

Titulação de aloanticorpos anti-a e anti-b em gatos domésticos sem raça definida em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Luciana de Almeida Lacerda¹, Simone Tostes de Oliveira², Gisele Guiomara Stein¹,
Tatiana Amaral Guerra³, Félix Gonzáles³

RESUMO

A probabilidade de ocorrência de reação transfusional em um felino depende da prevalência local dos tipos sanguíneos felinos e dos títulos de aloanticorpos. A determinação dos títulos de aloanticorpos auxilia na estimativa do risco e da severidade de reação transfusional, após transfusão não compatível, em uma população de gatos. O objetivo deste trabalho foi determinar a titulação de aloanticorpos e o risco de possível reação transfusional, em felinos domésticos sem raça definida, da cidade de Porto Alegre. Foram selecionados aleatoriamente 100 gatos clinicamente saudáveis, sem raça definida e sem parentesco entre si e sem histórico de transfusão prévia. Amostras de sangue foram coletadas da veia jugular e a titulação de aloanticorpos foi determinada no soro de gatos com tipo sanguíneo previamente definido. O risco estimado foi calculado de acordo com estudos prévios. No presente trabalho, 82,5 e 100% dos gatos do tipo A e B, respectivamente, apresentaram titulação variada de aloanticorpos. Com base nos títulos encontrados, verificou-se que uma transfusão de sangue, do tipo A ou AB, em gatos do tipo B apresenta risco de 33,3% de reação aguda severa e de 66,7% de reação aguda leve, nos receptores felinos. A transfusão de sangue do tipo AB ou B em gatos do tipo A apresenta risco de reação aguda severa em 1,0%; reação aguda leve em 37,1% e destruição prematura dos eritrócitos em 44,3% dos receptores felinos.

Palavras-chave: Imunoematologia, aloanticorpos, tipos sanguíneos, gatos.

ABSTRACT

Anti-a and anti-b alloantibodies titres in non-pedigree domestic cats in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

The probability of occurrence of a transfusion reaction in a cat depends on the local prevalence of feline blood types and alloantibody titres. Determination of alloantibody titres assists in estimating the risk and the severity of transfusion reactions following an unmatched transfusion in a cat population. The objective of this study was to determine alloantibody titres and the risk of a possible transfusion reaction in non-pedigree domestic cats in Porto Alegre, Brazil. One hundred clinically healthy non-pedigree and non-related cats with no history of previous transfusion were randomly selected. Blood samples were collected from the jugular vein and the alloantibody titres were determined by tube serial dilution of the serum from cats with known blood types, the estimated risk was calculated according previous studies. In the present study, 82.5% and 100% of types A and B cats, respectively, showed varied alloantibodies titres. Based on the titres found in the present study, the risk of an acute severe reaction is 33.3% and an acute mild reaction is 66.7% in a type B cat transfused with blood type A or AB. In type A cats transfused with blood type AB or B, the risk of an acute severe reaction is 1.0%, an acute mild reaction is 37.1% and premature red cell destruction is 44.3%.

Key words: Immunohematology, alloantibodies, blood types, cats

Recebido para publicação em março de 2007 e aprovado em dezembro de 2010

¹ Médica Veterinária, Mestre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Avenida Bento Gonçalves, 9090, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. luciana.lacerda@ufrgs.br, gisele@ufrgs.br

² Médica Veterinária, Doutora. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro Agroveterinário, Avenida Luiz de Camões, 2090, 88520-000, Lages, Santa Catarina, Brasil. luciana.lacerda@ufrgs.br

³ Médica Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Avenida Bento Gonçalves, 9090, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. tatiana@ufrgs.br

⁴ Médico Veterinário. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Avenida Bento Gonçalves, 9090, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. felixgonzales.ufrgs@gmail.com

INTRODUÇÃO

A probabilidade de que uma reação transfusional ocorra após uma transfusão depende da prevalência local dos tipos sanguíneos e da distribuição dos títulos de aloanticorpos (Knottenbelt, 2002).

Em felinos, um grupo sanguíneo AB composto de três tipos (A, B e AB) foi descrito em 1981 (Auer & Bell, 1981). Outro tipo, denominado Mik, foi descrito e vem sendo estudado nos EUA (Giger 2005).

Níveis detectáveis de anticorpos naturais contra um antígeno de outro tipo sanguíneo (aloanticorpos) foram descritos pela primeira vez em 1953 (Holmes, 1953) e acredita-se que sejam resultantes da exposição a epítomos estruturais de uma variedade de organismos, incluindo plantas, bactérias e protozoários, que são similares ou idênticos aos antígenos dos tipos sanguíneos (Male, 1996; Tizard, 1996).

Os aloanticorpos, em felinos, são responsáveis por reações transfusionais potencialmente fatais, destruição prematura dos eritrócitos transfundidos e isoeritrolise neonatal. Geralmente, gatos do tipo B, transfundidos com sangue do tipo A, desenvolvem reações transfusionais rápidas e frequentemente fatais, por apresentarem altos títulos de anticorpos naturais anti-A (Auer *et al.*, 1982; Giger & Akol, 1990; Giger & Bucheler, 1991; Wilkerson *et al.*, 1991).

Já alguns gatos do tipo A apresentam uma grande flutuação dos títulos de aloanticorpos anti-B durante o ano, portanto, o “status” de anticorpos em situação alguma pode ser usado para predefinir a severidade das reações subsequentes após uma transfusão. As variações nos títulos de anticorpos naturais em gatos podem ser uma das razões pelas quais alguns gatos, do tipo A, apresentam reações severas, enquanto outros apresentam sinais clínicos mínimos, com exceção da diminuição do hematócrito após a transfusão. Apesar da aparente ausência de anticorpos naturais em alguns gatos do tipo A, sangue do tipo B não deve ser transfundido em gatos do tipo A, por causa da subsequente sensibilização que irá encurtar ainda mais a meia-vida do eritrócito transfundido (Knottenbelt, 2002).

A severidade das reações transfusionais está mais ligada ao título de aloanticorpos do que à quantidade de antígeno administrado (Auer & Bell, 1983). Apesar do grande número de relatos sobre a prevalência dos tipos sanguíneos em gatos e as variações geográficas e raciais (Holmes, 1950; Eyquem *et al.*, 1962; Auer & Bell, 1981; Ikemoto *et al.*, 1981; Giger *et al.*, 1989; Knottenbelt *et al.*, 1999a), poucos são os estudos sobre aloanticorpos em felinos (Bucheler & Giger, 1993; Arikan & Akkan, 2004; Hohenhaus, 2004).

A distribuição e o título de aloanticorpos não foram investigados nos felinos do Brasil, conseqüentemente, o objetivo deste estudo foi determinar os títulos de aloanticorpos em felinos, sem raça definida, tipo A e B, de Porto Alegre, e acessar o risco de reações transfusionais, após transfusão sem determinação da compatibilidade sanguínea prévia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 100 gatos domésticos (36 machos e 64 fêmeas), sem raça definida (SRD), com peso corporal maior que 2 kg, com idades variadas (de 1 a 13 anos) e clinicamente saudáveis, de proprietários particulares da cidade de Porto Alegre (Rio Grande do Sul, Brasil). Nenhum dos animais estava sob algum tipo de tratamento, apresentava histórico recente de doença grave ou havia recebido transfusão sanguínea prévia e, no caso de fêmeas, nenhuma estava prenhe.

Amostras de sangue foram obtidas de todos os animais, o soro foi separado e congelado (-20°C) para a técnica de titulação de aloanticorpos. A tipagem sanguínea foi realizada, previamente, com uso de *kits* comerciais (RapidVet H Feline; DMS Laboratories, Flemington, NJ, USA) e por teste de hemoaglutinação em tubo de ensaio (Stieger *et al.*, 2005).

A determinação da titulação de aloanticorpos foi realizada por meio da tipagem reversa com diluição seriada (Stieger *et al.* 2005). O primeiro passo para este teste é a preparação da suspensão de células do tipo A e B; nessa etapa, amostras de sangue com EDTA-K₂ de gatos de tipo conhecido foram centrifugadas para separar o plasma do concentrado de eritrócitos. O plasma foi retirado e as células submetidas a três lavagens consecutivas, com PBS, a 1035 g por 5 minutos, e, em seguida, uma suspensão de aproximadamente 5% de eritrócitos foi preparada com PBS. Posteriormente, 50 µL do soro de cada gato foram diluídos, seriadamente, em PBS (1:2 a 1:1024) e 25 µL da suspensão de células foram adicionados a 50 µL do soro e nas respectivas diluições. Após 15 minutos de incubação em temperatura ambiente, os tubos foram centrifugados por 15 segundos a 1035 g. A leitura do resultado foi realizada ressuspensão das células e observando-se a presença de aglutinação e o resultado de cada diluição foi registrado para posterior análise. O cálculo do risco pós-transfusional estimado foi realizado de acordo com critérios estabelecidos em trabalhos prévios (Knottenbelt *et al.*, 1999b).

RESULTADOS

Neste estudo, todos os gatos do tipo A (n=97) e B (n=3) apresentaram títulos de aloanticorpos variados com aglutinação macroscópica evidente ou microscópica (Tabela 1).

Dentre os 97 gatos do tipo A testados, seis apresentaram apenas aglutinação microscópica (1:2). Aglutinação macroscópica foi observada em 38,1% com títulos de 2 ou 4, e o mesmo número foi encontrado com aglutinação macroscópica com título igual ou maior do que 8. O restante dos animais não apresentou aglutinação macro ou microscópica dos eritrócitos do tipo B. Entretanto, todos os gatos do tipo B apresentaram aglutinação macroscópica evidente com títulos que variaram de 32 a 1024. Neste estudo, não foram encontrados gatos do tipo AB.

O risco estimado de reação transfusional, em transfusão sanguínea sem tipagem prévia do doador e do receptor felino, é apresentado na Tabela 2 e foi baseado em critérios estabelecidos por estudos prévios (Knottenbelt *et al.*, 1999b).

A transfusão de sangue, do tipo A ou AB, em um gato do tipo B, apresenta um risco de 33,3% de reação aguda severa e 66,7% de reação aguda leve. A transfusão de um sangue do tipo B ou AB em um gato do tipo A apresenta risco de 1% de reação aguda severa, 37,1% de reação aguda leve e 44,3% de destruição prematura de eritrócitos.

DISCUSSÃO

A presença de anticorpos anti-A hemoaglutinantes, em todos os gatos B, está de acordo com resultados de trabalhos prévios (Auer & Bell, 1981; Giger *et al.*, 1989, Giger & Bucheler, 1991; Bucheler & Giger, 1993). No entanto, no presente trabalho, apenas três gatos do tipo B foram encontrados e apenas um apresentou título menor do que 1:64, o que foi observado por alguns pesquisadores (Bucheler & Giger 1993). Títulos baixos podem estar associados com a idade do animal (animais muito jovens ou geriátricos), (Knottenbelt *et al.*, 1999b; Gurkan *et al.*, 2005).

No presente trabalho, a maior parte dos gatos do tipo A apresentou aglutinação de eritrócitos do tipo B, o que está de acordo com dados de outros pesquisadores (Gurkan *et al.*, 2005; Silvestre-Ferreira & Pastor, 2010). Além disso, em Porto Alegre, a proporção de gatos do tipo A (76,3%) que possui título de anticorpos de 1:2, ou mais, foi maior do que em estudos realizados na Austrália (Auer & Bell, 1981), nos Estados Unidos (Giger *et al.*, 1989), no Japão (Ejima *et al.*, 1986), na Espanha (Silvestre-

Tabela 1. Títulos de anticorpos anti-B e anti-A, em gatos do tipo A e B

Número de gatos tipo A	%	Títulos de anticorpos anti-B em gatos tipo A	Número de gatos tipo B	%	Títulos de anticorpos anti-A em gatos tipo B
17	17,5	S	-	-	-
6	6,2	M	-	-	-
20	20,6	1:2	-	-	-
17	17,5	1:4	-	-	-
13	13,4	1:8	-	-	-
8	8,3	1:16	-	-	-
11	11,4	1:32	1	33,3	1:32
4	4,1	1:64	1	33,3	1:64
1	1,0	1:128	-	-	-
-	-	1:256	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	1	33,3	1:1.024

S = não houve aglutinação

M = aglutinação microscópica (1:2)

Tabela 2. Risco estimado de reação pós-transfusional, por presença de aloanticorpos, após transfusão sem tipagem prévia

Tipo sanguíneo do doador	Tipo sanguíneo do receptor	Reação aguda severa (%) (TAR > 128)	Reação aguda leve (%) (TAR 8 a < 128)	Destruição prematura de eritrócitos(%) (TAR M a < 8)
A	B	33,3	66,7	0,0
AB	B	33,3	66,7	0,0
B	A*	1,0	37,1	44,3
AB	A*	1,0	37,1	44,3

M = aglutinação microscópica, TAR = título de anticorpos do receptor. Cálculos de acordo com critérios estabelecidos por estudos prévios (Knottenbelt *et al.*, 1999).

* = 17,5% do animais do tipo A não apresentaram aglutinação macro ou microscópica contra células do tipo B

Ferreira *et al.*, 2004) e na Turquia (Arikan & Akkan, 2004). Neste estudo, 17 animais (17,5% dos gatos do tipo A) não apresentaram evidência de aglutinação macro ou microscópica, concordando com dados de estudos mais recentes, realizados no Reino Unido e na Turquia, nos quais entre 27,9 e 12,3% dos gatos do tipo A, respectivamente, também não apresentaram (Knottenbelt *et al.*, 1999b; Gurkan *et al.*, 2005). A ausência de anticorpos em animais jovens pode ser explicada por estudos anteriores, que mostraram que os anticorpos maternos diminuem gradualmente, até a 5ª semana de idade, sua produção endógena não ocorre antes da 5ª - 7ª semanas de idade e seu nível máximo ocorre aos 2-3 meses de idade (Gurkan *et al.*, 2005), mas este fato não explica o ocorrido no presente trabalho, visto que estes animais eram adultos (idade entre 3 e 5 anos).

Outra explicação seria um título muito baixo de aloanticorpos, visto que pesquisadores demonstraram a presença de IgG e IgM, no teste de Coombs, em animais que não apresentaram aglutinação (Bücheler & Giger, 1993), mas esse teste não foi realizado no presente estudo.

A presença do ácido N-Acetilneuramínico (antígeno determinante do tipo sanguíneo B), em variadas proporções, nos eritrócitos de gatos do tipo A, pode estar associada aos variados títulos, ou à ausência, de anticorpos anti-B (Knottenbelt, 2002).

Não foram observados anticorpos contra os próprios tipos, em gatos do tipo A ou B, de células dos seus próprios tipos, resultado que é esperado, pois não é normal que os animais apresentem anticorpos contra as próprias células. Em trabalhos anteriores, pesquisadores observaram que alguns animais apresentaram aglutinação de seu próprio tipo com título de no máximo 1:2, mas não souberam explicar a magnitude de tal resultado e acreditam que possa ocorrer reação cruzada com outros antígenos, como para *Mycoplasma sp.* Além disso, a presença de anticorpos anti-B em gatos do tipo B e AB poderia refletir possível contaminação por parte do laboratório, durante as análises, ou presença de anticorpos contra outros antígenos eritrocitários, não pertencentes ao sistema AB, ou sugerir que os antígenos eritrocitários possuem variabilidade inerente ou são mais complexos do que se pensava (Knottenbelt *et al.*, 1999b; Knottenbelt, 2002).

Os dados relatados neste trabalho mostram que a transfusão de sangue de gatos do tipo A ou AB aos gatos B apresenta risco potencial de reação aguda severa em 33,3% e reação aguda leve em 66,7% dos gatos receptores. A proporção da severidade das reações encontradas neste trabalho é maior do que as descritas por outros autores, em estudos prévios, mas, provavelmente, isto se deva ao número reduzido de gatos do tipo B encontrados em Porto Alegre, quando comparado com o

número de gatos do tipo B estudados em outros países (Knottenbelt *et al.*, 1999b; Arikan & Akkan, 2004; Gurkan *et al.*, 2005).

A administração de sangue do tipo AB ou B a gatos do tipo A apresenta risco potencial de reação aguda severa em 1,0%, reação aguda leve em 37,1% e destruição prematura dos eritrócitos em 44,3% dos gatos receptores. Tais dados revelam proporções diferentes das relatadas por outros autores, ,em cujos trabalhos, geralmente, os gatos do tipo A apresentam títulos menores de anticorpos (Knottenbelt *et al.*, 1999b; Arikan & Akkan, 2004; Gurkan *et al.*, 2005).

Os dados do presente trabalho mostram que grande parte dos gatos, do tipo A e B, encontrados, apresentam títulos de aloanticorpos naturais potencialmente suficientes para causar reação transfusional leve, ou, até, severa, após transfusão não compatível. A partir de tais resultados, recomenda-se que a tipagem e a prova-cruzada sejam realizadas antes de qualquer transfusão, em felinos de Porto Alegre.

A ausência de relatos sobre reações transfusionais, após transfusão, em felinos, sem testes prévios, no Brasil, reflete uma baixa frequência desse tipo de transfusão em felinos, ou se deve, também, ao não monitoramento dos felinos, durante o período de transfusão, ou, ainda, reflete a relutância em relatar reações transfusionais por parte dos médicos veterinários. Visto que a maior parte dos gatos em que é realizada transfusão sofre de alguma doença que oferece risco de vida, a morbidade e a mortalidade associadas com transfusões não compatíveis podem estar sendo atribuídas à doença adjacente e não às reações transfusionais. Este é o primeiro estudo sobre aloanticorpos em felinos no Brasil.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Empresa DMS Laboratories pelo fornecimento dos kits Feline RapidVet-H para tipagem sanguínea, ao Dr. Urs Giger da Universidade da Pensilvânia (EUA) por fornecer os antissoros para teste de confirmação de tipagem sanguínea e à Empresa BD Vacutainer Brasil por fornecer os tubos e material para coleta das amostras de sangue.

REFERÊNCIAS

- Arikan S & Akkan HA (2004) Titres of naturally occurring alloantibodies against feline blood group antigens in Turkish Van cats. *Journal of Small Animal Practice*, 45:289-292.
- Auer L & Bell K (1981) The AB blood group system of cats. *Animal Blood Groups, Biochemistry and Genetics*, 12:287-297.
- Auer L & Bell K (1983) Transfusion reactions in cats due to AB blood group incompatibility. *Research in Veterinary Science*, 35:145-152.
- Auer L, Bell K, Coates S (1982) Blood transfusion reactions in the cat. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 180:729-730.

- Bucheler J & Giger U (1993) Alloantibodies against A and B blood types in cats. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 38:283-295.
- Ejima H, Kurokawa K & Ikemoto S (1986) Feline red blood cell groups detected by naturally occurring isoantibodies. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 48:971-976.
- Eyquem A, Podliachouk L & Milot P (1962) Blood groups in chimpanzees, horses, sheep, pigs and other mammals. *Annals of the New York Academy of Science*, 97:320-328.
- Giger U (2005). *Current Canine and Feline Blood Typing Methods and Issues*. [on line] Disponível em: <<http://www.ivis.org>>. Acessado em: 15 de novembro de 2006.
- Giger U & Akol KG (1990) Acute hemolytic transfusion reaction in an Abyssinian cat with type B blood. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 6:315-316.
- Giger U & Bucheler J (1991) Transfusion of type A and type B blood to cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 198:411-418.
- Giger U, Kilrain CG, Filippich LJ & Bell K (1989) Frequencies of feline blood groups in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 195:1230-1232.
- Gurkan M, Arıkan S, Ozaytekin E & Dodurka T (2005). Titres of alloantibodies against A and B blood types in non-pedigree domestic cats in Turkey: assessing the transfusion reaction risk. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 5:301-305.
- Hohenhaus AE (2004) Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals. *Transfusion Medicine Reviews*, 18:117-126.
- Holmes R (1950) Blood groups in cats. *The Journal of Physiology*, 111:61p
- Holmes R (1953) The occurrence of blood groups in cats. *Journal of Experimental Biology*, 30:350-357.
- Ikemoto S, Sakuria Y & Fukui M (1981) Individual difference within the cat blood groups detected by isohemagglutinin. *Nippon Juigaku Zasshi*, 3:433-435.
- Knottenbelt CM, Addie DD, Day MJ & Mackin AJ (1999a) Determination of the prevalence of feline blood types in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, 40:115-118.
- Knottenbelt CM, Day MJ, Cripps PJ & Mackin AJ (1999b) Measurement of titres of naturally occurring alloantibodies against feline blood group antigens in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, 40:365-370.
- Knottenbelt, CM (2002) The feline AB blood group system and its importance in transfusion medicine. *Journal of Feline and Surgery*, 4:69-76.
- Male D (1996) Reactions against blood cells and platelets. In: *Immunology 4th Edition*. Roitt I, Brostoff J, Male D (eds). London, Mosby. p.23.3-23.6.
- Silvestre-Ferreira AC, Pastor J, Sousa AP, Pires MJ, Morales M, Abreu Z & Montoya JA (2004). Blood types in the non-pedigree cat population of Gran Canaria. *Veterinary Record*, 24:778-779.
- Silvestre-Ferreira AC & Pastor J (2010). Feline neonatal isoerythrolysis and the importance of feline blood types. *Vet Med Int*. 2010:753726. Epub 2010 Jun 2. Disponível em: <<http://www.sage-hindawi.com/journals/vmi/2010/753726.html>>. Acessado em: 13 de dezembro de 2010.
- Stieger K, Palos H & Giger U (2005) Comparison of various blood-typing methods for the feline AB blood group system. *American Journal of Veterinary Research*, 8:1393-1399.
- Tizard IR (1996) Red cell antigen and type II hypersensitivity. In: *Veterinary Immunology: An Introduction*. In: Tizard IR (ed.) Philadelphia, W.B. Saunders. p.359-367.
- Wilkerson MJ, Wardrop KJ, Meyers KM, Giger U (1991b) Two cat colonies with A and B blood type and a clinical transfusion reaction. *Feline Practice*, 19:22-26.