ISSN 2618-1819

Revista Argentina de Transfusión

Vol. XLVI 2020 N° 4

Asociación Argentina de Hemoterapia, Inmunohematología y Terapia Celular

Lavalleja 1214 (C1414DTZ)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Argentina

+5411 4771-2501 (líneas rotativas)

aahitc@aahitc.org.ar

www.aahitc.org.ar



Regalemos amor

donemos sangre

Asociación Argentina
de Hemoterapia,
Inmunohematología
y Terapia Celular

La sangre es el líquido más valioso en el mundo

La hemorragia severa puede ocurrir intra o postoperatoria. Puede ser potencialmente mortal y requiere una acción inmediata.

Un diagnóstico diferencial rápido es la base de una terapia dirigida por objetivos.



ROTEM® *delta*
Tromboelastometría



ROTEM® *delta*
+
ROTEM® *platelet*
Tromboelastometría & Agregación plaquetaria por impedancia



ROTEM® *sigma*
Tromboelastometría automatizada



ROTEM® E-Learning

El enfoque contemporáneo a la educación permanente

La plataforma **ROTEM® E-learning** ofrece al usuario ROTEM® una amplia selección de medios de aprendizaje de alta calidad. Puede ser utilizada convenientemente durante todo el día, en casa o en el trabajo, en un ordenador personal, teléfono inteligente o tablet.

FELSAN ROTEM®

FELSAN S.R.L. Representante exclusivo de ROTEM®
Tel/Fax: 54 011 4554-7990, C.A.B.A., Argentina.
www.felsan.com.ar / ventas@felsan.com.ar

Manual Técnico 18ª Edición

Asociación Argentina de Hemoterapia, Inmunohematología y Terapia Celular

Avanzando en Transfusión y Terapias Celulares en todo el mundo

Sensibilidad máxima para una sangre más segura

Ofrecemos un portafolio completo para el tamizaje integral de enfermedades infecciosas en bancos de sangre y de plasma, incluyendo Serología, NAT y Automatización.



Los analizadores **cobas®** brindan robustez, confianza y sensibilidad máxima para un tamizaje seguro.

Los ensayos **Elecsys®** con Tecnología Electroquimioluminiscencia (ECL) aportan innovación y experiencia a nivel mundial para el tamizaje serológico.

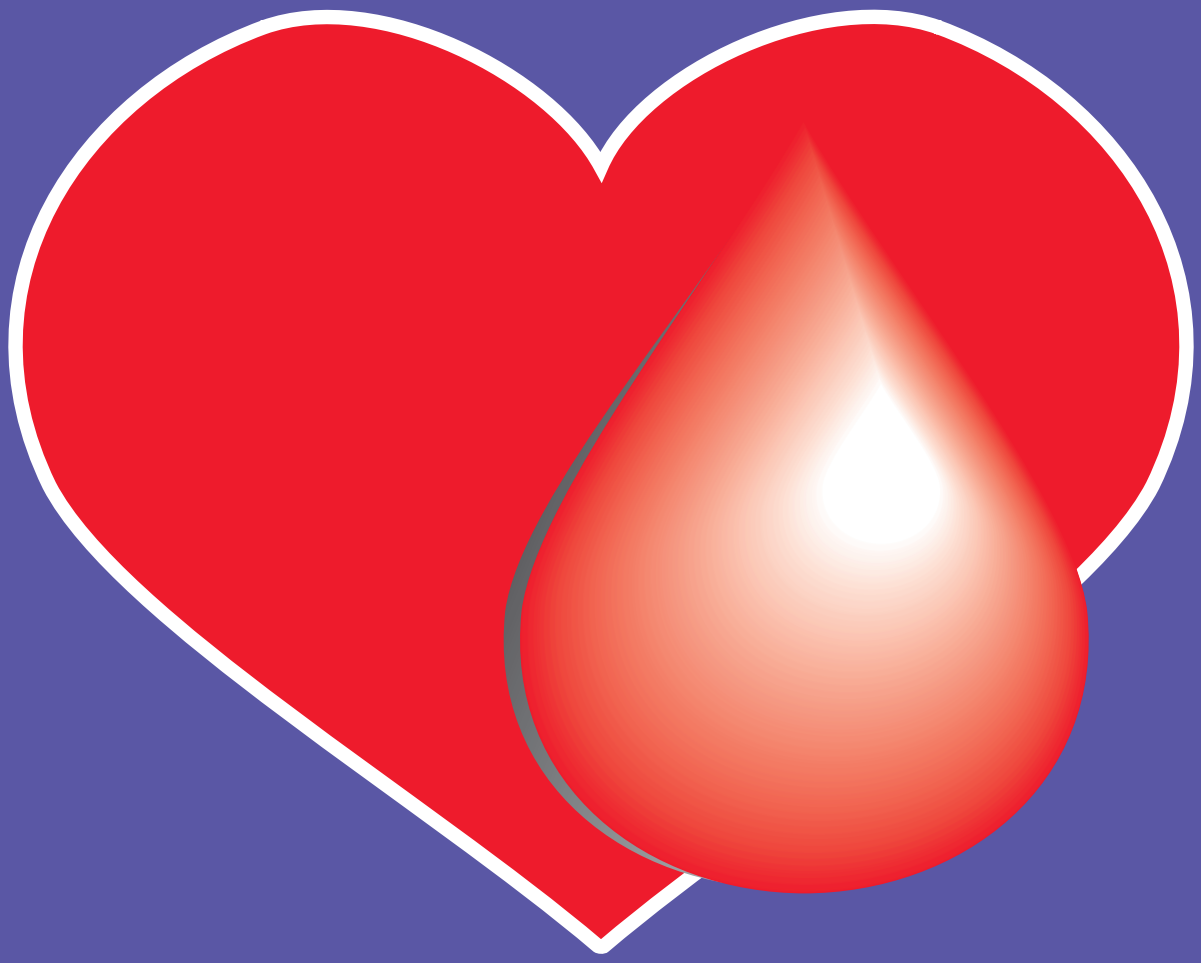
Somos **líderes** en tecnología de amplificación de ácidos nucleicos automatizada (NAT) y contamos con amplio respaldo y trayectoria.

Productos aprobados por A.N.M.A.T.
COBAS es una marca registrada de Roche.

Productos Roche S.A.Q. e I.
Rawson 3150, Ricardo Rojas,
Bs. As. Argentina

cobas®

argentina.diagnostics@roche.com
roche.com.ar
Linked in Roche Argentina



con el corazón podemos amar, podemos donar

salvá vidas, doná sangre

Asociación Argentina
de Hemoterapia,
Inmunohematología
y Terapia Celular

ISSN 2618-1819

Revista Argentina de Transfusión

Vol. XLVI 2020 N° 4

Asociación Argentina de Hemoterapia, Inmunohematología y Terapia Celular

Lavalleja 1214 (C1414DTZ)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Argentina

+5411 4771-2501 (líneas rotativas)

aahitc@aahitc.org.ar

www.aahitc.org.ar

Revista Argentina
de Transfusión

Sumario

275 Editorial
¿Será que los vientos de cambios que padecimos este año agitarán nuestras alas para llegar a un destino seguro?
Dr. Scordo, Walter

277 Estrategias para donación voluntaria de sangre.
GCIAMT. Programa Consulta al Experto.
Profesora invitada: Dra. Pesántez, Mónica

289 Fraccionamiento automatizado. Nuestra experiencia en el Centro Nacional de Servicios de Sangre de Asunción, (CENSSA), Paraguay.
GCIAMT. Programa Consulta al Experto.
Profesoras invitadas: Dra. Vargas de Salinas, Elsi; Th. Rodas, Rita.

301 Curso para la Formación de Médicos Especialistas en Hemoterapia e Inmunohematología 2018 – 2020.
¿Menos es más? Transfusión restrictiva *versus* liberal.
Dra. Goyanarte, Brenda

311 Curso para la Formación de Médicos Especialistas en Hemoterapia e Inmunohematología 2018 – 2020.
Trombocitopenia aloinmune feto-neonatal. Abordaje multidisciplinario.
Dra. Vitriu, Adriana Verónica

325 Artículo de Revisión
Síndrome de Linfocito Pasajero, revisión y presentación de caso clínico de reacción hemolítica severa post trasplante alogénico de médula ósea con incompatibilidad menor por ABO.
Rodríguez Pineda, Miguel Ángel; Zumbado Salas, Greivin

335 Una visión práctica de las variantes D.
GCIAMT. Programa Consulta al Experto.
Profesor invitado: Dr. Cotorruelo, Carlos Miguel

343 Experiencia en la obtención de plasma de convaleciente de pacientes recuperados de COVID-19.
Amerise, G.; Curra, D.; Blejer, J.; Rasgido, G.; Grassi Bassino, M.; Fucci, A.; D´Adamo, M.; Alter, A.; Skripnik Strelecki, A.; Rodríguez E.; Fernández, R.; Fernández, M.V.; Spotti, M.

351 Programa de Evaluación sobre la lectura de artículos.
Comité Científico de la AAHITC

355 Recomendaciones para el cumplimiento de pautas éticas en la presentación de trabajos en eventos científicos.
Dirección de Investigación para la Salud - Secretaría de Gobierno de Salud Ministerio de Salud y Desarrollo Social - Presidencia de la Nación

Contents

275 Editorial
Will the Winds of Change we Suffered this Year Flap our Wings to Reach a Safe Destination?
Dr. Scordo, Walter

277 Strategies for Voluntary Blood Donation.
GCIAMT. Consulting the Expert.
Dra. Pesántez, Mónica

289 Automated Fractionation. Our Experience at the National Blood Services Center of Asunción (CENSSA), Paraguay.
GCIAMT. Consulting the Expert.
Dra. Vargas de Salinas, Elsi; Th. Rodas, Rita.

301 Course for the Training of Specialist Physicians in Hemotherapy and Immunohematology 2018 – 2020.
Less is More? Restrictive versus Liberal Transfusion.
Dra. Goyanarte, Brenda

311 Course for the Training of Specialist Physicians in Hemotherapy and Immunohematology 2018 – 2020.
Feto-neonatal Alloimmune Thrombocytopenia. Multidisciplinary Approach.
Dra. Vitriu, Adriana Verónica

325 Reviews
Passenger Lymphocyte Syndrome, Review and Presentation of Clinical Case of Severe Hemolytic Reaction Post Allogeneic Bone Marrow Transplantation with Minor Incompatibility by ABO.
Rodríguez Pineda, Miguel Ángel; Zumbado Salas, Greivin

335 A Practical View of the D Variants.
GCIAMT. Consulting the Expert.
Dr. Cotorruelo, Carlos Miguel

343 Experience in Obtaining Plasma from Convalescent Patients Recovered from COVID-19.
Amerise, G.; Curra, D.; Blejer, J.; Rasgido, G.; Grassi Bassino, M.; Fucci, A.; D´Adamo, M.; Alter, A.; Skripnik Strelecki, A.; Rodríguez E.; Fernández, R.; Fernández, M.V.; Spotti, M.

351 Assessment Program Reading Articles about.
AAHITC Scientific Committee

355 Recommendations for Compliance with Ethical Guidelines in the Presentation of Papers in Scientific Events.
Directorate of Health Research - Government Health Secretariat Ministry of Health and Social Development - Presidency of the Nation

357 Reglamento de publicaciones.
Comité Científico de la AAHITC

363 Programa de Evaluación sobre la lectura de artículos. Grilla para el envío de respuestas.
Comité Científico de la AAHITC

357 Policy and Guidlines for Authors.
AAHITC Scientific Committee

363 Assessment Program reading articles about. Grid for your answers.
AAHITC Scientific Committee

AAHITC - Lavalleja 1214 (C1414DTZ)
Cdad. Aut. de Bs. As. - Argentina
Tel/Fax: (54-11)4771-2501 - L.Rot.
E-mail: aahitc@aahitc.org.ar

Staff

Secretario de Publicaciones: Dr. Walter Edgardo Scordo

Comité de Redacción: Lic. Martín Gagliano, Dr. Oscar W. Torres

Corresponsales Nacionales: Salvador S. Minoldo *(Prov. de Córdoba)*, Juan C. Balbi *(Prov. de Corrientes)*, Nancy Dahne *(Prov. de Chaco)*, Guillermo Oscar Manera *(Prov. de Chubut)*, Pedro Negri Aranguren *(Prov. de Entre Ríos)*, Ida Severich *(Prov. de Jujuy)*, Nicolás Marquesoni *(Prov. de La Pampa)*, Ana María Pozzi *(La Plata, Prov. de Bs. As.)*, Richard Malán *(Prov. de Misiones)*, Betina Saracino *(Prov. de Salta)*, María del Rosario Roca, Antonio Archilla y Alfredo Laplagne *(Prov. de San Juan)*, Néstor Bouzón *(Prov. de Santiago del Estero)*.

Corresponsales Extranjeros: Anna Bárbara Proietti *(Brasil)*, Cristina Martínez *(Chile)*, Armando Cortés *(Colombia)*, César Cerdas-Quesada *(Costa Rica)*, María Dolores Nieto Gallegos *(Ecuador)*, Eduardo Muñiz y Roberto Roig Oltra *(España)*, Alexander Indrikov *(Estados Unidos)*, Claudio Velati *(Italia)*, Juan-Claude Faber *(Luxemburgo)*, Andrés Bico Uribe *(Uruguay)*, Graciela León de González *(Venezuela)*.

Publicación científica de la Asociación Argentina
de Hemoterapia, Inmunohematología y
Terapia Celular

Lavalleja 1214 (C1414DTZ) - Ciudad Autónoma de Buenos Aires
+5411-47712501 (Líneas rotativas). www.aahitc.org.ar

ISSN 2618 - 1819

Indexada en LILACS - Bireme

La Revista Argentina de Transfusión es de acceso libre:
http://www.aahitc.org.ar/revista-argentina-de-transfusion/

Asociación Argentina de Hemoterapia, Inmunohematología y Terapia Celular

**ASOCIACIÓN CON EL
SISTEMA DE CALIDAD
CERTIFICADO POR DNV GL
= ISO 9001 =**

Personería Jurídica IGPJ N° 256 - Miembro Institucional de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB). Miembro Institucional de la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT).
Miembro Institucional del Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional - GCIAMT.

Comisión Directiva: *Presidente:* Dr. Oscar Walter Torres - *Vicepresidente:* Dra Gabriela Imelda Dabusti - *Secretaria General:* Dra. Alejandra Adriana Loggio - *Tesorero:* Dr. Oscar Alberto López - *Secretaria de Docencia e Investigación:* Dra. Claudia Bastos - *Secretario de Publicaciones:* Dr. Walter Edgardo Scordo - *Secretaria de Asuntos Profesionales:* Dra. Nancy Dahne - *Secretario de Actas Provisorio:* Dr. Oscar Alberto López - *Vocal Titular:* Dra. Graciela Marta Osatnik - *Vocal Titular:* Dr. Silvio Rosell - *Vocal Suplente 1º:* Dr. Alfredo Laplagne - *Vocal Suplente 2º:* Dra. Susana Gastaldo.

Órgano de Fiscalización:
Revisor de Cuentas Titular: Dr. Daniel Fernández.
Revisor de Cuentas Suplente: Dra. Gabriela Nocetti.
Revisor de Cuentas Suplente: Dra. Patricia Epstein.

Coordinador del Comité de Calidad y Responsable del Sistema de Gestión de Calidad de la AAHITC:
Prof. Bioq. Especialista, José Magariños.

Asesoría Jurídica: Dr. Luis Milei.

Revista Argentina
de Transfusión

Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional
Programa Consulta al Experto
Una visión práctica de las variantes D

Coordinadora: Dra. León de González, Graciela
Profesor invitado: Dr. Cotorruelo, Carlos Miguel*

Resumen

El sistema Rh es el grupo sanguíneo más complejo y polimórfico de la membrana del glóbulo rojo. Las proteínas Rh (RhD y RhCE) expresan numerosos antígenos, siendo las determinantes D, C/c, E/e los epitopes de mayor inmunogenicidad. El sistema Rh presenta gran interés clínico en Medicina Transfusional y Obstetricia debido a la participación de sus anticuerpos en los procesos de destrucción inmune de los eritrocitos. Los antígenos Rh desempeñan un papel central en las reacciones hemolíticas transfusionales, en la inmunización de pacientes politransfundidos y en la patogénesis de la Enfermedad Hemolítica Fetoneonatal. Este grupo sanguíneo eritrocitario está formado por 55 antígenos identificados por métodos serológicos y más de 400 alelos definidos por biología molecular.[1,2]

El antígeno D es el más inmunogénico de todos los antígenos del Sistema Rh, seguido por c y E.

Posteriormente, con el advenimiento de la ingeniería genética y el desarrollo de anticuerpos monoclonales fue posible una mejor caracterización de los epitopes D. Se han descripto modelos que proponen la presencia de 9 epitopes, 30 epitopes y 37 epitopes en el antígeno D.

La determinación del antígeno D se realiza rutinariamente utilizando anticuerpos monoclonales. Las formulaciones comerciales consisten en reactivos compuestos por anticuerpos dirigidos contra un único epitope D o mezclas de anticuerpos con especificidades hacia diferentes epitopes D. Estos anticuerpos pueden ser IgM o IgG y se deberán utilizar según las especificaciones del fabricante

Las variantes D comprenden un conjunto de expresiones heterogéneas y aberrantes del antígeno D que pueden clasificarse como D débil y D parcial. Además, dentro de las variantes D se encuentra el fenotipo DEL.

Palabras clave: Sistema Rh - Variantes del antígeno D - Medicina transfusional.

Summary

The Rh system is the most complex and polymorphic blood group in the red blood cell membrane. Rh proteins (RhD and RhCE) express numerous antigens, being the determinants D, C / c, E / e the epitopes with the highest immunogenicity. The Rh system is of great clinical interest in Transfusion Medicine and Obstetrics due to the participation of its antibodies in the processes of immune destruction of erythrocytes. Rh antigens play a central role in transfusion hemolytic reactions, in the immunization of polytransfused patients, and in the pathogenesis of Fetoneonatal Hemolytic Disease. This erythrocyte blood group is made up of 55 antigens identified by serological methods and more than 400 alleles defined by molecular biology.[1,2]

The D antigen is the most immunogenic of all the Rh system antigens, followed by c and E.

Later, with the advent of genetic engineering and the development of monoclonal antibodies, a better characterization of D epitopes was possible. Models have been described that propose the presence of 9 epitopes, 30 epitopes and 37 epitopes in the D antigen.

Determination of D antigen is routinely performed using monoclonal antibodies. Commercial formulations consist of reagents composed of antibodies directed against a single D epitope or mixtures of antibodies with specificities towards different D epitopes. These antibodies can be IgM or IgG and should be used according to the manufacturer's specifications.

The D variants comprise a set of heterogeneous and aberrant expressions of the D antigen that can be classified as weak D and partial D. In addition, within the D variants is the DEL phenotype.

*Bioquímico egresado de la Universidad Nacional de Rosario, especialista en Inmunohematología y Doctor en Ciencias Biológicas. Profesor Asociado de la Cátedra de Inmunología de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario (Argentina) y Director del Laboratorio de Inmunohematología y Biología Molecular de los Grupos Sanguíneos que presta servicios al Hospital Provincial del Centenario. ccotorru@fbioyf.unr.edu.ar
Publicado por el Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional (GCIAMT), año 2020. www.gciamt.or

Keywords: Rh - System Variants of D Antigen - Transfusion Medicine.

El Sistema Rh: de los genes a las proteínas

El sistema Rh es el grupo sanguíneo más complejo y polimórfico de la membrana del glóbulo rojo. Las proteínas Rh (RhD y RhCE) expresan numerosos antígenos, siendo las determinantes D, C/c, E/e los epitopes de mayor inmunogenicidad. El sistema Rh presenta gran interés clínico en Medicina Transfusional y Obstetricia debido a la participación de sus anticuerpos en los procesos de destrucción inmune de los eritrocitos. Los antígenos Rh desempeñan un papel central en las reacciones hemolíticas transfusionales, en la inmunización de pacientes politransfundidos y en la patogénesis de la Enfermedad Hemolítica Fetoneonatal. Este grupo sanguíneo eritrocitario está formado por 55 antígenos identificados por métodos serológicos y más de 400 alelos definidos por biología molecular.[1,2]

Las proteínas RhD y RhCE están codificadas por los genes *RHD* y *RHCE* respectivamente. Estos genes, dispuestos en tándem y enfrentados por sus extremos 3', poseen un 92% de homología y segregan como haplotipos con frecuencias características en los distintos grupos étnicos. Las proteínas Rh están compuestas por una única cadena polipeptídica de 417 residuos de aminoácidos y atraviesan la membrana eritrocitaria 12 veces formando 6 dominios extracelulares. La proteína RhD expresa el antígeno D mientras que la proteína RhCE porta los antígenos C ó c en el segundo dominio extracelular y los antígenos E ó e en el cuarto dominio extracelular. Existen, por lo tanto, cuatro variantes de la proteína RhCE en glóbulos rojos normales: RhCe, RhCE, RhcE y Rhce.[3,4]

El gen *RHD* posee un alelo responsable del fenotipo D positivo (alelo *RHD* convencional) y numerosas variantes alélicas que dan origen a los fenotipos D parcial, D débil y DEL - denominados en conjunto fenotipos D variante - y a proteínas RhD que no expresan epitopes D o no se ensamblan en la membrana eritrocitaria.[5,6] **Figura 1**.

Los individuos D positivos poseen uno o dos genes *RHD* por célula, mientras que, en las personas de origen caucásico, el fenotipo D negativo resulta, principalmente, de la ausencia de este gen. El gen *RHD* está flanqueado por cajas Rhesus, secuencias de ADN altamente homólogas cuyo análisis es útil para investigar la cigosidad *RHD*.[7] **Figura 2**.

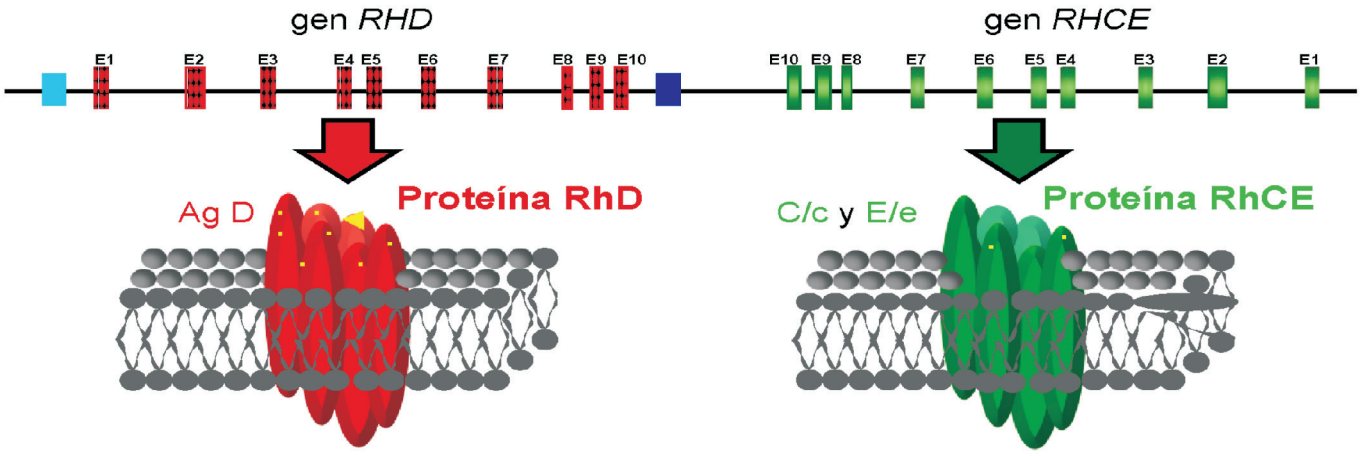


Figura 1. Organización genética del locus RH y producto de sus genes.

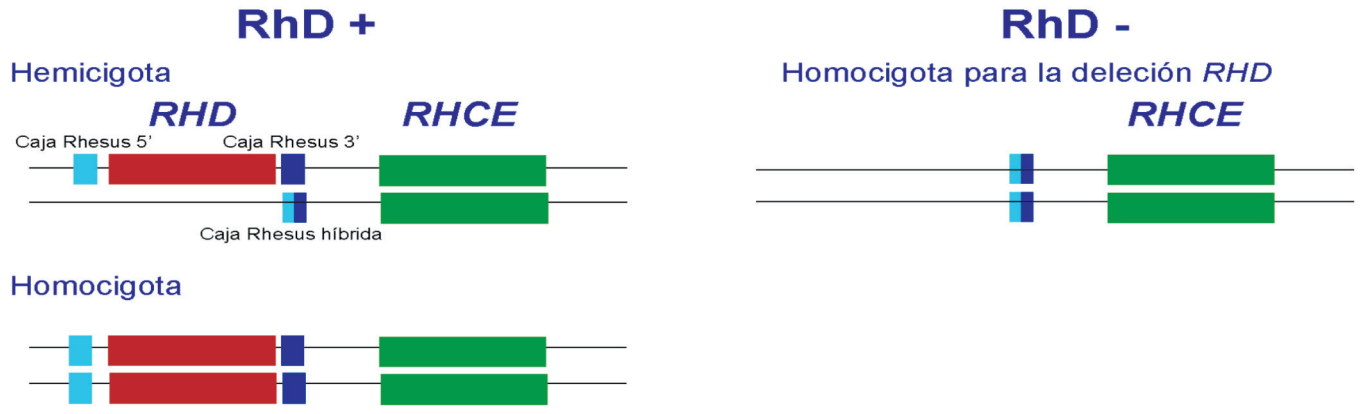


Figura 2. El locus RH en individuos D+ y D-.

El antígeno D

El antígeno D es el más inmunogénico de todos los antígenos del Sistema Rh, seguido por c y E. Está compuesto por un mosaico de epitopes (epD) expresados en los dominios extracelulares de la proteína RhD que fueron originalmente definidos con anticuerpos producidos por individuos D positivos que habían desarrollado anti-D. Posteriormente, con el advenimiento de la ingeniería genética y el desarrollo de anticuerpos monoclonales fue posible una mejor caracterización de los epitopes D. Se han descripto modelos que proponen la presencia de 9 epitopes, 30 epitopes y 37 epitopes en el antígeno D. Si bien, el número exacto de epitopes D no está totalmente definido, se ha demostrado que los mismos no son una simple secuencia lineal de aminoácidos, sino que representan estructuras conformacionales, generadas por la interacción de aminoácidos localizados en diferentes regiones de los dominios extracelulares cuando la proteína RhD adquiere la estructura espacial terciaria correcta.[8-12] **Figura 3**.

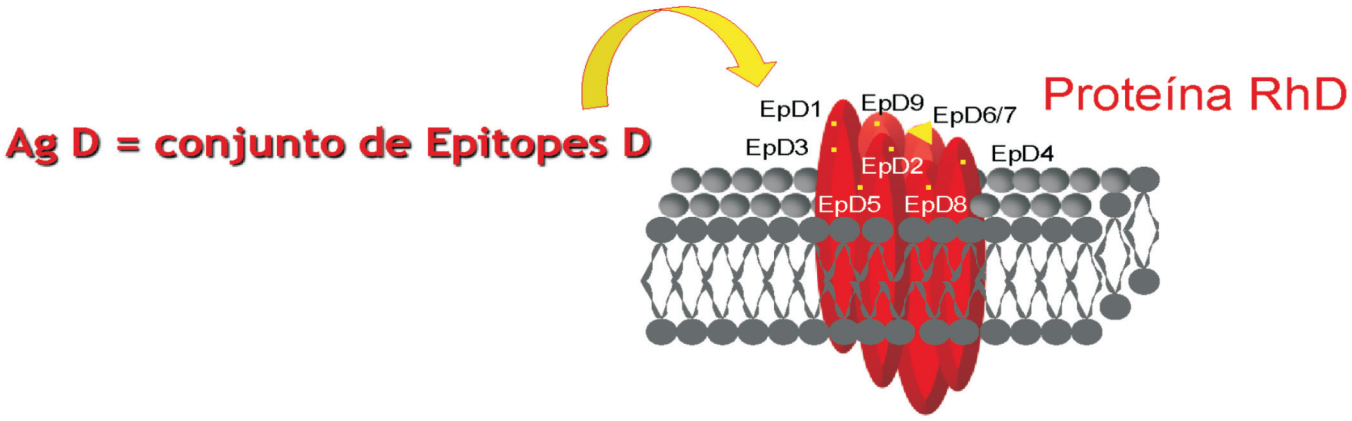


Figura 3. Epitopes D.

Variantes D

La determinación del antígeno D se realiza rutinariamente utilizando anticuerpos monoclonales. Las formulaciones comerciales consisten en reactivos compuestos por anticuerpos dirigidos contra un único epitope D o mezclas de anticuerpos con especificidades hacia diferentes epitopes D. Estos anticuerpos pueden ser IgM o IgG y se deberán utilizar según las especificaciones del fabricante. Cabe destacar que algunos reactivos anti-D están elaborados con anticuerpos policlonales de origen humano [2,13].

La tipificación de rutina permite clasificar a los individuos como **D positivos** (aglutinados de 4+ o 3+) y **D negativos** (ausencia de aglutinación). Cuando la reactividad de la muestra no es la esperada, ya sea porque la reacción de intensidad es inferior a lo habitualmente observado para el fenotipo D positivo (aglutinados ≤ 2+) o bien por una discordancia entre la reactividad de dos anticuerpos diferentes, los glóbulos rojos poseen un fenotipo **D variante** o, lo que es lo mismo, una **variante D**. También son portadores de un fenotipo **D variante** los individuos en cuyos eritrocitos se detecta el antígeno D en fase antiglobulina, es decir a través de la Prueba de Coombs Indirecta y aquellas personas que siendo D positivas desarrollan un aloanticuerpo anti-D luego de un evento inmunizante.[1,2,14] **Figura 4**.

Las variantes D comprenden un conjunto de expresiones heterogéneas y aberrantes del antígeno D que pueden clasificarse como D débil y D parcial. Además, dentro de las variantes D se encuentra el fenotipo DEL.



Figura 4. Posibles fenotipos D obtenidos en la tipificación de rutina.

Los glóbulos rojos portadores de un fenotipo **D débil** poseen un menor número de sitios antigénicos que los eritrocitos D positivos (variación cuantitativa del antígeno D). Históricamente, se clasificaba como D débil a aquellos glóbulos rojos en los que la expresión del antígeno D era detectada por la Prueba de Coombs Indirecta. Actualmente, esta clasificación depende, en cierto modo, de la avidez de los reactivos que se utilizan para la asignación del fenotipo D. Generalmente, los glóbulos rojos con fenotipo D débil presentan una reacción de aglutinación débil o negativa con anticuerpos anti-D monoclonales en medio salino que se potencia en fase antiglobulina utilizando reactivos anti-D de clase IgG. **Tabla I**.

Tabla I. Epitopes expresados por diferentes fenotipos D parciales.

EpD	II	III	IVa	IVb	Va	DBT	VI	VII	DFR	DBT
EpD1	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
EpD2	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
EpD3	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-
EpD4	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-
EpD5	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
EpD6/7	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
EpD8	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
EpD9	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-

Los glóbulos rojos con fenotipo **D parcial** se caracterizan por la ausencia de uno o más epitopes del antígeno D (variación cualitativa y, en ocasiones, cuantitativa del antígeno D). Los individuos con este fenotipo son capaces de producir aloanticuerpos anti-D contra los epitopes ausentes tras una inmunización con hematíes D positivos. El fenotipo D parcial fue inicialmente clasificado en categorías en función de la presencia o ausencia de 9 epitopes en la proteína RhD. Así, se caracterizaron los fenotipos D parcial categoría DII hasta DVII con subdivisiones en algunos de ellos basadas en diferencias serológicas muy sutiles. Posteriormente, surgieron nuevos fenotipos D parciales que han sido denominados con diferentes siglas como DBT, DFR, DMH, DHAR, etc.[1,2,14]

El fenotipo D parcial puede reaccionar de forma débil con los anticuerpos anti-D pero también puede mostrar una reactividad equivalente a la de un fenotipo D normal (por ejemplo, el fenotipo DIII o la variante DBT) e, incluso, puede observarse una sobreexpresión del antígeno D o "D de expresión aumentada" (por ejemplo, el fenotipo DIVa). El fenotipo DVI es el más frecuente de todas las variantes D parciales reportadas. Los glóbulos rojos DVI carecen de la mayoría de los epitopes D, entre ellos el epD6/7, el cual se caracteriza por ser altamente inmunogénico. El fenotipo DVI presenta gran importancia clínica, ya que los individuos portadores de esta variante se inmunizan fácilmente tras el contacto con hematíes D positivos. Los aloanti-cuerpos producidos por individuos DVI están implicados en reacciones hemolíticas transfusionales y pueden provocar una Enfermedad Hemolítica Fetoneonatal grave e, incluso, muerte neonatal. La identificación de este fenotipo en receptores es importante porque deben recibir sangre D negativa para evitar la formación de aloanticuerpos anti-D. Por esta misma razón, las mujeres embarazadas con fenotipo DVI deben recibir la profilaxis con gammaglobulina anti-D. Por tal motivo, las formulaciones de reactivos para la tipificación de rutina incluyen anticuerpos anti-D obtenidos de clones que no detectan la variante DVI (reactivos aptos para la tipificación de pacientes y embarazadas) y anticuerpos anti-D obtenidos de clones que si reaccionan con esta variante (reactivos aptos para el estudio de donantes). De esta manera se pretende que los pacientes y las gestantes portadores de esta variante sean catalogados como D negativos mientras que los donantes sean tipificados como D positivos.[2]

Los individuos portadores de un **fenotipo DEL** expresan una cantidad mínima de antígeno D en la membrana del glóbulo rojo que no es suficiente para ser detectada mediante los métodos serológicos convencionales utilizados en la tipificación de rutina. Sólo una pequeña cantidad de anti-D puede ser recuperada de hematíes DEL utilizando pruebas especializadas de adsorción-elución. Debido a la dificultad para identificar estos fenotipos mediante las técnicas serológicas, la mayoría de los donantes portadores de variantes DEL son tipificados erróneamente como D negativos, con el riesgo potencial de inducir una aloinmunización en receptores D negativos. El fenotipo DEL está fuertemente asociado a la expresión concomitante del antígeno C o E, es decir suele detectarse, generalmente, en individuos tipificados por los métodos de rutina como r'r o r''r.[1,2]

La dicotomía D débil / D parcial tiene, en realidad, límites confusos y depende principalmente de la sensibilidad y avidez de los reactivos utilizados para intentar establecer diferencias entre ambas variantes. Debido a la dificultad que presenta la discriminación serológica de estos fenotipos, se los agrupa bajo la denominación "variantes D" o fenotipo "D variante", permitiendo así una visión unitaria de los mismos.

Por lo expuesto anteriormente, es oportuno recordar que la tipificación de rutina del antígeno D presenta ciertas limitaciones:[13] **Figura 5**.



Figura 5. Limitaciones de la tipificación D de rutina.

Interpretación del fenotipo D variante

La interpretación clínica del fenotipo D variante es diferente según sea un receptor, una embarazada o un donante de sangre la persona que está siendo estudiada.

Pacientes y embarazadas: cuando la reactividad de las muestras no es la esperada, ya sea porque las reacciones son de una intensidad inferior a lo habitual (≤ 2+) o bien por una discordancia entre la reactividad de distintos anticuerpos o porque el antígeno D ha sido detectado en fase antiglobulina, es aconsejable adoptar la solución más favorable para el paciente o la gestante, es decir catalogarlos como D negativos. Esta actitud permitirá que se realice la transfusión con hematíes D negativos y que se administre la dosis profiláctica de gammaglobulina anti-D, respectivamente. De esta manera se protege al paciente de una posible aloinmunización al no poder descartar un fenotipo D parcial.[15,16,17]

Donantes: en la tipificación de donantes, el fenotipo D variante debe ser catalogado como D positivo ya que existe la posibilidad de que esa expresión disminuida del antígeno D sea suficiente para desencadenar un evento de aloinmunización en pacientes D negativos.[2,16]

Bases moleculares del fenotipo D variante

Como se mencionó anteriormente, el gen *RHD* es muy polimórfico y posee más de 400 alelos descriptos por biología molecular.[18] Estos alelos surgen por diferentes mecanismos moleculares, entre ellos:

- ⇨ Sustituciones, deleciones o inserciones de uno o varios nucleótidos.
- ⇨ Duplicaciones de varios nucleótidos o exones.
- ⇨ Conversión génica: transferencia de segmentos de ADN entre genes homólogos.

Algunos alelos originan proteínas RhD "alteradas", es decir diferentes a la proteína RhD convencional, que expresan en forma débil el antígeno D. Por otro lado, muchas variantes *RHD* son responsables de un fenotipo D negativo (alelos nulos) porque la proteína originada pierde los epitopes D, o es trunca y no se integra en la membrana del glóbulo rojo. También, ciertas variantes alélicas son responsables de un fenotipo DEL mientras que otras, si bien generan un fenotipo D positivo en la tipificación de rutina son, en realidad alelos D parciales.[19-21]

Según la mutación que porta el alelo y el efecto fenotípico al que conduce se han descripto alelos D débiles, alelos D parciales, alelos DEL y alelos nulos. **Figura 6**.

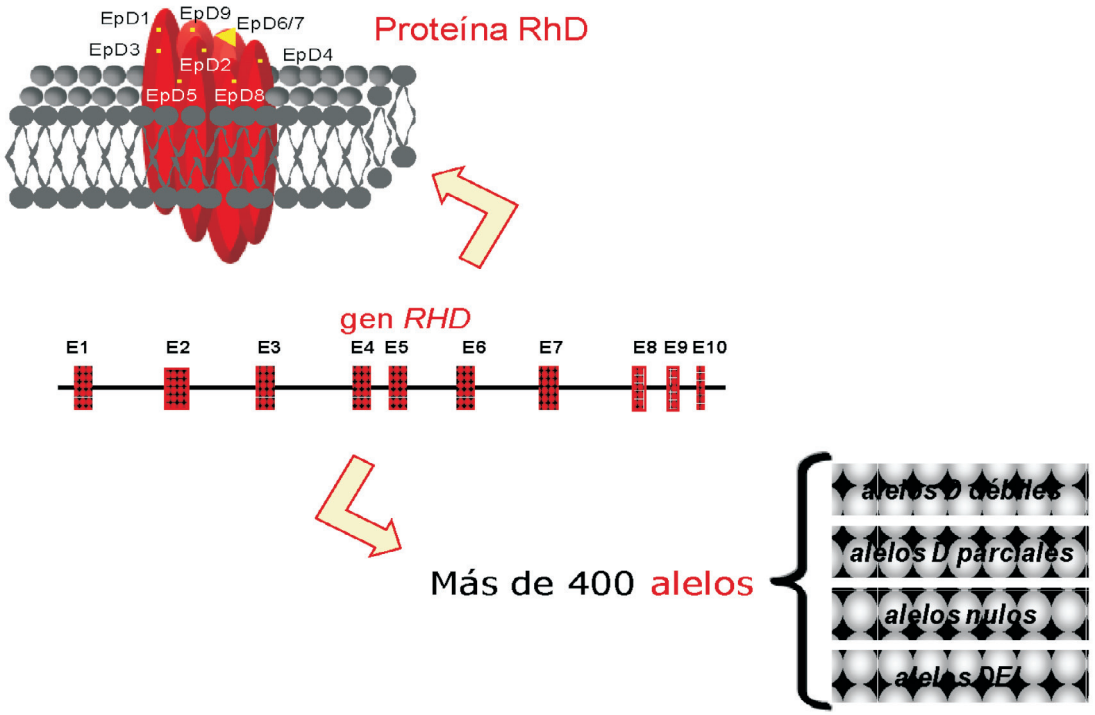


Figura 6. Polimorfismo del gen RHD.

En la **Tabla II** se muestran algunos de los más de 400 alelos *RHD*.

Tabla II. Algunos alelos RHD.

DII	*DHMi*	***weak D type 1***	*weak D type 14*	*RHD*DEL1*
DIII	*DHMii*	***weak D type 2***	*weak D type 15*	*RHD*DEL2*
DIV	*DHO*	***weak D type 3***	*weak D type 16*	*RHD*DEL3*
DV	*DHQ*	***weak D type 4.0***	*weak D type 17*	*RHD*DEL4*
DVI	*DHR*	***weak D type 4.1***	*weak D type 18*	*RHD*DEL5*
DVII	*DUR*	*weak D type 4.2*	*weak D type 19*	*RHD*DEL6*
DAR	*DMI*	*weak D type 5*	*weak D type 20*	*RHD*DEL7*
DAR-E	*DNAK*	*weak D type 6*	*weak D type 21*	*RHD*DEL8*
DAU	*DMH*	*weak D type 7*	*weak D type 22*	*RHD*DEL9*
DBS	*DNB*	*weak D type 8*	*weak D type 23*	*RHD*DEL10*
DCS	*DNS*	*weak D type 9*	*weak D type 24*	*RHD*DEL11*
DBU	*DNT*	*weak D type 10*	*weak D type 25*	*RHD*DEL12*
DB	*DNU*	*weak D type 11*	*weak D type 26*	*RHD*DEL13*
DFR	*DOL*	*weak D type 12*	*weak D type 27*	*RHD*DEL14*
DHAR	*DTO*	*weak D type 13*	*weak D type 28*	*RHD*DEL15*

AAHITC - Lavalleja 1214 (C1414DTZ)
Cdad. Aut. de Bs. As. - Argentina
Tel/Fax: (54-11)4771-2501 - L.Rot.
E-mail: aahitc@aahitc.org.ar

Vol. XLVI / Nº 4 / 2020
Págs. 335 / 342

Coordinadora: Dra. León de González, Graciela
Profesor invitado: Dr. Cotorruelo, Carlos Miguel

Se han descripto numerosos alelos responsables de una expresión débil del antígeno D, sin embargo, las variantes D débil tipo 1, D débil tipo 2, D débil tipo 3 y D débil tipo 4 representan los alelos más frecuentemente encontrados en muestras D variantes de poblaciones caucásicas, superando, en algunos casos, el 90%.

Genotipificación del fenotipo D variante

Una de las aplicaciones más relevantes de la genotipificación *RHD* es la detección del alelo responsable del fenotipo D variante. En este punto cabe preguntarse cuál es el sentido de dicha detección, es decir, qué utilidad tiene determinar si un fenotipo D variante es causado por un alelo *D débil tipo 1*, *D débil tipo 59*, *DIV*, *DFR*, etc. La respuesta a esta pregunta surge de las evidencias clínicas disponibles:

Está documentado en la literatura que los individuos con fenotipo D variante portadores de los alelos D débil tipo 1, D débil tipo 2, D débil tipo 3, D débil tipo 4.0 y D débil tipo 4.1 no son susceptibles de desarrollar una aloinmunización hacia el antígeno D luego del desafío con eritrocitos D positivos.[22-27]

Hasta el presente, no hay suficientes evidencias clínicas con respecto a otros alelos RHD.

Ergo, la genotipificación del fenotipo D variante permite definir la conducta transfusional y obstétrica. Los receptores de sangre y las gestantes portadores de un fenotipo D variante originado por un alelo *D débil tipo 1, D débil tipo 2, D débil tipo 3, D débil tipo 4.0 ó D débil tipo 4.1* pueden ser catalogados como D positivos. Por lo tanto, pueden ser transfundidos con unidades D positivas y no requieren la administración de la profilaxis anti-D. La confirmación del carácter D positivo posibilitará aliviar el *stock*, habitualmente mermado, de unidades D negativas, y en el caso de las pacientes embarazadas permitirá ahorrar la administración innecesaria de gammaglobulina anti-D. En aquellos pacientes en los cuales el fenotipo D variante es causado por otro alelo *RHD* distinto a los mencionados anteriormente, la conducta recomendada es considerarlos D negativos. Cabe destacar que en el caso de pacientes portadores del alelo *D débil tipo 4.0*, frecuentemente de descendencia africana, algunas consideraciones deben ser tenidas en cuenta y, en ocasiones, se recomienda la transfusión con unidades D negativas y la administración de la inmunoprofilaxis.[23,26]

Como se mencionó anteriormente, los alelos *RHD* están originados por cambios de nucleótidos conocidos, por lo tanto, es posible identificarlos por métodos de Biología Molecular. La complejidad genética del Sistema Rh y el elevado número de variantes alélicas descriptas suponen un verdadero desafío para la genotipificación *RHD*. Con respecto a la caracterización molecular del fenotipo D variante, una estrategia relativamente rápida y no muy costosa consiste en analizar solo la presencia de los alelos *D débil tipo 1, D débil tipo 2, D débil tipo 3* y *D débil tipo 4.* Este abordaje, además de cubrir aproximadamente el 90% de los alelos responsables de las variantes D, permite identificar aquellas de mayor importancia clínica. En caso de detectar un alelo *D débil tipo 4* cabría la posibilidad de continuar con el estudio para definir si se trata del subtipo *D débil 4.0* o *D débil 4.1*. Es decir que, con una estrategia relativamente sencilla se puede avanzar en la toma de decisiones médicas importantes.[28,29]

En la **Figura 7** se muestra un protocolo de tipificación del antígeno D con su interpretación clínica.

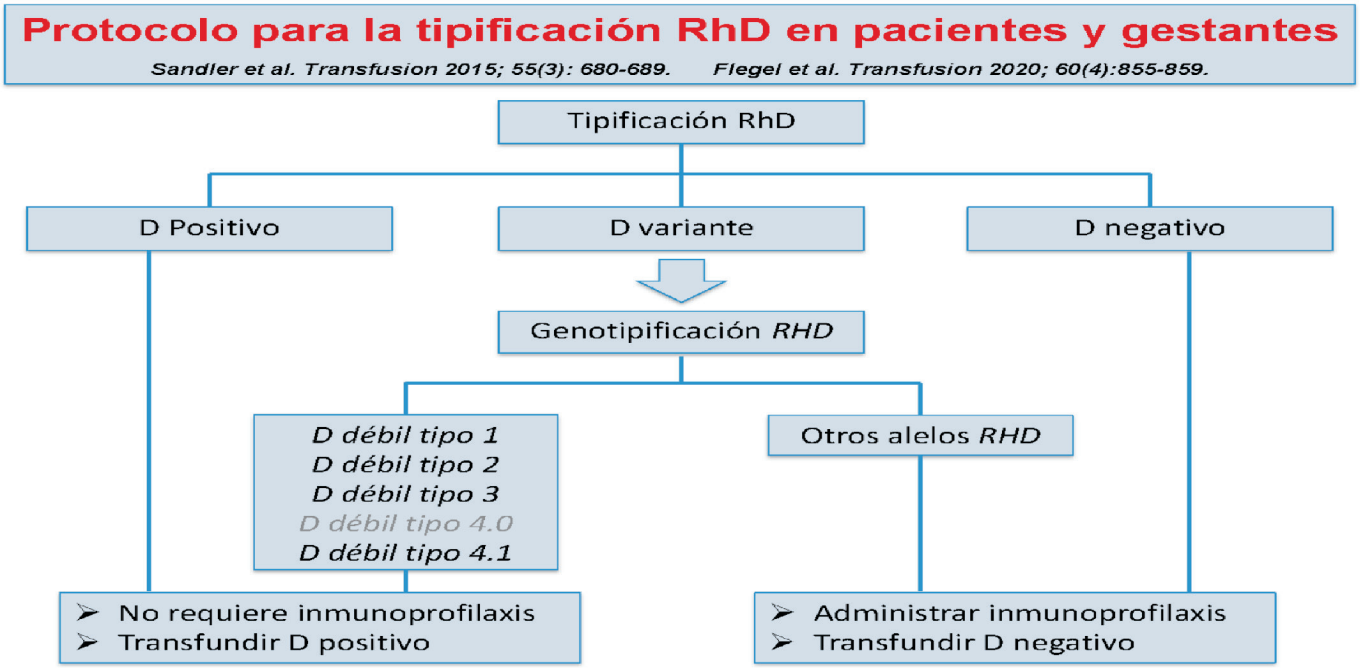


Figura 7.

Conclusiones

Desde el punto de vista serológico, la visión unitaria del D débil y D parcial bajo el fenotipo D variante ayuda a decidir la conducta transfusional y obstétrica en los pacientes portadores de dicho fenotipo. Si la aglutinación obtenida no se corresponde con la que habitualmente presentan las muestras D positivas, se recomienda considerarla como D negativa para proteger al paciente de una posible aloinmunización.

La Biología Molecular permite identificar el alelo responsable del fenotipo D variante y obrar en consecuencia según la evidencia clínica disponible para cada alelo. Teniendo en cuenta que aproximadamente el 90% de las variantes D pueden ser consideradas como fenotipo D positivo, el impacto de la genotipificación del fenotipo D variante es contundente.

Declaración de conflicto de intereses

El autor ha declarado que no existe ningún conficto de intereses.

Referencias

1. Daniels GL. Human blood groups. 3rd ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2013.
2. Muñiz-Díaz E, Cotorruelo C, Nogués N. Capítulo 5: Sistema Rh. Inmunohematología básica y aplicada. Primera edición. GCIAMT; 2014.
3. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. Blood 2000; 95(2):375-387.
4. Huang C, Ye M. The Rh protein family: gene evolution, membrane biology, and disease association. Cell Mol Life Sci 2010; 67:1203-1218.
5. Flegel W. Molecular genetics and clinical applications for RH. Transfus Apher Sci 2014; 44:81-91.
6. Westhoff CM. The Rh blood group system in review: a new face for the next decade. Transfusion 2004; 44(11):1663-1673.
7. Wagner FF, Flegel WA. RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. Blood 2000; 95(12):3662-3668.
8. Lomas C, Tippett P, Thompson K, Melamed M, Hughes-Jones N. Demonstration of seven epitopes on the Rh antigen D using human monoclonal anti-D antibodies and red cells from D category. Vox Sang 1989; 57:261-264.
9. Tippett P, Lomas C, Wallace M. The Rh antigen D: partial D antigen and associated low incidence antigens. Vox Sang 1996; 70:123-131.
10. Jones J, Scott M, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and RhD structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfus Med 1995; 5:171-184.
11. Scott M. Rh serology. Transfus Clin Biol 1996; 3:333-337.
12. Flegel WA, Wagner FF. RHD epitope density profiles of RHD variant red cells analyzed by flow cytometry. Transfus Clin Biol 1996; 3(6):429-431.
13. Roback J. Technical Manual, 18th edition. American Association of Blood Banks. United States; 2019.
14. Daniels G. Variants of RhD—current testing and clinical consequences. Br J Haematol 2013; 161(4):461-470.
15. Muñiz-Díaz E. Capítulo 22: Control inmunohematológico de la gestante. Inmunohematología básica y aplicada. Primera edición. GCIAMT; 2014.
16. Flegel WA. How I manage donors and patients with a weak D phenotype. Curr Opin Hematol 2006; 13(6):476-483.
17. Haspel RL, Westhoff CM. How do I manage Rh typing in obstetric patients? Transfusion 2015; 55(3):470-474.
18. International Society of Blood Transfusion (ISBT). Red cell immunogenetics and blood group terminology. 2020. http://www.isbtweb.org/working-parties/red-cellimmunogenetics-and-blood-group-terminology/.
19. Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunter F, Flegel WA. Molecular basis of weak D phenotypes. Blood 1999; 93(1):385-393.
20. Flegel WA, Wagner FF. Molecular genetics of RH. Vox Sang 2000; 78 Suppl 2:109-115.
21. Flegel WA, Wagner FF. Molecular biology of partial D and weak D: implications for blood bank practice. Clin Lab 2002; 48(1-2):53-59.
22. Sandler SG, Flegel WA, Westhoff CM, et al. It's time to phase in RHD genotyping for patients with a serologic weak D phenotype. College of American Pathologists Transfusion Medicine Resource Committee Work Group. Transfusion 2015; 55(3):680-689.
23. Flegel WA, Denomme GA, Queenan JT, et al. It's time to phase out "serologic weak D phenotype" and resolve D types with RHD genotyping including weak D type 4. Transfusion 2020; 60(4):855-859.
24. Sandler SG, Chen LN, Flegel WA. Serological weak D phenotypes: a review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype. Br J Haematol 2017; 179(1):10-19.
25. Sandler SG, Queenan JT. A Guide to Terminology for Rh Immunoprophylaxis. Obstet Gynecol 2017; 130(3):633-635.
26. Westhoff CM, Nance S, Lomas-Francis C, Keller M, Chou ST. Experience with RHD*weak D type 4.0 in the USA. Blood Transfus 2019; 17(2):91-93.
27. Flegel WA, Peyrard T, Chiaroni J, Tournamille C, Jamet D, Pirenne F. A proposal for a rational transfusion strategy in patients of European and North African descent with weak D type 4.0 and 4.1 phenotypes. Blood Transfus 2019; 17(2):89-90.
28. Müller TH, Wagner FF, Trockenbacher A, et al. PCR screening for common weak D types shows different distributions in three Central European populations. Transfusion 2001; 41(1):45-52.
29. Reid M, Denomme G. DNA-based methods in the immunohematology reference laboratory. Transfus Apher Sc 2011; 44:65-72.