



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

FRECUENCIA DE SISTEMAS SANGUÍNEOS DE IMPORTANCIA
CLÍNICA EN POBLACIÓN DE LA CIUDAD DE TALCA.

PROYECTO DE MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

ALUMNO: JESSICA PARRA ARANCIBIA
PROFESOR GUÍA: CARLA TORO OPAZO

TALCA-CHILE

2017

**AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN
DE MEMORIAS DE PREGRADO Y TESIS DE POSTGRADO**

Yo, **Jessica Andrea Parra Arancibia**, cédula de Identidad N° **18.571.906-5** autor de la memoria o tesis que se señala a continuación, **SI** autorizo a la Universidad de Talca para publicar en forma total o parcial, tanto en formato papel y/o electrónico, copias de mi trabajo.

Esta autorización se otorga en el marco de la Ley N° 20.435 que modifica la Ley N° 17.336 sobre Propiedad Intelectual, con carácter gratuito y no exclusivo para la Universidad.

Título de la memoria o tesis:	FRECUENCIA DE SISTEMAS SANGUÍNEOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA EN POBLACIÓN DE LA CIUDAD DE TALCA.
Unidad Académica:	FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
Carrera o Programa:	TENCOLOGÍA MÉDICA
Título y/o grado al que se opta:	PROYECTO DE MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA
Nota de calificación	5.2

Timbre Escuela



Firma de Alumno

Rut: 18.571.906 -5

Fecha: 28 / 07 / 2017

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1. Terapia transfusional.....	4
3.2 Sistemas sanguíneos.....	6
3.3 Sistema sanguíneo ABO.....	7
3.3.1. Bioquímica de antígenos.....	7
3.3.2. Genética.....	9
3.3.3. Antígenos.....	9
3.3.4. Anticuerpos.....	10
3.4 Sistema sanguíneo Rh.....	10
3.4.1. Bioquímica de antígenos.....	11
3.4.2. Genética.....	11
3.4.3. Antígenos.....	11
3.4.4. Anticuerpos.....	12
3.5 Sistema sanguíneo Kell.....	13
3.5.1. Bioquímica de antígenos.....	14
3.5.2. Genética.....	14
3.5.3. Antígenos.....	15
3.5.4. Anticuerpos.....	16
3.6 Sistema sanguíneo Kidd.....	17
3.6.1. Bioquímica de los antígenos.....	17
3.6.2. Genética.....	18

3.6.3. Antígenos.....	19
3.6.4. Anticuerpos.....	20
4.- OBJETIVOS.....	22
4.1. Objetivo general.....	22
4.2. Objetivos específicos.....	22
5.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
5.1. Determinación del tamaño de la muestra.....	23
5.2. Recolección de muestras.....	23
5.3. Traslado de muestras.....	24
5.4. Características de reactivos.....	24
5.5. Análisis de las muestras.....	25
5.6. Lectura de resultados.....	27
5.7. Análisis estadístico.....	27
6. RESULTADOS.....	30
7. DISCUSIÓN.....	35
8. CONCLUSIÓN.....	40
9. BIBLIOGRAFÍA.....	41
10. ANEXOS.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Figura 1. Porcentaje de pacientes en recibir transfusión de sangre por ciudad en países de Latinoamérica.....	5
2. Figura 2. Desarrollo de los antígenos del sistema AB.....	8
3. Figura 3. Estructura de la proteína Rh en la membrana del glóbulo rojo.....	12
4. Figura 4. Estructura del complejo proteico Kell-XK.....	16
5. Figura 5. Estructura de la glicoproteína Kidd.....	20
6. Figura 6. Esquema práctico de la técnica en gel * Para k Jka y Jkb se usaron los reactivos correspondientes y plasma para PA.....	26
7. Figura 7. Esquema practico de técnica en tubo.....	26
8. Figura 8. Recomendación de lectura según ISP.....	27
9. Figura 9. Antígenos del sistema ABO en la población total.....	30
10. Figura 10. Frecuencia del antígeno Rh(D) en el total de la población.....	31
11. Figura 11. Frecuencia de antígenos del sistema Kell.....	32
12. Figura 12 Frecuencia de los antígenos del sistema Kidd.....	33
9. Figura 13. Distribución de antígenos ABO.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

1. Características de los reactivos.....	29
2. Tabla 2. Frecuencia de los fenotipos ABO, Rh(D) diferenciado entre hombres y mujeres.....	31
3. Tabla 3. Frecuencia de los fenotipos del sistema Kell diferenciado entre hombres y mujeres.....	33
4. Tabla 4. Frecuencia de los fenotipos del sistema Kidd diferenciado entre hombres y mujeres.....	34

1.- RESUMEN

La transfusión de sangre es una terapia para diferentes enfermedades, si bien es benéfica para los pacientes, ésta no está exenta de riesgos. Es por esta razón que es importante verificar que las transfusiones sean seguras, para esto, las muestras son sometidas a análisis con el objetivo de identificar los sistemas sanguíneos ABO, Rh. Es conocido que los antígenos de estos sistemas sanguíneos pueden producir reacciones post transfusionales que son de carácter grave, pero estos antígenos no son los únicos que pueden causar algún tipo de reacción post transfusional, existe otros como los antígenos de los sistemas sanguíneos (K) y (Jk) por lo tanto, nuestro objetivo primordial fue determinar las frecuencias de los antígenos antes mencionados en la población de Talca.

Con el fin de lograr el objetivo, durante el mes de mayo se recolectaron muestras en el CESFAM Magisterio, con previo consentimiento informado de los pacientes, las cuales fueron trasladadas a la Universidad de Talca para ser analizadas y determinar la presencia de los antígenos antes mencionados y así establecer las variantes fenotípicas más comunes de la población. Se utilizó la técnica en tubo para grupo sanguíneo ABO-Rh(D) y antígeno Kell; la técnica en gel se empleó para los antígenos (k) y sistema Kidd.

Fueron analizadas un total de 310 muestras, entre las cuales se encontró que el sistema sanguíneo O+ corresponde a 57,4%, A+ corresponde a 31%, B+ corresponde a 7%, AB+ corresponde a 1%, O (-) corresponde a 2%, A (-) corresponde a 0,6%, B (-) corresponde a 1%, AB (-) corresponde a 0%. Para el sistema Kell, (K+ k+) corresponde a 3% y (K- k+) corresponde a un 100% de la población, y para el sistema Kidd el fenotipo corresponde a (Jka+ Jkb+) 24%, (Jka+ Jkb-) 20%, (Jka- Jkb+) 56%, (Jka- Jkb-) 0%.

2.- INTRODUCCIÓN

En Chile no existe muchos reportes científicos que digan relación a la frecuencia de sistemas sanguíneos, ya sean aplicados en donantes de sangre o receptores de hemocomponentes. Es por esto, que se hace necesario conocer la importancia de la frecuencia de los distintos sistemas sanguíneos, ya que en la terapia transfusional se debe transfundir al receptor con un hemocomponente, compatible con su grupo sanguíneo, de lo contrario, puede repercutir en una reacción post transfusional de tipo inmune, por ejemplo: Reacción hemolítica aguda por ABO y no ABO, reacción hemolítica tardía y aloinmunización.^[1,2]

Los principales sistemas sanguíneos, que son estudiados para el despacho de una transfusión, son los sistemas ABO y Rh que son conocimiento obligatorio a la hora de transfundir. Sin embargo, existe sistemas sanguíneos denominados de “Importancia Clínica” ya que podrían ocasionar reacciones post-transfusionales, entre los que se destacan:

Sistema Kell y Kidd, a los que la literatura describe entre los más peligrosos debido a su baja frecuencia y a su alto poder inmunogénico para el antígeno Kell y la característica de evanescencia de los anticuerpos del sistema Kidd. Según los reportes observan casos de reacción post transfusional como la aloinmunización y reacción hemolítica transfusional.^[3-5] Por esto, es necesario saber el fenotipo extendido de los pacientes y verificar si, la distribución de las frecuencias para los sistemas sanguíneos, ABO, Rh, Kell, Kidd, se expresa

en la población de la ciudad de Talca, de la Región del Maule, de forma similar a lo reportado para comunidades de Latinoamérica, Estadounidenses y Asiáticos.

3.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Terapia transfusional.

La Terapia transfusional hace alusión a la administración de hemocomponentes tales como: concentrados de glóbulos rojos, concentrado de plaquetas, crioprecipitado y plasma fresco congelado. Estos sólo son provistos por los donadores de sangre, por ende, es muy dependiente de la donación de sangre, ya que no se tiene en abundancia, y por tanto; es necesario seguir un protocolo que permita una adecuada planificación, un manejo eficiente del inventario y un eficaz uso de estos hemocomponentes. ^[6]

Chile, se encuentra en segundo lugar en los países de latino américa con mayor porcentaje de población en recibir transfusión de sangre (Figura 1). Este porcentaje elevado de transfusiones, en comparación con otros países de Latino américa, se debe al hecho de contar con recursos estructurales hospitalarios adecuados, altos estándares, una mayor capacidad resolutive, contar con suficiente personal médico especializado, acorde a las necesidades y la experticia adecuada para otorgar la terapia transfusional. ^[7,8]

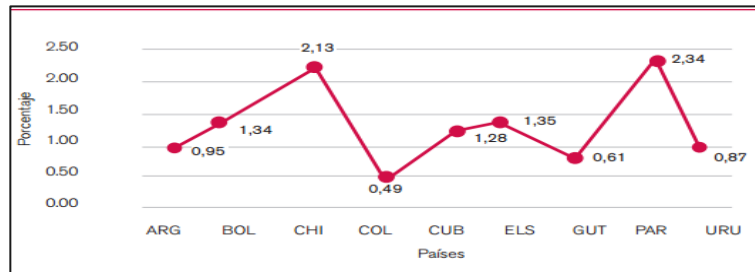


Figura 2 Porcentaje de pacientes en recibir transfusión de sangre por países de Latinoamérica. (ARG: Argentina. BOL: Bolivia. CHI: Chile. COL: Colombia. CUB: Cuba. ELS: El Salvador. GUT: Guatemala. PAR: Paraguay. URU; Uruguay,^[7]

Las transfusiones poseen indicaciones específicas para cada hemocomponente, de acuerdo a la características de diferentes enfermedades. Además, se debe considerar que cada paciente se puede transfundir en varias oportunidades, lo que permite que en cada una de estas transfusiones el paciente recibirá una nueva carga antigénica, ya que cada hemocomponente proviene de un donante distinto. Lo anterior puede terminar en un exceso de estimulación para el paciente frente a esta carga inmunogénica, que al provenir de distintas fuentes lo puede llevar a sufrir una reacción post-transfusional de carácter no grave, pero compleja desde el punto de vista de transfusiones futuras, por ejemplo: la denominada aloinmunización. Los hemocomponentes anteriormente mencionados poseen un carga inmunogénica importante, esto sumado a que al paciente se puede transfundir en varias ocasiones y cantidades, cada una de un donante diferente, el receptor cae en un cuadro de estrés debido a la gran cantidad de inmunógenos diferentes.^[9]

La posibilidad, aunque es mínima, de producir efectos adversos a la transfusión de componentes sanguíneos, éstas se dividen, de acuerdo a la reacciones, en dos grupos, Primero reacciones inmediatas que se subdividen en inmunes (reacción hemolítica aguda) o no imune

(sobrecarga circulatoria), segundo, reacciones retardadas que también se subdividen en inmune (Reaccion hemolítica retardada) o no inmune (Transmisión de enfermedades infecciosas). Es decir, la transfusion de hemocomponentes no está excenta de riesgo.^[10]

3.2. Sistemas sanguíneos.

Antes del siglo XX, las transfusiones de sangre eran riesgosas, pero no se sabía el por qué, algunas personas se recuperaban después de una transfusión, y otras empeoraban o fallecían. Se creía que toda la sangre era igual, hasta que Landsteiner descubrió que la sangre de las personas presentaba distintos grupos sanguíneos, dependiendo de los marcadores de superficie denominados antígenos que se encuentran en los glóbulos rojos. Estos antígenos son de naturaleza proteica o azúcares unidos a componentes de la Membrana Eritrocitaria.^[11]

Existen treintaseis sistemas sanguíneos con un total de trescientos quince antígenos reconocidos por Internacional Society of Blood Transfusión.^[12]

Para identificar los principales sistemas sanguíneos con sus respectivos antígenos (ABO-Rh), existen varias técnicas aprobadas y recomendadas por el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) tales como: técnicas manuales, semiautomatizadas y automatizadas ya sean en tubo, con sistema de geles o bien microplacas. Sin embargo, cada día tiene mayor importancia el ampliar el espectro de los antígenos de cada donante, con el fin de transfundir

unidades sanguíneas, no sólo compatibles con antígenos ABO-Rh(D) si no, que se consideren también otros sistemas sanguíneos de importancia clínica.^[13]

3.3. Sistema sanguíneo ABO.

El descubrimiento de los grupos sanguíneos fue hecho por Karl Landsteiner en el año 1900, como es mencionado anteriormente, esto fue un hito importante en la medicina transfusional por que permitió con esta clasificación transfundir el hemocomponente adecuado a cada paciente de acuerdo a su grupo sanguíneo. Al ser catalogado el sistema sanguíneo, ABO en un principio solo se clasificaron tres antígenos de este sistema A, B y O.^[14] Alfred von Decastello y Adriano Sturli en 1902 descubrieron el cuarto grupo denominado AB las personas que poseen este grupo sanguíneo, generan anticuerpos naturales contra los otros antígenos del grupo ABO, el por qué, aún no esta bien dilucidado. La presencia de anticuerpos es relevante, ya que al momento de transfundir a un paciente con un grupos sanguíneos no compatible, estos anticuerpos pueden llegar a ser fatales.^[15]

3.3.1. Bioquímica de antígenos.

Los antígenos del sistema sanguíneo ABO corresponden a oligosacáridos. La biosíntesis de estos antígenos, empieza con una cadena tetrasacárida denominada paraglobósido tipo I y II, ya sea de secreciones o sobre la membrana del glóbulo rojo. Sobre el *Paraglobósido tipo*

II, el cual es expresado sobre la membrana del glóbulo rojo, actúa la enzima α -1,2 Fucosil transferasa, que es codificada por el gen H, esta enzima transfiere un residuo de L-Fucosa a Galactosa terminal de dicha molécula, siendo sintetizado el *antígeno H*, siendo éste el sustrato sobre el cual actúan las enzimas codificadas por el gen A y B. El gen A codifica para una α -3-N acetil galactosaminil transferasa (transferasa A), quien le transfiere un N-acetil-D-galactosamina al antígeno H. El gen B codifica la enzima α -3-D-galactosil transferasa (transferasa B) el cual transfiere un residuo D-Galactosa al antígeno H, cuando se heredan los dos genes el sustrato va a servir para las dos enzimas formando antígenos A y B, en cambio cuando se hereda el alelo O se codifica para un péptido sin actividad catalítica, así el antígeno H no es modificado, el fenotipo O tiene mayor concentración de antígeno H, siendo el azúcar inmunodominante la L-Fucosa. (Figura 2) ^[16,17]

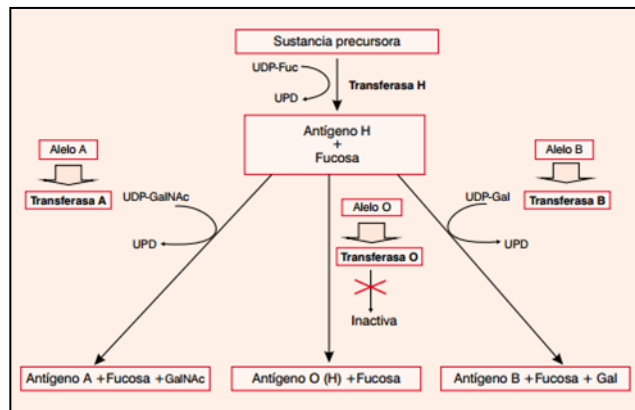


Figura 3 Desarrollo de los antígenos del sistema ABO. ^[17]

3.3.2. Genética.

El gen ABO se ubica en el cromosoma 9, tiene un tamaño de 18kb y tiene 7 exones, la herencia de este sistema sanguíneo posee un modelo de 4 alelos A₁ A₂ B y O, donde los primero tres son dominantes sobre O, A₁ es dominante sobre A₂; A₁ y B como A₂ y B son codominantes entre si.^[18]

3.3.3. Antígenos.

Los antígenos mayores del sistema sanguíneo ABO están compuesto por: A₁ A₂ B y O. Los antígenos de tipo A son más variables que el resto, el más común es A₁, los subgrupos se clasifican según la cantidad de antígeno A que tenga en orden decreciente encontramos: A₁, A₂, A₃, A_x, A_{end}, A_m, A_{el}. El subgrupo B se encuentra B₃, B_x y B_m. García M. publicó la frecuencia de los antígenos en la ciudad de Rosario en Argentina con los siguientes resultados: A₁, A₂, A_{INT}, B y O, con los siguientes resultados: Grupo O (54,04%), A (35,97%), B (8,15%), A₁B (1,38%), A₂B (0,46%). El grupo A fue subdividido en 3 grupos: A₁(73,93%), A₂ (17,52%) A_{int} (8,55%).^[19]

3.3.4. Anticuerpos.

Los anticuerpos de este sistema sanguíneo no están presentes en el feto, sino que aparecen entre los 3 a 6 meses de vida alcanzando sus niveles máximos a los 10 años de edad, y vuelven a disminuir en la vejez. Su existencia es formada de manera natural sin existir un estímulo previo para su formación. Estos anticuerpos son inmunoglobulinas de isotipo IgM, activas a 37°C. Su importancia clínica radica en que fijan complemento provocando hemólisis de los glóbulos rojos transfundidos a nivel intravascular.^[16] Una de las complicaciones se da en la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO.^[20]

3.4. Sistema sanguíneo Rh.

EL sistema sanguíneo Rh es el más polimórfico de los sistemas, con cincuenta y cuatro antígenos portados por dos proteínas RhD y RhCE.^[21] Según la clasificación del ISBT, corresponde al número 004 de los 36 sistemas sanguíneos existentes. El antígeno D es más inmunogénico si lo comparamos con los otros antígenos mayores del sistema Rh, C, c, E, e.

3.4.1. Bioquímica de antígenos.

Las proteínas codificadas por los genes RhD y RhCE, son parte de la Membrana Eritrocitaria, éste se extiende a través de la membrana, dejando doce residuos de transmembrana con seis loops extracelular. No se encuentran glicosiladas, tienen un peso molecular de 30 kDa aproximadamente y en la membrana del glóbulo rojo permite la mantención de la integridad de ésta. ^[22]

3.4.2. Genética.

El locus del Rh está compuesto por dos genes: uno codifica al polipéptido RhD y el otro a los polipéptidos CcEe. Poseen una alta homología heredándose como haplotipo. El polimorfismo de este sistema es relacionado con tres características que se pueden dar como: la mutación puntual, recombinación genética y su gran diversidad genética. ^[23]

3.4.3. Antígenos.

Los antígenos de la familia Rh aparecen en etapas tempranas de la diferenciación eritropoyética. El anti-D se une aproximadamente a 68 % de unidades formadoras de colonias eritroides (CFU E) y a todos los eritrocitos maduros. Los antígenos del Rh se expresan a partir de la sexta semana de vida intrauterina. Las proteínas del Rh se expresan en la

superficie del eritrocito y son un tetrámero con dos moléculas de RhAG y dos de Rh (CE o D) como se observa en la figura 3. La proteína RhD expresa el antígeno D, mientras que la proteína RhCE expresa los antígenos CcEe. [24]

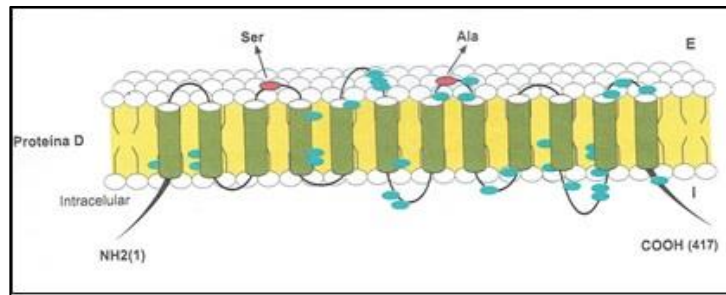


Figura 4 Estructura de la proteína Rh en la membrana del glóbulo rojo. [31]

En 2015, Vásquez M. realizó en la Región del Maule un estudio de frecuencia de antígenos del sistema sanguíneo Rh (D) con el siguiente resultado: Rh(D) positivo en 96% y Rh(D) negativo con un 4%. [25]

3.4.4. Anticuerpos.

Son anticuerpos que se forman post transfusión o embarazos que posean estos antígenos son de tipo inmune. La inmunoglobulina es clase IgG, tiene una temperatura de 37°C y reaccionan en la fase antiglobulina. [26]

La importancia de estos anticuerpos, es que pueden producir Reacciones Transfusionales Hemolíticas (RTH) de tipo extravascular. Por otro lado, conlleva a la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido (EHRN). Existen registros de un caso de una mujer que aún recibiendo profilaxis anti D (Rogham®) en sus dos embarazos anteriores se sensibiliza, presentando repercusiones en el feto a las treinta y tres semanas de embarazo. [24] Además se tiene registro de otro caso de una mujer de 38 años que ha tenido siete embarazos, controlada en el servicio de Ginecología de alto riesgo por gestación gemelar e isoinmunización anti-D grave. Los antecedentes obstétricos son: primero, un recién nacido de término. En los siguientes cuatro años tuvo tres recién nacidos de 36, 34 y 40 semanas, respectivamente, que fallecieron a la semana de vida. Todo esto seguido de dos muertes fetales intraúterina a las 26 semanas de edad gestacional. La paciente tenía grupo sanguíneo A Rh (D) negativo, con sensibilización anti D con una titulación de 1/1024 a las 14 semanas de gestación. Se le realizó cesárea programada a las 28 semanas de gestación con nacimiento de dos fetos vivos y con buen estado general. [27]

3.5. Sistema sanguíneo Kell.

El sistema Kell es el tercer sistema sanguíneo con mayor polimorfismo, y varios de sus antígenos son de gran importancia clínica, El antígeno Kell ocupa el segundo lugar en cuanto poder inmunológico. Siguiendo al antígeno D. Tres parejas de genes alélicos codifican los antígenos antitéticos más importantes, los cuales son: K; k; Kp^a; Kp^b. Están completamente desarrollados al nacimiento. [28]

3.5.1. Bioquímica de antígenos.

La molécula que transporta los antígenos Kell es una glicoproteína tipo II, constituida por 732 aminoácidos, con un peso molecular de 93 kDa. La estructura de la glicoproteína Kell comprende un anclaje citoplasmático. En la estructura del dominio extracelular hay 15 residuos de cisteína que genera una configuración de plegamiento de la proteína mediante 7 enlaces disulfuros. Esto explica porque los antígenos de este sistema son inactivados cuando las células son tratadas con agentes reductores como el bromuro de isoaminoetil tiouranio o dithiothreitol.^[29]

La expresión normal de estos antígenos está asociada a la expresión de la proteína XK que es codificada en el brazo corto de cromosoma X. La asociación de estas proteínas se realiza mediante un único enlace disulfuro entre la cisteína 72 de la glicoproteína Kell y la cisteína 347 de la proteína XK. Esto permite estabilizar la estructura terciaria de la proteína Kell, la cual es esencial para ser reconocida por los anticuerpos específicos.^[28]

3.5.2. Genética.

La herencia del grupo sanguíneo Kell, es de tipo autosómica codominante. El gen Kell fue asignado al cromosoma 7q33 y consta de 19 exones de una extensión de 21.5 kb. Todos los antígenos de este sistema se diferencian en tan solo un nucleótido a nivel del gen Kell. El

polimorfismo que da origen a los antígenos K y k, se origina por una sustitución de base nucleotídica T698C en el exón 6 el gen Kell que se traduce en un cambio aminoacídico de Metionina por Treonina en posición 193. Este cambio afecta la glicosilación de glicoproteína Kell en el residuo de asparragina 191. ^[30]

3.5.3. Antígenos.

Los antígenos del sistema Kell, se expresan principalmente en los glóbulos rojos (figura 4) ^[31] y testículos, y es menos frecuente en el cerebro, órganos linfoides corazón y músculo esquelético. ^[32] Se detectan tempranamente, cerca de las 1^o semanas de gestación. La glicoproteína Kell ha sido incluida dentro de la categoría de enzima por que presenta homología con el sitio catalítico de las metaloproteasa, cuya principal función es la activación de péptidos bioactivos, mediante la ruptura proteolítica de los polipéptidos precursores inactivos. La función de la proteína XK no se conoce aún, pero su estructura hace suponer que sería una proteína de transporte, cuya presencia es importante en la fisiología celular, pues su ausencia se asocia con condiciones patológicas. ^[33]

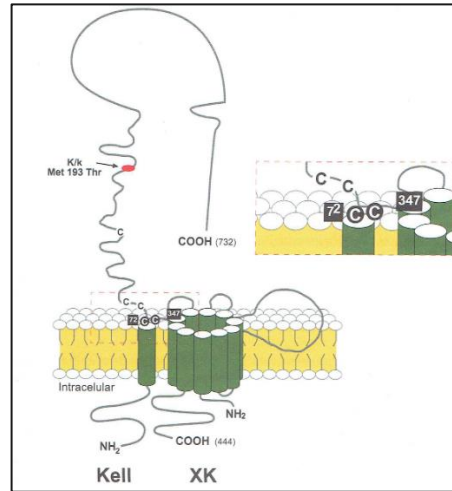


Figura 5 Estructura del complejo proteico Kell-XK. [31]

La prevalencia de los antígenos del sistema Kell fue descrita por Vásquez M. en donantes de sangre, donde el estudio mostró que los fenotipos más frecuentes son el homocigoto para cellano (K-k+) con un 96 % de frecuencia, seguido del fenotipo heterocigoto (K+k+), con un 3,5 % de frecuencia, y por último (K+ k-), el 3,5 % [25]. En México en 2016 se hizo un estudio de prevalencia del antígeno Kell el cual muestra similitud con lo descrito en Chile con 2% para K+, y 98 % para k+. [34]

3.5.4. Anticuerpos.

Los anticuerpos dirigidos hacia antígenos del sistema Kell, son de origen inmune y su presencia responde a inmunización por embarazos o transfusiones, son de tipo IgG detectados en fase anti globulina humana. De acuerdo a lo anterior el antígeno Kell es altamente

inmunogénico el anticuerpo anti-K es comúnmente encontrado produciendo aloimnización.
[31]

La situación clínica más estudiada producida por anticuerpos de este sistema es la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN), ya que se presenta de una forma más severa y peligrosa que en otros sistemas sanguíneos, pues, estos antígenos son expresados tempranamente durante la eritropoyesis, por lo tanto, la anemia se produce por supresión de la eritropoyesis más que por la destrucción inmune de los glóbulos rojos fetales. Los anticuerpos anti Kell también pueden suprimir la megacariopoyesis, lo que puede agravar el cuadro de EHRN con trombocitopenia. El título de anticuerpos maternos, así como el nivel de bilirrubina del líquido amniótico, no son buenos predictores de la severidad de la enfermedad y se debe recurrir a la estimación de la hemoglobina a partir de una muestra de sangre fetal obtenida por cordocentesis. Los anticuerpos de la madre se traspasan al feto por vía placentaria, pero también pueden transferirse, una vez nacido por la leche materna.^[35]

3.6. Sistema sanguíneo Kidd.

El grupo sanguíneo Kidd fue descubierto en 1951 en un caso de eritroblastosis fetal con resultado de muerte (enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido) debido a un anticuerpo dirigido contra un antígeno desconocido en los glóbulos rojos fetales identificados en el suero de la Sra. Kidd, después del parto.^[36] En ese mismo año se encontró la especificidad de este anticuerpo contra el antígeno Kidd a (Jka), donde encontraron dos fenotipos (Jka +) y (Jka -) las pruebas con el anticuerpo que reaccionó contra un 76-77% de glóbulos rojos en familias europeas.^[37] En cambio, los anticuerpos contra Kidd b (Jkb) fueron

descubiertos tres años después por un rechazo a la transfusión después del parto donde encontraron dos anticuerpos Jka y Jkb.^[38] El fenotipo nulo (Jka- Jkb-) fue descubierto en 1959, tras un caso de ictericia post transfusión de sangre de una mujer filipina de ascendencia española y china. Dado que las especificidades eran inseparables, el anticuerpo fue rebautizado como anti-Jk3 que reconoce un antígeno encontrado cuando Jka o Jkb está presente.^[39]

3.6.1. Bioquímica de los antígenos.

El sistema tiene especial significancia en medicina transfusional pues los anticuerpos asociados pueden ser difíciles de detectar y comúnmente causan reacciones hemolíticas post-transfusionales tardías. Los antígenos de este sistema residen sobre una glicoproteína integral de membrana llamada Kidd (UT-B1) que tiene un peso molecular que puede variar de 40 a 60 KDa, es un polipéptido hidrofóbico, con diez dominios transmembrana organizados en dos dominios hidrofóbicos repetidos, unidos por un gran loop extracelular hidrofóbico que tiene un único sitio de N-glicosilación en la asparagina en posición 211. Los extremos amino y carboxilo terminal se encuentran hacia el lado citoplasmático de la membrana celular y constan de 60 y 35 aminoácidos, respectivamente^[40]

La proteína, donde se encuentran los antígenos Jk es responsable del transporte de la urea en los glóbulos rojos y en el riñón. Los individuos con fenotipos nulos Jk(a-b-) son incapaces de concentrar una gran cantidad de orina, pero no causan problemas en la salud.^[41]

3.6.2. Genética.

Los antígenos del sistema Kidd se encuentran bien definidos desde el nacimiento y pueden ser detectados en la onceava semana de gestación, no se encuentran en otras células sanguíneas y son derivados de genes alélicos codominantes Jka y Jkb, que forman los tres posibles fenotipos Jk (a+ b+, a+ b-, a-b+) detectables en la mayoría de las poblaciones humanas. Sin embargo, existe un cuarto alelo silencioso Jk0, extremadamente raro, el cual en condición homocigota produce un fenotipo nulo Jk(a-b-). Este se presenta en poblaciones de ascendencia china, española filipina y china-hawaiana.^[42]

Los antígenos del sistema Kidd son codificados por un gen JK o SLC14A1 ubicado en el cromosoma 18, que pertenece a la familia de genes de transportadores de urea. Este gen tiene 30 kb, está organizado en 11 exones, siendo los exones del 4 al 11 los que codifican la proteína propiamente tal.^[43]

3.6.3. Antígenos.

Los antígenos del sistema Kidd, se expresan sólo en los glóbulos rojos (figura 5), no expresándose en el resto de las células sanguíneas. Sin embargo, también se presenta en la célula endotelial vascular de la vasa recta que atraviesa por los túbulos renales medulares. En

Nigeria, la frecuencia de estos antígenos Jka corresponde a 17.3%, y Jkb corresponde a 29,16%.^[44] En California la frecuencia de Jka y Jkb es de 11% y 50% respectivamente.^[45]

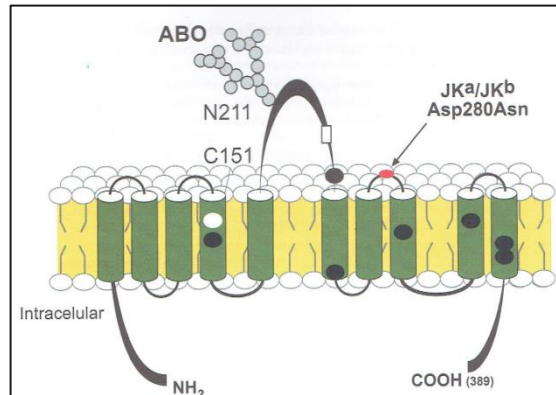


Figura 6 Estructura de la glicoproteína Kidd. ^[31]

3.6.4. Anticuerpos.

El sistema presenta efecto dosis, además presenta un fenómeno que lo diferencia de los otros sistemas, ya que posee evanescencia, concepto conocido hace mucho tiempo y, se refiere a la desaparición en tiempo de los aloanticuerpos inducidos por transfusión en el suero del paciente (es decir, estos aloanticuerpos no lo acompañan toda la vida), resultando no detectable con la técnica que se utiliza para la pesquisa de los anticuerpos. Sin embargo, la memoria inmunológica del paciente no se pierde, por lo que ese mismo paciente cuando vuelva a enfrentarse al antígeno, va a producir una respuesta.^[46] Los anticuerpos Kidd son a menudo difíciles de detectar, haciéndolos peligrosos en la medicina transfusional, porque se

sospecha que son una causa común de reacciones hemolíticas tardías, ya que un tercio de éstas reacciones son causadas por anticuerpos anti- Jka.^[47]

4.- OBJETIVOS

4.1. Objetivo general.

Determinar las frecuencias de los antígenos principales de los sistemas, ABO, Rh, Kell y Kidd en población de la ciudad de Talca.

4.2. Objetivos específicos.

1. Determinar la presencia de los antígenos mayores de los sistemas ABO, Rh, Kell y Kidd en la población de Talca.
2. Conocer la distribución porcentual de los principales fenotipos encontrados de los sistemas sanguíneos ABO, Rh, Kell y Kidd en la población de Talca.
3. Comparar la distribución los fenotipos contrastando hombre-mujer en la población de Talca, con la distribución descrita en la literatura.

5.- MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1. Determinación del tamaño de la muestra.

Para determinar el tamaño de muestra se aplicó el programa del grupo RADAR^[48] para cual se utilizó la población informada en el reporte estadístico del año 2015 de la Biblioteca del Congreso Nacional de Chile, la cual se estimó en 240.000 habitantes para la ciudad de Talca considerando un 5% de error, determinando que el tamaño muestra ideal para dicha población era de 384 personas.^[49]

5.2. Recolección de muestras.

Las muestras fueron recogidas en CESFAM Magisterio de pacientes que asistieron a control de exámenes en este recinto. Se invitó a participar a cada persona, las que aceptaron y firmaban el consentimiento informado (Anexo 1).

Por otro lado, para la extracción de sangre se utilizó un tubo de 4 ml (EDTA VACUETTE TUBE) para este estudio. La toma de muestra fue realizada por el personal técnico que trabaja en el lugar. En los casos de menores de edad y personas no autovalentes, los consentimientos informados debieron ser firmados y autorizados por el tutor correspondiente.

5.3. Traslado de muestras

Las muestras fueron trasladadas en una cadena de frío a 4°C desde el CESFAM Magisterio hasta las dependencias del laboratorio de Banco de Sangre de la Universidad de Talca.

Una vez en el laboratorio, se procedió a centrifugar las muestras. Luego fueron conservadas a 4°C hasta ser procesadas.

5.4. Características de reactivos.

En la tabla N° 1 se describen los reactivos utilizados para determinar la frecuencia de antígenos de los sistemas sanguíneos tanto para la técnica en gel como en tubo, descrito en este estudio.

5.5. Análisis de las muestras

Los glóbulos rojos fueron preparados al 1% con buffer fosfato salino (PBS) (realizado en el laboratorio de la Universidad de Talca, con una concentración de fosfato monopotásico (KH_2PO_4) 0,613 M, fosfato dipotásico (K_2HPO_4) 0,387 M, solución de cloruro de sodio a 0,9% y ajustar pH a 7,4) de añadiendo 10 μl de glóbulos rojos a 1 ml de PBS. Estos fueron procesados en DG Gel® Coombs. Es una tarjeta de gel para la realización de pruebas de Coombs, que sirve para investigación e identificación de anticuerpos irregulares, prueba de compatibilidad. Las reacciones se basan en la detección, mediante un reactivo de antiglobulina humana poliespecífica, de eritrocitos sensibilizados con inmunoglobulinas y/o fracciones de complemento.

Para la fenotipificación del grupo Kidd ($\text{Jk}^a \text{Jk}^b$) y Kell (κ) se usó gel Coombs. Se rotuló en la tarjeta el nombre del paciente con su número asignado, se agregó en cada pocillo 50 μl de eritrocitos al 1%, como se describió anteriormente. En el primer pocillo se agregó 25 μl de plasma para realizar la prueba autóloga, en el segundo, tercer y cuarto pocillo se agregó 25 μl de reactivo k, Jk^a , Jk^b , respectivamente. Los geles fueron incubados a 37°C por 15 minutos, y luego se centrifugaron a 1500 rpm por 15 minutos, en centrifuga Dianafuge de Grifols, esto según las instrucciones del fabricante.

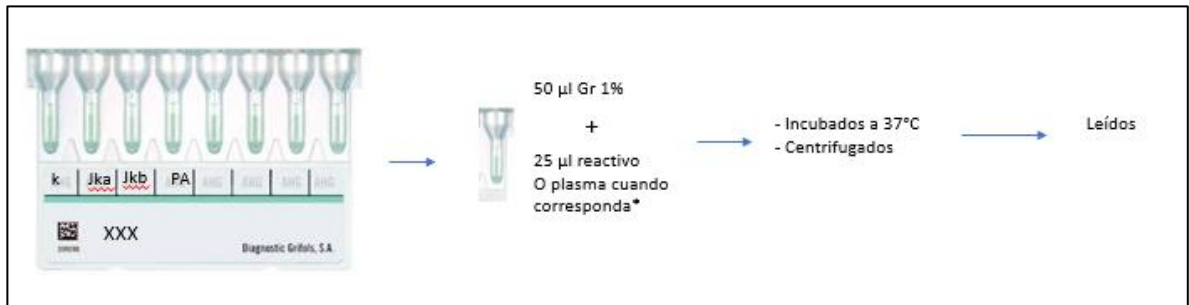


Figura 7 Esquema practico de la técnica en gel *Ppara k Jka y Jkb se usaron los reactivos correspondiente y plasma para PA.

Para la fenotipificación del grupo ABO, Rh y Kell (K), se utilizó la técnica en tubo. Se diluyó la muestra a 4%: 40 µl de sangre y 1 ml de PBS, agregando 1 gota de la dilución anterior y otra del anticuerpo correspondiente. Las muestras, se centrifugaron inmediatamente a 2750 rpm por 20 segundos en la centrifuga BIOVAD.^[50] Los controles de los reactivos se realizaron según las instrucciones del manual de banco de sangre.^[50]

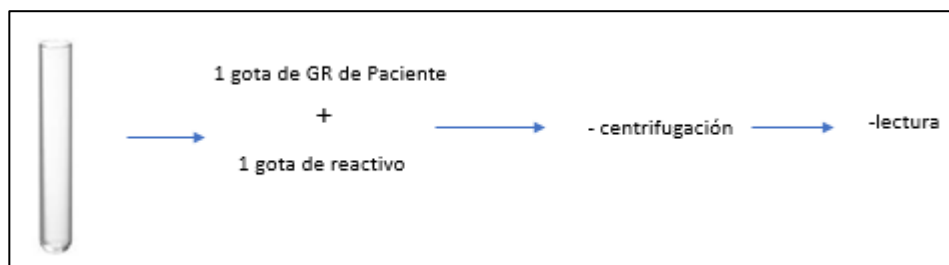


Figura 8 Esquema práctico de técnica en tubo

5.6. Lectura de resultados.

Los resultados se basaron en la información dada por el ISP en el año 2013, éstos se reflejan en la figura número 8, tanto para la aglutinación en tubo, como la aglutinación en gel, cualquier grado de aglutinación corresponde a un resultado positivo, en presencia del antígeno.

INTENSIDAD DE REACCIÓN	SCORE O PUNTAJE	AGLUTINACIÓN TUBO/MICROPLACA	AGLUTINACIÓN GEL
4+	12	Botón único. Fondo claro. Sin células libres.	Banda homogénea de aglutinados en la parte superior de la columna.
3+	10	Varios aglutinados de gran tamaño. Fondo claro. Sin células libres.	Banda superior de aglutinado y desplazamiento en la parte superior de la columna.
2+	8	Muchos aglutinados de mediano tamaño. Fondo claro. Sin células libres.	Aglutinados pequeños en la columna y a lo largo de la columna.
1+	5	Numerosos aglutinados pequeños. Fondo turbio por GR libres.	Algunos aglutinados pequeños en la columna.
+/-	2	Apenas la aglutinación es visible. Fondo turbio por GR libres.	Escasos aglutinados de pequeño tamaño en la columna.
0	0	Ausencia de aglutinación	Banda de GR al fondo de la columna, resto de la columna sin aglutinados.

Figura 9 Cuadro de lectura de los sistemas sanguíneos.^[12]

5.7. Análisis estadístico

Para analizar si el sexo afecta la frecuencia de los sistemas sanguíneos, a las muestras se les realizó la prueba exacta de Fisher ya que es posible utilizarlo en poblaciones pequeñas como la de este estudio. Para comparar los resultados obtenidos en nuestro estudio de las frecuencias de los distintos sistemas sanguíneos estudiados respecto de los reportados por la

literatura científica se usó la prueba del chi cuadrado. Todo valor < 0.05 se considera estadísticamente significativo o indicador de variación en la distribución de los fenotipos y/o antígenos.

Tabla 1 Características de los reactivos.

Ractivos	Kell (K)	Cellano (k)	Kidd A (Jka)	Kidd B (Jkb)	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D	GR-A	GR-B
Anticuerpo	Monoclonal	Policlinal	Policlinal	Policlinal	Monoclonal	Monoclonal	Monoclonal	Monoclonal	GRAI	GR B
Principio	Aglutinación	Aglutinación	Aglutinación	Aglutinación	Aglutinación	Aglutinación	Aglutinación	Aglutinación	Aglutinación	Aglutinación
Almacenamiento	2-8 °C	2-8 °C	2-8 °C	2-8 °C	2-10°C	2-10°C	2-10°C	2-10°C	2-8°C	2-8°C
Técnica	Tubo	Gel	Gel	Gel	tubo	tubo	tubo	tubo	tubo	tubo
Incubación	Sin incubación	15 min. a 37°C	15 min. a 37°C	15 min. a 37°C	Sin incubación	Sin incubación	Sin incubación	Sin incubación	Sin incubación	Sin incubación
Vencimiento	ago-17	ago-17	ago-17	ago-17	nov-17	nov-17	nov-17	nov-17	oct-17	sept-17

6.- RESULTADOS

En el presente estudio hubo un total de 325 pacientes incluidos, de los cuales 15 abandonaron el estudio, obteniendo un total de 310 muestras analizadas, de las cuales 97 fueron hombres y 213 mujeres con un porcentaje de 31,3% y 68,7 % respectivamente.

Los resultados de los antígenos estudiados del sistema sanguíneo ABO en el total de la población corresponde a: O con una frecuencia del 59%, A con un 32% B con un 8% y por último el antígeno AB con una frecuencia de 1%, como se muestra en la figura 9.

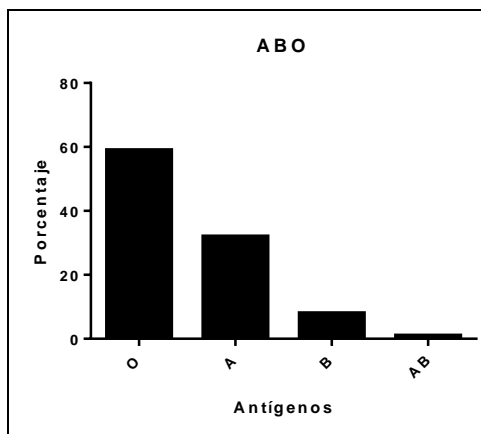


Figura 9 Antígenos del sistema ABO en la población total.

Los resultados de la frecuencia del antígeno Rh(D) en el total de la población corresponde a: Rh(D) positivo 96% y Rh(D) negativo con un 4%, como se muestra en la figura 2.

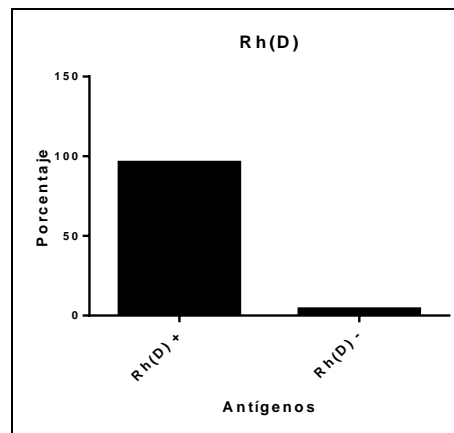


Figura 10 Frecuencia del antígeno Rh(D) en el total de la población.

Al realizar las combinaciones antigénicas para los sistemas ABO y RH(D) se obtuvieron los siguientes fenotipos diferenciados en sexo como se muestra en la tabla N° 2.

	O+	A+	B+	AB+	O-	A-	B-	AB-
Hombres	50%	35%	8%	-	3%	1%	3%	-
Mujeres	62%	29%	6,5%	1%	1%	0,5%	-	-

Tabla 2. Frecuencia de los fenotipos ABO, Rh(D) diferenciado entre hombres y mujeres.

Estas frecuencias fueron analizadas por antígenos del grupo ABO entre hombres y mujeres por el test chi cuadrado con un $p= 0,475$, también se analizó la frecuencia del

antígeno Rh(D) a través de la prueba chi cuadrado con un $p=0,0584$. Estos análisis no son estadísticamente significantes, concluyendo que la expresión de los distintos antígenos del sistema sanguíneo ABO: O, A, B, AB. y el antígeno Rh(D) no depende del sexo del paciente y se presentan con esa distribución en la población estudiada a pesar de la distribución de la misma.

La frecuencia de los antígenos del sistema sanguíneo Kell en el total de la población estudiada corresponde a: k+ con un 97% y K+ con un 3%, Como se muestra en la figura 11.

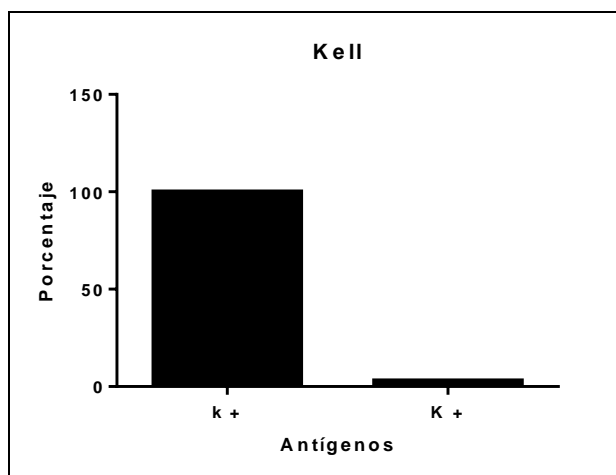


Figura 11 Frecuencia de antígenos del sistema Kell.

Al realizar las combinaciones antigénicas, se obtuvieron los siguientes fenotipos del sistema Kell diferenciados por sexo como se muestra en la tabla 3.

	(K+ k+)	(K- k+)	(K+ k-)	(K- k-)
Hombre	2%	98%	-	-
Mujer	3%	97%	-	-

Tabla 3. Frecuencia de los fenotipos del sistema Kell diferenciado entre hombres y mujeres.

Los antígenos del sistema Kell fueron analizados por la prueba de chi cuadrado, con el siguiente resultado $p=0,725$ esto indica que la expresión de estos antígenos no depende del sexo de la persona.

La frecuencia de los antígenos del sistema sanguíneo Kidd El porcentaje de los antígenos en total de las personas que participaron en este estudio fue: Jka corresponde a 43% y Jkb corresponde a 76%, como se muestra en la figura 12.

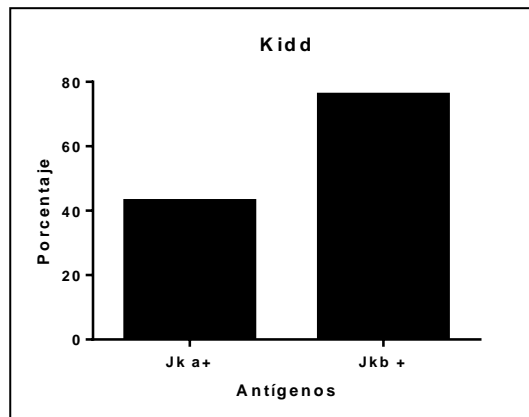


Figura 12 Frecuencia de los antígenos del sistema Kidd.

Al realizar las combinaciones antigénicas antigénica del sistema Kidd se obtuvo los siguientes fenotipos descrito en la tabla N°4.

	(Jka+ Jkb+)	(Jka+ Jkb-)	(Jka- Jkb+)	(Jka- Jkb-)
Hombre	21%,	23%	56%	-
Mujer	18%	24%	58%	-

Tabla 4. Frecuencia de los fenotipos del sistema Kidd diferenciado entre hombres y mujeres.

Estas frecuencias fueron analizadas por antígenos del sistema Kidd entre hombres y mujeres por el test chi cuadrado con un $p= 0,655$, este análisis no es estadísticamente significativo, concluyendo que la expresión de estos antígenos no depende del sexo del paciente.

Los fenotipos encontrados en la literatura serán comparados con los datos de nuestro estudio con el fin de conocer si las frecuencias de los antígenos o fenotipos son similares en distintas países del mundo, a través del test de chi cuadrado, exponiendo los resultados en la discusión donde serán analizados.

7.- DISCUSIÓN

Los principales sistemas sanguíneos, que son estudiados para el despacho de una transfusión, son los sistemas ABO y Rh que son obligatorios a la hora de transfundir. Sin embargo, existe una gran variedad de sistemas sanguíneos denominados de “Importancia clínica” ya que podrían ocasionar reacciones post-transfusionales, entre los cuales encontramos al sistema Kell y Kidd, los que la literatura describe entre los más peligrosos debido a: su baja frecuencia y su alto poder inmunogénico para el antígeno Kell y la característica de evanescencia de los anticuerpos del sistema Kidd. De acuerdo a los reportes científicos se han visto casos de reacción post-transfusional como aloinmunización y reacción hemolítica transfusional.^[3-5] El objetivo de este estudio es comparar la frecuencia encontrada en la ciudad de Talca versus la frecuencia en otros países de Latinoamérica (Colombia, México, Bolivia), América del norte (California), continente asiáticos (India), continente africano (Nigeria).

Los resultados de nuestro estudio dieron una frecuencia para O 59%, A de 32% B de 8%, AB de 1%. Carmona-Fonseca J, et al. realizó un estudio de frecuencia de grupos sanguíneo ABO en la población de Colombia en 2006. Sí bien tuvieron una población mayor a la analizada en nuestro estudio, (827) obtuvieron resultados muy parecidos en respecto a la frecuencia de los antígenos O, A, B, AB, con 59,7%, 31,6%, 7,4%, 1,3% respectivamente, $p=0,994$ con un resultado que no es significativo, es decir, las frecuencias en ambos países es similar, a pesar de que la distribución porcentual de hombres y mujeres en el estudio de Carmona-Fonseca J. era idéntica, lo cual tampoco influyó en nuestros resultados ($p=$

0,475), permitiendo concluir que estos resultados son similares debido a que ambos países comparten un porcentaje de descendencia española en sus orígenes común. ^[51]

Peón-Hidalgo, et al. en el año 2002 en México realizó un estudio descriptivo sobre la frecuencia de antígenos ABO con una muestra de 1809 con resultados similares encontrados en nuestro estudio: O: 58,49%, A: 31%, B: 8.4%, AB: 1.71%, $p=0,950$ esta comparación no es significativa, por tanto, las poblaciones son similares, ya que la población es muy parecida en los orígenes (amerindios) y la descendencia española. ^[52]

Cossio E, et al. En 2013 Bolivia; Realizó un estudio de frecuencia sanguínea de grupos ABO y Rh con un total de 175 muestras, la frecuencia de Cossio fue de antígeno O: 85%, para A: 9% B: 6% y para el antígeno AB 0%. ^[53] $p=0,0005$ este valor es significativo, correspondiendo que la población estudiadas son diferentes, pero siendo el antígeno O el más dominante entre los restantes antígenos, al igual que nuestro estudio.

Garratty G, et al. realizó un estudio la frecuencia de los antígenos ABO en los distintos grupos étnicos de Estados Unidos con un total de 3.1 millones de donadores, con los siguientes resultados mostrados en la figura 9. Chile pertenece a raza hispánica donde se obtiene un valor $p=0,775$ al no ser significativo demuestra que los resultados similares a los presentados a pesar de que el número de muestra es mucho mayor en el estudio de Garratty G. También se puede observar que la mayor diferencia se encuentra en la raza Asiática $p=0,0007$, este valor implica una diferencia entre las poblaciones, ya que tienen una menor

frecuencia en el grupo sanguíneo O, comparado con nuestros resultados, y la raza asiática aumenta en frecuencia el grupo sanguíneo B y AB como se muestra en la figura 13.^[54]

Race or ethnicity	Number	Phenotype			
		O	A	B	AB
White non-Hispanic	2,215,623	45.2	39.7	10.9	4.1
Hispanic†	259,233	56.5	31.1	9.9	2.5
Black non-Hispanic	236,050	50.2	25.8	19.7	4.3
Asian‡	126,780	39.8	27.8	25.4	7.1
North American Indian	19,664	54.6	35.0	7.9	2.5
All donors	3,086,215	46.6	37.1	12.2	4.1

* Percentages may not add up to 100.0% because of rounding.
† Hispanic includes Mexican (68.8%), Puerto Rican (5.0%), Cuban (1.6%), and other Hispanic donors (24.6%).
‡ Asian includes Chinese (29.8%), Filipino (24.1%), Indian (13.8%), Japanese (12.7%), Korean (12.5%), and Vietnamese (7.1%) donors.

Figura 13 Distribución de fenotipos ABO.^[54]

La frecuencia de los antígenos del sistema Rh en nuestro estudio corresponde a Rh(D) positivo con un 96% y Rh(D) negativo que corresponde a un 4%. En el estudio de Carmona-Fonseca J, et al. mencionado anteriormente, sus porcentajes de frecuencia fueron diferente Rh + 88%, Rh (-) 12%, $p=0,0371$ este valor es significativo, por ende las población estudiada es diferente menor esto puede ser debido a que la población estudiada es más pequeña que la descrita por este autor que son 827 muestras analizadas.^[51]

Vásquez M, et al. en la Región del Maule en 2015, realizó un estudio de frecuencia de antígenos del sistema Rh en donantes de sangre con los siguientes resultados: Rh(D) positivo

en 96% y Rh(D) con un 4%, $p=1$, estos resultados son iguales a los encontrados en este estudio, ya que la zona geográfica es la misma, aunque la población sea menor (200).^[25]

Garratty G, et al. realizó un estudio la frecuencia de antígenos del sistema Rh(D) los resultados no son variado ya que estos bordean cerca 90 a 98%, la raza más parecida a la de nuestro estudio es la asiática que corresponde a un Rh(D) positivo con un 98% y un Rh(D) negativo con un 2%, 0,829, la población más diferente es la frecuencia encontrada en nuestro estudio son la raza blanca no hispánica con un Rh(D) positivo 83% y la frecuencia de Rh(D) negativo corresponde a un 17%, $p=0,0027$ valor significativo lo que las poblaciones son distintas, esto se debe a que el origen étnico es distinto ya que el raza blanca o hispánica proviene de los indios americanos.^[54]

A frecuencia fenotípica del sistema Kell de nuestro estudio dio los siguientes resultados: heterocigoto (K+ k+) corresponde a 3% y el homocigoto para cellano (K- k+) corresponde a 97%. Vásquez M, et al. en la Región del Maule 2015 realizó un estudio de frecuencia de antígeno Kell en donantes de sangre con los siguientes resultados: fenotipo (K+ k-) lo poseía el 0,5 % de las muestras; el fenotipo (K+ k+), el 3,5 %; y fenotipo (K- k+), el 96 % de la muestra de donantes estudiados, $p=0,605$ resultado no significativo por lo cual, los resultados son parecidos, encontraron fenotipo (K+, k-) el cual, en nuestro estudio no se encontró, debido a que la población estudiada por Vásquez, era más diversa, ya que se estudiaron distintas ciudades de la región del Maule.^[25]

Chargoy-Vivaldo E, et al. En la ciudad de México en 2016 estudio la prevalencia del antígeno Kell encontró que el antígeno Kell solo se encontraba en 8 personas siendo su porcentaje 2% comparado con este estudio que fue un 3% estuvo muy cercano y porcentaje de personas Kell negativo fue de 98%, $p= 0,6506$ el valor no es significativo, donde la población es similar en su estudio es mayor en cantidad aproximadamente 100 personas, y al contrario de nuestro estudio. existe un mayor porcentaje de hombres, la raza es similar y el rango de edad es también parecido. ^[34]

La frecuencia del sistema Kidd en nuestro estudio corresponde al total de personas estudiadas (Jka+ Jkb+) 24%, (Jka+ Jkb-) 20%, (Jka- Jkb+) 56%, (Jka- Jkb-) 0%, como antígeno corresponde a Jka 43% y Jkb 76%. Erhabor O. fenotipo a mujeres embarazadas en Nigeria obteniendo los siguientes resultados: antígeno Jka y Jkb tuvo un 17% y un 29% respectivamente, $p= 0,922$ muy distinto a nuestros resultados, aunque Jkb sigue siendo más prevalente, la diferencia se debe, a que la población de Nigeria fue menor en cantidad y otro factor es que la población es más acotada (embarazadas) ^[44], y el origen étnico es distinto ya que Nigeria es varado con más de 200 grupos étnicos, de los cuales predominan Hausas y Fulani.

Kahar. et al. realizó un estudio de la frecuencia de sistemas sanguíneos en donadores de India, con los siguientes resultados: (Jka+ Jkb+) 52%, (Jka+ Jkb-) 33%, (Jka- Jkb+) 22%, (Jka- Jkb-) 0%, $p= < 0,000$, el valor es significativo, las frecuencias son distintas ya que en India predomina el fenotipo (Jka+ Jkb+) y en nuestro estudio el fenotipo predominante (Jka- Jkb+) ya que la composición étnica si bien es variada prevalece los drávidas y mongoloides, y en Chile es una mezcla entre Europeo y Amerindio. ^[55]

8. CONCLUSIÓN

1. Para el sistema ABO el fenotipo mayormente encontrado corresponde al denominado O (59%), luego A (32%), B (8%), AB (1%).
2. Para el antígeno D del sistema Rh se obtuvieron los siguientes resultados: Rh(D) positivo con un 96% de frecuencia y Rh(D) negativo que corresponde a un 4%.
3. Para el sistema sanguíneo Kell, el antígeno K corresponde a 3% y k corresponde a un 100%, del total de las muestras analizadas.
4. Para el sistema sanguíneo Kidd la frecuencia de los antígenos corresponde a: Jka con un 43% y Jkb que corresponde a 57%.
5. La distribución de los fenotipos para los sistemas sanguíneos estudiados es idéntica a la descrita en la literatura científica para poblaciones de Latinoamérica.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. L. Barbolla; E. Contreras. Efectos adversos de la transfusión de componentes sanguíneos generalidades: reacciones agudas inmediatas y retardadas. Hospital de Móstoles, Madrid 2008.
2. JA Vázquez, E Vassallo y MA Storino; Reacciones postransfusionales. Revista de la Facultad de Medicina. RFM v.25 n.2 Caracas Diciembre 2002.
3. Armijo S Onica, de la Calle F María, Martín B Elena, Rodríguez G Roberto, González A Mar, Herrero de L Francisco et al. ISOINMUNIZACIÓN ANTIKELL: MANEJO CLÍNICO DE 26 CASOS. Rev. chil. obstet. ginecol. [Internet]. 2010 [citado 2017 Jun 23] ; 75(2): 91-95. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262010000200003&lng=es.
4. Velasco Rodríguez, D., Pérez-Segura, G., Jiménez-Ubieto, A., Rodríguez, M. A., & Montejano, L. Hemolytic Disease of the Newborn Due to Anti-Jkb: Case Report and Review of the Literature. Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion, 2014 30(2), 135–138. <http://doi.org/10.1007/s12288-012-0202-7>.
5. Kim, W. D., & Lee, Y. H. A Fatal Case of Severe Hemolytic Disease of Newborn Associated with Anti-Jkb. Journal of Korean Medical Science, 2006. 21(1), 151–154. <http://doi.org/10.3346/jkms.2006.21.1.151>.
6. DAME MARCELA CONTRERAS A., MARÍA CRISTINA MARTÍNEZ V., MEDICINA TRANSFUSIONAL EN EL SIGLO, Revista Médica Clínica Las Condes, Volume 26, Issue 6, 2015, Pages 726-743, ISSN 0716-8640, <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmclc.2015.11.002>.

7. Paho.org[Internet] Washington, DC: OPS, 2015. [citado 13 abr 2017] Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=8918%3A2013-supply-blood-transfusion-caribbean-latin-american-countries-2010-2011&catid=1163%3Ablood-services&Itemid=2163&lang=es.
8. Giedion U VMÁA. Los Sistemas de Saud en Latinoamérica y el papel del Seguro Privado. Madrid: Instituto de Ciencias del Seguro, Fundación MAPFRE; 2010.[citado 14 abr 2017] Disponible en: <https://www.mapfre.com/ccm/content/documentos/fundacion/cs-seguro/libros/los-sistemas-de-salud-en-latinoamerica-y-el-papel-del-seguro-privado.pdf>.
9. Milton Larrondo L. Gastón Figueroa M. Terapia transfusional: criterios de indicaciones de componentes sanguíneos, Rev. Hosp. Clín. Univ. Chile 2007; 18; 208 – 19.
10. L. Barbolla, E. contreras M.M. pujol. Manual Pratico de Medicina Transfusional. Volumen 1. Madrid. Acción Médica.2002).
11. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 2, Blood group antigens are surface markers on the red blood cell membrane. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2264/>.
12. Isbtweb.org[Internet] Westhoff. Names for partial RHD blood group alleles v3.0 141015.
13. Ispch.cl [Internet] Santiago de Chile. [actualizado Enero 2013, citado 15 Jun 2017] Disponible en: <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2013/04/rec-clasificaciónsanguinaabo.pdf>.
14. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 2, Blood group antigens are surface markers on the red blood cell membrane. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2264/>

15. Decastello A von, Sturli A. Ueber die Isoagglutinine im Serum gesunder und kranker Menschen. Münch med Wschr 1902;49:1090-5.
16. Arora Shalini¹, Grover Richu², Arora Neeraj³, Kumar Rajesh. Biochemistry of ABO Blood Groups: A Review. International Journal of Physiology Year : 2014, Volume : 2, Issue : 2 page 104-108.
17. Arbeláez-García CA: Sistema de grupo sanguíneo ABO. Banco de Sangre. Editora medica Colombiana S.A 2009. Pág 329-347.
18. J.R. Storry and M.L. Olsson. The ABO blood group system revisited: a review and update. IMMUNOHEMATOLOGY, Volume 25, Number 2, 2009 48, pág. 48 -59
19. García Rosaco, Lippi Samanta, Valverde Juana. Frecuencia de los grupos sanguíneos A1, A2, Aint, B y O en individuos normales. Rev. Cubana Hematol Inmunol Hmoter 2001;17(3):171-4.
20. Choque Osco Gustavo, Mazzi Gonzales de Prada Eduardo, Álvarez Endara Julio, Pantoja Ludueña Manuel. Caso inusual de enfermedad hemolítica neonatal. Rev. bol. ped. [Internet]. 2013 [citado 2017 Jun 26 ; 52(3): 155-158. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752013000300004&lng=es.
21. Baptista-González. El sistema Rh, una mirada a fondo. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2005; 43 (Supl 1): 3-8.
22. Westhoff, C. M. (2007). The Structure and Function of the Rh antigen Complex. Seminars in Hematology, 44(1), 42–50. <http://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2006.09.010>.
23. Baptista-González. I. Actualidades en el sistema Rh-Hr. Gac Méd Méx Vol.140, Suplemento No. 3, 2004.
24. Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. Immunohematol 2004;20(1):23-36

25. Vásquez Rojas Marcela, Castillo Espinosa Daniela, Pavez Espinoza Yanara, Maldonado Rojas Mónica, Mena Leiva Aaron. Frecuencia de antígenos del sistema sanguíneo Rh y del sistema Kell en donantes de sangre. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2015 Jun [citado 2017 Jul 01] ; 31(2): 160-171. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892015000200007&lng=es.
26. Rivero R. Anticuerpos monoclonales anti-Rh(D): antecedentes y estado actual. Rev. Cubana Hematol Inmunol Hmoter 16(1):30-7.
27. Díaz R.A., Varas C.J., Tenorio N.D. Enfermedad hemolítica perinatal: A propósito de un caso clínico. Rev. Obstet. Ginecol. - hosp. Santiago oriente dr. Luis tisé brousse. 2007; vol 2 (3): 237-242.
28. Calomarde Rees, M.C., Iglesias Sánchez C., Martín Boado E., Vegasg., Omeñaca F. et al. Isoinmunización grave anti-D en una gestación gemelar. Caso clínico. Ginecol Obstet Mex 2012;80(3):218-223.
29. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 8, The Kell blood group. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2270/>.
30. Denomme A.G., Kell and Kx Blood group systems. Immunohematology. Volumen 31, número 1, 2015.
31. Vásquez Rojas Marcela, Maldonado Rojas Mónica. Sistemas sanguíneos eritrocitarios de importancia clínica. 2013. (U. d. Talca Ed.).
32. Soohee Lee. Molecular Basis of Kell Blood Group Phenotypes. Vox Sang 1997;73:1–11.
33. CAMARA-CLAYETTE V., RAHUEL C., LOPEZ C., ATTAB C., VERKARRE V., BERTRAND O., et. al. Transcriptional regulation of the KEL gene and Kell protein expression in erythroid and non-erythroid cells. Biochem. J. (2001) 356, 171–180.

34. Chargoy-Vivaldo E, Azcona-Cruz MI, Ramírez-Ayala R. Prevalencia del antígeno Kell (K+) en muestras obtenidas en un banco de sangre. *Rev Hematol Mex.* 2016 abr;17(2):114-122.
35. DeMoss P., Asfour M., Hersey K. Anti-K1 (Kell) Antibody Expressed in Maternal Breastmilk: A case report of a neonate with multiple intrauterine transfusions and postnatal exposure to Kell antibody in maternal breastmilk.. *Case Rep Pediatr.* 2017;2017:6927813. doi: 10.1155/2017/6927813.
36. Allen FH, Diamond LK, Niedziela B. A new blood-group antigen. *Nature* 1951;167:482.
37. Race, R. R., Sanger, R., Allen, F. H., Diamond, L. K. and Niedziela, B.: Inheritance of the human blood group antigen Jka. *Nature* 1951;168:207.
38. Plaut G, Ikin EW, Mourant AE, Sanger R, Race RR. A new blood-group antibody, anti-Jkb. *Nature* 1953; 171:431.
39. Pinkerton FJ, Mermod LE, Liles BA, Jack JA, Noades J. The phenotype Jk(a-b-) in the Kidd Blood group system. *Vox Sang* 1959;4:155–60.
40. Arenas JM. Mecanismos moleculares de transporte de Urea. *J Membr Biol* 2003; 191: 149-63.
41. Aceitunas B, MG Mattei, Huet M, Neau P, marcial S, Cartron JP, Bailly p. "Kidd función de transporte de grupo sanguíneo y urea de eritrocitos humanos son transportadas por la misma proteína." *J Biol Chem.* 1995 30 de Jun; 270 (26): 15607-10. Doi:10.1074/JBC.270.26.15607 PMID 7797558
42. J.R. Hamilton. Kidd Blood group system: a review. *Immunohematology.* Volumen 31, número 1. 2015.
43. Geitvik GA, Hoyheim B, Gedde Dahl T, Grzeschik KH, Lothe R, H Tomter, Olaisen B. "El Kidd (JK) grupo sanguíneo locus asignado al cromosoma 18 por acoplamiento

cercano a un ADN-RFLP." Hum Genet. Nov 1987; 3:205-9. Doi:10.1007/BF00284470 PMID 2890568.

44. Erhabor O., Hassan M., Bashir Y., Yakubu A., Buhari H. Kidd Blood group phenotypes among pregnant women in Sokoto, North Western Nigeria. Asian Pac J Trop Med 2014; 7(suppl 1): S111-S115.
45. Vichinsky E., Luban N., Wright E., Olivieri N., Driscoll C., Pegelow C., et al. Prospective RBC phenotype, matching in a stroke-prevention trial in sickle cell anemia: a multicenter transfusion trial. Transfusion Volumen 41. September 2001.
46. Sun XL , Yu Y, Guan XZ, Chen, Wang DQ. Influence of "dosage effect" on unexpected antibody identification. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2015 Feb;23(1):222-7. doi: 10.7534/j.issn.1009-2137.2015.01.042.
47. Kay B, Poisson JL, Tuma CW, Shulman IA. Anti-Jka that are detected by solid-phase red blood cell adherence but missed by gel testing can cause hemolytic transfusion reactions. Transfusion. 2016 Dec;56(12):2973-2979. doi: 10.1111/trf.13782. Epub 2016 Sep 5.
48. Gruporadar.com [Internet]. Uruguay: Grupo Radar; 2011 [citado 1 jul 2027] Disponible en : <http://www.gruporadar.com.uy/01/?p=567>
49. Biblioteca del congreso nacional de Chile [internet]. Chile: BCN. [enero de 2016; junio 2017] Disponible en: http://reportescomunales.bcn.cl/2015/index.php/Talca#Poblaci.C3.B3n_total_a.C3.B1o_2002_y_proyecci.C3.B3n_de_poblaci.C3.B3n_a.C3.B1o_2015.
50. Equipo TM Docentes. Manual de laboratorio inmunohematología y banco de sangre. Talca: Facultad de ciencias de la salud DPTO. bioquímica clínica e inmunohematología. 2015 – 2016.
51. Carmona-Fonseca Jaime. Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh en la población laboral del valle de Aburrá y del cercano oriente de Antioquia (Colombia). Acta Med Colomb [Internet]. 2006 Mar [cited 2017 July 06] ; 31(1): 20-30.

Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-24482006000100005&lng=en.

52. Del Peón-Hidalgo Lorenzo, Pacheco-Cano Ma Guadalupe, Zavala-Ruiz Mirna, Madueño-López Alejandro, García-González Adolfo. Frecuencias de grupos sanguíneos e incompatibilidades ABO y RhD, en La Paz, Baja California Sur, México. *Salud pública Méx* [revista en la Internet]. 2002 Sep [citado 2017 Jul 06] ; 44(5): 406-412. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500004&lng=es.
53. Cossio Andia Eddy, Solis Solis Alan Jhuniór, Castellon Bautista Nardy, Davalos Pacheco Milka, Jarro Mena Ruth Leny. Tipificación del grupo sanguíneo A B O y el factor Rh en la población de Totorá-Cochabamba gestión 2012. *Rev Cien Cienc Méd* [Internet]. 2013 [citado 2017 Jul 06] ; 16(1): 25-27. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-74332013000100007&lng=es.
54. Garratty G., Glyn S., McEntire R. ABO and Rh(D) phenotype frequencies of different racial/ethnic groups in the United States. *TRANSFUSION*. Volume 44, May 2004.
55. Kahar, M. A., & Patel, R. D. Phenotype frequencies of blood group systems (Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, P, Lewis, and Lutheran) in blood donors of south Gujarat, India. *Asian Journal of Transfusion Science*, 2014. 8(1), 51–55. <http://doi.org/10.4103/0973-6247.126693>

10.- ANEXOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Proyecto: Determinación de sistemas sanguíneos Kell y Kidd en población de la ciudad de Talca.

Patrocinante: Universidad de Talca

Estimado Sr. (Sra., Srta):

El propósito de este documento es entregarle toda la información necesaria para que Ud. pueda decidir libremente si desea participar en la investigación que se le ha explicado verbalmente, y que a continuación se describe en forma resumida:

Resumen del proyecto:

• **Objetivo:** Determinación de sistemas sanguíneos Kell y Kidd en población adulta de la ciudad de Talca.

• **Procedimiento**

“Los sistemas sanguíneos son moléculas que se ubican en la superficie de los sanguíneos rojos (los sanguíneos rojos son las células más numerosas de la sangre) y cuya función es permitir categorizar a cada individuo en un grupo de sangre particular, procedimiento que es fundamental, cuando se requiere recibir sangre, perdida como consecuencia de un perdida excesiva (accidente) o por una enfermedad crónica (canceres, leucemias, etc.).

Para la investigación se utilizaran un total de 400 muestras provenientes de pacientes, que sean citados a la toma de muestra del CESFAM Magisterio de Talca, para realizarse exámenes de control de patología crónica y/o de urgencia solicitados por los profesionales de este recinto. Se pretende asistir los días lunes a Jueves, tanto el investigador a cargo de este trabajo junto a un estudiante memorista, entre las 7:30 y las 11:00 hrs, con el objetivo de invitar a todos los pacientes que hayan sido citados para realizarles extracción de sangre para exámenes sanguíneos. Se invitara a todos los pacientes a participar del estudio y solo a aquellos que manifiesten voluntariamente su interés de participar en esta investigación se les solicitara su consentimiento informado. En todos aquellos pacientes que acepten el consentimiento informado del estudio, se solicitara al personal de enfermería del centro asistencial que incluya adicional a la extracción de sangre para la cual los pacientes han concurrido ese día, la extracción de 1 tubo de sangre total colectado con anticoagulante EDTA. A dicho tubo se le asignara un número correlativo propio del estudio, sin utilizar los datos personales del paciente. Finalizada cada jornada, las muestras serán trasladadas al laboratorio de Banco de Sangre de la Escuela de Tecnología Médica, donde se realizaran los exámenes para determinar

los sistemas sanguíneos. Una vez procesadas las muestras están serán descartadas de acuerdo al protocolo de eliminación de este Laboratorio. Se espera reunir las 400 durante el mes de Mayo de 2017.

- **Beneficios:** Al determinar la presencia de los diferentes sistemas sanguíneos en la población, permitirá identificar el grupo sanguíneo del individuo, el que a la hora de requerir sangre es de vital importancia para seleccionar la sangre a reponer, y no exponer al paciente a riesgos innecesarios producto de la transfusión.

- **Riesgos:** No existen riesgos para el paciente, sin embargo como los estudios se realizaran a partir de una muestra de sangre venosa, obtenida por personal del CESFAM Magisterio, los riesgos que pudieran estar implicados corresponden a los propios del procedimiento de extracción de sangre venosa, es decir dolor al momento del pinchazo y/o moretones post- extracción de sangre.

- La presente investigación puede ser usada en el futuro como base para la generación de nuevas investigaciones, así como también con fines informativos y educativos dirigidos en el ámbito académico y a la comunidad.

- **Costos:** No hay costos involucrados para el paciente.
- **Compensaciones:** No habrá compensación
- **Muestras:** “Estimado participante recuerde que una vez finalizada el análisis de la muestra toda la sangre será eliminada y que a su sangre solo le realizaremos el examen que le estamos indicando y ningún otro tipo de estudio extra”.
- **Confidencialidad:** Los datos recolectados serán de uso exclusivo de la investigación, a cada muestra colectada se le asignará un número correlativo y propio del estudio, sin embargo para realizar la entrega de los resultados del estudio, es necesario asociar este número correlativo el nombre, RUT, por lo tanto a cada paciente se les solicitará nombre completo, RUT. Las personas responsables de la confidencialidad de los datos recopilados será el investigador responsable (Carla Toro). El estudio durará 5 meses aproximadamente, lo que incluye la recolección de los datos, estudio y conclusión de la investigación, los datos anteriormente enunciados sólo serán utilizados para éste estudio.

- **Comunicación con el investigador:**
Carla Toro: Investigador Responsable 964687828; ctoro@utalca.cl
Jessica Parra: 976351312; jparra12@alumnos.utalca.cl

- **Los resultados obtenidos para la determinación de estos sistemas sanguíneos, serán comunicados individualmente por escrito a cada paciente, y estarán disponibles en su ficha clínica presente en el consultorio, para el siguiente control médico.**

Estimado participante recuerde que la decisión de participar es absolutamente suya. Puede aceptar o rechazar la investigación, e incluso arrepentirse de su primera decisión:

Declaración

He recibido una explicación satisfactoria sobre el propósito de la investigación, así como de los beneficios sociales o comunitarios que se espera éstos produzcan.

He sido informado/a sobre las eventuales molestias, incomodidades y riesgos de mi participación en la investigación.

He sido también informado/a que los procedimientos que se realicen, no implican un costo que yo deba asumir. Mi participación en el procedimiento no involucra un costo económico alguno que yo deba solventar (hacerme cargo).

Estoy en pleno conocimiento que la información obtenida con la actividad en la cual participaré, será absolutamente confidencial, esto significa que sólo el equipo investigador tendrá acceso a mis datos personales solicitados y nadie más. En caso de que la información obtenida del estudio sea Pública ésta se mantendrá anónima, esto significa que no aparecerá ningún dato con el que puedan identificarme en libros, revistas y otros medios de publicidad derivadas de la investigación ya descrita.

Sé que la decisión de participar en esta investigación, es absolutamente voluntaria. Si no deseo participar en ella, o una vez iniciada la investigación no deseo seguir colaborando, puedo hacerlo sin problemás y sin tener que dar ninguna explicación. En ambos casos, se me asegura que mi negativa no implicará ninguna consecuencia negativa para mí. Para esto último sólo debo comunicarme vía telefónica a los números anteriormente indicados para firmar la hoja de revocación.

Adicionalmente, el investigador responsable, **Prof. TM. Carla Toro**, han manifestado su voluntad de aclarar cualquier duda que me surja, antes, durante y después de mi participación en la actividad, las que pueden ser realizadas vía telefónica al número **964687828**, correo electrónico **ctoro@utalca**, o en las dependencias de la Universidad de Talca, campus Lircay s/n, 1er piso Facultad de Ciencias de la Salud, de Lunes a Viernes en horario de oficina 8:30 a 13:00 – 15:00 a 18:30.

ACEPTACIÓN:

He leído el documento, entiendo las declaraciones contenidas en él y la necesidad de hacer constar mi consentimiento, para lo cual lo firmo libre y voluntariamente, recibiendo en el acto copia de este documento ya firmado.

Yo,, Cédula de identidad o pasaporte N°....., de nacionalidad....., mayor de edad o autorizado por mi representante legal, con domicilio en, **Consiento** en participar en la investigación denominada: **“Determinación de sistemas sanguíneos Kell y Kidd en población de la ciudad de Talca.”** y **autorizo** a la señora Carla Toro Opazo, investigador responsable del proyecto y/o a quienes éste designe como sus colaboradores directos y cuya identidad consta al pie del presente documento, para realizar el (los) procedimiento (s) requerido (s) por el proyecto de investigación descrito.

Fecha:/...../.....

Hora:

Firma de la persona que consiente:

.....

Investigador responsable: Carla Toro Opazo

Firma

Co-investigador 1: Jessica Parra

Firma

Co-investigador 2: Nicole Acevedo

Firma

RECHAZO

He leído el documento, entiendo las declaraciones contenidas en él. Sin embargo, rechazo otorgar mi consentimiento, para lo cual firmo libre y voluntariamente el siguiente documento, recibiendo en el acto copia de éste ya firmado.

Yo,, Cédula de identidad o pasaporte N°....., de nacionalidad....., mayor de edad o autorizado por mi representante legal, con domicilio en, **No Consiento** en participar en la investigación denominada: **“Determinación de sistemas sanguíneos Kell y Kidd en población de la ciudad de Talca.”** y **no autorizo** a la señora Carla Toro Opazo, investigador responsable del proyecto y/o a quienes éste designe como sus colaboradores directos y cuya identidad consta al pie del presente documento, para realizar el (los) procedimiento (s) requerido (s) por el proyecto de investigación descrito.

Fecha:/...../.....

Hora:

Firma de la persona que rechaza:.....

Investigador responsable: Carla Toro Opazo

Nombre

Firma

Co-investigador 1: Jessica Parra

Firma

Co-investigador 2: Nicole Acevedo

Firma

REVOCACIÓN

Mediante la presente revoco lo anteriormente firmado, para lo cual firmo este nuevo documento libre y voluntariamente, recibiendo en el acto copia de este documento ya firmado.

Yo,, Cédula de identidad o pasaporte N°....., de nacionalidad....., mayor de edad o autorizado por mi representante legal, con domicilio en, **Revoco** lo anteriormente firmado.

Fecha:/...../.....

Hora:

Firma de la persona que revoca:.....

Investigador responsable: Carla Toro Opazo

Firma

Co-investigador 1: Jessica Parra

Firma