



Universidad de Concepción del Uruguay

**Facultad de Ciencias Médicas, Dr. Bartolomé
Vasallo- Centro Regional Rosario**

Licenciatura en Hemoterapia e Inmunohematología

“

**“FRECUENCIA DEL ANTÍGENO K1 EN DONANTES DE SANGRE DE
UN HOSPITAL PROVINCIAL DE LA CIUDAD DE ROSARIO”**

Alumno: Decoberti, María Virginia

Tutor temático: Dra. Galliano Romina

Rosario, 2019.

ÍNDICE

	PÁGINA
Introducción	3
CAPITULO I	
1.1 Planteo del problema	4
1.2 Justificación	4
1.3 Objetivos	5
1.4 Hipótesis	5
CAPITULO II	
2.1 Antecedentes	6
TABLA 1	8
2.1.2 Marco teórico	9
Sistema sanguíneos	9
Herencia de los sistemas sanguíneos	9
Sistema sanguíneo Kell	9
Historia y antígenos Kell	10
Anticuerpos Kell	11
CAPITULO III	
Marco metodológico	15
CAPITULO IV	
Resultados	18
CAPITULO V	
Conclusión	24
CAPITULO VI	
Recomendaciones	25
BIBLIOGRAFÍA	26
GLOSARIO	27
ANEXOS	29

INTRODUCCIÓN:

En Medicina transfusional, uno de los hemocomponentes más transfundidos son los glóbulos rojos (GR), los cuales poseen estructuras de membrana que originan diversos antígenos eritrocitarios pertenecientes a alguno de los 33 sistemas sanguíneos, series o colecciones descritos hasta la fecha. (Vásquez M, 2013.)

Los sistemas sanguíneos más relevantes en terapia transfusional son: el sistema ABO, sus antígenos están presentes en todos los tejidos excepto el sistema nervioso central y sus anticuerpos son de ocurrencia natural, los cuales reaccionan de manera severísima frente a los antígenos ausente del mismo, y luego el sistema Rh, quien no presenta aglutininas (o anticuerpos) naturales y cuando se presentan son el resultado de una inmunización previa, generada por la inmunogeneicidad de sus antígenos. Es por ello que los exámenes rutinarios inmunohematológicos que se realizan a todos los donantes y receptores de sangre son: la clasificación de los sistemas ABO y Rh(D) y la detección de anticuerpos irregulares.

El sistema Kell o 0006 según la ISBT (International Society of Blood Transfusion) está formado por 35 antígenos, los más importantes son Kell (K o K1) y Cellano (k), altamente inmunogénicos, lo que le confiere a este sistema sanguíneo el tercer lugar en importancia clínica. (Prof. MsC. Marcela Vásquez Rojas, 2015)

La siguiente investigación, tiene como objetivo establecer un precedente de la frecuencia del antígeno Kell o K1 que existe en la población de donantes de sangre de un Servicio de Medicina transfusional que pertenece a un Hospital público provincial de la ciudad de Rosario, provincia de Santa Fe. El propósito es garantizar mayor cantidad de grupos fenotipificados en los donantes de sangre, dicha práctica permitirá demostrar la presencia del antígeno Kell en un porcentaje menor al 9%, con la finalidad de implementar esta práctica a nivel general en los demás efectores públicos de salud, ya que pertenecen en su conjunto a una red integral de sangre que abastece recíprocamente los hemocomponentes sanguíneos.

Se desarrolló una investigación cuantitativa, en la cual los datos fueron recolectados a través de una técnica de laboratorio manual, en un soporte de microplaca. El diseño es retrospectivo transversal, con características descriptivas.

CAPÍTULO I

1.1 PLANTEO DEL PROBLEMA:

Para aumentar la seguridad transfusional y así poder disminuir efectos no deseados asociados a la transfusión sanguínea como sensibilizaciones y reacciones adversas, es necesario tipificar la mayor cantidad de sistemas sanguíneos posibles en los donantes.

En la bibliografía consultada se puede destacar la presencia del antígeno Kell en porcentajes variados, dependiendo la población en estudio, en la región de Oaxaca, México está presente en un 2% y en Chile 4% (Chargoy-Vivaldo A.-C. R.-A., 2016 abril), pero no existen antecedentes ni frecuencia del antígeno K1 de la población de donantes de la ciudad de Rosario.

¿En qué porcentaje está presente el antígeno Kell o K1 en la población de donantes que asistieron al Servicio de Medicina transfusional de un Hospital provincial de la ciudad de Rosario, Santa Fe, desde diciembre del 2015 a diciembre del 2016?

1.2 JUSTIFICACIÓN:

El sistema de grupo sanguíneo Kell es el tercero más polimórfico, luego del ABO y Rh, conocido hasta el momento, y uno de los de mayor relevancia clínica respecto a la aparición de reacciones de origen inmune, ya que los antígenos Kell son altamente inmunogénico debido que al contacto de antígenos K (+) en una persona con fenotipo K (-) tiene la probabilidad de desarrollar una reacción pos transfusional mayor al 20% y también la posibilidad de desarrollar un anti-K mayor al 10%. (Martínez, 2015, pág. 19) (Hidalgo, 2015, pág. 24)

El aloanticuerpo anti-K puede causar graves reacciones transfusionales hemolíticas y severa enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) o fetonatal (EHFN) en Chile en el año 2010 se detectaron 26 casos de anemia fetal por isoimmunización por antígeno Kell. (Hidalgo, 2015, pág. 21).

Demostrando la frecuencia de donantes Kell positivos en la población en estudio, este trabajo intentará justificar la necesidad de ampliar la gama de antígenos

identificados en los donantes, contribuyendo con el análisis de los datos al servicio de medicina transfusional del hospital en cuestión, y así poder establecer futuros cambios en la política transfusional actual.

1.3 OBJETIVOS:

1.3.1 Objetivo general:

Determinar el porcentaje de antígeno K1/ KELL que existe en la población de donantes de sangre que concurrieron al Servicio de Medicina transfusional de un Hospital Provincial de la ciudad de Rosario, entre diciembre del 2015 a diciembre del 2016.

1.3.2 Objetivos específicos:

- Releva registros para análisis de datos
- Caracterizar la población en estudio según variable sexo: femenino y masculino.

1.4 HIPOTESIS:

A través de la lectura y el relevamiento de información, se logra identificar que en las poblaciones de raza blanca el antígeno K1 se encuentra en un 9%, y valores inferiores a este.

Por dicho motivo, estimo que por ser un estudio más acotado en cuanto a población el antígeno K1 está presente en un porcentaje menor al 9% en la población de donantes de sangre que asistieron al Banco de Sangre de un hospital Provincial de la ciudad de Rosario, Santa Fe. Esta variable es independiente del sexo del donante.

CAPÍTULO II

2.1 ANTECEDENTES:

En el relevamiento de información, no se logra identificar estudios realizados en la población de la ciudad de Rosario y tampoco en Argentina, solo se reportan estudios similares en América Latina y países del resto del mundo.

En el estudio desarrollado por Vásquez Rojas y compañía, en Cuba donde se analizaron a 200 donantes de sangre voluntarios que acudieron a colectas móviles organizadas por el Centro Productivo Regional de Sangre del Maule en el año 2012, abordó los siguientes resultados, 4% de frecuencia para el antígeno K1 y 99,5% para K2 lo que se asemejan a los encontrados en la población de Santiago en el año 1988 en donde la frecuencia para K1 fue del 4 % y K2 de 95 %. (Cifuentes L, Caracterización genética de la población hospitalaria de Santiago., 1988)

Tendencia similar informaron Acuña y Compañía, en el año 2000, en una muestra de 120 individuos de población general de 4 comunidades rurales de la región de Coquimbo de Chile, en que se detectaron las frecuencias para el antígeno K1 del 2,47 % y para el K2, 98,03%. Los autores de ese estudio concluyeron que esta tendencia es debido a la mezcla genómica de los pueblos aborígenes con los españoles como resultado de la colonización del siglo XVI. De igual forma, en diversos textos se reportan frecuencias en poblaciones que fluctúan del 2 al 9 % para el antígeno K1 y del 91 al 99 % para el antígeno antitético K2. (Acuña M, 2000)

En estudios más actuales realizados en 2015 en la población Palestina, se reportaron frecuencias del antígeno K1 del 5,63 %; y para el K2, 94,4 %.

En las localidades de Gujarat y Delhi, India, los resultados de frecuencia fueron para el K1 del 6,09 % y 3,5%; y K2, del 100 % y 99,97 %, respectivamente. Si se compara al nivel de genotipos Kell, en la población de este estudio se demostró una frecuencia del 0,5 % para el homocigoto Kell (K1/K1); 3,5 % para el heterocigoto (K1/K2); y 96 % para el homocigoto Cellano (K2/K2). Al respecto, el estudio realizado en Malasia mostró frecuencias del 5,7 % para los fenotipos (K+k-) y del 94,3 % el fenotipo (k+k+). (Prof. MsC. Marcela Vásquez Rojas, 2015)

Harmening reportó frecuencias por raza en Filadelfia, en el año 2005, siendo para la raza blanca: frecuencias genotípicas del 0,2 % para K1/K1; 8,8 % para K1/K2I y 91 % para el genotipo K2/K2. ; Y en raza negra: frecuencias de menos del 0,1 %; 3,5 % y 95,5 %, respectivamente. (Harmening, 2005)

Estudio realizado en Quito, Ecuador, en el año 2015, en el cual se analizaron 383 muestras provenientes de donantes voluntarios de sangre, enviadas al Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana, desde diferentes provincias del país, aborda los siguientes resultados, una prevalencia del 94% para el antígeno k y únicamente 4,75% para el antígeno Kell. (Hidalgo, 2015)

Otro estudio realizado en Guatemala por Alavarado Guzmán obtuvo una prevalencia de 2,4% para el antígeno K en donantes voluntarios que acudieron al Hospital General de San Juan, durante los años 2011 a 2012. (Hidalgo, 2015)

En Abril de 2016, un estudio conformado por 497 donantes voluntarios, de ocho regiones de Oaxaca, México, informó un 2% de prevalencia para el antígeno K1, lo que equivale a 8 donantes Kell positivo. (Chargoy-Vivaldo A.-C. R.-A., 2016 abril)

TABLA 1: Distribución en diferentes países de los antígenos K1 Y K2.

LUGAR	K1 %	K2 %	AÑO
CUBA	4%	99,5%	2012
SANTIAGO- CHILE	4%	95%	1988
COQUIMBO- CHILE	2,47%	98,03%	2000
PALESTINA	5,63%	94,4%	2005
GUJARAT- INDIA	6,09%	100%	2015
DELHI-INDIA	3,5%	99,97%	2015
MALASIA	5,7%	94,3%	2015
FILADELFIA BLANCOS NEGROS	9% 3,6%	91% 95,5%	2005
ECUADOR	4,75%	94%	
MÉXICO- OAXACA	2%	98%	2016
GUATEMALA	2,4%		2012
PROMEDIO	4,43%		

2.2 MARCO TEÓRICO

Se desarrollaran todos los conceptos que le darán marco al tema en estudio, incluyendo de manera detallada el procedimiento de cómo fueron analizadas las muestras.

2.2.1 SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS:

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

- 32 sistemas que se relacionan entre sí por estar codificados por el mismo gen.
- Colecciones de antígenos relacionados únicamente por sus propiedades bioquímicas o serológicas, pero no genéticamente.
- Series que no han podido ser clasificados en sistemas o colecciones por lo que se las dividió en series de antígenos de alta frecuencia (901 series) y de baja frecuencia (700 series), creados en 1980 por ISBT. (Hidalgo, 2015).

2.2.2 HERENCIA DE LOS SISTEMAS SANGUÍNEOS:

Los antígenos sanguíneos en general son codificados por un gen específico, es decir que si el individuo presenta el gen, el antígeno eritrocitario va a ser expresado en la membrana de los glóbulos rojos.

Los antígenos eritrocitarios se heredan siguiendo las leyes de Mendel; al existir genes dominantes y recesivos se van a dar un sinnúmero de fenotipos y genotipos de cada sistema sanguíneo. (Hidalgo, 2015, pág. 15)

2.2.3 SISTEMA SANGUÍNEO KELL:

Es un conjunto de glicoproteínas que poseen actividad endopeptidasa dependiente de zinc, el sistema sanguíneo Kell es altamente polimórfico por lo que se podrá expresar en la membrana eritrocitaria más de un antígeno perteneciente a este, hasta el momento se han reportado 35 antígenos pertenecientes al Sistema

Kell, numerados del 1 al 38, de los cuales tres han quedado obsoletos y no poseen significancia clínica. Cada individuo posee dos alelos procedentes de cada uno de sus progenitores, el locus KELL posee dos alelos denominado KEL1 y KEL2 y dependiendo del alelo heredado de cada progenitor, el individuo puede heredar uno de ellos dando como resultado un efecto denominado de doble dosis para KK+ o poseer alelos diferentes en este caso K+k+. Por lo tanto, la presencia o ausencia de los antígenos sobre los eritrocitos determina el fenotipo que posee un individuo. (Hidalgo, 2015, pág. 23)

El gen KEL se localiza en el cromosoma 7q32-q36, y se extiende a lo largo de una secuencia de 21,5 kb de DNA organizada en diecinueve exones codificantes.

La herencia del Sistema Kell también se encuentra relacionada a la herencia recesiva ligada al sexo, así las variantes alélicas del gen XK dan origen a glóbulos rojos con el fenotipo denominado McLeod, estos poseen una expresión disminuida de antígenos del Sistema Kell, siendo común en hombres, y casi imposible encontrar mujeres homocigotas debido a que está ligado a la herencia del cromosoma X. (Armando Cortès Buelvas, 2014, pág. 139)

2.2.4 HISTORIA Y ANTÍGENOS KELL:

El primer antígeno en ser descubierto fue el K, en un caso de enfermedad hemolítica del recién nacido el cual era positivo para este antígeno y la madre poseía los anticuerpos anti-K, a este se lo llamo Kell por Coombs, Murant y Race en 1946, tres años después Levine y sus colaboradores descubrieron el segundo antígeno perteneciente al sistema Kell al cual se le denominó Cellano (k).

En 1957 se identificaron los antígenos Kp^a y Kp^b descubiertos por Allen y Lewis, un año después en 1958 se descubrió la presencia del antígeno Js^a y en 1963 el Js^b enriqueciendo el número de antígenos de este sistema; estos 6 antígenos son los principales y más prevalentes de este sistema, los demás son de baja frecuencia. (Hidalgo, 2015, pág. 17)

2.2.5 ANTICUERPOS KELL:

Los anticuerpos de este sistema son considerados aloanticuerpos, ya que naturalmente no están en circulación, sino que son creados a partir de la exposición a un antígeno perteneciente a la misma especie. (Hidalgo, 2015, pág. 33)

El anti-K es el más común tras las especificidades pertenecientes a los sistemas ABO y Rh. Generalmente es de clase IgG1, reacciona a 37°C en la prueba de antiglobulina indirecta, y, ocasionalmente, es fijador de complemento lo que le confiere en conjunto a la alta inmunogenicidad del antígeno Kell la característica de ser clínicamente significativos.

Se ha demostrado su capacidad para producir reacciones transfusionales y enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN).

La proteína Kell se expresa en fases muy precoces del proceso de maduración eritroide, y ello permite que los anticuerpos anti-K puedan inhibir la eritropoyesis y provocar una anemia aplásica que puede superar al componente hemolítico de la anemia que puede presentar un feto con EHRN mediados por dicho anticuerpo.

Los restantes aloanticuerpos son menos habituales, y la presencia de anticuerpos anti-k, anti-Kpb y anti-Jsb suelen plantear problemas cuando se requieren hemáties carentes de estos antígenos para la transfusión, ya que son de alta frecuencia en todas las poblaciones. (Armando Cortès Buelvas, 2014, págs. 139-140)

2.2.6 REACCIONES TRANSFUSIONALES INMEDIATAS Y TARDÍAS RELACIONADAS AL SISTEMA KELL:

Las reacciones inmediatas se caracterizan por presentarse generalmente antes de las 24 horas luego de la transfusión, siendo la principal causa de muerte pos transfusional, la más común es la hemólisis intravascular o extravascular donde se produce la liberación de la hemoglobina provocando trastornos vasculares, fallo renal e incluso si no es tratada a tiempo puede producir la muerte del paciente. En el caso del Sistema Kell se han reportado casos de hemólisis intravascular en forma de respuesta inflamatoria sistémica provocando el síntoma más característico que es la fiebre por la liberación exagerada de

citoquinas e interleucinas al torrente sanguíneo, se produce también coagulación intravascular diseminada, fallo renal agudo y por último la muerte del paciente.

Las reacciones transfusionales tardías se presentan después de las 24 horas de una transfusión sanguínea, debida a la formación de aloanticuerpos luego de la exposición a un antígeno desconocido, en un primer contacto existe la posibilidad de no presentar ningún síntoma, pero al ocurrir un segundo contacto se presentarán problemas graves o reacciones inmediatas, esto debido a la memoria inmunológica creada y las células de defensa (macrófagos, neutrófilos) . (Hidalgo, 2015).

2.2.7 TECNICA DE TIFICACION UTILIZADA EN LA RECOLECCION DE DATOS: (Ver Anexo 2)

2.2.7.1 Tecnica de Microplaca para Anti-kell:

- 1- Suspender los glóbulos rojos al 2% en LISS Preservante
- 2- Agregar 20 ml de reactivo hemoagrupador en las microcubetas de la microplaca correspondientes.
- 3- Agregar 20 ml de la suspensión de glóbulos rojos.
- 4- Colocar el cobertor. .
- 5- Homogeneizar. .
- 6- Incubar a temperatura ambiente durante 15-20 minutos. . Centrifugar (parámetro predeterminado). .
- 7- Agitar la microplaca en velocidad 2-3. .
- 8- Observar macroscópicamente la presencia/ausencia de aglutinación.

2.2.7.2 : Materiales:

- Recolección y preparación de las muestras

Las muestras fueron obtenidas por una técnica aséptica, recogida en un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina o citrato), y conservada entre 2-8°C por un plazo no mayor a 7 días.

Los resultados se obtuvieron del procesamiento de muestras frescas, sin signos de hemólisis y/o contaminación.

- Reactivo anti-Kell, el componente principal de este reactivo se obtiene del cultivo in vitro de hibridomas humanos secretores de anticuerpos IgM (inmunoglobulina M) contra el antígeno K. Está destinado a la detección del antígeno K en la superficie de los glóbulos rojos humanos por aglutinación directa mediante la técnica en microplaca. (ver anexo 2).

- LISS Preservante.

- Microplacas fondo en U .

- Cobertor de microplacas autoadhesivo.

- Agitador Orbital.

- Centrifuga de microplaca.

- Pipeta multicanal.

- Espejo amplificador acompañado de un aglutinoscopio de lectura.

2.2.7.3 Interpretación de los resultados:

Si se ha producido una aglutinación, la reacción es positiva y el antígeno correspondiente al reactivo utilizado está presente en la membrana de los hematíes analizados. Si no ha habido aglutinación, la reacción es negativa y el antígeno no está presente en estos hematíes.

2.2.7.4 Limitaciones y recomendaciones

- No es indispensable utilizar un reactivo control paralelo a los ensayos usando este reactivo.

- La concentración celular utilizada en la técnica en microplaca es importante. Las suspensiones de baja concentración pueden resultar en la formación de una monocapa luego de la centrifugación y las suspensiones de alta concentración pueden enmascarar resultados débiles.
- Se debe tener cuidado cuando se resuspende el botón celular de la microcubeta para evitar no desarmar aglutinaciones débiles, ocurriendo así falsos negativos.
- Una agitación excesiva puede disgregar las aglutinaciones débiles y producir resultados falsos negativos.
- Es importante emplear la fuerza g y tiempo recomendados durante la centrifugación, ya que una excesiva centrifugación puede conducir a dificultades para resuspender el botón celular, mientras que una centrifugación insuficiente puede resultar en aglutinaciones que se disgregan con demasiada facilidad.
- La expresión de algunos antígenos eritrocitarios puede disminuir en intensidad durante el almacenamiento, especialmente en aquellas muestras coaguladas o anti coaguladas con EDTA. Los mejores resultados se obtienen cuando se ensayan muestras frescas.
- No utilizar sangre de muestras hemolizadas, turbias, contaminadas o con presencia de coágulos, ya que interfieren en la lectura.
- Pueden obtenerse resultados falsos negativos o falso positivos debido a la contaminación de los materiales empleados en la prueba, temperatura incorrecta de incubación, almacenamiento inadecuado de los materiales, omisión del reactivo de prueba o cualquier desviación de la técnica recomendada.

CAPITULO III

MARCO METODOLOGICO:

3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Se desarrolló una investigación cuantitativa no experimental, con características descriptivas.

3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:

El diseño del estudio es retrospectivo transversal, ya que el estudio se realizó recopilando datos de diciembre del 2015 a diciembre del 2016, donde se estudió la presencia del antígeno Kell/K1 en todos los donantes que asistieron a un Banco de Sangre Intrahospitalario de un hospital provincial de la ciudad de Rosario.

Dicha franja poblacional fue elegida porque la técnica se empezó a realizar en el servicio en diciembre del 2013, entonces por una cuestión de afianzamiento de técnica, toma de muestras, lectura de resultados, y protocolizar el uso de la micro placa, se decidió recabar los datos a partir de diciembre del 2015, para así disminuir posibles sesgos asociados a errores humanos.

3.3 DEFINICIÓN DE VARIABLES

- Variable independiente: presencia del antígeno Kell.
- Variable dependiente: sexo.

3.4 TIPO DE MUESTREO:

Se realizó un muestreo no probabilístico, por conveniencia.

3.5 POBLACIÓN Y MUESTRA:

La población en estudio fueron donantes de sangre que asistieron un Banco de Sangre Intrahospitalario, de un hospital público de la ciudad de Rosario, Santa Fe, Argentina, desde diciembre del 2015 a diciembre del 2016, con un N total de 2200 donantes estudiados, comprendidos entre 18 a 65 años de edad tanto de sexo femenino como masculino.

- 3.5.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN: todos los donantes que cumplieron con los requisitos establecidos en la Ley Nacional de Sangre 22990 (AAHI, 2017) (Ver anexo 3)
- 3.5.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN: todos los donantes de sangre que no han sido aceptados como tal, por no cumplir con los requisitos establecidos en la Ley Nacional de Sangre 22990 (AAHI, 2017) (ver anexo 3)

3.6 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

Relevamiento de información del servicio. Dichos datos se encuentran en los libros de microplaca, donde cada donante es identificado con uno código alfanumérico.

Dicho código alfanumérico, es único para cada donante y contiene los siguientes datos:

- Sexo
- Año- mes- día de nacimiento
- Numero correlativo de donante de sangre, que es otorgado por el sistema informático del servicio.

3.7 TECNICAS DE ANALISIS DE DATOS:

Los datos se analizaran con un software estadístico, PSPP y con Excel.

3.8 ÉTICA:

Los datos filiatorios de los donantes permanecen en el anonimato.

CAPITULO IV:

4.1 RESULTADOS:

4.1.1 Descripción de la población en estudio:

Se estudiaron 2200 donantes de sangre que asistieron al Banco de Sangre Intrahospitalario de un Hospital público de la ciudad de Rosario, provincia de Santa Fe, Argentina, entre diciembre del 2015 a diciembre del 2016.

Las características principales de la población es que comprende un rango etario de 18 a 65 años de edad.

Se determinó el sexo de cada uno de los donantes de sangre, estableciéndose que existe una mayor cantidad de donantes masculinos (1305) que femeninos (895).

Dichos datos fueron consultados en la base de datos del Servicio De Hemoterapia del Hospital Público de la ciudad de Rosario.

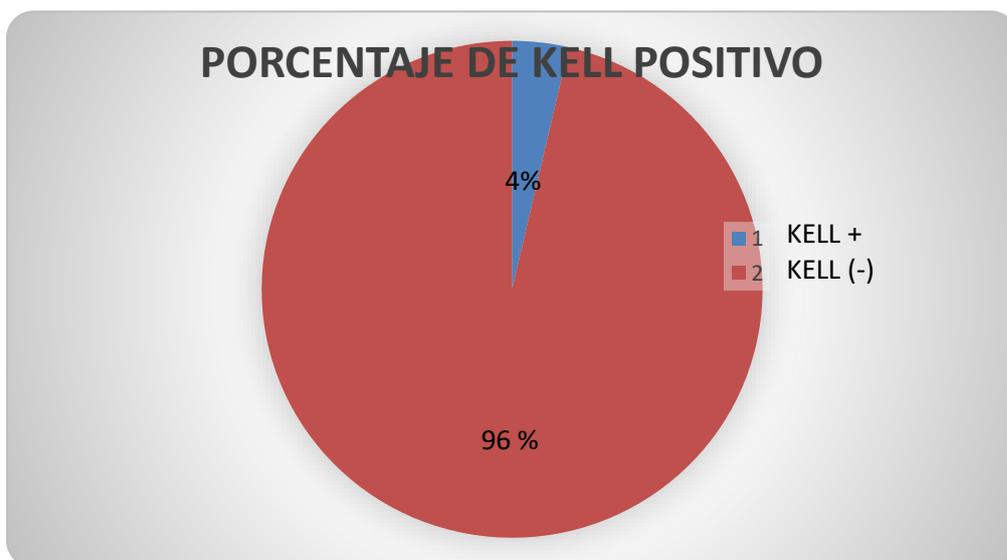
TABLA N° 2: DISTRIBUCION DEL ANTIGENO K1 EN LA POLACION EN ESTUDIO.

CONDICION	FEMENINO	MASCULINO	TOTAL
K1 +	25	55	80
K1 (-)	870	1250	2120
Total	895	1305	2200
% K1 +	2,79%	4,21%	3,64%

En cuanto a la presencia del antígeno Kell, se observa que en 2200 donantes de sangre, se expresa en 80, de los cuales 55 son masculinos y 25 femeninos, correspondiente a un porcentaje del 4% para la presencia del antígeno K1, y de un 96% para la ausencia del mismo.

Lo anterior confirma parte la hipótesis de la investigación, la presencia del antígeno es menor al 9%.

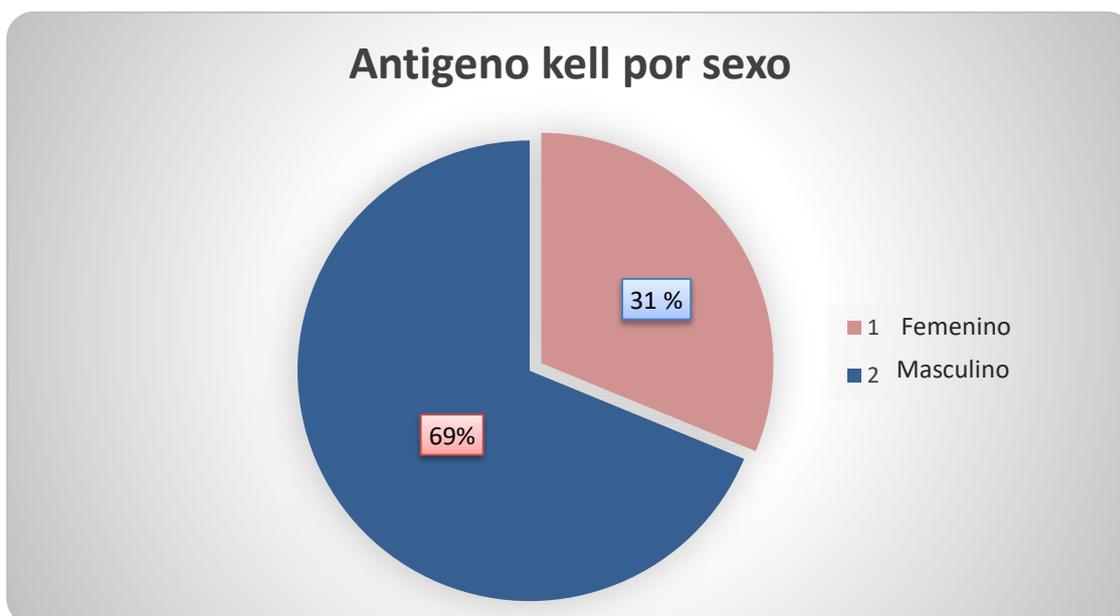
GRAFICO N°1: PORCENTAJE DE ANTIGENO KELL.



Por otro lado, es necesario incluir la variante dependiente del estudio que es el sexo, indicando la frecuencia del antígeno K1 en la población total de donantes femeninos y masculinos.

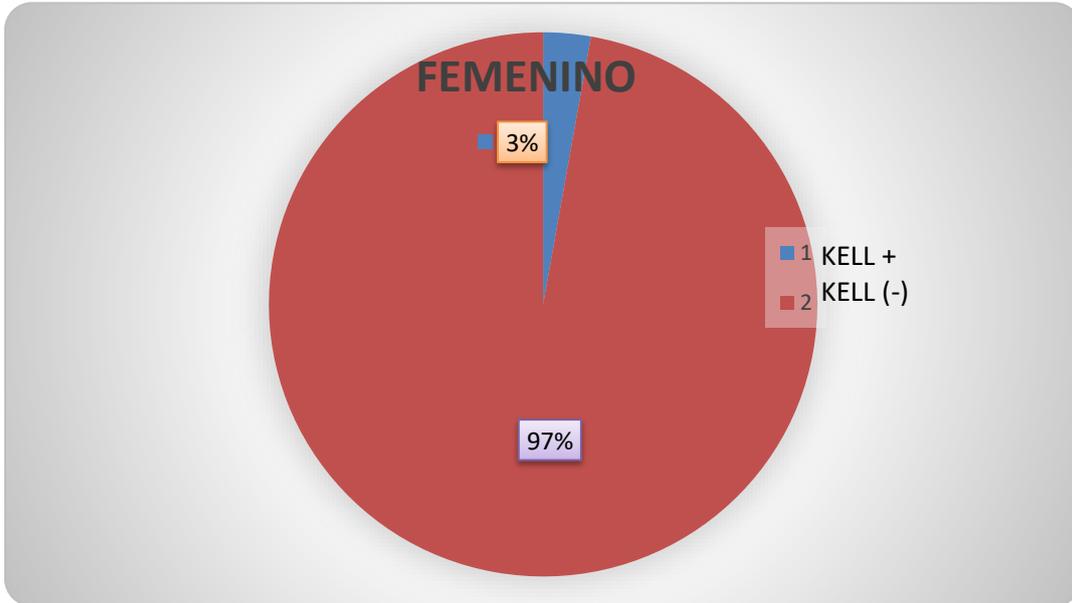
En la totalidad de expresión del antígeno, equivalente a 80, el 31% de ese total corresponde a la población femenina, y el 69% restante a la población masculina.

GRAFICO N° 2: PORCENTAJE DE ANTIGENO KELL POR SEXO



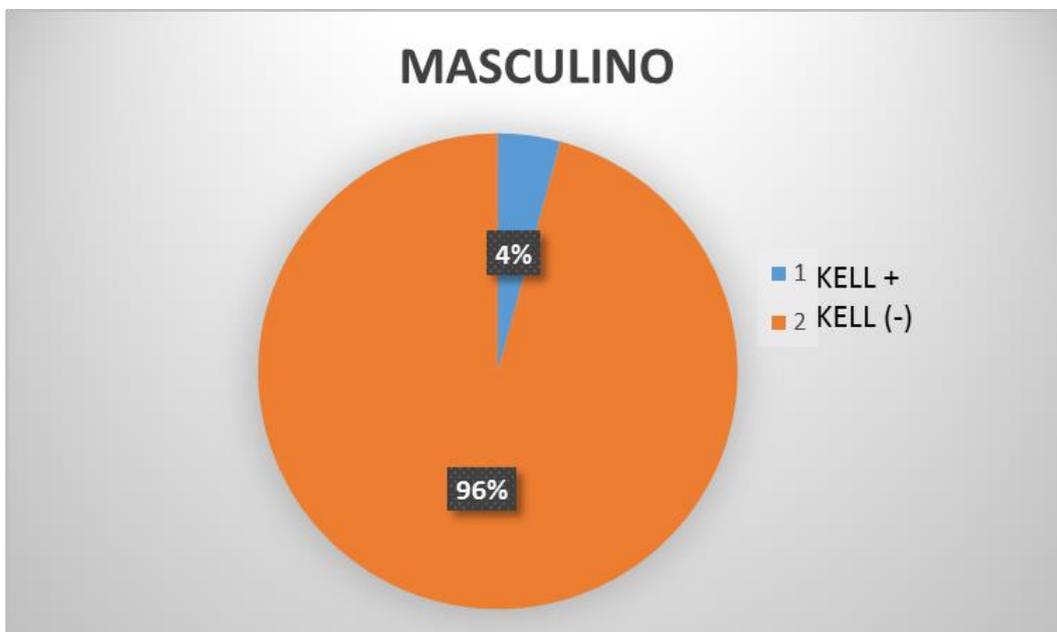
En cuanto al análisis de la población femenina con un total de 895 donantes, el factor en estudio representa un total de 25 expresiones, lo que es igual al 3% de frecuencia del antígeno K1.

GRAFICO N° 3: PORCENTAJE DE ANTIGENO KELL POBLACION FEMENINA.



El análisis de la población masculina con un total de 1305 donantes, el factor en estudio representa un total de 55 expresiones, lo que es igual al 4,21% de frecuencia del antígeno K1.

GRAFICO N° 4: PORCENTAJE DE ANTIGENO KELL POBLACION MASCULINA.



TEST DE HIPOTESIS NO PARAMETRICOS: CHI CUADRADO.

- Se utiliza para confirmar o rechazar la independencia de variables, en este caso si la presencia del antígeno K1 se asocia al sexo.

-Formulación de hipótesis:

H^0 (NULA): parámetros son independientes

H_1 (inicial): parámetros no son independientes.

-Nivel de significancia (medida de error): 0,01

TABLA DE CONTIGENCIA:

TABLA N°3: TABLA DE CONTIGENCIA DEL TEST NO PARAMETRICO, CHI CUADRADO.

KELL	Femenino	Masculino	TOTAL
SI	25	55	80
NO	870	1250	2120
TOTAL	895	1305	2200

- VALORES O FRECUENCIAS OBSERVADAS = F_0

Son los valores que representan la expresión del antígeno sobre el total de cada variable dependiente, correspondiente a femenino y masculino.

TABLA N°4: FRECUENCIAS OBSERVADAS

Femenino	Masculino
25	55
870	1250

- VALORES O FRECUENCIAS ESPERADOS= f_e

$$f_e = \frac{\text{total columna} \times \text{total fila}}{\text{suma total}}$$

TABLA N°5: FRECUENCIAS ESPERADAS

Femenino	Masculino
32,55	47,45
862,45	1257,55

- Chi cuadrado calculado= $x^2 = \sum \frac{(f_o - f_e)^2}{f_e}$
 $x^2 = 3,061$

$$\alpha : 0,01$$

$$n: \text{grados de libertad} = (N^\circ \text{ de fila} - 1) \times (N^\circ \text{ de columnas} - 1)$$

$$n = 1$$

$$x^2 \text{ critico} = x^2_{n; \alpha}$$

$$x^2 \text{ critico} = 6,64$$

TABLA N°6: VALORES CRITICOS DE CHI CUADRADO

DISTRIBUCION DE χ^2

Grados de libertad	Probabilidad										
	0,95	0,90	0,80	0,70	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
1	0,004	0,02	0,06	0,15	0,46	1,07	1,64	2,71	3,84	6,64	10,83
2	0,10	0,21	0,45	0,71	1,39	2,41	3,22	4,60	5,99	9,21	13,82
3	0,35	0,58	1,01	1,42	2,37	3,66	4,64	6,25	7,82	11,34	16,27
4	0,71	1,06	1,65	2,20	3,36	4,88	5,99	7,78	9,49	13,28	18,47
5	1,14	1,61	2,34	3,00	4,35	6,06	7,29	9,24	11,07	15,09	20,52
6	1,63	2,20	3,07	3,83	5,35	7,23	8,56	10,64	12,59	16,81	22,46
7	2,17	2,83	3,82	4,67	6,35	8,38	9,80	12,02	14,07	18,48	24,32
8	2,73	3,49	4,59	5,53	7,34	9,52	11,03	13,36	15,51	20,09	26,12
9	3,32	4,17	5,38	6,39	8,34	10,66	12,24	14,68	16,92	21,67	27,88
10	3,94	4,86	6,18	7,27	9,34	11,78	13,44	15,99	18,31	23,21	29,59
	No significativo								Significativo		

HIPOTESIS PARA INDEPENDENCIA DE VARIABLES:

$H_0: x^2_{calculado} < x^2_{critico}$

$H_1: x^2_{calculado} > x^2_{critico}$

Resultado:

3,061 < 6,64

Dicho resultado indica que el antígeno K1 y el sexo del donante son parámetros independientes entre sí, confirmando parte la hipótesis de investigación.

CAPITULO V:

5.1 CONCLUSIONES:

- Del análisis obtenido de la población de donantes que formo parte de este estudio, se evidencia que existe mayor cantidad de donantes de sexo masculino, se podría decir que esto sucede porque cumplen generalmente con los requisitos para ser donante, como valores de hematocrito y hemoglobina, peso.
- Los resultados obtenidos de la frecuencia del antígeno K1 son similares a los estudios realizados en otros países, se podría inferir que esto sucede porque las poblaciones fueron cambiando las cuestiones socio-demográficas ya que hay una fluctuación constante de personas que migran hacia otros países. Posiblemente por esto los datos que se relevaron de américa latina fueron similares.
- Se determinó que el porcentaje de K1 es de baja prevalencia, en este caso del 4%, al igual que reportan otras investigaciones desarrolladas en otros países, las cuales arrojan un promedio para la presencia de K1 de 4, 43%.
- Se concluye que la presencia del antígeno K1 no está ligada al sexo del donante.

CAPITULO VI:

6.1 RECOMENDACIONES:

- Se recomienda realizar la tipificación de antígeno K1 a todos aquellos potenciales pacientes que requieran una transfusión de concentrado de glóbulos rojos desplamatizados con la finalidad, dentro de lo posible, de transfundir unidades Kell compatibles, con el objetivo de evitar posibles sensibilizaciones al antígeno K1.
- Poder ampliar la gama de antígenos tipificados tanto en donantes como en pacientes, con el fin de poder brindar mayor seguridad transfusional.
- Evitar transfundir unidades con antígeno K1, a aquella población femenina en edad fértil, para así disminuir posibles sensibilizaciones al sistema Kell que pueden acarrear complicaciones en futuros embarazos.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña M, L. E. (2000). Composición genética de la población chilena: *Rev Med*
- Armando Cortès Buelvas, c. (2014). *Inmunohematología básica y aplicada*. Santiago de Cali, Colombia: GCIAMT.
- Chargoy-Vivaldo, A.-C. R.-A. (2016 abril). `Prevalencia del antígeno Kell en muestras obtenidas en un banco de sangre. *Hematol Mex* , 17(2): 114-122.
- Chile*. 128(6), 593-600.
- Cifuentes L, V. C. (1988). Caracterización genética de la población hospitalaria de Santiago. *Rev Med Chile* 116 (1), 28-33 .
- Harmening, D. (2005). *Modern blood banking and transfusion practices*. Philadelphia: Davis Company;.
- Hidalgo, S. C. (2015). *Deteccìon del sistema kell en donantes de sangre que acuden al hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana*. Quito
- Ley de sangre Nacional 22.990 : <http://www.aahi.org.ar/wp-content/uploads/2013/01/Ley22990.pdf> (página consultada en diciembre del 2017)
- Martínez, Z. d. (26 de FEBRERO de 2015).
<http://repositorio.unan.edu.ni/1037/1/61304.pd>. Obtenido de
<http://repositorio.unan.edu.ni/1037/1/61304.pdf>
- Prof. MsC. Marcela Vásquez Rojas, L. T. (2015). Frecuencia de antígenos del sistema sanguíneo Rh y del. *Revista Cubana de Hematol, Inmunol y Hemoter*, 160-171.
- Vásquez M, M. M. (2013.). Sistema sanguíneos eritrocitarios de importancia clínica. (pág. 110). Talca: Universidad de Talca.

GLOSARIO:

AGLUTINACION: es un agregado de células o partículas debido a una formación entrelazada. El fundamento de la aglutinación es una reacción inmunoquímica que produce la agregación de partículas o células recubiertas de antígeno o anticuerpo.

ALOANTICUERPO: es aquél anticuerpo que se produce como resultado de la exposición de un organismo a antígenos extraños, no reacciona con los antígenos presente en los hematíes del productor de los anticuerpos; por otro lado los aloanticuerpos irregulares son anticuerpos distintos de los anticuerpos naturales.

ANTICUERPO: Es una proteína producida por el sistema inmunitario del cuerpo cuando detecta sustancias dañinas, llamadas antígenos. Cada anticuerpo es único y defiende al organismo de un tipo específico de antígeno.

ANTIGENO: cualquier sustancia que provoca que el sistema inmunitario produzca anticuerpos contra sí mismo. Esto significa que su sistema inmunitario no reconoce la sustancia, y está tratando de combatirla.

AUTOANTICUERPO: son los anticuerpos producidos contra antígenos propios.

FENOTIPO: es la expresión observable de los genes heredados y refleja la actividad biológica de los genes.

GEN: serie de nucleótidos, portadores de la información genética que se encargan de transmitir la herencia a los descendientes.

GENOTIPO: es el conjunto de genes heredados de sus padres, provenientes de un determinado gen.

INMUNOGENO: cualquier sustancia extraña que puede desencadenar una respuesta inmunitaria (proceso activación, diferenciación y proliferación) en el huésped. Esta respuesta puede ser tanto celular como humoral. Los antígenos que pueden desencadenar una respuesta inmunitaria son antígenos inmunógenos.

TIPIFICACION: Es el método por el cual se determina el tipo específico de sangre. El tipo dependerá de la presencia o no de ciertas proteínas, llamadas antígenos, en los glóbulos rojos.

ANEXOS:

Anexo 1: Planilla de informe de resultados de microplaca.

REDIAR®

FELSAN S.R.L., Estomba 288, C1427COF, C.A.B.A., Argentina. Tel/Fax: 54 11 4554-7990 y rotativos • ventas@felsan.com.ar • www.felsan.com.ar

FELSAN PLANILLA DE RESULTADOS - MICROPLACA

Microplaca N°:

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

Operador:

	GRUPO	FENOTIPO Rh	Kell	D.A.I.	PRUEBA D débil
Células B					
Células A1					
Control Rh					
Anti K					
Anti e					
Anti c					
Anti E					
Anti C					
Anti D II					
Anti AB					
Anti B					
Anti A					

MANUAL DE INSTRUCCIONES

REDIAR® Microplate Anti-K.
Suero Hemoagrupador Monoclonal Humano IgM.
 Para uso diagnóstico in vitro.

INTRODUCCIÓN
 Deuda su descubrimiento en 1946 por Coombs, el antígeno K (K1 o Kell) y su par antígeno, k (K2 o Cellano), descubierto por Levine en 1949, el sistema Kell se ha expandido hasta alcanzar 22 fenotipos. AntiK (AntiK1) y AntiK (AntiK2) producen reacciones transfusionales severas y enfermedad hemolítica del recién nacido.
 Las frecuencias de los antígenos K y k varían según las poblaciones:

Raza Blanca		Raza negra	
K	9.0%	k	3.5%
k	90.9%	K	>96.5%

PRESENTACIÓN
 1 envase x 5 ml
 2 envases x 2 ml

USO AL CUAL ESTÁ DESTINADO
 REDIAR Microplate Anti-K está destinado a la detección del antígeno K en la superficie de los glóbulos rojos humanos por aglutinación directa mediante la técnica en microplaca. Este reactivo ha sido diseñado para ser utilizado por personal entrenado en técnicas serológicas en inmunohematología.

REACTIVO
 El componente principal de este reactivo se obtiene del cultivo in vitro de híbridomas humanos secretoras de anticuerpos IgM contra el antígeno K.

Nombre del producto	Línea(s) celular(es)
REDIAR Microplate Anti-K	MS-56

Este reactivo está formulado con anticuerpos monoclonales humanos tipo IgM en una solución buffer que contiene potenciaciones químicas, la formulación incluye además ácido de sodio 0.1% (w/v) y material bovino.
 Este producto se provee esterilizado por filtración a 0.22 µm.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO
 Este reactivo debe ser conservado entre 2-8°C. No debe utilizarse si se observa turbidez y no debe diluirse. No utilizar más allá de su fecha de vencimiento.

El almacenamiento del producto a temperaturas incorrectas, por ejemplo, almacenar a altas temperaturas o congelaciones y descongelaciones repetidas, pueden llevar a la pérdida sostenida de la actividad del reactivo.

PRECAUCIONES DE USO Y DESGASTE
 Los donantes humanos de las células empleadas para producir los híbridomas han sido ensayados y encontrados no reactivos para Anti-HIV, Anti-HCV, HDsAg, EBV y MAP. Ningún método conocido puede garantizar que todos los productos derivados de sangre humana estén libres de agentes infecciosos. Se debe tener cuidado en el uso y desecho del envase y su contenido.
 Este reactivo contiene 0.1% (w/v) de ácido sódico. La ácido sódico puede ser tóxico si se ingiere y puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar sales altamente explosivas. Si se descarta por el desajuste, enjuagar con grandes volúmenes de agua para prevenir la acumulación de ácidos en las cañerías.
 Este reactivo es para uso profesional in vitro solamente.
 Este reactivo contiene material bovino obtenido de fuentes aprobadas por la USDA libre de Encefalopatía Espongiforme Transmisible (TSEa).
 Este producto debe ser descartado por inmersión en desinfectantes (overnight) a una concentración adecuada o por autoclavado.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS
 No se requiere una preparación especial del paciente/donante antes de la recolección de la muestra de sangre. Las muestras deben ser obtenidas por una técnica aseptica, recogida en un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina o citrato), y conservada entre 2-8°C por un plazo no mayor a 7 días. Los mejores resultados se obtienen al procesar muestras frescas.
 Las muestras de sangre que presentan contaminación o hemólisis gruesa no deberían ser utilizadas. Las muestras obtenidas de unidades de donación de sangre podrán ser ensayadas hasta la fecha de vencimiento de dicha unidad. Muestras de neonatos obtenidas de cordón pueden ser utilizadas como fuente de glóbulos rojos para preparar las suspensiones.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO
INFORMACIÓN GENERAL
 Este reactivo ha sido estandarizado para el uso mediante las técnicas recomendadas descritas a continuación; por lo tanto, su desempeño en el uso mediante otras técnicas no puede ser garantizado. Se recomienda especialmente al usuario confirmar si este reactivo es adecuado antes de utilizarlo en técnicas alternativas.

Materiales y reactivos requeridos no provistos

- REDIAR LISS Preservante
- Microplacas REDIAR fondo en U
- Cobertor de microplacas autoadhesivo
- Agitador Orbital REDIAR
- Pipeta multicanal REDIAR
- Espejo amplificador

• Centrifuga REDIAR
 • Cronómetro

TÉCNICA RECOMENDADA

- Suspender los glóbulos rojos al 2% en REDIAR LISS Preservante.
- Agregar 20 µl de reactivo hemoagrupador en las microcubetas correspondientes.
- Agregar 20 µl de la suspensión de glóbulos rojos.
- Colocar el cobertor.
- Homogeneizar.
- Incubar a temperatura ambiente durante 15-20 minutos.
- Centrifugar (parámetro predeterminado).
- Agitar la microplaca en velocidad 2-3.
- Observar macroscópicamente la presencia/ausencia de aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
 Si se ha producido una aglutinación, la reacción es positiva y el antígeno correspondiente al reactivo utilizado está presente en la membrana de los hematíes analizados. Si no ha habido aglutinación, la reacción es negativa y el antígeno no está presente en estos hematíes.

LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES
 No es indispensable utilizar un reactivo control paralelo a los ensayos usando este reactivo. Se recomienda el uso de un reactivo control durante el agrupamiento de glóbulos rojos de pacientes/donantes que posean autoanticuerpos, glóbulos rojos que poseen una prueba antiglobulínica positiva, niveles anormales de proteínas y glóbulos rojos de cordón. Si se obtiene una reacción positiva con la muestra de glóbulos rojos de cordón y el reactivo control, se considerarán inválidos los ensayos de esa muestra. Esto puede indicar la necesidad de lavado de los glóbulos rojos antes de realizar la suspensión.
 La concentración celular utilizada en la técnica en microplaca es importante. Las suspensiones de baja concentración pueden resultar en la formación de una monocapa luego de la centrifugación y las suspensiones de alta concentración pueden enmascarar resultados débiles.
 Se debe tener cuidado cuando se resuspende el botón celular de la microcubeta. Una agitación excesiva puede disgregar las aglutinaciones débiles y producir resultados falso negativos.
 Es importante emplear la fuerza g y tiempo recomendados durante la centrifugación, ya que una excesiva centrifugación puede conducir a dificultades para resuspender el botón celular, mientras que una centrifugación insuficiente puede resultar en aglutinaciones que se disgregan con demasiada facilidad.
 La expresión de algunos antígenos eritrocitarios puede disminuir en intensidad durante el almacenamiento, especialmente en aquellas muestras coaguladas o anticoaguladas con EDTA. Los mejores resultados se obtienen cuando se ensayan muestras frescas.
 Pueden obtenerse resultados falso negativos o falso positivos debido a la contaminación de los materiales empleados en la prueba, temperatura incorrecta de incubación, almacenamiento inadecuado de los materiales, omisión del reactivo de prueba o cualquier desviación de la técnica recomendada.

SÍMBOLOS

- Establecimiento Elaborador
- Fecha de Vencimiento
- Número de Lote
- Consultar el Manual de Instrucciones
- Producto para diagnóstico de uso in vitro
- Almacenar entre 2°-8°C

BIBLIOGRAFÍA

1. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom. 5th Edition 2001. The Stationary Box.
2. Issitt, P.D. and Anstee D.J. Applied Blood Group Serology. 4th Edition, Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1998.
3. Coombs, R.R. A, Mourant, A, Race, R.R. Lancet, 1946: 264-266.
4. Levine, P. Backer, M. Wigod, M., Ponder, R.A. Science 1949. 109:464-466.

PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA. Certificado N°: 6249/DK.

ELABORADO POR: FELSAN S.R.L. Palpa 3811, (C1427EBG), C.A.B.A., Argentina.
 Director Técnico: Roque Luis Espinosa.
 Consultas Técnicas: 4554-7990/8557. Mail: laboratoriol@felsan.com.ar

Anexo 3: Ley de Sangre 22.990

CAPITULO XV

DE LOS DONANTES

ARTICULO 43. - La donación de sangre o sus componentes es un acto de disposición voluntaria, solidaria o altruista, mediante el cual una persona acepta su extracción para fines exclusivamente médicos no estando sujeta a remuneración o comercialización posterior, ni cobro alguno.

ARTICULO 44. - Podrá ser donante toda persona que, además de los requisitos de salud que establece la presente ley y su reglamentación, se encuadre en las siguientes condiciones:

a) Poseer una edad entre DIECISEIS (16) Y SESENTA Y CINCO (65) años.

b) Los menores de DIECIOCHO (18) años deberán contar con la autorización de sus padres o de sus representantes legales.

c) Las personas mayores de SESENTA Y CINCO (65) años solamente podrán donar cuando su médico de cabecera o habitual lo autorice por escrito dentro de los DOS (2) días previos al acto.

ARTICULO 45. - Cumplidas las exigencias relacionadas con la edad, el donante deberá someterse obligatoriamente a un examen, a saber:

a) Interrogatorio (anamnesis) con denuncia inexcusable de toda enfermedad o afección padecida o presente, la que tendrá carácter y alcance legal de declaración jurada.

b) Verificación del estado de salud normal mediante el examen clínico-biológico que permita descartar la existencia de alguna de las patologías del listado establecido por la vía reglamentaria, determinantes de su exclusión como tal.

ARTICULO 46. - El establecimiento donde se haya efectuado la extracción deberá informar al donante de todas aquellas enfermedades y/o anomalías que pudieran habersele detectado con motivo de su donación. Cuando las circunstancias del caso así lo determinen deberá ser orientado por un médico para su posterior atención y tratamiento.

ARTICULO 47. - Todo donante, por el acto de su donación, adquiere los siguientes derechos:

a) Recibir gratuitamente un refrigerio alimenticio compensatorio post-extracción.

b) Recibir el correspondiente certificado médico de haber efectuado el acto de donación.

c) Justificación de las inasistencias laborales por el plazo de VEINTICUATRO (24) horas incluido el día de la donación. Cuando ésta sea realizada para hemaféresis, la justificación abarcará TREINTA Y SEIS (36) horas.

En ninguna circunstancia se producirá pérdida o disminución de sueldos, salarios o premios por estos conceptos.

ARTICULO 48. - Es obligación de los donantes firmar la etiqueta impresa en los envases que se utilicen para recolectar la sangre que se les extraerá, y en la que previamente se registrarán sus datos personales.

ARTICULO 49. - La donación de sangre humana para hemaféresis se registrará por los requisitos y condiciones que se establecen para los donantes en general a través de los artículos precedentes, con el agregado de un examen obligatorio cada DOS (2) meses "electroforético proteínico e inmunoglobulínico" o cualquier otro que en un futuro por razones médicas pudiere establecerse.

ARTICULO 50. - Cuando ante situaciones de grave emergencia la autoridad de aplicación acredite en forma debidamente fundada que existe necesidad de sangre para destino transfusional de grupos raros o escasos o para la obtención de sus componentes, derivados y reactivos el Poder Ejecutivo Nacional podrá autorizar a que, con carácter excepcional para cada caso particular y por un período no mayor de TRES (3) días corridos, los dadores especiales de grupos raros puedan ser remunerados por ese período. Tales situaciones excepcionales se registrarán por las siguientes disposiciones:

a) La remuneración al dador se determinará con un precio uniforme para todo el territorio de la República Argentina, que establecerá el mismo decreto que autorice la remuneración.

b) Las extracciones sólo podrán ser efectuadas en establecimientos asistenciales estatales o privados sin fines de lucro.

c) Deberán ser inscriptos en el establecimiento habilitado que realice la extracción.

d) La relación entre dador y receptor será formalizada ante el establecimiento extractor, quedando prohibida la relación privada entre ambos.

e) Deberán satisfacer las exigencias establecidas para los donantes en general conforme a lo preceptuado en los artículos 44, 45 y 46 y aquellas otras que establezca la reglamentación.