

# Sistema Rh-Hr y variantes del antígeno D en tres poblaciones afroecuatorianas del Valle del Chota

► Nora Alejandra Osorio González<sup>1a</sup>, Estefanía Jackeline Sagasti Avilés<sup>1a</sup>, Rosa F. Chiriboga-Ponce<sup>2a,b\*</sup>

<sup>1</sup> Bioquímica Clínica.

<sup>2</sup> Licenciada en Laboratorio Clínico, *Master* en Salud Pública, *Master* en Medicina Transfusional y Terapia Celular.

<sup>a</sup> Facultad de Medicina. Carrera de Bioquímica Clínica, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito. Ecuador.

<sup>b</sup> Centro de Investigación para la Salud en América Latina, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito. Ecuador.

\* Autora para correspondencia.

## Resumen

La identificación inequívoca del antígeno D en medicina transfusional es de vital importancia para evitar reacciones postransfusionales y la enfermedad hemolítica del recién nacido. Es común el uso de reactivos serológicos monoclonales o tarjetas de gel y su interpretación está definida por cruces, de acuerdo con la reacción serológica. El propósito de este estudio fue determinar la frecuencia del factor Rh y las variantes del antígeno D en una población afroecuatoriana. Se trató de un estudio descriptivo, transversal con muestreo aleatorio simple de 541 pobladores. Para la tipificación del factor Rh se utilizó la metodología en tubo con antisueros monoclonales y para la detección de las variantes de D se utilizaron tarjetas de gel ID-Coombs Anti-IgG. Las lecturas se verificaron mediante el análisis del índice *kappa*. Se aplicó estadística descriptiva y el análisis de *Chi* cuadrado para establecer la relación de las variables y su significación. Se identificó una frecuencia del 92% de individuos Rh(D) positivo y un 8% Rh(D) negativo. El 4,80% de los individuos presentaban la variante D débil y el 79% reacciones serológicas entre 2 y 3(+) indicativas de otras variantes del antígeno D. El fenotipo más común fue el R<sup>0</sup>/R<sup>0</sup>. Estos datos demuestran la necesidad de confirmar la existencia de variantes del antígeno D en esta población para un mejor manejo de la sangre. Una limitante constituye la disponibilidad de técnicas moleculares para la genotipificación de D; sin embargo, se podría implementar la fenotipificación RHCE como estrategia pretransfusional.

**Palabras clave:** Variantes de D; D débil; Afroecuatorianos; Fenotipos

*Rh-Hr system and D antigen variants in three Afro-Ecuadorian populations in the Chota Valley*

## Abstract

*The unequivocal identification of D antigen in transfusion medicine is of vital importance to avoid post-transfusion reactions and hemolytic disease of the newborn. The use of monoclonal serological reagents or gel cards is common and their interpretation is defined according to the serological reaction by crosses. The purpose of this study was to determine the frequency of Rh factor and D antigen variants in the Afro-Ecuadorian population. This was a descriptive, cross-sectional study with simple random sampling of*

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

541 residents. Tube typing with monoclonal antisera was used to typify Rh factor and ID-Coombs Anti-IgG gel cards were used to detect D variants, and the readings were verified by analysis of the kappa index. Descriptive statistics and Chi-square analysis were applied for the relationship of the variables and their significance. A frequency of 92% of Rh(D) positive individuals and 8% Rh(D) negative individuals were identified. Almost 5% (4.80%) of the individuals presented the weak D variant and 79% serological reactions between 2-3(+) indicative of other D antigen variants, the most common phenotype being R<sup>0</sup>/R<sup>0</sup>. These data demonstrate the need to confirm the existence of D antigen variants in this population for better management and availability of blood. A limitation is the availability of molecular techniques for D genotyping, however, RHCE phenotyping could be implemented as a pretransfusion strategy.

**Keywords:** Variants of D; Weak D; Afro-Ecuadorians; Phenotypes

## Sistema Rh-Hr e variantes do antígeno D em três populações afro-equatorianas no vale do Chota

### Resumo

A identificação inequívoca do antígeno D na medicina transfusional é de vital importância para evitar reações pós-transfusionais e a doença hemolítica do recém-nascido. É comum o uso de reagentes sorológicos monoclonais ou cartões de gel e sua interpretação é definida por cruzamentos de acordo com a reação sorológica. O objetivo deste estudo foi determinar a frequência do fator Rh e as variantes do antígeno D numa população afro-equatoriana. Foi um estudo descritivo, transversal, com amostragem aleatória simples de 541 residentes. Para a tipagem do fator Rh foi utilizada a metodologia em tubo com anti-soros monoclonais e para a detecção das variantes de D, os cartões de gel ID-Coombs Anti-IgG. As leituras foram verificadas por análise do índice kappa. Foi aplicada estatística descritiva e para estabelecer a relação das variáveis e sua significação se utilizou a análise do qui-quadrado. Identificando uma frequência de 92% dos indivíduos Rh (D) positivos e 8% Rh (D) negativos. 4,80% dos indivíduos apresentavam a variante D fraca e 79% reações sorológicas entre 2 e 3(+) indicativas de outras variantes do antígeno D, sendo o fenótipo mais comum o R<sup>0</sup>/R<sup>0</sup>. Esses dados demonstram a necessidade de confirmar a existência de variantes do antígeno D nessa população para melhor gerenciamento e disponibilidade de sangue. Uma limitação é a disponibilidade de técnicas moleculares para a genotipagem de D, no entanto, a fenotipagem de RHCE poderia ser implementada como uma estratégia de pré-transusão.

**Palavras-chave:** Variantes de D; D fraco; Afro-equatorianos; Fenótipos

## Introducción

El sistema Rh ha sido considerado como el de mayor importancia clínica debido a la estimulación inmune que ocasiona y a la producción de anticuerpos anti-D causantes de reacciones postransfusionales y de la enfermedad hemolítica del recién nacido (1). Las variantes comúnmente reconocidas del antígeno D son de dos clases: D débil y D parcial (2). Existen varias definiciones para determinar el verdadero significado de estas variantes: una de ellas es que los antígenos D débiles tienen un menor número de epítopes, mientras que los D parciales carecen de uno o varios (1). Estas características son difíciles de definir serológicamente ya que una reacción negativa frente a un anticuerpo monoclonal o con un método específico, no es indicativa de ausencia del epítipo dado que puede tratarse de una expresión débil (1). Por otro lado, los individuos portadores de antígeno D parcial pueden producir anticuerpos anti-D, mientras que los D débil no lo hacen, pero esto depende de la respuesta inmune

luego de la exposición a antígenos D positivo (1). La correcta identificación del antígeno D previene inmunizaciones posteriores y las investigaciones en este tema promueven el establecimiento de algoritmos de tipificación. En Ecuador existen escasos estudios de variantes de D en la población y, en especial, en la afroecuatoriana, por lo que la implementación de una prueba de tipificación de los antígenos D y CDE contribuiría a aumentar la seguridad transfusional de la región. Un estudio realizado en Brasil promueve la utilización de pruebas en gel para la prueba de inmunoglobulina y anti-CDE que facilita la detección de antígenos D débil y evita resultados falsamente negativos (3). En países europeos y en los Estados Unidos se evalúa la intensidad de una reacción serológica por cruces como indicativo de la existencia de variantes de D. A pesar de que la calificación de una reacción  $\leq 2(+)$  es subjetiva y existe una falta de consenso, se ha establecido que ante un resultado entre 2 y 3(+) las muestras deben ser remitidas a un laboratorio de referencia para su correcta tipificación (4).

Por otro lado, las personas de origen africano expresan mayoritariamente antígenos RhD parciales por lo que se corre el riesgo de aloinmunización con producción de anticuerpos anti-D (5). Varios estudios han demostrado que en estos individuos existe un enlace genético entre RHD y RHCE que produce un alelo alterado que da origen a una rara proteína Rhce, considerada como un D parcial propio de esa etnia y estimuladora de aloinmunización anti-D (6). Una alternativa es la identificación de los antígenos RHCE como una ayuda para la definición de estrategias de transfusión en personas de ascendencia africana (7).

No existen estudios de variantes de D en población afroecuatoriana, por lo que los datos obtenidos en esta investigación serán de utilidad a las autoridades sanitarias, además de promover el uso de metodologías disponibles en el país para su implementación en los servicios de medicina transfusional y bancos de sangre en beneficio de la población afroecuatoriana.

## Materiales y Métodos

### Tipo de estudio

Se realizó un estudio descriptivo, transversal con muestreo aleatorio simple en el Valle del Chota. Se partió de una población finita de 4361 pobladores afroecuatorianos habitantes de la zona y que concurrían a los centros de salud tipo A1 (Salinas), al Centro de Salud Carpuela y al puesto de Salud Chalguayacu. El tamaño muestral se determinó al aplicar la fórmula de población finita; se contó para el estudio con un total de 541 individuos conformados por 429 mujeres (79,3%) y 112 hombres (20,7%) con edades comprendidas entre 10 y 65 años. En Chalguayacu, de las 226 mujeres que acudieron, el 31,40% tenían entre 18 y 25 años, cifras similares a las de Carpuela y Salinas. También se observó en Chalguayacu la presencia de hombres de 10 a 17 años, mientras que en Carpuela la edad del género masculino osciló entre 58 y 65 años (Tabla I).

### Aspectos éticos

Tanto para el consentimiento informado como para el estudio se obtuvo la aprobación del Comité de Bioética Código 2018-18-MB y de la Dirección de Inteligencia de la Salud MSPCURI00292-3.

### Obtención de muestras

Previa firma del consentimiento informado se procedió a tomar una muestra de sangre en tubos al vacío con anticoagulante EDTA-K3 (líquido) por punción venosa para un volumen de 4 mL.

### Pruebas de laboratorio para el antígeno D

Se utilizó el reactivo ARH/020, anti-D (IgM e IgG) monoclonal, lote: 129017, marca ANTEC, Registro sanitario AD-1214-07-06 técnica en tubo, para observar la presencia o ausencia de aglutinación.

### Determinación de variantes del antígeno D

Se utilizaron tarjetas de gel ID-Coombs Anti-IgG de BIO-RAD, lote 2433300407 y el reactivo ID-DiaClon Anti-D de BIO-RAD, lote 3553666201 para la confirmación de variantes de D. Se observaron los grados de aglutinación y se compararon con la cartilla de lectura proporcionada por la casa comercial. En cada grupo de pruebas se utilizaron controles de tercera opinión.

### Identificación de fenotipos

Se utilizaron tarjetas de gel Rh-Subgroups de BIO-RAD, lote 37005515201, se verificó la detección de los antígenos con células BIO-RAD, lote 06171.24.x de fenotipo conocido (C,c,E,e) y se utilizaron controles de calidad internos.

### Lectura de resultados

Se realizó la verificación cualitativa de las reacciones de aglutinación con la medición del índice *kappa* mediante 54 lecturas por cada operador, que correspondía al 10% del tamaño muestral. Con ellas se obtuvo un índice *kappa* de 0,829 ( $p < 0,001$ ).

### Análisis estadístico

Para el análisis de datos se utilizó el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 20, en el que se trabajó la estadística descriptiva (frecuencias absolutas y relativas) y para la relación de las variables y su significación estadística se aplicó el análisis *Chi* cuadrado.

## Resultados

### Frecuencia del antígeno D

Se determinó que el 92% de la población presentaba una reacción positiva con la metodología en tubo, que inicialmente fue clasificada como D (positiva). El análisis de la distribución del antígeno D en relación con la procedencia y género determinó que en Chalguayacu era predominante el factor RhD positivo, tanto en hombres como en mujeres; en Carpuela no existieron hombres tipificados como D negativo; mientras que en Salinas el 75% (n=12) de las mujeres fueron tipificadas como D negativo (Tabla II).

Tabla I. Distribución de la población según género, edad y zona natal

			Hombre		Mujer		Total	
			Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%
Chalguayacu	Edad (años)	10-17	24	36,40	39	17,30	63	21,60
		18-25	14	21,20	71	31,40	85	29,10
		26-33	8	12,10	53	23,50	61	20,90
		34-41	10	15,20	26	11,50	36	12,30
		42-49	1	1,50	18	8	19	6,50
		50-57	3	4,50	12	5,30	15	5,10
		58-65	6	9,10	7	3,10	13	4,50
		Total	66	100	226	100	292	100
Carpuela	Edad (años)	10-17	1	6,70	3	5,30	4	5,60
		18-25	3	20	23	40,40	26	36,10
		26-33	2	13,30	7	12,30	9	12,50
		34-41	2	13,30	3	5,30	5	6,90
		42-49	1	6,70	6	10,50	7	9,70
		50-57	1	6,70	11	19,30	12	16,70
		58-65	5	33,30	4	7	9	12,50
		Total	15	100	57	100	72	100
Salinas	Edad (años)	10-17	15	48,40	24	16,40	39	22
		18-25	4	12,90	40	27,40	44	24,90
		26-33	5	16,10	29	19,90	34	19,20
		34-41	2	6,50	20	13,70	22	12,40
		42-49	1	3,20	12	8,20	13	7,30
		50-57	1	3,20	7	4,80	8	4,50
		58-65	3	9,70	14	9,60	17	9,60
		Total	31	100	146	100	177	100

Tabla II. Distribución del antígeno D en relación con el género y la localidad

Factor Rh		D (positivo)		D (negativo)	
Localidad	Género	Frecuencia	%	Frecuencia	%
Chalguayacu	Hombre	62	23,20	4	16
	Mujer	205	76,80	21	84
	Total	267	100	25	100
Carpuela	Hombre	15	21,10	0	0
	Mujer	56	78,90	1	100
	Total	71	100	1	100
Salinas	Hombre	27	16,80	4	25
	Mujer	134	83,20	12	75
	Total	161	100	16	100

Identificación de D débil

El 4,80% (n=2) de las muestras que fueron identificadas inicialmente como D (negativas) fueron confirmadas luego como una variante débil de "D". Las dos muestras confirmadas con el antígeno D débil pertenecían a personas del género femenino, con fenotipo ce (R<sup>0</sup>/r).

Identificación de variantes de D

El 79% de los individuos presentaban reacciones serológicas <2 y 3(+), indicativas de la presencia de variantes de D y el 21% reactividad de 4(+) catalogadas como D positivas, de acuerdo con el inserto de reactivo ID-DiaClon Anti-D de BIO-RAD. La localidad que presentó un mayor porcentaje de variantes de D fue Chalmayacu (46,20%), seguida de Salinas con el 38,30% y, por último Carpuela, con el 15,50% (Tabla III).

Fenotipos CDE

Se identificaron cinco combinaciones fenotípicas; la más frecuente fue ce (R<sup>0</sup>/R<sup>0</sup>) 33,83%, seguida de Ce (R<sup>1</sup>/R<sup>0</sup>). Para RhD (negativo) el de mayor frecuencia fue el fenotipo ce (r/r) con el 85,70% y los de menor frecuencia fueron: el fenotipo Ce (r'/r) con el 9,50%, seguido del fenotipo cEe (r''/r) con el 4,80%. Las dos muestras tipificadas como D débiles presentaron el fenotipo R<sup>0</sup>/r (Tabla IV). Los fenotipos identificados se encontraban distribuidos en los tres servicios de salud. El ce (R<sup>0</sup>/R<sup>0</sup>) fue el más frecuente en Chalmayacu y Carpuela y el Cce (R<sup>1</sup>/R<sup>0</sup>) en Salinas (Fig. 1). En relación con el género, en hombres el fenotipo Cce (R<sup>1</sup>/R<sup>0</sup>) tuvo una mayor frecuencia (36,53%), seguido de ce (R<sup>0</sup>/R<sup>0</sup>) 34,62%. En las mujeres el ce (R<sup>0</sup>/R<sup>0</sup>) fue el más prevalente, pero también se observó la presencia de los fenotipos Cce (R<sup>1</sup>/R<sup>0</sup>) y cEe (R<sup>2</sup>/R<sup>0</sup>).

Tabla III. Frecuencia de las variantes del antígeno D

Variantes D				
Ausencia			Presencia	
Localidad	Frecuencia	%	Frecuencia	%
Chalmayacu	85	81	182	46,20
Carpuela	10	9,50	61	15,50
Salinas	10	9,50	151	38,30
Total	105	100	394	100

Tabla IV. Distribución de los fenotipos del sistema Rh

Fenotipos del sistema Rh			
Factor Rh	Fenotipo CDE	Frecuencia	%
Rh D (positivo)	CceE R <sup>2</sup> /R <sup>0</sup> R <sup>1</sup> /R <sup>2</sup>	40	7,39
	ceE R <sup>2</sup> /R <sup>0</sup>	103	19,04
	ce R <sup>0</sup> /R <sup>0</sup>	183	33,83
	Ce R <sup>1</sup> /R <sup>1</sup>	25	4,62
	Cce R <sup>1</sup> /R <sup>0</sup>	148	27,36
Rh D (negativo)	ceE r''/r	2	0,37
	ce r/r	36	6,65
	Cce R <sup>1</sup> /r	4	0,37
Rh D (débil)	ce R <sup>0</sup> /r	2	0,37

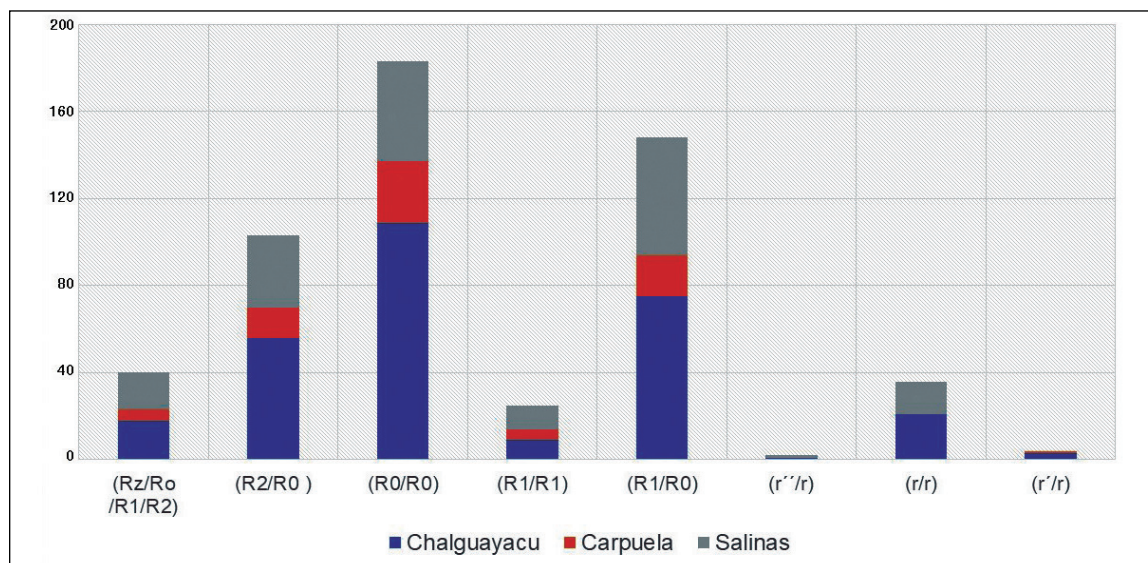


Figura 1. Distribución de los fenotipos del sistema Rh por localidad de estudio.

## Discusión y Conclusiones

La prevalencia de los grupos sanguíneos es característica de cada población y etnia y su conocimiento es importante, especialmente el de los grupos eritrocitarios considerados de relevancia clínica, como el factor Rh y sus variantes, por la capacidad que tienen estos antígenos de inducir la formación de anticuerpos que ocasionan reacciones hemolíticas postransfusionales (8). Otro aspecto es la variabilidad en la frecuencia debida a la etnia. En un estudio realizado por Garratty *et al.*, se determinó que el factor Rh (D) negativo tiene una frecuencia de 7,3% en hispanos (mexicanos, puertorriqueños, cubanos); 7,1% en negros no-hispanos, 1,7% en asiáticos (chinos, filipinos, japoneses, coreanos y vietnamitas) y de 9,7% en indios americanos. En el presente estudio se identificó una prevalencia del 8% de individuos afroecuatorianos D negativos. Esta información es relevante en los servicios de medicina transfusional de la región para la planificación de su *stock*.

Un criterio para determinar serológicamente la existencia de fenotipos D débiles o variantes es el grado de aglutinación <math>3(+)</math>, un criterio que a pesar de no estar estandarizado resulta aún de utilidad (4) (10). Incluso en los insertos de pruebas en gel y reactivos anti-D es considerado para la lectura de resultados. Bajo este criterio se determinó en esta investigación la existencia de 79% de individuos con reactividad entre 2 y 3(+), característica de los portadores de variantes de D; sin embargo, es común que los antígenos D parciales no sean detectados en la rutina diaria y es una de las causas de aloinmunización por exposición a transfusiones con eritrocitos D positivos (4). Se conoce que la metodología en gel es sensible para tipificación del RhD y la

reactividad de 3(+) o menos es indicativa de variantes de D, por lo que constituye una buena opción para la identificación del antígeno D y sus variedades (11); sin embargo, se requiere una confirmación a través de metodologías moleculares. La distinción entre D débil y parcial depende del tipo de reactivo utilizado y disponible en cada país, ya que la concentración y tipo de anticuerpos, potenciadores de aglutinación y metodología, definen el resultado obtenido. Se ha determinado que la presencia de discrepancia es debida a la existencia de más de 200 variantes de fenotipos de D (11). Adicionalmente, en una población afrodescendiente existe una gran variación de alelos RHCE-RHD que contribuyen a un mayor índice de aloinmunización por incompatibilidad sanguínea, de modo que encontrar sangre compatible representa un reto para los servicios de medicina transfusional (12). El estudio de Gaspardi *et al.* reconoce la dificultad que ocasiona el desconocimiento de la composición genotípica de Rh-Hr ya que impide prevenir las aloinmunizaciones y promueve transfusiones incompatibles. Sin embargo, se reconoce la inexistencia de programas de genotipificación para donantes y pacientes (12). Ésta es una limitante que también experimentan los países en vías en desarrollo debido probablemente a los costos de implementación.

En el presente estudio se utilizaron reactivos y metodología disponibles en el Ecuador para la detección del antígeno D. Se empleó el reactivo anti-D dual (IgM e IgG), tarjetas de gel para detección de fenotipos Rh y variantes de D. Las recomendaciones dadas recientemente por la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) y el Colegio Americano de Patólogos (CAP) establecen la realización de la genotipificación de RHD cuando existen resultados discordantes o se

detecta un fenotipo D débil en mujeres en edad fértil o en recién nacidos que requieran transfusiones (11). Es común que los centros de salud de primer nivel se encuentren frecuentados por mujeres jóvenes y niños, por lo que conocer su grupo sanguíneo es de trascendental importancia para evitar una aloinmunización en futuros embarazos.

A pesar de que las pruebas moleculares constituyen la mejor estrategia para confirmación de variantes de D, éstas no están disponibles aún en el país; es por esta razón que los resultados de este estudio se basaron en la evaluación de la reacción serológica. Bub *et al.* informaron que la combinación de pruebas serológicas y moleculares en mujeres embarazadas con antecedentes multiétnicos es importante para identificar resultados discrepantes por variantes del antígeno D y sobre todo, la genotipificación RHD facilita la toma de decisiones en la práctica obstétrica (13). En países como el Reino Unido se utilizan reactivos anti-D IgM monoclonales que no detectan las variantes débiles de D y DVI y no recomiendan la prueba de antiglobulina humana para detección de antígeno D débil. Ésta es una práctica similar a la de países como Francia, Alemania y Estados Unidos (1), que la emplean como una estrategia de tipificación. Sin embargo, en otros países es obligatoria la confirmación de resultados D negativos mediante la prueba de Coombs, debido al comportamiento serológico de la variante parcial que produce una unión débil ante anticuerpos IgM. Por esto es necesaria la detección con antiglobulina humana (Coombs) para evitar resultados falsamente negativos (14). En este estudio se detectaron dos pacientes portadoras del antígeno D débil.

Otro aspecto para considerar es la relación que tienen los tipos D parcial y débil con el origen étnico de cada población. De acuerdo con otros estudios, se observó que algunos alelos están estrechamente relacionados a grupos étnicos que determinan la frecuencia con que se presentan las variantes de D (15). También se determinaron los fenotipos del sistema Rh. El gen RHCE tiene cuatro alelos principales que codifican los antígenos Ce, CE, ce y cE y son comunes sus combinaciones (16). En el presente estudio se identificó que el fenotipo de mayor frecuencia fue el "ce" ( $R^0/R^0$ ) en los pobladores tipificados como RhD positivos, en contraste con el estudio realizado en donantes de sangre ecuatorianos en el que el fenotipo más frecuente había sido  $R^z/R^0$  mientras que el  $R^0/R^0$  únicamente se había identificado en el 3% de los donantes (17). Los fenotipos más prevalentes fueron: en los pobladores tipificados como RhD débil el  $R^0/r$  y en los D negativos el  $r/r$ . Adewoyin *et al.* mencionaron que los fenotipos prevalentes en individuos blancos son  $R^1$ ,  $r$ ,  $R^2$ ,  $R^0$ ,  $r'$ ,  $r''$ ,  $R^z$  y  $r^y$ , en contraste en la población negra, en la que son  $R^0$ ,  $r$ ,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $r'$ ,  $r''$ ,  $R^z$  y  $r^y$ . Estos autores concluyeron que la determinación del genotipo dependía de la frecuencia de un antígeno y su combinación de-

pendía de la etnia poblacional (8). Esto es similar a los hallazgos encontrados en los estudios realizados en Ecuador, donde las frecuencias de los fenotipos del sistema Rh entre la población mestiza y la afrodescendiente difieren. Estos resultados ponen de manifiesto que se requiere incluir una fenotipificación del factor Rh como una alternativa para evitar aloinmunizaciones posteriores en la población afroecuatoriana y realizar estudios de genotipificación para identificar las variantes del antígeno D más prevalentes en esta población. Los resultados de este estudio sin duda serán de gran utilidad para las poblaciones participantes y permitirán el desarrollo de nuevas investigaciones (16).

## Agradecimientos

Las autoras agradecen a los pobladores y personal de los servicios de salud participantes del valle del Chota por su colaboración y apoyo a la realización de este estudio y a la carrera de Laboratorio Clínico de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

## Fuentes de financiación

Dirección de Investigación de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

## Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

## Correspondencia

Master ROSA F. CHIRIBOGA-PONCE  
Avenida 12 de Octubre 1076 y Roca  
QUITO - Ecuador  
Teléfonos: 593-22991680 / 593-969011129  
Fax: 593-22991689  
Correo electrónico: rfchiriboga@puce.edu.ec

## Referencias bibliográficas

1. Daniels G. Variants of RhD--current testing and clinical consequences. *Br J Haematol* 2013; 161 (4): 461-70.
2. Kulkarni S, Kasiviswanathan V, Ghosh K. A simple diagnostic strategy for RhD typing in discrepant cases in the Indian population. *Blood Transfus* 2013; 11 (1): 37-42.
3. Cayres Schmidt L, Castilho L, Neves Vieira OV, Sippert E, Gaspardi AC, Lobato Martins M, *et al.* Impact of a confirmatory RhD test on the correct serologic typing of blood donors. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2015; 37 (5): 302-5.
4. 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 Oct; 179 (1): 10-9.

5. Omotade OO, Adeyemo AA, Kayode CM, Falade SL, Ikpeeme S. Gene frequencies of ABO and Rh (D) blood group alleles in a healthy infant population in Ibadan, Nigeria. *West Afr J Med* 1999 Oct-Dec; 18 (4): 294-7.
6. Roussel M, Poupel S, Nataf J, Juszcak, G, Woimant G, Mailloux A, *et al.* RHD\*DOL1 and RHD\*DOL2 encode a partial D antigen and are in cis with the rare RHCE\*ce-BI allele in people of African descent. *Transfus* 2013; 53 (2): 363-72.
7. Granier T, Beley S, Chiaroni J, Bailly P, Silvy M. A comprehensive survey of both RHD and RHCE allele frequencies in sub-Saharan Africa. *Transfusion* 2013 Nov; 53 (11 Suppl 2): 3009-17.
8. Adewoyin AS, Lee GM, Adeyemo TA, Awodu OA. Rh and Kell blood group antigen prevalence in a multi-ethnic cohort in Nigeria: implications for local transfusion service. *Immunohematology* 2018 Jun; 34 (2): 61-5.
9. Garratty G, Glynn SA, McEntire R. ABO and Rh(D) phenotype frequencies of different racial/ethnic groups in the United States. *Transfus* 2004 May; 44 (5): 703-6.
10. Virk M, Sandler SG. Rh immunoprophylaxis for women with a serologic weak D phenotype. *Lab Med* 2015; 46 (3): 190-4.
11. Krstic JL, Dajak S, Bingulac-Popovic J, Dogic V, Mratinovic-Mikulandra J. Anti-D reagents should be chosen accordingly to the prevalence of D variants in the obstetric population. *J Clin Lab Anal* 2018 Mar; 32 (3): e22285.
12. Gaspardi AC, Sippert EA, De Macedo MD, Pellegrino J Jr, Costa FF, Castilho L. Clinically relevant RHD-CE genotypes in patients with sickle cell disease and in African Brazilian donors. *Blood Transfus* 2016 Sep; 14 (5): 449-54.
13. Bub CB, Aravechia MG, Costa TH, Kutner JM, Castilho L. RHD alleles among pregnant women with serologic discrepant weak D phenotypes from a multiethnic population and risk of alloimmunization. *J Clin Lab Anal* 2018 Jan; 32 (1): e22221.
14. Then WL, Aguilar MI, Garnier G. Quantitative detection of weak D antigen variants in blood typing using SPR. *Sci Rep* 2017 May 9; 7 (1): 1616.
15. Denomme G, Wagner F, Fernandes B, Li W, Flegel W. Partial D, weak D types, and novel RHD alleles among 33,864 multiethnic patients: implications for anti-D alloimmunization and prevention. *Transfus* 2005; 45 (10): 1554-60.
16. Kappler-Gratias S, Auxerre C, Dubeaux I, Beolet M, Ripaux M, Le Pennec PY, *et al.* Systematic RH genotyping and variant identification in French donors of African origin. *Blood Transfus* 2014 Jan; 12 (Suppl 1): s264-72.
17. Chiriboga R. Frecuencia de fenotipos del sistema Rh en donantes voluntarios de sangre. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2018; 52 (3): 331-7.

**Recibido: 5 de noviembre de 2019**

**Aceptado: 25 de junio de 2020**