir sangre.

**¿Hay riesgos o molestias?:** Puede que sientas un pequeño dolor al momento de pincharte con la aguja o al momento de retirarla, pero en caso de que hubiese un moretón te indicaremos que hacer.

**¿Me costará algo participar? ¿Me darán una recompensa?:** No te costará nada participar y no recibirás recompensas.

**¿Puedo negarme a participar o retirarme?:** Si no quieres participar no hay ningún problema y puedes dejar de participar cuando tú quieras, en caso de que se te haya sacado la muestra de sangre, esta no será utilizada en este estudio ni en ningún otro y será destruida inmediatamente. Tampoco existirá algún castigo o daño. Agradecemos que nos avises.

**¿Me darán los resultados?:** Se te entregará el informe de resultados aproximadamente seis meses después de la extracción de la muestra de sangre. Puedes acercarte al centro de salud o puesto de salud donde te realizaron la toma muestra a retirar tus resultados solo con tu cédula o solo con tus nombres y apellidos. Si te tomaron la muestra en tu casa puedes ir al centro de salud o puesto de salud que este más cercano (Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela o puesto de salud Chalguayacu). Puedes ir a la recepción dentro de los horarios de atención de cada plantel. Una vez que tengas tus exámenes las personas que trabajan ahí te darán una rápida explicación.

**¿A quién contactar?:** Si tienes alguna pregunta sobre esta investigación por favor puedes contactarte con Nora Osorio al Teléf. 0986074098, e-mail: [nora2704oso@gmail.com](mailto:nora2704oso@gmail.com) y con Estefanía Sagasti al Teléf. 0969082765, e-mail: [estefania.sagastiaviles@gmail.com](mailto:estefania.sagastiaviles@gmail.com). En caso de producirse un evento

inesperado que requiera de atención médica nos pondremos en contacto con el centro de salud de tu localidad: Puesto de Salud Chalguyacu, Teléf.: (06)2673091, Coordinador del puesto de salud: Lucy Mery Rosero Embaquingo, e-mail: [lucyroec@hotmail.com](mailto:lucyroec@hotmail.com); Centro de Salud Salinas Tipo A, Teléf.: (06)2665189, Coordinador del centro de salud: Leyda Jahaira Chiran Rodríguez, e-mail: [jaha.rodriguez@yahoo.es](mailto:jaha.rodriguez@yahoo.es); Centro de Salud Carpuela, Teléf.: (06) 2637336, Coordinador del centro de salud: Irina Nicole Barragán Cisneros, e-mail: [scs.carpuela2017@gmail.com](mailto:scs.carpuela2017@gmail.com)

Esta propuesta ha sido revisada y aprobada por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos-PUCE cuya tarea es asegurarse de que se proteja de daños a los participantes en la investigación. Si usted desea averiguar más sobre este comité, contáctese con el Secretario del Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la PUCE: Lic. Yan Arévalo Rico. Av. 12 de octubre 1076 y Ramón Roca, Quito. Edificio Administrativo, piso 3, oficina 327. Teléfono: 2991700 – Ext. 2917.

## PARTE II: FIRMA DE ASENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES DE EDAD

Yo \_\_\_\_\_, declaro que he leído/me ha sido leído sobre la investigación “Prevalencia del fenotipo RH D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de salud tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al puesto de salud Chalguyacu en el Valle del Chota, 2019” y he comprendido los detalles claramente explicados y las preguntas que he hecho han sido respondidas satisfactoriamente.

Conozco y comprendo claramente que:

- Contestaré un cuestionario sobre mis datos de edad, sexo, grupo étnico y zona natal.
- Se demorarán 5 minutos en sacarme la sangre y me demoraré 5 minutos en contestar el cuestionario.
- Sólo participaré si yo quiero.
- La información se usará exclusivamente para este estudio y nadie conocerá mis datos.
- Se anotarán mis datos, como: mi nombre, apellido, edad, sexo, grupo étnico y zona natal.
- En el futuro la comunidad se podrá beneficiar con los resultados de la investigación en el caso de recibir sangre.
- En el caso de alguna molestia o riesgo se me comunicará que hacer para evitarla.
- La participación no tiene costo. Tampoco recompensas para mí.
- Podré retirarme sin ningún problema. Si así ocurriera, yo informaré las razones de la decisión.
- Nos informarán sobre los resultados.

Por lo tanto, estoy de acuerdo y autorizo a mi participación en la investigación.

**Nombres y apellidos del menor de edad:** \_\_\_\_\_

**Firma o huella del menor de edad:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_



**Nombres y apellidos del investigador:** \_\_\_\_\_

**Firma o huella del investigador:** \_\_\_\_\_

**C.I.:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_

## Anexo 7: Cuestionario

Encuesta para el estudio "Prevalencia del fenotipo Rh D débil en población afroecuatoriana que acude al Centro de Salud Tipo A Salinas, Centro de Salud Carpuela y al Puesto de Salud Chaguayacu en el Valle del Chota, 2019"

Se solicita muy comedidamente llenar este cuestionario. Marque con una X sobre la casilla que considere conveniente o escriba la respuesta cuando se solicite. Sus respuestas son confidenciales. Si tiene problemas o dificultades para comprender las preguntas y desea más información puede preguntar a las investigadoras.

Código participante: \_\_\_\_\_

1. Sexo \*

Hombre

Mujer

2. ¿En cuál de los siguientes rangos de edad se encuentra usted? \*

10 - 17 años

18 - 25 años

26 - 33 años

34 - 41 años

42 - 49 años

50 - 57 años

58 - 65 años

3. ¿A cuál grupo étnico considera usted que pertenece? \*

Mestizo

Afroecuatoriano

Montubio

Blanco

Otro: \_\_\_\_\_

4. ¿Usted es nativo de alguna de las siguientes zonas? \*

Parroquia de Salinas

Comunidad de Carpuela

Comunidad de Chaguayacu

Otro: \_\_\_\_\_

## **Anexo 8: Procedimiento estándar de toma de muestra del CLSI**

### **Procedimiento de Toma de Muestra:**

1. Colocarse las correspondientes normas de bioseguridad, tales como: mandil, guantes, mascarilla, gafas de bioseguridad, zapatos cerrados.
2. Identificar al paciente por su nombre y su apellido.
3. Preparar el material para realizar la punción, es decir: aguja capsula, torniquete (goma o tejido con cinta de cierre), tubo con EDTA estéril.
4. Se posiciona al paciente, de manera que se observara el brazo del paciente para localizar la zona de punción tomando en cuenta, la vena cefálica, mediana y basílica del antebrazo.
5. Una vez localizada se tomara en cuenta los criterios de punción de la vena: profundidad, dirección, tamaño y rebote. Luego se colocara los guantes y el torniquete en el brazo del paciente.
6. Limpiar la zona de punción con almohadilla de gasa y alcohol isopropílico al 70% y dejar secar.
7. Introducir la aguja en la vena del paciente formando un ángulo de aproximadamente 15 grados y el bisel hacia arriba.
8. Colocar el tubo seleccionado. Una vez que comienza el flujo sanguíneo se solicitara al paciente que abra la mano y enseguida se retirara el torniquete.
9. Colocar la almohadilla de gasa sobre el sitio de punción.
10. Retirar la aguja y aplicar presión en el sitio hasta que el sangrado se detenga.
11. Identificar la muestra con el correspondiente código asignado a cada paciente.
12. Descartar inmediatamente los materiales utilizados en los correspondientes la aguja utilizada en un cortopunzante.

**Fuente:** (CLSI, 2017)

## Anexo 9: Preparación de la muestra para pruebas inmunohematológicas

### Procedimiento de preparación de la suspensión de glóbulos rojos al 3%:

1. Transferir al menos 1 mL de sangre con anticoagulante en un tubo de vidrio de 5 mL.
2. Lavar los glóbulos rojos con solución salina al 0.85 %, centrifugar 1 minuto a 3000 rpm para sedimentar los glóbulos. Repetir dos o tres veces retirando el sobrenadante cada vez. El sobrenadante final debe quedar limpio y se debe eliminar por completo con una pipeta.
3. Transferir 0.09 mL (90 uL) de los glóbulos rojos lavados a un tubo con 2.9 mL de solución salina al 0.85%, para preparar un volumen final de 3 mL.
4. Cubrir o tapar el tubo con parafilm. Mezclar bien los glóbulos y la solución salina varias veces invirtiendo el tubo.
5. Comparar el tamaño del botón celular provisto por una suspensión de glóbulos rojos al 3%, colocando una gota de la suspensión preparada en un tubo y un volumen similar de una solución comercial de glóbulos rojos reactivos al 3% en otro tubo. Centrifugar ambos tubos por 1 minuto a 3000 rpm.
6. El tamaño de los sedimentos celulares debe ser similar y debe ser interpretado de acuerdo a la siguiente tabla:

Hallazgos observados macroscópicamente	Intensidad
Aglutinato sólido único	4+
Varios aglutinatos grandes	3+
Aglutinatos medianos, fondo límpido	2+
Aglutinatos pequeños, fondo turbio	1+
Aglutinatos muy pequeños, fondo turbio	1+
Aglutinación apenas visible, fondo turbio	+/-
Sin aglutinación	0

Fuente: (AABB, 2012)

### Procedimiento de preparación de una suspensión de glóbulos rojos al 0.8% para tarjetas de gel:

1. Pipetear 1 mL de ID-Diluent 2 en un tubo limpio
2. Añadir 10 uL de sedimento de glóbulos rojos y agitar suavemente.

Fuente: (BIO-RAD, 2014)

## **Anexo 10: Procedimiento para la determinación de factor Rh**

### **Procedimiento para la prueba en tubo con el reactivo Anti-D:**

1. Rotular un tubo como "D" y otro como "control", además del nombre o número del paciente.
2. Añadir al tubo una gota (50 uL) de Anti-D y 1 gota de control en los tubos correspondientes.
3. Añadir 1 gota (50 UI) de la suspensión al 3-5% a cada tubo.
4. Mezclar bien e incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente.
5. Centrifugar durante 20 segundos a 1000 r.p.m.
6. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta y compruebe si existe aglutinación.
7. Una reacción positiva (+ a ++++ de aglutinación) indica la presencia del antígeno RhD. Una reacción negativa (sin aglutinación) indica la ausencia del antígeno RhD.

**Fuente:** (BIO-RAD, 2014)

## **Anexo 11: Procedimiento para determinación de D débil por aglutinación en gel**

### **Prueba de antiglobulina indirecta (PAI):**

1. Rotular los microtubos correspondientes de la tarjeta ID-Card "Coombs Anti-IgG" con el nombre o número del paciente.
2. Retirar la lámina de sellado sólo de los microtubos que se vayan a utilizar manteniendo la tarjeta ID-Card en posición vertical.
3. Pipetear 50 uL de la suspensión de eritrocitos en el microtubo correspondiente.
4. Añadir al microtubo 50 uL de "ID-DiaClon Anti-D" para confirmación de D débil mediante PAI.
5. Incubar la tarjeta ID-Card durante 15 minutos a 37°C en el ID-Incubator.
6. Centrifugar la tarjeta ID-Card durante 10 minutos en la ID-Centrifuge.
7. Leer y registrar los resultados.

**Fuente:** (BIO-RAD, 2013)

## **Anexo 12: Procedimiento para la determinación de los fenotipos de Rh**

### **Procedimiento para la determinación de fenotipos de RH por técnica de aglutinación en gel con la tarjeta Rh-Subgroups+K**

1. Identifique la tarjeta ID-Card con el nombre o número del paciente.
2. Retirar la lámina de sellado en los microtubos que se vayan a utilizar.
3. Añadir 10 o 12,5 µl de la suspensión de eritrocitos a todos los microtubos de la tarjeta ID-Card.
4. Centrifugue la tarjeta ID-Card durante 10 minutos a 1030 rpm.
5. Lea y registre las reacciones.

**Fuente:** (BIO - RAD, 2017)

## **Anexo 13: Procedimiento de control de calidad para determinación de D débil por aglutinación en gel**

### **Preparación de las muestras para control de calidad**

#### **A) Eritrocitos**

1. Tome el vial necesario de eritrocitos reactivo y resuspéndalos cuidadosamente.
2. Transfiera al menos 500 µl a un tubo para centrifuga.
3. Centrifugue el tubo durante 1 minuto a 125 g ó 20 segundos a 1000 g.
4. Decante el sobrenadante.
5. A partir del concentrado de eritrocitos, prepare una suspensión de eritrocitos en ID-Diluent 1 ó 2 dependiendo de la tarjeta ID-Card y del procedimiento a aplicar.

**B) Sueros para control de calidad:** Listos para usar, para pruebas séricas inversas (grupo sérico), para procedimientos de detección e identificación de anticuerpos.

#### **Procedimiento de la prueba**

Utilice las muestras de control de calidad según el mismo procedimiento usado en la rutina para las muestras de paciente.

**Fuente:** (BIO-RAD, 2018)

## Anexo 14: Informe de resultados post-estudio

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR  
CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA  
INMUNOHEMATOLOGÍA – BANCO DE SANGRE – LABORATORIO



Nombres y Apellidos del paciente:			
Ciudad:		Dirección:	
Provincia:		Edad:	
Sector:		Cédula/Pasaporte:	
Teléfono:		Código:	
Fecha/ Hora de la toma de muestra:			
Fecha/ Hora de la toma de entrega:			

### INFORME DE RESULTADOS

Prueba

Resultado

---

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca

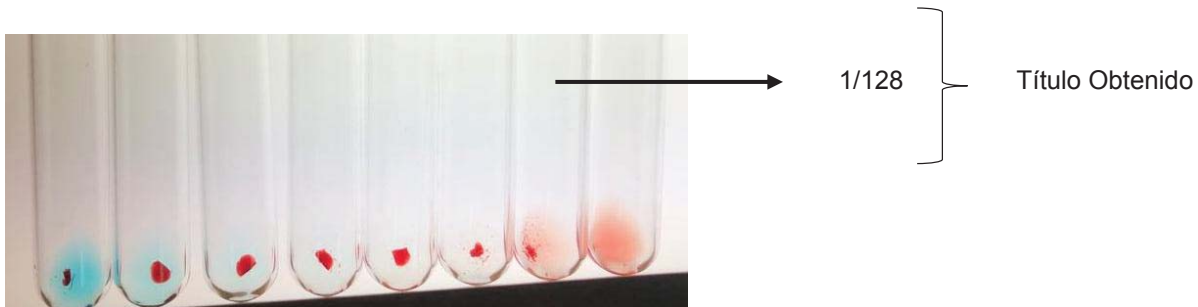
02 299 17 00.

[nosorio005@puce.edu.ec](mailto:nosorio005@puce.edu.ec)  
[JSAGASTI604@puce.edu.ec](mailto:JSAGASTI604@puce.edu.ec)

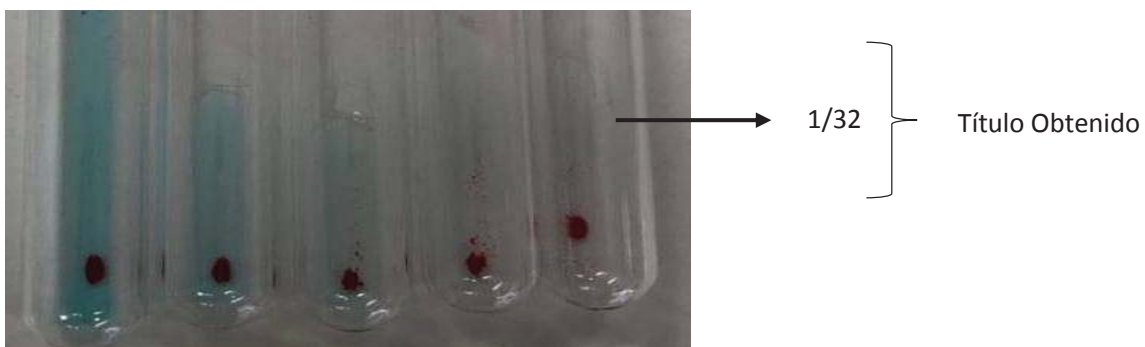
## Anexo 15: Proceso de estudio

### Control de calidad

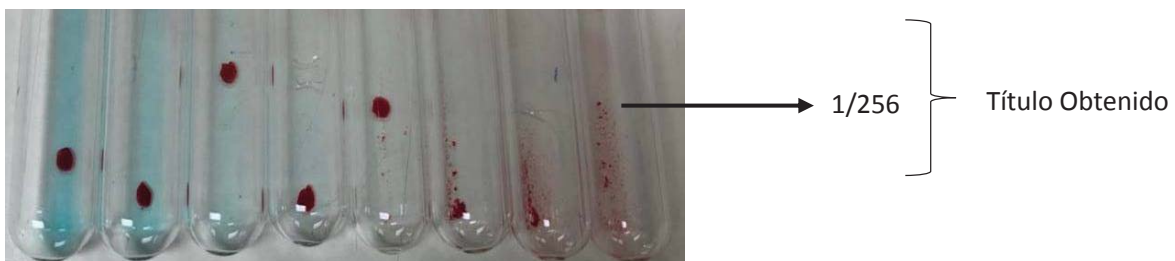
**Gráfico N° 1:** Potencia del Reactivo Anti-A con células A1



**Gráfico N° 2:** Potencia del Reactivo Anti-A con células A2



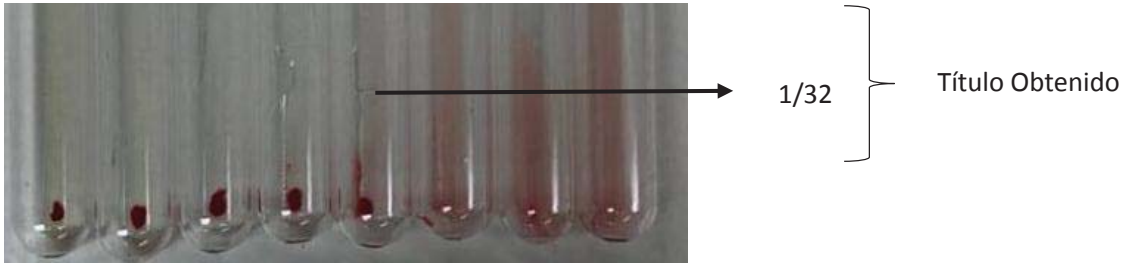
**Gráfico N° 3:** Potencia del Reactivo Anti-A con células AB



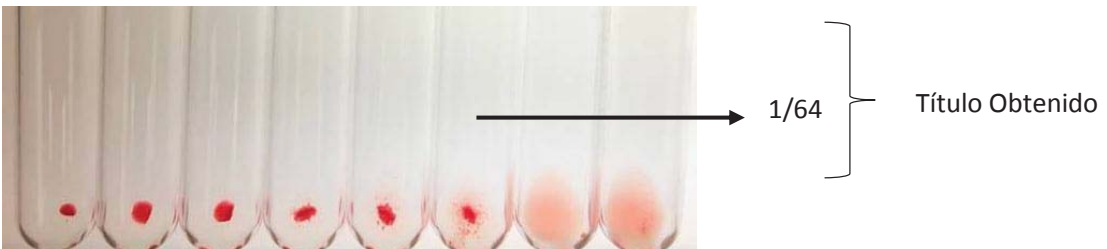
**Gráfico N° 4:** Potencia del Reactivo Anti-B con células B



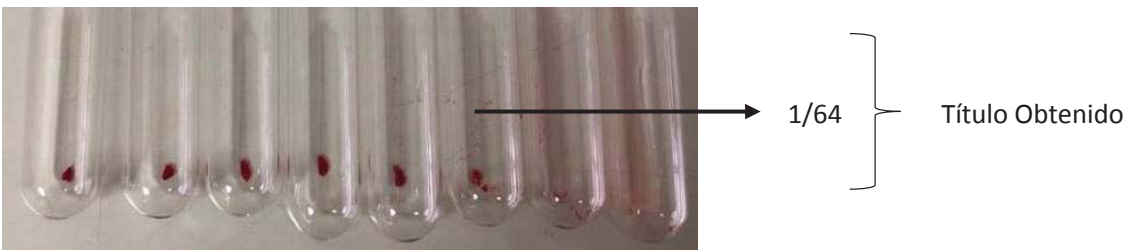
**Gráfico N° 5:** Potencia del Reactivo Anti-B con células AB



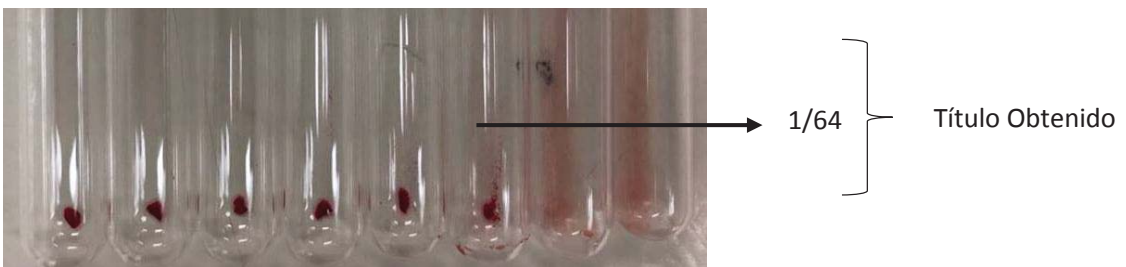
**Gráfico N° 6:** Potencia del Reactivo Anti-AB con células A1



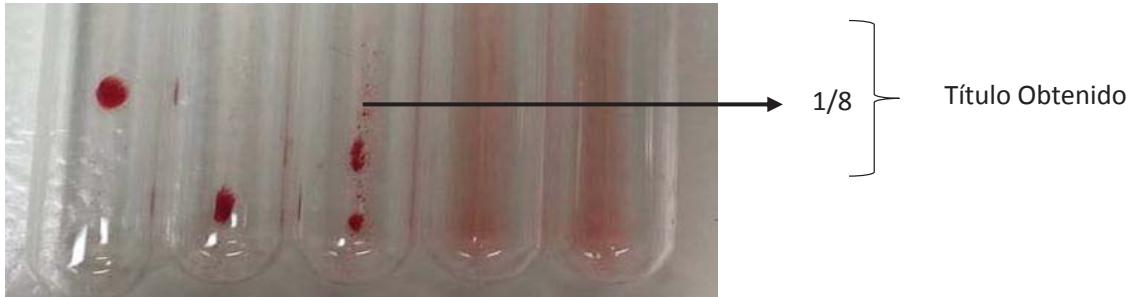
**Gráfico N° 7:** Potencia del Reactivo Anti-AB con células B



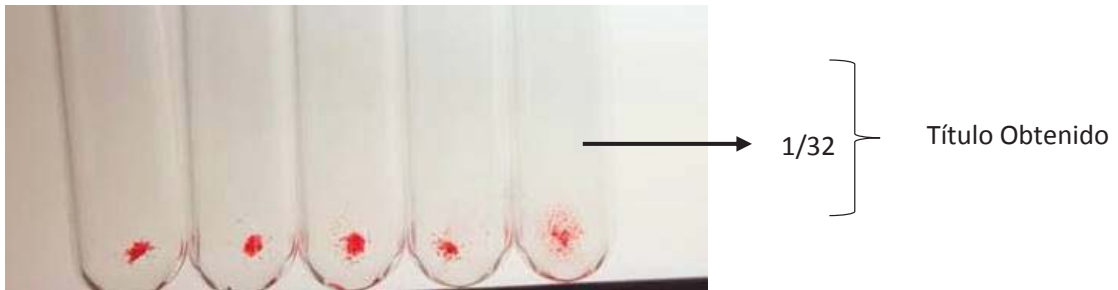
**Gráfico N° 8:** Potencia del Reactivo Anti-AB con células AB



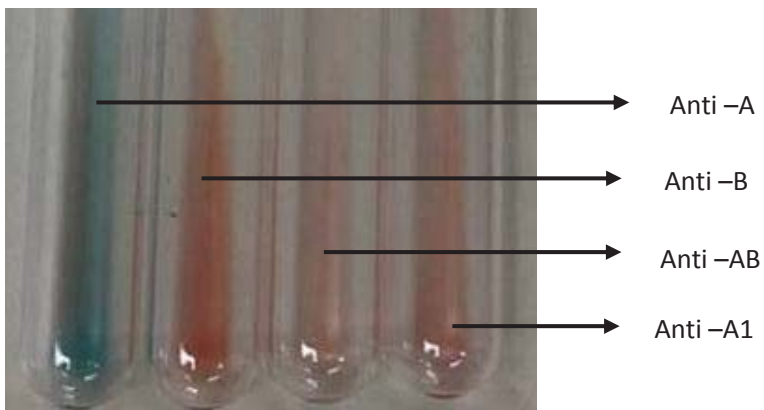
**Gráfico N° 9:** Potencia del Reactivo Anti-A1 con células AB



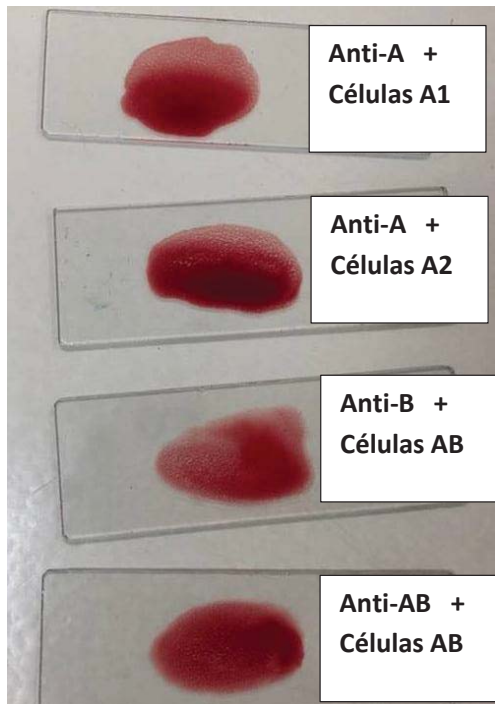
**Gráfico N° 10:** Potencia del Reactivo Anti- D con células positivas



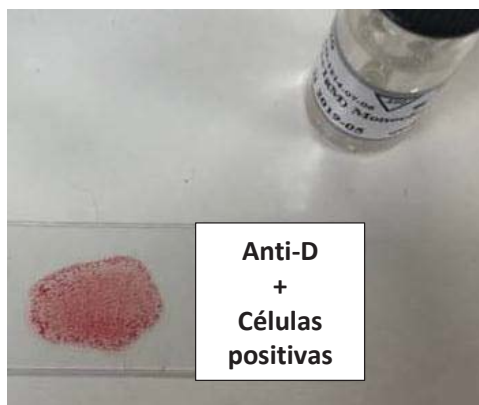
**Gráfico N° 10:** Especificidad de los reactivos Anti- A, Anti-B, Anti-AB y Anti-A1



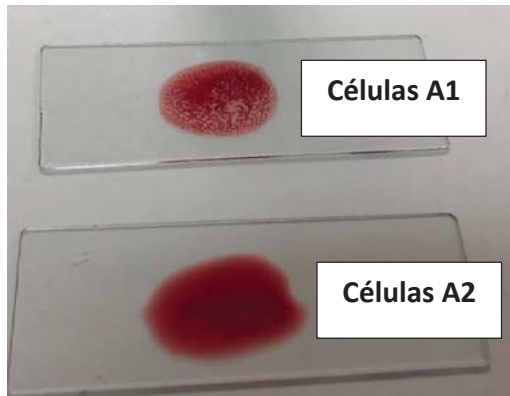
**Gráfico N° 11:** Aidez del reactivo Anti-A, Anti-B y Anti-AB



**Gráfico N° 12:** Aidez del reactivo Anti-D



**Gráfico N° 13:** Aidez del reactivo Anti-D





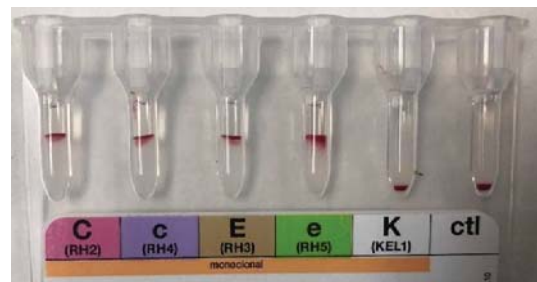
Centro de Salud Chalguyacu Tipo A



Toma de muestra sanguinea



Ánisis del Sistema ABO  
Grupo sanguineo: O Rh D (negativo)



Ánisis del fenotipo Rh  
C+, c+, E+, e+, K-



Cartilla de Interpretación de gel  
Reacción positiva 3+



Ánisis de la variante D  
Presumible de variante DVI reacción positiva 3+



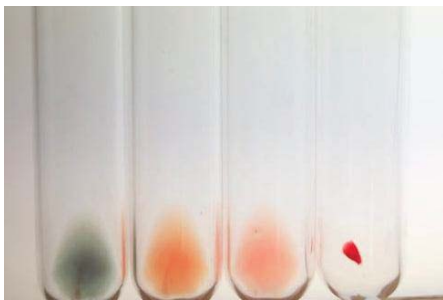
Entrega de resultados



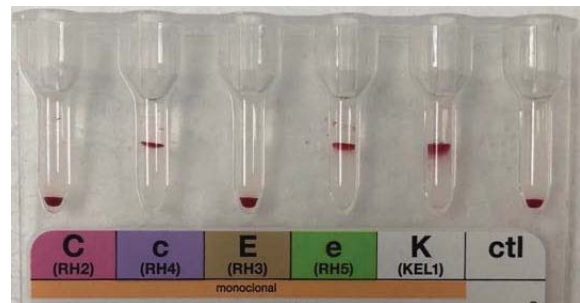
Centro de Salud Carpuela Tipo A



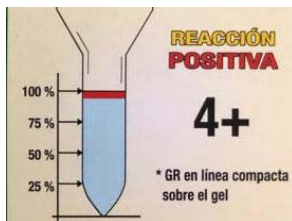
Toma de muestra sanguínea



Análisis del Sistema ABO  
Grupo sanguíneo: O Rh D (positivo)



Análisis del fenotipo Rh  
C-, c+, E-, e+, K+



Cartilla de Interpretación de gel  
Reacción positiva 4+



Análisis de la variante D  
Reacción positiva 4+/ Rh D (positivo) confirmado



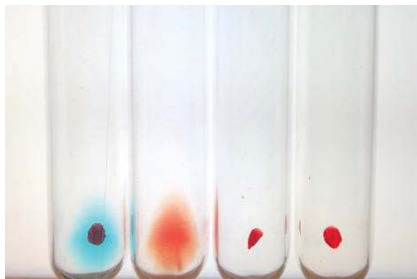
Entrega de resultados



Centro de Salud Tipo A1 Salinas



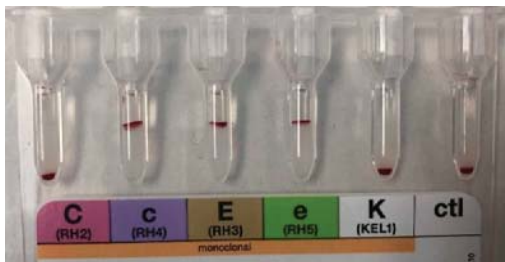
Toma de muestra sanguínea



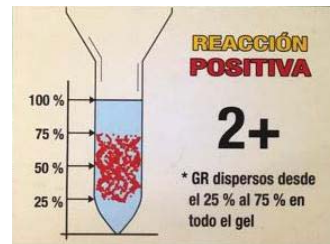
Análisis del Sistema ABO  
Grupo sanguíneo: A Rh D (positivo)



Subgrupo del antígeno A  
Subgrupo de A: A1



Análisis del fenotipo Rh  
C-, c+, E+, e+, K-



Cartilla de Interpretación de gel  
Reacción positiva 2+



Ánalysis de la variante D  
Presumible de variante DVI reacción positiva 2+



Entrega de resultados