

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICA CLÍNICA

DETECCIÓN DEL SISTEMA KELL (K, k, Kp^a, Kp^b) EN DONANTES
DE SANGRE QUE ACUDEN AL HEMOCENTRO DE LA CRUZ ROJA
ECUATORIANA EN LA CIUDAD DE QUITO, DURANTE EL
PERÍODO DE JUNIO-DICIEMBRE, 2014.

Samanta Carolina Granda Hidalgo.

DIRECTORA: Máster Rosa Chiriboga Ponce.

QUITO, 2015

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, SAMANTA CAROLINA GRANDA HIDALGO, C.I. 1716485758; autora del trabajo de graduación intitulado: “DETECCIÓN DEL SISTEMA KELL (K, K, Kp^a, Kp^b) EN DONANTES DE SANGRE, QUE ACUDEN AL HEMOCENTRO DE LA CRUZ ROJA ECUATORIANA, EN LA CIUDAD DE QUITO 2014”, previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Escuela de Bioanálisis:

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.

SAMANTA CAROLINA GRANDA HIDALGO, C.I. 1716485758

DEDICATORIA

A mi hija Samantha Rafaela Rivadeneira Granda, tu eres la razón por la que yo no me rindo, ni me doblego ante nada, tu eres la fuerza que me impulsa a seguir adelante y no detenerme ante ningún obstáculo, todo mi esfuerzo y dedicación son para ti.

A mi mamá que me ayudó a lo largo de toda mi vida con todo lo necesario para alcanzar esta meta, yo sabré corresponder toda la confianza que depositaste en mí.

Samanta Carolina Granda Hidalgo

AGRADECIMIENTO

Al Hemocentro Nacional de la Cruz Roja, al personal, por la colaboración que supieron brindarme, por la ayuda que me proporcionaron y la amabilidad con la que me trataron en todo el tiempo que realicé la parte práctica de mi disertación.

A mi directora de disertación Rosita Chiriboga Ponce que con su dedicación esfuerzo, paciencia, tiempo, su gran ayuda pude lograr completar mi disertación, por exigirme tanto y darme un empujón cuando lo necesitaba, por enriquecerme con los conocimientos necesarios que me han servido mucho en este proyecto, por ser una de las mejores profesoras de la Escuela de Bioanálisis y por ser una amiga en la que puedo confiar.

A mi hija quien le da sentido a mi vida, por quien siempre buscaré ser mejor en todo sentido, para que tenga una madre de quien sentirse orgullosa, tu eres quien me impulsa a seguir y la razón por la que no me daré por vencida.

A mi familia que siempre me apoyo en todas las decisiones que tome y supieron darme consejo cuando lo necesitaba, mi familia que fue el pilar que me mantuvo de pie ante los problemas, quienes me educaron y formaron mi carácter, gracias por todo.

A mis amigos que siempre estuvieron a mi lado, supieron aconsejarme, acompañarme, darme ánimo para seguir adelante, con los que comparto muchos de los mejores momentos de mi vida y ahora quiero que compartan mi éxito.

A mis profesores de quienes aprendí los conocimientos necesarios que me ayudaron a convertirme en una profesional capaz, eficiente, que puede defenderse en el ámbito laboral.

RESUMEN

“Detección del Sistema Kell (K, k, Kp^a, Kp^b) en donantes de sangre, que acuden al Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, en la Ciudad de Quito 2014”.

Introducción: El sistema sanguíneo Kell es el tercero en importancia clínica transfusional por poseer una alta inmunogenicidad, reportándose casos de aloinmunizaciones y desarrollo de anticuerpos del tipo IgG1, que poseen la capacidad de atravesar la placenta ocasionando problemas de enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN), también pueden fijar el complemento provocando reacciones hemolíticas postransfusionales. Además el Sistema Kell es altamente polimórfico por lo que se podrá expresar en la membrana eritrocitaria más de un antígeno; de ahí la importancia de conocer la frecuencia de los principales antígenos (K, k, Kp^a, Kp^b) en la población ecuatoriana para evitar problemas en el caso de una transfusión sanguínea, adicionalmente crear una base de datos que ayude a encontrar con mayor facilidad donantes aptos para personas con antígenos Kell de alta frecuencia. **Materiales y Métodos:** este es un estudio descriptivo transversal, en el cual se analizó la frecuencia con la que se presentan los antígenos del Sistema Kell en la población ecuatoriana utilizando técnica manual de tubo mediante el uso de anticuerpos monoclonales (Anti-K, Anti-k, Anti-Kp^a, Anti-Kp^b) para cada antígeno (K, k, Kp^a, Kp^b) junto con controles positivos de células comerciales, se tipificaron de esta manera a los donantes voluntarios de sangre que acudieron al Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana en el periodo comprendido entre junio y diciembre del año 2014. La recolección de muestras se la realizó mediante un muestreo aleatorio simple obteniéndose un total de 383 muestras provenientes de 16 provincias a nivel nacional con un grado de confianza del 95%. **Resultados:** se identificó un prevalencia de 4,75% del antígeno K, un 94% del antígeno k (Cellano), 3,75% del antígeno Kp^a y un 57,5% del antígeno Kp^b; además se encontró la presencia de un donante al que no se le detectaron los antígenos del sistema Kell presuntivo de Síndrome McLeod; también se pudo establecer la existencia de 11 tipos diferentes de genotipos del sistema Kell distribuidos en las diferentes provincias del país. **Conclusiones y Recomendaciones:** Existe una gran heterogeneidad en la combinación de alelos del sistema Kell en la población ecuatoriana y la posibilidad de la existencia del síndrome de McLeod, adicionalmente se estableció que solo uno de los 383 donantes está aloinmunizado, constituyendo uno de los hallazgos más importante, lo que pone en alerta al Sistema Nacional de Sangre para incluir esta determinación y evitar un aumento en la frecuencia de pacientes aloinmunizados por antígenos del Sistema sanguíneo Kell.

ABSTRACT

"Detection of Kell System (K, k, Kp^a, Kp^b) in blood donors attending to the Blood Center of the Ecuadorian Red Cross, in the City of Quito 2014".

Introduction: The Kell blood system is the third in clinical transfusion important for having a high immunogenicity. It was reporting cases of alloimmunizations and it develop IgG1 antibodies that possessing the ability to cross placenta in order to produced HDNB this antibodies can fix complement causing post-transfusion reactions. Furthermore Kell System is highly polymorphic and more than one antigen may be present in the erythrocyte membrane; so this is the reason of knowing the frequency of principal antigens (K, k, Kp^a, Kp^b) in the Ecuadorian population to avoid problems in a blood transfusion. In addition the importance to create a database to help find donors easier for people who present Kell antigens. **Materials and Methods:** This is a descriptive cross-sectional study in which the frequency of the antigens of the Kell System are presented, using manual tube technique with monoclonal antibodies (Anti-K, Anti-k, Anti-Kp^a, Anti-Kp^b) for each antigen (K, k, Kp^a, Kp^b) we also use a positive controls of commercial cells, were typed in this way to volunteer blood donors attending the National Blood Bank Center of the Ecuadorian Red Cross in the period amount June and December 2014. The sample collection was performed using the simple random sampling, collecting a total of 383 samples from 16 provinces at national level with a confidence level of 95%. **Results:** the study identified 4.75% prevalence of K antigen, 94% of k (Cellano) antigen, 3.75% of Kp^a antigen and 57.5% of Kp^b antigen, also found the prevalence of a donor who doesn't detect antigen of Kell System that presumptive McLeod syndrome. Finally, the study establish the existence of 11 different Kell System phenotypes distributed nationwide. **Conclusions and Recommendations:** There are great heterogeneity in the combination of alleles of the Kell system in the Ecuadorian population and the existence of McLeod syndrome, further established that only one of the 383 donors is alloimmunized, constituting one of the most important result, which alerts the National Blood Bank System to include the determination of Kell System antigens and to avoid an increase in the frequency of alloimmunizations the Kell antigen blood system.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I.....	10
1.1 Justificación	10
1.2 Planteamiento del problema	11
1.3 Objetivos	12
1.3.1 Objetivo general.....	12
1.3.2 Objetivos específicos	12
1.3.3 Limitación del estudio.....	12
CAPÍTULO II	13
2.1 Marco teórico y conceptual	13
2.1.1 Antecedentes	13
2.1.2 Sistemas sanguíneos.....	15
2.1.3 Herencia de los grupos sanguíneos	15
2.1.4 Sistema Kell.....	16
2.1.5 Herencia del Sistema Kell	17
2.1.6 Antígenos del Sistema Kell	17
2.1.7 Anticuerpos del Sistema Kell	20
2.1.8 Frecuencia Génica o Alélica	20
2.1.9 Reacciones transfusionales	22
2.1.9.1 Reacciones transfusionales inmediatas relacionadas al Sistema Kell.....	23
2.1.9.2 Reacciones transfusionales tardías debida a anticuerpos del Sistema Kell	23
2.1.9.3 Reacción hemolítica del recién nacido por isoinmunización de antígenos Kell	24
2.1.10 Métodos de detección para antígenos eritrocitarios del Sistema Kell.....	25
2.1.10.1 Reacción antígeno-anticuerpo en metodología en tubo	25
2.1.10.2 Reacción de aglutinación en metodología gel.....	25
2.1.10.3 Métodos moleculares aplicados en la detección de antígenos eritrocitarios del Sistema Kell.....	26

2.2	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	30
3.1.1.6	Control de Calidad	30
3.1.1.7	Análisis Estadístico	30
3.2	Operacionalización de variables	30
3.2.1	Variable dependiente	30
3.2.2	Variable independiente	30
3.3	Materiales y procesamiento	32
3.3.1	Materiales	32
3.3.2	Reactivos	32
3.3.3	Procedimiento	32
3.3.3.1	Fase Uno	32
3.3.3.2	Fase Dos	33
3.3.3.3	Fase Tres	33
3.3.3.4	Fase Cuatro	33
3.3.3.5	Fase Cinco	34
CAPÍTULO IV		35
4.1	Resultados	35
4.1.1	Descripción de la población de estudio	35
4.1.2	Frecuencia de antígenos del Sistema Kell.	37

4.1.3	Correlación de la presencia de los antígenos Kell con el género, procedencia y edad.....	37
4.1.4	Frecuencia de fenotipos y probables genotipos del Sistema Kell en la población de donantes estudiada	41
4.1.5	Distribución de los fenotipos y probables genotipos de acuerdo a la procedencia	42
4.1.6	Frecuencia alélica del Sistema Kell.....	43
4.1.7	Identificación de anticuerpos presentes en los donantes incluidos en el estudio. .	46
4.2	Discusión	48
4.3	Conclusiones	52
4.4	Recomendaciones.....	53
4.5	Bibliografía.....	54
4.6	Anexos.....	61

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Fenotipos y probables genotipos del Sistema Kell.

Tabla 2: Cruce de alelos (Segregación).

Tabla 4.1: Distribución de la población analizada por provincias.

Tabla 4.2: Frecuencia de antígenos del Sistema Kell de acuerdo al género de los donantes voluntarios de sangre.

Tabla 4.3: Frecuencia de los antígenos del Sistema Kell de acuerdo a la provincia.

Tabla 4.4: Frecuencia de los antígenos del Sistema Kell de acuerdo al grupo etario.

Tabla 4.5: Frecuencia de fenotipos y probables genotipos del Sistema Kell en los donantes analizados.

Tabla 4.6: Frecuencia alélica del Sistema Kell en donantes voluntarios de sangre.

Tabla 4.7: Determinación de la frecuencia génica de los alelos IK, Ik.

Tabla 4.8: Determinación de la frecuencia genotípica de los alelos IKPA, IKPB.

Tabla 4.9: Determinación del tipo de anticuerpos irregulares en donantes voluntarios de sangre.

Tabla 4.10: Valores de validación de anticuerpos monoclonales de los reactivos para determinación de antígenos del Sistema Kell.

Tabla 4.11: Validación de especificidad de anticuerpos monoclonales de los reactivos para determinación de antígenos del Sistema Kell.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Fórmulas para el cálculo de frecuencia alélica.

Gráfico 2: Fórmulas de cálculo de Equilibrio de Hardy Weingberg según Michael Court.

Gráfico 4.1: Distribución de donantes voluntarios de sangre de acuerdo al género por provincias.

Gráfico 4.2: Prevalencia de antígenos del Sistema Kell en donantes voluntarios de sangre.

Gráfico 4.3: Distribución de antígenos Kell de acuerdo al género.

Gráfico 4.4: Distribución de antígenos Kell de acuerdo a la edad.

Gráfico 4.5: Frecuencia de fenotipos y probables genotipos de acuerdo a la provincia.

ANEXOS

ANEXO 1: Consentimiento Informado.

ANEXO 2: Control de Calidad de Antisueros SABO, anti-D y K, k, Kp^a, Kp^b.

ANEXO 3: Ejemplo de muestreo aleatorio simple en Excel con un n=150.

ANEXO 4. Técnica para determinación de antígenos Kell- American Red Cross.

ANEXO 5: Protocolo de Identificación de anticuerpos irregulares.

ANEXO 6: Proceso del Estudio.

LISTA DE SIGLAS

AABB: Asociación Americana de Bancos de Sangre.

Ac: Anticuerpo.

Ag: Antígeno.

C.G.R.: Concentrado de Glóbulos Rojos.

CIEI: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas.

EHRN: Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido.

HDNB: Hemolytic Disease of the NewBorn.

IgG 1: Inmunoglobulina G tipo 1

In (Jk): Inversión del gen JK.

INEC: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos.

ISBT: International Society of Blood Transfusion.

MSP: Ministerio de Salud Pública.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OPS: Organización Panamericana de la Salud.

PCR: Reacción en cadena de la Polimerasa.

SPSS: Statistical Package for the Social Science.

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, el Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana receipta un promedio de 120.000 unidades de sangre donadas por año, proveniente de diferentes provincias del país, esta institución es el mayor proveedor del sistema, cubriendo el 70% de las demandas de hospitales públicos y privados del país. Esta institución ha permitido la elaboración de varias investigaciones una de ellas fue realizada en el año 2012 por Andrea Ulloa quien determinó una prevalencia del 13% de aloanticuerpos del Sistema Kell en donantes de sangre (Ulloa A, 2012), este resultado facilitó la realización del presente estudio.

En el año 1996 se publicó el estudio de Cañizares en el que se identificó al antígeno cellano (k) como el más frecuente en la población de Quito, con una frecuencia del 94,7% (Cañizares C, 1196), sin embargo no existen reportes en el país de los restantes antígenos del Sistema Kell, los cuales también han ocasionado reacciones hemolíticas postransfusionales (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcaraz, & Jill Storry, 2002). Otro aspecto importante es que los antígenos del Sistema Kell son altamente inmunógenos capaces de provocar aloinmunización a los individuos carentes del antígeno correspondientes.

Dentro del desarrollo de aloanticuerpos debe considerarse la dificultad para su detección, debido al bajo título de permanencia del aloanticuerpo, estudios han reportado que los aloanticuerpos pueden desaparecer a los 15 meses después de una transfusión, sin embargo los anti-K pueden permanecer en bajo título hasta 5 años después de la primera inmunización; este hallazgo es indicativo de que se debería realizar una fenotipificación completa antes de donar y recibir C.G.R., pues esto evitará una nueva aloinmunización conduciendo al paciente a una anemia hemolítica aguda (Alves, y otros, 2012).

Varios estudios a nivel mundial mostraron en sus resultados que los antígenos eritrocitarios de mayor frecuencia pertenecen al Sistema Kell son cellano (k) y Kp^b, mientras que los antígenos Kp^a y K (Kell) están presentes pero en menor frecuencia y se puede encontrar individuos con el fenotipo Kell_{null} (Bogui, Dembele, Sekongo, Abisse, & Konaté, 2014) (Alavarado Guzmán & Dubón Medina, 2012) (Agarwal & Thapliyal, 2013).

La meta de este estudio fue la determinación de la frecuencia de todos los antígenos del Sistema Kell en donantes de sangre procedentes del Hemocentro de Cruz Roja, los resultados obtenidos concuerda con los alcanzados en los estudios mencionados anteriormente, en esta investigación se encontró una prevalencia de 4,75% del antígeno

K, un 94% del antígeno k (Cellano), 3,75% del antígeno Kp^a y un 57,5% del antígeno Kp^b; además se encontró la presencia de un donante con Kell_{null} presuntivo de Síndrome McLeod.

La población que participó en este estudio fue de 383 donantes provenientes de 16 provincias del país, lo que permitió conocer la distribución de los antígenos, fenotipos y posibles combinaciones genotípicas en el país. En este estudio también se determinó que únicamente un donante presentó el aloanticuerpo anti-K, este dato establece que aún no existe una aloinmunización en la población, sin embargo puede ocurrir en pacientes con fenotipos K+ ó K_{null}. Todos estos datos permiten concluir que existe una distribución heterogénea de fenotipos del Sistema Kell en la población ecuatoriana que puede provocar una inmunización importante, especialmente en mujeres en edad fértil ocasionando problemas en el embarazo, como la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN).

Ante estos resultados el Sistema Nacional de Sangre debe implementar nuevas estrategias para prevenir problemas postransfusionales y durante el embarazo por incompatibilidad sanguínea. Una de las acciones es permitir la inclusión de nuevas pruebas en bancos de sangre de provincias con mayor distribución de antígenos del Sistema Kell. Realizar un fenotipo “extensivo”; continuar con la investigación de la presencia del Síndrome de McLeod e incluir cálculos matemáticos de frecuencia alélica para el mantenimiento de stock de unidades, esto permitirá establecer el número de C.G.R. que deben estar en reserva para un paciente con fenotipos eritrocitarios raros o poco frecuentes.

CAPÍTULO I

1.1 JUSTIFICACIÓN

El Sistema Kell es considerado el tercero en importancia en la práctica transfusional luego del ABO y Rh por ser un sistema de grupo sanguíneo “altamente polimórfico” se han descrito más de 30 aloantígenos (Ulloa A, 2012) (Canle, 2013) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014), cada uno de ellos posee una alta antigenicidad y están relacionado con la enfermedad hemolítica del recién nacido. También han sido considerados causantes de reacciones postransfusionales tardías por lo que es necesario determinar la presencia de los antígenos del sistema Kell antes de realizar una transfusión sanguínea (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcaraz, & Jill Storry, 2002) (Armijo S, 2010), a pesar de ello, no se ha determinado la frecuencia de todos los fenotipos en la población ecuatoriana, únicamente se realizó el estudio de la prevalencia de los antígenos Kell y Cellano (Cañizares C, 1996).

En el año 2012, en Quito se llevaron a cabo dos investigaciones sobre la presencia de anticuerpos irregulares tanto en donantes voluntarios de sangre como en pacientes multitransfundidos, encontrándose una prevalencia de aloanticuerpos anti-K del 13% y 6% respectivamente (Ulloa A. , 2012) (Checa, 2012), ante estos resultados se recomienda al sistema Nacional de Bancos de Sangre la implementación del denominado fenotipo extensivo que constituye la fenotipificación completa de los antígenos eritrocitarios antes de una transfusión; sin embargo aún no se ha realizado.

De los estudios sobre la prevalencia de los fenotipos eritrocitarios del Sistema Kell se pone de manifiesto la presencia de aloinmunización y reacciones transfusionales, así en Chile se detectaron 26 casos de anemia fetal por isoimmunización con antígenos Kell; (Armijo S., 2010); dentro de la detección de antígenos Kell, la probabilidad de aloinmunización durante el embarazo es frecuente a pesar de que el antígeno Kell es diez veces menos antigénico que el antígeno D (Mollison, 2000) (Padmore, y otros, 2014). Otro motivo por el cual se producen aloinmunizaciones con antígenos Kell es debido a la imposibilidad de encontrar sangre compatible para aquellos pacientes que son Kell negativos.

El impacto de la presencia de anticuerpos del Sistema Kell en la población ecuatoriana es el motivo principal para realizar el estudio de la prevalencia de los cuatro antígenos principales (K, k, Kp^a, Kp^b) y determinar cuál de ellos es el más frecuente.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los estudios de la frecuencia de los antígenos eritrocitarios en Ecuador son escasos, generalmente están dirigidos al sistema ABO y factor Rh (Madrigal Ramos, 2009). En el año de 1996 se realizó un estudio en el Hospital Carlos Andrade Marín en el que se detectó la presencia del antígeno Cellano (k) en el 94,7% de donantes analizados; sin embargo se desconoce la existencia de antígenos Kpa y Kpb (Cañizares C, 1996).

En el año 2012, se determinó la existencia de aloanticuerpos del sistema Kell, en donantes ecuatorianos voluntarios de sangre y pacientes multitransfundidos (Ulloa A, 2012) (Checa, 2012). Además, se estableció una frecuencia del 16% de aloanticuerpos anti-Kpa y anti-Kpb, comúnmente encontrados luego de una reacción postransfusional hemolítica tardía, además son considerados en la literatura como de baja frecuencia (Sánchez-Girón, Quintana-García, Alcaraz, & Jill Storry, 1999). Estos datos muestran la existencia de aloinmunización debida a la presencia de antígenos Kell en la población ecuatoriana lo que repercute en la disponibilidad de sangre carente de este antígeno, por lo que actualmente es indispensable conocer la frecuencia de estos antígenos, lo que permitirá evitar la aloinmunización en pacientes que reciben C.G.R., pues se conoce que estos antígenos son muy inmunógenos y el contacto de antígenos K(+) en una persona con fenotipo K(-) la posibilidad de desarrollar una reacción postransfusional supera el 20% (Checa, 2012). Adicionalmente el aloanticuerpo anti-K es de clase IgG1, es decir que puede atravesar la placenta y causar problemas en el embarazo, además fija el complemento provocando reacciones hemolíticas luego de una transfusión, similar situación ocurre con los anticuerpos anti-Kpb , anti-Kpa y anti-k . (Oliveria & Gatti, 2006) (Pavez Espinoza, 2012) (Miale J, 1995). Para evitar una aloinmunización ya sea en el embarazo o en una transfusión sanguínea se requiere realizar una tipificación “extensiva” es decir que además del grupos ABO y Rh siendo este último el antígeno que ha producido una mayor aloinmunización (Alcaraz-López, Bonilla-Zavala, Luna-González, & Motes-Ledesma, 2007) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014), se debe identificar antígenos que desencadenen respuestas inmunes en este caso y de acuerdo a la información mencionada anteriormente se debería detectar todos los antígenos del Sistema Kell, no únicamente dos de ellos, para establecer una base de datos que permita aquellos pacientes aloinmunizados encontrar un donante compatible.

Pregunta del problema: ¿Cuál es la frecuencia fenotípica de antígenos del Sistema Kell presentes en la población de donantes del Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

Determinar la frecuencia de antígenos del Sistema Kell (K, k, Kp^a, Kp^b) en donantes de sangre, del Hemocentro de la Cruz Roja en la ciudad de Quito, en el periodo comprendido en Junio – Diciembre 2014.

1.3.2 Objetivos específicos

- Establecer la frecuencia de antígenos del Sistema Kell en los donantes del Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana mediante la técnica en tubo durante el periodo junio – diciembre 2014.
- Identificar el tipo de antígeno del Sistema Kell más frecuente en los donantes del Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana mediante técnica en tubo durante el periodo junio – diciembre 2014.
- Relacionar la frecuencia de cada tipo de antígeno del Sistema Kell con el género, procedencia y edad de los donantes voluntarios de sangre que acuden al Hemocentro de Cruz Roja.
- Determinar los posibles genotipos del Sistema Kell en donantes voluntarios de sangre del Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana.
- Establecer la frecuencia alélica del Sistema Kell en la población de donantes voluntarios de sangre incluidos en el estudio.
- Identificar la presencia de anticuerpos irregulares del Sistema Kell en donantes que fueron positivos para algún antígeno del Sistema Kell mediante determinación en gel para constatar aloinmunización previa.

1.3.3 Limitación del estudio

Una de las principales limitaciones del estudio constituye el acceso a todos los reactivos para técnica manual por problemas de importación en el país debido a las normativas impuestas, y el costo que significará realizar el estudio con el sistema gel.

CAPÍTULO II

2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1.1 Antecedentes

El Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana es el único existente en el país, se inauguró en el año 2009 y sus instalaciones cuentan con maquinaria especializada para todos los procedimientos que se realizan en un banco de sangre tales como serología, tipificación, separación de componentes sanguíneos, incluyendo la donación por aféresis. El principal objetivo del Hemocentro es garantizar la seguridad y calidad de cada componente sanguíneo en caso de que sea necesario. (Cruz Roja Ecuatoriana, 2012)

Al Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana de la ciudad de Quito y sus unidades móviles anualmente llegan un promedio de 90.000 a 120.000 unidades de sangre, las mismas que son transportadas a las instalaciones para su análisis pertinente. (Cruz Roja Ecuatoriana, 2012), dentro de los análisis se encuentran la tipificación directa e inversa de cada unidad sanguínea, sin embargo debido a la falta de acceso a reactivos no se realiza un fenotipo extensivo, únicamente se identifican los antígenos de los sistemas ABO, Rh, y un antígeno del Sistema Kell (K).

Se han reportado varios estudios acerca de la presencia tanto de antígenos como de anticuerpos pertenecientes al Sistema Kell, en poblaciones latinoamericanas, estas investigaciones se han realizado debido a la presencia de reacciones postransfusionales sin causa aparente, descubriéndose posteriormente que se debe a los aloanticuerpos del Sistema Kell (Alcaraz-López, Bonilla-Zavala, Luna-González, & Motes-Ledesma, 2007) (Padmore, y otros, 2014).

Uno de los primeros estudios publicados acerca de la presencia de fenotipos del Sistema Kell se realizó en Costa Rica en 1999, donde se encontró que la prevalencia es alta para el genotipo (K-k+) con 96% de la población estudiada, (Rafael Marín Rojas R. L., 1999) mostrando la dificultad de encontrar sangre compatible para las personas carentes de este antígeno. Otro estudio realizado en Guatemala, obtuvo una prevalencia de 2,4% para el antígeno K en donantes voluntarios que acudieron al Hospital General de San Juan, durante los años 2011 a 2012, sin embargo no se pudo establecer la prevalencia

fenotípica de los restantes antígenos del sistema constituyendo una limitante de este estudio. (Alavarado Guzmán & Dubón Medina, 2012).

El autor Bogui en el año 2014, enfatiza la necesidad de determinar la prevalencia de los antígenos del Sistema Kell debido al poder inmunógeno que presenta este sistema, especialmente por producir reacciones hemolíticas tardías; esta investigación estableció la presencia del antígeno cellano (k) en un 98,92%, y del Kp^b en un 99,8%, datos relevantes para la implementación de la fenotipificación del Sistema Kell en esta población africana (Bogui, Dembele, Sekongo, Abisse, & Konaté, 2014).

En la investigación realizada por Makroo, en el 2013 se identificó al antígeno cellano (k) como el de mayor prevalencia en aproximadamente el 99,97% de los donantes estudiados, detectándose únicamente un donante con fenotipo k (negativo), concluyendo que la determinación de la frecuencia de antígenos eritrocitarios del Sistema Kell evitará la aloinmunización en personas carentes del antígeno; en este caso el donante portador de cellano (k) tiene una probabilidad del 100% de ser inmunizado (Makroo, Bhatia, & Gupta, 2013). De igual manera Agarwal, estableció que el antígeno cellano (k) es el de mayor prevalencia en los donantes de sangre (Agarwal & Thapliyal, 2013)

Por otro lado se han reportado 26 casos de anemia fetal causadas por isoimmunización anti-Kell en Chile en el año 2010 (Onica Armijo S., 2010); México reportó un caso de reacción postransfusional tardía en un paciente multitransfundidos, al que no se le detectó la presencia del anticuerpo anti-Kp^b y la pruebas de compatibilidad dieron un resultado falso negativo. (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcaraz, & Jill Storry, 2002) Estas investigaciones demuestran la necesidad del estudio completo tanto de los antígenos como aloanticuerpos del Sistema Kell.

En el año de 1996, en Ecuador, se realizó un estudio en el Hospital Carlos Andrade Marín en el que se detectó la presencia del antígeno cellano (k) en el 94,7% de donantes, demostrándose la alta frecuencia de este antígeno (Cañizáres C, 1996), a pesar de ello no se han realizado estudios al respecto y por esta razón existe aloinmunización como lo demuestran estudios posteriores; así en el año 2012, se detectó una prevalencia de anti-K del 13% en donantes y 6% en pacientes (Ulloa, 2012) (Checa, 2012); además, se estableció la frecuencia del 16% de los aloanticuerpos anti-Kp^a y anti-Kp^b comúnmente encontrados luego de una reacción postransfusional hemolítica tardía (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcaraz, & Jill Storry, 2002).

Generalmente los anticuerpos Kp^a se desarrollan después de una transfusión sanguínea o durante el embarazo, dos estudios recientes han determinado la presencia de anti-Kp^a en un 3 a 4,7% de pacientes que requieren de constantes transfusiones sanguíneas (Padmore, y otros, 2014). Esto demuestra la urgente necesidad de conocer la verdadera frecuencia de estos antígenos que permitan una orientación a los bancos de sangre para realizar una adecuada planificación en los cálculos de stock de C.G.R.

2.1.2 Sistemas sanguíneos

Se han descrito más de 600 antígenos eritrocitarios hasta el momento, clasificados en tres categorías principales:

- 32 *sistemas* que se relacionan entre sí por estar codificados por el mismo gen.
- *Colecciones de antígenos* relacionados únicamente por sus propiedades bioquímicas o serológicas, pero no genéticamente.
- *Series* que no han podido ser clasificadas en sistemas o colecciones por lo que se las dividió en series de antígenos de alta frecuencia (901 series) y baja frecuencia (700 series), creados en el año 1980 por la International Society of Blood Transfusion (ISBT).

2.1.3 Herencia de los grupos sanguíneos

Los antígenos sanguíneos en general son codificados por un gen específico, es decir, que si el individuo presenta el gen, el antígeno eritrocitario va a ser expresado en la membrana del glóbulo rojo (Geoff, 2013) (Buevas Cortés, Muñoz-Díaz, & León de González, 2014). Los antígenos eritrocitarios se heredan siguiendo las leyes de Mendel, al existir genes dominantes, codominantes y recesivos se van a dar un sin número de fenotipos y genotipos de cada sistema sanguíneo (Race, 2010) (Geoff, 2013).

Por ejemplo en el sistema ABO mediante la “ley de segregación independiente” de Mendel, los pares alélicos se separan, así: una madre homocigota AA y un padre homocigoto OO van a transmitir cada uno a sus hijos, un alelo y tener hijos de genotipos heterocigoto AO (Buevas Cortés, Muñoz-Díaz, & León de González, 2014) (American Association of Blood Banks, 2012).

Otra ley de Mendel es la “ley de recombinación independiente” esta determina que los alelos que aportan diferentes caracteres se heredan de forma independiente, así por ejemplo el alelo JKA del sistema KIDD que codifica el antígeno JK^a, no ejerce ninguna influencia en la herencia del alelo JKB, que codifica el antígeno Jk^b, por lo que un individuo puede presentar un fenotipo en codominancia Jk(a+b+), es decir que se expresan los dos alelos (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Las investigaciones genéticas y moleculares han permitido analizar la interacción entre genes, este conocimiento a nivel de Inmunohematología, ha facilitado el entendimiento de la expresión de los antígenos en los glóbulos rojos, la que puede deberse a alelos que codifican diferentes proteínas o son transportados en un mismo cromosoma en posición *cis* (*unión*) o *trans* (*repulsión*) fenómeno que es común en la herencia del sistema Rh (American Association of Blood Banks, 2012) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

También existen genes inhibidores o supresores que afectan la expresión de otros genes, por ejemplo el fenotipo raro JK(a-b-) resultado de una supresión del antígeno KIDD por In(Jk) y por último la presencia de un alelo silente o nulo que portan mutaciones que impiden la expresión del antígeno en la superficie del eritrocito, otro ejemplo es el fenotipo del Rhnull. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Adicionalmente dentro de la herencia mendeliana, los grupos sanguíneos siguen un patrón relacionado con la herencia autosómica dominante, codominante y recesiva ligada al sexo por ejemplo la herencia del sistema Xg^a. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

2.1.4 Sistema Kell

El Sistema Kell es un conjunto de glicoproteínas transmembranales de tipo II que poseen actividad endopeptidasa dependiente de zinc, el Sistema sanguíneo Kell es altamente polimórfico por lo que se podrá expresar en la membrana eritrocitaria más de un antígeno perteneciente a este sistema (Sean R. Stowell, 2013), hasta el momento se han reportado 35 antígenos pertenecientes al Sistema Kell, numerados del 1 al 38, de los cuales tres han quedado obsoletos y no poseen significancia clínica (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

2.1.5 Herencia del Sistema Kell

Cada individuo posee dos alelos procedentes de cada uno de sus progenitores, por ejemplo en el caso del Sistema Kell, el locus KELL posee dos alelos denominado KEL1 y KEL2 y dependiendo del alelo heredado de cada progenitor, el individuo puede heredar uno de ellos dando como resultado un efecto denominado de doble dosis para KK+ o poseer alelos diferentes en este caso K+k+. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014) (Alavarado Guzmán & Dubón Medina, 2012).

Por lo tanto, la presencia o ausencia de los antígenos sobre los eritrocitos determina el fenotipo que posee un individuo, así cuando los hematíes de una persona reaccionan con los anticuerpos comerciales anti-K y anti-k, anti-Kp^a, anti-Kp^b, se puede inferir que existe la presencia de los alelos K (KEL1), k (KEL2), Kp^a (KEL 3 o KPA), Kp^b (KEL 4 o KPB) y de esta manera se puede determinar un posible genotipo. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

También se ha determinado que existen dos antígenos “antitéticos” en el sistema Kell, estos son codificados por alelos de un mismo locus, y son: Kp^a y Kp^b, la cantidad de antígeno expresada en los eritrocitos depende de la condición de homocigoto o heterocigoto del individuo, así los que presentan Kp(a+b-) presentan una doble dosis de antígeno Kp^a y aquellos que fueron detectados como Kp(a+ b+) son heterocigotos con una dosis única y tendrán una menor cantidad de antígeno Kp^a que los homocigotos (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014) (Geoff, 2013).

La herencia del Sistema Kell también se encuentra relacionada a la herencia recesiva ligada al sexo, así las variantes alélicas del gen XK dan origen a glóbulos rojos con el fenotipo denominado McLeod, estos poseen una expresión disminuida de antígenos del Sistema Kell, siendo común en hombres, y casi imposible encontrar mujeres homocigotas debido a que está ligado a la herencia del cromosoma X, para su expresión en mujeres se necesitaría que la madre sea portadora y el padre afectado del fenotipo McLeod, suceso similar al que ocurre en hemofilia padecimiento que se produce por herencia ligada al cromosoma X (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

2.1.6 Antígenos del Sistema Kell

El primer antígeno en ser descubierto fue el K, en un caso de enfermedad hemolítica del recién nacido el cual era positivo para este antígeno y la madre poseía los anticuerpos

anti-K, a este se lo llamo Kell por Coombs, Murant y Race en 1946, tres años después Levine y sus colaboradores descubrieron el segundo antígeno perteneciente al sistema Kell al cual se le denomino Cellano (k) (Oliveria & Gatti, 2006).

En 1957 se identificaron los antígenos Kp^a y Kp^b descubiertos por Allen y Lewis, un año después en 1958 se descubrió la presencia del antígeno Js^a y en 1963 el Js^b enriqueciendo el número de antígenos de este sistema; estos 6 antígenos son los principales y más prevalentes de este sistema, los demás son de baja frecuencia. (Rafael Marín Rojas R. L., 1999) (Ulloa, 2012) (Geoff, 2013).

Se ha determinado que estos antígenos son muy inmunógenos debido que al contacto de antígenos K (+) en una persona con fenotipo K (-) la posibilidad de desarrollar una reacción postransfusional supera el 20% (Checa, 2012)

El gen codificador para el Sistema Kell se encuentra situado en el brazo largo del cromosoma 7 q32-q36, codifica una proteína glicocilada que puede variar, originando los diferentes antígenos Kell y sus combinaciones. (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcaraz, & Jill Storry, 2002) (Canle, 2013) (Tabla N°1)

Tabla N°1. Fenotipos y probables genotipos del Sistema Kell

FENOTIPO/ PROBABLE GENOTIPO	SISTEMA KELL	
	FRECUENCIA	
	BLANCOS	NEGROS
K-k+	91	97
K+k+	9	4
K+k-	0.2	<0.1
Kp(a+b-)	<0.1	0
Kp(a+b+)	2.3	Raro
Kp(a-b+)	98	100
Js(a+b-)	0	1
Js(a+b+)	Raro	19
Js(a-b+)	100	80

Fuente: Canle Oscar, 2013

También se ha detectado los fenotipos Kell nulo el cual es negativo tanto para K, k; además se describió el fenotipo McLeod, en el que se expresan los antígenos, pero en una forma débil, este fenómeno está muy relacionado con la enfermedad granulomatosa crónica, en la cual los granulocitos pueden fagocitar pero no destruir a los agentes extraños. (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcaraz, & Jill Storry, 2002). El síndrome de

McLeod está ligado al cromosoma X y se expresa casi exclusivamente en hombres y está relacionado a la presencia de acantocitosis, problemas musculares, y síndromes neurológicos, este síndrome está relacionado con el fenotipo McLeod (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Al igual que los otros sistemas eritrocitarios la expresión del Sistema Kell está deprimida y se debe a varias causas como:

- a) El alelo que codifica al antígeno Kp^a produce en ocasiones una expresión débil de los otros antígenos.
- b) La presencia de fenotipo K_{null} que provoca la expresión débil de los antígenos del sistema Kell
- c) Los síndromes de McLeod y el granulomatoso crónico ligados al cromosoma X, esto debido a que la producción de los antígenos Kell están ligados a genes pertenecientes al locus XK del cromosoma X (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

En relación a la producción de aloanticuerpos estos pueden contribuir al desarrollo de anemia aplásica en un paciente, porque al expresarse la proteína Kell en las primeras etapas de la maduración eritroide, esta se alterará provocando así la patología (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014). El estudio de la prevalencia de los antígenos del Sistema Kell ha tomado importancia en los últimos años, debido a la presencia de una mayor cantidad de problemas transfusionales y enfermedad hemolítica del recién nacido (Padmore, y otros, 2014).

Se estableció que el antígeno Kell es clínicamente significativo, demostrándose su capacidad antigénica en el estudio realizado por Stowell en un modelo animal, donde se observó que la producción de aloanticuerpos (anti-Kell) fue inmediata y se caracterizó por su capacidad de atravesar la placenta unirse a los glóbulos fetales circulantes y a los precursores localizados en el hígado del feto produciendo la muerte uterina o el nacimiento de crías muertas. A nivel humano, los anticuerpos anti-Kell tienen la capacidad de hemolizar a los glóbulos rojos portadores del fenotipo K(+), por lo que fue reconocido como el tercer sistema sanguíneo de significancia clínica luego de ABO y Rh (Stowell, y otros, 2013).

2.1.7 Anticuerpos del Sistema Kell

Dentro del sistema Kell, el aloanticuerpo anti-K es el más común y generalmente es de clase IgG1, ocasionalmente fija el complemento, los restantes aloanticuerpos son poco comunes como el anti-k; anti-Kpb y anti-Jsb; el problema surge cuando se necesita sangre carente de los antígenos correspondientes, por esta razón es necesario realizar una fenotipificación a la población (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Se ha establecido que la proteína Kell se presenta en etapas tempranas de la maduración de los eritrocitos. Al formarse los anticuerpos anti-K pueden provocar anemia aplásica por inhibición de la eritropoyesis (Muñiz Dias, 2010) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Estos anticuerpos son de clase IgG y fijan complemento por lo que pueden atravesar la placenta y provocar anemia hemolítica del recién nacido; los anticuerpos anti-Kp^a, anti-k y anti-Js^b son los principales causantes de reacciones hemolíticas postransfusionales. (Muñiz Dias, 2010) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Los individuos que presentan el fenotipo K0 producen un anticuerpo anti-Ku cuando se sensibilizan producen la hemólisis de todos los eritrocitos transfundidos, excepto los de su mismo grupo (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014) (Muñiz Dias, 2010). Las personas que presentan el síndrome McLeod y enfermedad granulomatosa crónica, al ser inmunizados producen un anticuerpo anti-Kx y anti-Km lo que impide encontrar una sangre compatible, por lo que se debe valorar muy cuidadosamente el transfundir a personas con estas patologías (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014) (Muñiz Dias, 2010).

2.1.8 Frecuencia Génica o Alélica

Se conoce como frecuencia alélica a la proporción de un determinado alelo entre las copias del gen en la población; si dos copias de un mismo alelo están presentes en un individuo, se le considera homocigoto, mientras que los heterocigotos tienen una sola copia de cada alelo. Luego de la unión de dos progenitores heterocigotos y siguiendo la ley de segregación de Mendel se obtendrá la siguiente descendencia (Pierce, 2009) (Tabla N°2).

Tabla N°2. Cruce de alelos (segregación)

♀ \ ♂	p A	q a
p A	p ² AA	pq Aa
q a	pq Aa	q ² aa

A: alelo dominante
a: alelo recesivo
AA: alelos homocigotos dominantes
aa: alelos homocigotos recesivos
Aa: alelos heterocigotos
p: frecuencia del alelo A
q: frecuencia del alelo a
p²: frecuencia de los alelos AA homocigotos dominantes
q²: frecuencia de alelos aa homocigotos recesivos
pq: frecuencia de alelos Aa heterocigotos

$$p^2 + 2pq + q^2$$

Fuente: Pierce, 2009

Por lo tanto, la frecuencia alélica para el alelo A es p²+pq, en cambio del alelo a es 2pq+q², por lo tanto el conjunto genético de una población puede describirse a través de las frecuencias alélicas. Se considera que la variación genética es un indicativo para que exista evolución (Pierce, 2009).

Una de las formas de establecer la composición genética de una población y como está cambia a través del tiempo es especificar los genotipos posibles de un determinado carácter, en el caso específico en el sistema Kell, presenta los alelos K y k por lo que existe la probabilidad de tres genotipos posibles KK, kk, Kk (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Sin embargo, en los sistemas de grupos sanguíneos existe la presencia de loci con alelos múltiples, para determinar la frecuencia de estos se cuenta el número de copias de un alelo sumando el doble del número de homocigotos al número de heterocigotos que posee el alelo, y el producto se divide por el doble del número de individuos incluidos en la muestra, así por ejemplo: para un locus con tres alelos A¹, A², A³ y seis genotipos A¹A¹, A¹A², A²A², A¹A³, A²A³ y A³A³ las frecuencias (p, q, r) de los alelos son (Pierce, 2009).

$$p = f(A^1) = \frac{2n_{A^1A^1} + n_{A^1A^2} + n_{A^1A^3}}{2N}$$

$$q = f(A^2) = \frac{2n_{A^2A^2} + n_{A^1A^2} + n_{A^2A^3}}{2N}$$

$$r = f(A^3) = \frac{2n_{A^3A^3} + n_{A^1A^3} + n_{A^2A^3}}{2N}$$

Fuente: Pierce, 2009

La aplicación de estas fórmulas permite determinar la frecuencia alélica existente en la población estudiada, el cálculo de las frecuencias en banco de sangre constituye un apoyo en la determinación del porcentaje de aloinmunización que puede presentarse en la población, así también permite predecir el número de concentrados de glóbulos rojos que se necesitaría examinar antes de transfundir a un individuo carente de un determinado antígeno (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Frecuencia Fenotípica es definida como el número de personas que expresan una cualidad fenotípica sobre el total de personas incluidas en un estudio, es decir son las características que se observan a través de reacciones antígeno-anticuerpo.

Ley de Hardy-Weinberg, esta ley se refiere a un equilibrio genético, este puede ser calculado mediante la aplicación de fórmulas matemáticas cuyos resultados describen como un alelo puede mantenerse constante a través del tiempo en una población numerosa de individuos. También permite estimar la frecuencia con la que determinados alelos y genotipos deberían aparecer en una población.

El fundamento primordial de esta ley es que la herencia mendeliana no genera cambios y que la suma de las frecuencias alélicas y genotípicas para un locus determinado es igual a 1. En banco de sangre este conocimiento se utiliza para determinar la probabilidad de encontrar sangre compatible para pacientes multitransfundidos que han desarrollado aloanticuerpos contra antígenos eritrocitarios de alta prevalencia.

2.1.9 Reacciones transfusionales

La transfusión sanguínea es una de las técnicas terapéuticas más utilizadas en el caso de que un paciente presente un pérdida excesiva de sangre (>2000ml o >40%), pero este tratamiento conlleva un riesgo muy elevado si no se tipifican de una forma correcta los componentes sanguíneos, entre los problemas más comunes que se presentan son una reacción transfusional o la enfermedad hemolítica del recién nacido. (Luna-González, 2007).

2.1.9.1 Reacciones transfusionales inmediatas relacionadas al Sistema Kell

Este tipo de reacciones se caracterizan por presentarse de forma inmediata generalmente antes de las 24 horas luego de la transfusión, siendo la principal causa de muerte postransfusional, la más común es la hemólisis intravascular o extravascular donde se produce la liberación de la hemoglobina provocando trastornos vasculares, fallo renal e incluso si no es tratada a tiempo puede producir la muerte del paciente, en el caso del Sistema Kell se han reportado casos de hemólisis intravascular en pacientes Kell negativo transfundidos con unidades Kell positivas, provocando el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica provocando el síntoma más característicos que es la fiebre por la liberación exagerada de citocinas e interleucinas al torrente sanguíneo, se produce también coagulación intravascular diseminada, fallo renal agudo y por último la muerte del paciente.(Luna-González, 2007) (Alavarado Guzmán & Dubón Medina, 2012).

2.1.9.2 Reacciones transfusionales tardías debida a anticuerpos del Sistema Kell

Las reacciones transfusionales tardías se presentan después de las 24 horas de una transfusión sanguínea, debida a la formación de aloanticuerpos luego de la exposición a un antígeno desconocido, en un primer contacto hay la posibilidad de no presentar ningún síntoma, pero al ocurrir un segundo contacto se presentarán problemas graves o reacciones inmediatas, esto debido a la memoria inmunológica creada y las células de defensa (macrófagos, neutrófilos) atacaran a los eritrocitos transfundidos (Buevas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Esto ocurrió y el reporte fue publicado como un “caso clínico” de un hombre que acudió a una cirugía ortopédica en la cual se transfundieron 3 paquetes globulares, 14 días después regreso con fiebre y malestar general, después de realizarle varios exámenes se estableció que el paciente tenía anticuerpos anti-Kp^b y estos fueron los que provocaron las reacciones tardías (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcaraz, & Jill Storry, 2002). Uno de los problemas en la aloinmunización por el sistema Kell, es el manejo transfusional de pacientes con anticuerpos anti-k, esto es sumamente difícil, debido a la elevada prevalencia antigénica reportada en varios países (Makroo, Bhatia, & Gupta, 2013) (Bogui, Dembele, Sekongo, Abisse, & Konaté, 2014).

2.1.9.3 Reacción hemolítica del recién nacido por isoimmunización de antígenos Kell

Los estudios realizados en varios países sobre la enfermedad hemolítica del recién nacido ocasionada por antígenos diferentes al sistema Rh, pone de manifiesto la aloimmunización por el sistema Kell, así en Chile se detectaron 26 casos de anemia fetal por isoimmunización con antígenos Kell; (Onica Armijo S., 2010); dentro de la detección de estos antígenos, la posibilidad de aloimmunización durante el embarazo es frecuente a pesar de que el antígeno Kell es diez veces menos antigénico que el D (Mollison, 2000). El aloanticuerpo anti-K es de clase IgG1 es decir que puede atravesar la placenta y causar problemas en el embarazo, similar situación ocurre con los anticuerpos anti-Kp^b, anti-Kp^a y k. (Oliveria & Gatti, 2006) (Pavez Espinoza, 2012) (Geoff, 2013).

Actualmente, se han reportado varios casos de enfermedad hemolítica por anticuerpos Kell y se afirma que esta va en aumento, sin embargo las causas no se conocen. Los investigadores aseguran la existencia de al menos 8 antígenos diferentes asociados al Sistema Kell y causantes de la enfermedad hemolítica del recién nacido (Akdağ, Erdeve, Ömer, Uraş, Şimşek, & Dilmen, 2012).

El estudio realizado por Akdag detectó que de 459 embarazos; 20 fetos fueron afectados y presentaron hidropesía, 3 sufrieron muerte intrauterina y 1 durante el periodo neonatal, todo ocasionado por madres portadoras de un aloanticuerpo anti-K1 (Akdağ, Erdeve, Ömer, Uraş, Şimşek, & Dilmen, 2012). El autor Mackenna en el año 1999 determinó ya la existencia de una enfermedad hemolítica del recién nacido al estudiar 156 embarazos de los cuales 134 mujeres presentaron un anticuerpo anti-K1, 8 niños sufrieron de una anemia hemolítica severa, 6 de los cuales fueron sometidos a transfusión intrauterina, 3 murieron aún en el útero y 13 lactantes presentaron una enfermedad hemolítica leve (Akdağ, Erdeve, Ömer, Uraş, Şimşek, & Dilmen, 2012).

Estos datos establecen la importancia del Sistema Kell como causante de una reacción hemolítica en el recién nacido. A pesar de que los estudios se han centrado en el sistema Rh, actualmente esta visión está empezando a cambiar a través de las investigaciones realizadas.

2.1.10 Métodos de detección para antígenos eritrocitarios del Sistema Kell

Existen varios métodos para la identificación de antígenos y anticuerpos eritrocitarios, entre las principales se encuentran las reacciones antígeno anticuerpo tanto en placa como en tubo, las reacciones por aglutinación en gel, determinación de anticuerpos mediante paneles de células conocidas, métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa, entre los más representativos. Los más usados en la actualidad son las reacciones de hemoaglutinación en tubo y aglutinación en gel (American Association of Blood Banks, 2012) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

2.1.10.1 Reacción antígeno-anticuerpo en metodología en tubo

En el caso del Sistema Kell las reacciones antígeno anticuerpo se dan al exponer sangre entera (placa) o glóbulos rojos (tubo) contra el suero que contiene los anticuerpos policlonales o monoclonales del Sistema Kell, si se encuentran los antígenos en la superficie del eritrocito, los anticuerpos se pegaran fuertemente a ellos provocando aglutinación, lo que será reconocido como una reacción positiva indicando la presencia del antígeno que se está analizando. (Hernández, 2001) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

2.1.10.2 Reacción de aglutinación en metodología gel

Para la técnica en gel se usa el mismo fundamento de reacción entre antígenos y anticuerpos, solo que en este caso los anticuerpos conocidos van a encontrarse atrapados a lo largo del gel, si existe aglutinación, los glóbulos rojos se quedaran encima del gel y si no existe aglutinación los glóbulos rojos migrarán al fondo del gel, dando así un resultado positivo en caso de que los glóbulos se queden atrapados a lo largo del gel y será negativo si los glóbulos logran migrar hasta el fondo del gel. (Hernández, 2001).

Existen dos cassettes con la capacidad de analizar los antígenos del sistema Kell y pertenecen a la casa comercial Grifols, estos son los DG Gel® ABO/Rh+Kell y el DG Gel® Rh + Kell capaces de proporcionar información. (Reactivos DG gel, 2014).

2.1.10.3 Métodos moleculares aplicados en la detección de antígenos eritrocitarios del Sistema Kell

Como se mencionado anteriormente el gen que codifica la proteína Kell se encuentra en el brazo largo del cromosoma 7, por lo tanto se pueden utilizar técnicas moleculares para la detección de los diferentes antígenos del Sistema Kell, es así como se han llegado a encontrar los 35 antígenos pertenecientes a este sistema (Geoff, 2013) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

El método más utilizado es la reacción en cadena de la polimerasa, al utilizar los primers necesarios para la detección de cada uno de los antígenos; los primers se pueden encontrar fácilmente en la bibliotecas virtuales como en Pubmed, siendo un método relativamente fácil de usar; pero el problema con este método es la adquisición de los primer y además la utilización de equipo especializado que generara un costo extra para la realización de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, además todas las herramientas que se necesitan para la identificación de cada antígeno. Por lo que es recomendable se use técnicas más sencillas. (Mota, 2011)

2.2 MARCO CONCEPTUAL

Antígeno: sustancia ajena al organismo capaz de provocar una reacción inmune. (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2012)

Anticuerpo: glucoproteínas especializadas de la clase inmunoglobulina, son los más representativos de la inmunidad adaptativa y se unirán a los antígenos para su mejor reconocimiento y eliminación. (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2012)

Alelo: son las posibles formas o variantes de un gen que van a proporcionar una característica a un organismo, se encuentran dos alelos para cada gen, los alelos pueden ser dominantes, codominantes o recesivos. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)

Aloantígenos: son antígenos homólogos, que al entrar en un organismo extraño van a provocar la formación de anticuerpos. (American Association of Blood Banks, 2012)

Aloanticuerpo: es el anticuerpo que se crea a partir de la exposición a un antígeno de un individuo de la misma especie. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)

Anticuerpos policlonales: anticuerpos que no son muy específicos y pueden reaccionar ante uno o más epítopes. (American Association of Blood Banks, 2012)

Anticuerpos monoclonales: estos anticuerpos se van a unir solamente a los antígenos específicos que provocaron su formación. (American Association of Blood Banks, 2012)

Aglutinación: es la agregación de células producida por una reacción antígeno-anticuerpo. (American Association of Blood Banks, 2012)

Alelo dominante: un alelo dominante es el que tiene la capacidad de expresar su característica genética, aunque el otro alelo de su gen posea una característica diferente. (Geoff, 2013)

Alelo Recesivo: las características de los alelos recesivos solo se expresaran en individuos homocigotos recesivos, esto se debe a que las características de este alelo pueden ser enmascaradas por un alelo dominante. (Geoff, 2013)

Codominante: es cuando en un individuo heterocigoto se van a presentar las características de sus dos alelos, al mismo tiempo. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)

Fenotipo: característica visible que se expresa en la morfología de un individuo u organismo, está directamente relacionada con el medio ambiente y la genética. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)

Frecuencia: es el número de veces que se repite un acto, un evento o una característica que se desea medir (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)

Fagocitar: es la función primordial que desempeñan los macrófagos y neutrófilos mediante endocitosis, el uso de vacuolas fagolisosómicas que eliminarán al inmunógeno. (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2012)

Gen: es una secuencia de nucleótidos que cuenta con la información necesaria para producir una macromolécula, es conocido como la unidad de la herencia, ya que la información que posea un gen será transmitido a la descendencia, ocupan un lugar a nivel cromosomal conocido como locus. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)

Genotipo: son el conjunto de genes heredados de forma mendeliana que posee un individuo (Passarge, 2010)

Granulocitos: también conocidos como células polimorfonucleares, son las células especializadas en inmunidad. (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2012)

Homocigoto: que los dos alelos que puede poseer un gen son idénticos (Geoff, 2013)

Hemólisis: ruptura o destrucción de los glóbulos rojos, es la causa de error más común en el análisis de muestras. (Grande, 2012)

Inmunógeno: sustancias o moléculas extrañas con la capacidad de generar una respuesta inmune en un individuo, la respuesta dependerá de cada individuo y de la naturaleza del agente extraño. (American Association of Blood Banks, 2012)

Polimorfismo: son las diferentes formas en las que se puede expresar una característica fenotípica. (Passarge, 2010)

Heterocigoto: que para un mismo gen dos alelos que posee van a ser diferentes (Geoff, 2013)

Herencia: es el proceso por el cual la información genética es transmitida a nuestra descendencia, esta información se presentara en el individuo como características fisiológicas, morfológicas, o bioquímicas. (Geoff, 2013)

CAPÍTULO III

3.1 MARCO METODOLÓGICO

3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1.1 Tipo de Estudio: Es un descriptivo transversal, ya que este se realizó de Junio a Diciembre del año 2014 y se describió a cuatro de los principales antígenos que componen el Sistema Kell, no se realizó ninguna modificación en las variables y estas se miden una sola vez.

3.1.1.2 Tipo de Muestreo: Se realizó un muestreo aleatorio simple.

3.1.1.3 Tamaño de Muestra: Se utilizó la fórmula de población finita ya que se conoce que al Hemocentro acuden un total de 120000 donantes anuales y al no existir datos actualizados de la prevalencia de los antígenos Kp^a y Kp^b del sistema Kell, se considerará una probabilidad de 0,5 para p y q, con nivel de confianza del 95% y un error alfa del 5%.

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

$$n = \frac{120.000 * 1,96^2 * 0,50 * 0,50}{0,05^2 * (120.000 - 1) + 1,96^2 * 0,50 * 0,50}$$

$$n = \frac{115247,99}{300,9579}$$

$$n = 383$$

Dónde:

N=tamaño de la población

$Z(\alpha-1)^2$ = Nivel de confianza

n= tamaño de la muestra

p= proporción esperada

q= 1-p

d= precisión del estudio 0.05

Decisión: De los cálculos realizados se determinó una muestra de 383 donantes por cada uno de los antígenos del Sistema Kell y determinación de aloinmunización, es decir un total de 1532 tipificaciones.

3.1.1.4 Criterios de Inclusión: Todos los donantes de sangre que han cumplido con los criterios de aceptación de la Organización Panamericana de la Salud.

3.1.1.5 Criterios de Exclusión: Todos los donantes de sangre que no han sido aceptados por no cumplir con los criterios de aceptación de la Organización Mundial de la Salud.

3.1.1.6 Control de Calidad: Se realizó el control de calidad sugerido por la Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012 para la determinación de antígenos a través de anticuerpos comerciales monoclonales más células comerciales (Vitro) incluidas en el panel. (Anexo 2)

Se tomó todas las precauciones durante las fases pre-analítica y post-analítica para evitar errores y confusiones en el reporte de resultados, así en la fase pre-analítica se realizó un doble chequeo de los códigos de cada paquete globular elegido antes de realizar las diluciones, se llevó un registro en cuaderno numerado y en la post-analítica se mantuvo un doble registro tanto físico como electrónico.

3.1.1.7 Análisis Estadístico: Los datos se analizaron a través del programa estadístico SPSS V0.20 y se aplicó una estadística descriptiva que permitirá presentar los análisis mediante tablas representativas de frecuencias, porcentajes, para la correlación entre variables independientes se utilizará la prueba del Chi cuadrado.

3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.2.1 Variable dependiente: Frecuencia de antígenos eritrocitarios del Sistema Kell (K, k, Kp^a, Kp^b).

3.2.2 Variable independiente: Donantes voluntarios, edad, género, procedencia, alelos, anticuerpos irregulares, grupo SABO.

TABLA 2: OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	INDICADORES	INSTRUMENTO DE MEDIDA
Prevalencia de antígenos K, k, Kp ^a , Kp ^b	Los antígenos del sistema Kell son proteínas glicosiladas que se encuentran unidas a la membrana de los eritrocitos, son de gran importancia clínica. (Geoff, 2013)	Cuantitativo.	<ul style="list-style-type: none"> - Frecuencia de antígeno K/ total de donantes. - Frecuencia de antígeno k/total de donantes. - Frecuencia de antígeno Kp^a/total de donantes. - Frecuencia de antígeno Kp^b/total de donantes. 	Aglutinación en tubo con sueros específicos, en el que se observara la presencia o ausencia de aglutinación con anticuerpos Anti-K, Anti-k, Anti-Kp ^a , Anti-Kp ^b .
VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	INDICADORES	INTRUMENTOS DE MEDICIÓN
Edad	Tiempo de vida de un individuo hasta el momento, calculado en años.	Años cumplidos clasificados en grupos etarios de acuerdo INEC.	<ul style="list-style-type: none"> - Total donantes entre las edades de 17 – 27 años/ Total donantes -Total donantes entre las edades de 28 – 38 años/ Total donantes -Total donantes entre las edades de 39 – 49 años/ Total donantes -- -Total donantes entre las edades de 50 – 60 años/ Total donantes -Total donantes entre las edades de 61 – 71 años/ Total donantes 	Formularios de registro de los donantes
Género	Características físicas que diferencian entre hombre y mujer	Hombre Mujer	Porcentaje de Mujeres Porcentaje de Hombres	Formularios de registro de los donantes
Procedencia	Lugar de origen de la persona donante	Provincia	Total de donantes por provincias / Total donantes que acuden al Hemocentro nacional	Formularios de registro de los donantes
Alelos	Formas alternativas de un gen	Heterocigoto Homocigoto	<ul style="list-style-type: none"> -Frecuencia Alélica heterocigoto -Frecuencia Alélica homocigoto 	Aglutinación en tubo con el respectivo reactivo.
Anticuerpos irregulares	Son anticuerpos que se forman luego del contacto con sangre incompatible	Positivo/Negativo sistema Kell	Frecuencia y tipo de aloanticuerpos/ Total de donantes analizados	Reacciones de aglutinación en tubo con células panel
Grupo SABO	Grupo sanguíneo del sistema ABO con el que se clasifica a las personas como grupo O, A, B o AB de acuerdo a la presencia o ausencia del antígeno en la membrana de los eritrocitos.	Aglutinación Ausencia de aglutinación	Frecuencia de donantes de grupo O,A,B,AB/ total de donantes incluidos en el estudio	Reacciones de aglutinación en tubo con los antisueros: Anti-A; Anti-B.

3.3 MATERIALES Y PROCESAMIENTO

3.3.1 Materiales

- ✓ Tubos de vidrio 12 x 75cm
- ✓ Pipetas pasteur
- ✓ Pipetas automáticas de 10-50µl
- ✓ Serófuga de tubos marca Clay Adams.
- ✓ Tijeras
- ✓ Lámpara de lectura
- ✓ Lupa para lectura.

3.3.2 Reactivos

- ✓ Antisueros Anti-Kell, Anti-k(Cellano), Anti-Kp^a, Anti-Kp^b (American Red Cross) (American Red Cross, Washington, DC, 20006 US License 190).
- ✓ Antisueros Anti-A, Anti-B monoclonales (Weiner, Disp N° 1076/89 Anti-A; Disp N° 1073/89 Anti-B; Disp N° 1071/89 Anti-AB)
- ✓ Solución de LISS: Solución de baja fuerza iónica (LISS), es una solución que contiene 0,003 M de cloruro de sodio en un tampón fosfato 0,003 M de fosfato dibásico de sodio y fosfato monobásico de sodio y 0,2 M de glicina, de pH 6,7 a 22 ± 1 °C. (c.a., 2014).

3.3.3 Procedimiento: Este estudio se realizó en cinco fases detalladas a continuación:

3.3.3.1 Fase Uno

Consentimiento informado: todos los donantes firman un consentimiento informado para el uso de su sangre y para la realización de las pruebas necesarias antes de su uso, además no se tendrá contacto directo con el donante, las muestras son obtenidas de las bolsas de sangre elegidas al azar. Texto del consentimiento informado menciona: *“Yo..... declaro que la información confidencial que he proporcionado es verdadera y en caso contrario, asumo toda la responsabilidad. Además autorizo a que se realicen los exámenes necesarios, incluyendo HIV para el uso de mi sangre...”* (Anexo 1)

Autorización de las autoridades: el Hemocentro de Cruz Roja mantiene una cooperación interinstitucional con el Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas por lo que se pueden realizar estudios en esta institución.

3.3.3.2 Fase Dos

Periodo de toma de muestras: para la elección de las muestras se aplicó el muestreo aleatorio simple mediante el cálculo en Excel aplicando la fórmula $(=1+\text{ENTERO}(\$B\$2*\text{ALEATORIO}(\)))$ (Arias, 2006) (Anexo 3). En base a los datos obtenidos se eligieron los paquetes globulares por el número de ingreso de acuerdo al día y/o semana.

3.3.3.3 Fase Tres

Recolección de muestras: una vez elegidos los paquetes globulares se obtuvo un fragmento de la manguera previamente rodillada, aquellas que presentaron micro coágulos fueron eliminados del estudio.

Rotulación: se mantuvo un registro en un cuaderno de laboratorio con páginas numeradas, en el que consta el código del paquete globular, antes de colocar la muestra de sangre en el tubo de recolección se realizó un doble chequeo del número.

Preparación de la dilución: se siguió el protocolo de AABB, 2012 para la preparación de una suspensión de eritrocitos en solución de LISS al 3%. (30ul de sangre + 1ml de solución).

3.3.3.4 Fase Cuatro

Control de Calidad: se realizó el control de avidéz, afinidad, potencia y especificidad de cada uno de los antisueros comerciales utilizados en este estudio, siguiendo el protocolo del Anexo 2 (AABB, 2012).

Realización del test: Tanto para tipificación sanguínea del grupo ABO como para la detección de los antígenos del sistema Kell, se siguieron las instrucciones de los insertos adjuntos a los reactivos ver Anexo 4.

Cuidados del proceso: Rotulación adecuada, centrifugación de 1 minuto a 1.500 revoluciones por minuto, lectura inmediata frente a una lámpara y lupa de lectura.

Identificación de aloanticuerpos: se siguió el protocolo descrito en los reactivos comerciales de Bitros: *Test cell reagents for the ID-System* (Anexo 6).

3.3.3.5 Fase Cinco

Creación de la base de datos: Se realizó un registro en Excel en el que constan los siguientes datos: código, edad, sexo, procedencia, resultados, grupo sanguíneo SABO, factor Rh, Kell, cellano, Kp^a, Kp^b, y anticuerpos irregulares, todo codificado para el análisis en SPSS. Se determinará los posibles genotipos de acuerdo al fenotipo detectado, seguidamente se calculará la frecuencia alélica mediante fórmulas (Gráfico N°1):

Gráfico N°1: Fórmulas para el cálculo de frecuencia alélica

$$p^2 + pq + q^2$$

$$p = f(A^1) = \frac{2n_{A^1 A^1} + n_{A^1 A^2} + n_{A^1 A^3}}{2N}$$

$$q = f(A^2) = \frac{2n_{A^2 A^2} + n_{A^1 A^2} + n_{A^2 A^3}}{2N}$$

$$r = f(A^3) = \frac{2n_{A^3 A^3} + n_{A^1 A^3} + n_{A^2 A^3}}{2N}$$

Fuente: Pierce, 2009

También se realizará el cálculo del equilibrio de Hardy-Weinberg mediante Michael H-Court 2005-2008. (Gráfico N°2)

Gráfico N°2. Fórmulas de cálculo del Equilibrio de Hardy Weingberg (EHW)

Frecuencia están en equilibrio de Hardy-Weinberg		
Genotipos	Observado #	Esperado#
Homocigoto		
Heterocigoto:		
Homocigoto variante:		
Frecuencia alélica variación:		
$X^2 =$ $X^2 \text{ prueba } P \text{ valor} =$		
		con un grado de libertad.
1. Si $P < 0.05$ - no es consistente con EHW 2. No es preciso si existe <5 individuos en algún grupo		

Fuente: Michael H. Court (2005-2008)

CAPÍTULO IV

4.1 RESULTADOS

4.1.1 Descripción de la población de estudio.

Se analizó un total de 383 muestras provenientes de donantes voluntarios de sangre, recolectadas y enviadas al Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana desde diferentes provincias del país (Tabla N°4.1). Existe una distribución heterogénea de donantes en cada una de las provincias siendo Pichincha y Guayas la de mayor captación de donantes.

Tabla N°4.1 Distribución de la población analizada por provincias

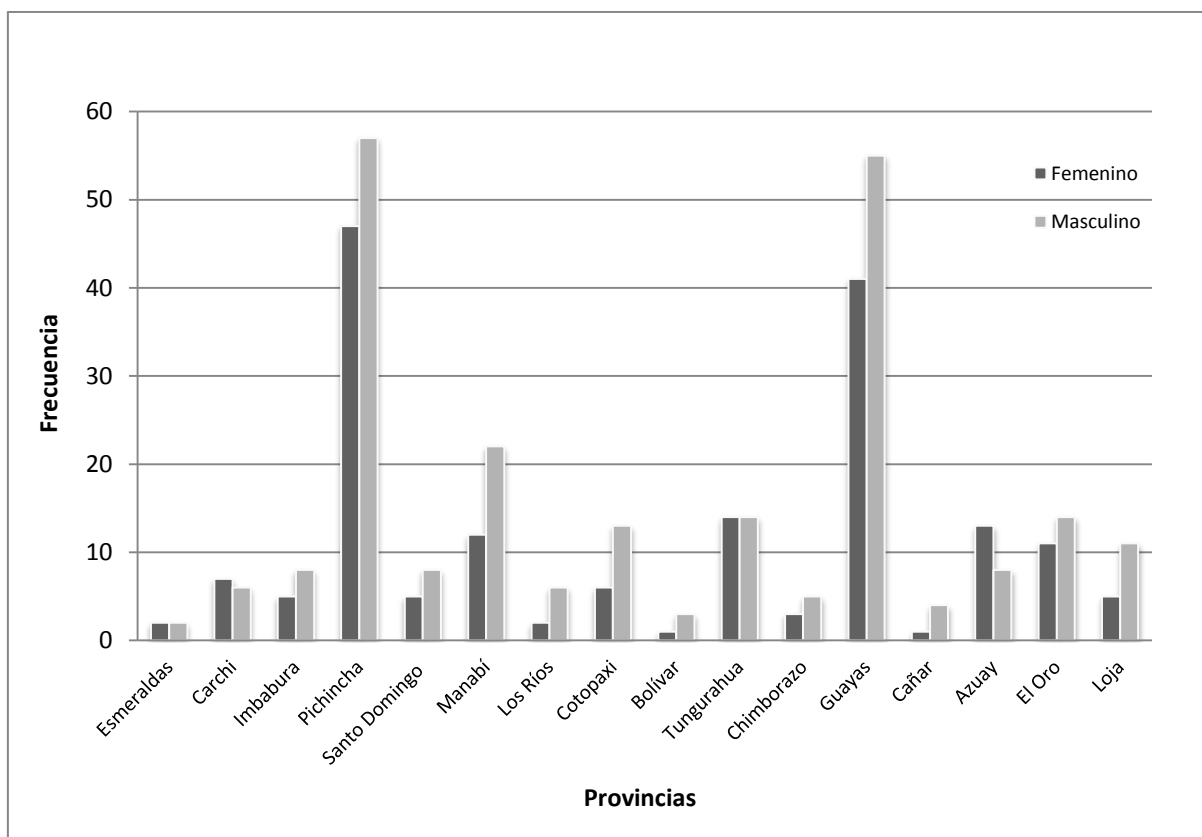
Procedencia	Frecuencia	Porcentaje
Esmeraldas	4	1,04
Carchi	12	3,13
Imbabura	12	3,13
Pichincha	97	25,33
Santo Domingo	13	3,39
Manabí	33	8,62
Los Ríos	8	2,09
Cotopaxi	18	4,70
Bolívar	5	1,31
Tungurahua	26	6,79
Chimborazo	8	2,09
Guayas	92	24,02
Cañar	5	1,31
Azuay	21	5,48
El Oro	14	3,66
Loja	15	3,92
Total	383	100,00

Fuente: Hoja de donación
Autor: Samanta Granda

La tabla muestra la distribución de las muestras recolectadas por provincia siendo la provincia de Pichincha la de mayor porcentaje seguida por Guayas.

Se determinó el género y la edad de cada uno de los donantes que intervinieron en el estudio mediante la revisión de las fichas de donación, determinándose que existe una mayor cantidad de donantes masculinos (233) que femeninos (167); probablemente debido a los requisitos implementados por la Organización Panamericana de la Salud sobre la elegibilidad del donante. (Gráfico N°4.1)

Gráfico N°4.1: Distribución de los donantes voluntarios de sangre de acuerdo al género por provincia



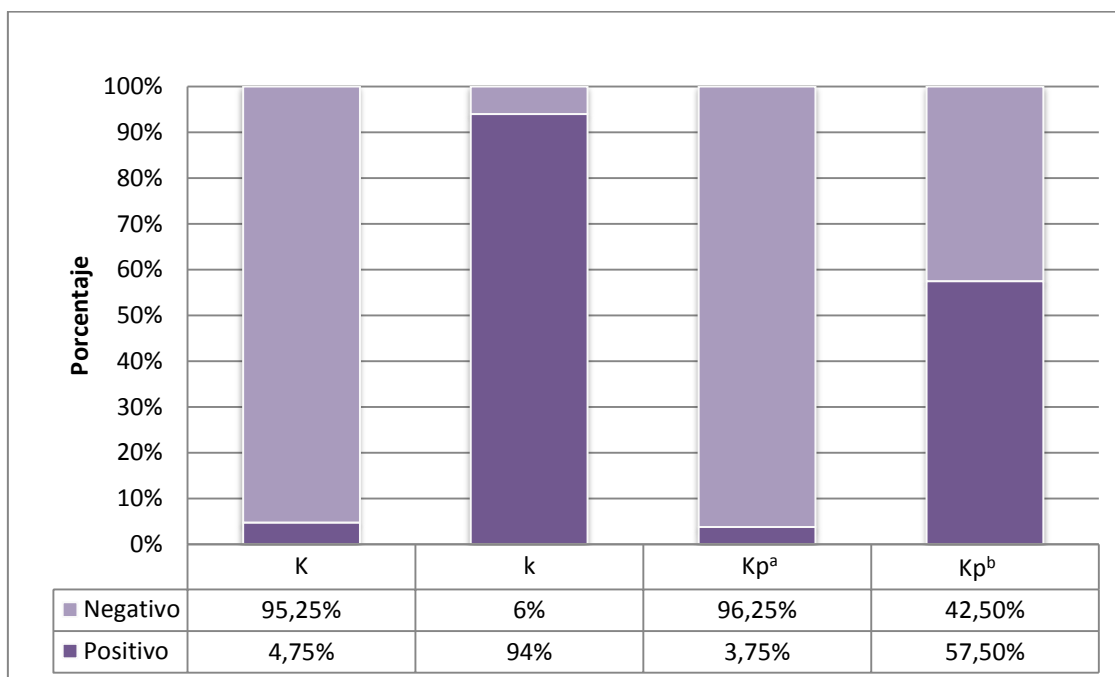
Fuente: Hoja de donación
 Autor: Samanta Granda

El gráfico muestra la frecuencia de donantes en cada una de las provincias incluidas en el estudio, observándose que el género masculino es el de mayor frecuencia en 12 de las provincias participantes.

4.1.2 Frecuencia de antígenos del Sistema Kell.

Se identificó una prevalencia de 4,75% del antígeno K; en contraste con el antígeno k (Cellano) del 94%; de igual manera se identificó una frecuencia del 3,75% del antígeno Kp^a y el 57,5% del Kp^b en los donantes voluntarios de sangre. (Gráfico N°4.2). Un hallazgo significativo fue la presencia de un donante al que no se detectaron los antígenos del sistema Kell.

Gráfico 4.2. Prevalencia de antígenos del Sistema Kell en donantes voluntarios de sangre.



Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas
 Autor: Samanta Granda

Gráfico muestra el porcentaje de antígenos del Sistema Kell, siendo el de mayor prevalencia el k o Cellano seguido por el antígeno Kp^b.

4.1.3 Correlación de la presencia de los antígenos Kell con el género, procedencia y edad.

Al analizar la frecuencia de los antígenos del sistema Kell en relación con el género, se determinó que el antígeno k (Cellano) se encuentra en mayor frecuencia tanto en hombres como mujeres, seguido por el antígeno Kp^b, también se identificó que existe una frecuencia menor de los antígeno K y Kp^a (3,22% y 4,65%) en mujeres y (2,77% y

5,26%) en hombres respectivamente. Del análisis realizado se identificó un donante con ausencia serológica de antígenos del sistema Kell, sugestivo del denominado síndrome de McLeod. Al determinar la relación entre las dos variables se obtuvo una $p=0.82$ es decir no existe una relación significativa entre el género y la presencia o ausencia de los antígenos del sistema Kell (Tabla N°4.2, Gráfico 4.3).

Tabla N°4.2. Frecuencia de antígenos del sistema Kell de acuerdo al género de los donantes voluntarios de sangre.

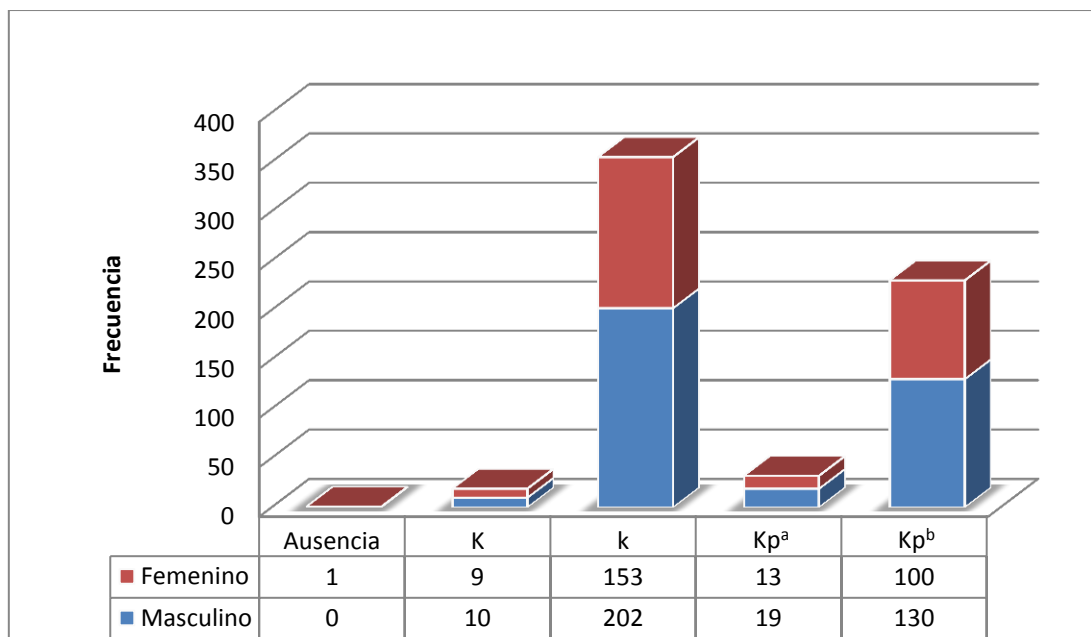
Género	Ausencia de Ag	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Total
Femenino	1	9 (3,22%)	153 (54,86%)	13 (4,65%)	100 (35,84%)	279 (100%)
Masculino	0	10 (2,77%)	202 (55,95%)	19 (5,26%)	130 (36,01%)	361 (100%)

$p>0.05$

Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC)
 Autor: Samanta Granda

La tabla muestra el porcentaje de antígenos del sistema Kell, siendo del 54,86% en k, 35,84% de Kp^b y 3,22% de K.

Gráfico N°4.3. Distribución de los antígenos Kell de acuerdo al género del donante voluntario de sangre



Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC)
 Autor: Samanta Granda

También se analizó la frecuencia de antígenos del Sistema Kell con la procedencia del donante voluntario de sangre, estableciéndose que los antígenos K (Cellano) y Kp^b se encuentra distribuido en todas las provincias del país. (Tabla N°4.3).

Tabla N°4.3 Frecuencia de los antígenos del Sistema Kell de acuerdo a la provincia.

Procedencia	K	%	k	%	Kp^a	%	Kp^b	%
Esmeraldas	0	0,00	4	1,06	0	0,00	2	0,87
Carchi	0	0,00	12	3,18	0	0,00	6	2,61
Imbabura	0	0,00	11	3,18	1	3,13	8	3,48
Pichincha	8	42,11	88	25,20	12	37,50	59	25,65
Santo Domingo	1	5,26	13	3,45	1	3,13	6	2,61
Manabí	0	0,00	32	8,75	2	6,25	23	10,00
Los Ríos	0	0,00	8	2,12	1	3,13	4	1,74
Cotopaxi	1	5,26	17	4,77	2	6,25	9	3,91
Tungurahua	0	0,00	24	6,90	2	6,25	16	6,96
Chimborazo	0	0,00	8	2,12	0	0,00	7	3,04
Guayas	0	0,00	86	23,87	6	18,75	58	25,22
Cañar	8	42,11	5	1,33	0	0,00	4	1,74
Azuay	0	0,00	19	5,31	3	9,38	11	4,78
El Oro	1	5,26	14	3,71	1	3,13	10	4,35
Loja	0	0,00	14	3,98	1	3,13	7	3,04
Total	19	100%	355	100%	32	100%	230	100%

Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC) y hoja de donación.
Autor: Samanta Granda

La tabla muestra la frecuencia de antígenos K,k,Kp^a y Kp^b en las diferentes provincias del país, siendo Pichincha Guayas, Manabí, Tungurahua las de mayor incidencia para el antígeno k y Kp^b

Adicionalmente, se analizó la distribución de los antígenos del Sistema Kell de acuerdo al grupo etario, determinándose que estos se encuentran distribuidos en los grupos en edad fértil, constituyendo un factor de riesgo en la aloimmunización durante el embarazo. (Tabla N°4.4, Gráfico 4.4)

Tabla N°4.4 Frecuencia de los antígenos del sistema Kell de acuerdo al grupo etario.

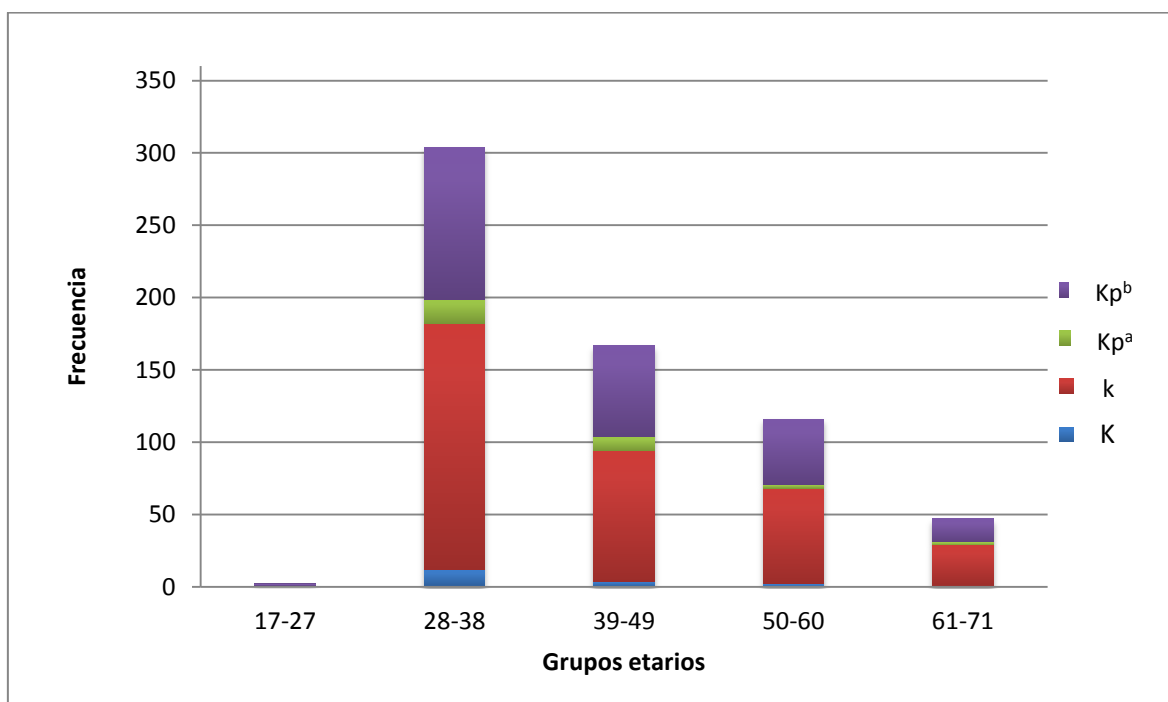
Edad	K	k	Kp ^a	Kp ^b
17-27	0	1	0	1
28-38	12	170	17	105
39-49	4	90	10	63
50-60	2	66	3	45
61-71	1	28	2	16
Total	19	355	32	230

$p > 0,05$.

Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC), INEC.
 Autor: Samanta Granda

La tabla muestra la presencia de antígenos K, k (Cellano), Kp^a y Kp^b en el grupo etario en edad fértil especialmente en el grupo de 28-38 años.

Gráfico N°4.4 Distribución de los antígenos del Sistema Kell de acuerdo a los grupos etarios



Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC)
 Autor: Samanta Granda

El gráfico muestra que el mayor porcentaje de antígenos del Sistema Kell se distribuye en el grupo etario de 28-38 años.

4.1.4 Frecuencia de fenotipos y probables genotipos del Sistema Kell en la población de donantes estudiada

Se determinó la presencia de 11 genotipos probables en los donantes de sangre analizados siendo el de mayor porcentaje el K-k+ kp(a-b+) en un 53,26%, seguido del genotipo K-k+ Kp(a-b-) con el 33,16% mientras que los donantes que presentan todos los antígenos K+k+ Kp(a+b+) representa el 1,04% de todos los genotipos detectados (Tabla N°4.5)

Tabla N°4.5. Frecuencia de fenotipos y probables genotipos del sistema Kell en los donantes analizados

Genotipo probable	Frecuencia	Porcentaje
K+ k- Kp(a-b-)	1	0,27
K- k+ Kp(a-b-)	127	33,16
K+ k+ Kp(a-b-)	2	0,52
K+ k+ Kp(a+b+)	4	1,04
K+ k+ Kp(a-b+)	12	3,13
K- k+ Kp(a+b-)	4	1,04
K- k+ Kp(a+b+)	6	1,57
K- k+ Kp(a-b+)	204	53,26
K- k- Kp(a+b-)	18	4,70
K- k- Kp(a-b+)	4	1,04
K- k- Kp(a-b-)	1	0,27
Total	383	100%

Fuente: Centro de enfermedades infecciosas PUCE (CIEIC)

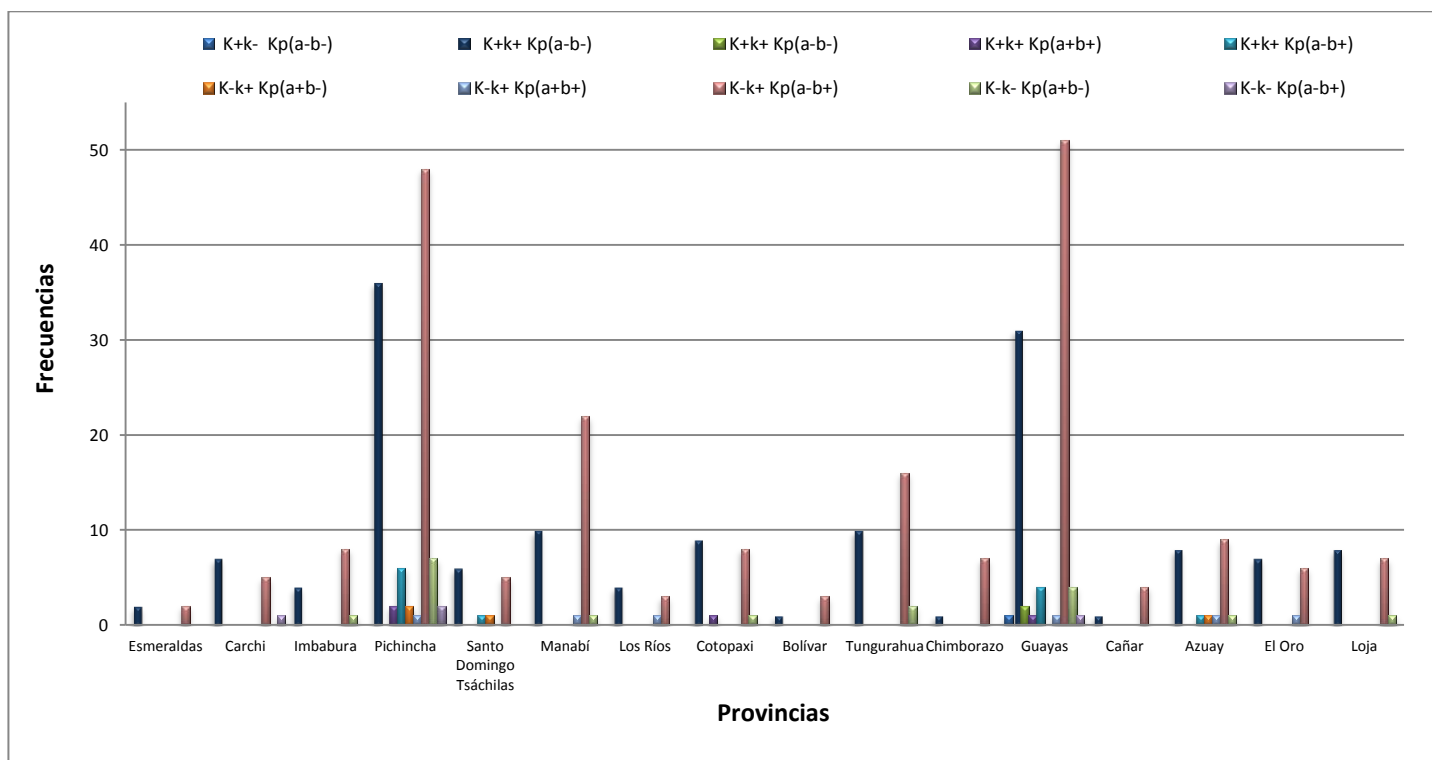
Autor: Samanta Granda

El cuadro muestra la variación en los alelos del Sistema Kell en los donantes de sangre analizados.

4.1.5 Distribución de los fenotipos y probables genotipos de acuerdo a la procedencia

Se analizó la distribución de los fenotipos con sus probables genotipos, encontrándose que el genotipos K-k+Kp(a-b-) se encuentran distribuido en todas las provincias de país; el genotipo K-k+ Kp(a-b+) presenta una mayor frecuencia en las provincias de Pichincha, Manabí, Tungurahua y Guayas. En la provincia de Cotopaxi se identificó el genotipo K+k+ Kp(a+b+) y en la provincia del Carchi se detectó el fenotipo K-k- kp(a-b+). (Gráfico N°4.5).

Gráfico N°4.5. Distribución de fenotipos y probables genotipos de acuerdo a la provincia de procedencia de los donantes voluntarios de sangre.



Fuente: Centro de enfermedades infecciosas PUCE (CIEIC), hoja de donación.
 Autor: Samanta Granda

El gráfico muestra la distribución y frecuencia de los diferentes genotipos de acuerdo a la procedencia del donante, encontrándose que el genotipo K-k+ Kp(a-b+) está presente en todas las provincias al igual que el K-k+ Kp(a-b-).

4.1.6 Frecuencia alélica del Sistema Kell

Para el análisis de la frecuencia alélica en los donantes voluntarios de sangre se aplicó la fórmula $I^{K^*}2+I^K I^k$ (Buevas, 2014), los resultados permitieron determinar que el alelo k se presentó en 700 veces y el alelo KPB 450 veces, estableciéndose la frecuencia alélica de los alelos del sistema Kell, así el alelo K es de 0,03; KPA de 0,11.(Tabla N°4.6).

Tabla N°4.6 Frecuencia alélica del sistema Kell en donantes voluntarios de sangre

Alelos	Cantidad	Gen	$(I^{K^*}2+I^K I^k)$	Frecuencia Alélica
K+k-	1	K	20	0,03
K-k+	341	k	700	0,97
K+k+	18		756	

Alelos	Cantidad	Gen	$(I^{K^*}2+I^K I^k)$	Frecuencia Alélica
Kp(a+b-)	22	KPA	54	0,11
Kp(a-b+)	220	KPB	450	0,89
Kp(a+b+)	10		504	

Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC)
 Autor: Samanta Granda

La tabla muestra la frecuencia alélica del Sistema Kell, calculada mediante la aplicación de la fórmula de: número de veces que se repite un alelo/ total de alelos encontrados

La segunda fórmula aplicada fue para conocer la frecuencia genotípica ($p^2+2pq+q^2$) al reemplazarla: $(K^2+2Kk+k^2)$.Tabla N°4.7 y 4.8

Tabla N°4.7 Determinación de la frecuencia génica de los alelos μ K, μ k.

Fórmula probabilidad alélica:	KK	Kk	Kk	Total
$(P+qp/2)/N$	1	341	18	360
Frecuencia de K	$(1+341/2)/360$	342	171	0,475
Frecuencia de cellano k	$(18+341/2)/360$	359	179,5	0,499
Proporción prevista KK	p^2	0,47	0,22	
Proporción prevista Kk	$2pq$	$2(0,47*0,49)$	0,46	
Proporción prevista kk	q^2	0,49	0,24	

Números previstos por Hardy-Weinberg

KK	p^2N	$(0,22 \times 360)$	79,2
Kk	$2pqN$	$(0,46 \times 360)$	165,6
Kk	q^2N	$(0,24 \times 360)$	86,4

Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC)
 Autor: Samanta Granda

Frecuencia vs equilibrio de Hardy-Weinberg

Genotipos	Observado	Esperada
Homocigoto de referencia	1	81,7
Heterocigoto	341	179,6
Homocigoto variante	18	98,7
Frecuencia alélica variación	0,52	

$X^2 = 290,7442191$
 X^2 test P valor = 0,000000 con un grado de libertad.

1. Si $P < 0.05$ - no es consistente con EHW
 2. No es preciso si existe <5 individuos en algún grupo

Michael H. Court
(2005-2008)

El resultado obtenido indica que la población no se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg.

Tabla N°4.8 Determinación de la frecuencia genotípica de los alelos μ KPA, μ KPB.

Fórmula probabilidad alélica: $(P+qp/2)/N$	KPAKPA	KPAKPB	KPBKPB	Total
	22	220	10	252
Frecuencia de KPA	$(22+220/2)/252$	242	121	0,48015873
Frecuencia de KPB	$(10+220/2)/252$	230	115	0,45634921
Proporción prevista KPA	p^2	0,23		
Proporción prevista KPAKPB	$2pq$	0,43		
Proporción prevista KPB	q^2	0,20		

Números previstos por Hardy-Weinberg

KPAKPA	p^2N	58,060
KPAKPB	$2pqN$	108,36
KPBKPB	q^2N	51,03

Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC)

Autor: Samanta Granda

Frecuencia están en equilibrio de Hardy-Weinberg		
Genotipos	Observado #	Esperado#
Homocigoto	22	69,1
Heterocigoto:	220	125,7
Homocigoto variante:	10	57,1
Frecuencia alélica variación:	0,48	
$\chi^2 =$	141,75	
χ^2 test P valor =	0,000000	con un grado de libertad.
1. Si $P < 0.05$ - no es consistente con EHW 2. No es preciso si existe <5 individuos en algún grupo		
Michael H. Court (2005-2008)		

De igual manera que el anterior no se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg, el valor de chi cuadrado es alto con un grado de libertad.

4.1.7 Identificación de anticuerpos presentes en los donantes incluidos en el estudio.

Se determinó la presencia de aloinmunización en los donantes de sangre, detectándose el anticuerpo “anti-E” en 9 de los donantes que fueron positivos en el tamizaje de anticuerpos irregulares, y únicamente uno fue positivo para el anticuerpo “anti-K” lo que indica que aún no han sido inmunizados los donantes que presentaron el antígeno k (cellano) en esta investigación. Un hallazgo importante fue que las células disponibles para el tamizaje de anticuerpos irregulares no permite determinar la presencia de todos los anticuerpo irregulares, por lo que el 28,57% (7) no pudo ser identificado lo que constituye un riesgo para los donantes que pueden convertirse en algún momento en receptores. (Tabla N°4.9).

Tabla N°4.9. Determinación del tipo de anticuerpo irregular en donantes voluntarios de sangre.

Donantes	Antígeno detectado	Anticuerpos Irregular
1	Kp ^b	Anti-E
2	K	*Anticuerpo Indeterminado
3	K	Anti-E
4	k Kp ^b	*Anticuerpo Indeterminado
5	k Kp ^b	Anti-E
6	k Kp ^a Kp ^b	Anti-D
7	k Kp ^b	Anti-E
8	k Kp ^b	Anti-D
9	k Kp ^b	Anti-e
10	K	*Anticuerpo Indeterminado
11	k Kp ^b	*Anticuerpo Indeterminado
12	k Kp ^b	Anti-D
13	Kp ^b	Anti-E
14	K k Kp ^b	Anti -D, Anti -C
15	K k Kp ^a Kp ^b	*Anticuerpo Indeterminado
16	k Kp ^b	*Anticuerpo Indeterminado
17	k Kp ^b	Anti-K
18	k Kp ^b	Anti-E
19	k Kp ^b	Anti-E
20	k Kp ^b	Anti-E
21	k Kp ^b	Anti-E
22	K	*Anticuerpo Indeterminado

Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC)

Autor: Samanta Granda

. *Anticuerpos indeterminados: son los que no se pueden identificar con pruebas convencionales. La tabla se observa el tipo de anticuerpo detectado en los donantes de sangre incluidos en el estudio, siendo el de mayor presencia el Anti-E y únicamente existe un anti-K

4.1.8 Resultados del Control de Calidad

Se realizaron pruebas de potencia, afinidad y avidéz siguiendo los lineamientos establecidos por la AABB, 2012 y las instrucciones del fabricante. Obteniéndose resultados satisfactorios. (Tablas 4.10-4.11)

Tabla N°4.10. Valores de validación de anticuerpos monoclonales de los reactivos para determinación de antígenos del Sistema Kell

	Potencia	Afinidad	Avidéz
Anti-Kp ^a , Kp ^b , Kell, Cellano			
Anti-Kp ^a	1:128	(++)	4"
Anti-Kp ^b	1:128	(+++)	6"
Anti-K	1:128	(+++)	3"
Anti-k	1:128	(++)	5"

Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC)
 Autor: Samanta Granda

Tabla muestra los valores obtenidos durante el control de calidad, cumpliendo con los estándares de detección.

Tabla N°4.11. Validación de especificidad de anticuerpos monoclonales de los reactivos para determinación de antígenos del Sistema Kell

Reactivo	Células Comerciales	Especificidad	
		Antígenos correspondientes	
Anti-Kp ^a	Kp ^a / Kp ^b	Kp ^a (++++)	Kp ^b (-)
Anti-Kp ^b	Kp ^b / Kp ^a	Kp ^b (++++)	Kp ^a (-)
Anti-K	K / k	K(+++)	k(-)
Anti-k	(cellano)k / K	k(+++)	K(-)

Fuente: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas PUCE (CIEIC)
 Autor: Samanta Granda

Tabla muestra la identidad Ag-Ac de los reactivos cumpliendo con los estándares de detección.

4.2 DISCUSIÓN

El conocimiento de la frecuencia antigénica en una población es una de las estrategias más importantes para los bancos de sangre y Hemocentro tanto para el cálculo del stock de derivados sanguíneos como para minimizar el riesgo de aloinmunización. Así el estudio realizado por Bogui en el año 2014 al oeste de África establece la importancia de mantener una tipificación rutinaria de los sistemas ABO, Rh y Kell, mencionando que en los países Saharianos no existe esta práctica de tipificación sanguínea constituyendo un riesgo elevado de aloinmunización en pacientes que requieren transfusiones periódicas (Siransy Bogui, Dembele, Sekongo, Abisse, & Konaté, 2014). Musa, 2012 en su publicación realza la importancia de una fenotipificación completa en las unidades sanguíneas a ser transfundidas debido al incremento de la aloinmunización en los pacientes y las dificultades en encontrar productos sanguíneos compatibles, además hace referencia a la presencia de nuevas etnias en la población, situación similar en el país debido a la migración y apertura de las fronteras (Musa, y otros, 2012).

No existen reportes actuales de la prevalencia de antígenos eritrocitarios en Latinoamérica, se publicaron tres estudios: uno Chileno en 1980 que determinó la frecuencia de antígenos de los Sistemas Kell, Duffy, Lutheran, Diego, MNSs en el hospital de Santiago de Chile; en Costa Rica en el año 1999 se estableció que el antígeno k estaba presente en un 96,74% y el otro estudio fue en Ecuador en el año 1996 donde la prevalencia de antígeno k fue del 94,7%. La importancia de estos estudios fue dar a conocer la frecuencia de esos antígenos, sin embargo no se han realizado nuevas investigaciones (Armanet, y otros, 1980) (Marín Rojas & León Sánchez, 1999) (Cañizáres C, 1996).

El presente estudio estableció una prevalencia del 94% del antígeno k (Cellano) y únicamente el 4,75% del K(Kell), datos similares al reportado en otros estudios a nivel mundial, así en África se encontró que el 98,92% de la población presentó el fenotipo K-k+ característico de la población blanca, así también la frecuencia del antígeno K+ fue de 0,92%, diferente al reportado en Francia y Alemania donde los individuos presentan el fenotipo K+k- en un 9% y 4% respectivamente (Siransy Bogui, Dembele, Sekongo, Abisse, & Konaté, 2014). En la India se determinó una frecuencia del antígeno k (cellano) de 99,97% y del K+ de 3,5% esta prevalencia la consideraron intermedia entre las reportadas en población caucásica (9%) y negra (2%) (Makroo, Bhatia, & Gupta, 2013). En contraste en el continente asiático no existe la presencia de antígenos Kell, y en

descendientes de Nagasaki e Hiroshima se identificó únicamente un 0,03% de heterocigotos para este sistema, así también en Japoneses-Brasileños la prevalencia fue de 0,48%, lo que determina que en estas poblaciones es baja la presencia del sistema Kell (Flôres, y otros, 2014). Estas investigaciones comprueban la necesidad de establecer estudios que alerten a los sistemas nacionales de bancos de sangre el cambio de perfil epidemiológico especialmente por la migración y mezclas étnicas que actualmente se está observando.

El Sistema Kell se caracteriza por tener un alto polimorfismo por lo que además de los antígenos K, también existe el Kp^a y Kp^b. El análisis de datos determinó una prevalencia del 3,75% y 57,5% respectivamente en los donantes de sangre ecuatorianos. Estudios corroboran la baja prevalencia del antígeno Kp^a también denominado (KEL3, Penney), estableciéndose que solo el 2% de la población posee un fenotipo Kp^a positivo (Padmore, y otros, 2014). A pesar de su baja frecuencia, este antígeno está estrechamente relacionado con la estimulación y producción del aloanticuerpo anti-Kp^a productor de reacciones postransfusionales hemolíticas agudas. En Ecuador a través de dos investigaciones se ha determinado la presencia de este aloanticuerpo en 2 donantes mujeres y 1 paciente multitransfundido poniendo en evidencia que existe aloinmunización debida a un antígeno de baja prevalencia (Checa, 2012) (Ulloa, 2012).

La característica de este aloanticuerpo es que es indetectable durante la realización de las pruebas cruzadas, por lo que resulta imposible prevenir una segunda aloinmunización con consecuencias fatales (Padmore, y otros, 2014). Otras investigaciones han establecido que una reacción transfusional aguda por este aloanticuerpo es de muy baja frecuencia, aproximadamente 1 por cada 650000 transfusiones, sin embargo se ha identificado la presencia del aloanticuerpo anti-Kp^a en un 3% y 4,7% de pacientes sometidos a transfusiones periódicas (Azarkeivan, y otros, 2011) (Dubboeuf, y otros, 2012). Por esta razón, los cálculos matemáticos de la frecuencia de este antígeno (Kp^a) han permitido indicar que puede darse una incompatibilidad del 0,094%, aproximadamente 1 en 100 transfusiones (Padmore, y otros, 2014).

Existen reportes de una elevada aloinmunización en pacientes con diagnóstico de Talasemia esto debido a varios factores como una escasa tipificación sanguínea, centrado únicamente en el sistema ABO y Rh, olvidándose por completo del tercer sistema más inmunógeno como es el Kell. El estudio realizado por Chadnhi, identificó un 18,75% de aloanticuerpos anti-Kp^a, a pesar de su baja prevalencia, este antígeno posee

una elevada capacidad inmunógena (Chandi, y otros, 2012). El análisis de datos obtenidos en este estudio demostró la presencia de los antígenos del sistema Kell distribuidos en los grupos etarios considerados como “grupo en edad fértil”, este hallazgo pone en evidencia la probabilidad de aloinmunización durante el embarazo, a pesar de que la distribución entre los géneros no muestra diferencias significativas.

Akdağ en el 2012 pone de manifiesto que aunque exista una prevalencia del 9% de antígeno K en la población existe un aumento en la incidencia de aloinmunización materna y que esto contribuye al aumento en la morbilidad y mortalidad perinatal (Akdağ, Erdeve, Uraş, & Şimşek, 2012); esto se debe a que existe una asociación del sistema Kell con la eritropoyesis de tal forma que durante una eritroblastosis fetal existe una inhibición en la producción de glóbulos rojos ocasionando una anemia severa en el feto. Se cree que la causa de la presencia de un anti-K materno está relacionada con transfusiones sanguíneas anteriores, así lo demostró este estudio en el que identificó que el 66% de mujeres con anti-K habían recibido una transfusión de sangre incompatible (Akdağ, Erdeve, Uraş, & Şimşek, 2012).

Dentro del desarrollo de aloanticuerpos debe considerarse la dificultad para su detección, este se debe al bajo título de permanencia del aloanticuerpo, estudios han reportado que los aloanticuerpos pueden desaparecer a los 15 meses después de una transfusión, sin embargo los anti-K pueden permanecer en bajo título hasta 5 años después de la primera inmunización; este hallazgo es indicativo de que “debe” realizarse una fenotipificación completa antes de donar y recibir sangre, pues esto evitará una nueva aloinmunización conduciendo al paciente a una anemia hemolítica aguda (Alves, y otros, 2012).

Uno de los antígenos de alta frecuencia del Sistema Kell es el Kp^b, por lo que no es considerado como causante de problemas hemolíticos, sin embargo un estudio reportó un raro caso de enfermedad hemolítica del recién nacido debida a este antígeno; reconociendo que es capaz de producir problemas hemolíticos (Elhence, Deepti, Anupam, Archana, & Rajendra, 2012). En Ecuador se determinó que 3 pacientes multitransfundidos presentaron el aloanticuerpo anti-Kp^b. Por lo tanto, debe ser considerado dentro de la identificación de antígenos eritrocitarios (Checa, 2012).

Al realizar la fenotipificación se puede también establecer la presencia de los probables genotipos que presenta cada individuo. En el presente estudios se ha determinado un total de 11 genotipos, los que están distribuidos a nivel país, el de mayor porcentaje fue el

K-k+Kp(a-b+) con un 53,26%; seguido del genotipo K-k+Kp(a-b-) con el 33,16% y el de menor porcentaje fue el K+k+Kp(a+b+) con un 1,04%; estas combinaciones están dadas por los cruces mendelianos, en el caso del sistema Kell, los alelos se caracterizan por presentar una doble dosis por ejemplo el fenotipo K-k+Kp(a-b+) tiene un k en doble dosis junto con un Kpb, esta determina su capacidad antigénica (American Association of Blood Banks, 2012). Otra característica de los antígenos Kell es su herencia en codominancia por lo tanto se expresan en el fenotipo independientemente del alelo que sea heredado, es por esta razón que existe una variedad de combinaciones. Otro aspecto tomando en cuenta en este estudio fue el cálculo de la frecuencia alélica o génica, esto en banco de sangre tiene importancia para prever sangre compatible en el caso de pacientes aloimmunizados, así por ejemplo en este estudio se estableció una frecuencia alélica para K del 3% por lo tanto en 100 pacientes puede presentarse tres personas portadoras del antígeno K.

La Asociación Americana de Bancos de Sangre, establece la manera en que se debe calcular las necesidades de unidades sanguíneas para pacientes con fenotipo combinado, así: si un paciente presenta un fenotipo c-K- y de acuerdo a estudios se ha determinado que la frecuencia de personas c- es 20% y K- es del 91% al multiplicar las prevalencia se identifica que solo 18% de individuos presentarán ese fenotipo, por lo tanto el banco de sangre deberá prever que este fenotipo es escaso y llamar a donantes con grupo sanguíneo compatible (American Association of Blood Banks, 2012) (Buelvas Cortés, Muñoz-Díaz, & León de González, 2014). Se han realizado estudios del equilibrio de Hardy Weinberg en donantes una de ellas fue la realizada en Chile, en relación a la frecuencias alélicas y genotípicas de la molécula de HLA determinándose que la población permanece en equilibrio genético (Pérez, Claudio, Ramón, & Milton, 2012). En este estudio se realizó los cálculos a partir de las frecuencias alélicas y los probables genotipos del sistema Kell, mediante detección serológica, determinándose que no se encuentran la población estudiada en equilibrio ($p < 0.005$), pues no concuerdan las frecuencias esperadas con las observadas, adicionalmente existe la presencia de una mutación, al identificarse un donante carente de antígenos Kell, dando lugar al fenotipo K_{null} , presuntivo del denominado síndrome de McLeod, este aún no ha sido confirmado, pero en el caso de estar presente en la población ecuatoriana, constituirá otro reto para el Sistema Nacional de Bancos de Sangre, ya que estos individuos se caracterizan por desarrollar aloanticuerpos anti-Ku que son responsables de la enfermedad hemolítica del recién nacido, adicionalmente han sido clasificados como el tercer aloanticuerpo en producir una anemia hemolítica severa (Watkins, y otros, 2011)

4.3 CONCLUSIONES

- La población que participó en este estudio fueron donantes provenientes de 16 provincias del país, por lo que constituye una muestra representativa a nivel de Ecuador.
- Del análisis realizado a los donantes participantes en este estudio se determinó que existe una mayor frecuencia de donantes masculinos sobre el género femenino en 12 provincias.
- Los resultados obtenidos de la frecuencia alélica del antígeno Cellano (k) (95,25%), son similares a los obtenidos en otros estudios a nivel mundial y corrobora el resultado obtenido en el estudio realizado por Cañizares en 1996 en Ecuador.
- De igual manera el antígeno Kp^b es considerado de mayor prevalencia sobre el Kp^a, sin embargo los dos son altamente inmunógenos y relacionados directamente con la enfermedad hemolítica del recién nacido y reacciones hemolíticas postranfusionales.
- Se determinó que el antígeno k (minúscula) es el de mayor frecuencia tanto en hombres como mujeres; seguido por el antígeno Kp^b.
- Se determinó que el antígeno K (mayúscula) es de baja prevalencia (3,22%), al igual que lo reportan otros estudios y en Ecuador está distribuido en las provincias de Pichincha, Santo Domingo, Cotopaxi, Cañar y El Oro, por lo que es indispensable realizar una tipificación que incluya el Sistema Kell.
- Los antígenos del sistema Kell se encuentran distribuidos en el grupo etario de 28-38 años de edad, constituyendo parte del grupo fértil en el que existe la probabilidad de aloinmunización durante el embarazo.
- De los fenotipos identificados del Sistema Kell, se determinó los posibles genotipos estableciéndose que el K-k+ kp(a-b+) fue el más frecuente con el (53,26%) y se encuentra distribuido en las 16 provincias del país, seguido del fenotipo y probable genotipo K+k+Kp(a-b-).
- Del cálculo de las frecuencias alélicas o genotípicas se identificó que el antígeno K tiene una frecuencia del 3% y el Kp^a del 11% por lo que el sistema nacional de bancos de sangre deberá prever la disponibilidad de derivados sanguíneos en caso de emergencia, para personas con estos fenotipos.
- Al realizar las pruebas para determinar la presencia de aloanticuerpos se observó que 22 (5,74%) donantes presentaban aloinmunización; de estos el 63,63% (14) por antígenos del sistema Rh (Anti-E, Anti-e, Anti-C y Anti-D); 7 (31,81%)

donantes no se pudo identificar qué tipo de anticuerpo estaba presente y 1(4,54%) donante presentó anticuerpo anti-K, esto corrobora la presencia de anticuerpos formados luego de recibir transfusiones incompatibles o embarazos recientes. (Tabla 4.9)

- Uno de los hallazgos más importantes fue la probabilidad de que exista en la población ecuatoriana el Síndrome de McLeod que se caracteriza por la expresión disminuida o nula de los antígenos del Sistema Kell, este síndrome se debe a una mutación por lo tanto la población no está en equilibrio de Hardy-Weinberg.

4.4 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar una tipificación completa que incluya el Sistema Kell, por encontrarse distribuidos sus antígenos en 16 provincias de Ecuador.
- Se recomienda establecer la frecuencia alélica o génica de los principales antígenos eritrocitarios considerados de significancia clínica, esto permitirá a los bancos de sangre establecer un registro o base de datos para monitorear a los donantes de sangre y en caso de necesidad localizarlos.
- Se recomienda utilizar cálculos matemáticos para determinar la frecuencia alélica, esto permite establecer la cantidad de derivados sanguíneos que debe mantener en reserva, en caso de emergencias.
- Se recomienda continuar con la investigación de la existencia de individuos con fenotipo K_{null} (Síndrome de McLeod).
- Se recomienda al Programa Nacional de Sangre tomar en consideración el hallazgo de estos resultados y poner en marcha la adquisición de reactivos que permitan obtener un fenotipo “extensivo” en beneficio de la población que requiere sangre de forma rutinaria.

4.5 BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai, S. (2012). *Inmunología celular y molecular*. Barcelona, España: ELSEIVER ISBN 978-84-8086-916-4.
- Agarwal, N., & Thapliyal, R. &. (2013). Blood group phenotype frequencies in blood donors from a tertiary care hospital in north India. *Blood Research.*, 48(1), 51–54. doi:10.5045/br.2013.48.1.51.
- Akdağ, A., Erdeve, Ö., Uraş, N., & Şimşek, Y. &. (2012). Hydrops Fetalis due to Kell Alloimmunization: A Perinatal Approach to a Rare Case. . *Turkish Journal of Hematology*, 29(1), 72–75. doi:10.5505/tjh.2012.37801.
- Alavarado Guzmán, V. M., & Dubón Medina, M. J. (06 de 2012). Tipificación de Antígenos eritrocitarios del sistema Rh Y KELL en donantes de sangre que asistieron a dos hospitales de la ciudad de Guatemala en año 2009 Y 2010. *Tesis de la Universidad de Guatemala*, biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3313.pdf. Recuperado el 22 de 02 de 2014, de http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=6&cad=rja&sqi=2&ved=0CDwQFjAF&url=http%3A%2F%2Fbiblioteca.usac.edu.gt%2Ftesis%2F06%2F06_3313.pdf&ei=Db4KU8HtB4zLsQTrnoHIDA&usg=AFQjCNFJc_2JVjzT11GpZICPIQcVGo-glg&sig2=V1H_nTrv18_2sMz5S9zcxQ&b
- Alcaraz-López, J. L., Bonilla-Zavala, R., Luna-González, J., & Motes-Ledesma, M. (2007). Investigación en el trabajo diario de inmunohematología. fenotipos eritrocitarios y protocolo para encontrar sangre compatible en pacientes con aloanticuerpos antieritrocitarios. *Medigraph*, 143 (2): 23-27 www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2007/gms072e.pdf.
- Alves, V., Martins, P. R., Soares, S., Araújo, G., Schmidt, L., Costa, S. S., & Moraes-Souza, H. (2012). Alloimmunization screening after transfusion of red blood cells in a prospective study. . *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 34 (3) 206-211: doi10.5581/1516-8484.20120051.
- American Association of Blood Banks. (2012). Manual Técnico. *AABB 15ava edición*, ISBN 9789879649725.

- American Red Cross. (I-0007 v1 (04/10) de Washington, DC, 20006 US License 190). Blood Grouping Reagent Anti-K. *Inserto*.
- Arderiu, X. F. (1997). *Bioquímica clínica y patología molecular, Volume 1*. Barcelona: Reverte.
- Arias, J. c. (2006). *Muestras Estadísticas*. Obtenido de <http://inmaculadava.maristascompostela.org/Derive/ccss2/02excel/11muestrasexcel.htm>
- Armanet, L., Ling, C., Correa, N., Islas, E., Valenzuela, C., & Harb, Z. (1980). Genetics frequencies for Kell, Duffy, Xg, Lutheran, Diego, MNS and Rh blood group systems in a Hospital of Santiago, Chile. *Scielo Rev Medica Chilena*, 108(2): 103-8 PMID 7244453.
- Armijo S, O. d. (2010). Isoinmunización anti-Kell: Manejo de clínico de 26 casos. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 75(2), 91-95. Recuperado en 10 de febrero de 2015, de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262010000200003&lng=es&tlng=es. 10.4067/S0717-75262010000200003.
- Azarkeivan, A., Ansari, S., Ahmandi, M., Hajibeigy, B., Maghsudlu, M., & Nasizadeth, S. (2011). Blood transfusion and alloinmunization in patients with thalassemia: a multicenter study. *Pediatr Hematol Oncol*, 28:479-85(doi: 10.3109/08880018.2011.568595).
- Bachmann, K. (1998). *Biología para médicos: conceptos básicos para las facultades de medicina, enfermería, y ciencias de la salud*. Barcelona: Reverte.
- Bogui, S., Dembele, B., Sekongo, Y., Abisse, S., & Konaté, S. &. (2014). Phenotypic Profile of Rh and Kell Blood Group Systems among Blood Donors in Cote d'Ivoire, West Africa. . *Journal of Blood Transfusion*, 309817. doi:10.1155/2014/3.
- Buelvas Cortés, A., Muñoz-Díaz, E., & León de González, G. (2014). *Inmunohematología básica y aplicada*. Colombia: Feriva ISBN 978-958-46-4106-9.
- C.A.L. D. (2014). *Reactivos DG gel*. Recuperado el 03 de 03 de 2014, de <http://labdai.com/grifols/reactivos-dg-gel/>
- Canle, O. (2013). Mas Alla del ABO y Rh. *Servicio de Medicina Transfusional SMD*.

- Cañizáres C, S. S. (1996). Frecuencia de grupos sanguíneos en la población mestiza del Ecuador. *Repositorio Senescyt*.
- Chandi, K., Bhatt, J., Radadia, B., Maitrik, D., Muhida, S., & Sawant, R. (2012). Red Cell Alloimmunization in Transfusion Dependent Thalassaemia Patient's in Saurashtra Region of Gujarat, India. *Asian Journal of transfusion Science*, Vol 6:(1) 59-129.
- Checa, A. (2012). Determinación de la frecuencia de aloanticuerpos en pacientes hematológicos multitransfundidos que acuden a los centros de salud en Quito, 2012. *Tesis*, Repositorio digital PUCE.
- Cruz Roja Ecuatoriana*. (2012). Obtenido de <http://www.cruzroja.org.ec/>
- Diccionario médico ilustrado de Melloni*. (1983). Barcelona: Reverte.
- Domingo de Agustin Velasquez, A. I. (2004). *diccionario de ciencias* . Madrid: Complutense, SA.
- Dubboeuf, S., Flourie, F., Courbil, R., Benamara, A., Rigal, E., & Caognasse, F. (2012). Identification of alloantibodies and their associations. *Transfus Clin Biol*, 19:358-65 doi:10.1016/j.tracli.2012.10.002.
- Dueñas, V. H. (2003). *El Banco de Sangre*. Cali: Universidad del Valle.
- Elhence, P., Deepti, S., Anupam, V., Archana, K., & Rajendra, C. (2012). Late onset neonatal anaemia due to maternal anti-Kpb induced haemolytic disease of the newborn. *Transfusion and Apheresis Science* , 47: 247–250: doi:10.1016/j.transci.2012.09.001.
- Flôres, M., Visentainer, J., Guelsin, G., Fracasso, A., De Melo, F., Hashimoto, M., & Sell, A. (2014). Rh, Kell, Duffy, Kidd and Diego blood group system polymorphism in Brazilian Japanese descendants. *Transfusion Apheresis Sci*, 50(1):123-8. doi: 10.1016/j.transci.2013.09.014.
- Geoff, D. (2013). *Human Blood Groups_Capítulo 7 Kell and Kx Blood Group Systems* (Vol. 3era edición). USA: Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-4443-3324-4.
- Grande, E. F. (07 de 12 de 2012). *interferencias analíticas*. Recuperado el 13 de 03 de 2014, de <http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&sqi=2&ved=0CCckQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.hguacr.es%2Fwp->

content%2Fuploads%2F2013%2F01%2Fhemolisis.pdf&ei=EmwjU_WeH8ac0AGa
woCACg&usg=AFQjCNFaJcMw9jFxFHJWe7RMknSHgNDFjvg&sig2=3uGUyTfioYE
5C2z3hB

Héctor Rodríguez Moyado, E. Q. (2004). *El Banco de Sangre y la medicina Transfusional*. México: Editorial Medica Panamericana.

Hernández, L. Y. (2001). Procedimientos para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, pp. 98-107. ISSN 1561-2996. Recuperado el 03 de 03 de 2014, de http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol17_2_01/hih03201.html

ISBT. (2014). *International Society of Blood Transfusion*. Recuperado el 11 de 09 de 2014, de <http://www.isbtweb.org/>

Ligorit, E. A. (2004). *Compendio de medicina transfusional*. Valencia: GENERALITAT VALENCIANA.

Lodish, B. M. (2005). *Biología celular y molecular*. Argentina : Medica Panamericana.

López, C. N. (07 de 04 de 2009). *Organización y diversidad de la biosfera*. Recuperado el 13 de 03 de 2014, de http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CDkQFjAC&url=http%3A%2F%2Fmural.uv.es%2Fmonavi%2Fdisco%2Fsegundo%2Fhistologia%2FTema24.pdf&ei=vW8jU9q8BYWdkQeT8YCYCw&usg=AFQjCNFdrjado4UFZsgQgoSq-_W21GLRSw&sig2=zXTM4m7BFX1pmlXZTrakDg&

Luna-González, J. (2007). Reacción tranfusional. *Edigraphic*, Gac Méd Méx Vol.143 Supl 2: 33-37. www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2007/gms072g.pdf. Recuperado el 03 de 03 de 2014, de Reaccion Transfusional: http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CC8QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.medigraphic.com%2Fpdfs%2Fgaceta%2Fgm-2007%2Fgms072g.pdf&ei=a_4VU86KL9LlKafZsoHIBw&usg=AFQjCNG_FlgsqIJZ0TQDpj3ckMikRzHrwa&sig2=NozpRkkgQp7tB9vS3nT_SA&bvm=b

Makroo, R., Bhatia, A., & Gupta, R. &. (2013). Prevalence of Rh, Duffy, Kell, Kidd & MNSs blood group antigens in the Indian blood donor population. *The Indian Journal of Medical Research*, 137(3), 521–526 PMID: 23640559.

- Marín Rojas, R., & León Sánchez, R. (1999). Distribución de los fenotipos y genotipos de sistema Kell en la población de Costa Rica. *Rev. costarric. cienc*, vol.20, n.1-2: 77-81 .ISSN 0253-2948.
- Miale, J. (1995). *Hematología: medicina de laboratorio*. Barcelona: Reverte.
- Mollison, P. (2000). *Transfusión de sangre en medicina clínica*. Madrid: Reverté S.A. ISBN 84-291-5551-1.
- Mota, M. (7 de 10 de 2011). *Actualización en inmunohematología nuevas técnicas diagnósticas*. Recuperado el 03 de 03 de 2014, de http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0C DMQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.hematologia.org%2Fbases%2Farch889.pdf&ei=kZUXU4nwMNSpkAfzioCQCg&usq=AFQjCNFTRiKai4WIEQoUQu6gbHDmE3c-_w&sig2=Lh3hLaJKXJq4nGasuTpclg&bvm=bv.62577051,d.eW0
- Muñiz Dias, E. (2010). Grupos sanguíneos eritrocitarios. En E. Muñiz Días.
- Musa, R., Ahmed, S., Hashim, H., Y, A., Asidin, N., Choo, F.S. (2012). Red cell phenotyping of blood from donors at the National blood center of Malaysia . *Asian Journal of Transfusion Science*, 6(1), 3–9. doi:10.4103/0973-62.
- Oliveria, M., & Gatti, L. (2006). Importancia dos sistemas sanguíneo Rh, Lewis, Duffy, Kell, MNS and KIDD en multitransfundidos. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 1-9 fio.edu.br/cic/anais/2010_ix_cic/pdf/.../31BIO.pdf.
- Onica Armijo S., M. d. (2010). Isoinmunización anti-KELL: Manejo Clínico de 26 Casos. *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología (SciELO)*, 75(2), 91-95 ISSN 0717-7526. Recuperado el 17 de 02 de 2014, de Revista chilena de obstetricia y ginecología: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75262010000200003&script=sci_arttext&tlng=en
- Padmore, R., Berardi, P., Erickson, K., Desjardins, D., Giulivi, A., Tokessy, M., . . . Saldenberg, E. (2014). Acute extravascular hemolytic transfusion reaction due to anti-Kpa antibody missed by electronic crossmatch. *Transfusion and Apheresis Science*, 168-171: doi: 10.1016/j.transci.2014.08.011.
- Passarge, E. (2010). *GENETICA TEXTO Y ATLAS*. Madrid: Editorial Medica Panamericana.

- Pavez Espinoza, Y. (2012). *DSpace Biblioteca Universidad de Talca*. Recuperado el 08 de 02 de 2014, de Frecuencia fenotípica del sistema sanguíneo Kell en donantes voluntarios de sangre en la Región del Maule: <http://dspace.otalca.cl/handle/1950/9010>
- Pérez, N., Claudio, R. T., Ramón, L. L., & Milton, & A. (2012). Frequency of minor histocompatibility antigens among Chilean blood donors. *Revista médica de Chile.*, 140(5), 555-560 dx.doi.org/10.4067/S0034-98872012000500001.
- Race, D. R. (2010). *Los 8 sistema de grupos sanguíneos y sus aplicaciones prácticas*. Barcelona: La Escocesa. www.raco.cat/index.php/AnalesMedicina/article/download/.../253017.
- Rafael Marín Rojas, R. L. (06 de 1999). Distribución de los fenotipos y genotipos de sistema Kell en la población de Costa Rica. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas (Scielo)*. Recuperado el 22 de 02 de 2014, de Revista Costarricense de Ciencias Médicas: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0253-29481999000100008&script=sci_arttext
- Roitt. (2008). *Inmunología. Fundamentos*. Buenos Aires: Panamericana Médica.
- Sánchez-Girón, F., Quintanar-García, E., Alcaraz, J. L., & Jill Storry, D. M. (10 de 07 de 2002). Reacción hemolítica transfusional tardía por anti-Kpb (KEL4) reporte del primer caso de anti-Kpb en la República Mexicana. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 46(3):143-6 Id:254608. Recuperado el 17 de 02 de 2014, de <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-1999/pt993c.pdf>
- Sean R. Stowell, K. L. (2013). Alloantibodies to a paternally derived RBC KEL antigen lead to hemolytic disease of the fetus/newborn in a murine model. *American Society of Hematology*.
- Siransy Bogui, L., Dembele, B., Sekongo, Y., Abisse, S., & Konaté, S. &. (2014). Phenotypic Profile of Rh and Kell Blood Group Systems among Blood Donors in Cote d'Ivoire, West Africa. *Journal of Blood Transfusion*, 309817. doi:10.1155/2014/3.
- Stowell, S., Henry, K., Smith, N., Hudson, K., Halverson, G., Park, J., & Hendrickson, J. (2013). Alloantibodies to a paternally derived RBC KEL antigen lead to hemolytic disease of the fetus/newborn in a murine model. *Blood*, 122(8), 1494-1504. doi: 10.1182/blood-2013-03-488874.


- Ulloa, A. (2012). Análisis retrospectivo de la frecuencia y tipo de anticuerpos irregulares en donantes voluntarios de sangre del Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana. *Tesis*, Repositorio Digital PUCE.
- Watkins, C., Litchfield, J., Song, E., Jaishankar, G., Misra, N., Holla, N., & Krishanaswamy, G. (2011). Chronic granulomatous disease, the McLeod phenotype and contiguous gene deletion syndrome a review. *Clinical and Molecular Allergy*, 9 (13):doi:10.1186/1476-7961-9-13.
- Weiner. (Disp N° 1076/89 Anti-A; Disp N° 1073/89 Anti-B; Disp N° 1071/89 Anti-AB). Anti-A, Anti-B o Anti-AB monoclonal. *Weiner Laboratorios S.A.I.C.*

4.6 ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento Informado-Hoja de donación

Grupo Sanguineo

SECRETARÍA NACIONAL DE BANCOS DE SANGRE



BANCO DE SANGRE

FECHA

CIUDAD

PROVINCIA

Estimado donante le agradecemos por su gesto solidario al acercarse a dar su sangre de manera altruista voluntaria para ayudar a salvar hasta 4 vidas por cada donación. De la información que usted honestamente nos brinde depende la seguridad de la sangre que nosotros entregamos a quien lo necesita. Es por esto que a su sangre se le realizarán algunas pruebas de laboratorio para investigar la presencia de posibles enfermedades e infecciones transmisibles por la sangre. Le recordamos que nuestro compromiso es mantener absoluta reserva y confidencialidad de la información que obtengamos del cuestionario, chequeo medico, interrogatorio y pruebas de laboratorio.

Si usted cree que su sangre no debe ser usada, por favor comuníquese a quien lo examine para mayor información o tome usted la decisión de no donar. También debe saber que es posible que alguna parte de su sangre no sea usada y que podría desecharse. Si usted ha decidido ser donante, tenga la seguridad que su sangre esta bien utilizada.

BIENVENIDO AL GRUPO DE DONANTES VOLUNTARIOS ALTRUISTAS Y REPETITIVOS QUE SALVAN VIDAS

■ DATOS PERSONALES

Apellidos	Nombres
Estado civil	Lugar y Fecha de Nacimiento
CI o pasaporte	Lugar y dirección de su domicilio
Ocupación	Lugar y dirección de su trabajo
Edad	Teléfono /Celular
E-mail	Sexo

■ CUESTIONARIO MARQUE CON SU RESPUESTA

El objetivo de este interrogatorio al que usted se somete voluntariamente, pretende preservar la salud del enfermo que recibe su sangre.

		DIA	MES	AÑO	
1 Indique la fecha y lugar de su última donación. Ciudad					1
2 ¿ Esta usted dispuesto a donar sangre ?	SI		NO		2
3 ¿ Ha sido impedido de donar sangre alguna vez?	SI		NO		3
4 ¿ Ha sufrido algun pinchazo o corte con objetos cortopunzantes en los últimos 12 meses ?	SI		NO		4
5 ¿ Ha tenido Hepatitis, se han puesto sus ojos o piel amarillos (ictericia) o ha estado en contacto con pacientes con hepatitis ?	SI		NO		5
6 ¿ Usted o su pareja recibieron sangre o componente, o trasplante de órganos en los últimos doce meses?	SI		NO		6
7 ¿ Se ha hecho tatuajes, orificios, pircings, maquillaje permanente, acupuntura o mesoterapia en los últimos doce meses?	SI		NO		7
8 ¿ Ha tenido Dengue, Paludismo o Chagas?	SI		NO		8
9 ¿ Ha estado en tratamiento dental en los últimos tres días?	SI		NO		9
10 ¿ Ha recibido algún medicamento en el último mes ?	SI		NO		10
11 ¿ Ha tomado Aspirina, analgésicos y/o antiinflamatorios en los últimos tres días ?	SI		NO		11
12 ¿ Sufre de ataques epilépticos, mareos o pérdida de conocimiento ?	SI		NO		12
13 ¿ Presenta al momento alguna alergia ?	SI		NO		13
14 ¿ Sufre de los pulmones, riñones, hígado, sangre, corazón u otros ?	SI		NO		14
15 ¿ Sufre de diabetes, tuberculosis u otra enfermedad crónica?	SI		NO		15
16 ¿ Le han operado o realizado algún tipo de intervención o procedimiento médico en los últimos doce meses?	SI		NO		16
17 ¿ Usted o su pareja habitualmente consumen alcohol, tabaco, medicamentos o drogas?	SI		NO		17
18 ¿ Ha observado la presencia de nódulos, tumores o secas en alguna parte de su cuerpo?	SI		NO		18
19 ¿ Ha sido vacunado en los últimos doce meses?	SI		NO		19
20 ¿ Tiene usted vida sexual activa?	SI		NO		20
21 ¿ Ha estado detenido en alguna cárcel en los últimos doce meses?	SI		NO		21
22 ¿ Ha estado fuera del país en los últimos doce meses?	SI		NO		22
23 ¿ Tuvo o fue tratado de sífilis o gonorrea en los últimos doce meses?	SI		NO		23
24 ¿ En los últimos doce meses le pagó a alguien para tener relaciones sexuales?	SI		NO		24
25 ¿ En los últimos doce meses tuvo relaciones sexuales con alguien que usaba drogas?	SI		NO		25
26 ¿ Alguna vez recibió dinero o drogas para tener relaciones sexuales?	SI		NO		26
27 ¿ En los últimos doce meses tuvo usted o su pareja relaciones sexuales con otras personas?	SI		NO		27
28 ¿ Recibió usted dinero o alguna compensación para donar sangre?	SI		NO		28
29 ¿ Ha recibido hormona de crecimiento o tuvo usted o algún pariente la enfermedad de Creutzfeld-Jacob(enfermedad de vacas locas)?	SI		NO		29
30 ¿ Dona usted sangre solamente para que se le haga el análisis de VIH o SIDA ?	SI		NO		30
31 ¿ Leyó y comprendió este cuestionario y fueron contestadas todas las dudas al respecto?	SI		NO		31
EXCLUSIVAMENTE PARA MUJERES					
32 ¿ Está usted embarazada o da de lactar?	SI		NO		32
33 ¿ Fecha de su última menstruación? día _____ mes _____ año _____	SI		NO		33

Yo, _____, declaro que la información confidencial que he proporcionado es verdadera y en caso contrario asumo toda responsabilidad. Además autorizo a que se realicen los exámenes necesarios, incluyendo VIH para el uso de mi sangre y estoy informado acerca de las reacciones indeseables que puedan presentarse con la donación de sangre. Para constancia de lo antes dicho, **firmo**.

Firma del donante o huella digital

Número de cédula de identidad

MUCHAS GRACIAS, SU SANGRE NOS AYUDARA A SALVAR VIDAS.

FOS - 10

POSTDONACION O AUTOEXCLUSION

LUEGO DE LA INFORMACION RECIBIDA ¿ CONSIDERA USTED QUE SU SANGRE ES BUENA PARA

Anexo 2: Control de Calidad de Antisueros SABO, anti-D y K, k, Kp^a, Kp^b

Prueba de Aidez:

1. Placa o Portaobjetos
2. Segmento de manguera de la unidad de sangre.
3. Colocar 1 gotas de sangre total y 1 gota del reactivo.
4. Cronometrar desde el momento de la unión de la sangre y el respectivo reactivo a ser validado
5. Observar el inicio de la aglutinación con la ayuda de la lámpara de lectura y anotar el tiempo en que se forma la aglutinación.

Prueba de Afinidad:

1. Enumerar los tubos de acuerdo al reactivo a ser evaluado
2. Células comerciales casa Vitros (A, B, K, Kp^a, Kp^b, k).
3. Colocar 1 gota de la suspensión junto con 1 gota de cada reactivo, respectivamente.
4. Incubar por 2 horas a temperatura ambiente.
5. Centrifugar a 3.000 rpm por 15 segundos.
6. Observar la aglutinación con la ayuda de la lámpara de lectura y anotar por cruces (+) la mayor aglutinación que llega a formarse.

Prueba de Potencia:

1. Enumerar los tubos de acuerdo a la dilución realizada 1:2 a 1:36 ó 1:512 dependiendo del reactivo a ser validado
2. Células comerciales casa Vitros (A, B, K, Kp^a, Kp^b, k).
3. Preparar dilución con solución salina de cada reactivo individualmente desde 1:2 hasta 1:512
4. Colocar 2 gotas de la suspensión de eritrocitos en cada tubo de dilución que contenga 2 gotas del reactivo.
5. Centrifugar a 3.000 rpm por 15 segundos.
6. Observar la aglutinación con la ayuda de la lámpara de lectura y anotar la mayor dilución a la que llega cada reactivo en su aglutinación.

Prueba de Especificidad:

1. Enumerar los tubos de acuerdo a cada reactivo
2. Células de casa comercial Vitro (A, B, K, Kp^a, Kp^b, k)
3. Colocar 2 gotas de la suspensión junto con 2 gotas de cada reactivo, respectivamente.
4. Incubar por 2 horas a temperatura ambiente.
5. Centrifugar a 3.000 rpm por 15 segundos.
6. Observar aglutinación en este caso, todos son específicos para el antígeno que se muestra en el reactivo.

Referencias del control de calidad

Control de calidad del Reactivo Anti-A

	Potencia	afinidad	avidez
Valores de referencia	Dilución máxima	Reactivo no diluido	Reactivo sin diluir
Franco, 2003	1/128 (A1) 1/64(A2)	(++++) Grumo completo bien formado	(2 a 3") A1 (3 a 5") A2
AABB, 2012	1/128 (A1) 1/64(A2)	(+++ grumo disperso	(AABB,2012)
		Referencia de los dos autores	

Control de Calidad del Reactivo Anti-B

	Potencia	Afinidad	avidez
Valores de referencia	Dilución máxima	Reactivo no diluido	Reactivo sin diluir
Franco, 2003	1/128 (B)	(++++) Grumo completo bien formado	(2 a 3") B (AABB,2012)
AABB, 2012	1/128 (B)		

	Potencia	Afinidad	avidez
	Anti-Kp ^a , Anti-Kp ^b , Anti-Kell, Anti-Cellano		
Valores de referencia	Dilución máxima	Reactivo no diluido	Reactivo sin diluir
AABB, 2012	1/164	(++++) Grumo completo bien formado	(5 a 8")


Fuente: AABB, 2012.

Anexo 3: Ejemplo de muestreo aleatorio simple en Excel con un n=150

72	123	24	139
169	30	68	180
165	131	177	120
146	64	113	180
76	149	43	181
15	134	141	93
119	79	137	89
70	182	138	106
168	32	191	133
85	17	129	1
79	62	58	138
63	114	175	82
192	78	79	61
182	54	144	171
129	74	69	184
39	163	177	199
151	108	2	174
53	162	72	119
110	70	141	114
81	86	120	56
189	37	86	80
95	96	69	76
44	166	98	73
172	17	87	157
143	17	153	31
13	64	49	10
179	22	69	151
24	25	124	89
41	23	125	86
147	63	180	189
183	95	129	179

Fuente: Base de datos del autor.

Anexo 4. Técnica para determinación de antígenos Kell- American Red Cross



**Anti-K^a
Blood Grouping Reagent**

INTENDED USE
American Red Cross (Red Cross) Anti-K Blood Grouping Reagent is used for testing human red blood cells by the indirect antiglobulin test.

SUMMARY AND EXPLANATION
The K (K^a) blood group antigen was first described in 1946 by Coombs, Mourant and Race¹ and was the first antigen assigned to the Kell blood group system. Since then, the Kell blood group system has expanded to include more than 20 well defined, discrete antigens. Examples of anti-K are usually produced in response to immunization by transfusion or pregnancy. They are usually IgG in nature and react primarily by the indirect antiglobulin test (IAT), but saline reactive/IgM examples have also been reported. Anti-K has been reported to cause transfusion reactions and hemolytic disease of the fetus and newborn (HDN).

The K antigen is found in approximately 9% of Caucasians, approximately 3.5% of Blacks and is extremely rare in Oriental people of eastern Asia and America.

PRINCIPLE OF PROCEDURE
American Red Cross (Red Cross) Anti-K reagent is used for testing human red blood cells. Following incubation, the red blood cells are washed free of unbound serum proteins and an Anti-Human Globulin reagent is added. Agglutination indicates the presence of the K antigen on the red blood cells and is interpreted as a positive result. Lack of agglutination indicates the absence of the K antigen and is interpreted as a negative result.

REAGENT
Each lot of Red Cross Anti-K is prepared from a pool of human sera that has been processed to remove unwanted antibodies and provide a potent and specific reagent that meets or exceeds the requirements of the Food and Drug Administration (FDA). Each lot is standardized for pH and protein concentration, and may contain sodium chloride, sodium or potassium phosphates, bovine albumin, and high molecular weight polymers to enhance agglutination. The bovine albumin component of this product is derived exclusively from United States sources of disease-free cattle, inspected and certified by the US Veterinary Services. This ruminant-based product is made to have low Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) risk. The total protein concentration is 3-7%.

Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) risk. The total protein concentration is 3-7%. The product contains sodium azide (final concentration of 0.1%) as a preservative.

Red Cross Anti-K is for in vitro diagnostic use and is supplied ready for use, no dilution or modification is required.

CAUTION: All blood products should be treated as potentially infectious. Source material from which this product was derived was found negative when tested in accordance with current FDA required tests. No known test methods can offer assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents.

Caution: This Product Contains Natural Rubber Latex (Dropper Bulbs) Which May Cause Allergic Reactions.

Warning: Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. If discarded into sinks, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

STORAGE
Store at 1-8 C when not in use.

Even though this product is clear following filtration, soluble lipoproteins may precipitate over the dating period. Absorbents during the manufacturing process may cause the reagent to appear dark in color. These conditions are not signs of deterioration. Deterioration is recognized through serologic testing ordinarily performed routinely with control red blood cells.

Bacterial or fungal contamination may cause erroneous results.

Do not use beyond expiration date. The format for the expiration date is expressed as COMMMYY (day month year).

*t=0.0001116 radius (cm) x (rpm)²

- Pipette
- Centrifuge
- Isoionic saline (pH 6.0 - 7.5)
- Incubating and support control cells
- Antigen positive and negative control cells
- Anti-Human Globulin containing anti-IgG
- Antiglobulin control cells (IgG sensitized red blood cells)
- Time
- Optical aid (optional)

PROCEDURE

- Prepare a 2-4% suspension of red blood cells washed at least once with isotonic saline.
- Add 1 drop of Red Cross Anti-K to an appropriately labeled test tube.
- Add 1 drop of the previously prepared 2-4% red blood cell suspension.
- Mix well.
- Incubate the tube at 36-38 C for 15-30 minutes.
- Wash the red blood cells at least 3 times with isotonic saline. Ensure that all the saline is decanted and that the red blood cells are resuspended between washes.
- Add Anti-Human Globulin containing anti-IgG according to the manufacturer's directions. (Anti-IgG or poly-specific Anti-Human Globulin may be used in the test system.)
- Mix well and centrifuge the tube for 15 seconds at 3400 rpm (1000-1000 rpm) or 1 minute at 1000 rpm (100-120 rpm) or equivalent, as indicated by equipment quality control calibration.
- Resuspend the red blood cells by gentle agitation. Read macroscopically for agglutination and record results. An optical aid may be used in reading, if desired.
- Add antiglobulin control cells to all negative tests and centrifuge as above. Agglutination of the antiglobulin control cells confirms the presence of active anti-IgG. No agglutination of the antiglobulin control cells may indicate that the antiglobulin reagent has been neutralized or omitted and that tests should be repeated.

*t=0.0001116 radius (cm) x (rpm)²

All negative test results should be tested with antiglobulin control cells (IgG sensitized red blood cells).

INTERPRETATION OF RESULTS
Agglutination of the red blood cells is a positive (+) test result and indicates the presence of the K antigen. No agglutination and correct performance with antiglobulin control cells is a negative (-) test result and indicates the absence of the K antigen. Hemolysis, if obtained, should not be interpreted as a positive result since the conditions for complement activation due to a red blood cell antibody-antigen reaction do not exist.

LIMITATIONS
All serological tests have limitations. To maximize success in obtaining valid results, follow the directions for use carefully. Deviations from manufacturer's instructions without appropriate validation and controls may produce erroneous results.

- Red blood cells must be washed with adequate volumes of isotonic saline to avoid possible neutralization of Anti-Human Globulin reagent by residual serum proteins.
- Resuspended red blood cells in isotonic saline or other appropriate solution. The pH of saline may affect the stability of the reaction. It is recommended that the pH be 6.0 - 7.5.

Erroneous results may also be caused by:

- Aged blood specimens yielding weaker reactions.
- Cell suspensions outside of the recommended concentration.
- Red blood cells with a positive direct antiglobulin test.
- Microscopic examination of materials.
- Contaminated samples or materials.
- Bacterial or fungal contamination.
- Some drug/disease states.
- Improper centrifugation. Centrifugation equipment should be calibrated and checked regularly to insure correct operation.
- Improper incubation time and temperature.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS
Red Cross Anti-K has been manufactured to meet or exceed FDA potency requirements. Each lot is tested against a panel of antigen-positive red blood cells to assure appropriate reactivity when used by the recommended test procedure. The specificity of each lot is verified by the recommended tube method using a panel of red blood cells which lack the antigen against which the reagent is directed, but carry as many other antigens as possible having a frequency of 1% or greater. When direct exclusion is not possible, e.g. due to rarity of red blood cells, contaminants may be excluded by selective adsorption techniques.

Specify test results submitted to the FDA for release of an individual lot of product will be furnished upon request.

For technical questions, contact the American Red Cross Diagnostic Manufacturing Division at 1-800-880-3737.


BIBLIOGRAPHY

- Issitt PD, Anstee DJ. Applied Blood Group Serology, 4th ed. Durham, NC, Montgomery Scientific Publications, 1998.
- Roback JD, ed. Technical Manual, 16th ed. Bethesda, MD: AABB, 2008.

For Optional Use by User:

Lot Number: _____

Expiration: _____



**Anti-K^a
Blood Grouping Reagent**

For Testing Human Red Blood Cells by the Indirect Antiglobulin Test

Directions For Use Disclosed For In Vitro Diagnostic Use

Meets FDA Potency Requirements

Contains 0.1% Sodium Azide

Store at 1-8 C

CAUTION: All blood products should be treated as potentially infectious

The American National Red Cross

Washington, DC 20008

US License 190

1-0008 v1 (10/2010)

Do not use beyond expiration date. The format for the expiration date is expressed as COMMMYY (day month year).

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION
No special preparation of the patient or donor is required prior to specimen collection. Clotted blood or blood drawn into an approved anticoagulant may be used. Blood drawn into heparin or citrate should be tested within 2 days. Clotted samples or blood drawn in EDTA or sodium citrate should be tested within 14 days. Donor blood may be tested up to the expiration date. Store specimens at 1-8 C when not required for testing. Storage may result in weak-to-normal reactions.

MATERIALS
Materials provided:
1. American Red Cross Anti-K
Materials required but not supplied:
1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Test tube racks

STABILITY OF REACTION
Tests should be read and results recorded immediately following centrifugation. Delays may result in dissociation of antigen-antibody complexes and result in weaker or, in some cases, false negative results.

Consideration must be given to the time it takes to process, read and record each group of tests. It is the responsibility of the user to determine the most practical number of samples that can be tested at one time that provides for a consistent test process and keeps delays at a minimum.

QUALITY CONTROL
Controls of known antigen positive cells, preferentially with heterologous expansion, and known antigen negative cells should be used to confirm reactivity of the reagent on each day of use.

7. Antigen positive and negative control cells

8. Anti-Human Globulin containing anti-IgG

9. Antiglobulin control cells (IgG sensitized red blood cells)

10. Time

11. Optical aid (optional)

PROCEDURE

- Prepare a 2-4% suspension of red blood cells washed at least once with isotonic saline.
- Add 1 drop of Red Cross Anti-K^a to an appropriately labeled test tube.
- Add 1 drop of the previously prepared 2-4% red blood cell suspension.
- Mix well.
- Incubate the tube at 36-38 C for 15-30 minutes.
- Wash the red blood cells at least 3 times with isotonic saline. Ensure that all the saline is decanted and that the red blood cells are resuspended between washes.
- Add Anti-Human Globulin containing anti-IgG according to the manufacturer's directions. (Anti-IgG or poly-specific Anti-Human Globulin may be used in the test system.)
- Mix well and centrifuge the tube for 15 seconds at 3400 rpm (1000-1000 rpm) or 1 minute at 1000 rpm (100-120 rpm) or equivalent, as indicated by equipment quality control calibration.
- Resuspend the red blood cells by gentle agitation. Read macroscopically for agglutination and record results. An optical aid may be used in reading, if desired.
- Add antiglobulin control cells to all negative tests and centrifuge as above. Agglutination of the antiglobulin control cells confirms the presence of active anti-IgG. No agglutination of the antiglobulin control cells may indicate that the antiglobulin reagent has been neutralized or omitted and that tests should be repeated.

*t=0.0001116 radius (cm) x (rpm)²

For technical questions, contact the American Red Cross Diagnostic Manufacturing Division at 1-800-880-3737.

BIBLIOGRAPHY

- Issitt PD, Anstee DJ. Applied Blood Group Serology, 4th ed. Durham, NC, Montgomery Scientific Publications, 1998.
- Roback JD, ed. Technical Manual, 16th ed. Bethesda, MD: AABB, 2008.

For Optional Use by User:

Lot Number: _____

Expiration: _____



**Anti-K^a
Blood Grouping Reagent**

For Testing Human Red Blood Cells by the Indirect Antiglobulin Test

Directions For Use Disclosed For In Vitro Diagnostic Use

Meets FDA Potency Requirements

Contains 0.1% Sodium Azide

Store at 1-8 C


CAUTION: All blood products should be treated as potentially infectious

The American National Red Cross

Washington, DC 20008

US License 190

1-0008 v1 (10/2010)



**Anti-Kp^b
Blood Grouping Reagent**

INTENDED USE
American Red Cross (Red Cross) Anti-Kp^b Blood Grouping Reagent is used for testing human red blood cells by the indirect antiglobulin test.

SUMMARY AND EXPLANATION
The Kp^b (K^b) blood group antigen was first described in 1957 by Allen and Lewis¹ and was subsequently assigned to the Kell blood group system. Today, the Kell blood group system has expanded to include more than 20 well defined, discrete antigens. Examples of anti-Kp^b are usually produced in response to immunization by transfusion or pregnancy. They are usually IgG in nature and react primarily by the indirect antiglobulin test (IAT), but saline reactive/IgM examples have also been reported. Anti-Kp^b has been reported to cause transfusion reactions and hemolytic disease of the fetus and newborn (HDN).

The Kp^b antigen is found in approximately 2% of Caucasians and <0.1% of Blacks and Oriental people of eastern Asia and America.

PRINCIPLE OF PROCEDURE
American Red Cross (Red Cross) Anti-Kp^b reagent is used for testing human red blood cells. Following incubation, the red blood cells are washed free of unbound serum proteins and an Anti-Human Globulin reagent is added. Agglutination indicates the presence of the Kp^b antigen on the red blood cells and is interpreted as a positive result. Lack of agglutination indicates the absence of the Kp^b antigen and is interpreted as a negative result.

REAGENT
Each lot of Red Cross Anti-Kp^b is prepared from a pool of human sera that has been processed to remove unwanted antibodies and provide a potent and specific reagent that meets or exceeds the requirements of the Food and Drug Administration (FDA). Each lot is standardized for pH and protein concentration, and may contain sodium chloride, sodium or potassium phosphates, bovine albumin, and high molecular weight polymers to enhance agglutination. The bovine albumin component of this product is derived exclusively from United States sources of disease-free cattle, inspected and certified by the US Veterinary Services. This ruminant-based product is made to have low Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) risk. The total protein concentration is 3-7%.

Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) risk. The total protein concentration is 3-7%. The product contains sodium azide (final concentration of 0.1%) as a preservative.

Red Cross Anti-Kp^b is for in vitro diagnostic use and is supplied ready for use, no dilution or modification is required.

CAUTION: All blood products should be treated as potentially infectious. Source material from which this product was derived was found negative when tested in accordance with current FDA required tests. No known test methods can offer assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents.

Caution: This Product Contains Natural Rubber Latex (Dropper Bulbs) Which May Cause Allergic Reactions.

Warning: Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. If discarded into sinks, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

STORAGE
Store at 1-8 C when not in use.

Even though this product is clear following filtration, soluble lipoproteins may precipitate over the dating period. Absorbents during the manufacturing process may cause the reagent to appear dark in color. These conditions are not signs of deterioration. Deterioration is recognized through serologic testing ordinarily performed routinely with control red blood cells.

Bacterial or fungal contamination may cause erroneous results.

Do not use beyond expiration date. The format for the expiration date is expressed as COMMMYY (day month year).

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION
No special preparation of the patient or donor is required prior to specimen collection. Clotted blood or blood drawn into an approved anticoagulant may be used. Blood drawn into heparin or citrate should be tested within 2 days. Clotted samples or blood drawn in EDTA or sodium citrate should be tested within 14 days. Donor blood may be tested up to the expiration date. Store specimens at 1-8 C when not required for testing. Storage may result in weak-to-normal reactions.

MATERIALS
Materials provided:
1. American Red Cross Anti-Kp^b
Materials required but not supplied:
1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Test tube racks

7. Antigen positive and negative control cells

8. Anti-Human Globulin containing anti-IgG

9. Antiglobulin control cells (IgG sensitized red blood cells)

10. Time

11. Optical aid (optional)

PROCEDURE

- Prepare a 2-4% suspension of red blood cells washed at least once with isotonic saline.
- Add 1 drop of Red Cross Anti-Kp^b to an appropriately labeled test tube.
- Add 1 drop of the previously prepared 2-4% red blood cell suspension.
- Mix well.
- Incubate the tube at 36-38 C for 15-30 minutes.
- Wash the red blood cells at least 3 times with isotonic saline. Ensure that all the saline is decanted and that the red blood cells are resuspended between washes.
- Add Anti-Human Globulin containing anti-IgG according to the manufacturer's directions. (Anti-IgG or poly-specific Anti-Human Globulin may be used in the test system.)
- Mix well and centrifuge the tube for 15 seconds at 3400 rpm (1000-1000 rpm) or 1 minute at 1000 rpm (100-120 rpm) or equivalent, as indicated by equipment quality control calibration.
- Resuspend the red blood cells by gentle agitation. Read macroscopically for agglutination and record results. An optical aid may be used in reading, if desired.
- Add antiglobulin control cells to all negative tests and centrifuge as above. Agglutination of the antiglobulin control cells confirms the presence of active anti-IgG. No agglutination of the antiglobulin control cells may indicate that the antiglobulin reagent has been neutralized or omitted and that tests should be repeated.

*t=0.0001116 radius (cm) x (rpm)²

All negative test results should be tested with antiglobulin control cells (IgG sensitized red blood cells).

INTERPRETATION OF RESULTS
Agglutination of the red blood cells is a positive (+) test result and indicates the presence of the Kp^b antigen. No agglutination and correct performance with antiglobulin control cells is a negative (-) test result and indicates the absence of the Kp^b antigen. Hemolysis, if obtained, should not be interpreted as a positive result since the conditions for complement activation due to a red blood cell antibody-antigen reaction do not exist.

LIMITATIONS
All serological tests have limitations. To maximize success in obtaining valid results, follow the directions for use carefully. Deviations from manufacturer's instructions without appropriate validation and controls may produce erroneous results.

- Red blood cells must be washed with adequate volumes of isotonic saline to avoid possible neutralization of Anti-Human Globulin reagent by residual serum proteins.
- Resuspended red blood cells in isotonic saline or other appropriate solution. The pH of saline may affect the stability of the reaction. It is recommended that the pH be 6.0 - 7.5.

Erroneous results may also be caused by:

- Aged blood specimens yielding weaker reactions.
- Cell suspensions outside of the recommended concentration.
- Red blood cells with a positive direct antiglobulin test.
- Microscopic examination of materials.
- Contaminated samples or materials.
- Bacterial or fungal contamination.
- Some drug/disease states.
- Improper centrifugation. Centrifugation equipment should be calibrated and checked regularly to insure correct operation.
- Improper incubation time and temperature.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS
Red Cross Anti-Kp^b has been manufactured to meet or exceed FDA potency requirements. Each lot is tested against a panel of antigen-positive red blood cells to assure appropriate reactivity when used by the recommended test procedure. The specificity of each lot is verified by the recommended tube method using a panel of red blood cells which lack the antigen against which the reagent is directed, but carry as many other antigens as possible having a frequency of 1% or greater. When direct exclusion is not possible, e.g. due to rarity of red blood cells, contaminants may be excluded by selective adsorption techniques.

Specify test results submitted to the FDA for release of an individual lot of product will be furnished upon request.

For technical questions, contact the American Red Cross Diagnostic Manufacturing Division at 1-800-880-3737.

BIBLIOGRAPHY

- Issitt PD, Anstee DJ. Applied Blood Group Serology, 4th ed. Durham, NC, Montgomery Scientific Publications, 1998.
- Roback JD, ed. Technical Manual, 16th ed. Bethesda, MD: AABB, 2008.

For Optional Use by User:

Lot Number: _____

Expiration: _____

Anexo 4. Técnica para determinación de antígenos Kell- American Red Cross



INTENDED USE
American Red Cross (Red Cross) Anti-Kp Blood Grouping Reagent is used for testing human red blood cells by the indirect antiglobulin test.

SUMMARY AND EXPLANATION
The Kp^a (K4) blood group antigen was first described in 1959 by Allen, Lewis and Fudenberg¹ and was subsequently assigned to the Kell blood group system. Today, the Kell blood group system has expanded to include more than 20 well defined, discrete antigens. Examples of anti-Kp^a are usually produced in response to immunization by transfusion or pregnancy. They are usually IgG in nature and react primarily by the indirect antiglobulin test (IAT). Anti-Kp^a has been reported to cause transfusion reactions and hemolytic disease of the fetus and newborn (HDN).

The Kp^a antigen is found in 90% of Caucasians, Blacks and Oriental people of eastern Asia and America.¹

PRINCIPLE OF PROCEDURE
American Red Cross (Red Cross) Anti-Kp^a reacts optimally by the indirect antiglobulin test after a 37°C incubation with washed red blood cells. Following incubation, the red blood cells are washed free of unbound serum proteins and an Anti-Human Globulin reagent is added. Agglutination indicates the presence of the Kp^a antigen on the red blood cells and is interpreted as a positive result. Lack of agglutination indicates the absence of the Kp^a antigen and is interpreted as a negative result.

REAGENT
Each kit of Red Cross Anti-Kp^a is prepared from a pool of human sera that has been processed to remove unwanted antibodies and provide a potent and specific reagent that meets or exceeds the requirements of the Food and Drug Administration (FDA). Each kit is standardized for pH and protein concentration, and may contain sodium chloride, sodium or potassium phosphates, bovine albumin, and high molecular weight polymers to enhance agglutination. The bovine albumin component of this product is derived exclusively from United States sources of disease-free cattle, inspected and certified by the US Veterinary Services. This tumour-based product is deemed to have low Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) risk. The total protein concentration is 3-7%. The product contains sodium azide (final concentration of 0.1%) as a preservative.

Red Cross Anti-Kp^a is for in vitro diagnostic use and is supplied ready for use, no dilution or modification is required.

CAUTION: All blood products should be treated as potentially infectious. Source material from which this product was derived was found negative when tested in accordance with current FDA required tests. No known test methods can offer assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents.

Caution: This Product Contains Natural Rubber Latex (Dropper Bulbs) Which May Cause Allergic Reactions.

Warning: Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. If discarded into sinks, flush with a large volume of water to prevent azide buildup.

STORAGE
Store at 1-4°C when not in use.
Even though this product is clear following filtration, soluble lipoproteins may precipitate over the shelf period. Absorptions during the manufacturing process may cause the reagent to appear dark in color. These conditions are not signs of deterioration. Deterioration is recognized through serologic testing ordinarily performed routinely with control red blood cells.

Bacterial or fungal contamination may cause erroneous results.

Do not use beyond expiration date. The format for the expiration date is expressed as COMMMYY (day month year).

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION
No special preparation of the patient or donor is required prior to specimen collection. Clotted blood or blood drawn into an approved anticoagulant may be used. Blood drawn into heparin or oxalate should be tested within 2 days. Clotted samples or blood drawn in EDTA or sodium citrate should be tested within 14 days. Donor blood may be tested up to the expiration date. Store specimens at 1-4°C when not required for testing. Storage may result in weak-to-thus-normal reactions.

MATERIALS
Materials included
1. American Red Cross Anti-Kp^a
Materials required but not supplied
1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Test tube racks
3. Pipettes
4. Centrifuge
5. Isonic saline (pH 6.0 - 7.5)
6. Incubating and support equipment
7. Antigen positive and negative control cells
8. Anti-Human Globulin containing anti-IgG

The product contains sodium azide (final concentration of 0.1%) as a preservative.

Red Cross Anti-K^a is for in vitro diagnostic use and is supplied ready for use, no dilution or modification is required.

CAUTION: All blood products should be treated as potentially infectious. Source material from which this product was derived was found negative when tested in accordance with current FDA required tests. No known test methods can offer assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents.

Caution: This Product Contains Natural Rubber Latex (Dropper Bulbs) Which May Cause Allergic Reactions.

Warning: Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. If discarded into sinks, flush with a large volume of water to prevent azide buildup.

STORAGE
Store at 1-4°C when not in use.
Even though this product is clear following filtration, soluble lipoproteins may precipitate over the shelf period. Absorptions during the manufacturing process may cause the reagent to appear dark in color. These conditions are not signs of deterioration. Deterioration is recognized through serologic testing ordinarily performed routinely with control red blood cells.

Bacterial or fungal contamination may cause erroneous results.

Do not use beyond expiration date. The format for the expiration date is expressed as COMMMYY (day month year).

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION
No special preparation of the patient or donor is required prior to specimen collection. Clotted blood or blood drawn into an approved anticoagulant may be used. Blood drawn into heparin or oxalate should be tested within 2 days. Clotted samples or blood drawn in EDTA or sodium citrate should be tested within 14 days. Donor blood may be tested up to the expiration date. Store specimens at 1-4°C when not required for testing. Storage may result in weak-to-thus-normal reactions.

MATERIALS
Materials included
1. American Red Cross Anti-K^a
Materials required but not supplied
1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Test tube racks
3. Pipettes
4. Centrifuge
5. Isonic saline (pH 6.0 - 7.5)

9. Antiglobulin control cells (IgG sensitized red blood cells)
10. Timer
11. Optical aid (optional)

- PROCEDURE**
1. Prepare a 2-4% suspension of red blood cells washed at least once with isotonic saline.
 2. Add 1 drop of Red Cross Anti-K^a to an appropriately labeled test tube.
 3. Add 1 drop of the previously prepared 2-4% red blood cell suspension.
 4. Mix well.
 5. Incubate the tube at 36-38°C for 15-30 minutes.
 6. Wash the red blood cells at least 3 times with isotonic saline. Ensure that all the saline is decanted and that the red blood cells are resuspended between washes.
 7. Add Anti-Human Globulin containing anti-IgG according to the manufacturer's directions. (Anti-IgG or polyclonal Anti-Human Globulin may be used in the test system.)
 8. Mix well and centrifuge the tube for 15 seconds at 3400 rpm (900-1000 rpm) or 1 minute at 1000 rpm (100-200 rpm) or equivalent, as indicated by equipment quality control calibration.
 9. Resuspend the red blood cells by gentle agitation. Read microscopically for agglutination and record results. An optical aid may be used in reading, if desired.
 10. Add antiglobulin control cells to all negative tests and centrifuge as above. Agglutination of the antiglobulin control cells confirms the presence of active anti-IgG. No agglutination of the antiglobulin control cells may indicate that the antiglobulin reagent has been neutralized or omitted and that tests should be repeated.

*t=0.0001118 x radius (cm) x (rpm)²

STABILITY OF REACTION
Tests should be read and results recorded immediately following centrifugation. Delays may result in dissociation of antigen-antibody complex and result in weaker or, in some cases, false negative results. Consideration must be given to the time it takes to process, read and record each group of tests. It is the responsibility of the user to determine the most practical number of samples that can be tested at one time that provides for a consistent test process and keeps delays at a minimum.

QUALITY CONTROL
Controls of known antigen positive cells, preferentially with heterozygous expression, and known antigen negative cells should be used to confirm reactivity of the reagent on each day of use.
All negative test results should be tested with antiglobulin control cells (IgG sensitized red blood cells).

INTERPRETATION OF RESULTS
Agglutination of the red blood cells is a positive (+) test result and indicates the presence of the Kp^a antigen. No agglutination and correct performance with antiglobulin control cells is a negative (-) test result and indicates the absence of the Kp^a antigen. Hemolysis, if obtained, should not be interpreted as a positive result since the conditions for complement activation due to a red blood cell antibody-antigen reaction do not exist.

6. Incubating and support equipment
7. Antigen positive and negative control cells
8. Anti-Human Globulin containing anti-IgG
9. Antiglobulin control cells (IgG sensitized red blood cells)
10. Timer
11. Optical aid (optional)

- PROCEDURE**
1. Prepare a 2-4% suspension of red blood cells washed at least once with isotonic saline.
 2. Add 1 drop of Red Cross Anti-K^a to an appropriately labeled test tube.
 3. Add 1 drop of the previously prepared 2-4% red blood cell suspension.
 4. Mix well.
 5. Incubate the tube at 36-38°C for 15-30 minutes.
 6. Wash the red blood cells at least 3 times with isotonic saline. Ensure that all the saline is decanted and that the red blood cells are resuspended between washes.
 7. Add Anti-Human Globulin containing anti-IgG according to the manufacturer's directions. (Anti-IgG or polyclonal Anti-Human Globulin may be used in the test system.)
 8. Mix well and centrifuge the tube for 15 seconds at 3400 rpm (900-1000 rpm) or 1 minute at 1000 rpm (100-200 rpm) or equivalent, as indicated by equipment quality control calibration.
 9. Resuspend the red blood cells by gentle agitation. Read microscopically for agglutination and record results. An optical aid may be used in reading, if desired.
 10. Add antiglobulin control cells to all negative tests and centrifuge as above. Agglutination of the antiglobulin control cells confirms the presence of active anti-IgG. No agglutination of the antiglobulin control cells may indicate that the antiglobulin reagent has been neutralized or omitted and that tests should be repeated.

*t=0.0001118 x radius (cm) x (rpm)²

STABILITY OF REACTION
Tests should be read and results recorded immediately following centrifugation. Delays may result in dissociation of antigen-antibody complex and result in weaker or, in some cases, false negative results. Consideration must be given to the time it takes to process, read and record each group of tests. It is the responsibility of the user to determine the most practical number of samples that can be tested at one time that provides for a consistent test process and keeps delays at a minimum.

QUALITY CONTROL
Controls of known antigen positive cells, preferentially with heterozygous expression, and known antigen negative cells should be used to confirm reactivity of the reagent on each day of use.
All negative test results should be tested with antiglobulin control cells (IgG sensitized red blood cells).

antiglobulin control cells is a negative (-) test result and indicates the absence of the Kp^a antigen. Hemolysis, if obtained, should not be interpreted as a positive result since the conditions for complement activation due to a red blood cell antibody-antigen reaction do not exist.

LIMITATIONS
All serological tests have limitations. To maximize success in obtaining valid results, follow the directions for use carefully. Deviations from manufacturer's instructions without appropriate validation and controls may produce erroneous results.

Red blood cells must be washed with adequate volumes of isotonic saline to avoid possible neutralization of Anti-Human Globulin reagent by residual serum proteins.

- Resuspended red blood cells in isotonic saline or other appropriate solution. The pH of saline may affect the stability of the reaction. It is recommended that the pH be 6.0 - 7.5.
- Erroneous results may also be caused by:
- Agged blood specimens yielding weaker reactions.
 - Cell suspensions outside of the recommended concentration.
 - Red blood cells with a positive direct antiglobulin test.
 - Microscopic examination of tests.
 - Contaminated samples or materials.
 - Bacterial or fungal contamination.
 - Some drug/disease states.
 - Improper centrifugation. Centrifugation equipment should be calibrated and checked regularly to insure correct operation.
 - Improper incubation time and temperature.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Red Cross Anti-Kp^a has been manufactured to meet or exceed FDA potency requirements. Each lot is tested against a panel of antigen-positive red blood cells to assure appropriate reactivity when used by the recommended test procedure. The specificity of each lot is verified by the recommended tube method using a panel of red blood cells which lack the antigen against which the reagent is directed, but carry as many other antigens as possible having a frequency of 1% or greater. When direct evaluation is not possible, e.g. due to rarity of red blood cells, contaminants may be excluded by selective adsorption techniques.

Specify test results submitted to the FDA for release of an individual lot of product will be furnished upon request.

For technical questions, contact the American Red Cross Diagnostic Manufacturing Division at 1-800-880-3737.

BIBLIOGRAPHY

1. Issitt PO, Anstee DJ. *Applied Blood Group Serology*, 4th ed. Durham, NC: Montgomery Scientific Publications, 1998.

INTERPRETATION OF RESULTS
Agglutination of the red blood cells is a positive (+) test result and indicates the presence of the K antigen. No agglutination and correct performance with antiglobulin control cells is a negative (-) test result and indicates the absence of the K antigen. Hemolysis, if obtained, should not be interpreted as a positive result since the conditions for complement activation due to a red blood cell antibody-antigen reaction do not exist.

LIMITATIONS
All serological tests have limitations. To maximize success in obtaining valid results, follow the directions for use carefully. Deviations from manufacturer's instructions without appropriate validation and controls may produce erroneous results.

Red blood cells must be washed with adequate volumes of isotonic saline to avoid possible neutralization of Anti-Human Globulin reagent by residual serum proteins.

- Resuspended red blood cells in isotonic saline or other appropriate solution. The pH of saline may affect the stability of the reaction. It is recommended that the pH be 6.0 - 7.5.
- Erroneous results may also be caused by:
- Agged blood specimens yielding weaker reactions.
 - Cell suspensions outside of the recommended concentration.
 - Red blood cells with a positive direct antiglobulin test.
 - Microscopic examination of tests.
 - Contaminated samples or materials.
 - Bacterial or fungal contamination.
 - Some drug/disease states.
 - Improper centrifugation. Centrifugation equipment should be calibrated and checked regularly to insure correct operation.
 - Improper incubation time and temperature.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Red Cross Anti-K has been manufactured to meet or exceed FDA potency requirements. Each lot is tested against a panel of antigen-positive red blood cells to assure appropriate reactivity when used by the recommended test procedure. The specificity of each lot is verified by the recommended tube method using a panel of red blood cells which lack the antigen against which the reagent is directed, but carry as many other antigens as possible having a frequency of 1% or greater. When direct evaluation is not possible, e.g. due to rarity of red blood cells, contaminants may be excluded by selective adsorption techniques.

Specify test results submitted to the FDA for release of an individual lot of product will be furnished upon request.

For technical questions, contact the American Red Cross Diagnostic Manufacturing Division at 1-800-880-3737.

For Optimal Use by User:

Lot Number: _____

Expiration: _____

The American National Red Cross
Washington, DC 20008
U.S. License 100
I-0010 v1.1(04/01)

- Red blood cells must be washed with adequate volumes of isotonic saline to avoid possible neutralization of Anti-Human Globulin reagent by residual serum proteins.
 - Resuspended red blood cells in isotonic saline or other appropriate solution. The pH of saline may affect the stability of the reaction. It is recommended that the pH be 6.0 - 7.5.
- Erroneous results may also be caused by:
- Agged blood specimens yielding weaker reactions.
 - Cell suspensions outside of the recommended concentration.
 - Red blood cells with a positive direct antiglobulin test.
 - Microscopic examination of tests.
 - Contaminated samples or materials.
 - Bacterial or fungal contamination.
 - Some drug/disease states.
 - Improper centrifugation. Centrifugation equipment should be calibrated and checked regularly to insure correct operation.
 - Improper incubation time and temperature.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Red Cross Anti-Kp^a has been manufactured to meet or exceed FDA potency requirements. Each lot is tested against a panel of antigen-positive red blood cells to assure appropriate reactivity when used by the recommended test procedure. The specificity of each lot is verified by the recommended tube method using a panel of red blood cells which lack the antigen against which the reagent is directed, but carry as many other antigens as possible having a frequency of 1% or greater. When direct evaluation is not possible, e.g. due to rarity of red blood cells, contaminants may be excluded by selective adsorption techniques.

Specify test results submitted to the FDA for release of an individual lot of product will be furnished upon request.

For technical questions, contact the American Red Cross Diagnostic Manufacturing Division at 1-800-880-3737.

BIBLIOGRAPHY

1. Issitt PO, Anstee DJ. *Applied Blood Group Serology*, 4th ed. Durham, NC: Montgomery Scientific Publications, 1998.
2. Roback JD, ed. *Technical Manual*, 16th ed. Bethesda, MD: AABB, 2008.

INTERPRETATION OF RESULTS
Agglutination of the red blood cells is a positive (+) test result and indicates the presence of the K antigen. No agglutination and correct performance with antiglobulin control cells is a negative (-) test result and indicates the absence of the K antigen. Hemolysis, if obtained, should not be interpreted as a positive result since the conditions for complement activation due to a red blood cell antibody-antigen reaction do not exist.

LIMITATIONS
All serological tests have limitations. To maximize success in obtaining valid results, follow the directions for use carefully. Deviations from manufacturer's instructions without appropriate validation and controls may produce erroneous results.

Red blood cells must be washed with adequate volumes of isotonic saline to avoid possible neutralization of Anti-Human Globulin reagent by residual serum proteins.

- Resuspended red blood cells in isotonic saline or other appropriate solution. The pH of saline may affect the stability of the reaction. It is recommended that the pH be 6.0 - 7.5.
- Erroneous results may also be caused by:
- Agged blood specimens yielding weaker reactions.
 - Cell suspensions outside of the recommended concentration.
 - Red blood cells with a positive direct antiglobulin test.
 - Microscopic examination of tests.
 - Contaminated samples or materials.
 - Bacterial or fungal contamination.
 - Some drug/disease states.
 - Improper centrifugation. Centrifugation equipment should be calibrated and checked regularly to insure correct operation.
 - Improper incubation time and temperature.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Red Cross Anti-K has been manufactured to meet or exceed FDA potency requirements. Each lot is tested against a panel of antigen-positive red blood cells to assure appropriate reactivity when used by the recommended test procedure. The specificity of each lot is verified by the recommended tube method using a panel of red blood cells which lack the antigen against which the reagent is directed, but carry as many other antigens as possible having a frequency of 1% or greater. When direct evaluation is not possible, e.g. due to rarity of red blood cells, contaminants may be excluded by selective adsorption techniques.

Specify test results submitted to the FDA for release of an individual lot of product will be furnished upon request.

For technical questions, contact the American Red Cross Diagnostic Manufacturing Division at 1-800-880-3737.

For Optimal Use by User:

Lot Number: _____

Expiration: _____

The American National Red Cross
Washington, DC 20008
U.S. License 100
I-0008 v1.1(04/01)

- Red blood cells must be washed with adequate volumes of isotonic saline to avoid possible neutralization of Anti-Human Globulin reagent by residual serum proteins.
 - Resuspended red blood cells in isotonic saline or other appropriate solution. The pH of saline may affect the stability of the reaction. It is recommended that the pH be 6.0 - 7.5.
- Erroneous results may also be caused by:
- Agged blood specimens yielding weaker reactions.
 - Cell suspensions outside of the recommended concentration.
 - Red blood cells with a positive direct antiglobulin test.
 - Microscopic examination of tests.
 - Contaminated samples or materials.
 - Bacterial or fungal contamination.
 - Some drug/disease states.
 - Improper centrifugation. Centrifugation equipment should be calibrated and checked regularly to insure correct operation.
 - Improper incubation time and temperature.

Anexo 5: Protocolo de Identificación de anticuerpos irregulares.

Test cell reagents for the ID-System

Español B004350 05.10

Reactivos de eritrocitos para detección de anticuerpos: ID-DiaCell I-II, ID-DiaCell I-II-III, ID-DiaCell I-II-III P (papainized), ID-DiaCell I-II-III Asia, ID-DiaCell Pool para identificación de anticuerpos: ID-Panel, ID-Panel P anticuerpos especiales: ID-Di* (Diego) positive, ID-I negative cell

INTRODUCCIÓN

La fiabilidad de los resultados de anticuerpos en gran parte depende de la disponibilidad de células reactivas con una titulación antigénica adecuada y de la estabilidad de las reacciones.

Los sistemas de selección o requerimiento de configuración antigénica de las células son rigurosos. Deben asegurarse la selección de todas las eritrocitos únicamente aglutinados. Para el sistema ID, ID-Di* y ID-I se utilizan eritrocitos de origen humano. Además, deben estar presentes los eritrocitos Leunis que controlan el reactivo ID-I.

Tradicionalmente se consideraba que el procedimiento más efectivo para detectar todos los anticuerpos irregulares circulantes requiere un estudio que combine dos métodos, la aglutinación humana (AH) y la prueba antigénica (AG) y los nuevos procedimientos, como Bio-Rad ID-System y debido a la mayor sensibilidad de las pruebas de aglutinación indirecta (PI) actuales, algunos centros de distintos países consideran que el uso de pruebas serológicas puede ser menos propiamente.

En entornos, los técnicas antigénicas son más útiles cuando se requiere determinar la sensibilidad del suero de anticuerpos a sustrato más allá de un antígeno circulante. Los análisis posteriores la reactividad de algunos anticuerpos, en especial los del sistema Rh, Kell y Kidd, muestra que los anticuerpos anti-Rh y los anticuerpos anti-Kell se ven afectados, especialmente los de los sistemas Duffy y Kell.

Los reactivos Leunis han sido especialmente preparados para el sistema ID-System.

REACTIVOS

IVD

Todos los eritrocitos de prueba son de origen humano, en un medio de suspensión tamponado al 0.9% (0.1%)

Comentarios: los eritrocitos hemolizados y hemaglutinados.

Para detección de anticuerpos en donantes individuales, grupo sanguíneo O:

ID-DiaCell I-II	R, R ₁ , R ₂ para prueba AH y AG
ID-DiaCell I-II-III	A, B, AB, O para prueba AH y AG
ID-DiaCell I-II-III P	preparación para técnica automatizada
ID-DiaCell Pool	R, R ₁ , R ₂ , D tipo de eritrocitos aglutinados para análisis serológicos de donantes
ID-DiaCell I-II-III Asia	R, R ₁ , R ₂ , K ₁ , K ₂ eritrocitos de fenotipo GPMUR, para AH y para detección de aglutinación fría

Para identificación de anticuerpos en donantes individuales, grupo sanguíneo O:

ID-Panel	11 tipos de eritrocitos de prueba para prueba AH y AG
ID-Panel P	11 tipos de eritrocitos de prueba serológicas, para técnica automatizada

Anticuerpos especiales:

Estos reactivos son para ser utilizados como complementos de otros sueros usados rutinariamente en el estudio de anticuerpos.

ID-Di* (Diego) positive
Eritrocitos Di* negativos
Eritrocitos Leunis (control permanente)

Precaución: Los materiales utilizados en la elaboración de estos productos resultan ser no reactivos para HBsAg, HCV y HIV (1-2) en pruebas con reactivos autorreactivos. Sin embargo, no se conoce ningún método de prueba que pueda garantizar completamente la ausencia de agentes infecciosos. Los productos derivados de sangre humana deben considerarse como potencialmente infecciosos.

Establecer nivel líquido de reactividad en el etiquete

REACTIVOS ADICIONALES NECESARIOS

- Solución ID-Card 1:500 Control + Enzima Teef con 3 microtubos que contienen suero antiespecífico antiaglutinación humana (AH) para AH en el interior de la matriz de gel, y 3 microtubos con gel reactivo para técnica automatizada (ID no. 50391).
- Solución ID-Card 1:500 Control con 8 microtubos que contienen suero AHG preaglutinado en la matriz de gel para AH (ID no. 50391).
- Solución ID-Card Control Anti-AG con 8 microtubos que contienen anti-AG de control en la matriz de gel para AH (ID no. 50391).
- Solución ID-Card Teef con 8 microtubos que contienen gel reactivo para técnica automatizada o prueba AG (ID no. 50391).
- Solución ID-Card Reserve Grouping with Antibody Screening con 3 microtubos que contienen gel reactivo y 3 microtubos que contienen suero antiespecífico antiaglutinación humana (AH) para AH en el interior de la matriz de gel (ID no. 50391).
- ID-Quent 2:1:500 reactivos para suspensiones de eritrocitos (ID no. 50791).

Ver el prospecto correspondiente.

OTROS MATERIALES NECESARIOS

- ID-Diagnost
- ID-Diagnost
- ID-Typing card (para ID)
- ID-Quent (para pruebas de ID)
- Tubos de suspensión
- Incubador 37 °C
- ID-Card (para ID)

MATERIAL DE LA MUESTRA

Para un resultado óptimo, la determinación debe realizarse con una muestra recién extraída, cumpliendo la normativa local del laboratorio en cuanto a normas de estabilidad de las muestras. Preferiblemente, las muestras de sangre deben recogerse utilizando citrato, EDTA o CPD a como anticoagulantes. También es posible utilizar muestras recogidas en tubos de anticoagulación.

BIO-RAD

Test cell reagents for the ID-System

Español B004350 05.10

CONTROLES

Deben incluirse muestras conocidas de acuerdo con las normas de garantía de calidad aplicables.

USO DE LOS ERITROCITOS DE PRUEBA ID

- Todos los reactivos de eritrocitos de prueba están destinados exclusivamente al uso con las tarjetas ID-Card del ID-System de Bio-Rad.
- Siga estrictamente los procedimientos descritos en los correspondientes folletos de las tarjetas ID-Card utilizadas.
- Los eritrocitos siempre deben resuspendirse suavemente invirtiendo el frasco varias veces antes del uso, y también antes de cargar los frascos en un pipetador automático.
- Después de que los eritrocitos de prueba se empleen a temperatura ambiente (18-25 °C).
- Durante los tests de análisis, compruebe que los eritrocitos de prueba se mantienen en suspensión. Si se produce una precipitación, resuspenda de nuevo. En el sistema ID es importante la máxima precisión en el pipeteo. Utilice los dispositivos ID Pipetors para el pipeteo en serie.
- Evite la contaminación de los eritrocitos de prueba.
- Al registrar las reacciones, asegúrese de que el número de lote de la tabla de antigénos se corresponde con el número de lote de los frascos de reactivo.
- Después del uso, cierre los frascos e introduzca de nuevo en el frigorífico.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

A) Principio [2]

Positivo: La hematos aglutinados forman una línea roja sobre la superficie del gel o están repartidos en el gel.
Negativo: Sedimento compacto de hematos en el fondo del microtubo.

Nota: Las células reactivas para suero de anticuerpos que contienen una matriz o "pool" de células pueden dar reacciones de doble posición, según el anticuerpo presente en la muestra. Esta reacción debe ser considerada como un resultado positivo.

B) Reacciones

Véanse los prospectos correspondientes.

LIMITACIONES

a) La contaminación de los materiales empleados, bacteriana o de otro tipo, puede provocar falsos positivos o falsos negativos.
b) El uso estricto de los procedimientos y equipos recomendados. El equipo debe comprobarse periódicamente según la normativa de prácticas de laboratorio correctas (GLP).

BIBLIOGRAFÍA

1. Technical Manual of the American Association of Blood Banks, 13th edition, 1998.
2. Lapiere, Y., Rigbi, D., Adam, J., et al.: The gel test. A new way to detect red cell antigen-antibody reaction. Transfusion 1990;30:109-113.

PRODUCTOS

ID-DiaCell I-II-III (ID-no: 45184)	Juego de 3 frascos (R, R ₁ , R ₂ -m)	3 x 10 mL	REF 004310
ID-DiaCell I-II-III (ID-no: 45404)	Juego de 3 frascos (R, R ₁ , R ₂ -m)	3 x 5 mL	REF 004304
ID-DiaCell I-II-III Asia (ID-no: 45330)	Juego de 3 frascos (R, R ₁ , R ₂ -GPMUR)	3 x 10 mL	REF 003614
ID-DiaCell I-II-III P (ID-no: 45194)	Juego de 3 frascos (R, R ₁ , R ₂ -m papainized)	3 x 10 mL	REF 003510
ID-DiaCell I-II-III P (ID-no: 45414)	Juego de 3 frascos (R, R ₁ , R ₂ -m papainized)	3 x 5 mL	REF 003504
ID-DiaCell I-II (ID-no: 45151)	Juego de 2 frascos (R, R ₁ +R ₂)	2 x 10 mL	REF 003613
ID-DiaCell Pool (ID-no: 06070)	2 tipos de eritrocitos combinados (R, R ₁ +R ₂)	1 x 10 mL	REF 003630
ID-DiaCell Pool (ID-no: 06070)	2 tipos de eritrocitos combinados (R, R ₁ +R ₂)	3 x 10 mL	REF 003631
ID-DiPanel (ID-no: 45161)	Juego de 11 frascos	11 x 4 mL	REF 004114
ID-DiPanel P (ID-no: 45171)	Juego de 11 frascos	11 x 4 mL	REF 004214
ID-Di* (Diego) positive (ID-no: 05980)	1 x 10 mL	REF 004134	
ID-I negative cell (ID-no: 05291)	1 x 1.6 mL	REF 004111	

Se garantiza que estos productos se comportarán según lo descrito en la etiqueta y en la hoja de instrucciones. El fabricante declina toda responsabilidad en caso de que los productos se utilicen o vendan para cualquier otro uso diferente de los allí descritos.

BIO-RAD

Fuente: BIORAD

Anexo 6: Proceso del Estudio

Gráfico N°1: Reactivos Monoclonales para identificación de antígenos del sistema Kell



Reactivos monoclonales anti-K; anti-Kp^a; anti-Kp^b y anti-k

Gráfico N°2 : Diluciones al 3% de células provenientes de donantes de sangre



Gráfico N°3: Tipificación en técnica en tubo



Gráfico N°4: Lectura de resultados

