

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICA CLÍNICA

IDENTIFICACIÓN DE ANTÍGENOS DEL SISTEMA ERITROCITARIO
"KIDD" EN MUJERES DONANTES DE SANGRE QUE ACUDEN AL
HEMOCENTRO DE LA CRUZ ROJA ECUATORIANA, JUNIO -
DICIEMBRE 2015.

LUJE CHILIG SYLVIA PATRICIA.

DIRECTORA: Máster. Rosa Chiriboga Ponce.

QUITO, 2015

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, LUJE CHILIG SYLVIA PATRICIA, C.I. 1721226288 ; autora del trabajo de graduación intitulado: IDENTIFICACIÓN DE ANTÍGENOS DEL SISTEMA ERITROCITARIO KIDD EN MUJERES DONANTES DE SANGRE QUE ACUDEN AL HEMOCENTRO DE LA CRUZ ROJA ECUATORIANA, DURANTE EL PERIODO 2015, 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.



Sylvia Lujé.

LUJE CHILIG SYLVIA PATRICIA, C.I. 1721226288

DEDICATORIA

El éxito consiste en confiar en ti, no depender de nadie y tener en mente que no hay nada imposible. "Donald Trump"

Dedico este plan de disertación a Dios por regalarme la vida y estar junto a mí en cada paso que doy, por darle fortaleza a mi corazón para afrontar todas los obstáculos que se presentan en el diario vivir, e iluminar mi mente para escoger esta rama de la ciencia, y por poner en mi camino a todas aquellas personas que han sido mi apoyo y fuerza durante todo este periodo de estudio.

A mi querida madre Magdalena Chilig, por darme la vida, criarme con esa fuerza única de amor y lucha, siendo una mujer y madre ejemplar que me enseñó a no rendirme y luchar por mis sueños con sus sabios consejos.

A mi hija Khrystel Tituaña, el tesoro más preciado que me ha regalado Dios que con sus pequeñas y dulces palabras llenaron de alegría mi corazón que me impulsaron a seguir adelante a pesar de las dificultades.

A mi esposo Diego Tituaña por su amor, confianza y apoyo incondicional en todo momento con sus palabras de aliento.

A mi abuelito José Chilig (†), por ser un ejemplo de vida, siempre con palabras sabias y consejos que fueron fundamentales en mi vida.

A toda mi familia abuelitas, tios, tias, primos y primas por estar siempre junto a mí y apoyarme en cada paso que doy.

Sylvia Patricia Luje Chilig

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por iluminar y guiar mi vida por el camino del bien, por permitirme cumplir mi sueño de ser un profesional que pueda servir a las personas que más lo necesiten.

A mi directora del plan de disertación Rosita Chiriboga Ponce, por ser la luz que iluminó y guió mi camino, siendo el mejor ejemplo de bondad, amistad y apoyo. Gracias querida Rosita por ser el ángel que acudió en mi ayuda, siendo una excelente docente y amiga, por todos sus consejos dados a lo largo de mi vida estudiantil, por todo el tiempo dedicado a la realización y revisión de este plan de disertación, por su paciencia y por su grande aportación de conocimiento científico.

Al Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana, a la Dra Mónica Pesántez Directora del Hemocentro y al Dr Marco Herdoiza por su inmensa colaboración en todo momento y también por permitirme acceder a las instalaciones, para realizar la fase práctica de este estudio. Apoyando el desarrollo de nuevas investigaciones que ayudan al desarrollo del país. Así también a todos los profesionales que trabajan en esta institución por su buena predisposición, su apoyo y paciencia. A mi universidad PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR por abrirme las puertas en la Escuela de Bioanálisis, permitiendome estudiar y desarrollarme espiritual y profesionalmente. A todos los docentes de la Escuela de Bioanálisis que ayudaron a forjar mi vida estudiantil con sus conocimientos y experiencias demostrando ser un gran ejemplo de profesionalismo.

A mi madre por su ejemplo de valentía y fortaleza, demostrando que a pesar de las dificultades y problemas se puede salir adelante con la frente en alto. Por todo el sacrificio a lo largo de tu vida y porque diste lo mejor de ti por mi esta meta está cumplida, mil gracias por todo tu apoyo. A mi hija y esposo por brindarme el tiempo necesario para realizarme profesionalmente, por estar junto a mí con un abrazo, una sonrisa y un te amo. A mi tía Rosa Chilig por su apoyo incondicional en todo momento con palabras de aliento y acciones de corazón y a toda mi familia Chilig Caiza por sus valiosos consejos y apoyo en todo momento.

Al Ingeniero Ugo Colledan (†) por brindarme el apoyo necesario en las primeras etapas de mi vida académica. (Milán – Italia). A mis amigas por estar en las buenas y malas como verdaderas hermanas, que con sus locuras y alegrías pasamos momentos únicos e inolvidables. Gracias de corazón por todo. Nunca las olvidare. A todas aquellas personas que a lo largo del camino me brindaron su afecto, amistad y estuvieron presentes con consejos y palabras de aliento.

RESUMEN

Identificación de antígenos del sistema eritrocitario Kidd en mujeres donantes de sangre que acuden al Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, durante el periodo Junio - Diciembre 2015

Introducción: El sistema eritrocitario Kidd fue identificado en el año 1951 y de acuerdo a la Sociedad Internacional de Transfusión de Sangre es clasificado como ISBT-009, sus antígenos (Jka y Jkb) se encuentran relacionados con la producción de anticuerpos denominados silenciosos, es decir que durante el primer contacto no producen reacciones transfusionales ni enfermedad hemolítica del recién nacido, pero al segundo estímulo producen graves reacciones hemolíticas tanto postransfusionales como las relacionadas al embarazo. Actualmente el anticuerpo anti-Jk(a); se encuentran involucrado con el desarrollo de enfermedad hemolítica del recién nacido, anemia hemolítica autoinmune, y reacciones pos transfusionales en trasplantes renales, en contraste el anti-Jk(b) está relacionado con reacciones hemolíticas transfusionales y rechazo en trasplante renal .

Materiales y Métodos: se realizó un estudio descriptivo transversal en el Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana a todas las donantes del género femenino, analizándose un total de 383 mujeres procedentes de 11 provincias ecuatorianas. Se aplicó una estadística descriptiva y en la relación de las variables se utilizó el estadístico de chi cuadrado.

Resultados: Se identificaron los cuatro fenotipos del sistema Kidd siendo el más prevalente el Jk(a+b-) 26,63%. Un hallazgo importante fue la existencia del fenotipo Jk null en el 13,58% de la población estudiada. Estos fenotipos se encuentran distribuidos de forma heterogénea en las provincias ecuatorianas.

Conclusiones y Recomendaciones: Los datos demuestran la existencia de varios fenotipos en las mujeres en edad fértil lo que constituye un reto para el Programa Nacional de Sangre que debe proponer nuevas estrategias para el control y prevención de aloinmunizaciones. Así como algoritmos de tipificación sanguínea en mujeres embarazadas y su aplicación en el programa de maternidad gratuita.

ABSTRACT

Antigens identification of the KIDD erythrocyte system in female blood donors who came to the Ecuadorian Red Cross Blood Center during, June – December 2015.

Introduction: The Kidd erythrocyte system was identified in 1951 and according to the Blood Transfusion International Society it is classified as ISBT-009; its antigens (Jka and Jkb) are related to the antibodies production that are called silent, namely during the first contact they do not produce neither transfusion reactions nor newborn's hemolytic disease, but at the second stimulus they produce severe hemolytic reaction both in post- transfusions and in those related to pregnancy. Nowadays the antibody anti- Jk(a) this involved with newborn's hemolytic disease, autoimmune hemolytic anemia, and reactions after transfusion in kidney trasnplants, in contrast anti-Jk(b) is associates with hemolytic transfusion reactions and rejection in kidney transplants. **Materials and methods:** a descriptive transversal study was carried out at the Ecuadorian Red Cross Blood Center to all female donors by analyzing a total of 383 women from 11 Ecuadorian provinces. A descriptive statistic was applied and in the variables relation a statistic chi-square test was used. **Results:** Four Kidd phenotype were identified and the prevalent was Jk(a+b-) 26,63%. An important finding was the existence of Jk null phenotype in 13,58% of the studied population. These phenotypes are distributed in a heterogeneous way in the Ecuadorian provinces. **Conclusions and Recommendations:** The data shows the existence of several phenotypes in women in childbearing age, what constitutes a challenge for the National Blood Program which shall propose new control and prevention strategies for alloimmunizations, as well as for blood classification algorithms in pregnant women and their application in the free maternity program.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I.....	10
1.1 JUSTIFICACIÓN	10
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
1.3 OBJETIVOS	13
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	13
1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	13
1.3.3 LIMITACIÓN DEL ESTUDIO	13
CAPÍTULO II.....	14
2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	14
2.2.1 ANTECEDENTES	14
2.2 MARCO TEÓRICO	16
2.2.1 Sistema Kidd	16
2.2.2 Herencia del sistema Kidd	17
2.2.3 Antígenos del sistema Kidd	18
2.2.4 Anticuerpos del sistema Kidd.....	18
2.2.5 Frecuencia Alélica.	19
2.2.6 Métodos de detección.....	20
2.2.7 Reacciones transfusionales.	24
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
3.1.1.3 Tamaño de Muestra	29
3.1.1.5 Criterios de Inclusión.....	30
3.1.1.6 Criterios de Exclusión	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 PROCESO.....	32

3.3.1 Materiales	32
3.3.2 Reactivo.....	32
3.3.3 Control de Calidad	32
3.3.4 Control de calidad de los reactivos	33
3.3.5 Células Kidd Jk ^a y Jk ^b	34
3.3.6 Control de calidad de equipos utilizados.....	34
3.4 PROCEDIMIENTO	34
3.4.1 Fase Uno	35
3.4.2 Fase Dos	35
3.4.3 Fase Tres.....	35
3.4.4 Fase Cuatro:.....	36
CAPÍTULO IV	37
4. CONTROL DE CALIDAD	37
4.1 Geles de Coombs.....	37
4.2 RESULTADOS	38
4.2.1 Descripción de la Población de Estudio para la detección de antígenos Kidd:.....	38
4.3 DISCUSIÓN.....	43
4.4 CONCLUSIONES.....	46
4.5 RECOMENDACIONES.....	47
BIBLIOGRAFÍA.....	48
ANEXOS.....	53

LISTA DE TABLAS

Tabla N°1: Descripción del sistema Kidd

Tabla N°4.1: Control de Calidad de geles Coombs

Tabla N° 4.2: Control de Calidad de Reactivo Jka/Jkb

Tabla N° 4.3: Frecuencia de los fenotipos del sistema Kidd de acuerdo a la edad

Tabla N° 4.4: Frecuencia alélica de los antígenos Jk(a) y Jk(b) homocigotos

Tabla N° 4.5: Determinación de aloinmunización en donantes de sangre

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N°4.1: Distribución de donantes de sangre de acuerdo a la procedencia

Gráfico N°4.2: Distribución fenotípica del sistema eritrocitario Kidd en donantes mujeres de sangre.

Gráfico N°4.3: Distribución fenotípica del sistema eritrocitario Kidd en donantes mujeres de sangre.

LISTA DE FIGURAS

Figura N°1: Representación esquemática de la membrana eritrocitaria y la inserción de las proteínas donde se encuentran los diferentes grupos sanguíneos.

Figura N°2: Representación de la glicoproteína Kidd en la membrana eritrocitaria

Figura N°3: Resultado obtenidos luego de centrifugación

Figura N°4: Resultado obtenidos luego de incubación

Figura N°5: Resultado obtenidos en la detección de columna de gel

Figura N°6: Patrones de lectura

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Inserto de antisueros anti-Jka-Jkb

Anexo 2: Hoja del donante, en donde se encuentra el consentimiento informado.

Anexo 3: Inserto de tarjetas GRIFFOLS

Anexo 4: Hoja de panel de células comerciales ID-DiaPanel

Anexo 5: Procesamiento de las muestras

Anexo 6: Resultados obtenidos.

Anexo 7: Control de calidad de reactivos anti Jka y anti Jkb

LISTA DE SIGLAS

AABB: Asociación Americana de Bancos de Sangre.

ADN: Ácido Desoxiribonucleico

Anti-C3d: Anticuerpos contra la fracción C3 del complemento.

Anti-IgG: Anticuerpos del tipo IgG.

Anti-IgM: Anticuerpos del tipo IgM.

TGO: Aspartato aminotransferasa (AST)

TGP: Alanina aminotransferasa (ALT)

CIEI: Centro de investigación en enfermedades infecciosas y crónicas.

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

EHRN: Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido

HTR: Reacciones hemolíticas transfusionales

ISBT: International Society of Blood Transfusion.

IgM: Inmunoglobulina de clase M

IgG: Inmunoglobulina de clase G

IgG3: Inmunoglobulina G de tipo 3

JK^a: antígenos del sistema Kidd tipo a (JK1)

JK^b: antígenos del sistema kidd tipo b (JK2)

OPS: Organización Panamericana de la Salud.

SLC14A1: Solute Carrier Family 14, Anion Exchanger Member 1.

SPSS: Statistical Package for the Social Science.

INTRODUCCIÓN

El sistema eritrocitario Kidd fue identificado en el año 1951 y fue reconocido por la importancia clínica en la producción de reacciones hemolíticas transfusionales y la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) (Hamilton, 2015). Esta ocurre cuando la madre ha sido sensibilizada por el intercambio de sangre que mantiene con el feto durante el embarazo, la particularidad de este anticuerpo inmune constituye el rápido descenso del título hasta hacerlo indetectable, sin embargo se activa fuertemente al estar en contacto con glóbulos rojos de diferente fenotipo (Osaro, Mairo, Yusuf Bashir, Ahmed, & Hauwa, 2014).

Los antígenos que forman parte de este sistema son Jk(a) y Jk(b), el anticuerpo anti-Jk(a) es el responsable de causar reacciones hemolíticas transfusionales y enfermedades hemolíticas en el feto o en el recién nacido, así como también es el responsable de reacciones pos transfusionales en trasplante renal que puede desembocar en síndrome nefrótico (Sanford, Bourikian, McClain, & Curtis., Development and Detection of Kidd Antibodies, 2015) de la misma manera el anticuerpo anti-Jk(b) está también implicado en el rechazo de trasplante renal por histocompatibilidad antigénica, por lo que actualmente este sistema ha sido considerado en este ámbito, ya que sus antígenos se expresan en la membrana eritrocitaria y células endoteliales de los vasos sanguíneos de la médula del riñón; la producción del anticuerpo ocurre cuando el paciente está en contacto con sangre incompatible (Rourk & Squires, 2012).

Estudios recientes han demostrado que la glicoproteína del sistema Kidd permiten el transporte de urea y esto lo corroboran estudios en individuos con el fenotipo JKnull que presentan disminución de urea dentro del hematíe produciendo un menor volumen para ser evacuado fuera del riñón. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014). Los individuos que presentan el fenotipo null Jk(a-b-) no están considerados como clínicamente enfermos sino que son capaces de desarrollar anticuerpos anti-Jk que pueden provocar reacciones transfusionales, es por esta razón que deben ser tipificados en forma correcta.

En esta investigación se identificó al 13,58% de individuos portadores del fenotipo Jknull hallazgo que pone en alerta a los servicios de medicina transfusional especialmente al tratarse de mujeres en edad fértil. Adicionalmente, se determinó que este fenotipo era común en 8 de las 11 provincias que intervinieron en el estudio, datos que deben

considerarse para establecer nuevas estrategias en la realización de pruebas pre transfusionales.

Un aspecto que debe ser considerado es que las mujeres que intervinieron en este estudio aún no presentan aloinmunización es decir la producción de anticuerpos de un individuo con especificidad a células o tejidos de otro, sin embargo es importante mencionar que la característica de estos anticuerpos es que no son fácilmente detectados por lo que constituye un factor de riesgo en mujeres aloinmunizadas. También existe problemas en el abastecimiento de reactivos en el país, al no tener acceso a paneles homocigotos de identificación es imposible detectar este tipo de anticuerpos característico de la denominada aloinmunización silenciosa.

También en este estudio se determinó la frecuencia fenotípica-alélica definida como el número de individuos que expresan un determinado fenotipo "visible"; al realizar este cálculo matemático permite al banco de sangre obtener la probabilidad de que un paciente al ser transfundido va a desarrollar una aloinmunización. En la presente investigación se obtuvo que el alelo Jk(a) se repetía 628 veces en la población en estudio y que el Jk(b) 442 veces por lo tanto se esperaría que ocurra una aloinmunización por el antígeno Jk(a) por la frecuencia en sus repeticiones.

La detección de estos antígenos Jk(a) y Jk(b) debe realizarse por la metodología en gel coombs por ser más sensible y específica que la técnica manual en tubo siempre y cuando se mantenga un estricto control de calidad tanto del gel como de los antisueros comerciales adquiridos para la tipificación.

Un aspecto importante es la distribución heterogénea de los cuatro fenotipos del sistema Kidd en las 11 provincias ecuatorianas, este dato alerta sobre el cambio inmediato de los algoritmos de tipificación en mujeres en edad fértil y aquellas en estado de gravidez así como su incorporación en el Programa de Maternidad Gratuita de cada provincia.

Con los resultados obtenidos de este estudio se recomienda que se continúe con la confirmación molecular de los fenotipos identificados como null, así como alertar al sistema nacional de sangre sobre la existencia de mujeres portadoras de los cuatro fenotipos del sistema Kidd.

CAPÍTULO I

1.1 JUSTIFICACIÓN

A pesar de la introducción de nuevos métodos de detección para evitar reacciones pos transfusionales aún constituye un riesgo la transfusión sanguínea debido a la ocurrencia de reacciones adversas. Este es el caso de los antígenos que forman parte del sistema Kidd (Osaro, Mairo, Yusuf Bashir, Ahmed, & Hauwa, 2014). Estos antígenos son capaces de iniciar una reacción inmune imperceptible debido a su efecto dosis, es decir los anticuerpos resultantes en una alo-inmunización reaccionan exclusivamente con células en las que el antígeno se encuentra en estado homocigoto, mientras tanto permanecen en dosis bajas que no pueden ser fácilmente detectadas en las pruebas pre transfusionales o cruzadas. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Generalmente los anticuerpos de este sistema se caracterizan por ser de tipo IgG e IgM, ambos relacionados con la fijación del complemento por lo que pueden ocasionar reacciones hemolíticas inmediatas o tardías (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014). Esta característica en el laboratorio lo transforma en un anticuerpo de difícil detección ya sea por la escasa cantidad en la muestra del paciente o porque las células utilizadas para su identificación no son homocigotas (Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012).

Por lo que la identificación de la frecuencia de antígenos del sistema Kidd en la población es importante debido a la implicación clínica que presentan los anticuerpos en un individuo, presentandose diferentes enfermedades como: oliguria e insuficiencia renal por la presencia de anticuerpos del fenotipo Kidd nulo (anti- Jk³) en un individuo, como causa de la no concentración de urea en orina debido a que el sistema kidd es una glicoproteína encargada del transporte de urea intra y extraeritrocitaria (Daniels G. , 2013) Otra razón por la que el antígeno Kidd (Jk) alcanza relevancia en medicina transfusional es por estar relacionado en el origen de la enfermedad hemolítica del recién nacido y hemólisis severa y fatal (Daniels G. , 2013).

En Ecuador, se desconoce la frecuencia de antígenos del sistema Kidd en mujeres donantes de sangre lo que constituye un riesgo en la seguridad transfusional debido a la aloinmunización que puede producirse ya sea durante una transfusión o en un embarazo, estudios han determinado que el anticuerpo anti-Jk^a es uno de los responsables de

anemia hemolítica postransfusional severa y fatal (Daniels G. , 2013). Por lo que es importante determinar la frecuencia de antígenos del sistema Kidd en mujeres donantes que permita alertar a la población femenina de una posible aloinmunización durante el embarazo o luego de una transfusión sanguínea.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los anticuerpos del sistema Kidd son de gran importancia en la medicina transfusional debido a que los niveles en el plasma de un individuo inmunizado disminuyen rápidamente sin un nuevo estímulo antigénico por lo que son difíciles de ser detectados en el laboratorio a través de pruebas convencionales (Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012). Cuando un paciente ha desarrollado anticuerpos anti-Kidd debe recibir durante una transfusión concentrados de glóbulos rojos carentes del antígeno correspondiente para ello debe realizarse una tipificación extensiva a todos los donantes de sangre (Daniels G. , 2013).

La tipificación de los antígenos del sistema Kidd no debe realizarse únicamente en transfusiones sanguíneas sino también en trasplantes renales, ya que ha sido identificado como un antígeno del sistema de histocompatibilidad por ser la causa de rechazo severo de un trasplante de riñón. El estudio realizado en un centro de trasplantes renales determinó que injertos con antígeno Jk^a/Jk^b diferentes ocasionaron una respuesta inmune caracterizada por inflamación intersticial y producción de citocinas que ocasionaron un rechazo el cual puede ser leve o fatal (Holt, y otros, 2004) (Lerut, 2007).

Otro aspecto a ser considerado es la producción de autoanticuerpos del sistema Kidd que ocasionan un cambio en el fenotipo, se ha reportado que un paciente con púrpura trombocitopénica inmune (PTI) fue tipificado inicialmente como $Jk(a-b+)$ pero al necesitar una nueva transfusión fue identificado como $Jk(a+b+)$, siendo realmente un $Jk(a+)$, este paciente desarrolló un auto-anticuerpo anti- Jk ; igual suceso ocurrió en pacientes con infección crónica de vías urinarias por *Proteus mirabilis*, los pacientes mostraban un autoanticuerpo anti- $Jk(b)$, a pesar de que su fenotipo es $Jk(a-b+)$. Todos estos hallazgos confirman la necesidad de realizar una tipificación completa tanto en donantes como pacientes ya que permitirá prevenir aloinmunizaciones y reacciones hemolíticas transfusionales (Daniels G. , 2013).

Finalmente la existencia de fenotipo Kidd null en una población es indicativo de un aumento en enfermedad hemolítica del recién nacido y reacciones hemolíticas transfusionales, estudios han establecido que las mujeres con fenotipo Jk(a-b-) tienen siete veces más posibilidades de desarrollar anticuerpos anti-JK³, cuya característica es reaccionar con todas las células que presenten los antígenos Jk(a+b-) ó Jk(a-b+); por lo tanto deben recibir sangre carente de antígenos del sistema Kidd (Daniels G. , 2013) (Daniels & Bromilow, 2010).

En Ecuador no existen datos acerca de la frecuencia de los antígenos del sistema Kidd por lo que este estudio constituye un aporte para el Programa Nacional de Sangre en la elaboración de nuevos protocolos de identificación de fenotipos especialmente en mujeres embarazadas o en edad fértil.

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

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de antígenos del sistema Kidd (Jka y JKb) en donantes mujeres que acuden al Hemocentro de Cruz Roja-Quito de Junio a Diciembre del 2015.

1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Establecer la frecuencia de antígenos del sistema Kidd en sus diferentes combinaciones en donantes mujeres que acuden al Hemocentro de Cruz Roja mediante la técnica en gel durante el periodo junio – diciembre 2015.
- Identificar el tipo de antígeno del sistema Kidd más frecuente en donantes mujeres del Hemocentro de Cruz Roja.
- Determinar la frecuencia fenotípica del sistema Kidd que presentan las mujeres donantes que acuden al Hemocentro de Cruz Roja.
- Establecer la distribución de fenotipos del sistema Kidd en las diferentes provincias del país.
- Relacionar la frecuencia de fenotipos del sistema Kidd con los grupos etarios y procedencia.

1.3.3 LIMITACIÓN DEL ESTUDIO.

Una de las principales limitaciones del estudio constituye el acceso a los reactivos para técnica en tubo debido al problema en la importación en el país por las normas impuestas, y el costo que significaría realizar el estudio con el sistema gel.

CAPÍTULO II

2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.2.1 ANTECEDENTES

El sistema Kidd fue descubierto en 1951 en una paciente que produjo anticuerpos durante el embarazo ocasionando una enfermedad hemolítica fatal para el feto, las investigaciones realizadas posteriormente le dieron el nombre al antígeno que encontraron en las células del feto como Jka (Erhabor, Hassan, Alhaji, Yakubu, & Buhari, 2014). El estudio realizado por Erhabor determinó una prevalencia del 4,9% y 8% de antígenos Jk^a y Jk^b respectivamente siendo baja en relación a otros estudios en las poblaciones étnicas de China. Otro hallazgo importante fue que el aloanticuerpo anti-Jk^a es altamente inmunógeno y por lo tanto causante de reacciones hemolíticas postransfusionales y enfermedad hemolítica del recién nacido (Erhabor, Hassan, Alhaji, Yakubu, & Buhari, 2014).

Otros estudios realizados en Europa determinaron que la frecuencia en esta población es del fenotipo Jk (a+) aproximadamente del 76,45% (Race & Sanger, 1975) (Daniels G. , 2013) ; al igual que en África que es del 75% (Mourant, Kopec, & Domaniewska - Sobczak, 1976) (Daniels G. , 2013); sin embargo en China es solamente del 30% mientras que en Japón es del 20% (Daniels & Bromilow, 2010).

A pesar de que exista una prevalencia baja estos antígenos están directamente relacionados con aloinmunización silenciosa, es decir que al primer contacto no se desencadena una reacción hemolítica, el caso reportado por Vucelic lo confirma; en una mujer de 64 años que presentó 6 embarazos, 2 niños vivos y 4 abortos, ingresó debido a complicaciones respiratorias y una anemia severa, recibe tres transfusiones sanguíneas que inicialmente cumplen con su objetivo sin embargo al séptimo día baja bruscamente el valor del hematocrito y sin signos de hemorragias se sospecha de aloinmunización detectándose un anti-Jk^a, esto debido a que no fue detectado en las anteriores transfusiones una de las explicaciones fue que los anticuerpos anti-Kidd tienden a caer rápidamente su concentración y no son detectados fácilmente; y este caso fue una clara reacción inmune secundaria (Vucelic, Savic, & Djordjevic, 2005).

Otro caso reportado por Fuping, 2006 de una mujer con embarazo ectópico de 28 años que requería una transfusión sanguínea, sufre de una reacción postransfusional hemolítica aguda, luego de realizar las pruebas necesarias se determinó que la paciente presentaba un fenotipo Jk(a-b+) y la sangre transfundida fue Jk(a+b-), por lo que se identificó que el antígeno Jk^a es altamente polimórfico. A partir de este caso se determinó la frecuencia en China, así el antígeno Jk^a es 24,51%; Jk^aJk^b es 43,82% y la de Jk^b fue de 31,63% (Fuping & Jingchun, 2006).

El estudio realizado en la India encontró que el antígeno Jk^a exhibía una frecuencia del 81,4% y Jk^b de 67,6% diferente a otros grupos étnicos pero similar a los caucásicos; en la población negra el fenotipo más común fue Jk^a con un porcentaje del 57% demostrándose así que similitudes y diferencias dependen de cada población (Makroo, Bhatia, Gupta, & Phillip, 2013).

Lauren, A. en el año 2015 reportó un caso de reacción hemolítica tardía en un hombre de 55 años que recibió 10 pintas de sangre por un accidente, luego de diez días presentó una reacción hemolítica postransfusional sin causa aparente, luego de la investigación se determinó que presentó una aloinmunización por uno de los antígenos Kidd (Jk^a), los datos de laboratorio indicaron que el paciente presentaba un fenotipo Jk^a negativo y uno de los concentrados transfundidos poseía el antígeno Jk^a positivo (Lauren Anne, Diaa, & Nathaniel Perryman, 2015).

Todos estos estudios informan la necesidad de identificar los antígenos Kidd tanto en pacientes como donantes debido a la importancia clínica de este sistema, adicionalmente permite emitir información al Sistema Nacional de Sangre de la frecuencia de estos antígenos y los principales fenotipos circulantes.

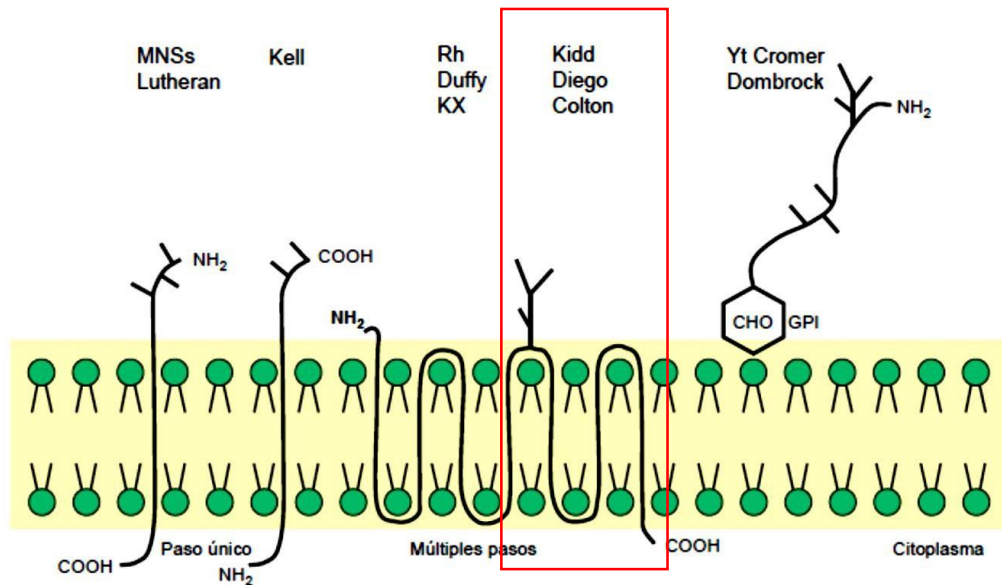
2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Sistema Kidd

El sistema Kidd fue descubierto en 1951 y de acuerdo a la Sociedad Internacional de Transfusión de Sangre es clasificado como ISBT-009, es una glicoproteína que se encuentra en el eritrocito donde atraviesa la membrana aproximadamente diez veces y tiene la función de transportar urea (Figura N°1) (Sriwanitchrak, 2012) (Muñiz Diaz, 2010).

La función de esta glicoproteína es transportar rápidamente la urea de forma intra y extraeritrocitaria, los eritrocitos cuando atraviesan la médula renal, la urea entra al hematíe garantizando un volumen adecuado al ser evacuada inmediatamente antes de salir de la médula y de esa manera asegura la eficacia del riñón. (Bonifácio & Novaretti, 2009).

Figura N°1. Representación esquemática de la membrana eritrocitaria y la inserción de las proteínas donde se encuentran los diferentes grupos sanguíneos



Autor: Muñiz-Díaz Eduardo

Fuente: Significado biológico de los grupos sanguíneos-Tercer Módulo

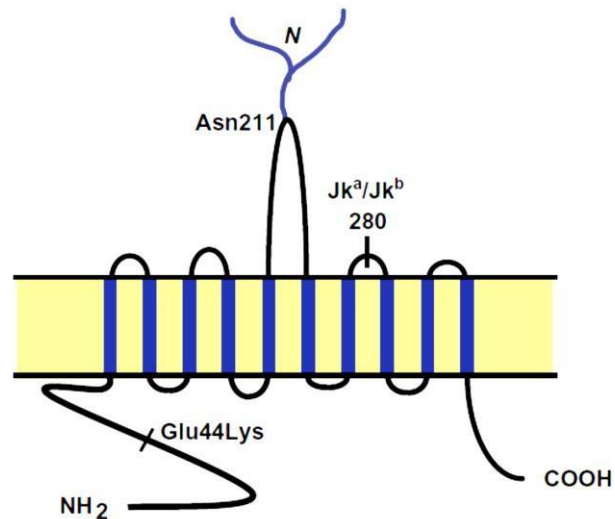
Estudios recientes han confirmado que la glicoproteína Kidd es un transportador de urea mediante la determinación de los fenotipos e identificación del antígeno null, eritrocitos carentes de antígenos Kidd resistían a la lisis inducida por urea 2M y al analizar el transporte de urea, esta se encontraba completamente disminuida (Muñiz Diaz, 2010).

2.2.2 Herencia del sistema Kidd.

La herencia de los grupos sanguíneos se relaciona directamente con un gen específico el cual codifica la presencia de un determinado antígeno eritrocitario el que es expresado en la superficie del glóbulo rojo (Geoff, 2013) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014). Esta herencia sigue las leyes de Mendel especialmente la de codominancia y la de recombinación independiente esto proporciona un sinnúmero de combinaciones que dan origen a varios fenotipos que son característico de cada población (Race D. R., 2010)

Por ejemplo en el caso del sistema Kidd los alelos que aportan cada carácter son heredados de forma independiente y codominante, así el alelo JK1 que codifica Jk^a , no ejerce ningún dominio sobre su alelo antitético JK2 que codifica al antígeno Jk^b , por lo que se expresan los dos en la membrana de los eritrocitos (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014) (Figura N°2). Dentro de este proceso también existen genes supresores cuya función es afectar la expresión de otros genes como en el caso del fenotipo Kidd nulo.

Figura N°2. Representación de la glicoproteína Kidd en la membrana eritrocitaria



Autor: Daniels, G 2013

Fuente: Grupos Sanguíneos

2.2.3 Antígenos del sistema Kidd

Los antígenos del sistema Kidd son polimórficos y producidos por dos alelos JK1 (Jk^a) y JK2 (Jk^b). Estos dan origen a varias combinaciones obteniéndose cuatro probables fenotipos y probables genotipos (Daniels G.,2013): Jk (a+b+);Jk (a+b-); Jk (a-b+); Jk(a-b-), este último fenotipo es considerado como “null fenotipo” o fenotipo nulo, es producto de una delección y se hereda de forma recesiva siendo común en Polinesia (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014) (Daniels G. , 2013).

Los antígenos del sistema Kidd se desarrollan en los eritrocitos del neonato siendo la distribución de los fenotipos fetales igual a la de los adultos, los antígenos Jk^a y Jk^b pueden ser detectados a las 11 y 7 semanas respectivamente en el feto (Daniels G. , 2013). Estos antígenos no son detectados en linfocitos, monocitos, granulocitos o plaquetas.

El gen Jk tiene 30 kb y contiene 11 exones de los cuales del exón 1 – 3 y parte del 4 presentan la región 3´ no codificante, la otra parte del exón 4 – 11 se encarga de codificar proteínas maduras. (Daniels G. , 2013). (Tabla N°1)

Tabla N°1. Descripción del sistema Kidd

GEN	CROMOSOMA	CODIFICA	GENOTIPOS	FENOTIPOS
<i>SLC14A1</i> (Solute Carrier Family 14, Anion Exchanger Member 1).	Cromosoma 18 Locus 18q11 - q12.	Exón 4 – 11 Aminoácidos	Jk (a+b-) Jk (a-b+) Jk(a-b-)	Jk ^a – Jk ¹ Jk ^b - Jk ² Jk ^{null} – Jk ³

Autor: Daniels, G 2013
Fuente: Grupos Sanguíneos

2.2.4 Anticuerpos del sistema Kidd

Los anticuerpos son producidos por la respuesta inmune del organismo frente a antígenos. (Daniels G. , 2013) En el caso del sistema Kidd se han encontrado que son antiglobulinas de tipo IgG o IgM, siendo el tipo IgM más común. Sin embargo en los casos de reacción transfusional, estos anticuerpos reaccionan mejor a 37 °C siendo de tipo IgG. (Calderón, Corredor, & Sastoque, 2007). Los anticuerpos se dividen en auto anticuerpos y alo anticuerpos, en el primer caso son el producto de la reacción contra antígenos del mismo

individuo, generalmente se originan luego de infecciones del tracto urinario, mientras que en el segundo caso pueden ser naturales o inmunes producidos en el embarazo o en transfusiones de sangre incompatibles. (García C. A., 2009).

Dentro de los anticuerpos del sistema Kidd encontramos a los anti-Jka y anti- Jkb. Con mayor frecuencia se encuentran en reacciones transfusionales a los aloanticuerpos anti- Jka, estos anticuerpos son difíciles de detectar debido a su rápida desaparición del plasma, normalmente aparecen al mes de haber sido transfundida la persona carente de este antígeno y poco a poco van disminuyendo sus niveles hasta desaparecer por completo a los tres meses. (Daniels G. , 2013)

En estudios realizados anteriormente se ha descubierto que aunque son de inmunogenicidad relativamente baja, el anti-Jka puede causar mucho daño ya que es responsable de varias reacciones post-transfusionales como por ejemplo reacciones hemolíticas transfusionales (HTR) intravascular agudas o tardías severas o fatales. (Calderón, Corredor, & Sastoque, 2007)

También está relacionado con oliguria, fallo renal y hasta la muerte del paciente; además en otros pacientes se han presentado Enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) severa y fatal. Todas estas reacciones aparecen cuando el paciente es re-expuesto al antígeno, activándose el sistema inmune y las células de memoria que inician la producción de anticuerpos que conllevarán a la activación del complemento. (Calderón, Corredor, & Sastoque, 2007)

En la actualidad se pueden encontrar varios casos de reacciones transfusionales en niños, adultos y mujeres embarazadas (Daniels G. , 2013). Un caso de alo anticuerpo se encontró en un paciente que padecía de leucemia linfocítica crónica en el cual se encontró anti-Jkb; mientras que la presencia de auto anticuerpos se presentó en un paciente que había sufrido de infecciones crónicas por proteus y presentaba signos de reacción hemolítica encontrándose un autoanti-Jkb. (Daniels G. , 2013).

2.2.5 Frecuencia Alélica.

Los antígenos del sistema Kidd son heredados como el producto de alelos codominantes, aproximadamente el 76% de individuos poseen el antígeno Jk^a de estos el 26% tienen el genotipo Jk^a/Jk^a, el 50% expresan el fenotipo Jk^aJk^b y el 24% el fenotipo Jk^b/Jk^b (Harvey & Anstee, 2014). La frecuencia alélica en la raza blanca es: Jk^a 0.514; Jk^b 0.486 en contraste en la raza negra el Jk^a es alta de 0.75 y bajo en China y Japón con 0.25. El tipo

Jk(a-b-) fue encontrado en Filipinas y Sur Este de Asia, siendo poco común en Polinesia donde la frecuencia es inferior a 0.001 (Harvey & Anstee, 2014).

Existen varias teorías sobre la existencia del fenotipo Jk(a-b-) se cree que se debe a un gen silente recesivo Jk o a un gen inhibitorio dominante In Jk, el resultado es la restricción de la presencia del antígeno Kidd (Harvey & Anstee, 2014).

2.2.6 Métodos de detección.

La determinación de los grupos sanguíneos son pruebas realizadas en todos los laboratorios clínicos y son una de las principales determinaciones utilizadas en los bancos de sangre previas a una transfusión sanguínea, por lo que estos lugares deben dotarse de tecnologías y metodologías que proporcionen la mayor seguridad en la identificación del tipo de sangre que posee un paciente. Sin embargo se ha limitado esta detección al sistema ABO y Rh sin tener en consideración que existen 33 sistemas eritrocitarios (Buelvas Cortés, Muñoz-Díaz, & León de González, 2014).

Inicialmente los estudios inmunohematológicos en bancos de sangre se realizaban en técnicas manuales en “tubo” y se limitaba a la detección del sistema ABO, Rh y anticuerpos irregulares, debido a la demanda y aumento en el número de donantes estas técnicas manuales fueron insuficientes y se cambió a técnicas semiautomatizadas (Muñiz Diaz, 2010).

Actualmente, la introducción de técnicas automatizadas han mejorado la detección de anticuerpos irregulares y grupos sanguíneos eritrocitarios especialmente los considerados de significancia clínica de acuerdo a cada población. Así también ha mejorado la precisión, fiabilidad y eliminación de la subjetividad en la obtención y análisis de resultados (Muñiz Diaz, 2010). Esto se alcanzó a través de equipos automatizados que utilizan códigos de barra para la identificación de muestras, realizan el pipeteo de muestras y reactivos, si es necesario los diluyen, incuban, centrifugan, leen e interpretan los resultados de tal manera que se reduce completamente la manipulación del operador minimizando y eliminando los errores en las fases pre y pos analítica del proceso de tipificación, esta tecnología es útil en Hemocentros o Bancos de Sangre donde se procesan una gran cantidad de muestras diarias (Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012). Adicionalmente se requiere de un control de calidad que aseguren los resultados obtenidos.

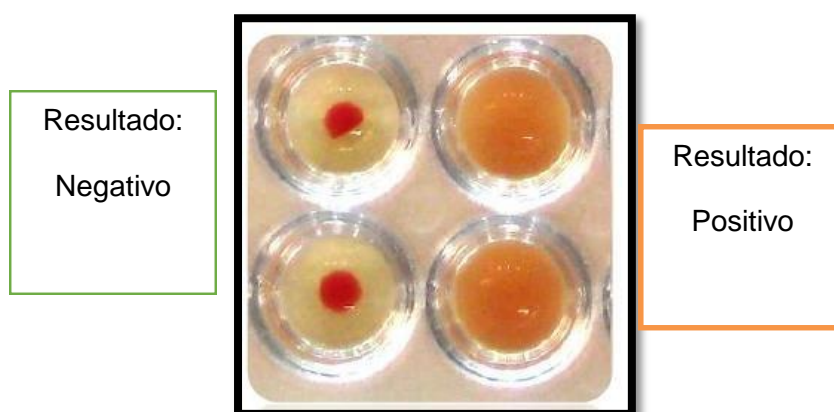
2.2.6.1 Equipos automatizados en formato microplaca

Estos equipos se caracterizan por utilizar microplacas de 96 pocillos en los que se encuentran adheridos los reactivos correspondientes para la determinación de los grupos sanguíneos. Se realiza el pipeteo de cada muestra y por centrifugación se obtiene la unión antígeno-anticuerpo y se lee el resultado por aglutinación (Muñiz Diaz, 2010).

2.2.6.2 Equipos automatizados en formato con centrifugación

En estos equipos se utilizan microplacas que contienen reactivos con anticuerpos monoclonales adheridos en la superficie, el pipetor automatizado añade los eritrocitos y se realiza la centrifugación si existe unión los eritrocitos se adhieren a la superficie de lo contrario se forma un botón en el fondo del pozo siendo un resultado negativo (Casamitjana, 2010). (Figura N°3).

Figura N°3: Resultado obtenidos luego de centrifugación



Autor: Natália Casamitjana
Fuente: Seguridad Transfusional

2.2.6.3 Ensayos de adherencia en fase sólida

Esta técnica es utilizada en la determinación de fenotipos eritrocitarios e identificación de anticuerpos eritrocitarios en la plasma o suero de donantes. Su fundamento se basa en la unión de lisados de membranas de eritrocitos en el pozo de la placa de poliestireno que se unirán a los anticuerpos presentes en el suero o plasma del donante. Luego de incubación se añaden eritrocitos cubiertos por anti-IgG humana permitiendo la formación

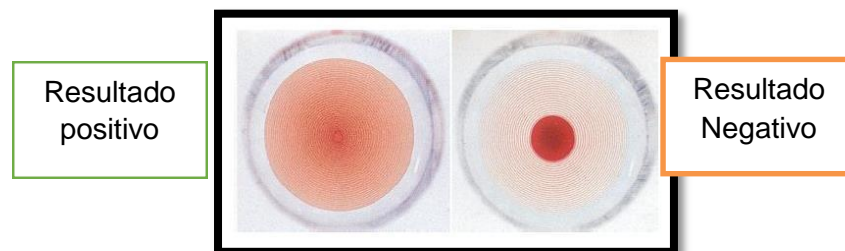
de inmunocomplejos anti-IgG+IgG facilitando la identificación de anticuerpos irregulares (Casamitjana, 2010).

2.2.6.4 Ensayos de adherencia en fase sólida sin centrifugación

Esta técnica se basa en el uso de hematíes magnetizados mediante la utilización de partículas de hierro sometidos a un campo magnético con imanes. Las placas contienen anticuerpos monoclonales y/o antiglobulina humana a los que se adherirán los hematíes y permitirán visualizar la reacción sin necesidad de un paso previo de centrifugación, si los hematíes no se han unido a los anticuerpos se depositarán en el fondo de la placa. (Casamitjana, 2010).

Otra técnica sin centrifugación consiste en la incubación de hematíes y reactivos por una hora en una microplaca, si existe unión formarán una red que se deposita en la superficie del pozo. (Figura N°4).

Figura N°4: Resultado obtenidos luego de incubación



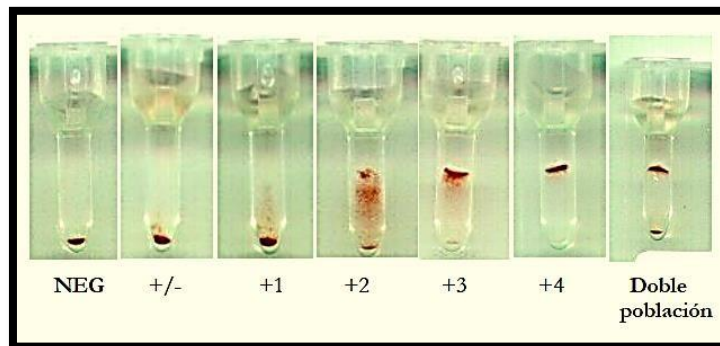
Autor: Natália Casamitjana
Fuente: Seguridad Transfusional

2.2.6.5 Detección en columna de gel

La diferencia de esta técnica de detección es que la aglutinación se produce en gel y no en un medio líquido como en las metodologías anteriores sean estas manuales o automatizadas. Las columnas en gel se presentan en tarjetas de 6 u 8 determinaciones y son utilizadas para tipificación ABO, Rh, otros grupos sanguíneos e identificación de aloanticuerpos. (Muñiz Diaz, 2010). Para esta metodología se pueden utilizar equipos semiautomatizados y automatizados, el proceso es la incubación de los hematíes y anticuerpos en la superficie del gel y la lectura se realiza después de la centrifugación en la que se observa que el aglutinado no atraviesa el gel (Casamitjana, 2010) (Figura N°5).

Otro uso de la columna de gel es para determinar la existencia de hematíes sensibilizados esto se obtiene a través de la matriz inmunológicamente activa que contiene anti-C3d, el plasma, reactivo y células se incuban permitiendo la unión antígeno- anticuerpo al centrifugarse se produce la reacción de aglutinación (Casamitjana, 2010) (Muñiz Diaz, 2010).

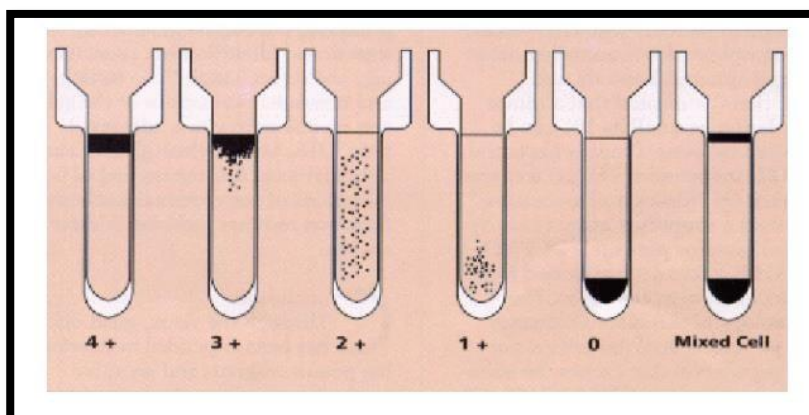
Figura N°5: Resultado obtenidos en la detección de columna de gel



Autor: Natália Casamitjana
Fuente: Seguridad Transfusional

La reacción por lo tanto se basa en la separación de los componentes reactantes según el tamaño en una matriz que se encuentra dentro de una columna de gel a la cual se le agrega el reactivo que puede ser un anticuerpo específico o suero antiglobulina humana. (Almonacid T. M., 2014). Para la lectura se utilizan patrones de comparación (Figura N°6).

Figura N°6: Patrones de lectura



Autor: Jorge Golffed
Fuente: Servicio Nacional de Sangre

2.2.7 Reacciones transfusionales.

El sistema sanguíneo Kidd es considerado clínicamente significativo por su capacidad de producir aloinmunización ya sea luego de una transfusión incompatible, en el embarazo y en trasplantes renales (Vucelic, Savic, & Djordjevic, 2005).

En medicina transfusional es importante tomar en cuenta el riesgo y los beneficios de la transfusión de sangre en los pacientes que la necesitan, ya que esto conllevaría a problemas como las reacciones transfusionales que pueden ser inmunológicas y no inmunológicas (Almonacid A. A., 2014).

Estas reacciones pueden ser clasificadas como: inmediatas (dentro de 24 horas) o tardías (pasadas las 24 horas o meses después); y dependen mucho de la intensidad con que se presenten en el organismo causando hemólisis, sobrecarga de hierro, embolia, reacción alérgica y muerte del paciente en los casos más graves. (González J. L., 2007) (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

En las reacciones hemolíticas agudas los síntomas se presentan en minutos después de que inicia la transfusión, las características más comunes son: hemoglobinuria, baja de la haptoglobina sérica, hiperbilirrubinemia no conjugada, aumento de deshidrogenasa láctica, TGO (aspartato aminotransferasa) y TGP(alanina aminotransferasa) y disminución de hemoglobina como consecuencia de la destrucción masiva de los eritrocitos transfundidos (Sandeep Sahu & Anupam, 2014). Los anticuerpos del sistema Kidd generalmente producen una reacción hemolítica tardía y su identificación es difícil debido a que sus niveles bajan rápidamente, el reporte de casos de hemólisis en pacientes que recibieron transfusiones pone de manifiesto la necesidad de determinar la prevalencia de antígenos del sistema Kidd (Jator, 2014).

2.2.7.1 Reacciones tardías por antígenos del sistema Kidd

Los anticuerpos del sistema Kidd son la principal causa de reacciones transfusionales tardías esto se debe a la dificultad en la detección en pruebas pre transfusionales. A pesar de que los títulos de estos anticuerpos tienden a disminuir rápidamente pueden producir una rápida estimulación ante un nuevo contacto (Fuping & Jingchun, 2006).

Generalmente los anticuerpos producidos son de tipo IgG3, el anti-Jka es más común que el anti-Jkb y se caracterizan por ser detectados al mes de una transfusión incompatible decreciendo rápidamente y desaparecen alrededor de tres meses (Daniels

G. , 2013). Por estas características los aloanticuerpos Kidd tienen significancia clínica por ocasionar una grave y tardía reacción hemolítica transfusional.

Los individuos con fenotipo Jk negativo poseen un alelo silencioso capaz de formar anticuerpos hemolíticos conocido como JK3 constituyendo un grave problema al requerir una transfusión sanguínea (Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012), estos casos son extremadamente raros, a pesar de ello se reporta un caso de anemia hemolítica luego de una transfusión debido a la presencia de anti-Jka y anti-Jkb característico de los portadores del fenotipo Jk(null) ó Jk3. (Rabeya, Suria Abdul, Nurasyikin, & Leong, 2014).

Por todo lo mencionado anteriormente es muy importante para los bancos de sangre y hemocentro conocer la existencia de grupos sanguíneos raros así como solicitar en forma detallada la historia de las transfusiones previas de los pacientes que requieren transfusiones en forma periódica para prevenir la presencia de reacciones hemolíticas.

Otro aspecto a considerar es establecer los aloanticuerpos que presentan los pacientes y el fenotipo de los donantes (Rabeya, Suria Abdul, Nurasyikin, & Leong, 2014). Así, en el año 2012, se reporta un caso de una mujer polinesia de 23 años de edad en la que se identifica un aloanticuerpo anti-Jk3, la misma que recibió transfusiones incompatibles sin detectarse la presencia de este anticuerpo, al inicio no presentó signos ni síntomas de hemólisis, estos fueron notorios luego de tres semanas de realizada la transfusión, este caso puso de manifiesto la dificultad en detectar la presencia del anticuerpo anti-Jk3 a través del Screening pretransfusional, por lo que una de las acciones realizadas por el centro de medicina transfusional fue identificar a los antígenos circulantes en poblaciones étnicas para establecer una base de datos que facilite las transfusiones posteriores y evite la existencia de anemias postransfusionales (Rourk & Squires, 2012).

2.2.7.2 Reacción hemolítica del recién nacido debidas al sistema Kidd

Los antígenos del sistema Kidd a pesar de ser considerados poco inmunógenos son capaces de desarrollar aloanticuerpos con efecto dosis, es decir que desaparecen a la falta de existencia de una estimulación inmune pero a un segundo contacto reaccionan de forma inmediata (Osaro, Mairo, Yusuf Bashir, Ahmed, & Hauwa, 2014). Los antígenos del sistema Kidd pueden ser detectados en la séptima semana de gestación y al nacer se encuentran desarrollados, estudios han demostrado que la EHRN por este sistema es leve , sin embargo en la literatura se menciona la muerte de dos neonatos por

insuficiencia renal y anemia hemolítica grave (Erhabor, Hassan, Alhaji, Yakubu, & Buhari, 2014).

El anticuerpo anti-Jka puede ocasionar una severa hemólisis postransfusional pero está relacionado con una leve enfermedad hemolítica del recién nacido (Osaro, Mairo, Yusuf Bashir, Ahmed, & Hauwa, 2014); en contraste el anticuerpo anti-JKb está fuertemente relacionado con el desarrollo de la enfermedad hemolítica del recién nacido (Osaro, Mairo, Yusuf Bashir, Ahmed, & Hauwa, 2014). La presencia de anticuerpos frente a antígenos eritrocitarios incompatibles depende de varios factores entre ellos: naturaleza de la respuesta inmune, inmunogenicidad, dosis, intervalo de contacto, vía de administración y la composición genética del individuo (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

La inmunización en el embarazo se produce por la pequeña transfusión de antígenos entre la madre y el feto en el tercer mes de embarazo o en el parto, los eritrocitos fetales al parecer contienen un antígeno que heredan del padre y que la madre no presenta, estos antígenos se dirigen a la circulación de la madre y forman anticuerpos específicos produciéndose una isoimmunización. Los anticuerpos producidos son de tipo IgG y atraviesan la placenta para unirse a los hematíes del feto y hemolizarlos a nivel del bazo; esta hemólisis causa anemia en el feto. (Terés, Mendizábal, & Nuñez, 2008).

2.2 MARCO CONCEPTUAL

Aglutinación: es la agrupación de eritrocitos en pequeños acúmulos por presentar antígeno determinado y reaccionar con su anticuerpo correspondiente en la solución a analizar. (García D. M., 2011).

Alelos: son genes alternos que determinan la secuencia de una proteína determinada y ocupan un solo locus. (García C. A., 2009)

Aloanticuerpo: se produce por la exposición a agentes extraños al organismo en una transfusión sanguínea o de órganos. (Abbas, Lichman, & Pillai, 2012)

Anemia: Patología en la cual se presenta una disminución de la cantidad de eritrocitos en circulación por debajo del nivel normal o por la deficiencia de hemoglobina. (NIH, 2012)

Anticuerpo: inmunoglobulinas de clase IgG o IgM que se producen en organismo por la reacción frente a un antígeno (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Antígeno: sustancia o agente extraño que al ponerse en contacto con la membrana de eritrocitos produce anticuerpos específicos (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014).

Antiglobulina: es una globulina que se encuentra en el suero y se comporta como anticuerpo con otras inmunoglobulinas que hacen la función de antígenos. (García D. F., 2011)

Auto-anticuerpo: son anticuerpos que atacan a células del propio organismo como consecuencia de estados patológicos (Abbas, Lichman, & Pillai, 2012).

Cromosoma: estructura que se encuentra en el núcleo celular, compuesto de cromatina su principal función es la transmisión de caracteres hereditarios de un individuo a otro. (Robledo, 2014).

Efecto dosis: se produce por la expresión en mayor cantidad de antígenos en la membrana del eritrocito debido a que el individuo es homocigoto. (García C. A., 2009)

Gen: es un fragmento de ADN que se encuentra fijo en un cromosoma, su función es contener información genética para que se expresen los factores hereditarios. (Buevas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)

Genotipo: conjunto de genes heredados de padre y madre que caracterizan a cada persona. (García C. A., 2009)

Glicoproteína: son proteínas que se modifican en la traducción para unirse a una parte oligosacárida (Abbas, Lichman, & Pillai, 2012).

Hemólisis: es la destrucción de los eritrocitos con liberación de hemoglobina, e indica un resultado positivo cuando se buscan anticuerpos en eritrocitos que en su membrana presenta antígenos específicos. (García C. A., 2009)

Homocigoto: es un individuo que posee dos genes idénticos para un mismo carácter dentro de un locus en un cromosoma. (Larousse, 2007)

Inmunización: es producida por la reacción antígeno - anticuerpo en el organismo ya sea por una vacuna o por una transfusión, dando inmunidad contra una segunda exposición al antígeno. (García D. F., 2011)

Isoinmunización: se produce por la transfusión de antígenos que provienen de la misma especie del paciente, apareciendo isoanticuerpos. (García D. F., 2011)

Reacción inmediata: se produce por el rechazo del componente transfundido minutos o máximo horas después, con daños que van desde leves hasta graves. (González J. L., 2007)

Reacción tardía: producida por el organismo frente a antígenos o sustancias extrañas provenientes de bacterias, virus o por una re-exposición al mismo antígeno y se presenta en semanas después de la transfusión. (Parham, 2011)

Respuesta inmune: es una respuesta que el organismo produce frente a antígenos y puede ser primaria o secundaria. (Abbas, Lichman, & Pillai, 2012)

CAPÍTULO III

3.1 MARCO METODOLÓGICO

3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1.1 Tipo de Estudio: es un estudio de tipo descriptivo y corte transversal ya que se proyecta determinar la prevalencia y frecuencia de antígenos del sistema Kidd Jk^a y Jk^b en donantes mujeres que acuden al Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana, también el estudio es de tipo transversal ya que se realiza en un período determinado de tiempo, período en el cual se realizará el análisis de las muestras de donantes mujeres y la determinación de los antígenos del sistema Kidd.

3.1.1.2 Tipo de Muestreo: Muestreo aleatorio simple de todas las mujeres que acudieron en el período determinado.

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 140000 donantes anuales, y de acuerdo al análisis del estudio denominado al no conocer la prevalencia de antígenos del sistema Kidd se utiliza una probabilidad del 50%, con un nivel de confianza del 95% y un error alfa del 5% se aplicó la formula de población finita:

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

$$n = \frac{140.000 * 3,84 * 0,50 * 0,50}{0,0025 * (140.000 - 1) + 1,96^2 * 0,25}$$

$$n = \frac{134400}{350.9575}$$

$$n = 382,95$$

Dónde:

N: tamaño de la población

n: tamaño de la muestra

p: proporción esperada

q: 1-p

d: precisión del estudio

0,5%

Z_{1- α} ²: nivel de confianza

Decisión: Mediante el análisis de estudios anteriores ninguno ha llegado a determinar la prevalencia de antígenos del sistema Kidd en donantes mujeres de sangre en Ecuador,

por lo cual para este estudio se asume una proporción esperada del 50%, así también al tomar en cuenta la totalidad de donantes que acuden cada año al Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana que es de 140000, con un nivel de confianza del 95% y un error alfa del 5%, se determina una muestra de 383 donantes para la investigación de antígenos del sistema Kidd Jk^a y Jk^b .

3.1.1.5 Criterios de Inclusión: Todas las donantes mujeres de sangre que han cumplido con los criterios de aceptación de la OPS. (OPS, 2009)

3.1.1.6 Criterios de Exclusión: Todas las donantes mujeres de sangre que no han sido aceptados por no cumplir con los criterios de aceptación de la OPS.

3.1.1.7 Análisis Estadístico: los datos obtenidos se analizarán mediante estadística descriptiva utilizando la aplicación SPSS Statistics versión 22.0, para comprobar de manera real la prevalencia de antígenos del sistema Kidd Jk^a y Jk^b en la población de donantes mujeres del Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana mediante tablas representativas de frecuencias, porcentajes, así también esta aplicación ayuda a identificar la prevalencia basada en las variables de estudio, como en los criterios de inclusión. Para establecer una relación entre variables independientes se utilizara el análisis de Chi-cuadrado.

3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.2.1 Variable dependiente: Frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema Kidd (Jk^a - Jk^b)

3.2.2 Variable independiente: donantes mujeres voluntarias, edad, procedencia frecuencia fenotípica, anticuerpos irregulares.

Operacionalización de Variables

Variable dependiente	Definición Conceptual	Dimensión	Indicador	Escala	Instrumento de Medida
Prevalencia de antígenos del sistema Kidd en donantes mujeres	Los antígenos del sistema eritrocitarios son glicoproteínas que atraviesan la membrana eritrocitaria y están relacionados con el transporte de urea (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)	Cualitativo dicotómica	Presencia o ausencia del antígeno Jk ^a y Jk ^b	Nominal	Observación de aglutinación en los geles de coombs.
Variables independientes	Definición Conceptual	Dimensión	Indicador	Escala	Técnica
Edad	Tiempo de vida de un individuo hasta el momento, calculado en años.	Cuantitativo.	Años cumplidos	Porcentaje de donantes de 17-27 años. Porcentaje de donantes de 28-38 años Porcentaje de donante de 39-49 años Porcentaje de donantes de 50 a 60 años.	Ficha del donante de sangre
Procedencia	Lugar de origen de la persona donante	Cualitativo.	Lugar de residencia	Porcentaje de donantes mujeres de acuerdo a la provincia de origen	Ficha del donante de sangre
Alelos	Son dos unidades de un mismo gen que es heredado siguiendo las leyes de Mendel (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)	Cualitativo	Jka (Jka+, Jkb-) Jkb (Jka-, Jkb+)	Frecuencia Relativa de cada alelo	Ficha del donante de sangre
Frecuencia fenotípica	Frecuencia alélica es la proporción que se puede observar de un alelo. (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)	Cualitativo	Porcentaje del alelo Jka presente en mujeres donantes de sangre. Porcentaje de alelo Jkb presente en mujeres donantes de sangre.	Porcentaje del alelo presente en cada combinación.	Cálculos matemáticos del porcentaje de alelos Jka o Jkb presentan las donantes mujeres de sangre
Anticuerpos irregulares	Son anticuerpos que se forman luego del contacto con sangre incompatible	Cualitativo	Presencia o ausencia	Porcentaje de donantes con resultados positivos para anticuerpos anti-Jk ^a o anti-Jk ^b	Observación de aglutinación en los geles de coombs.

3.3 MATERIALES Y PROCESO

3.3.1 Materiales

- Pipeta automática 10-50µl
- Pipeta automática de 100 a 1000µl
- Puntas plásticas amarillas de pipeta de 10µL a 100µL
- Puntas plásticas azules de pipeta de 100µL a 1000µL
- Tarjetas GRIFOLS DG Gel Coombs.
- Centrifuga digital para procesado de tarjetas GRIFOLS
- Incubadora digital para proceso de tarjetas GRIFOLS
- Tubos de vidrio de 5 mL.

3.3.2 Reactivo

- Reactivo policlonal Anti-Jka y Anti-Jkb Hemo bioscience
- Solución buffer Liss ID- Diluent
- Sangre total EDTA
- Células comerciales panel.

3.3.3 Control de Calidad

El control de calidad de los reactivos es una parte esencial para la realización del análisis de muestras, es por eso que dentro del control de calidad se debe tener en cuenta las características físicas (color y aspecto) y funcionales (avidez, potencia y especificidad) de cada reactivo utilizado. (ISEM, 2005)

La prueba que se utilizaron tiene como principio la unión antígeno-anticuerpo, en la cual las células comerciales presentan el antígeno Jka y/o Jkb y el reactivo policlonal tiene los anticuerpos anti-Jka y/o anti Jkb.

Los procesos de control de calidad utilizados fueron:

- Realización de controles positivos y negativos con células comerciales.
- Análisis de la fuerza y especificidad .
- El reactivo no debe dar reacciones de aglutinación falsas.
- El reactivo debe presentar una reactividad adecuada y un título significativo.
- No utilizar el reactivo si se observa turbidez. (Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012).

3.3.4 Control de calidad de los reactivos

Se debe controlar el embalaje, la caducidad y la temperatura de cada reactivo, además de chequear el volumen del gel, la etiqueta clara y que el inserto corresponda al reactivo. El control de calidad se realiza mediante la prueba de avidez que indica la intensidad global de la interacción entre dos moléculas en este caso antígeno-anticuerpo, potencia y especificidad.

3.3.4.1 Prueba de Avidez

Esta prueba permite una reacción visible con relación al tiempo. Mediante los siguientes pasos:

1. En un portaobjetos nuevo, colocar 1 gota de sangre total con EDTA y 1 gota de reactivo.
2. Con la ayuda de un cronómetro, tomar el tiempo de inicio de reacción entre la sangre y el reactivo.
3. Mediante una lámpara de lectura, observar el inicio de la aglutinación y anotar el tiempo en que se forma los cúmulos aglutinados los cuales no deben ser menores a un 1mm de diámetro.

3.3.4.2 Prueba de Potencia

Esta prueba se relaciona con la sensibilidad de reacciones específicas utilizando diluciones y células comerciales. Mediante los siguientes pasos:

1. Para preparar las diluciones desde 1:2 hasta 1:512 se debe enumerar tubos de vidrio (5ml), y colocar dentro solución salina con 2 gotas de suspensión de eritrocitos a cada tubo.
2. Añadir 2 gotas de reactivo, en cada dilución. Incubar a 37°C por 15 minutos y centrifugar a 3000 rpm por 15 segundos; observar la aglutinación.
3. Seguir con el lavado de las células en solución salina a 0,85% tres veces.
4. Al botón formado en el fondo del tubo se debe resuspender; añadir 2 gotas de coombs y centrifugar por 15 segundos.
5. Mediante una lámpara de lectura se debe observar la aglutinación y anotar el mayor título al cual llega cada reactivo en su aglutinación.

3.3.4.3 Prueba de Especificidad

El reactivo no debe contener aglutininas diferentes a las que se encuentran en la etiqueta para evitar falsos resultados. Para realizar esta prueba se deben seguir los siguientes pasos:

1. Enumerar tubos de vidrio (5ml) con las siglas Jka y Jkb, utilizar células comerciales que se encuentran dentro el panel de células pantalla.
2. Colocar dentro de los tubos 2 gotas de suspensión y 2 gotas de cada reactivo respectivamente. Incubar a 37°C por 30 minutos.
3. Centrifugar durante 15 segundos a 3000 rpm, observar la aglutinación.
4. Seguir con el lavado de células en solución salina al 85 % tres veces, a la tercera lavado el botón formado en el tubo resuspender y añadir dos gotas de Coombs.
5. Centrifugar a 3000 rpm por 15 segundos, y mediante una lámpara de lectura observar la aglutinación directa producida por los anticuerpos específicos presentes en el reactivo y los antígenos celulares correspondientes.

3.3.5 Células Kidd Jk^a y Jk^b

Los frascos de las células comerciales deben mantenerse en cadena de frio hasta ser utilizados, para su utilización se debe observar turbidez, fecha de caducidad y temperatura a la cual se debe almacenar.

3.3.6 Control de calidad de equipos utilizados

Cada equipo utilizado tiene un manual proporcionado por la empresa, y además una ficha de uso en la cual se registra los pasos necesarios desde el encendido, utilización y apagado del mismo. Así también presenta una ficha en la cual se anotan los incidentes que se presentan. Para llevar a cabo el control de calidad de una centrifuga se debe cronometrar la velocidad, aceleración y demora de forma ocasional.

Para llevar a cabo el control de calidad de la refrigeradora se debe utilizar termómetro de precisión de forma diaria ya que los reactivos y la solución buffer debe mantenerse refrigerada. (Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012)

3.4 PROCEDIMIENTO

Este estudio se realizará en cuatro fases.

3.4.1 Fase Uno:

Obtención de permisos de la institución: el Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas (CIEI) mantiene una colaboración en el ámbito investigativo con el Hemocentro Nacional por lo que fue aceptada la realización de este proyecto investigativo.

Consentimiento Informado: todos los donantes aceptan el uso de su sangre y de sus derivados al momento de llenar el formulario para donación de sangre con sus datos correspondientes, firmando en la parte inferior del mismo. Es por esto que no se necesita de consentimientos extras, además para la realización de este proyecto se tomaron las muestras codificadas directamente del laboratorio de inmunohematología.

3.4.2 Fase Dos:

Elección de muestras de sangre: Se utilizó muestreo aleatorio simple mediante el cálculo basado en la aplicación de una fórmula en el programa informático Excel versión 2013.

Control de Calidad: Se realizó el control del reactivo que contiene los anticuerpos anti-Jka y anti-Jkb utilizando células comerciales y células de donante siguiendo los pasos recomendados por AABB.

3.4.3 Fase Tres:

Detección de antígenos Jka y Jkb

Preparación de la solución de eritrocitos:

- Elegir una muestra de sangre codificada que se encuentra en tubo tapa lila con anticoagulante EDTA. Evitar muestras coaguladas, hemolizadas y lipémicas.
- Mezclar la muestra de sangre en un agitador por 5 minutos.
- Enumerar el tubo de vidrio con el código de la muestra y su respectiva numeración.
- Tomar la solución buffer refrigerada y dejarla ambientarse.
- Colocar 500 μ L de solución buffer en el tubo y añadir 15 μ L de sangre, mezclar bien.

Determinar antígeno Jka y Jkb en solución de eritrocitos (Reagent Biotest)

- Colocar los reactivos anti-Jka , anti-Jkb , tarjetas grifols, puntas, pipetas, cortopunzante en la mesa de trabajo.

- Codificar las tarjetas grifols DG gel Coombs con el código de la muestra y debajo de cada microtubo escribir el antígeno a investigar.
- Tomar 10 μ L de reactivo anti-Jka y anti-Jkb y colocar en el posillo anteriormente codificado.
- Tomar 15 μ L de sangre y agregar a los pocillos que contienen el reactivo.
- Incubar la tarjeta por 15 min a 37 °C.
- Centrifugar por 9 minutos a 990 rpm.
- Leer el grado de aglutinación que se observa en los microtúbulos.
- Anotar el resultado en el cuaderno de laboratorio.

3.4.4 Fase Cuatro:

Creación de la base de datos: La creación de base de datos se realiza a partir de los resultados obtenidos y de los datos obtenidos del sistema implementada en el Hemocentro para el registro de donantes.

Se creó un registro en Excel con los resultados y los datos del paciente dentro de los cuales deben incluirse: Código, número de donación, grupo ABO, factor Rh, género, edad, procedencia, antígenos y anticuerpos irregulares.

Se realizará el respectivo análisis de los datos en Statistical Package for the Social Science (SPSS V.23) mediante estadística descriptivo.

CAPÍTULO IV

4. CONTROL DE CALIDAD

4.1 Geles de Coombs.

Se utilizaron células comerciales en cada grupo de pruebas obteniéndose resultados esperados de acuerdo al control de calidad de AABB.(Tabla N°4.1 y 4.2).

Tabla N°4.1 Control de Calidad de geles Coombs

Grupo de pruebas	Temperatura de Almacenamiento	Gel	Control Interno Células Comerciales Lote 345D		Lectura
			Jk(a)	Jk(b)	
	25°C	intacto			Presencia de aglutinación
1er grupo	√	√	√	√	√(+++)
2do grupo	√	√	√	√	√(+++)
3er grupo	√	√	√	√	√(+++)
4to grupo	√	√	√	√	√(+++)

Autor: Sylvia Luje
Fuente: Base de datos CIEIC

Tabla N°4.2 Control de Calidad de Reactivo Jka/Jkb

Anti-Jka/Jkb			
	Potencia	Afinidad	Avidez
Valores de referencia	Dilución máxima	Reactivo no diluido	Reactivo sin diluir
AABB, 2012	1/32	(++++) Grumo completo bien formado	(5 a 8")

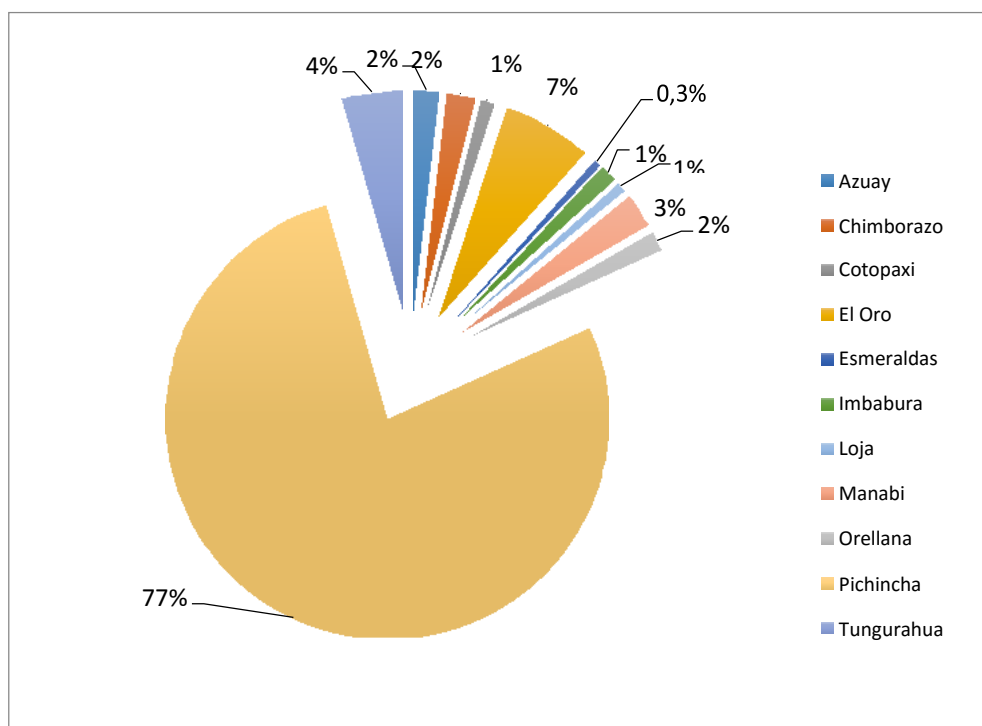
Autor: Sylvia Luje
Fuente: Base de datos CIEIC

4.2 RESULTADOS

4.2.1 Descripción de la Población de Estudio para la detección de antígenos Kidd:

Se analizó un total de 383 muestras de mujeres donantes voluntarias de sangre que acudieron al Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana procedentes de 11 provincias del Ecuador. (Gráfico 4.1)

Gráfico 4.1: Distribución de donantes de sangre de acuerdo a la procedencia.

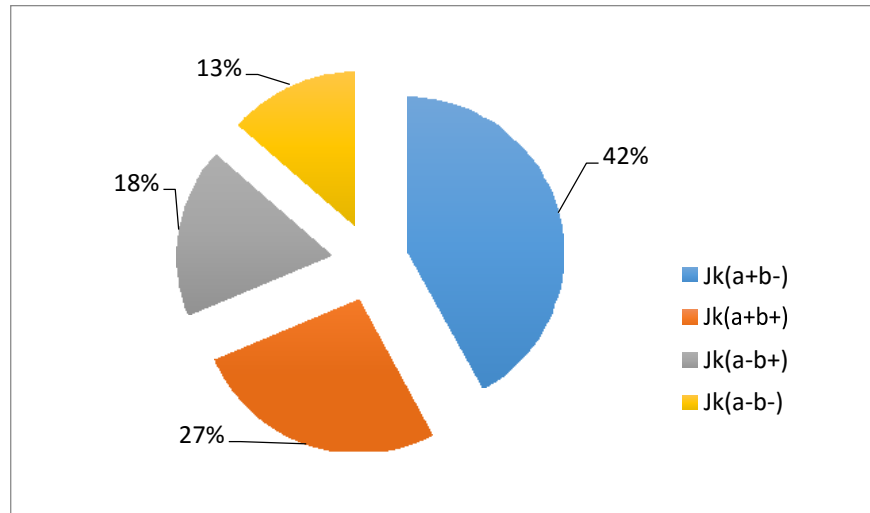


*Autor: Sylvia Luje
Fuente: Base de datos CIEIC*

El gráfico muestra una distribución del 77% en la provincia de Pichincha del total de mujeres analizadas.

Del análisis de resultados se identificó que el 42% de las muestras analizadas presentaron el fenotipo Jk(a+b-); 26,63% el fenotipo Jk(a+b+); 17,75% el fenotipo Jk(a-b+) y el 13,58% el fenotipo Jk(a-b-). (Gráfico 4.2).

Gráfico 4.2: Distribución fenotípica del sistema eritrocitario Kidd en donantes mujeres de sangre.



Autor: Sylvia Luje
Fuente: Base de datos CIEIC

El gráfico muestra la distribución porcentual de las combinaciones fenotípicas encontradas en la población de mujeres donantes de sangre voluntarias de sangre.

Los antígenos más comunes dentro de la población de estudio fueron los que forman parte del fenotipo Jk(a+b-), sin embargo un hallazgo importante es la presencia del fenotipo Jk(a-b-) el que se presenta en un 13,58%. (Tabla N°4.1).

Tabla N°4.1 Frecuencia de los fenotipos del sistema Kidd

<u>Fenotipos</u>	<u>Frecuencia</u>	<u>Porcentaje</u>
Jk(a+b-)	161	42,04
Jk(a+b+)	102	26,63
Jk(a-b+)	68	17,75
Jk(a-b-)	52	13,58
<i>Total</i>	<i>383</i>	<i>100</i>

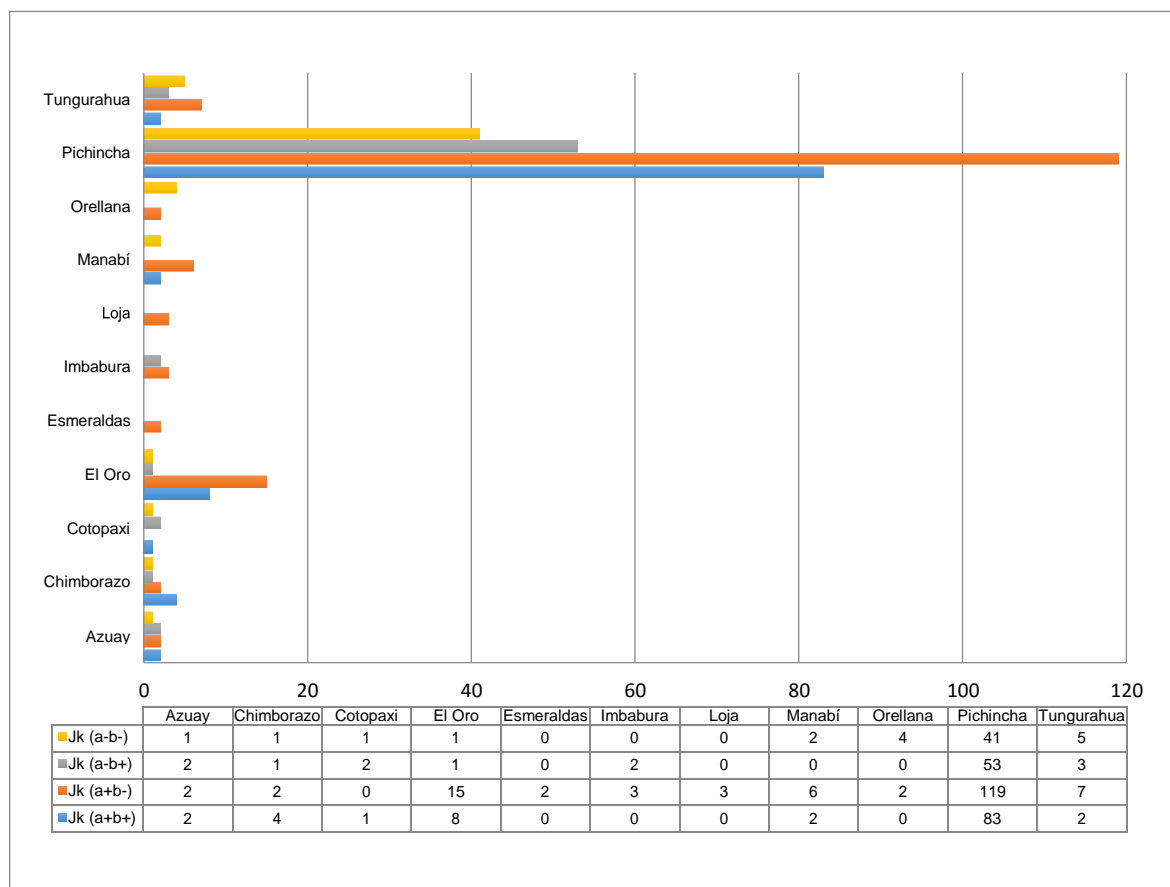
Autor: Sylvia Luje
Fuente: Base de datos CIEIC

La tabla muestra la presencia del fenotipo Kidd null

El análisis de la distribución de los fenotipos del sistema Kidd de acuerdo a la procedencia se determinó que el fenotipo Jk(a+b-) se encuentra en 10 provincias del Ecuador, en

contraste el fenotipo considerado null Jk(a-b-) está distribuido en 8 provincias siendo la de mayor prevalencia Pichincha. (Gráfico 4.3).

Gráfico 4.3: Distribución fenotípica del sistema eritrocitario Kidd en donantes mujeres de sangre.



Autor: Sylvia Luj
Fuente: Base de datos CIEIC

El gráfico muestra la distribución de los fenotipos del sistema Kidd de acuerdo a la provincia de procedencia de las donantes voluntarias de sangre.

Al relacionar la frecuencia del grupo etéreo y los antígenos del sistema Kidd se estableció que el antígeno Jk(a+) se encuentra distribuido entre mujeres de 16 a 45 años de edad al igual que el Jk(b+); mientras que el fenotipo conocido como null por la ausencia de los antígenos Jk(a-b-) su mayor frecuencia se encuentra entre las edades de 16 a 35 años de edad. (Tabla 4.3) Sin embargo la relación entre la edad y distribución de los antígenos del sistema Kidd no tiene significancia estadística $p > 0.01$.

Tabla N°4.3 Frecuencia de los fenotipos del sistema Kidd de acuerdo a la edad

<i>Grupo etáreo</i>	<i>Jk(a+b+)</i>	<i>Jk(a+b-)</i>	<i>Jk(a-b+)</i>	<i>Jk(a-b-)</i>
16-25	43	71	26	23
26-35	27	49	20	12
36-45	19	18	14	8
46-55	10	14	6	5
56-65	3	9	2	4

Autor: Sylvia Luje

Fuente: Base de datos CIEIC

La tabla muestra la distribución de los antígenos del sistema Kidd que forman parte de los fenotipos de acuerdo al grupo etáreo.

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14,361 ^a	1	,993
Razón de verosimilitud	16,929	1	,973
N de casos válidos	383		

p>0.01.

Para el análisis de la frecuencia alélica en los donantes voluntarios de sangre se aplicó la fórmula $I^{K^*2}+I^{K^*}I^k$ (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014), los cálculos permitieron determinar que el alelo Jk(a+) se presentó 628 veces mientras que el Jk (b+) 442 estableciéndose una frecuencia alélica para el Jk(a+) homocigoto de 0,59 y del Jk(b+) de 0,41.(Tabla 4.4).

Tabla N°4.4 Frecuencia alélica de los antígenos Jk(a) y Jk(b) homocigotos

<i>Alelos</i>	<i>Cantidad</i>	<i>Gen</i>	<i>(I^{K*2}+I^{K*}I^k)</i>	<i>Frecuencia alélica</i>
Jka Jka	263	JKA	628	0,59
Jkb Jkb	170	JKB	442	0,41
Jka Jkb	102			1,00

Autor: Sylvia Luje

Fuente: Base de datos CIEIC

La tabla muestra la frecuencia alélica del Sistema Kidd, calculada mediante la aplicación de la fórmula de: número de veces que se repite un alelo/ total de alelos encontrados (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014)

En este estudio también se realizó la identificación de aloinmunización determinándose que 13 (3,39%) de las 383 donantes se encuentra aloinmunizados generalmente con anticuerpos relacionados con el sistema Rh existiendo dos considerados indeterminados los que podrían tratarse de aloanticuerpos del sistema Diego o Kidd.(Tabla N°4.5).

Tabla N°4.5 Determinación de aloinmunización en donantes de sangre

<i>Edad</i>	<i>Procedencia</i>	<i>Fenotipo Jk(a)/Jk(b)</i>	<i>Aloanticuerpo</i>
25	Pichincha	Jk(a+b+)	Anti-E
36	Orellana	Jk(a-b+)	Anti-M
26	Pichincha	Jk(a+b+)	Anti-D
39	Pichincha	Jk(a-b+)	Anti- E
35	Pichincha	Jk(a-b+)	Anti- K
19	Pichincha	Jk(a-b+)	Indeterminado
57	Pichincha	Jk(a+b+)	Anti - E
55	Pichincha	Jk(a-b-)	Indeterminado
35	Pichincha	Jk(a+b-)	Anti- E
50	Pichincha	Jk(a-b+)	Anti- E
45	Pichincha	Jk(a+b-)	Anti- E
32	Pichincha	Jk(a+b-)	Anti- K

Autor: Sylvia Luje

Fuente: Base de datos CIEIC

4.3 DISCUSIÓN

Se seleccionó como población de estudio al género femenino debido a la importancia de los antígenos del sistema Kidd en la producción de anemias hemolíticas fatales (EHRN) en el recién nacido como lo corrobora el estudio realizado por Erhabor y sus colaboradores en el cual se menciona que los antígenos de este sistema estimulan la formación de anticuerpos que llegan a producir una enfermedad hemolítica del recién nacido (Erhabor, Hassan, Alhaji, Yakubu, & Buhari, 2014).

Otro aspecto importante son los estudios de casos en mujeres embarazadas, uno de ellos relata la existencia de anemia hemolítica pos transfusionales como el reportado por Liu Fuping, este análisis de caso muestra que la implicación más grave fue la falta de detección de los anticuerpos en pruebas pre transfusionales, debido a la ausencia de estímulo que promueve una disminución notable del nivel de anticuerpos, por lo tanto antes de realizarse una transfusión debe identificarse la presencia de antígenos del sistema Kidd para evitar nuevas estimulaciones (Fuping & Jingchun, 2006). Otro estudio también menciona la existencia de EHRN por los antígenos KIDD reportándose un total de 13 casos ocasionados por el desarrollo de anticuerpos anti-JK^b (Velasco Rodríguez, Pérez-Segura, Jiménez-Ubieto, & Rodríguez, 2014).

En este estudio se determinó que el antígeno más frecuente del sistema Kidd en las mujeres ecuatorianas es Jk(a+) originando dos fenotipos Jk(a+b-) con una prevalencia del 42% y Jk(a+b+) con el 26,63%, similar a Europa donde existe una prevalencia del 50% para el antígeno Jk(a+), llegando al 75% en algunas regiones de África pero no así en toda la población africana. En China es del 30% y en Japón del 20%, estos datos muestran que la presencia de los antígenos y fenotipos relacionados con el alelo Jk*A son característicos de cada población y región geográfica (Geoff D. , 2013).

Además de este antígeno se identificó al Jk(b+) que origina al fenotipo Jk(a-b+) este fenotipo es común en la India con un 29%, en este estudio existe una prevalencia del 17,75%. Este antígeno está relacionado con la producción de la enfermedad hemolítica del recién nacido y reacción hemolítica transfusional debida a la producción de anticuerpos de tipo Ig G inmune que atraviesa la placenta y fija el complemento y por estas características es considerado inmunógeno (Geoff D. , 2013).

Otro fenotipo identificado en este estudio fue el Jk(a-b-) con una frecuencia del 13,58%, este fenotipo se caracteriza por producir un anticuerpo anti-JK3 el cual genera una reacción postransfusional retrasada; un caso fue reportado por Jator, 2014 quien describe a una mujer embarazada de 23 años que recibió sangre incompatible y desarrollo una reacción

postransfusional grave que fue controlada al transfundirse unidades con el fenotipo Kidd null, pero el feto no fue afectado, lo que demuestra la inmunidad que desarrollan mujeres con fenotipos Kidd null (Jator, 2014). Estudios determinan que la frecuencia del fenotipo Jk(a-b-) es baja en la mayoría de poblaciones excepto polinesios y finlandeses por lo que resulta difícil encontrar sangre compatible para pacientes que han desarrollado el aloanticuerpo anti-JK3 (Sriwanitchrak, 2012) (Lin & Yu, 2008), por lo que es necesario mantener una base de datos con donantes fenotipificados para el sistema Kidd.

El análisis de la distribución de los fenotipos del sistema Kidd determinó que el fenotipo Jk(a+b-) se encuentra en 10 provincias del Ecuador, en contraste el fenotipo considerado null Jk(a-b-) está distribuido en 8 provincias siendo la de mayor prevalencia Pichincha, estos datos son una alerta para el Programa Nacional de Sangre para considerar la realización de nuevas pruebas para la detección de fenotipos eritrocitarios. El Estudio realizado por Trueba y otros estableció que la variabilidad de polimorfismos en los sistemas eritrocitarios deriva de la “mezcla genética” de cada población (Trueba-Gómez, y otros, 2014) por lo que las acciones que se establezcan en medicina transfusional debe realizar en base a los resultados obtenidos en investigaciones relacionadas con los fenotipos o genotipos sanguíneos.

Erhabor en su investigación también determina que los antígenos eritrocitarios se distribuyen de manera diferente y exclusiva en cada población y de diferentes nacionalidades por lo que las recomendaciones de cambio surgen del perfil fenotípico eritrocitario, adicionalmente debe implementarse exámenes de rutina en mujeres embarazadas para evitar aloinmunizaciones innecesarias. (Erhabor, Hassan, Alhaji, Yakubu, & Buhari, 2014).

El análisis de la frecuencia de antígenos del sistema Kidd y el grupo etario ecuatoriano se identificó que el antígeno Jk(a+) y Jk(b+) se encuentra distribuido en mujeres en edad fértil al igual que el fenotipo null; no sólo el género femenino tiene riesgo de aloinmunización y reacción postransfusional, así en el año 2015 se reporta el caso de un joven varón de 59 años de edad que nunca tuvo una transfusión sanguínea y desarrollo un aloanticuerpo anti- JK3 luego del trasplante renal comprobando así el carácter inmunógeno que tiene este antígeno (Sanford, Bourikian, McClain, & Curtis, 2015) y la importancia de su determinación previa para el manejo adecuado de trasplantes y transfusiones.

Erhabor señala que los grupos eritrocitarios se encuentran distribuidos de acuerdo a la etnia así el fenotipo Kidd null es más frecuente en la raza negra y no en la caucásica y asiática (Erhabor, Hassan, Alhaji, Yakubu, & Buhari, 2014).

Dentro de este estudio se determinó la frecuencia fenotípica-alélica que se refiere al número de individuos que expresan un determinado alelo que da lugar a un fenotipo (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014) así el Jk(a+) se presentó 628 veces mientras que el Jk (b+) 442 estableciéndose una frecuencia alélica para el Jk(a+) homocigoto de 0,59 y del Jk(b+) de 0,41; este cálculo determina la probabilidad de encontrar un donante de sangre compatible para pacientes que han desarrollado anticuerpos contra varios antígenos eritrocitarios, es decir la combinación de fenotipos y su frecuencia alélica determina el número de concentrados sanguíneos negativos para los antígenos desarrollados en pacientes multitransfundidos.

Buelvas explica su teoría indicando que si un paciente ha desarrollado anticuerpo anti-c, Fy^a y Jk^a y requiere dos unidades de sangre y si la frecuencia fenotípica/alélica en los donantes para los contrarios es: (c-) 0,15; Fy(a-) 0,34 y Jk(a-) 0,91 al multiplicar $0,15 \times 0,34 \times 0,91 = 0,05$ ó 5%, por lo que se espera que una de cada 20 unidades de concentrados de glóbulos rojos concuerden con el fenotipo del paciente (Buelvas Cortés, Muñiz-Díaz, & León de González, 2014). Estos cálculos ayudarían a mantener cierta cantidad de sangre compatible para pacientes que reciben transfusiones periódicas.

Otro aspecto estudiado fue la presencia de aloinmunización para este sistema afortunadamente en ninguna donante se identificó la presencia de anticuerpos anti-Kidd. Sin embargo en los estudios realizados por Ulloa y Checa se determinó la existencia de anticuerpos anti-Jk^a el cuál no puede ser detectado fácilmente con metodologías automatizadas debido a su permanencia en el organismo y su concentración en el plasma, este anticuerpo ha sido relacionado con reacciones pos transfusionales (Muñiz Díaz, 2010).

4.4 CONCLUSIONES

- Se analizaron un total de 383 muestras de donantes procedentes de 11 provincias ecuatorianas de tal manera que se cubrió el 45% del total de provincias en el Ecuador.
- Se identificó que el 42% de donantes exhiben el fenotipo Jk(a+b-) convirtiéndose en prevalente de la población ecuatoriana.
- El 17,75% de donantes ecuatorianas presenta el fenotipo Jk(a-b+) por lo que presentan un alta probabilidad de inmunización al recibir sangre incompatible, el desarrollo de anti-Jk^a constituye un desafío en las pruebas de detección debido a que tiende a desaparecer al no tener estimulación antigénica.
- Uno de los hallazgos importantes fue la identificación del fenotipo Jk(a-b-) en el 13,58% de los donantes de sangre.
- Se determinó que 10 de las 11 provincias estudiadas presentaban el fenotipo Jk(a+b-) mientras que 8 provincias presentaron el fenotipo Jk(a-b-), datos relevantes para implementar nuevas prácticas transfusionales.
- La distribución de los fenotipos del sistema Kidd en relación a la edad no fueron estadísticamente significantes.
- El análisis de la distribución fenotípica de los alelos del sistema Kidd existe una frecuencia mayor en el alelo JKA que el JKB.
- De los donantes que intervinieron en este estudio ninguno se encontraba aloinmunizado.

4.5 RECOMENDACIONES

- Una de las recomendaciones es continuar con el estudio del sistema Kidd principalmente en aquellos donantes de sangre que presentan el fenotipo null Jk(a-b-) con técnicas más sensibles.
- Se recomienda al Programa Nacional de Sangre que busque los mecanismos necesarios para la realización de pruebas de fenotipo extensivo de tal manera que se pueda frenar la aloinmunización.
- Se recomienda que a las mujeres en edad fértil se realicen una tipificación completa para evitar problemas de aloinmunización especialmente con los alelos del sistema Kidd, especialmente el Jk(b) que está directamente relacionado con la enfermedad hemolítica del recién nacido.
- Se recomienda la actualización de los algoritmos de tipificación sanguínea en mujeres en edad fértil y estado de gravidez tomando en consideración los resultados obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA

- Asociación Americana de Bancos de Sangre. (2012). Manual Técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. *Manual*.
- Abbas, A. K., Lichman, H., & Pillai, S. (2012). *Inmunología celular y molecular*. España: Elseiver.
- Almonacid, A. A. (2014). *Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios*. Ministerio de Salud Gobierno de Chile. Santiago de Chile: Instituto de Salud Pública.
- Almonacid, T. M. (Diciembre de 2014). *Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile*. Obtenido de <http://www.ispch.cl/sites/default/files/Deteccion%20Anticuerpos%20Irreg.pdf>
- Asociación Americana de Bancos de Sangre. (2012). *A.A.B.B. Manual Técnico*. Buenos Aires, Argentina.
- Asociación Americana de Bancos de Sangre. (2012). Manual Técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. *Manual*.
- Bonifácio, S., & Novaretti, M. (2009). Funções biológicas dos antígenos eritrocitários. *Revista Brasileira de Hematologia*, 31(2):104-111
<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v31n2/aop1509.pdf>.
- Buelvas Cortés, A., Muñoz-Díaz, E., & León de González, G. (2014). *Inmunohematología básica y aplicada*. Colombia: Feriva ISBN 978-958-46-4106-9.
- Calderón, B. C., Corredor, C. R., & Sastoque, S. E. (Diciembre de 2007). *RED DISTRITAL DE BANCOS DE SANGRE Y SERVICIOS DE TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA - BOGOTÁ*. Obtenido de <http://www.saludcapital.gov.co/DDS/Documentos%20Red%20Sangre/DOCUMENTO%20MARCO%20PROGRAMA%20CONTROL%20CALIDAD%20EXTERNO%20IH.pdf>
- Casamitjana, N. (2010). Seguridad Transfusional. *Medicina Transfusional y Terapia Celular*.
- Daniels, G. (2013). Kidd Blood Group System. En G. Daniels, *Human blood groups* (págs. 325-335). Osford: Blackwell Scientific.
- Daniels, G., & Bromilow, I. (2010). Essential Guide to Blood Groups. En G. Daniels, & I.

- Bromilow, *Essential Guide to Blood Groups* (págs. 219-236). UK: WILEY-BLACKWELL.
- Erhabor, O., Hassan, M., Alhaji, Y., Yakubu, A., & Buhari, H. (2014). Kidd blood group phenotypes among pregnant women in Sokoto, North Western Nigeria. *Asian Pac J Trop Med.*, S1:S111-5. doi: 10.1016/S1995-7645(14)60215-7.
- Fuping, L., & Jingchun, L. (2006). Possible Insensitivity of the Polybrene Antibody Screen to Detect Anti-Jka. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, vol. 36, no. 1 36(1):101-2 PMID: 16501244.
- García, C. A. (23 de Enero de 2009). *Medigraphic*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2009/myl091-2d.pdf>
- García, D. F. (30 de Diciembre de 2011). *Portales médicos*. Obtenido de http://www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/index.php/Isoimmunización
- García, D. M. (26 de Diciembre de 2011). Obtenido de http://www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/index.php/Aglutinacion
- Geoff, D. (2013). *Human Blood Groups_Capítulo 9 Kidd Blood Group Systems* (Vol. 3era edición). USA: Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-4443-3324-4.
- Hamilton, J. (2015). Kidd blood group system: a review. *Inmunohematology*, 31(1):29-35.
- Harvey, G., & Anstee, D. (2014). *Mollison's Blood transfusion in Clinical Medicine*. USA: Wiley Blackwell.
- Holt, S., Donaldson, H., Hazlehurst, G., Varghese, Z., Contreras, M., Kingdon, E., . . . Burns, A. (2004). Acute transplant rejection induced by blood transfusion reaction to the Kidd blood group system. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 19 (9): 2403-2406 doi:10.1093/ndt/gfh333.
- Irshaid NM, E. N. (2002). Novel alleles at the JK blood group locus explain the absence of the erythrocyte urea transporter in European families. *Br J Haematol*, 116(2): 445-453.PMID: 11841450.
- ISEM. (Agosto de 2005). *ISEM - México*. Obtenido de <http://salud.edomexico.gob.mx/html/uma/manual/CformredbcosalSEM>
- Jator, E. (2014). Notorious anti-Jk3 in a pregnant woman. *Journal of the American Society for Medical Technology*, 27(2):78-82 PMID: 25000650.

- Larousse, E. (2007). *The free dictionary*. Obtenido de <http://es.thefreedictionary.com/homocigoto>
- Lauren Anne, E., Diaa, O., & Nathaniel Perryman, C. (2015). "Hyperhemolysis Syndrome without Underlying Hematologic Disease," *Case Reports in Hematology*. *Hematology*, vol. 2015, Article ID 180526, 3 pages, 2015. doi:10.1155/2015/180526.
- Lerut, E. V.-P.-P.-P. (2007). Duffy and Kidd blood group antigens: minor histocompatibility antigens involved in renal allograft rejection? *Transfusion*, 47: 28–40. doi: 10.1111/j.1537-2995.2007.01060.x.
- Lin, M., & Yu, L. (2008). Frequencies of the JK null (IVS5-1g>a) allele in Taiwanese, Fujian, Filipino, and Indonesian populations. . *Transfusion*. , 48 :1768.
- Makroo, R., Bhatia, A., Gupta, R., & Phillip, J. (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: PMC3705660.
- Mourant, A., Kopec, A., & Domaniewska - Sobczak, K. (1976). The Distribution of the Human Blood Groups and Other Biochemical Polymorphismo. *Transfusion*, 10-40.
- Muñiz Diaz, E. (2010). Grupos sanguíneos eritrocitarios. En E. Muñiz Díaz, *Significado Biológico de los grupos sanguíneos* (págs. 34-40). Barcelona.
- Muñiz Diaz, E. (2010). Grupos sanguíneos eritrocitarios. En E. Muñiz Díaz, *Significado Biológico de los grupos sanguíneos* (págs. 34-40). Barcelona.
- NIH. (13 de Junio de 2012). *NHI*. Obtenido de <http://www.nhlbi.nih.gov/health-spanish/health-topics/temas/anemia/>
- OPS. (2009). Los requerimientos básicos . En O. P. Salud, *"Elegibilidad para la Donación de Sangre: Recomendaciones para la Educación y la Selección de Donantes Potenciales de Sangre* (págs. 11-19). Washington, D.C.
- Osaro, E., Mairo, H., Yusuf Bashir, A., Ahmed, Y., & Hauwa, B. (2014). Kidd blood group phenotypes among pregnant women in sokoto, North Western Nigeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(Suppl 1): S111-S115 doi: 10.1016/S1995-7645(14)60215-7.
- Parhm, P. (2011). *El sistema inmune*. Inglaterra: Panamericana.

- Rabeya, Y., Suria Abdul, A., Nurasyikin, Y., & Leong, C.-F. (2014). A Rare Case of Anti-Jk3 Antibody Detected on Pre-Transfusion Investigation. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 30(3):208–210 DOI 10.1007/s12288-012-0211-6.
- Race, D. R. (2010). *Los 8 sistemas de grupos sanguíneos y su aplicación en la práctica*. Barcelona: La Escocesa.
- Race, R., & Sanger, R. (1975). *Blood Groups in Man*. Blackwell Scientific Publications, 6th edn. Oxford.
- Robledo, G. (Abril de 2014). Wordpress. Obtenido de <https://geneticabioterio.wordpress.com/cromosomas/>
- Rourk, & Squires, J. (2012). Implications of the Kidd blood group system in renal transplantation. *Immunohematology*, 2012;28(3):90-4. PMID: 23286555.
- Sandeep Sahu, H., & Anupam, V. (2014). Adverse events related to blood transfusion. *Indian Journal of Anaesthesia*, 58(5):543-551 doi: 10.4103/0019-5049.144650.
- Sanford, K., Bourikian, S., McClain, A., & Curtis, K. (2015). Development and Detection of Kidd Antibodies. *Lab Med*, 46(3):235-40 doi: 10.1309/LMOGF96VANBH0PLR.
- Sanford, K., Bourikian, S., McClain, A., & Curtis., K. (2015). Development and Detection of Kidd Antibodies. *Laboratory medicine*, 46(3):235-40. doi: 10.1309/LMOGF96VANBH0PLR. PMID: 26199265.
- Sriwanitchrak, P. S. (2012). Genomic characterisation of the Jk(a-b-) phenotype in Thai blood donors. *Blood Transfusion*, 10(2), 181–185. doi:10.2450/2011.0038-11.
- Terés, F. O., Mendizábal, C. d., & Nuñez, E. V. (2008). *Asociación Española de Pediatría*. Obtenido de <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/39.pdf>
- Trueba-Gómez, R., Baptista-González, H., Rosenfeld-Mann, F., Ibarra-Zuñiga, L., Coeto-Barona, C., & Bouchn-Valencia, P. (2014). Genotipificación de diversos grupos sanguíneos. *México Medina Transfusión*, Vol 1: 4-5.
- Velasco Rodríguez, D., Pérez-Segura, A., Jiménez-Ubieto, M., & Rodríguez, L. (2014). Hemolytic Disease of the Newborn Due to Anti-Jkb: Case Report and Review of the Literature. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 30(2):135–138 DOI 10.1007/s12288-012-

0202-7.

Vucelic, D., Savic, N., & Djordjevic, R. (2005). Delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-Jka. *Acta chirurgica iugoslavica*, Volume 52, Issue 3, Pages: 111-115
doi:10.2298/ACI0503111V.

ANEXOS

ANEXO 1: Inserto de antisueros Jk(a)-Jk(b)

US

Blood Grouping Reagent

Anti-Jk^a (JK1)

Seraclone[®] Human Monoclonal
(MS15)

Anti-Jk^b (JK2)

Seraclone[®] Human Monoclonal
(MS8)

FOR IN-VITRO DIAGNOSTIC USE
For Tube Testing
MEETS FDA POTENCY REQUIREMENTS
U.S. License Number: 1798

Package size

REF 808179100 VOL 2 mL Seraclone[®] Anti-Jk^a (JK1)

REF 808184100 VOL 2 mL Seraclone[®] Anti-Jk^b (JK2)

Intended Use

For the determination of the Kidd antigens Jk^a (JK1) and Jk^b (JK2) of red blood cells using the tube test.

Summary

The Kidd antigen was first identified in 1951 when the corresponding antibody was found to cause hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN). Although Kidd antibodies have been shown to cause generally mild HDFN, they have been implicated in severe hemolytic transfusion reactions (HTR). The HTR are often delayed due to an anamnestic response to the Kidd antigen¹.

The frequencies of the common phenotypes are shown in the table.

Phenotypes and Frequencies in the Kidd System ¹		
Phenotype	Whites	Blacks
Jk (a+b-)	28	57
Jk (a+b+)	49	34
Jk (a-b+)	23	9
Jk (a-b-)	Exceedingly rare	

Rintest Seraclone[®] Anti-Jk^a and Seraclone[®] Anti-Jk^b Blood Group

Precautions

- For In-vitro diagnostic use.
- Store at 2 to 8°C.
- Do not use beyond the expiration date.
- Do not use if turbid.
- Handle and dispose of reagents as potentially infectious
- Caution: Do not pipette by mouth. The absence of all viruses has not been determined.
- Caution: This product contains Natural Rubber Latex Which May Cause Allergic Reactions.
- Warning: Contains sodium azide (NaN₃), which may react with lead or copper plumbing to form explosive azides. If discarded in the sink, flush with large amounts of water to prevent the build-up of explosive metal azides.
- The bovine albumin used for the production of this reagent is purchased from BSE-free US sources, Boval Company L.P. in Cleburne, Tx, USA and Millipore in Kankakee, IL, USA.

Specimen Collection

Fresh samples of clotted, EDTA or citrate anticoagulated whole blood collected following general blood sampling guidelines are acceptable. The specimen should be tested as soon as possible after collection. If testing is delayed, EDTA and clotted specimens should be stored at 2 to 8°C, citrated specimens (donor segments) at 1 to 6°C.

Blood specimens exhibiting gross hemolysis or contamination should not be used.

Clotted samples or those collected in EDTA may be tested within ten days from collection. Donor blood stored in citrate anticoagulant may be tested until the expiration date of the donor unit.

Materials

Materials provided

- Seraclone[®] Anti-Jk^a (JK1) and/or Seraclone[®] Anti-Jk^b (JK2)

Materials required but not provided

- Pipettes (drop volume 40 to 50 µl)
- Isotonic saline solution
- Glass tubes 10 x 75mm or 12 x 75 mm
- Serological Centrifuge
- Interval Timer
- Markers
- Optical aid (optional). The use of an optical aid for agglutination reading must be validated by the user.

Test Procedure

Fuente: Biotest M|

Biotest Medical Diagnostics GmbH, Industriestr. 1. Lote :186256/04

Anexo 2: Hoja del donante, en donde se encuentra el consentimiento informado.

Grupo Sanguineo

SECRETARÍA NACIONAL DE BANCOS DE SANGRE

CURSO Nro.

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 realizaron 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 obtenemos 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 ultima 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 transplante 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
32 ¿ Está usted embarazada o da de lactar? _____	SI		NO		32
33 ¿ Fecha de su última menstruación? _____ día _____ mes _____ año _____					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 AYUDARÁ A SALVAR VIDAS.

POSTDONACION O AUTOEXCLUSION

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

Anexo 3: Inserto de tarjetas GRIFFOLS DG Gel Coombs

3031232

DG Gel Coombs

17-07-15

Español

Leer atentamente antes de usar el producto. Sólo para uso diagnóstico "in vitro"

INDICACIONES DE USO
Pruebas de Coombs Indirecto y Coombs Directo, en técnica de gel.
Las pruebas de Coombs Indirecto incluyen: investigación e identificación de anticuerpos irregulares, pruebas cruzadas, autocontrol y tipaje de hematies.

INTRODUCCIÓN
El test de la antiglobulina fue introducido en la medicina clínica por Coombs en 1945, y por eso es conocida como la prueba de Coombs. Esta prueba se basa en el uso de un reactivo de Antiglobulina Humana Polivalente (AHG), que permite la detección de hematies recubiertos por inmunoglobulinas o fracciones del complemento.
La prueba de Coombs Indirecto permite la detección de anticuerpos eritrocitarios presentes en el suero o plasma del paciente, por sensibilización de hematies "in vitro".
La prueba de Coombs Directo permite la detección de hematies sensibilizados "in vivo" por inmunoglobulinas o fracciones del complemento.
La investigación de anticuerpos irregulares tiene como objetivo detectar los anticuerpos clínicamente significativos presentes en la muestra del paciente. El autocontrol indicará, en una investigación de anticuerpos irregulares positiva, si se debe a la presencia de un autoanticuerpo, un aloanticuerpo o de ambos.

Pruebas cruzadas:

- prueba cruzada mayor: hematies del donante enfrentados con el suero o plasma del receptor, mostrará la presencia o ausencia de anticuerpos irregulares en la sangre del receptor, específicos contra los antígenos de los hematies del donante
- prueba cruzada menor: hematies del receptor enfrentados con el plasma o suero del donante, mostrará la presencia o ausencia de anticuerpos irregulares en la sangre del donante, específicos contra los antígenos de los hematies del receptor.

FUNDAMENTO
El principio del método se basa en la técnica en gel descrita por Y. Lapiere¹ para la detección de las reacciones de aglutinación de los hematies. La aglutinación se produce al entrar en contacto los antígenos eritrocitarios con los anticuerpos correspondientes, presentes en el reactivo o en la muestra de suero o plasma.
La tarjeta DG Gel es un soporte de plástico constituido por 8 microtubos. Cada microtubo está formado por una columna y una cámara de dispensación/incubación.
Cada columna contiene microesferas de dextranos polimerizados en medio tamponado que actúan como filtro. Los dextranos se encuentran mezclados con un reactivo que contiene antiglobulina humana.
Los microtubos que contienen antiglobulina humana actúan aglutinando los hematies sensibilizados, "in vivo" o "in vitro", con anticuerpos IgG o fracciones del complemento.
Durante la centrifugación, los aglutinados de hematies son atrapados según su tamaño, en la superficie o a lo largo de la columna de gel. Los hematies no aglutinados descienden hasta el fondo del microtubo.

COMPOSICIÓN
Cada microtubo de la tarjeta DG Gel Coombs contiene dextranos polimerizados en medio tamponado, con conservantes y mezclados con antiglobulina humana. Los microtubos se identifican mediante la etiqueta frontal de la tarjeta:

- microtubos **AHG**: Coombs, solución tamponada de baja fuerza iónica (LISS) con antiglobulina humana polivalente. Mezcla de anticuerpos anti-IgG policlonal de conejo y anti-C3d monoclonal, anticuerpos IgM de origen murino, clon 12011 D10

Reactivo listo para usar. Utilizar inmediatamente los microtubos una vez desprecintados.

ESTABILIDAD
DG Gel Coombs es estable, sin desprecintar, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, conservado a 2-25 °C y en la posición indicada en el embalaje exterior. No congelar.

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Pipetas automáticas 10 µl, 25 µl, 50 µl y 1 ml.
- Puntas de pipeta desechables.
- Tubos de vidrio.
- DG Gel Sol.
- Incubador para tarjetas DG Gel.
- Centrifuga para tarjetas DG Gel.
- Hematies reactivo para investigación e identificación de anticuerpos irregulares de Diagnostik Grifols, S.A.
- Sueros de hemoclasificación.

MUESTRAS
Muestras de sangre de extracción reciente, recogida con los anticoagulantes habituales de banco de sangre (obtención de plasma) o sin anticoagulantes (obtención de suero).
No utilizar muestras hemolizadas, turbias, contaminadas o con presencia de coágulos.
El procedimiento de extracción, recolección y manipulación de la sangre debe realizarse por personal técnico cualificado, según las normativas y directivas vigentes^{2,4}, y siguiendo las indicaciones del fabricante del material utilizado en la recolección de la muestra.

- Investigación/identificación de anticuerpos irregulares, pruebas cruzadas y autocontrol: utilizar suero o plasma. Si es necesario, pueden utilizarse muestras conservadas a 2-8 °C hasta 48 horas después de su extracción o muestras congeladas (de -20 °C a -80 °C) hasta el momento de realizar la determinación.
- Coombs Directo, pruebas cruzadas, autocontrol y tipaje de hematies: utilizar los hematies recogidos con anticoagulantes. Si es necesario, pueden utilizarse muestras conservadas a 2-8 °C hasta 48 horas después de su extracción.
También pueden utilizarse hematies procedentes de bolsa, recogidos en ACD, CPD, CPDA o SAG-Manitol, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la bolsa, si se conservan a 2-8 °C.
Si se trabaja con hematies del segmento de las bolsas, se recomienda lavar los hematies con solución salina fisiológica antes de preparar la suspensión. No utilizar si se observan coágulos o hemólisis.

MÉTODO
DG Gel Coombs puede utilizarse tanto en método manual como en instrumentación semiautomática o automática. Para el sistema automático ver el manual de usuario del instrumento.
Dejar atemperar (18-25 °C) muestras y reactivos.
Inspeccionar el estado de las tarjetas antes de utilizar (ver apartado LIMITACIONES "En relación con el producto").
Identificar las tarjetas y muestras a utilizar.
Cada tarjeta está identificada individualmente por un código de barras. Si no se utiliza un lector de código de barras, identificarlas manualmente.
Si se utiliza el método manual: despegar con precaución la lámina de metal que cubre los microtubos para prevenir contaminaciones cruzadas entre ellos y dispensar con precaución la suspensión de hematies, evitando que la punta de la pipeta entre en contacto con la pared o el contenido de los microtubos.

Método manual:

1. Coombs Indirecto:
 - 1.1. Investigación/identificación de anticuerpos irregulares:
 - Homogeneizar los viales de hematies reactivo para investigación/identificación de anticuerpos irregulares
 - Dispensar en los microtubos correspondientes, 50 µl de hematies reactivo.
 - Añadir 25 µl de suero o plasma del paciente.
 - Incubar 15 minutos a 37 °C.
 - 1.2. Pruebas cruzadas (PC):
 - Preparar una suspensión de hematies al 1% en DG Gel Sol (10 µl de sedimento o concentrado de hematies en 1 ml de DG Gel Sol). Utilizar hematies del donante para la PC mayor y hematies del receptor para la PC menor. Asegurar la resuspensión de los hematies antes de utilizar.
 - Dispensar en el microtubo correspondiente, 50 µl de suspensión de hematies al 1% del donante (PC mayor) o 50 µl de suspensión de hematies al 1% del receptor (PC menor).
 - Añadir 25 µl de suero o plasma del receptor (PC mayor) o 25 µl de suero o plasma del donante (PC menor).
 - Incubar 15 minutos a 37 °C.
- 1.3. Autocontrol:
 - Preparar una suspensión de hematies del paciente al 1% en DG Gel Sol (10 µl de sedimento o concentrado de hematies en 1 ml de DG Gel Sol). Asegurar la resuspensión de los hematies antes de utilizar.
 - Dispensar en el microtubo correspondiente, 50 µl de suspensión de hematies del paciente al 1%.
 - Añadir 25 µl de suero o plasma del paciente.
 - Incubar 15 minutos a 37 °C.
- 1.4. Tipaje de hematies:
Seguir las instrucciones de uso del suero de hemoclasificación utilizado.
2. Coombs Directo:
 - Preparar una suspensión de hematies del paciente al 1% en DG Gel Sol (10 µl de sedimento o concentrado de hematies en 1 ml de DG Gel Sol). Asegurar la resuspensión de los hematies antes de utilizar.
 - Añadir en el microtubo correspondiente, 50 µl de suspensión de hematies del paciente al 1%.
3. Centrifugar en centrifuga para tarjetas DG Gel.
4. Leer los resultados.

RESULTADOS
Lectura de los resultados:

Negativo:	-	Banda de hematies en el fondo de la columna, resto de la columna sin aglutinados visibles
Positivo:	+/-	Escasos aglutinados de pequeño tamaño en la mitad inferior de la columna
	1+	Algunos aglutinados de pequeño tamaño en la columna
	2+	Aglutinados de tamaño pequeño o mediano a lo largo de la columna
	3+	Banda superior de aglutinados, de tamaño mediano en la mitad superior de la columna
DP	4+	Banda de hematies aglutinados en la parte superior de la columna
	Doble Población (doble banda de hematies, en el fondo y en la parte superior de la columna)	



Set ID-DiaPanel: 45171.78.X (Japan: 4516.78.xx)
 Set ID-DiaPanel P: 45171.78.X (Japan: 4517.78.xx)

LOT

06171.78.X - 06271.78.X
 0417.78.xx - 0527.78.xx
 05361.78.X - 05461.78.X
 Japan: 0536.78.xx - 0546.78.xx

2012.07.30
 (Japan: 30.07.12)

V.I.P. Software: P47

ID-DiaPanel
ID-DiaPanel-P

Antigen-Table / Antigen-Table / Tabla de antígenos / Tabla de antígenos / Tabla de antígenos / Tabla de antígenos / Identificación de anticuerpos / Identificación de anticuerpos / Identificación del anticuerpo / Identificación del anticuerpo

Rh-ir	Rh-ir			Kell			Duffy			Kidd			Lewis			P			MNS			Luth.			Xg			Spec. Antigene Special types	Bemerkungen / Remarks / Remarques / Note Observaciones / Observações
	D	C	E	c	e	C ^w	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Kp ^c	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	L ^u	L ^v	Xg ^a	Xg ^b		
1	C ^w CD.ee	R ₁	WR ₁	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	
2	CCD.ee	R ₁	R ₁	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2	
3	ccD.EE	R ₂	R ₂	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3	
4	Ccddee	r ₁	r ₁	0	+	+	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4	
5	ccddEe	r ₁	r ₁	0	+	+	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5	
6	ccddee	rr	rr	0	0	0	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6	
7	ccddee	rr	rr	0	0	0	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7	
8	ccD.ee	R ₂	R ₂	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	8	
9	ccddee	rr	rr	0	0	0	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9	
10	ccddee	rr	rr	0	0	0	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	
11	ccddee	rr	rr	0	0	0	+	0	+	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	

Anmerkungen siehe rückseitig / Remarks see overleaf / Voir les remarques au verso / Per le note consultare il retro / Ver observações no verso

Name / Name / Nom / Nombre / Nombre / Nome Blutgruppe + Antigene / Blood group + antigens / Groupe sanguin + antigènes / Gruppo sanguigno + antigeni / Grupo sanguíneo + antígenos / Grupo sanguíneo + antígenos	Interpretation / Interpretation / Interpretation / Interpretazione / Interpretación / Interpretación	Datum / Date / Date / Data / Fecha / Data
--	---	---

Anexo 5: Procesamiento de muestras

Recolección de muestras



Materiales y reactivos



Equipos



Preparación de muestras



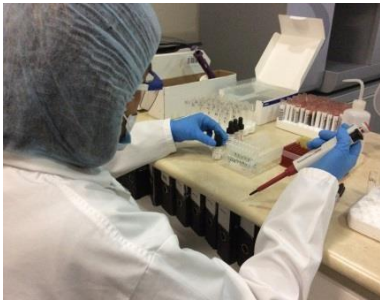
Rotulación de muestras y tarjetas



Preparación de solución de eritrocitos



Procesamiento de muestras



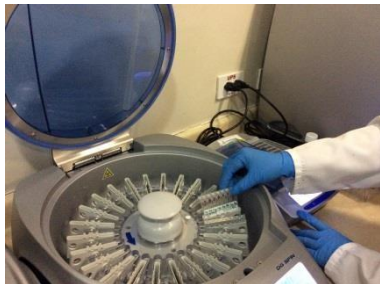
Procesamiento de muestras



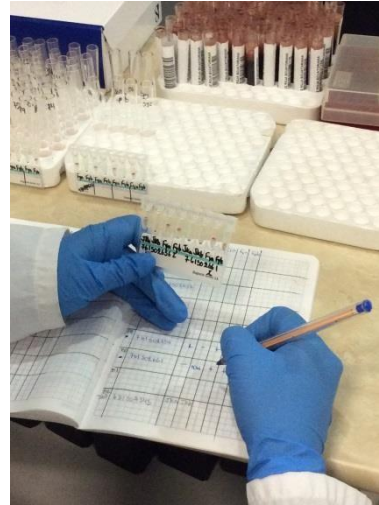
Procesamiento de muestras



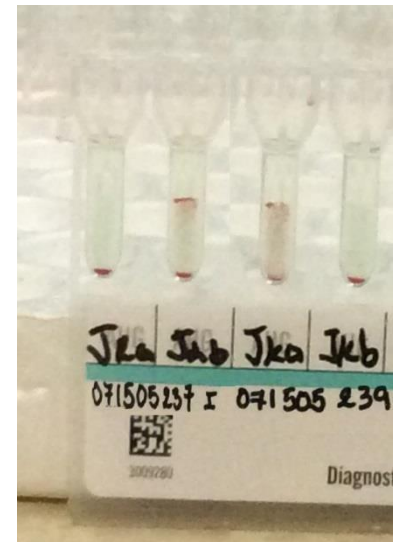
Incubación y centrifugación



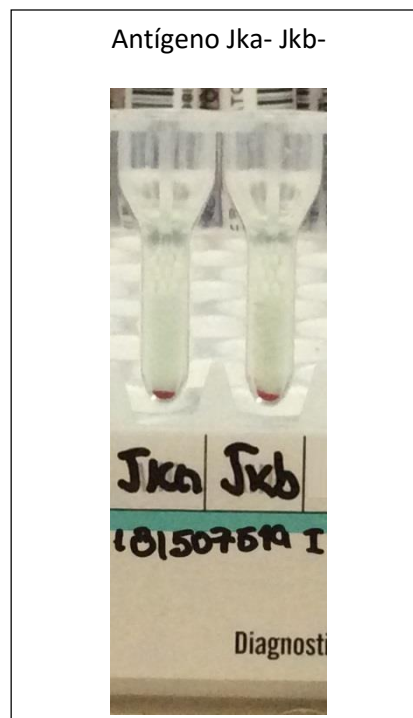
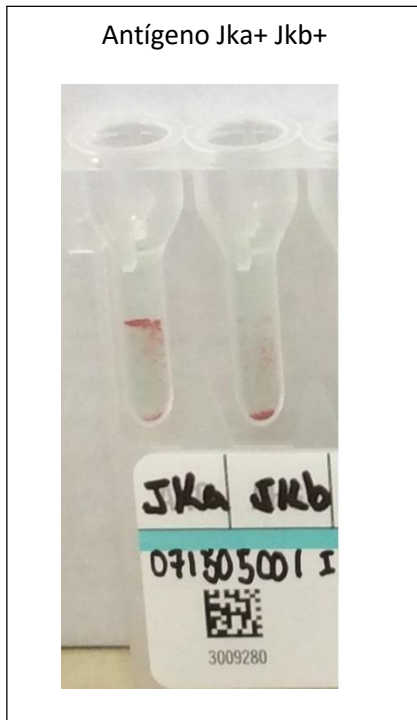
Lectura de tarjetas



Lectura de tarjetas



Anexo 6: Resultados obtenidos



Anexo 7: Control de calidad de reactivos anti Jka y anti Jkb

